



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102105159 B

(45) 授权公告日 2015. 07. 08

(21) 申请号 200980123349. 1

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2009. 06. 16

A61K 38/00(2006. 01)

(30) 优先权数据

(56) 对比文件

61/073274 2008. 06. 17 US

SUIERAS-DIAZ. structure-activity studies on the N-terminal region of glucagon. 《J Med Chem》. 1984, (第 27 期),

61/078171 2008. 07. 03 US

61/090448 2008. 08. 20 US

61/151349 2009. 02. 10 US

审查员 李康琦

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2010. 12. 16

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2009/047447 2009. 06. 16

(87) PCT国际申请的公布数据

W02010/011439 EN 2010. 01. 28

(73) 专利权人 印第安纳大学研究及科技有限公司

地址 美国印第安纳州

(72) 发明人 R·D·迪马奇 马涛

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司 72001

代理人 梁谋 李连涛

权利要求书3页 说明书103页

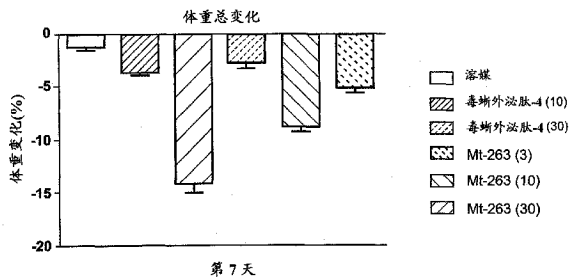
序列表208页 附图35页

(54) 发明名称

基于 GIP 的混合激动剂用于治疗代谢紊乱和肥胖症

(57) 摘要

本发明提供表现出除胰高血糖素和 / 或 GLP-I 活性外还有 GIP 激动剂活性的胰高血糖素肽。亦提供包含所述胰高血糖素肽的药物组合物和用所述肽治疗的方法。



1. 胰高血糖素 (SEQ ID NO :1) 类似物, 所述类似物具有葡萄糖依赖性促胰岛素肽 GIP 激动剂活性, 其具有以下修饰:

(a) 在所述类似物的 1 位的缺乏咪唑侧链的大芳族氨基酸;

(b) 选自以下的修饰:

(i) i 和 i+4 位置的氨基酸侧链之间或 j 和 j+3 位置的氨基酸侧链之间的内酰胺桥, 其中 i 为 12、13、16、17、20 或 24, 其中 j 为 17; 和

(ii) 所述类似物的 16、20、21 和 24 位氨基酸中的一个、两个、三个或全部被  $\alpha, \alpha$ -二取代氨基酸取代;

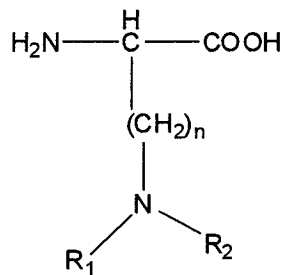
(c) 27、28 和 29 位中的所有位置的氨基酸修饰; 和

(d) 相对于胰高血糖素序列 (SEQ ID NO :1) 的 1-9 个另外的氨基酸修饰;

其中所述类似物对 GIP 受体激活的 EC<sub>50</sub> 为约 10nM 或更小, 并且其中所述类似物对 GIP 受体的 EC<sub>50</sub> 与其对 GLP-1 受体的 EC<sub>50</sub> 相差少于约 50 倍。

2. 权利要求 1 的类似物, 其具有:

(a) 在所述类似物的 16 位的式 IV 氨基酸:



[式 IV],

其中 n 为 1-7, 其中 R<sub>1</sub> 和 R<sub>2</sub> 各独立选自 H、C<sub>1</sub>-C<sub>18</sub>烷基、(C<sub>1</sub>-C<sub>18</sub>烷基)OH、(C<sub>1</sub>-C<sub>18</sub>烷基)NH<sub>2</sub>、(C<sub>1</sub>-C<sub>18</sub>烷基)SH、(C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>烷基)(C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>)环烷基、(C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>烷基)(C<sub>2</sub>-C<sub>5</sub>杂环)、(C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>烷基)(C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>芳基)R<sub>7</sub>和 (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>烷基)(C<sub>3</sub>-C<sub>9</sub>杂芳基), 其中 R<sub>7</sub>为 H 或 OH, 所述式 IV 氨基酸侧链包含游离氨基;

(b) 在所述类似物的 20 位的  $\alpha, \alpha$ -二取代氨基酸。

3. 权利要求 2 的类似物, 其中所述式 IV 的氨基酸为高 Lys、Lys、Orn 或 2,4-二氨基丁酸 (Dab)。

4. 权利要求 2 的类似物, 其中在所述类似物的 20 位的  $\alpha, \alpha$ -二取代氨基酸为氨基异丁酸 (AIB)。

5. 权利要求 1 的类似物, 其中 (a) 所述 1 位的氨基酸是 Tyr 和 (b) 其中 (i) 用脂肪族大氨基酸取代 27 位 Met; (ii) 用脂肪族小氨基酸取代 28 位 Asn; 和 (iii) 用脂肪族小氨基酸取代 29 位 Thr。

6. 权利要求 5 的类似物, 在所述类似物的 27 位具有 Leu, 在所述类似物的 28 位具有 Ala 和在所述类似物的 29 位具有 Gly。

7. 权利要求 1 的类似物, 其中 GPSSGAPPPS (SEQ ID NO :95) 或 XGPSSGAPPPS (SEQ ID NO :96) 的所述氨基酸序列与所述类似物的 C-末端连接。

8. 权利要求 1 的类似物, 所述类似物具有一种或多种以下修饰:

(a) 用 D-Ser、Ala、D-Ala、Gly、N-甲基-Ser、AIB、Val 或  $\alpha$ -氨基-N-丁酸取代 2 位 Ser ;

(b) 用 Glu 取代 3 位 Gln ;

(c) 用包含与酰基或烷基共价连接的侧链的氨基酸取代 10 位氨基酸 Tyr ;

(d) 作为所述类似物的 C-末端氨基酸添加包含与酰基或烷基共价连接的侧链的氨基酸 ;

(e) 用 Ile 取代 12 位 Lys ;

(f) 用 Gln 取代 17 位 Arg ;

(g) 用 Ala 取代 18 位 Arg ;

(h) 用 Glu 取代 21 位 Asp ;

(i) 用 Asn 取代 24 位 Gln ;和

(j) 用带电中性基团置换 C-末端氨基酸的羧酸。

9. 权利要求 8 的类似物,其中 10 位氨基酸为包含与酰基或烷基共价连接的侧链的式 I 氨基酸。

10. 权利要求 8 的类似物,其具有作为所述类似物的 C-末端氨基酸添加包含与酰基或烷基共价连接的侧链的式 I 氨基酸。

11. 权利要求 8 的类似物,其中带电中性基团为酰胺。

12. 权利要求 1 的类似物,所述类似物具有 (a) 赋予二肽基肽酶 IV(DPP-IV) 抗性的 2 位氨基酸修饰 ;和 (b) 与酰基或烷基共价连接的 40 位氨基酸。

13. 权利要求 1 的类似物,所述类似物具有连接到 24 位氨基酸的亲水部分。

14. 权利要求 2 的类似物,所述类似物的组成为 : (i) SEQ ID NO :227、228、229 或 230 中任何一种氨基酸序列及 (ii) 在 29 位氨基酸的 C-末端延长增加 1-21 个氨基酸。

15. 权利要求 14 的类似物,其中所述延长的 1-21 个氨基酸的组成为 :GPSSGAPPPS (SEQ ID NO :95) 或 XGPSSGAPPPS (SEQ ID NO :96) 的氨基酸序列,其中 X 为任何氨基酸 ;或者为相对于 SEQ ID NO :95 或 96 包含一个或多个保守性取代的氨基酸序列。

16. 权利要求 13 的类似物,其中在对应于 37-43 位的任何位置,所述延长氨基酸中的至少一个氨基酸被酰化或烷基化。

17. 权利要求 16 的类似物,在所述类似物的 40 位具有式 I 的酰化或烷基化氨基酸。

18. 权利要求 1 的类似物,其组成为选自 SEQ ID NO :99-141、144-164、166、192-207、209-221 和 223 的氨基酸序列。

19. 由 SEQ ID NO :105 序列组成的肽。

20. 权利要求 1 的肽,其由 SEQ ID NO :146 序列组成。

21. 权利要求 1 的肽,其由 SEQ ID NO :109 序列组成。

22. 权利要求 21 的肽,其中所述肽在 19、20、23、24、27、32、43 位的任何氨基酸位置或 C-末端与亲水部分共价连接。

23. 权利要求 1 的类似物,其具有通过间隔物连接到氨基酸侧链的酰基或烷基。

24. 权利要求 23 的类似物,其中所述间隔物为二肽间隔物。

25. 权利要求 23 的类似物,其中所述间隔物由两个带负电荷的氨基酸组成。

26. 权利要求 23 的类似物,其中所述酰基为 C12 至 C18 脂肪酰基。

27. 权利要求 26 的类似物,其中所述酰基为 C14 至 C16 脂肪酰基。

28. 权利要求 1 的类似物,其中所述类似物在 19、20、23、24、27、32、43 位的任何氨基酸位置或 C- 末端与亲水部分共价连接。

29. 权利要求 28 的类似物,其中所述亲水部分为 (a) 聚乙二醇;(b) 与 Lys、Cys、Orn、高半胱氨酸或乙酰基-苯基丙氨酸共价连接;或 (c) (a) 和 (b) 的两种情况。

30. 权利要求 28 的类似物,其中所述 PEG 具有约 20,000 道尔顿-约 40,000 道尔顿的分子量。

31. 一种缀合物、二聚体或融合肽,其包含权利要求 1-30 中任一项的类似物或肽。

32. 一种药物组合物,其包含权利要求 1-30 中任一项的类似物或肽、包含权利要求 1-30 中任一项的类似物或肽的缀合物、二聚体或融合肽、或者它们的组合以及可药用载体。

33. 包含权利要求 32 的药物组合物和将所述药物组合物给予患者的器具的药盒。

34. 权利要求 33 的药盒,其中所述器具包括含有所述药物组合物的注射器。

35. 权利要求 1-30 中任一项的类似物或肽、包含权利要求 1-30 中任一项的类似物或肽的缀合物、二聚体或融合肽、或者它们的组合在制备用于减少体重、诱导减重或治疗肥胖症的药物中的用途。

36. 权利要求 1-30 中任一项的类似物或肽、包含权利要求 1-30 中任一项的类似物或肽的缀合物、二聚体或融合肽、或者它们的组合在制备用于治疗糖尿病的药物中的用途。

## 基于 GIP 的混合激动剂用于治疗代谢紊乱和肥胖症

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求享有以下申请的优先权：2008 年 6 月 17 日提交的美国临时专利申请号 61/073,274、2008 年 7 月 3 日提交的美国临时专利申请号 61/078,171、2008 年 8 月 20 日提交的美国临时专利申请号 61/090,448 和 2009 年 2 月 10 日提交的美国临时专利申请号 61/151,349。每一申请的公开内容以其整体在此明确引作参考。

[0003] 背景

[0004] 前胰高血糖素原是 158 个氨基酸的前体多肽，其在不同组织中加工形成多种不同的胰高血糖素原衍生的肽，所述肽包括胰高血糖素、胰高血糖素样肽 -1 (GLP-1)、胰高血糖素样肽 -2 (GLP-2) 和分泌调节肽 (OXM)，它们涉及多种多样的生理功能，包括葡萄糖体内稳态、胰岛素分泌、胃排空和肠道生长以及摄食调节。胰高血糖素是 29 个氨基酸的肽，其对应于前胰高血糖素原的 33 到 61 位氨基酸，而产生的 GLP-1 作为对应于前胰高血糖素原的 72 到 108 位氨基酸的 37 个氨基酸肽。

[0005] 当血糖开始下降时，由胰腺产生的激素胰高血糖素给肝脏发出信号分解肝糖并释放葡萄糖，导致血糖水平上升到正常水平。GLP-1 具有与胰高血糖素相比不同的生物活性。其作用包括刺激胰岛素合成和分泌、抑制胰高血糖素分泌和抑制摄食。业已显示 GLP-1 在糖尿病患者中减弱高血糖症（高葡萄糖水平）。与 GLP-1 享有约 50% 氨基酸同一性的来自蜥蜴毒液的肽毒蜥外泌肽 -4 激活 GLP-1 受体并同样显示减弱糖尿病患者的高血糖症。

[0006] 葡萄糖依赖性促胰岛素肽 (GIP) 是 42 个氨基酸的胃肠调节肽，其在葡萄糖存在下刺激胰腺  $\beta$  细胞分泌胰岛素。通过蛋白水解加工从 133 个氨基酸前体前 GIP 原获得 GIP。

[0007] 简述

[0008] 如本文所公开，提供作为天然胰高血糖素 (SEQ ID NO :1) 的类似物并表现出 GIP 活性的胰高血糖素肽。本发明亦提供使用所述肽的方法。

[0009] 天然胰高血糖素不激活 GIP 受体，并通常具有约 1% 的天然 -GLP-1 对 GLP-1 受体的活性。对本文所述的天然胰高血糖素序列进行修饰，产生可表现以下活性的胰高血糖素肽：等同于或优于天然胰高血糖素 (SEQ ID NO :1) 活性的有效胰高血糖素活性、等同于或优于天然 GIP (SEQ ID NO :4) 活性的有效 GIP 活性和 / 或等同于或优于天然 GLP-1 活性的有效 GLP-1 活性。GLP-1 (7-36) 酰胺 (SEQ ID NO :3) 或 GLP-1 (7-37) (酸) (SEQ ID NO :2) 为生物学上有效的 GLP-1 形式，它们对 GLP-1 受体显示基本上相等的活性。

[0010] 本文所述数据显示，既具有 GIP 活性又具有 GLP-1 活性的肽对于诱导减重或防止增重以及用于治疗高血糖症（包括糖尿病）尤其有利。本文公开的体内数据证明，GIP 激动剂活性与 GLP-1 激动剂活性组合比单独的 GLP-1 产生更大的减体重作用。为了减少日常摄食及减轻体重并提高胰岛素敏感性及能量消耗，拮抗 GIP 是可取的，鉴于本领域的这一教导，上述活性尤其是意想不到的。(Irwin 等, *Diabetologia* 50 :1532-1540 (2007) ;和 Althage 等, *J Biol Chem*, 2008 年 4 月 17 日的电子出版物)

[0011] 因此，本发明一方面提供用于诱导减重或防止增重的方法，所述方法涉及给予需要的患者有效量的化合物，例如胰高血糖素肽，它既对 GIP 受体又对 GLP-1 受体表现出活

性,并任选还对胰高血糖素受体表现出活性。本文所述化合物包括 GIP/GLP-1 共 - 激动剂和胰高血糖素 /GIP/GLP-1 三 - 激动剂。

[0012] 通过在 1 位的氨基酸修饰提供提高的针对 GIP 受体的活性。例如,用芳香族大氨基酸取代 1 位 His,所述芳香族氨基酸任选为 Tyr、Phe、Trp、氨基 -Phe、硝基 -Phe、氯 -Phe、磺基 -Phe、4- 吡啶基 -Ala、甲基 -Tyr 或 3- 氨基 Tyr。

[0013] 通过修饰提供提高的针对 GIP 受体的活性,所述修饰稳定胰高血糖素肽或其类似物的 C- 末端部分(12-29 位氨基酸)的  $\alpha$  螺旋结构。例如,可通过在 i 和 i+4 位置之间或 j 和 j+3 位置之间或 k 和 k+7 位置之间的两个氨基酸侧链间的共价键形成分子内桥。在例示性实施方案中,所述桥在 12 和 16、16 和 20、20 和 24、24 和 28 或 17 和 20 位之间。在其它实施方案中,在这些位置的带正电荷及带负电荷的氨基酸之间可形成非共价作用,例如盐桥。或者,例如通过在保留所需活性的位置有目的地引入一个或多个  $\alpha$ ,  $\alpha$ - 二取代氨基酸,可实现稳定胰高血糖素肽的 C- 末端部分(大约 12-29 位的氨基酸)的  $\alpha$  螺旋结构。在某些实施方案中,胰高血糖素肽或其类似物的 16、17、18、19、20、21、24 或 29 位中的一个、二个、三个、四个或更多个位置被  $\alpha$ ,  $\alpha$ - 二取代氨基酸取代。例如,在缺乏盐桥或内酰胺时用氨基异丁酸(AIB)取代胰高血糖素肽或其类似物的 16 位,来提供稳定的  $\alpha$  螺旋。本文认为所述肽为缺乏分子内桥的肽。在特定的方面,通过引入一个或多个  $\alpha$ ,  $\alpha$ - 二取代氨基酸而不引入共价分子内桥(例如内酰胺桥、二硫桥)来实现  $\alpha$ - 螺旋的稳定化。本文认为所述肽为缺乏共价分子内桥的肽。在某些实施方案中,用 AIB 取代 16、20、21 或 24 位中的一个、二个、三个或更多个。

[0014] 通过在 27 和 / 或 28 位并任选 29 位的氨基酸修饰提供提高的针对 GIP 受体的活性。例如,用脂肪族大氨基酸任选 Leu 取代 27 位 Met,用脂肪族小氨基酸任选 Ala 取代 28 位 Asn,用脂肪族小氨基酸任选 Gly 取代 29 位 Thr。

[0015] 亦通过在 12 位的氨基酸修饰提供提高的针对 GIP 受体的活性。例如,用脂肪族非极性的大氨基酸任选 Ile 取代 12 位。

[0016] 亦通过在 17 和 / 或 18 位的氨基酸修饰提供提高的针对 GIP 受体的活性。例如,用极性残基任选 Gln 取代 17 位,用脂肪族小氨基酸任选 Ala 取代 18 位。

[0017] 通过在本文所述的天然胰高血糖素(SEQ ID NO :1)的 16 位的氨基酸修饰提供提高的针对胰高血糖素受体的活性。

[0018] 例如,通过在本文所述的 3 位氨基酸修饰提供降低的、保持的或提高的针对胰高血糖素受体的活性。

[0019] 通过修饰(其稳定胰高血糖素肽或其类似物的 C- 末端部分(12-29 位氨基酸)的  $\alpha$  螺旋结构)可恢复已经通过在 1 和 / 或 2 位的氨基酸修饰降低了的胰高血糖素的活性。例如,可通过在 i 和 i+4 位置之间或 j 和 j+3 位置之间或 k 和 k+7 位置之间的两个氨基酸侧链间的共价键形成分子内桥。在其它实施方案中,可在这些位置的带正电荷和带负电荷的氨基酸之间形成非共价作用,例如盐桥。在另外的其它实施方案中,在该 C- 末端部分(12-29 位氨基酸)的保留所需活性的位置插入或取代一个或多个  $\alpha$ ,  $\alpha$ - 二取代氨基酸。例如,16、20、21 或 24 位中的一个、二个、三个或全部位置被  $\alpha$ ,  $\alpha$ - 二取代氨基酸(例如 AIB)取代。

[0020] 通过用电中性基团(例如酰胺或酯)取代 C- 末端氨基酸的羧酸提供提高的针对

GLP-1 受体的活性。

[0021] 通过稳定胰高血糖素肽或其类似物的 C- 末端部分 (大约 12-29 位氨基酸) 的  $\alpha$ -螺旋结构的修饰提供提高的针对 GLP-1 受体的活性。在某些实施方案中,可通过在 i 和 i+4 位置之间或 j 和 j+3 位置之间或 k 和 k+7 位置之间的两个氨基酸侧链间的共价键形成分子内桥。在其它实施方案中,可在这些位置的带正电荷和带负电荷的氨基酸之间形成非共价作用,例如盐桥。在另外的其它实施方案中,在该 C- 末端部分 (12-29 位氨基酸) 的保留所需活性的位置插入或取代一个或多个  $\alpha, \alpha$ -二取代氨基酸。例如,16、20、21 或 24 位中的一个、二个、三个或全部位置被  $\alpha, \alpha$ -二取代氨基酸 (例如 AIB) 取代。

[0022] 通过在本文所述的 20 位氨基酸的修饰提供提高的针对 GLP-1 受体的活性。

[0023] 通过将 C- 末端延伸肽例如 GPSSGAPPPS (SEQ ID NO :95) 或 XGPSSGAPPPS (SEQ ID NO :96) 添加到 C- 末端提供提高的针对 GLP-1 受体的活性。可通过修饰本文所述的 18、28 或 29 位或 18 和 29 位的氨基酸,来进一步提高所述类似物的 GLP-1 活性。

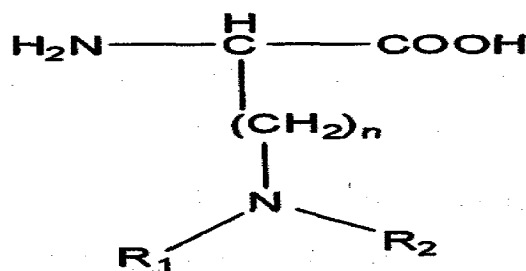
[0024] 通过将 10 位的氨基酸更改为芳香族大氨基酸残基 (任选 Trp) 来使 GLP-1 效能更为适中地增加。

[0025] 如本文所述,例如通过在 7 位的氨基酸修饰,通过缺失位于 27 或 28 位氨基酸的 C- 末端处的一个或多个氨基酸以产生 27 个或 28 个氨基酸的肽,或通过其组合,来提供降低的针对 GLP-1 受体的活性。

[0026] 通过将 GPSSGAPPPS (SEQ ID NO :95) 添加到 C- 末端来提供聚乙二醇化后的活性保留。

[0027] 如本文所证明,通过以下来提供保持的或增加的针对胰高血糖素受体、GLP-1 受体和 GIP 受体中每一种的活性 (与含内酰胺的具有 GIP- 活性的基于胰高血糖素的类似物比较): (i) 用式 IV 氨基酸进行 16 位 Ser 的氨基酸取代:

[0028]



[0029] [式 IV],

[0030] 其中 n 为 1-16 或 1-10 或 1-7 或 1-6 或 2-6 或 2 或 3 或 4 或 5,  $\text{R}_1$  和  $\text{R}_2$  各独立选自 H、 $\text{C}_1$ - $\text{C}_{18}$  烷基、( $\text{C}_1$ - $\text{C}_{18}$  烷基)OH、( $\text{C}_1$ - $\text{C}_{18}$  烷基) $\text{NH}_2$ 、( $\text{C}_1$ - $\text{C}_{18}$  烷基)SH、( $\text{C}_0$ - $\text{C}_4$  烷基)( $\text{C}_3$ - $\text{C}_6$ ) 环烷基、( $\text{C}_0$ - $\text{C}_4$  烷基)( $\text{C}_2$ - $\text{C}_5$  杂环)、( $\text{C}_0$ - $\text{C}_4$  烷基)( $\text{C}_6$ - $\text{C}_{10}$  芳基) $\text{R}_7$  和 ( $\text{C}_1$ - $\text{C}_4$  烷基)( $\text{C}_3$ - $\text{C}_9$  杂芳基), 其中  $\text{R}_7$  为 H 或 OH, 式 IV 氨基酸侧链包含游离氨基; 和 (ii) 用  $\alpha, \alpha$ -二取代氨基酸 (例如 AIB) 进行 20 位 Gln 的氨基酸取代。在某些实施方案中,16 位氨基酸为 Lys, 20 位氨基酸为 AIB。

[0031] 包含 16 位式 IV 氨基酸和 20 位  $\alpha, \alpha$ -二取代氨基酸的类似物针对胰高血糖素受体、GLP-1 受体和 GIP 受体中每一种的活性,可通过延长肽的长度来进一步提高,例如通过与例如长约 1-21、约 9-21、约 6-18、约 9-12 或约 10 或 11 个氨基酸的 C- 末端延伸肽融

合。在某些实施方案中,通过与 GPSSGAPPPS(SEQ ID NO :95) 或 XGPSSGAPPPS(SEQ ID NO :96) 融合来延伸 C- 末端,其中 X 为 Gly 或脂肪族或非极性或非极性的小氨基酸。在备选实施方案中,通过与 GPSSGAPPPS(SEQ ID NO :95) 融合来延长 C- 末端并将 1-11 个氨基酸(例如 1-5 或 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11 个氨基酸)融合到 GPSSGAPPPS(SEQ ID NO :95) 的 C- 末端。GPSSGAPPPS(SEQ ID NO :95) 的 C- 末端的 1-11 个氨基酸可包含例如一个或多个脂肪族小氨基酸,例如 Ala 或 Gly。在这点上,C- 末端延伸可为例如 GPSSGAPPPSX<sub>m</sub>,其中 m 为 1-11(例如 1-5),而 X 为 Ala 或 Gly。或者,融合到 SEQ ID NO :95C- 末端的 1-11(例如 1-5) 个氨基酸可为不同的脂肪族小氨基酸的组合。例如,1-11(例如 1-5) 个氨基酸可为 Ala 和 Gly 残基的组合。

[0032] 在对位于 C- 末端突出端(extension) 内的氨基酸或 C- 末端氨基酸(例如加到 C- 末端突出端的 C- 末端的氨基酸)进行酰化或烷化后,可进一步实现具有 GIP 活性的基于胰高血糖素的类似物(包括包含 16 位式 IV 氨基酸和 20 位  $\alpha, \alpha$  二取代氨基酸的类似物)针对胰高血糖素、GLP-1 和 GIP 受体中每一种的活性的提高。酰化或烷化可为位于例如 30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49 和 50 位中的任何位置上的氨基酸。在某些实施方案中,酰化或烷化的氨基酸位于 37、38、39、40、41、42 或 43 位。在某些实施方案中,酰化或烷化的氨基酸为连接到酰基或烷基(例如 C10-C22) 的 Lys。在某些实施方案中,Lys 位于由 SEQ ID NO :95 氨基酸序列组成的 C- 末端突出端的 C- 末端,致使 Lys 位于类似物的 40 位。任选酰化的 C- 末端延伸肽亦例如在 24 位聚乙二醇化。

[0033] 可通过经由间隔物(例如氨基酸、二肽、三肽、亲水双官能间隔物、疏水双官能间隔物)的氨基酸酰化或烷化,另外实现具有 GIP 活性的基于胰高血糖素的类似物针对胰高血糖素、GLP-1 和 GIP 受体中每一种的活性的提高。在某些实施方案中,具有 GIP 活性的基于胰高血糖素的类似物包含经由间隔物的酰基或烷基,所述间隔物与类似物的 10 位或 40 位氨基酸的侧链连接。在其它实施方案中,类似物包含位于 29 位氨基酸的 C- 末端处的 1-21 个氨基酸的 C- 末端突出端并且与酰基或烷基共价连接的间隔物与对应于关于 SEQ ID NO :1 的 37-43 位之一的位置的突出端的氨基酸连接。在某些实施方案中,间隔物长 3-10 个原子。在特定方面,间隔物和酰基或烷基的总长约 14- 约 28 个原子。本文进一步阐述用于提高针对胰高血糖素、GLP-1 和 GIP 受体中的一种或多种活性目的合适间隔物。

[0034] 可单独施用或联合施用提高或降低 GIP 活性、提高或降低胰高血糖素受体活性和提高或降低 GLP-1 受体活性的任何上述修饰。也可让任何上述修饰与提供其它所需性质(例如增加溶解性和/或稳定性和/或作用时间)的其它修饰联合。或者,任何上述修饰可与基本上不影响溶解性或稳定性或活性的其它修饰联合。例示性修饰包括但不限于:

[0035] (A) 例如通过在天然胰高血糖素的 C- 末端部分(优选在 27 位的 C- 末端位置)引入一个、二个、三个或更多个带电荷的氨基酸来改进溶解性。可通过用带电荷的氨基酸例如在 28 或 29 位取代天然氨基酸来引入所述带电荷的氨基酸,或作为备选通过例如在 27、28 或 29 位后面添加带电荷的氨基酸来引入所述带电荷的氨基酸。在例示性实施方案中,一个、二个、三个或全部带电荷的氨基酸带负电荷。在其它实施方案中,一个、二个、三个或全部带电荷的氨基酸带正电荷。所述修饰增加溶解性,例如当 24 小时后在 25°C 测量时,在约 5.5 和 8 之间的给定 pH(例如 pH 7) 下,提供相对于天然胰高血糖素至少 2- 倍、5- 倍、10- 倍、15- 倍、25- 倍、30- 倍或更大的溶解性;



[0036] (B) 如本文所述,通过例如在肽的 16、17、20、21、24 或 29 位、C- 末端突出端内或 C- 末端氨基酸添加亲水部分(例如聚乙二醇链),来增加溶解性和作用时间或循环半衰期;

[0037] (C) 如本文所述,通过对胰高血糖素肽的酰化或烷化来增加溶解性和 / 或作用时间或循环半衰期,和 / 或延迟作用开始;

[0038] (D) 如本文所述,通过修饰 1 或 2 位氨基酸引入对二肽基肽酶 IV(DPP IV) 裂解的抗性来增加作用时间或循环半衰期;

[0039] (E) 通过修饰 15 位的 Asp,例如通过缺失或用谷氨酸、高谷氨酸、半胱磺酸(cysteic acid) 或高半胱磺酸(homocysteic acid) 取代,来提高稳定性。所述修饰可在 5.5-8 的 pH 范围内减少降解或裂解,例如在 24 小时后于 25°C 保留至少 75%、80%、90%、95%、96%、97%、98% 或 99%、直至 100% 的原始肽。所述修饰减少 Asp15-Ser16 之间的肽键的裂解;

[0040] (F) 通过修饰 16 位的 Ser,例如通过用 Thr 或 AIB 取代,来提高稳定性。所述修饰亦减少 Asp15-Ser16 之间的肽键的裂解;

[0041] (G) 通过修饰 27 位的甲硫氨酸,例如通过用亮氨酸或正亮氨酸取代,来提高稳定性。所述修饰可减少氧化性降解。亦可通过修饰 20 或 24 位的 Gln,例如通过用 Ala、Ser、Thr 或 AIB 取代,来提高稳定性。所述修饰可减少通过 Gln 脱酰胺化发生的降解。可通过修饰 21 位的 Asp,例如通过用 Glu 取代,来提高稳定性。所述修饰可减少通过 Asp 脱水以形成环状琥珀酰亚胺中间体接着异构化为异天冬氨酸盐而发生的降解;

[0042] (H) 基本上不影响活性的非保守性或保守性取代、添加或缺失,例如,在 2、5、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、24、27、28 或 29 位中的一个或多个位置的保守性取代;用 Ala 取代这些位置中的一个或多个;缺失 27、28 或 29 位中的一个或多个氨基酸;或缺失 29 位氨基酸,其任选与用 C- 末端酰胺或酯代替 C- 末端羧酸基团联合;用 Arg 取代 12 位的 Lys;用 Val 或 Phe 取代 10 位的 Tyr。

[0043] 在某些实施方案中,本文所述胰高血糖素肽表现出的 GIP 受体激活活性的 EC<sub>50</sub> 为约 100nM 或更小或约 75、50、25、10、8、6、5、4、3、2 或 1nM 或更小。在某些实施方案中,本文所述胰高血糖素肽表现出针对 GIP 受体的 EC<sub>50</sub> 为约 0.001nM、0.01nM 或 0.1nM。在某些实施方案中,本文所述胰高血糖素肽表现出针对 GIP 受体的 EC<sub>50</sub> 为不大于约 1nM、2nM、3nM、4nM、5nM、6nM、8nM、10nM、15nM、20nM、25nM、30nM、40nM、50nM、75nM 或 100nM。在某些实施方案中,胰高血糖素肽表现出的胰高血糖素受体激活 EC<sub>50</sub> 为约 100nM 或更小或约 75、50、25、10、8、6、5、4、3、2 或 1nM 或更小。在某些实施方案中,本文所述胰高血糖素肽表现出针对胰高血糖素受体的 EC<sub>50</sub> 为约 0.001nM、0.01nM 或 0.1nM。在某些实施方案中,胰高血糖素受体的 EC<sub>50</sub> 不大于约 1nM、2nM、3nM、4nM、5nM、6nM、8nM、10nM、15nM、20nM、25nM、30nM、40nM、50nM、75nM 或 100nM。在某些实施方案中,胰高血糖素肽表现出 GLP-1 受体激活 EC<sub>50</sub> 为约 100nM 或更小或约 75、50、25、10、8、6、5、4、3、2 或 1nM 或更小。在某些实施方案中,本文所述胰高血糖素肽表现出针对 GLP-1 受体的 EC<sub>50</sub> 为约 0.001nM、0.01nM 或 0.1nM。在某些实施方案中,针对 GLP-1 受体的 EC<sub>50</sub> 为不大于约 1nM、2nM、3nM、4nM、5nM、6nM、8nM、10nM、15nM、20nM、25nM、30nM、40nM、50nM、75nM 或 100nM。可通过体外测定来测量受体激活,所述体外测定在过表达所述受体的 HEK293 细胞中测量 cAMP 诱导,例如测定用编码受体和连接到 cAMP 响应

元件的荧光素酶基因的 DNA 共转染的 HEK293 细胞,其如实施例 16 所述。

[0044] 在某些实施方案中,胰高血糖素肽相对于天然 GIP(GIP 效价)表现出针对 GIP 受体的至少约 0.1%、0.2%、0.3%、0.4%、0.5%、0.6%、0.7%、0.8%、0.9%、1%、5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、75%、100%、125%、150%、175% 或 200% 或更高的活性。在某些实施方案中,本文所述胰高血糖素肽相对于天然 GIP 表现出针对 GIP 受体的活性不大于 1000%、10,000%、100,000% 或 1,000,000%。在某些实施方案中,胰高血糖素肽相对于天然胰高血糖素(胰高血糖素效价)表现出针对胰高血糖素受体的至少约 1%、5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、75%、100%、125%、150%、175%、200%、250%、300%、350%、400%、450% 或 500% 或更高的活性。在某些实施方案中,本文所述胰高血糖素肽相对于天然胰高血糖素表现出针对胰高血糖素受体的活性不大于 1000%、10,000%、100,000% 或 1,000,000%。在某些实施方案中,胰高血糖素肽相对于天然 GLP-1(GLP-1 效价)表现出针对 GLP-1 受体的至少约 0.1%、0.2%、0.3%、0.4%、0.5%、0.6%、0.7%、0.8%、0.9%、1%、5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、75%、100%、125%、150%、175% 或 200% 或更高的活性。在某些实施方案中,本文所述胰高血糖素肽相对于天然 GLP-1 表现出针对 GLP-1 受体的活性不大于 1000%、10,000%、100,000% 或 1,000,000%。将胰高血糖素肽相对于某受体的天然配体针对该受体的活性计算为胰高血糖素肽对天然配体的 EC<sub>50</sub> 的反比。

[0045] 因此,本发明一方面提供既对胰高血糖素受体又对 GIP 受体表现出活性的胰高血糖素肽(“胰高血糖素/GIP 共激动剂”)。这些胰高血糖素肽失去了天然胰高血糖素对胰高血糖素受体优于 GIP 受体的选择性。在某些实施方案中,胰高血糖素肽针对 GIP 受体的 EC<sub>50</sub> 与其针对胰高血糖素受体的 EC<sub>50</sub> 有小于约 50-倍、40-倍、30-倍或 20-倍的差异(更高或更低)。在某些实施方案中,胰高血糖素肽的 GIP 效价与胰高血糖素肽的胰高血糖素效价有小于约 500-倍、450-倍、400-倍、350-倍、300-倍、250-倍、200-倍、150-倍、100-倍、75-倍、50-倍、25-倍、20-倍、15-倍、10-倍或 5-倍的差异(更高或更低)。在某些实施方案中,胰高血糖素肽针对 GIP 受体的 EC<sub>50</sub> 除以胰高血糖素肽针对胰高血糖素受体的 EC<sub>50</sub> 的比率小于约 100、75、60、50、40、30、20、15、10 或 5。在某些实施方案中,针对 GIP 受体的 EC<sub>50</sub> 除以针对胰高血糖素受体的 EC<sub>50</sub> 的比率为约 1 或小于约 1(例如约 0.01、0.013、0.0167、0.02、0.025、0.03、0.05、0.067、0.1、0.2)。在某些实施方案中,胰高血糖素肽的 GIP 效价与胰高血糖素肽的胰高血糖素效价比较的比率小于约 500、450、400、350、300、250、200、150、100、75、60、50、40、30、20、15、10 或 5。在某些实施方案中,针对 GIP 受体的效价除以针对胰高血糖素受体的效价的比率为约 1 或小于约 1(例如约 0.01、0.013、0.0167、0.02、0.025、0.03、0.05、0.067、0.1、0.2)。在某些实施方案中,例如通过 7 位的氨基酸修饰,通过缺失位于 27 或 28 位氨基酸的 C-末端处的一个或多个氨基酸以产生 27- 或 28- 个氨基酸的肽或其组合,业已显著降低或破坏 GLP-1 活性。

[0046] 本发明另一方面提供表现出针对胰高血糖素、GIP 和 GLP-1 受体活性的胰高血糖素肽(“胰高血糖素/GIP/GLP-1 三-激动剂”)。这些胰高血糖素肽失去了天然胰高血糖素对胰高血糖素受体优于 GLP-1 受体和 GIP 受体这二种受体的选择性。在某些实施方案中,胰高血糖素肽针对 GIP 受体的 EC<sub>50</sub> 与其分别针对胰高血糖素受体和 GLP-1 受体的 EC<sub>50</sub> 有小于约 50-倍、40-倍、30-倍或 20-倍的差异(更高或更低)。在某些实施方案中,胰高

血糖素肽的 GIP 效价与胰高血糖素肽的胰高血糖素和 GLP-1 效价有小于约 500、450、400、350、300、250、200、150、100、75、50、25、20、15、10 或 5 倍的差异（更高或更低）。在某些实施方案中，三-激动剂针对 GIP 受体的 EC50 除以三-激动剂针对 GLP-1 受体的 EC50 的比率小于约 100、75、60、50、40、30、20、15、10 或 5。在某些实施方案中，针对 GIP 受体的 EC50 除以针对 GLP-1 受体的 EC50 的比率为约 1 或小于约 1（例如约 0.01、0.013、0.0167、0.02、0.025、0.03、0.05、0.067、0.1、0.2）。在某些实施方案中，三-激动剂的 GIP 效价与三-激动剂的 GLP-1 效价比较的比率小于约 100、75、60、50、40、30、20、15、10 或 5。在某些实施方案中，针对 GIP 受体的效价除以针对 GLP-1 受体效价的比率为约 1 或小于约 1（例如约 0.01、0.013、0.0167、0.02、0.025、0.03、0.05、0.067、0.1、0.2）。在相关实施方案中，三-激动剂针对 GIP 受体的 EC50 除以三-激动剂针对胰高血糖素受体的 EC50 的比率小于约 100、75、60、50、40、30、20、15、10 或 5。在某些实施方案中，针对 GIP 受体的 EC50 除以针对胰高血糖素受体的 EC50 的比率为约 1 或小于约 1（例如约 0.01、0.013、0.0167、0.02、0.025、0.03、0.05、0.067、0.1、0.2）。在某些实施方案中，三-激动剂的 GIP 效价与三-激动剂的胰高血糖素效价比较的比率小于约 500、450、400、350、300、250、200、150、100、75、60、50、40、30、20、15、10 或 5。在某些实施方案中，针对 GIP 受体的效价除以针对胰高血糖素受体的效价的比率为约 1 或小于约 1（例如约 0.01、0.013、0.0167、0.02、0.025、0.03、0.05、0.067、0.1、0.2）。在某些实施方案中，三-激动剂针对 GLP-1 受体的 EC50 除以三-激动剂针对胰高血糖素受体的 EC50 的比率小于约 100、75、60、50、40、30、20、15、10 或 5。在某些实施方案中，针对 GLP-1 受体的 EC50 除以针对胰高血糖素受体的 EC50 的比率为约 1 或小于约 1（例如约 0.01、0.013、0.0167、0.02、0.025、0.03、0.05、0.067、0.1、0.2）。在某些实施方案中，三-激动剂的 GLP-1 效价与三-激动剂的胰高血糖素效价比较的比率小于约 100、75、60、50、40、30、20、15、10 或 5。在某些实施方案中，针对 GLP-1 受体的效价除以针对胰高血糖素受体的效价的比率为约 1 或小于约 1（例如约 0.01、0.013、0.0167、0.02、0.025、0.03、0.05、0.067、0.1、0.2）。

[0047] 本发明又一方面提供具有以下特性的胰高血糖素肽（“GIP/GLP-1 共激动剂”）：表现出既针对 GLP-1 受体又针对 GIP 受体的活性，但例如通过 3 位的氨基酸修饰业已显著降低或破坏胰高血糖素活性。例如，用酸性、碱性或疏水氨基酸（谷氨酸、鸟氨酸、正亮氨酸）在该位置取代来降低胰高血糖素活性。在某些实施方案中，胰高血糖素肽针对 GIP 受体的 EC50 与其针对 GLP-1 受体的 EC50 有小于约 50-倍、40-倍、30-倍或 20-倍的差异（更高或更低）。在某些实施方案中，胰高血糖素肽的 GIP 效价与胰高血糖素肽的 GLP-1 效价有小于约 25、20、15、10 或 5 倍的差异（更高或更低）。在某些实施方案中，这些胰高血糖素肽具有天然胰高血糖素针对胰高血糖素受体活性的约 10% 或更小，例如约 1-10% 或约 0.1-10% 或大于约 0.1% 但小于约 10%。在某些实施方案中，胰高血糖素肽针对 GIP 受体的 EC50 除以胰高血糖素肽针对 GLP-1 受体的 EC50 的比率小于约 100、75、60、50、40、30、20、15、10 或 5 但不小于 1。在某些实施方案中，胰高血糖素肽的 GIP 效价与胰高血糖素肽的 GLP-1 效价比较的比率小于约 100、75、60、50、40、30、20、15、10 或 5 但不小于 1。

[0048] 本发明另外方面提供具有以下特性的胰高血糖素肽（“GIP 激动剂胰高血糖素肽”）：表现出针对 GIP 受体的活性，但例如通过 3 和 7 位的氨基酸修饰业已显著降低或破坏胰高血糖素和 GLP-1 活性。在某些实施方案中，这些胰高血糖素肽具有天然胰高血糖素

针对胰高血糖素受体活性的约 10% 或更小, 例如约 1-10% 或约 0.1-10% 或大于约 0.1%、0.5% 或 1% 但小于约 1%、5% 或 10%。在某些实施方案中, 这些胰高血糖素肽亦具有天然 GLP-1 针对 GLP-1 受体活性的约 10% 或更小, 例如约 1-10% 或约 0.1-10% 或大于约 0.1%、0.5% 或 1% 但小于约 1%、5% 或 10%。

[0049] 根据本发明某些实施方案, 具有 GIP 激动剂活性的胰高血糖素 (SEQ ID NO :1) 类似物包含含有以下修饰的 SEQ ID NO :1 : (a) 提供 GIP 激动剂活性的 1 位氨基酸修饰 ; (b) 稳定类似物的 C- 末端部分 (12-29 位氨基酸) 的  $\alpha$  螺旋结构的修饰 ; 和 (c) 任选 1-10 (例如 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10) 个另外的氨基酸修饰。在某些实施方案中, 类似物表现出天然 GIP 针对 GIP 受体的活性的至少约 1%, 或本文所述的针对 GIP 受体的任何其它活性水平。稳定  $\alpha$  螺旋结构的修饰可为本领域已知的任何修饰, 例如本文所述的任何修饰。参见“ $\alpha$  螺旋结构的稳定化”章节下的教导。在某些实施方案中, 稳定  $\alpha$  螺旋结构的修饰为选自以下的修饰 : (i) 在 i 和 i+4 位置的氨基酸侧链之间或在 j 和 j+3 位置的氨基酸侧链之间的内酰胺桥, 其中 i 为 12、13、16、17、20 或 24, 其中 j 为 17 ; 和 (ii) 在类似物的 16、20、21 和 24 位中的一个、二个、三个或全部氨基酸被  $\alpha$ ,  $\alpha$ -二取代氨基酸取代。本文进一步阐述所述具有 GIP 激动剂活性的胰高血糖素类似物。

[0050] 在某些实施方案中, 本发明提供具有 GIP 激动剂活性的胰高血糖素 (SEQ ID NO : 1) 类似物, 且含以下修饰 :

[0051] (a) 1 位氨基酸修饰 ;

[0052] (b) (i) i 和 i+4 位置的氨基酸侧链之间或 j 和 j+3 位置的氨基酸侧链之间的内酰胺桥, 其中 i 为 12、13、16、17、20 或 24, 其中 j 为 17 ; 或 (ii) 用  $\alpha$ ,  $\alpha$ -二取代氨基酸取代 16、20、21 或 24 位中的一个、二个、三个或全部氨基酸 ;

[0053] (c) 在 27、28 和 29 位中的一个、两个或全部位置的氨基酸修饰 ; 和

[0054] (d) 1、2、3、4、5、6 或 8 个另外的氨基酸修饰 ;

[0055] 其中类似物的 GIP 受体激活 EC50 为约 100nM 或更小。

[0056] 在例示性实施方案中 :

[0057] (a) 1 位氨基酸修饰是在 1 位用芳香族大氨基酸取代 His, 所述芳香族大氨基酸任选为 Tyr、Phe、Trp、氨基 -Phe、硝基 -Phe、氯 -Phe、磺基 -Phe、4- 吡啶基 -Ala、甲基 -Tyr 或 3- 氨基 Tyr ;

[0058] (b) (i) 内酰胺桥在 16 和 20 位氨基酸之间, 其中 16 和 20 位的氨基酸之一被 Glu 取代, 16 和 20 位的其他氨基酸被 Lys 取代 ; 或 (ii) 所述  $\alpha$ ,  $\alpha$ -二取代氨基酸为 AIB ;

[0059] (c) 用脂肪族大氨基酸任选 Leu 取代 27 位 Met ;

[0060] (d) 用脂肪族小氨基酸任选 Ala 取代 28 位 Asn ; 和

[0061] (e) 用脂肪族小氨基酸任选 Gly 取代 29 位 Thr。

[0062] 类似物可包含更多的修饰, 所述修饰包括但不限于 :

[0063] (a) 12 位的氨基酸修饰, 任选用 Ile 取代 ;

[0064] (b) 17 和 18 位的氨基酸修饰, 任选在 17 位用 Q 取代, 在 18 位用 A 取代 ;

[0065] (c) 将 GPSSGAPPPS (SEQ ID NO :95) 添加到 C- 末端 ;

[0066] 或其任何组合。

[0067] 类似物可作为备选或另外包含更多的修饰, 所述修饰包括但不限于 :

- [0068] (a) 用 D-Ser、Ala、D-Ala、Gly、N-甲基-L-Ser、AIB、Val 或  $\alpha$ -氨基-N-丁酸取代 2 位 Ser；
- [0069] (b) 用 Trp、Lys、Orn、Glu、Phe 或 Val 取代 10 位 Tyr；
- [0070] (c) 酰基与 10 位的 Lys 连接；
- [0071] (d) 用 Arg 取代 12 位 Lys；
- [0072] (e) 用 Glu、Gln、高谷氨酸、高半胱氨酸、Thr、Gly 或 AIB 取代 16 位 Ser；
- [0073] (f) 用 Gln、Lys 或 Glu 取代 17 位 Arg；
- [0074] (g) 用 Ala、Ser、Thr 或 Gly 取代 18 位 Arg；
- [0075] (h) 用 Ala、Ser、Thr、Lys、瓜氨酸、Arg、Orn 或 AIB 取代 20 位 Gln；
- [0076] (i) 用 Glu、高谷氨酸、高半胱氨酸取代 21 位 Asp；
- [0077] (j) 用 Ile 取代 23 位 Val；
- [0078] (k) 用 Asn、Ala、Ser、Thr、Glu、Lys 或 AIB 取代 24 位 Gln；和
- [0079] (l) 在 2、5、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、24、27、28 和 29 位中的任何位置的保守性取代；
- [0080] 或其任何组合。

[0081] 在某些实施方案中，当胰高血糖素肽未聚乙二醇化时，类似物的 GIP 受体激活 EC<sub>50</sub> 为约 4、2、1nM 或更小，或类似物具有天然 GIP 针对 GIP 受体活性的至少约 1%、2%、3%、4% 或 5%。在相关实施方案中，未聚乙二醇化的类似物对 GLP-1 受体激活的 EC<sub>50</sub> 为约 4、2、1nM 或更小，或具有天然 GLP-1 针对 GLP-1 受体活性的至少约 1%、2%、3%、4% 或 5%。在另外的其它相关实施方案中，未聚乙二醇化类似物对胰高血糖素受体激活的 EC<sub>50</sub> 为约 4、2、1nM 或更小，或具有天然胰高血糖素针对胰高血糖素受体活性的至少约 5%、10%、15% 或 20%。在某些实施方案中，未聚乙二醇化类似物具有小于约 1% 的天然胰高血糖素针对胰高血糖素受体的活性。在其它实施方案中，未聚乙二醇化类似物具有小于约 10%、5% 或 1% 的天然 GLP-1 针对 GLP-1 受体的活性。

[0082] 在某些实施方案中，在 16、17、20、21、24 或 29 位氨基酸、29 位后的 C-末端突出端内添加的氨基酸（例如 30 位）或在 C-末端氨基酸的任何氨基酸位置，胰高血糖素肽与亲水部分共价连接。在例示性实施方案中，所述亲水部分在这些位置的任意之处与 Lys、Cys、Orn、高半胱氨酸或乙酰基-苯丙氨酸残基共价连接。例示性的亲水部分包括例如分子量约 1,000 道尔顿-约 40,000 道尔顿或约 20,000 道尔顿-约 40,000 道尔顿的聚乙二醇 (PEG)。

[0083] 在其中类似物与亲水部分（例如 PEG）连接的所述实施方案中，所述类似物与缺乏亲水部分的类似物比较针对一种或多种受体的相对 EC<sub>50</sub> 可能更高，例如约高 10-倍。例如，聚乙二醇化类似物对 GIP 受体激活的 EC<sub>50</sub> 为约 10nM 或更小，或所述类似物具有至少约 0.1%、0.2%、0.3%、0.4% 或 0.5% 的天然 GIP 针对 GIP 受体的活性。在相关实施方案中，聚乙二醇化类似物对 GLP-1 受体激活的 EC<sub>50</sub> 为约 10nM 或更小，或具有至少约 0.1%、0.2%、0.3%、0.4% 或 0.5% 的天然 GLP-1 针对 GLP-1 受体的活性。在另外的其它相关实施方案中，聚乙二醇化类似物对胰高血糖素受体激活的 EC<sub>50</sub> 为约 10nM 或更小，或具有至少约 0.5%、1%、1.5% 或 2% 的天然胰高血糖素针对胰高血糖素受体的活性。在某些实施方案中，类似物具有小于约 1% 的天然胰高血糖素针对胰高血糖素受体的活性。在其它实施方案中，类似物具有小于约 10%、5% 或 1% 的天然 GLP-1 针对 GLP-1 受体的活性。

[0084] 胰高血糖素肽可为包含经由接头连接的至少二个、三个或更多个肽的二聚体、三聚体或高次多聚体的部分,其中至少一个或两个肽都为胰高血糖素肽。二聚体可为同二聚体或异二聚体。在某些实施方案中,接头选自双官能硫醇交联剂和双官能胺交联剂。在某些实施方案中,接头为 PEG,例如 5kDa PEG、20kDa PEG。在某些实施方案中,接头为二硫键。例如,二聚体的每一单体可包含 Cys 残基(例如末端 Cys 或内部位置 Cys),每一 Cys 残基的硫原子参与二硫键的形成。在本发明某些方面,经由末端氨基酸(例如 N-末端或 C-末端)、经由内部氨基酸或经由至少一个单体的末端氨基酸和至少另一个单体的内部氨基酸来连接单体。在特定方面,经由 N-末端氨基酸连接单体。在某些方面,以“尾对尾”的方向将多聚体的单体连接在一起,其中将每一单体的 C-末端氨基酸连接在一起。可将缀合物部分共价连接到任何本文所述胰高血糖素肽,所述胰高血糖素肽包括二聚体、三聚体或高次多聚体。

[0085] 可对胰高血糖素肽单独或联合施用任何以下本文所述修饰,所述修饰提高胰高血糖素受体活性,保留部分胰高血糖素受体活性,改进溶解性,提高稳定性或减少降解。在某些实施方案中,胰高血糖素肽在至少 1mg/mL 浓度时于 6 和 8 之间或 6 和 9 之间或 7 和 9 之间的 pH(例如 pH7) 时为可溶,并在 24 小时后于 25°C 时任选保留原始肽的至少 95%(例如原始肽的 5% 或更少被降解或裂解)。

[0086] 提供了包含可药用载体或稀释剂的无菌药物组合物和包含器具(device)的药盒。提供了减少增重或诱导减重的方法,所述方法包括给予有需要的患者有效量的所述药物组合物,以减少增重或诱导减重。提供了治疗糖尿病的方法,所述方法包括给予有需要的患者有效量的所述药物组合物以降低血糖水平。

[0087] 本文所述所有治疗方法、药物组合物、药盒和其它类似的实施方案涵盖术语肽、激动剂、共激动剂、三-激动剂或类似物的应用包括其所有可药用盐或酯。

[0088] 前述简述并非意欲界定本发明的每一方面,在其它章节例如“详述”中阐述了其它实施方案。意欲将整篇文献叙述为统一的公开内容,应该理解,即使在本文的同一个句子或段落或章节中未同时找到本文所述特征的组合,但可涵盖所有可能的特征组合。

[0089] 此外,本发明包括以任何方式比由本文特定段落定义的变体更窄范围的本发明的任何一个或所有的实施方案。例如,在将本发明某些方面阐述为某种类型(genus)时,应该理解该类型中的每一个成员单独是本发明实施方案,所述类型的两个或多个成员的组合也是本发明实施方案。

[0090] 附图简述

[0091] 图 1 表示在给予单独溶媒(空心倒三角)、嵌合体 2 AIB2 Cys24(40KPEG)(闭合方框)、GIP 拮抗剂 Pro3 Cys24 GIP-NH<sub>2</sub>(1-42)40K PEG(空心菱形)、GIP 激动剂 AIB2 Cys24 GIP(1-42)40K PEG(带点线的空心正三角)或不相关的肽激素(带阴影倒三角)后,作为时间(天)函数的小鼠体重变化%的图表。

[0092] 图 2 表示在给予单独溶媒(空心倒三角)、嵌合体 2 AIB2 Cys24 40KPEG(闭合方框)、GIP 拮抗剂 Pro3 Cys24 GIP-NH<sub>2</sub>(1-42)40K PEG(空心菱形)、GIP 激动剂 AIB2 Cys24 GIP(1-42)40K PEG(带点线的空心正三角)或不相关的肽激素(带阴影倒三角)后,作为时间函数的小鼠摄食(以克表示)的图表。

[0093] 图 3 表示在给予单独溶媒(黑条)、嵌合体 2 AIB2 Cys24(40KPEG)(白条)、GIP 拮

抗剂Pro3 Cys24 GIP-NH2(1-42)40K PEG(阴影条)、GIP激动剂AIB2 Cys24 GIP(1-42)40K PEG(水平线条)或不相关肽激素(垂直线条)后第7天小鼠的血糖水平变化(mg/dL)的图表。

[0094] 图4表示在给予单独溶媒(闭合倒三角)、嵌合体2 AIB2(空心菱形)、嵌合体2 AIB2内酰胺(空心三角)、三激动剂肽MT-170(空心方框)、GIP/胰高血糖素共激动剂肽MT-182(闭合菱形)、GLP-1/GIP共激动剂肽MT-178(带点线的阴影三角)或GIP/胰高血糖素共激动剂肽MT-179(闭合方框)后,作为时间函数(天)的小鼠体重变化%图表。注意聚乙二醇化MT-179作为三激动剂起作用。

[0095] 图5为在给予单独溶媒(闭合正三角)、10nmol/kg(闭合倒三角)或35nmol/kg(空心方框)的GLP-1 E 16激动剂、10nmol/kg(空心倒三角)或35nmol/kg(闭合菱形)的三激动剂肽MT-170或10nmol/kg(灰色倒三角)或35nmol/kg(灰色方框)的GLP-1/GIP共激动剂肽MT-178后,作为时间函数(天)的小鼠体重变化%图表。

[0096] 图6在给予单独溶媒(黑条)、10nmol/kg(白条)或35nmol/kg(灰条)的GLP-1 E 16激动剂、10nmol/kg(水平线条)或35nmol/kg(垂直线条)的三激动剂肽MT-170或10nmol/kg(右斜线线条)或35nmol/kg(左斜线线条)的GLP-1/GIP共激动剂肽MT-178后第7天小鼠的血糖水平变化(mg/dL)的图表。

[0097] 图7表示在葡萄糖注射(在0时间点给予)前后作为时间函数的小鼠血糖水平(mg/dL)的图表,所述小鼠已经用溶媒对照、GLP-1激动剂肽对照、含有内酰胺(环状)的聚乙二醇化的具有GIP活性的胰高血糖素类似物(“mt-178”)或缺乏内酰胺(线性)的聚乙二醇化的具有GIP活性的胰高血糖素类似物(“mt-274”)以1,3或10nmol/kg/周进行注射(在-60的时间点)。本图数据排除了四只小鼠的数据,因为这些小鼠表现出攻击性行为并严重失重。

[0098] 图8表示在葡萄糖注射(在0时间点给予)前后作为时间函数的小鼠血糖水平(mg/dL)的图表,所述小鼠已经用溶媒对照、GLP-1激动剂肽对照、mt-178或mt-274以1,3或10nmol/kg/周进行注射(在葡萄糖注射前24小时)。本图数据排除了四只小鼠的数据,因为这些小鼠表现出攻击性行为并严重失重。

[0099] 图9表示在用溶媒对照、GLP-1激动剂肽对照、mt-178或mt-274以1,3或10nmol/kg/周进行注射后0或7天小鼠的血糖水平(mg/dL)的图表。本图数据排除了四只小鼠的数据,因为这些小鼠表现出攻击性行为并严重失重。

[0100] 图10表示在用溶媒对照、GLP-1激动剂肽对照、mt-178或mt-274以1,3或10nmol/kg/周注射后的0、1、3、5和7天小鼠体重变化百分比的图表。本图数据排除了四只小鼠的数据,因为这些小鼠表现出攻击性行为并严重失重。

[0101] 图11表示在用溶媒对照、GLP-1激动剂肽对照、mt-178、mt-178(TE)、mt-274或mt-274(TE)以10或35nmol/kg/周注射后的0或7天小鼠血糖水平(mg/dL)的图表。“TE”表示与40位Cys连接的PEG基团。

[0102] 图12表示在用溶媒对照、GLP-1激动剂肽对照、mt-178、mt-178(TE)、mt-274或mt-274(TE)以10或35nmol/kg/周注射后7天小鼠的血糖(mg/dL)变化图表。“TE”表示与40位Cys连接的PEG基团。

[0103] 图13表示在用溶媒对照、GLP-1激动剂肽对照、mt-178、mt-178(TE)、mt-274或

mt-274(TE) 以 10 或 35nmol/kg/ 周注射后 0、1、3、5、7 和 10 天小鼠体重变化百分比的图表。“TE”表示与 40 位 Cys 连接的 PEG 基团。

[0104] 图 14 表示在用溶媒对照、GLP-1 激动剂肽对照、mt-178、mt-178(TE)、mt-274 或 mt-274(TE) 以 10 或 35nmol/kg/ 周注射后 7 天小鼠体重变化百分比的图表。“TE”表示与 40 位 Cys 连接的 PEG 基团。

[0105] 图 15 表示在用溶媒对照、GLP-1 激动剂肽对照、mt-178、mt-274、线性未聚乙二醇化未酰化的肽 (“mt-311”)、C14 脂肪酰化线性肽 (“mt-309”)、C16 脂肪酰化线性肽 (“mt-298”) 或 C18 脂肪酰化线性肽 (“mt-310”) 以 10nmol/kg 注射后 0 或 7 天小鼠血糖水平 (mg/dL) 的图表。

[0106] 图 16 表示在用溶媒对照、GLP-1 激动剂肽对照、mt-178、mt-274、mt-311、mt-309、mt-298 或 mt-310 以 10nmol/kg 注射后的 0、1、3、5 和 7 天小鼠的体重变化百分比图表。

[0107] 图 17 表示在用溶媒对照、GLP-1 激动剂肽对照、mt-178、mt-274、mt-311、mt-309、mt-298 或 mt-310 以 10nmol/kg 注射后 7 天小鼠体重变化百分比图表。

[0108] 图 18 表示在用溶媒对照、利拉鲁肽 (liraglutide) (酰化 GLP-1 类似物)、C14 脂肪酰化的未聚乙二醇化线性肽 (“mt-260”)、C16 脂肪酰化的未聚乙二醇化线性肽 (“mt-261”) 或 C18 脂肪酰化的未聚乙二醇化线性肽 (“mt-262”) 以 25 或 125nmol/kg 每日 (QD) 注射持续 7 天后的 0 及 7 天小鼠的血糖水平变化 (mg/dL) 图表。

[0109] 图 19 表示在用溶媒对照、利拉鲁肽、mt-260、mt-261 或 mt-262 以 25 或 125nmol/kg 注射后 0、1、3、5 和 7 天小鼠的体重变化百分比图表。

[0110] 图 20 表示在用溶媒对照、利拉鲁肽、mt-260、mt-261 或 mt-262 以 25 或 125nmol/kg 注射后 7 天小鼠的体重变化百分比图表。

[0111] 图 21 表示在用溶媒对照、利拉鲁肽 (30nmol/kg/ 天) 或 mt-261 (0.3、1、3、10 或 30nmol/kg/ 天) 首次注射后 0、1、3、5 和 7 天小鼠的体重变化 (g) 图表。

[0112] 图 22 表示在用溶媒对照、利拉鲁肽 (30nmol/kg/ 天) 或 mt-261 (0.3、1、3、10 或 30nmol/kg/ 天) 首次注射后 7 天小鼠的脂肪量图表。

[0113] 图 23 表示在用溶媒对照、利拉鲁肽 (30nmol/kg/ 天) 或 mt-261 (0.3、1、3、10 或 30nmol/kg/ 天) 首次注射后 0 和 7 天小鼠血糖水平 (mg/dL) 图表。

[0114] 图 24 表示在用 mt-263、毒蜥外泌肽 -4 或溶媒对照以括号中表示的剂量 (nmol/kg/ 天) 注射的小鼠中体重变化 (% 变化) 作为时间函数的线图。

[0115] 图 25 表示在用 mt-263、毒蜥外泌肽 -4 或溶媒对照以括号中表示的剂量 (nmol/kg/ 天) 注射的小鼠中体重总变化 (%) (第 7 天的测量与第 0 天的测量进行比较) 的条形图。

[0116] 图 26 表示在用 mt-263、毒蜥外泌肽 -4 或溶媒对照以括号中表示的剂量 (nmol/kg/ 天) 注射的小鼠中血糖水平变化 (mg/dL) (第 7 天的测量与第 0 天的测量进行比较) 的条形图。

[0117] 图 27 表示在用溶媒对照、利拉鲁肽、mt-277、mt-278 或 mt-279 首次注射后 0、1、3、5 和 7 天小鼠的体重变化 % 的图表。

[0118] 图 28 表示在用溶媒对照、利拉鲁肽、mt-277、mt-278 或 mt-279 首次注射后的 0 和 7 天小鼠的血糖水平 (mg/dL) 图表。



[0119] 图 29 表示在给予 mt-331、mt-311 或溶媒对照后 7 天测量的小鼠体重的总变化 (%) 的图表。剂量 (nmol/kg) 表示在括号中。

[0120] 图 30 表示给予 mt-331、mt-311 或溶媒对照后 7 天测量的小鼠的总摄食 (g) 的图表。剂量 (nmol/kg) 表示在括号中。

[0121] 图 31 表示在给予 mt-331、mt-311 或溶媒对照后 7 天测量的小鼠的血糖水平总变化的图表。剂量 (nmol/kg) 表示在括号中。

[0122] 图 32 表示在以括号中表示的剂量 (nmol/kg) 给予 mt-331、mt-353 或溶媒对照后 7 天测量的小鼠体重的总变化图表。

[0123] 图 33 表示在以括号中表示的剂量 (nmol/kg) 给予 mt-331、mt-353 或溶媒对照后 7 天测量的小鼠总摄食 (g) 的图表。

[0124] 图 34 表示在以括号中表示的剂量 (nmol/kg) 给予 mt-331、mt-353 或溶媒对照后 7 天测量的小鼠血糖水平变化 (mg/dL) 的图表

[0125] 图 35 表示在首次给予 mt-277、mt-278、mt-279 或溶媒对照后 7 天测量的小鼠体重的总变化 (%) 图表。

[0126] 图 36 表示在首次给予 mt-261、mt-309 或溶媒对照后 6 天测量的小鼠体重的总变化 (%) 图表。

[0127] 图 37 表示在首次给予 mt-261、mt-309 或溶媒对照后 6 天测量的小鼠血糖水平 (mg/dL) 图表。同一式样的每对条块中的第一个条块是在第 0 天测量的血糖水平, 每对条块中的第二个条块是第 6 天的水平。

[0128] 图 38 表示在用溶媒对照或 mt-261 如本文进一步所述注射的小鼠在首次给予 mt-261 后 6 天测量的体重的总变化 (%) (与给药第一天测量的体重进行比较) 的条形图。

[0129] 详述

[0130] 定义

[0131] 在阐述及主张本发明权利过程中, 将根据下面提出的定义来使用以下术语。

[0132] 本文所用术语“约”意指比所述值或值的范围大或小 10%, 但并非意欲将任何值或值范围指定为只能是该较为宽泛的界限。由术语“约”修饰的每个值或值范围亦意欲包含所述绝对值或值范围的实施方案。

[0133] 本文所用术语“可药用载体”包括任何标准药物载体, 例如磷酸盐缓冲的盐水溶液、水、乳剂 (例如油 / 水或水 / 油乳剂) 及各种类型的湿润剂。本术语亦包含美国联邦政府管理机构批准的或美国药典列出的用于动物 (包括人) 的任何药剂。

[0134] 本文所用术语“可药用盐”指保留母体化合物的生物学活性的化合物的盐, 它们不会在生物学上或其它方面不利。本文公开的很多化合物由于存在氨基和 / 或羧基或与其类似的基团能够形成酸和 / 或碱盐。

[0135] 可药用碱加成盐可自无机碱及有机碱制备。仅为了举例, 来源于无机碱的盐包括钠、钾、锂、铵、钙和镁的盐。来源于有机碱的盐包括但不限于伯胺盐、仲胺盐和叔胺盐。

[0136] 可药用酸加成盐可自无机酸及有机酸制备。来源于无机酸的盐包括盐酸、氢溴酸、硫酸、硝酸、磷酸等的盐。来源于有机酸的盐包括乙酸、丙酸、羟基乙酸、丙酮酸、草酸、苹果酸、丙二酸、琥珀酸、马来酸、富马酸、酒石酸、柠檬酸、苯甲酸、肉桂酸、扁桃酸、甲磺酸、乙磺酸、对甲苯磺酸、水杨酸等的盐。

[0137] 本文所用术语“治疗”包括预防特定病症或病况,或减轻与特定病症或病况有关的症状,和/或预防或消除所述症状。例如,本文所用术语“治疗糖尿病”一般指改变血液葡萄糖水平到正常水平,视给定情况而定可包括提高或降低血糖水平。

[0138] 本文所用胰高血糖素肽的“有效”量或“治疗有效量”指无毒但足以提供预期效应的肽的量。例如一种预期效应可能为防止或治疗低血糖症,其例如由提高血糖水平来测量。本发明胰高血糖素肽的备选的所需效应应包括:治疗高血糖症,例如由血糖水平变化接近正常来测量;或诱导减重/防止增重,例如由减轻体重来测量;或预防或减少体重增加;或使身体脂肪分布正常化。“有效”量在不同受试者之间将不相同,这要视个体年龄、一般状况、给药方式等而定。因此,指定准确的“有效量”一直都是不可能的。然而,本领域一般人员用常规实验方法可确定任何个体病例的合适的“有效”量。

[0139] 术语“胃肠外”意指不通过消化道而是通过某些其它途径,例如皮下、肌肉内、脊柱内或静脉内。

[0140] 本文所用术语“纯化的”等术语是指基本上无污染物的分子或化合物的分离物形式,而所述污染物在天然或自然环境中通常与所述分子或化合物结合在一起。本文所用术语“纯化的”不需要绝对纯度;相反,其意欲作为相对定义。本文所用术语“纯化的多肽”阐述与其它化合物分开的多肽,所述其它化合物包括但不限于核酸分子、脂类和碳水化合物。

[0141] 术语“分离的”需要从其初始环境(例如若其为天然存在的物质则指自然环境中移出所述物质。例如,存在于活体动物中的天然存在的多核苷酸未被分离,但与天然系统中所共存的某些或所有物质分开的同样的多核苷酸为分离的多核苷酸。

[0142] 本文所用术语“肽”包含3个或更多个氨基酸且通常小于50个氨基酸的序列,其中所述氨基酸为天然存在的或非天然存在的氨基酸。非天然存在的氨基酸是指不在体内天然存在的氨基酸,但其可被引入到本文所述肽结构中。

[0143] 本文所用术语“多肽”和“蛋白质”为可互换使用的术语,指氨基酸聚合物,而不考虑聚合物的长度。通常多肽和蛋白质具有长于“肽”的聚合物长度。

[0144] 本文所用“胰高血糖素肽”包括包含SEQ ID NO:1氨基酸序列或SEQ ID NO:1氨基酸序列的任何类似物的任何肽,所述类似物包括肽的氨基酸取代、添加、缺失或翻译后修饰(例如甲基化、酰化、烷化、泛素化、分子内共价键合例如内酰胺桥形成、聚乙二醇化等),其中所述类似物刺激胰高血糖素或GLP-1或GIP受体活性,其例如用实施例16所述测定由cAMP产量来测量。

[0145] 术语“胰高血糖素激动剂”指包含刺激胰高血糖素受体活性的胰高血糖素肽的复合物,其例如用实施例16所述测定由cAMP产量来测量。

[0146] 本文所用氨基酸“修饰”指氨基酸的取代、添加或缺失,包括用人蛋白质中常见的20种氨基酸以及非典型或非天然存在的氨基酸中的任何一种来取代或添加。在整篇说明书中,所有由数字提及特定氨基酸位置(例如28位)都指在天然胰高血糖素(SEQ ID NO:1)中该位置的氨基酸或其任何类似物中对应的氨基酸位置。例如,本文提及“28位”应意指某种胰高血糖素类似物的对应的27位,在该类似物中缺失了SEQ ID NO:1的第一个氨基酸。同样地,本文提及“28位”应意指某种胰高血糖素类似物的对应的29位,在该类似物中在SEQ ID NO:1的N-末端之前添加了一个氨基酸。非典型氨基酸的

商业来源包括 Sigma-Aldrich (Milwaukee, WI)、ChemPep Inc. (Miami, FL) 和 Genzyme Pharmaceuticals (Cambridge, MA)。非典型氨基酸可购自商业供应商、从头合成或从其它氨基酸经化学修饰或衍生自其它氨基酸。

[0147] 本文所用术语“天然胰高血糖素”指由 SEQ ID NO:1 序列组成的肽,术语“天然 GIP”指由 SEQ ID NO:4 序列组成的肽,而术语“天然 GLP-1”是指定为 GLP-1(7-36) 酰胺(由 SEQ ID NO:3 序列组成)、GLP-1(7-37) 酸(由 SEQ ID NO:2 序列组成)或这两种化合物的混合物的通称。本文在缺乏任何进一步指定时一般提及“胰高血糖素”或“GIP”或“GLP-1”,分别意指天然胰高血糖素或天然 GIP 或天然 GLP-1。

[0148] 本文所用氨基酸“取代”指由不同的氨基酸残基来替换一个氨基酸残基。

[0149] 本文所用术语“保守性氨基酸取代”在本文中定义为在以下 5 组之一中进行互换:

[0150] I. 脂肪族的非极性或稍带极性的小残基:

[0151] Ala、Ser、Thr、Pro、Gly;

[0152] II. 极性的带负电荷的残基及其酰胺和酯:

[0153] Asp、Asn、Glu、Gln、半胱磺酸和高半胱磺酸;

[0154] III. 极性的带正电荷的残基:

[0155] His、Arg、Lys、鸟氨酸 (Orn);

[0156] IV. 脂肪族的非极性大残基:

[0157] Met、Leu、Ile、Val、Cys、正亮氨酸 (Nle)、高半胱氨酸

[0158] V. 芳香族大残基:

[0159] Phe、Tyr、Trp、乙酰苯丙氨酸

[0160] 本文所用通用术语“聚乙二醇链”或“PEG 链”,指由通式  $H(OCH_2CH_2)_nOH$  代表的支链或直链形式的环氧乙烷及水的缩聚物的混合物,其中  $n$  为至少 9。没有任何另外的界定,本术语意欲包括平均分子量选自 500-40,000 道尔顿范围的乙二醇的聚合物。“聚乙二醇链”或“PEG 链”与数字后缀联合使用,表示其大约平均分子量。例如,PEG-5,000 指具有平均约 5,000 的总分子量的聚乙二醇链。

[0161] 本文所用术语“聚乙二醇化的”及类似术语,指业已通过让聚乙二醇链与化合物连接来使化合物的天然结构得到改变的化合物。“聚乙二醇化的胰高血糖素肽”是具有与胰高血糖素肽共价结合的 PEG 链的胰高血糖素肽。

[0162] 本文通常提及肽意欲包含氨基和羧基末端经过修饰的肽。例如,包含置换末端羧酸的酰胺基的氨基酸链意欲包括在指定为标准氨基酸的氨基酸序列中。

[0163] 本文所用“接头”为让两个分开实体互相结合的键、分子或分子团。接头可为两个实体提供最佳间距,或可进一步提供允许这两个实体彼此分开的易分解连接。易分解连接包括光可裂解基团、酸-易分解部分、碱-易分解部分和酶可裂解基团。

[0164] 本文所用“二聚体”为包含经由接头彼此共价结合的两个亚单位的复合体。当不用任何限定语言使用术语二聚体时,既包含同二聚体又包含异二聚体。同二聚体包含两个一样的亚单位,而异二聚体包含两个不同的亚单位,但这两个亚单位基本上彼此相似。

[0165] 本文所用术语“带电荷的氨基酸”指在生理 pH 水溶液中包含带负电荷(即去质子化)或带正电荷(即质子化)的侧链的氨基酸。例如,带负电荷的氨基酸包括天冬氨酸、

谷氨酸、半胱氨酸、高半胱氨酸和高谷氨酸，而带正电荷的氨基酸包括精氨酸、赖氨酸和组氨酸。带电荷的氨基酸包括在人蛋白质中常见的 20 种氨基酸以及非典型或非天然存在的氨基酸中的带电荷的氨基酸。

[0166] 本文所用术语“酸性氨基酸”指包含第二个酸性部分的氨基酸，所述第二个酸性部分包括例如羧酸或磺酸基。

[0167] 本文所用术语某分子相对于第二受体对第一受体的“选择性”指以下比率：该分子针对第二受体的 EC50 除以该分子针对第一受体的 EC50。例如，具有对第一受体 1nM 的 EC50 和对第二受体 100nM 的 EC50 的分子对第一受体相对于对第二受体的选择性为 100- 倍。

[0168] 本文所用分子的“胰高血糖素效价”指所述分子针对胰高血糖素受体的 EC50 除以天然胰高血糖素针对胰高血糖素受体的 EC50 的比率。

[0169] 本文所用分子的“GIP 效价”指所述分子针对 GIP 受体的 EC50 除以天然 GIP 针对 GIP 受体的 EC50 的比率。

[0170] 本文所用分子的“GLP-1 效价”指所述分子针对 GLP-1 受体的 EC50 除以天然 GLP-1 针对 GLP-1 受体的 EC50 的比率。

[0171] 本文所用术语“烷基”指含有指定数目的碳原子的直链或支链烃。例示性烷基包括甲基、乙基和直链丙基。

[0172] 本文所用术语“杂烷基”指含有指定碳原子数目及在主链结构中至少一个杂原子的直链或支链烃。用于本文目的的适当杂原子包括但不限于 N、S 和 O。

[0173] 本文所用术语“环烷基”指含有指定数目的碳原子的环烃基，例如环丙基、环丁基、环己基和环戊基。

[0174] 本文所用术语“杂环”指含有指定数目的碳原子及独立选自氧、氮和硫的 1-3 个杂原子的环烃基。杂环烷基的非限制性实例包括哌啶、四氢呋喃、四氢吡喃、二氢呋喃、吗啉、噻吩等。

[0175] 本文所用术语“芳基”指含有指定数目的碳原子的单环或多环芳香族基团，优选单环或二环芳香族基团，例如苯基或萘基。除非另外指出，否则芳基可不被取代或被取代。

[0176] 本文所用术语“杂芳基”指含有指定数目的碳原子和选自氧、氮和硫的至少一个杂原子的单环或多环芳香族基团。除非另外指出，否则芳基可不被取代或被取代。

[0177] 实施方案

[0178] 本文所公开的修饰使得可操控胰高血糖素 (SEQ ID NO :1)，以制备表现出提高的 GIP 活性、胰高血糖素活性和 / 或 GLP-1 活性的胰高血糖素肽。本文公开的其它修饰延长所得到的肽的半衰期，增加溶解性或提高稳定性。本文公开的另一一些修饰对活性没有影响，或可进行这些修饰而不会破坏一种或多种所需活性。可单独施用或联合施用为同一目的（例如提高 GIP 活性）的任何组合。可单独施用或联合施用提供增强的特性的任何单一组合或一套组合，例如可与延长半衰期联合提高 GIP 和 / 或 GLP-1 活性。

[0179] 在例示性实施方案中，所述胰高血糖素肽相对于天然胰高血糖素序列可包含总共 1 个、至多 2 个、至多 3 个、至多 4 个、至多 5 个、至多 6 个、至多 7 个、至多 8 个、至多 9 个或至多 10 个氨基酸修饰。在某些实施方案中，所述胰高血糖素肽在天然胰高血糖素的对应位置保留至少 22 个、23 个、24 个、25 个、26 个、27 个或 28 个天然存在的氨基酸（例如相对于天然存在的胰高血糖素有 1-7、1-5 或 1-3 个修饰）。在相关实施方案中，1、2、3、4、5、6 或更

多个氨基酸修饰可为非保守性取代、添加或缺失。在某些实施方案中,1、2、3、4、5、6 或更多个氨基酸修饰可为保守性取代。在某些实施方案中,在 2、5、7、10、11、12、13、14、17、18、19、20、21、24、27、28 或 29 位中的任何位置进行 1、2、3、4 或 5 个非保守性取代,并在任何这些位置至多进行 5 个另外的保守性取代。在某些实施方案中,在 1-16 位的氨基酸内进行 1、2 或 3 个氨基酸修饰,并在 17-26 位的氨基酸内进行 1、2 或 3 个氨基酸修饰。

#### [0180] 影响 GIP 活性的修饰

[0181] 通过 1 位的氨基酸修饰提供提高的针对 GIP 受体的活性。例如,用芳香族大氨基酸取代 1 位 His,所述氨基酸任选为 Tyr、Phe、Trp、氨基 -Phe、硝基 -Phe、氯 -Phe、磺基 -Phe、4-吡啶基 -Ala、甲基 -Tyr 或 3-氨基 Tyr。意想不到的是,1 位 Tyr 与对应于 12-29 位氨基酸区域内的  $\alpha$  螺旋的稳定化的组合,提供激活 GIP 受体以及 GLP-1 受体和胰高血糖素受体的胰高血糖素肽。可通过例如形成共价或非共价分子内桥,或用稳定  $\alpha$  螺旋的氨基酸(例如  $\alpha$ ,  $\alpha$ -二取代氨基酸)取代和/或插入大约 12-29 位的氨基酸,来稳定  $\alpha$  螺旋结构。

[0182] 通过在 27 和/或 28 位并任选在 29 位的氨基酸修饰,亦提供提高的针对 GIP 受体的活性。例如,用脂肪族大氨基酸取代 27 位 Met,所述脂肪族大氨基酸任选 Leu;用脂肪族小氨基酸取代 28 位 Asn,所述脂肪族小氨基酸任选 Ala;和用脂肪族小氨基酸取代 29 位 Thr,所述脂肪族小氨基酸任选 Gly。用 LAG 在 27-29 位取代相对于在这些位置的天然 MNT 序列提供提高的 GIP 活性。

[0183] 通过在 12 位的氨基酸修饰,亦提供提高的针对 GIP 受体的活性。例如,用脂肪族非极性大氨基酸在 12 位取代,所述氨基酸任选 Ile。

[0184] 通过在 17 和/或 18 位的氨基酸修饰,亦提供提高的针对 GIP 受体的活性。例如,用极性残基在 17 位取代,所述残基任选 Gln;用脂肪族小氨基酸在 18 位取代,所述氨基酸任选 Ala。用 QA 在 17 和 18 位取代相对于这些位置的天然 RR 序列提供提高的 GIP 活性。

[0185] 可单独施用或联合施用上述提高 GIP 受体活性的任何修饰。提高 GIP 受体活性的修饰组合比采用单独的任何所述修饰通常提供更高的 GIP 活性。

#### [0186] 影响胰高血糖素活性的修饰

[0187] 在某些实施方案中,提供提高效价并任选改进溶解性和稳定性的胰高血糖素类似物。在一个实施方案中,通过在天然胰高血糖素 (SEQ ID NO:1) 的 16 位的氨基酸修饰,提供提高的胰高血糖素效价。作为非限制性实例,可通过用谷氨酸或另一具有 4 个原子长的侧链的带负电荷的氨基酸,或作为备选用谷氨酰胺、高谷氨酸或高半胱磺酸,或用具有含至少一个杂原子(例如 N、O、S、P)的侧链并具有约 4(或 3-5)个原子长的侧链的带电荷的氨基酸中的任何一种,取代天然存在的 16 位的丝氨酸,来提供所述提高的效价。在某些实施方案中,胰高血糖素肽保留其相对于 GLP-1 受体对胰高血糖素受体的原始选择性。

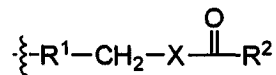
[0188] 可通过在 3 位的氨基酸修饰,例如用酸性、碱性或疏水氨基酸取代 3 位的天然存在的谷氨酰胺,来降低胰高血糖素受体活性。例如,用谷氨酸、鸟氨酸或正亮氨酸在 3 位取代相当大地降低或破坏胰高血糖素受体活性。

[0189] 可通过用谷氨酰胺类似物修饰 3 位的 Gln,来实现保持或提高针对胰高血糖素受体的活性。例如,包含 3 位谷氨酰胺类似物的胰高血糖素肽,可表现出天然胰高血糖素 (SEQ ID NO:1) 针对胰高血糖素受体活性的约 5%、约 10%、约 20%、约 50%或约 85%或更大。在某些实施方案中,包含 3 位谷氨酰胺类似物的胰高血糖素肽,可表现出具有与包含谷氨酰

胺类似物的肽同样的氨基酸序列但 3 位氨基酸没有修饰的对应的胰高血糖素肽（例如 SEQ ID NO:250 或 SEQ ID NO:251）针对胰高血糖素受体活性的约 20%、约 50%、约 75%、约 100%、约 200% 或约 500% 或更大。在某些实施方案中，包含 3 位谷氨酰胺类似物的胰高血糖素肽表现出提高的针对胰高血糖素受体的活性，但该提高的活性不大于天然胰高血糖素活性的或不大于具有与包含谷氨酰胺类似物的肽同样的氨基酸序列但 3 位氨基酸没有修饰的对应的胰高血糖素肽的活性的 1000%、10,000%、100,000% 或 1,000,000%。

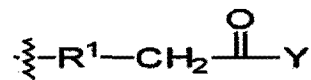
[0190] 在某些实施方案中，所述谷氨酰胺类似物为包含结构 I、II 或 III 的侧链的天然存在的氨基酸或非天然存在的氨基酸：

[0191]



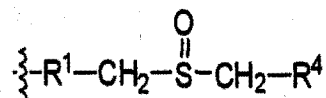
[0192] 结构 I

[0193]



[0194] 结构 II

[0195]



[0196] 结构 III

[0197] 其中  $R^1$  为  $C_{0-3}$  烷基或  $C_{0-3}$  杂烷基； $R^2$  为  $NHR^4$  或  $C_{1-3}$  烷基； $R^3$  为  $C_{1-3}$  烷基； $R^4$  为 H 或  $C_{1-3}$  烷基；X 为 NH、O 或 S；和 Y 为  $NHR^4$ 、 $SR^3$  或  $OR^3$ 。在某些实施方案中，X 为 NH 或 Y 为  $NHR^4$ 。在某些实施方案中， $R^1$  为  $C_{0-2}$  烷基或  $C_1$  杂烷基。在某些实施方案中， $R^2$  为  $NHR^4$  或  $C_1$  烷基。在某些实施方案中， $R^4$  为 H 或  $C^1$  烷基。在例示性实施方案中，提供包含结构 I 侧链的氨基酸，其中  $R^1$  为  $CH_2-S$ ，X 为 NH， $R^2$  为  $CH_3$ （乙酰氨基甲基-半胱氨酸，C(Acm)）； $R^1$  为  $CH_2$ ，X 为 NH， $R^2$  为  $CH_3$ （乙酰基二氨基丁酸，Dab(Ac)）； $R^1$  为  $C_0$  烷基，X 为 NH， $R^2$  为  $NHR^4$  和  $R^4$  为 H（氨基甲酰二氨基丙酸，Dap（脲））；或  $R^1$  为  $CH_2-CH_2$ ，X 为 NH 和  $R^2$  为  $CH_3$ （乙酰鸟氨酸，Orn(Ac)）。在例示性实施方案中，提供包含结构 II 侧链的氨基酸，其中  $R^1$  为  $CH_2$ ，Y 为  $NHR^4$ ， $R^4$  为  $CH_3$ （甲基谷氨酰胺，Q(Me)）；在例示性实施方案中，提供包含结构 III 的侧链的氨基酸，其中  $R^1$  为  $CH_2$ ， $R^4$  为 H（甲硫氨酸-亚砷，M(O)）；在特定实施方案中，3 位氨基酸被 Dab(Ac) 取代。例如，胰高血糖素激动剂可包含 SEQ ID NO:243-248、250、251 和 253-256 中任何一种的氨基酸序列。

[0198] 影响 GLP-1 活性的修饰

[0199] 通过用电中性基团例如酰胺或酯代替 C-末端氨基酸的羧酸，来提供提高的针对 GLP-1 受体的活性。

[0200] 通过稳定胰高血糖素 C-末端部分（大约 12-29 位氨基酸）的  $\alpha$ -螺旋结构，例如通过形成两个氨基酸侧链之间的分子内桥，或用稳定  $\alpha$  螺旋的氨基酸（例如  $\alpha$ ， $\alpha$ -二取代氨基酸）取代和 / 或插入大约 12-29 位的氨基酸，亦提供提高的针对 GLP-1 受体的活性。可通过氢键或离子相互作用，例如形成盐桥，或通过共价键，让这些氨基酸侧链彼此连

接。在某些实施方案中,在被三个间插氨基酸分开的氨基酸之间形成桥,即在“i”位氨基酸和“i+4”位氨基酸之间形成桥,其中 i 为从 12 到 25 的任何整数(例如 12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24 或 25)。在例示性实施方案中,12 和 16、13 和 17、16 和 20、17 和 21、20 和 24 或 24 和 28 的氨基酸对(氨基酸对中的  $i = 12、16、20$  或 24)的侧链彼此连接,因此稳定胰高血糖素的  $\alpha$  螺旋。

[0201] 在其它实施方案中,在被两个间插氨基酸分开的氨基酸之间形成桥,即在“j”位氨基酸和“j+3”位氨基酸之间形成桥,其中 j 为从 12 到 26 的任何整数(例如 12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25 或 26)。在例示性实施方案中,j 为 17。在另外的实施方案中,在被六个间插氨基酸分开的氨基酸之间形成桥,即在“k”位氨基酸和“k+7”位氨基酸之间形成桥,其中 k 为从 12 到 22 的任何整数(例如 12、13、14、15、16、17、18、19、20、21 或 22)。在一个实施方案中,k 为 17。

[0202] 在某些实施方案中,桥或接头长约 8(或约 7-9)个原子,尤其是当桥在 i 和 i+4 位置之间时。在某些实施方案中,桥或接头长约 6(或约 5-7)个原子,尤其是当桥在 j 和 j+3 位置之间时。

[0203] 在某些实施方案中,通过以下方式来形成分子内桥:(a)用谷氨酸或用另一具有含 4 个原子长的侧链的带负电荷的氨基酸,或作为备选用谷氨酰胺、高谷氨酸或高半胱氨酸或具有含至少一个杂原子(例如 N、O、S、P)的侧链并含约 4(或 3-5)个原子长的侧链的带电荷的氨基酸中的任何一种,取代天然存在的 16 位的丝氨酸;和(b)用另一具有带电荷或有形成氢键能力并至少约 5(或约 4-6)个原子长的侧链的亲水的氨基酸取代天然存在的 20 位的谷氨酰胺,所述亲水的氨基酸例如赖氨酸、瓜氨酸、精氨酸或鸟氨酸。所述 16 和 20 位的氨基酸侧链可形成盐桥,或可共价连接。

[0204] 在一个实施方案中,这两个氨基酸彼此结合形成内酰胺环。内酰胺环的大小可视氨基酸侧链的长度而变化,在一个实施方案中,通过让赖氨酸氨基酸的侧链与谷氨酸的侧链连接形成内酰胺。内酰胺环的酰胺键的次序可逆(例如可在 Lys12 和 Glu16 侧链之间形成内酰胺环,或作为备选在 Glu 12 和 Lys16 侧链之间形成内酰胺环)。

[0205] 在某些实施方案中,通过形成分子内桥而不是内酰胺桥来实现胰高血糖素肽的 C-末端部分的  $\alpha$  螺旋结构的稳定化。例如,合适的共价键合方法包括以下方法中的任何一种或多种:烯烃复分解(olefin metathesis)、基于羊毛硫氨酸的环化、二硫桥或修饰的含硫桥形成、使用  $\alpha, \omega$ -二氨基烷烃系链( $\alpha, \omega$ -diaminoalkane tether)、形成金属-原子桥,使用其它的肽环化手段来稳定  $\alpha$  螺旋。

[0206] 可通过丙氨酸取代 18 位的天然精氨酸进一步提高针对 GLP-1 受体的效价。

[0207] 可单独施用或联合施用上述任何提高 GLP-1 受体活性的修饰。提高 GLP-1 受体活性的修饰组合通常比单独采用任何所述修饰提供更高的 GLP-1 活性。例如,本发明提供以下胰高血糖素肽:包含在 16 位、20 位和在 C-末端羧酸基团的修饰的胰高血糖素肽,任选所述胰高血糖素肽在 16 和 20 位氨基酸之间含共价键;包含在 16 位和在 C-末端羧酸基团的修饰的胰高血糖素肽;包含在 16 位和 20 位修饰的胰高血糖素肽,任选所述胰高血糖素肽在 16 和 20 位氨基酸之间含共价键;和包含在 20 位和在 C-末端羧酸基团修饰的胰高血糖素肽。

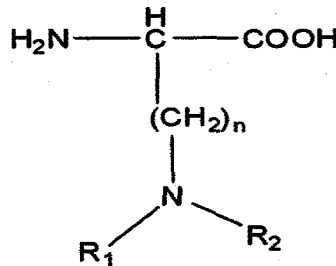
[0208] 可通过包含以下基团来降低 GLP-1 活性:(i)C-末端  $\alpha$  羧酸酯基团;(ii)用缺乏

羟基的氨基酸例如 Abu 或 Ile 取代 7 位 Thr ;(iii) 缺失位于 27 或 28 位氨基酸的 C- 末端的一个或多个氨基酸 ( 例如缺失 28 位氨基酸, 缺失 28 和 29 位氨基酸 ), 以产生 27 个或 28 个氨基酸的肽 ; 或 (iv) 其组合。

[0209] 影响针对胰高血糖素、GLP-1 和 GIP 受体每一种的活性的修饰

[0210] 通过以下方式提供提高的针对胰高血糖素受体、GLP-1 受体和 GIP 受体中的每一种的活性 : (i) 用式 IV 氨基酸进行 16 位 Ser 的氨基酸取代 :

[0211]



[0212] [ 式 IV ],

[0213] 其中 n 为 1-16 或 1-10 或 1-7 或 1-6 或 2-6 或 2 或 3 或 4 或 5, R<sub>1</sub> 和 R<sub>2</sub> 各独立选自 H、C<sub>1</sub>-C<sub>18</sub> 烷基、(C<sub>1</sub>-C<sub>18</sub> 烷基)OH、(C<sub>1</sub>-C<sub>18</sub> 烷基)NH<sub>2</sub>、(C<sub>1</sub>-C<sub>18</sub> 烷基)SH、(C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub> 烷基)(C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>) 环烷基、(C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub> 烷基)(C<sub>2</sub>-C<sub>5</sub> 杂环)、(C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub> 烷基)(C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub> 芳基)R<sub>7</sub> 和 (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 烷基)(C<sub>3</sub>-C<sub>9</sub> 杂芳基), 其中 R<sub>7</sub> 为 H 或 OH, 式 IV 氨基酸侧链包含游离氨基 ; 和 (ii) 用 α, α - 二取代氨基酸例如 AIB 进行 20 位 Gln 的氨基酸取代。在某些实施方案中, 16 位氨基酸为 Orn、Dab、Lys 或高 Lys, 20 位氨基酸为 AIB。在特定实施方案中, 16 位氨基酸为 Lys, 20 位氨基酸为 AIB。

[0214] 可通过延长肽的长度, 例如通过融合例如约 1-21、约 9-21、约 6-18、约 9-12 或约 10 或 11 个氨基酸长的 C- 末端延伸肽, 来进一步提高包含 16 位式 IV 氨基酸和 20 位 α, α - 二取代氨基酸的类似物针对胰高血糖素受体、GLP-1 受体和胰高血糖素受体每一种的活性。在某些实施方案中, 通过融合 GPSSGAPPPS (SEQ ID NO :95) 或 XGPSSGAPPPS (SEQ ID NO :96) 来延长 C- 末端, 其中 X 为 Gly 或脂肪族或非极性或非极性的小氨基酸。在备选实施方案中, 通过融合 GPSSGAPPPS (SEQ ID NO :95) 来延长 C- 末端, 并将 1-11 个氨基酸融合到 GPSSGAPPPS (SEQ ID NO :95) 的 C- 末端。例如, 类似物的 C- 末端突出端可包含 GPSSGAPPPS (SEQ ID NO :95) 接着在 SEQ ID NO :95 的 C- 末端后面有 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10 或 11 个另外的氨基酸。这 1-11 个另外的氨基酸可为例如脂肪族小氨基酸, 例如 Ala。在这点上, C- 末端突出端可例如包含 GPSSGAPPPS<sub>m</sub> 氨基酸序列, 其中 m 为 1-11。

[0215] 当对位于 C- 末端突出端内的氨基酸或 C- 末端氨基酸 ( 例如添加到 C- 末端突出端的 C- 末端的氨基酸 ) 进行酰化或烷化时, 可进一步实现具有 GIP 活性的基于胰高血糖素的类似物针对胰高血糖素受体、GLP-1 受体和 GIP 受体中的每一种的活性的提高, 所述类似物包括包含 16 位式 IV 氨基酸和 20 位 α, α - 二取代氨基酸的类似物。酰化或烷化可为位于例如 C- 末端突出端的类似物的 30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49 和 50 位中的任何位置的氨基酸。在某些实施方案中, 酰化或烷化的氨基酸位于 C- 末端延伸的类似物的 37、38、39、40、41、42 或 43 位。在某些实施方案中, 酰化或烷化氨基酸为式 I、II 或 III 的氨基酸, 例如 Lys, 所述氨基酸与酰基或烷基例如 C10-C22 连接。在某些实施方案中, Lys 位于由 SEQ ID NO :95 组成的 C- 末端突出端的 C- 末端, 致使 Lys、



Dab、Orn 或高 Lys 位于类似物的 40 位。任选 C- 末端延长的肽在例如本文所述的任何位置（例如 24 位）还被聚乙二醇化。

[0216] 可通过经由间隔物（例如氨基酸、二肽、三肽、亲水双官能间隔物、疏水双官能间隔物）的氨基酸酰化或烷基化，另外实现具有 GIP 活性的基于胰高血糖素的类似物的针对胰高血糖素受体、GLP-1 受体和 GIP 受体中每一种的活性的提高。在某些实施方案中，具有 GIP 活性的基于胰高血糖素的类似物包含经由间隔物的酰基或烷基，其中间隔物与类似物的 10 位氨基酸的侧链连接。在其它实施方案中，类似物包含位于 29 位氨基酸的 C- 末端的 1-21 个氨基酸的 C- 末端突出端（例如包含 SEQ ID NO :95 或 96 的氨基酸序列的延伸），并且与酰基或烷基共价连接的间隔物与在对应于关于 SEQ ID NO :1 的 37-43 位之一的位置处的突出端的氨基酸连接。在特定实施方案中，间隔物与关于 SEQ ID NO :1 的 40 位的氨基酸连接。在某些实施方案中，间隔物长 3-10 个原子。在特定方面，间隔物和酰基或烷基的总长为约 14- 约 28 个原子长。例如，间隔物可为氨基酸，包括但不限于本文所述的任何氨基酸。同样例如，间隔物可为包含本文所述氨基酸的二肽或三肽。在特定方面，间隔物为以下二肽之一：Ala-Ala、 $\beta$  Ala- $\beta$  Ala 或  $\gamma$  Glu- $\gamma$  Glu。本文进一步阐述为提高针对胰高血糖素受体、GLP-1 受体和 GIP 受体中的一种或多种的活性目的的另外的合适间隔物。

[0217] 改善 DPP-IV 抗性的修饰

[0218] 1 和 / 或 2 位的修饰可提高肽对二肽基肽酶 IV (DPP IV) 裂解的抗性。例如，可用 D- 丝氨酸、D- 丙氨酸、缬氨酸、甘氨酸、N- 甲基丝氨酸、N- 甲基丙氨酸或氨基异丁酸取代 2 位氨基酸。在某些实施方案中，可用 D- 组氨酸、去氨基组氨酸、羟基 - 组氨酸、乙酰基 - 组氨酸、高组氨酸 (homo-histidine)、N- 甲基组氨酸、 $\alpha$  - 甲基组氨酸、咪唑乙酸或  $\alpha$ ,  $\alpha$  - 二甲基咪唑乙酸 (DMIA) 取代 1 位氨基酸。

[0219] 观察到 2 位修饰（例如 2 位 AIB）并在某些情况下 1 位修饰（例如 1 位 DMIA）可降低胰高血糖素活性，有时可显著降低；意想不到的是，可通过稳定胰高血糖素 C- 末端部分（大约 12-29 位氨基酸）的  $\alpha$  - 螺旋结构，例如如本文所述通过在两个氨基酸侧链之间形成共价键，来重新恢复胰高血糖素活性的这种降低。在某些实施方案中，共价键在“i”和“i+4”位或“j”和“j+3”位的氨基酸之间，例如在 12 和 16、16 和 20、20 和 24、24 和 28 或 17 和 20 位之间。在例示性实施方案中，该共价键为 16 位谷氨酸和 20 位赖氨酸之间的内酰胺桥。在某些实施方案中，该共价键为除内酰胺桥之外的分子内桥。例如，合适的共价键合方法（即形成共价分子内桥的手段）包括以下方法中的任何一种或多种：烯烃复分解、基于羊毛硫氨酸的环化、二硫桥或经修饰的含硫桥形成、使用  $\alpha$ ,  $\omega$  - 二氨基烷烃系链、形成金属 - 原子桥和其它的肽环化手段。

[0220] 减少降解的修饰

[0221] 在又一例示性实施方案中，可通过修饰 SEQ ID NO :1 的 15 和 / 或 16 位氨基酸以降低肽随时间的降解（尤其是在酸性或碱性缓冲液中），来进一步修饰任何胰高血糖素肽以改进稳定性。所述修饰降低 Asp15-Ser16 肽键的裂解。在例示性实施方案中，15 位的氨基酸修饰是缺失 Asp 或是用谷氨酸、高谷氨酸、半胱氨酸或高半胱氨酸取代 Asp。在其它例示性实施方案中，16 位的氨基酸修饰是缺失 Ser 或用 Thr 或 AIB 取代 Ser。在其它例示性实施方案中，用谷氨酸或用另一具有含长度为 4 个原子的侧链的带负电荷的氨基酸，或作为备选用谷氨酰胺、高谷氨酸或高半胱氨酸中的任何一种，取代 16 位的 Ser。

[0222] 在某些实施方案中,例如通过缺失或取代来修饰存在于天然肽的 27 位的甲硫氨酸残基。所述修饰可防止肽的氧化性降解。在某些实施方案中,用亮氨酸、异亮氨酸或正亮氨酸取代 27 位 Met。在某些特定实施方案中,用亮氨酸或正亮氨酸取代 27 位 Met。

[0223] 在某些实施方案中,例如通过缺失或取代来修饰 20 和 / 或 24 位的 Gln。所述修饰可降低通过 Gln 的脱酰胺化发生的降解。在某些实施方案中,用 Ala 或 AIB 取代 20 和 / 或 24 位的 Gln。在某些实施方案中,用 Lys、Arg、Orn 或瓜氨酸取代 20 和 / 或 24 位的 Gln。

[0224] 在某些实施方案中,例如通过缺失或取代来修饰 21 位的 Asp。所述修饰可减少通过 Asp 脱水以形成环状琥珀酰亚胺中间体接着异构化为异天冬氨酸盐而发生的降解。在某些实施方案中,21 位被 Glu、高谷氨酸或高半胱氨酸取代。在某些特定实施方案中,21 位被 Glu 取代。

[0225] 其它修饰

[0226] 可修饰天然胰高血糖素肽的某些位置,同时保留母体肽的至少若干活性。因此,申请人预期位于 2、5、10、11、12、13、14、17、18、19、20、21、24、27、28 或 29 位中的一个或多个氨基酸可被不同于天然胰高血糖素肽中存在的氨基酸的氨基酸取代,并仍然保留针对胰高血糖素受体的活性。

[0227] 在某些实施方案中,用选自 Ala、Ser 或 Thr 的氨基酸取代 18 位。在某些实施方案中,用 Ser、Thr、Lys、Arg、Orn、瓜氨酸或 AIB 取代 20 位氨基酸。在某些实施方案中,用 Glu、高谷氨酸或高半胱氨酸取代 21 位。在某些实施方案中,胰高血糖素肽包含选自 16、17、18、20、21、23、24、27、28 和 29 位的 1-10 个氨基酸修饰。在例示性实施方案中,所述修饰为选自 Gln17、Ala18、Glu21、Ile23、Ala24、Val27 和 Gly29 的一个或多个氨基酸取代。在某些实施方案中,选自 17-26 位的 1-2 个氨基酸不同于母体肽。在其它实施方案中,选自 17-22 位的 1-2 个氨基酸不同于母体肽。在另外的其它实施方案中,所述修饰为 Gln17、Ala18、Glu21、Ile23 和 Ala24。

[0228] 在某些实施方案中,将一个或多个氨基酸添加到胰高血糖素肽的羧基末端。所述氨基酸通常选自 20 种常见的氨基酸之一,在某些实施方案中,所述氨基酸具有代替天然氨基酸的羧酸的酰胺基。在例示性实施方案中,添加的氨基酸选自谷氨酸和天冬氨酸和甘氨酸。

[0229] 不破坏活性的其它修饰包括 W10 或 R20。

[0230] 在某些实施方案中,可通过截短 C-末端的一个或两个氨基酸残基来修饰本文公开的胰高血糖素肽,而仍保留针对胰高血糖素受体、GLP-1 受体和 / 或 GIP 受体的类似的活性和效价。在这点上,可缺失 29 和 / 或 28 位的氨基酸。

[0231]  $\alpha$  螺旋结构的稳定化

[0232] 稳定胰高血糖素肽 C-末端部分(大约 12-29 位氨基酸)的  $\alpha$ -螺旋结构提供提高的 GLP-1 和 / 或 GIP 活性,并恢复业已通过 1 和 / 或 2 位的氨基酸修饰降低的胰高血糖素活性。可通过例如形成共价或非共价分子内桥,或用稳定  $\alpha$  螺旋的氨基酸(例如  $\alpha$ ,  $\alpha$ -二取代氨基酸)取代和 / 或插入大约 12-29 位的氨基酸,来稳定  $\alpha$  螺旋结构。

[0233] 在某些实施方案中,在两个氨基酸侧链之间形成分子内桥以稳定胰高血糖素肽羧基末端部分(例如 12-29 位氨基酸)的三维结构。可通过非共价键,例如氢键、离子相互作用,例如形成盐桥,或通过共价键,让两个氨基酸侧链彼此连接。当两个氨基酸侧链通过一

个或多个共价键彼此连接时,可认为本文的肽包含共价分子内桥。当两个氨基酸侧链通过非共价键(例如氢键、离子相互作用)彼此连接时,可认为本文肽包含非共价分子内桥。

[0234] 在某些实施方案中,在相隔 3 个氨基酸的两个氨基酸之间形成分子内桥,例如  $i$  和  $i+4$  位置的氨基酸之间,其中  $i$  为 12 和 25 之间的任何整数(例如 12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24 和 25)。更具体地,让氨基酸对 12 和 16、16 和 20、20 和 24 或 24 和 28(氨基酸对中的  $i = 12、16、20$  或 24)的侧链彼此连接,因此稳定胰高血糖素的  $\alpha$  螺旋。或者,  $i$  可为 17。

[0235] 在某些特定实施方案中,其中  $i$  和  $i+4$  位置的氨基酸通过分子内桥连接,接头的大小为约 8 个原子或约 7-9 个原子。

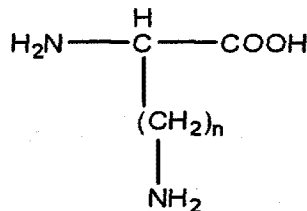
[0236] 在其它实施方案中,在相隔两个氨基酸的两个氨基酸之间形成分子内桥,例如在  $j$  和  $j+3$  位置的氨基酸之间,其中  $j$  为 12 和 26 之间的任何整数(例如 12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25 和 26)。在某些特定实施方案中,  $j$  为 17。

[0237] 在某些特定实施方案中,其中  $j$  和  $j+3$  位置的氨基酸通过分子内桥连接,接头大小为约 6 个原子或约 5-7 个原子。

[0238] 在另外的其它实施方案中,在相隔 6 个氨基酸的两个氨基酸之间形成分子内桥,例如  $k$  和  $k+7$  位置的氨基酸之间,其中  $k$  为 12 和 22 之间的任何整数(例如 12、13、14、15、16、17、18、19、20、21 和 22)。在某些特定实施方案中,  $k$  为 12、13 或 17。在例示性实施方案中,  $k$  为 17。

[0239] 能够共价键合形成 6 个原子的连接桥的氨基酸配对实例包括 Orn 和 Asp、Glu 和式 I 氨基酸(其中  $n$  为 2)、高谷氨酸和式 I 氨基酸(其中  $n$  为 1),其中式 I 为:

[0240]



[0241] 其中  $n = 1-4$

[0242] [式 I]

[0243] 能够共价键合形成 7 个原子的连接桥的氨基酸配对实例包括 Orn-Glu(内酰胺环);Lys-Asp(内酰胺);或高 ser-高 glu(内酯)。可形成 8 个原子的接头的氨基酸配对实例包括 Lys-Glu(内酰胺);高 Lys-Asp(内酰胺);Orn-高 glu(内酰胺);4-氨基 Phe-Asp(内酰胺);或 Tyr-Asp(内酯)。可形成 9 个原子的接头的氨基酸配对实例包括高 Lys-Glu(内酰胺);Lys-高 glu(内酰胺);4-氨基 Phe-Glu(内酰胺);或 Tyr-Glu(内酯)。可用其它化学基团另外取代这些氨基酸上的任何侧链,只要  $\alpha$ -螺旋的三维结构不被破坏即可。本领域一般人员可设想形成类似大小和预期作用的稳定结构的备选配对或备选氨基酸类似物,其包括化学修饰的衍生物。例如,高半胱氨酸-高半胱氨酸二硫桥长度为 6 个原子,也可对其进行进一步修饰以提供所需作用。即使没有共价连接,上述氨基酸配对或本领域一般人员可设想的类似的配对,亦可通过非共价键(例如通过形成盐桥或氢键作用)为  $\alpha$ -螺旋提供进一步的稳定性。

[0244] 内酰胺环的大小可视氨基酸侧链的长度而变化,在一个实施方案中,通过让赖氨酸氨基酸的侧链与谷氨酸的侧链连接来形成内酰胺。另外的例示性实施方案包括任选含内酰胺桥的以下配对:12位的Glu与16位的Lys;12位的天然Lys与16位的Glu;16位的Glu与20位的Lys;16位的Lys与20位的Glu;20位的Glu与24位的Lys;20位的Lys与24位的Glu;24位的Glu与28位的Lys;24位的Lys与28位的Glu。或者,内酰胺环内的酰胺键的次序可逆(例如可在Lys12和Glu16侧链之间形成内酰胺环,或作为备选在Glu12和Lys16之间形成内酰胺环)。

[0245] 可使用除了内酰胺桥之外的分子内桥来稳定胰高血糖素类似物肽的 $\alpha$ 螺旋。在一个实施方案中,所述分子内桥为疏水桥。在这种情况下,分子内桥任选在胰高血糖素类似物肽 $\alpha$ 螺旋的疏水面部分的两个氨基酸侧链之间。例如,通过疏水桥连接的氨基酸之一可为10、14和18位的氨基酸。

[0246] 在一个特定方面,用全-烃交联系统利用烯烃复分解来交联胰高血糖素肽的 $\alpha$ 螺旋的一个或两个转角(turn)。这种情况中的胰高血糖素肽可包含荷有不同长度的烯烃侧链的 $\alpha$ -甲基化氨基酸,其在*i*和*i*+4或*i*+7位构成R或S立体化学。例如,烯烃侧链可包含(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>,其中*n*为1-6之间的任何整数。在一个实施方案中,对于8个原子的交联长度,*n*为3。本领域阐述了形成所述分子内桥的合适的方法。参见例如,Schafmeister等,J. Am. Chem. Soc. 122:5891-5892(2000)和Walensky等,Science 305:1466-1470(2004)。或者,胰高血糖素肽可包含位于邻近的螺旋转角的O-烯丙基Ser残基,其经由钌催化的环闭合复分解(ruthenium-catalyzed ring closing metathesis)桥联在一起。在例如Blackwell等,Angew. Chem., Int. Ed. 37:3281-3284(1998)中阐述了所述交联的方法。

[0247] 在另一特定方面,利用非天然的硫-二丙氨酸氨基酸、羊毛硫氨酸(其作为胱氨酸的肽模拟物被广泛采用)来交联 $\alpha$ 螺旋的一个转角。基于羊毛硫氨酸的环化的合适的方法为本领域所知。参见例如,Matteucci等,Tetrahedron Letters 45:1399-1401(2004);Mayer等,J. Peptide Res. 51:432-436(1998);Polinsky等,J. Med. Chem. 35:4185-4194(1992);Osapay等,J. Med. Chem. 40:2241-2251(1997);Fukase等,Bull. Chem. Soc. Jpn. 65:2227-2240(1992);Harpp等,J. Org. Chem. 36:73-80(1971);Goodman和Shao,Pure Appl. Chem. 68:1303-1308(1996);和Osapay和Goodman,J. Chem. Soc. Chem. Commun. 1599-1600(1993)。

[0248] 在某些实施方案中,用位置*i*和*i*+7的两个Glu残基之间的 $\alpha,\omega$ -二氨基烷烃系链(例如1,4-二氨基丙烷和1,5-二氨基戊烷),来稳定胰高血糖素肽的 $\alpha$ 螺旋。所述系链导致形成9-个原子或更长的桥,这视二氨基烷烃系链的长度而定。本领域阐述了用所述系链产生肽交联的合适的方法。参见例如,Phe1an等,J. Am. Chem. Soc. 119:455-460(1997)。

[0249] 在本发明再一实施方案中,用二硫桥来交联胰高血糖素肽 $\alpha$ 螺旋的一个或两个转角。或者,用经修饰的二硫桥来稳定胰高血糖素肽的 $\alpha$ 螺旋,所述二硫桥中的一个或两个硫原子都被亚甲基取代,从而导致电子等排大环化。用二硫桥修饰肽或基于硫的环化的合适的方法阐述于例如Jackson等,J. Am. Chem. Soc. 113:9391-9392(1991)和Rudinger和Jost,Experientia 20:570-571(1964)中。

[0250] 在又一实施方案中,经由*i*和*i*+4位的两个His残基或His与Cys对结合金属原子来稳定胰高血糖素肽的 $\alpha$ 螺旋。金属原子可为例如Ru(III)、Cu(II)、Zn(II)或

Cd(II)。本领域已知所述基于金属结合的  $\alpha$  螺旋稳定化的方法。参见例如, Andrews 和 Tabor, *Tetrahedron* 55:11711-11743(1999); Ghadiri 等, *J. Am. Chem. Soc.* 112:1630-1632(1990); 和 Ghadiri 等, *J. Am. Chem. Soc.* 119:9063-9064(1997)。

[0251] 作为备选,可通过其它肽环化手段来稳定胰高血糖素肽的  $\alpha$  螺旋,所述手段在 Davies, *J. PEPTIDE. Sci.* 9:471-501(2003) 中综述。可经由形成酰胺桥、硫醚桥、硫酸酯桥、脲桥、氨基甲酸酯桥、磺酰胺桥等来稳定  $\alpha$  螺旋。例如,可在 C-末端和 Cys 残基的侧链之间形成硫酸酯桥。或者,可经由具有硫醇 (Cys) 和羧酸 (例如 Asp、Glu) 的氨基酸侧链形成硫酸酯。在另一方法中,交联剂例如二羧酸、例如辛二酸 (suberic acid 或 octanedioic acid) 等可在氨基酸侧链的两个官能团之间引入连接,所述氨基酸侧链官能团例如为游离氨基、羟基、巯基及其组合。

[0252] 根据本发明一个实施方案,通过在  $i$  和  $i+4$  位置引入疏水氨基酸来稳定胰高血糖素肽的  $\alpha$  螺旋。例如,  $i$  可为 Tyr 且  $i+4$  可为 Val 或 Leu;  $i$  可为 Phe 且  $i+4$  可为 Cys 或 Met;  $i$  可为 Cys 且  $i+4$  可为 Met; 或  $i$  可为 Phe 且  $i+4$  可为 Ile。应该理解,为本文目的上述氨基酸配对可相反,以至于位置  $i$  表示的氨基酸可作为备选位于  $i+4$ ,而  $i+4$  的氨基酸可位于  $i$  位置。

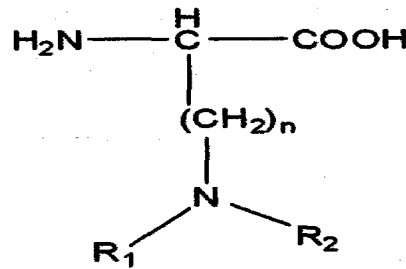
[0253] 根据本发明其它实施方案,通过在胰高血糖素肽的 C-末端部分 (大约 12-29 位氨基酸) 引入 (通过氨基酸取代或插入) 一个或多个稳定  $\alpha$  螺旋的氨基酸来稳定  $\alpha$  螺旋。在特定实施方案中,稳定  $\alpha$  螺旋的氨基酸为  $\alpha$ ,  $\alpha$ -二取代氨基酸,其包括但不限于以下任何一种:氨基异丁酸 (AIB)、被选自甲基、乙基、丙基和正丁基的相同或不同基团或被环辛烷或环庚烷 (例如 1-氨基环辛烷-1-甲酸) 二取代的氨基酸。在某些实施方案中,胰高血糖素肽的 16、17、18、19、20、21、24 或 29 位中的一个、二个、三个、四个或更多个位置被  $\alpha$ ,  $\alpha$ -二取代氨基酸取代。在特定实施方案中,16、20、21 和 24 位中的一个、二个、三个或全部位置被  $\alpha$ ,  $\alpha$ -二取代氨基酸 (例如 AIB) 取代。例如,胰高血糖素肽可包含在缺乏分子内桥时用 AIB 在 16 位取代,所述分子内桥例如为非共价分子内桥 (例如盐桥) 或共价分子内桥 (例如内酰胺)。所述缺乏分子内桥的肽方便地易于制备。

[0254] 根据某些实施方案,缺乏分子内桥的胰高血糖素肽包含在 12-29 位氨基酸内的用  $\alpha$ ,  $\alpha$ -二取代氨基酸的一个或多个取代和共价连接到胰高血糖素肽氨基酸 (例如胰高血糖素肽的 10 或 40 位氨基酸) 侧链的酰基或烷基。在特定实施方案中,所述酰基或烷基对于天然存在的氨基酸为非天然的。在某些方面,所述酰基或烷基对于 10 位氨基酸为非天然的。所述缺乏分子内桥的酰化或烷化的胰高血糖素肽与非酰化的相应肽比较,表现出提高的针对 GLP-1 和胰高血糖素受体的活性。可通过在肽的 10 或 40 位氨基酸的侧链与酰基或烷基之间引入间隔物,来实现进一步提高缺乏分子内桥的酰化的胰高血糖素肽针对 GLP-1 和胰高血糖素受体的活性。本文进一步阐述引入或不引入间隔物的酰化和烷化。

[0255] 在特定实施方案中,酰化或烷化的胰高血糖素肽或其类似物进一步包含选择性地降低针对 GLP-1 受体活性的修饰。例如,酰化或烷化的胰高血糖素肽或其类似物包含以下中的一种或组合:C-末端  $\alpha$  羧酸酯、缺失位于 27 或 28 位氨基酸的 C-末端处氨基酸 (例如缺失 29 位的氨基酸、缺失 28 和 29 位的氨基酸)、用脂肪族非极性大氨基酸例如 Ile 取代 7 位的 Thr。

[0256] 在某些实施方案中,16 位或 20 位被  $\alpha$ ,  $\alpha$ -二取代氨基酸例如 AIB 取代。在某些

实施方案中,20 位被  $\alpha, \alpha$ -二取代氨基酸例如 AIB 取代。在某些实施方案中,20 位被  $\alpha, \alpha$ -二取代氨基酸例如 AIB 取代,并且 16 位被式 IV 氨基酸取代  
[0257]



[0258] [式 IV],

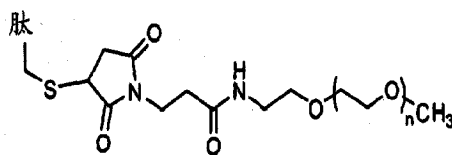
[0259] 其中 n 为 1-16 或 1-10 或 1-7 或 1-6 或 2-6 或 2 或 3 或 4 或 5,  $R_1$  和  $R_2$  各独立选自 H、 $C_1$ - $C_{18}$  烷基、( $C_1$ - $C_{18}$  烷基)OH、( $C_1$ - $C_{18}$  烷基) $NH_2$ 、( $C_1$ - $C_{18}$  烷基)SH、( $C_0$ - $C_4$  烷基)( $C_3$ - $C_6$  环烷基)、( $C_0$ - $C_4$  烷基)( $C_2$ - $C_5$  杂环)、( $C_0$ - $C_4$  烷基)( $C_6$ - $C_{10}$  芳基) $R_7$  和 ( $C_1$ - $C_4$  烷基)( $C_3$ - $C_9$  杂芳基), 其中  $R_7$  为 H 或 OH, 式 IV 氨基酸侧链包含游离氨基。在特定实施方案中,式 IV 氨基酸为 2,3 二氨基丙酸 (DAP)、2,4-二氨基丁酸 (DAB)、Om、Lys 或高 Lys。16 位的式 IV 氨基酸和  $\alpha, \alpha$ -二取代氨基酸的组合有利地提供改进的针对胰高血糖素受体、GLP-1 受体和 GIP 受体中任一种的活性。

[0260] 亲水部分连接

[0261] 在另一实施方案中,通过让亲水部分与肽共价连接来提高本文公开的胰高血糖素肽的溶解性。可在任何合适用于蛋白质与活化的聚合物分子反应的条件将亲水部分连接到胰高血糖素肽。可使用本领域已知的任何手段,包括经由酰化、还原性烷化、Michael 加成、硫醇烷化或通过 PEG 部分上的反应性基团(例如醛、氨基、酯、硫醇、 $\alpha$ -卤代乙酰基、马来酰亚胺基或胍基)与靶标化合物上的活性基团(例如醛、氨基、酯、硫醇、 $\alpha$ -卤代乙酰基、马来酰亚胺基或胍基)的其它化学选择性缀合/连接方法。可用于让水溶性聚合物与一种或多种蛋白质连接的活化基团包括但不限于砷、马来酰亚胺、巯基、硫醇、三氟甲磺酸基、三氟乙磺酸基、氮丙烯 (aziridine)、环氧乙烷、5-吡啶基和  $\alpha$ -卤代酰基(例如  $\alpha$ -碘乙酸、 $\alpha$ -溴乙酸、 $\alpha$ -氯乙酸)。若通过还原性烷化与肽连接,则所选聚合物应该具有单一的反应性醛,以便控制聚合程度。参见例如, Kinstler 等, Adv. Drug. Delivery Rev. 54 : 477-485 (2002); Roberts 等, Adv. Drug Delivery Rev. 54 : 459-476 (2002); 和 Zalipsky 等, Adv. Drug Delivery Rev. 16 : 157-182 (1995)。

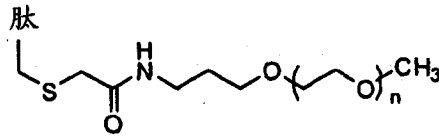
[0262] 在本发明的特定方面,用亲水部分例如 PEG 修饰胰高血糖素肽上具有硫醇的氨基酸残基。在某些实施方案中,在 Michael 加成反应中用马来酰亚胺活化的 PEG 修饰硫醇,以产生包含以下所示硫醚连接的聚乙二醇化的肽:

[0263]



[0264] 在某些实施方案中,在亲核取代反应中用卤代乙酰基活化的 PEG 修饰硫醇,产生包含以下所示硫醚连接的聚乙二醇化肽:

[0265]



[0266] 合适的亲水部分包括:聚乙二醇(PEG)、聚丙二醇、聚氧乙烯化多元醇(例如 POG)、聚氧乙烯化山梨醇、聚氧乙烯化葡萄糖、聚氧乙烯化丙三醇(POG)、聚氧乙烯、聚乙二醇丙醛、乙二醇/丙二醇共聚物、单甲氧基-聚乙二醇、单-(C1-C10)烷氧基-或芳氧基-聚乙二醇、羧甲基纤维素、聚缩醛、聚乙烯醇(PVA)、聚乙烯吡咯烷酮、聚-1,3-二氧杂环戊烷、聚-1,3,6-三噁烷、乙烯/马来酸酐共聚物、聚(.β.-氨基酸)(同聚物或无规共聚物)、聚(n-乙烯基吡咯烷酮)聚乙二醇、聚丙二醇同聚物(PPG)和其它聚环氧烷、聚环氧丙烷/环氧乙烷共聚物、结肠酸(colonic acid)或其它多糖聚合物、Ficoll 或右旋糖酐及其混合物。

[0267] 本发明某些实施方案的亲水部分例如聚乙二醇链具有选自约 500-约 40,000 道尔顿范围的分子量。在一个实施方案中,所述亲水部分例如 PEG 具有选自约 500-约 5,000 道尔顿或约 1,000-约 5,000 道尔顿范围的分子量。在另一实施方案中,所述亲水部分例如 PEG 具有约 10,000-约 20,000 道尔顿的分子量。在另外的其它例示性实施方案中,亲水部分例如 PEG 具有约 20,000-约 40,000 道尔顿的分子量。

[0268] 在一个实施方案中,将右旋糖酐用作亲水部分。右旋糖酐为葡萄糖亚单位的多糖聚合物,主要以 α 1-6 键合来连接。可获得很多分子量范围的右旋糖酐,例如约 1kD-约 100kD 或从约 5、10、15 或 20kD 到约 20、30、40、50、60、70、80 或 90kD。

[0269] 涵盖直链或支链聚合物。得到的缀合物制剂可为基本上单分散或多分散,每个肽可具有约 0.5、0.7、1、1.2、1.5 或 2 个聚合物部分。

[0270] 在一个实施方案中,亲水部分为聚乙二醇(PEG)链,其任选在 16、17、21、24、29 位、C-末端突出端内的位置(例如 30、31、32、33、34、35、36、37、38、39 位)或在 C-末端氨基酸(例如 40 位)中的一个或多个位置与肽连接。在某些实施方案中,该位置的天然氨基酸被具有适于与亲水部分交联的侧链的氨基酸取代,以促进亲水部分与肽的连接。在例示性实施方案中,该位置的天然氨基酸被 Lys、Cys、Orn、高半胱氨酸或乙酰基-苯丙氨酸残基取代。在其它实施方案中,将经修饰以包含亲水基团的氨基酸添加到肽的 C-末端。

[0271] 提高溶解性的其它修饰

[0272] 在另一实施方案中,可通过取代和/或添加氨基酸来改进任何胰高血糖素肽的溶解性,所述取代和/或添加氨基酸优选在 SEQ ID NO:1 的 27 位的 C-末端位置将带电荷的氨基酸引入到肽的 C-末端部分。任选可将一个、两个或三个带电荷的氨基酸引入到 C-末端部分内,优选引入到 27 位的 C-末端。在某些实施方案中,用一个或两个带电荷的氨基酸取代 28 和/或 29 位的天然氨基酸,和/或在另一实施方案中,亦将 1-3 个带电荷的氨基酸添加到肽的 C-末端。在例示性实施方案中,一个、两个或所有带电荷的氨基酸为带负电荷。在某些实施方案中,带负电荷的氨基酸(酸性氨基酸)为天冬氨酸或谷氨酸。

[0273] 可对胰高血糖素肽进行另外的修饰,例如保守性取代,而使得其仍保留 GIP 活性(并任选 GLP-1 活性和 / 或胰高血糖素活性)。

[0274] 缀合物和融合体

[0275] 本发明还包含其它缀合物,其中本发明胰高血糖素肽任选经由共价键合并任选经由接头与缀合物部分连接。可通过共价化学键、物理作用力(例如静电、氢键、离子键、范德华力或疏水或亲水相互作用)来实现连接。可使用多种非共价偶联系统,包括生物素-亲和素、配体 / 受体、酶 / 底物、核酸 / 核酸结合蛋白、脂类 / 脂类结合蛋白、细胞粘连分子配偶体;或彼此具有亲和力的任何结合配偶体或其片段。

[0276] 可通过肽的被靶向的氨基酸残基与有机衍生化试剂反应经由直接共价连接来使肽与缀合物连接,所述有机衍生化试剂能够与所选择的这些靶标氨基酸的侧链或 N- 或 C- 末端残基反应。肽或缀合物上的反应性基团包括例如醛、氨基、酯、硫醇、 $\alpha$ - 卤代乙酰基、马来酰亚胺基或胍基。衍生化试剂包括例如:磺基琥珀酰亚胺马来酰亚胺基苯甲酯(通过半胱氨酸残基缀合)、N- 羟基琥珀酰亚胺(通过赖氨酸残基)、戊二醛、戊琥珀酐或本领域已知的其它试剂。或者,可间接通过中间体载体(例如多糖或多肽载体)将缀合物部分连接到肽。多糖载体的实例包括氨基右旋糖酐。合适的多肽载体实例包括聚赖氨酸、聚谷氨酸、聚天冬氨酸、其共聚物和这些氨基酸和其它氨基酸(例如丝氨酸)的混合聚合物,以赋予由此产生的带负载的载体所期需的溶解特性。

[0277] 最常见的半胱氨酸残基与  $\alpha$ - 卤代乙酸酯(及相应的胺)(例如氯乙酸、氯乙酰胺)反应,产生羧甲基或羧基氨基甲基衍生物。还通过与以下物质反应衍生半胱氨酸残基:溴三氟丙酮、 $\alpha$ - 溴 - $\beta$ -(5-imidazolyl) 丙酸、氯乙酰基磷酸盐、N- 烷基马来酰亚胺、3- 硝基-2- 吡啶二硫化物、甲基 2- 吡啶二硫化物、对- 氯汞基苯甲酸盐、2- 氯汞基-4- 硝基苯酚或氯-7- 硝基苯并-2- 氧杂-1,3- 二唑。

[0278] 通过与焦炭酸二乙酯在 pH 5.5-7.0 下反应衍生组氨酸残基,因为焦炭酸二乙酯对组氨酸侧链有相对特异性。对溴苯甲酰基甲基溴也是有用的;反应优选在 0.1M 二甲胍酸钠中于 pH 6.0 下进行。

[0279] 赖氨酸和氨基-末端残基与琥珀酸酐或其它羧酸酐反应。用这些试剂进行衍生化具有反转赖氨酸残基的电荷的作用。用于衍生含  $\alpha$ - 氨基的残基的其它合适的试剂包括亚氨酸酯(例如甲基吡啶亚胺甲酯)、磷酸吡哆醛、吡哆醛、氯硼氢化物、三硝基苯磺酸、O- 甲基异脲、2,4- 戊二酮和与乙醛酸的转氨酶催化反应。

[0280] 通过与一种或若干种常规试剂反应来修饰精氨酸残基,所述常规试剂有苯甲酰甲酰、2,3- 丁二酮、1,2- 环己二酮和茚三酮。因为胍官能团的高  $pK_a$ , 精氨酸残基衍生化需要在碱性条件下进行反应。此外,这些试剂可与赖氨酸基团以及精氨酸  $\epsilon$ - 氨基反应。

[0281] 可对酪氨酸残基进行特定修饰,特别感兴趣的是通过与芳香族重氮化合物或四硝基甲烷反应将光谱标记引入酪氨酸残基。最常用 N- 乙酰咪唑和四硝基甲烷来分别形成 O- 乙酰基酪氨酸物质和 3- 硝基衍生物。

[0282] 通过与碳二亚胺(R-N. dbd. C. dbd. N-R') 反应来选择性地修饰羧基侧基(天冬氨酸或谷氨酸),其中 R 和 R' 为不同的烷基,例如 1- 环己基-3-(2- 吗啉基-4- 乙基) 碳二亚胺或 1- 乙基-3-(4- 氮阳离子(azonia)-4,4- 二甲基戊基) 碳二亚胺。另外,通过与铵离子反应将天冬氨酸和谷氨酸残基转化为天冬酰胺基及谷氨酰胺基残基。



[0283] 其它修饰包括脯氨酸和赖氨酸的羟基化、丝氨酸或苏氨酸残基羟基的磷酸化、赖氨酸、精氨酸和组氨酸侧链的  $\alpha$ -氨基的甲基化 (T. E. Creighton, *Proteins: Structure and Molecular Properties*, W. H. Freeman & Co., San Francisco, 第 79-86 页 (1983))、天冬酰胺或谷氨酰胺的脱酰胺化、N-末端胺的乙酰化和 / 或 C-末端羧酸基团的酰胺化或酯化。

[0284] 另一类共价修饰涉及化学上或酶学上使糖苷与肽偶联。可将糖连接到: (a) 精氨酸和组氨酸; (b) 游离羧基; (c) 游离巯基, 例如半胱氨酸的巯基; (d) 游离羟基, 例如丝氨酸、苏氨酸或羟基脯氨酸的羟基; (e) 芳香族残基, 例如酪氨酸或色氨酸的芳香族残基; 或 (f) 谷氨酰胺的酰胺基团。这些方法在以下文献中阐述: 1987 年 9 月 11 日公开的 W087/05330 和 Aplin 和 Wriston, *CRC Crit. Rev. Biochem.*, 第 259-306 页 (1981)。

[0285] 可与本文所述的任何胰高血糖素肽连接的例示性缀合物部分包括但不限于异源肽或异源多肽 (包括例如血浆蛋白)、靶向剂、免疫球蛋白或其部分 (例如可变区、CDR 或 Fc 区)、诊断标记 (例如放射性同位素、荧光团或酶标记)、包括水溶性聚合物在内的聚合物或其它治疗剂或诊断剂。在一个实施方案中, 提供缀合物, 所述缀合物包含本发明胰高血糖素肽和血浆蛋白, 其中所述血浆蛋白选自白蛋白、转铁蛋白、纤维蛋白原和球蛋白。

[0286] 在某些实施方案中, 所述接头包含 1-约 60 或 1-30 个原子或更长、2-5 个原子、2-10 个原子、5-10 个原子或 10-20 个原子长的链。在某些实施方案中, 链原子都为碳原子。在某些实施方案中, 接头主链的链原子选自 C、O、N 和 S。可按照其所需溶解性 (亲水性) 来选择链原子和接头, 以便提供更可溶的缀合物。在某些实施方案中, 接头提供官能团, 所述官能团由酶或其它催化剂或在靶组织或器官或细胞中发现的水解条件所裂解。在某些实施方案中, 接头长度长到足以降低位阻电势。若接头为共价键或肽基键并且缀合物为多肽, 则整个缀合物可为融合蛋白。所述肽基接头可为任何长度。例示性接头长度为约 1-50 个氨基酸、5-50、3-5、5-10、5-15 或 10-30 个氨基酸。作为备选, 可通过本领域一般人员已知的重组遗传工程方法产生所述融合蛋白。

[0287] 如上所述, 在某些实施方案中, 胰高血糖素肽被缀合, 例如与免疫球蛋白或其部分 (例如可变区、CDR 或 Fc 区) 融合。已知的免疫球蛋白 (Ig) 类型包括 IgG、IgA、IgE、IgD 或 IgM。Fc 区为 Ig 重链的 C-末端区, 其负责与实现活性的 Fc 受体结合, 所述活性例如再循环 (其导致半衰期延长)、抗体依赖性细胞介导的细胞毒性 (ADCC) 和补体依赖性细胞毒性 (CDC)。

[0288] 例如, 根据某些定义, 人 IgG 重链 Fc 区从重链的 Cys226 延伸到 C-末端。" 铰链区" 通常从人 IgG1 的 Glu216 延伸到 Pro230 (可通过比对半胱氨酸键合中所涉及的半胱氨酸让其它 IgG 同种型的铰链区与 IgG1 序列进行比对)。IgG 的 Fc 区包括两个恒定区 CH2 和 CH3。人 IgG Fc 区的 CH2 结构域通常从氨基酸 231 延伸到氨基酸 341。人 IgG Fc 区的 CH3 结构域通常从氨基酸 342 延伸到 447。对免疫球蛋白或免疫球蛋白片段或区域的氨基酸编号的提及都基于 Kabat 等 1991, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 马里兰州贝塞斯达的美国公共卫生部。在相关实施方案中, 所述 Fc 区可包含来自免疫球蛋白重链的除 CH1 外的一个或多个天然或修饰的恒定区, 所述恒定区例如 IgG 和 IgA 的 CH2 和 CH3 区或 IgE 的 CH3 和 CH4 区。

[0289] 合适的缀合物部分包括免疫球蛋白序列的部分, 所述部分包括 FcRn 结合位点。FcRn 这种补救受体 (salvage receptor) 负责免疫球蛋白再循环并使其回到血液循环中。

业已基于 X 射线结晶学阐述了结合 FcRn 受体的 IgG Fc 部分的区域 (Burmeister 等 1994, Nature 372 :379)。Fc 与 FcRn 的主要接触区域靠近 CH2 和 CH3 结构域的接点。Fc-FcRn 接触处全部在单一 Ig 重链内。主要接触位点包括 CH2 结构域的氨基酸残基 248、250-257、272、285、288、290-291、308-311 和 314 及 CH3 结构域的氨基酸残基 385-387、428 和 433-436。

[0290] 某些缀合物部分可包括或不包括 Fc $\gamma$ R 结合位点。Fc $\gamma$ R 负责 ADCC 和 CDC。使得直接与 Fc $\gamma$ R 接触的 Fc 区内的位置实例为氨基酸 234-239 (靠下部的铰链区)、氨基酸 265-269 (B/C 环)、氨基酸 297-299 (C' /E 环) 和氨基酸 327-332 (F/G) 环 (Sondermann 等, Nature 406 :267-273, 2000)。IgE 的靠下部的铰链区亦牵涉到 FcRI 结合中 (Henry 等, Biochemistry 36, 15568-15578, 1997)。IgA 受体结合中涉及的残基阐述于 Lewis 等, (J Immunol. 175 :6694-701, 2005) 中。IgE 受体结合中涉及的氨基酸残基阐述于 Sayers 等 (J Biol Chem. 279(34) :35320-5, 2004) 中。

[0291] 可对免疫球蛋白的 Fc 区进行氨基酸修饰。所述变体 Fc 区包含至少一个 Fc 区的 CH3 结构域的氨基酸修饰 (残基 342-447) 和 / 或至少一个 Fc 区的 CH2 结构域的氨基酸修饰 (残基 231-341)。认为致使对 FcRn 亲和力提高的突变包括 T256A、T307A、E380A 和 N434A (Shields 等 2001, J. Biol. Chem. 276 :6591)。其它突变可降低 Fc 区与 Fc $\gamma$ RI、Fc $\gamma$ RIIA、Fc $\gamma$ RIIB 和 / 或 Fc $\gamma$ RIIIA 的结合而不显著降低对 FcRn 的亲和力。例如, 用 Ala 或另一氨基酸取代 Fc 区 297 位的 Asn, 除去了高度保守的 N-糖基化位点, 并且可导致 Fc 区的免疫原性降低而同时延长半衰期, 以及降低与 Fc $\gamma$ R 的结合 (Routledge 等 1995, Transplantation 60 :847 ;Friend 等 1999, Transplantation 68 :1632 ;Shields 等 1995, J. Biol. Chem. 276 :6591)。实施了对 IgG1 的 233-236 位的氨基酸修饰, 该修饰降低与 Fc $\gamma$ R 的结合 (Ward 和 Ghetie 1995, Therapeutic Immunology 2 :77 和 Armour 等 1999, Eur. J. Immunol. 29 :2613)。某些例示性氨基酸取代阐述于美国专利 7, 355, 008 和 7, 381, 408 中, 其各自以其整体在此引作参考。

[0292] 本公开内容亦包含胰高血糖素融合肽或融合蛋白, 其中将第二个肽或多肽融合到胰高血糖素肽的末端 (例如羧基末端)。在某些实施方案中, 被加到胰高血糖素肽的羧基末端的第二肽为 SEQ ID NO :95 (GPSSGAPPPS)、SEQ ID NO :97 (KRNRNIA) 或 SEQ ID NO :98 (KRNR), 它们被连接到胰高血糖素肽的氨基酸 29。在其它实施方案中, 所述第二肽为 XGPSSGAPPPS (SEQ ID NO :96), 其中 X 选自 20 种常见氨基酸之一, 例如谷氨酸、天冬氨酸或甘氨酸。在一个实施方案中, X 表示氨基酸, 例如 Cys, 所述氨基酸进一步包含共价连接到该氨基酸侧链的亲水部分。所述 C-末端突出端改进溶解性, 并且还可改进 GIP 或 GLP-1 活性。在某些实施方案中, 胰高血糖素肽进一步包含羧基末端突出端, 该突出端的羧基末端氨基酸以酰胺基团或酯基团而不是羧酸作为末端。

[0293] 在某些实施方案中, 例如在包含 C-末端突出端的胰高血糖素肽中, 用甘氨酸取代天然胰高血糖素肽的 29 位苏氨酸。例如, 具有 29 位甘氨酸取代苏氨酸并包含 C-末端突出端 GPSSGAPPPS (SEQ ID NO :95) 的胰高血糖素肽, 与经修饰以包含同样的 C-末端突出端的天然胰高血糖素肽相比, 针对 GLP-1 受体的效力为 4 倍。这种 T29G 取代可与本文公开的其它修饰联合使用, 以提高胰高血糖素肽对 GLP-1 受体的亲和力。例如, T29G 取代可与 S16E 和 N20K 氨基酸取代联合, 任选与氨基酸 16 和 20 之间的内酰胺桥并任选与添加本文所述 PEG 链联合。

[0294] 在某些实施方案中,将氨基酸加到 C- 末端,添加的氨基酸选自谷氨酸、天冬氨酸和甘氨酸。

[0295] 本公开内容亦包含本文公开的经修饰胰高血糖素肽的多聚体。用标准连接剂和本领域技术人员所知的方法,可将两种或更多种经修饰的胰高血糖素肽连接在一起。例如,通过用双官能硫醇交联剂和双官能胺交联剂,可在两种经修饰的胰高血糖素肽之间形成二聚体,尤其是对于被半胱氨酸、赖氨酸、鸟氨酸、高半胱氨酸或乙酰基苯丙氨酸残基取代的胰高血糖素肽。

[0296] 酰化和烷化

[0297] 根据某些实施方案,修饰本文公开的胰高血糖素肽以包含酰基或烷基,例如对于天然存在的氨基酸而言为非天然的酰基或烷基。酰化或烷化可提高循环中的胰高血糖素肽半衰期。酰化或烷化可有利地推迟针对胰高血糖素受体和 / 或 GLP-1 受体的作用起始和 / 或延长作用时间,和 / 或改进对蛋白酶例如 DPP-IV 的抗性,和 / 或改进溶解性。酰化后可保持胰高血糖素肽针对胰高血糖素受体和 / 或 GLP-1 受体和 / 或 GIP 受体的活性。在某些实施方案中,酰化的胰高血糖素肽效价与未酰化形式的胰高血糖素肽的效价相当。在备选实施方案中,酰化的胰高血糖素肽效价与未酰化形式的胰高血糖素肽的效价比较提高了。

[0298] 在某些实施方案中,本发明提供经修饰以包含共价连接到胰高血糖素肽的 10 位氨基酸的酰基或烷基的胰高血糖素肽。胰高血糖素肽可进一步包含在胰高血糖素肽的 10 位氨基酸与所述酰基或烷基之间的间隔物。在某些实施方案中,所述酰基为脂肪酸或胆汁酸或其盐,例如 C4-C30 脂肪酸、C8-C24 脂肪酸、胆酸、C4-C30 烷基、C8-C24 烷基或包含胆汁酸的类固醇部分的烷基。所述间隔物为具有用于连接酰基或烷基的合适的反应性基团的任何部分。在例示性实施方案中,间隔物包含氨基酸、二肽、三肽、亲水双官能或疏水双官能间隔物。在某些实施方案中,间隔物选自: Trp、Glu、Asp、Cys 和包含  $\text{NH}_2(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n(\text{CH}_2)_m\text{COOH}$  的间隔物,其中 m 为从 1 到 6 的任何整数, n 为从 2 到 12 的任何整数。所述酰化或烷化的胰高血糖素肽亦可进一步包含亲水部分,任选聚乙二醇。任何前述胰高血糖素肽可包含两个酰基或两个烷基或其组合。

[0299] 酰化可在胰高血糖素肽内的任何位置进行,包括 1-29 位、C- 末端突出端或 N- 或 C- 末端氨基酸中的任何位置,前提是即使不提高 GIP 活性也要保留 GIP 活性(并任选 GLP-1 和 / 或胰高血糖素活性)。酰化可例如在添加到胰高血糖素序列 (SEQ ID NO :1) 中的任何氨基酸中发生,例如在 N- 或 C- 末端。非限制性实例包括胰高血糖素肽的 1、5、10、11、12、13、14、16、17、18、19、20、21、24、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49 或 50 位。酰基可直接与胰高血糖素肽的氨基酸共价连接,或经由间隔物与胰高血糖素肽的氨基酸间接连接,其中间隔物位于胰高血糖素肽的氨基酸和酰基之间。胰高血糖素肽可在连接亲水部分的同一个氨基酸位置被酰化,或在不同的氨基酸位置被酰化。非限制性实例包括 10 位或 40 位的酰化,并在胰高血糖素肽的 C- 末端部分的一个或多个位置(例如 24、28 或 29 位)、C- 末端突出端内或在 C- 末端(例如通过添加 C- 末端 Cys) 聚乙二醇化。

[0300] 在某些实施方案中,修饰胰高血糖素肽以包含 SEQ ID NO :1 胰高血糖素肽或其类似物 C- 末端的约 1- 约 21 个氨基酸的突出端,并且所述突出端中的至少一个氨基酸被酰化或烷化。例如,经修饰的胰高血糖素肽可包含 SEQ ID NO :1 胰高血糖素肽或其类似物的 29

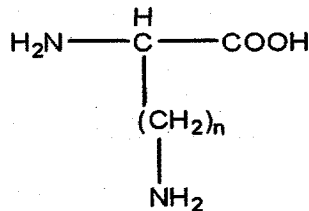
位氨基酸 C-末端的约 1-约 21 个氨基酸的延伸。或者,若截短胰高血糖素肽或其类似物的一个或两个氨基酸,则约 1-约 21 个氨基酸的突出端可为胰高血糖素肽或其类似物的 27 或 28 位氨基酸的 C-末端。因此,C-末端突出端内的酰化或烷化氨基酸可为例如 C-末端延伸的胰高血糖素肽的 28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49 或 50 位的任何氨基酸。某些实施方案中的 C-末端突出端包含 SEQ ID NO:95 或 96 氨基酸序列。在某些实施方案中,胰高血糖素肽包含 C-末端突出端,所述 C-末端突出端包含 SEQ ID NO:95 氨基酸序列和 SEQ ID NO:95 的 C-末端的添加的 1-11 个氨基酸,所述添加的氨基酸如本文所述被酰化或烷化。在特定实施方案中,酰化或烷化的氨基酸为 Dab、Orn、Lys 或高 Lys 残基,其位于所述 C-末端延伸的胰高血糖素肽或其类似物的 40 位。

[0301] 根据本发明一个实施方案,修饰胰高血糖素肽以包含经由酯、硫酯或酰胺键合连接到胰高血糖素肽的酰基,其目的在于延长循环半衰期和 / 或延迟作用开始和 / 或延长作用时间和 / 或改进对蛋白酶例如 DPP-IV 的抗性。

[0302] 在本发明的特定方面,通过直接酰化胰高血糖素肽氨基酸侧链的胺、羟基或硫醇,来修饰胰高血糖素肽以包含酰基。在某些实施方案中,通过氨基酸侧链的胺、羟基或硫醇直接使胰高血糖素肽酰化。在某些实施方案中,在 10、20、24、29 或 40 位酰化。在这点上,酰化的胰高血糖素肽可包含 SEQ ID NO:1 氨基酸序列或其经修饰的氨基酸序列,所述经修饰的氨基酸序列包含一种或多种本文所述氨基酸修饰,且 10、20、24、29 和 40 位氨基酸中的至少一个被修饰为包含侧链胺、羟基或硫醇的任何氨基酸。在本发明某些特定实施方案中,通过 10 或 40 位氨基酸的侧链胺、羟基或硫醇使胰高血糖素肽直接酰化。

[0303] 在某些实施方案中,包含侧链胺的氨基酸为式 I 氨基酸:

[0304]



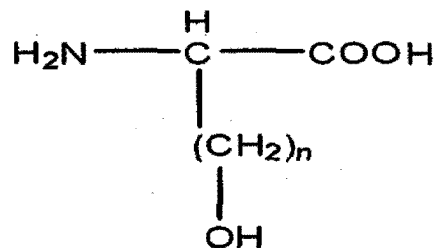
[0305] 其中  $n = 1-4$

[0306] [式 I]

[0307] 在某些例示性实施方案中,式 I 氨基酸是其中  $n$  为 4 (Lys) 或  $n$  为 3 (Orn) 的氨基酸。

[0308] 在其它实施方案中,包含侧链羟基氨基酸为式 II 氨基酸:

[0309]

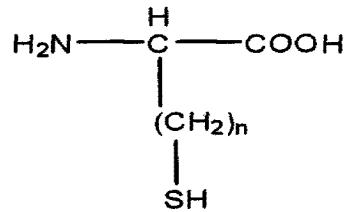


[0310] 其中  $n = 1-4$

[0311] [式 II]

[0312] 在某些例示性实施方案中,式 II 氨基酸是其中 n 为 1(Ser) 的氨基酸。在另外的其它实施方案中,包含侧链硫醇的氨基酸为式 III 氨基酸:

[0313]



[0314] 其中 n = 1-4

[0315] [式 III]

[0316] 在某些例示性实施方案中,式 II 氨基酸是其中 n 为 1(Cys) 的氨基酸。

[0317] 在另外的其它实施方案中,包含侧链胺、羟基或硫醇的氨基酸为包含同样的式 I、式 II 或式 III 结构的二取代氨基酸,不同的是用第二个侧链来置换键合到式 I、式 II 或式 III 氨基酸的  $\alpha$  碳的氢。

[0318] 在本发明一个实施方案中,酰化的胰高血糖素肽包含肽和酰基之间的间隔物。在某些实施方案中,胰高血糖素肽与间隔物共价结合,所述间隔物与酰基共价结合。

[0319] 被间隔物连接的氨基酸可为包含允许与间隔物连接的部分的任何氨基酸(例如单或双  $\alpha$ -取代氨基酸)。例如,包含侧链  $\text{NH}_2$ 、 $-\text{OH}$  或  $-\text{COOH}$ (例如 Lys、Orn、Ser、Asp 或 Glu) 的氨基酸是合适的。在这点上,酰化的胰高血糖素肽可包含 SEQ ID NO:1 氨基酸序列或其经修饰的氨基酸序列,所述经修饰的氨基酸序列包含一种或多种本文所述氨基酸修饰,且 10、20、24、29 和 40 位氨基酸中的至少一个被修饰为包含侧链胺、羟基或羧酸酯的任何氨基酸。

[0320] 在某些实施方案中,间隔物为包含侧链胺、羟基或硫醇或二肽或三肽的氨基酸,所述二肽或三肽包含包含侧链胺、羟基或硫醇的氨基酸。

[0321] 当通过间隔物的胺基团发生酰化时,酰化可通过氨基酸的  $\alpha$  胺或侧链胺发生。在其中  $\alpha$  胺被酰化的情况下,间隔物氨基酸可为任何氨基酸。例如,间隔物氨基酸可为疏水氨基酸,例如 Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Trp、Met、Phe、Tyr、6-氨基己酸、5-氨基戊酸、7-氨基庚酸和 8-氨基辛酸。或者,间隔物氨基酸可为酸性残基,例如 Asp 和 Glu。

[0322] 在其中间隔物氨基酸侧链胺被酰化的情况下,间隔物氨基酸为包含侧链胺的氨基酸,例如式 I 氨基酸(例如 Lys 或 Orn)。在这种情况下,可能间隔物氨基酸的  $\alpha$  胺和侧链胺二者都被酰化,由此胰高血糖素肽被二酰化。本发明实施方案包括所述二酰化的分子。

[0323] 当通过间隔物的羟基发生酰化时,氨基酸或二肽或三肽的氨基酸之一可为式 II 氨基酸。在特定例示性实施方案中,所述氨基酸为 Ser。

[0324] 当通过间隔物的硫醇基团发生酰化时,氨基酸或二肽或三肽的氨基酸之一可为式 III 氨基酸。在特定例示性实施方案中,所述氨基酸为 Cys。

[0325] 在某些实施方案中,间隔物为亲水双官能间隔物。在某些实施方案中,亲水双官能间隔物包含两个或更多个活性基团,例如胺、羟基、硫醇和羧基或其任何组合。在某些实施方案中,亲水双官能间隔物包含羟基和羧酸酯。在其它实施方案中,亲水双官能间隔物包含胺基团和羧酸酯。在其它实施方案中,亲水双官能间隔物包含硫醇基团和羧酸酯。在特定实施方案中,所述间隔物包含氨基聚(烷氧基)羧酸酯。在这点上,间隔物可包含例如

$\text{NH}_2(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n(\text{CH}_2)_m\text{COOH}$ , 其中  $m$  为自 1 到 6 的任何整数,  $n$  为自 2 到 12 的任何整数, 所述间隔物例如 8-氨基-3,6-二氧杂辛酸, 其可购自 Peptides International, Inc. (Louisville, KY)。

[0326] 在某些实施方案中, 间隔物为疏水双官能间隔物。疏水双官能间隔物为本领域所知。参见例如 Bioconjugate Techniques, G. T. Hermanson (Academic Press, San Diego, CA, 1996), 以其整体在此引作参考。在某些实施方案中, 疏水双官能间隔物包含两个或更多个反应性基团, 例如胺、羟基、硫醇和羧基或其任何组合。在某些实施方案中, 疏水双官能间隔物包含羟基和羧酸酯。在其它实施方案中, 疏水双官能间隔物包含胺基团和羧酸酯。在其它实施方案中, 疏水双官能间隔物包含硫醇基团和羧酸酯。包含羧酸酯和羟基或硫醇基团的合适的疏水双官能间隔物为本领域已知, 包括例如 8-羟基辛酸和 8-巯基辛酸。

[0327] 在某些实施方案中, 双官能间隔物不是包含羧酸酯基团之间的 1-7 个碳原子的非支链亚甲基的二羧酸。在某些实施方案中, 双官能间隔物是包含羧酸酯基团之间的 1-7 个碳原子的非支链亚甲基的二羧酸。

[0328] 特定实施方案中的间隔物 (例如氨基酸、二肽、三肽、亲水双官能间隔物或疏水双官能间隔物) 长度是 3-10 个原子 (例如 6-10 个原子 (例如 6、7、8、9 或 10 个原子))。在更特定实施方案中, 所述间隔物长度为约 3-10 个原子 (例如 6-10 个原子), 并且所述酰基为 C12-C18 脂肪酰基, 例如 C14 脂肪酰基、C16 脂肪酰基, 以使间隔物和酰基的总长为 14-28 个原子, 例如约 14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27 或 28 个原子。在某些实施方案中, 间隔物和酰基的长度为 17-28 (例如 19-26、19-21) 个原子。

[0329] 根据某些前述实施方案, 双官能间隔物可为合成的或天然存在的氨基酸 (包括但不限于本文所述的任何氨基酸), 所述氨基酸包含长度为 3-10 个原子的氨基酸主链 (例如 6-氨基己酸、5-氨基戊酸、7-氨基庚酸和 8-氨基辛酸)。或者, 间隔物可为二肽或三肽间隔物, 其具有长度为 3-10 个原子 (例如 6-10 个原子) 的肽主链。二肽或三肽间隔物的每一个氨基酸可与该二肽或三肽的其它氨基酸相同或不同, 并可独立选自: 天然存在的和 / 或非天然存在的氨基酸, 包括例如天然存在的氨基酸 (Ala, Cys, Asp, Glu, Phe, Gly, His, Ile, Lys, Leu, Met, Asn, Pro, Arg, Ser, Thr, Val, Trp, Tyr) 的任何 D 或 L 异构体, 或选自以下的非天然存在的氨基酸的任何 D 或 L 异构体:  $\beta$ -丙氨酸 ( $\beta$ -Ala)、 $N$ - $\alpha$ -甲基-丙氨酸 (Me-Ala)、氨基丁酸 (Abu)、 $\gamma$ -氨基丁酸 ( $\gamma$ -Abu)、氨基己酸 ( $\epsilon$ -Ahx)、氨基异丁酸 (Aib)、氨基甲基吡咯甲酸、氨基哌啶甲酸、氨基丝氨酸 (Ams)、氨基四氢吡喃-4-甲酸、精氨酸  $N$ -甲氧基- $N$ -甲基酰胺、 $\beta$ -天冬氨酸 ( $\beta$ -Asp)、氮杂环丁烷甲酸、3-(2-苯并噻唑基) 丙氨酸、 $\alpha$ -叔-丁基甘氨酸、2-氨基-5-脲基- $n$ -戊酸 (瓜氨酸, Cit)、 $\beta$ -环己基丙氨酸 (Cha)、乙酰氨基甲基-半胱氨酸、二氨基丁酸 (Dab)、二氨基丙酸 (Dpr)、二羟苯丙氨酸 (DOPA)、二甲基噻唑烷 (DMTA)、 $\gamma$ -谷氨酸 ( $\gamma$ -Glu)、高丝氨酸 (Hse)、羟基脯氨酸 (Hyp)、异亮氨酸  $N$ -甲氧基- $N$ -甲基酰胺、甲基-异亮氨酸 (MeIle)、六氢异烟酸 (Isn)、甲基-亮氨酸 (MeLeu)、甲基-赖氨酸、二甲基-赖氨酸、三甲基-赖氨酸、甲醇基脯氨酸、甲硫氨酸-亚砷 (Met(O))、甲硫氨酸-砷 (Met(O<sub>2</sub>))、正亮氨酸 (Nle)、甲基-正亮氨酸 (Me-Nle)、正缬氨酸 (Nva)、鸟氨酸 (Orn)、对氨基苯甲酸 (PABA)、青霉素 (Pen)、甲基苯丙氨酸 (MePhe)、4-氯苯丙氨酸 (Phe(4-Cl))、4-氟苯丙氨酸 (Phe(4-F))、4-硝基苯丙氨酸 (Phe(4-NO<sub>2</sub>))、4-氰基苯丙氨酸 ((Phe(4-CN))、苯基甘氨酸 (Phg)、哌啶基丙氨酸、哌啶基甘氨酸、3,4-脱氢脯氨酸、吡咯

烷基丙氨酸、肌氨酸 (Sar)、硒代半胱氨酸 (Sec)、0- 苄甲基 - 磷酸丝氨酸、4- 氨基 -3- 羟基 -6- 甲基庚酸 (Sta)、4- 氨基 -5- 环己基 -3- 羟基戊酸 (ACHPA)、4- 氨基 -3- 羟基 -5- 苯基戊酸 (AHPPA)、1,2,3,4, - 四氢 - 异喹啉 -3- 甲酸 (Tic)、四氢吡喃甘氨酸、噻吩基丙氨酸 (Thi)、0- 苄甲基 - 磷酸酪氨酸、0- 磷酸酪氨酸、甲氧基酪氨酸、乙氧基酪氨酸、0- ( 双 - 二甲基氨基 - 膦酰基 ) - 酪氨酸、硫酸酪氨酸四丁基胺、甲基 - 缬氨酸 (MeVal) 和烷化的 3- 巯基丙氨酸。

[0330] 在某些实施方案中, 间隔物包含整体负电荷 (overall negative charge), 例如包含一个或两个带负电荷的氨基酸。在某些实施方案中, 二肽不是任何通常结构 A-B 的二肽, 其中 A 选自 Gly、Gln、Ala、Arg、Asp、Asn、Ile、Leu、Val、Phe 和 Pro, 其中 B 选自 Lys、His、Trp。在某些实施方案中, 二肽间隔物选自: Ala-Ala、 $\beta$ -Ala- $\beta$ -Ala、Leu-Leu、Pro-Pro、 $\gamma$ -氨基丁酸- $\gamma$ -氨基丁酸和  $\gamma$ -Glu- $\gamma$ -Glu。

[0331] 在某些例示性实施方案中, 通过酰化间隔物的胺、羟基或硫醇来修饰胰高血糖素肽以包含酰基, 将所述间隔物连接到 10、20、24、29 或 40 位氨基酸或胰高血糖素肽的 C- 末端氨基酸的侧链。

[0332] 在更为特定的实施方案中, 将酰基连接到胰高血糖素肽的 10 或 40 位氨基酸, 任选间隔物和酰基的长度为 14-28 个原子。在某些方面, 10 或 40 位氨基酸为式 I 氨基酸, 例如 Lys, 或与式 I 相关的二取代氨基酸。在更特定实施方案中, 胰高血糖素肽缺乏分子内桥, 例如共价分子内桥。例如, 胰高血糖素肽可为包含一个或多个用于稳定肽的  $\alpha$  螺旋的  $\alpha$ ,  $\alpha$ -二取代氨基酸 (例如 AIB) 的肽。如本文所述, 所述包含共价连接到 40 位氨基酸侧链的酰化间隔物的肽针对 GIP 受体、GLP-1 受体和胰高血糖素受体表现出提高的效价。

[0333] 经由胺、羟基和硫醇使肽酰化的合适的方法为本领域已知。参见例如: 实施例 19 (通过胺酰化的方法), Miller, *Biochem Biophys Res Commun* 218:377-382 (1996); Shimohigashi 和 Stammer, *Int J Pept Protein Res* 19:54-62 (1982); 和 Previero 等, *Biochim Biophys Acta* 263:7-13 (1972) (通过羟基酰化的方法); 和 San 和 Silvius, *J Pept Res* 66:169-180 (2005) (通过硫醇酰化的方法); *Bioconjugate Chem.* "Chemical Modifications of Proteins: History and Applications (蛋白质的化学修饰: 历史和应用)" 第 1、2-12 页 (1990); Hashimoto 等, *Pharmaceutical Res.* "Synthesis of Palmitoyl Derivatives of Insulin and their Biological Activity (胰岛素的棕榈酰衍生物的合成及其生物学活性)" 第 6 卷, No:2 第 171-176 页 (1989)。

[0334] 酰化的胰高血糖素肽的酰基可为任何大小, 例如任何长度的碳链, 且可为直链或支链的。在本发明某些特定实施方案中, 所述酰基为 C4-C30 脂肪酸。例如, 酰基可为 C4 脂肪酸、C6 脂肪酸、C8 脂肪酸、C10 脂肪酸、C12 脂肪酸、C14 脂肪酸、C16 脂肪酸、C18 脂肪酸、C20 脂肪酸、C22 脂肪酸、C24 脂肪酸、C26 脂肪酸、C28 脂肪酸或 C30 脂肪酸中的任何一种。在某些实施方案中, 酰基为 C8-C20 脂肪酸, 例如 C14 脂肪酸或 C16 脂肪酸。

[0335] 在备选实施方案中, 酰基为胆汁酸。胆汁酸可为任何合适的胆汁酸, 包括但不限于胆酸、鹅脱氧胆酸、脱氧胆酸、石胆酸、牛磺胆酸、甘氨酸胆酸和胆固醇酸。

[0336] 在本发明某些实施方案中, 通过使胰高血糖素肽长链烷烃酰化来修饰胰高血糖素肽以包含酰基。在特定方面, 所述长链烷烃包含胺、羟基或硫醇基团 (例如十八胺、十四醇和十六烷硫醇), 它们与胰高血糖素肽的羧基或其活化形式反应。胰高血糖素肽的羧基或其

活化形式可为胰高血糖素肽的氨基酸（例如谷氨酸、天冬氨酸）的侧链部分，或可为肽主链部分。

[0337] 在某些实施方案中，通过与胰高血糖素肽连接的间隔物使长链烷烃酰化来修饰胰高血糖素肽以包含酰基。在特定方面，所述长链烷烃包含胺、羟基或硫醇基团，它们与间隔物的羧基或其活化形式反应。本文阐述了包含羧基或其活化形式的合适的间隔物，其包括例如双官能间隔物，例如氨基酸、二肽、三肽、亲水双官能间隔物和疏水双官能间隔物。

[0338] 本文所用术语“羧基的活化形式”指具有通式  $R(C=O)X$  的羧基，其中  $X$  为离去基团，且  $R$  为胰高血糖素肽或间隔物。例如，羧基的活化形式可包括但不限于酰基氯、酸酐和酯。在某些实施方案中，活化的羧基为含  $N$ -羟基琥珀酰亚胺酯 (NHS) 离去基团的酯。

[0339] 对于通过胰高血糖素肽或间隔物来酰化长链烷烃的本发明这些方面，所述长链烷烃可为任何大小，且可包含任何长度的碳链。长链烷烃可为直链或支链的。在某些方面，长链烷烃为  $C_4$ - $C_{30}$  烷烃。例如，长链烷烃可为  $C_4$  烷烃、 $C_6$  烷烃、 $C_8$  烷烃、 $C_{10}$  烷烃、 $C_{12}$  烷烃、 $C_{14}$  烷烃、 $C_{16}$  烷烃、 $C_{18}$  烷烃、 $C_{20}$  烷烃、 $C_{22}$  烷烃、 $C_{24}$  烷烃、 $C_{26}$  烷烃、 $C_{28}$  烷烃或  $C_{30}$  烷烃中的任何一种。在某些实施方案中，长链烷烃包含  $C_8$ - $C_{20}$  烷烃，例如  $C_{14}$  烷烃、 $C_{16}$  烷烃或  $C_{18}$  烷烃。

[0340] 同样在某些实施方案中，用胆固醇酸来酰化胰高血糖素肽的胺、羟基或硫醇基团。在特定实施方案中，通过经修饰的 Cys 间隔物让胰高血糖素肽与胆固醇酸连接。

[0341] 可进一步修饰本文所述酰化的胰高血糖素肽以包含亲水部分。在某些特定实施方案中，亲水部分可包含聚乙二醇 (PEG) 链。可通过任何合适的方式引入亲水部分，例如本文所述的任何方法。在这点上，酰化的胰高血糖素肽可包含包括任何本文所述修饰在内的 SEQ ID NO :1，其中 10、20、24、29 和 40 位氨基酸中的至少一个位置包含酰基，并且在 16、17、21、24、29 或 40 位、 $C$ -末端突出端内的位置或  $C$ -末端氨基酸中至少一个氨基酸被修饰为 Cys、Lys、Orn、高 Cys 或 Ac-Phe，将氨基酸侧链共价键合到亲水部分（例如 PEG）。在某些实施方案中，将酰基连接到 10 或 40 位，任选经由包含 Cys、Lys、Orn、高 Cys 或 Ac-Phe 的间隔物，并且在 24 位 Cys 残基处引入亲水部分。

[0342] 或者，酰化的胰高血糖素肽可包含间隔物，其中间隔物既被酰化又被修饰为包含亲水部分。合适的间隔物的非限制性实例包括包含选自 Cys、Ac-Cys、Lys、Orn、高 Cys 和 Ac-Phe 的一个或多个氨基酸的间隔物。

[0343] 在本发明的特定方面，酰化的胰高血糖素肽包含以下任何氨基酸序列：SEQ ID NO :101-106、113-115、117-119、123-125、128-130、132-134、136-138、141-145、148、151、152、154、156、158、160、162、163、165、166、231、234-239、257 和 258。

[0344] 根据某些实施方案，修饰胰高血糖素肽以包含烷基，例如氨基酸上并非天然存在的烷基（例如对于天然存在的氨基酸为非天然的烷基）。不坚持任何特定的理论，认为胰高血糖素的烷化将会达到与胰高血糖素酰化相似（即使不是同样）的效果，例如延长循环半衰期，推迟作用起始，延长作用时间，改进对蛋白酶例如 DPP-IV 的抗性，和提高针对 GLP-1 受体、GIP 受体和胰高血糖素受体的效价。

[0345] 烷化可在胰高血糖素肽内的任何位置进行，包括 1-29 位、 $C$ -末端突出端内或  $N$ -或  $C$ -末端氨基酸中的任何位置，前提是即使不提高 GIP 活性也要保留 GIP 活性（并任选 GLP-1 和 / 或胰高血糖素活性）。烷化可例如在添加到胰高血糖素序列 (SEQ ID NO :1) 中的任何氨



基酸中发生,例如在 N- 或 C- 末端。非限制性实例包括 1、5、10、11、12、13、14、16、17、18、19、20、21、24、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49 或 50 位。可将烷基直接与胰高血糖素肽的氨基酸共价连接,或经由间隔物间接与胰高血糖素肽的氨基酸连接,其中间隔物位于胰高血糖素肽的氨基酸和烷基之间。胰高血糖素肽可在连接亲水部分的同一个氨基酸位置被烷化,或在不同的氨基酸位置被烷化。非限制性实例包括 10 位或 40 位的烷化,并在胰高血糖素肽的 C- 末端部分的一个或多个位置(例如 24、28、29 或 40 位)、C- 末端突出端内或在 C- 末端(例如通过添加的 C- 末端 Cys) 聚乙二醇化。

[0346] 在本发明的特定方面,通过直接使胰高血糖素肽氨基酸侧链的胺、羟基或硫醇烷化,来修饰胰高血糖素肽以包含烷基。在某些实施方案中,通过氨基酸侧链的胺、羟基或硫醇直接使胰高血糖素肽烷化。在某些实施方案中,在 10、20、24、29 或 40 位烷化。在这点上,烷化的胰高血糖素肽可包含 SEQ ID NO :1 氨基酸序列或其经修饰的氨基酸序列,所述经修饰的氨基酸序列包含一个或多个本文所述氨基酸修饰,且 10、20、24、29 和 40 位氨基酸中的至少一个被修饰为包含侧链胺、羟基或硫醇的任何氨基酸。在本发明某些特定实施方案中,通过 10 位氨基酸的侧链胺、羟基或硫醇使胰高血糖素肽直接烷化。

[0347] 在某些实施方案中,包含侧链胺的氨基酸为式 I 氨基酸。在某些例示性实施方案中,式 I 氨基酸是其中 n 为 4(Lys) 或 n 为 3(Orn) 的氨基酸。

[0348] 在其它实施方案中,包含侧链羟基的氨基酸为式 II 氨基酸。在某些例示性实施方案中,式 II 氨基酸是其中 n 为 1(Ser) 的氨基酸。

[0349] 在另外的其它实施方案中,包含侧链硫醇的氨基酸为式 III 氨基酸。在某些例示性实施方案中,式 III 氨基酸是其中 n 为 1(Cys) 的氨基酸。

[0350] 在另外的其它实施方案中,包含侧链胺、羟基或硫醇的氨基酸为包含同样的式 I、式 II 或式 III 结构的二取代氨基酸,不同的是用第二个侧链来置换键合到式 I、式 II 或式 III 氨基酸的  $\alpha$  碳的氢。

[0351] 在本发明一个实施方案中,烷化的胰高血糖素肽包含肽和烷基之间的间隔物。在某些实施方案中,胰高血糖素肽与间隔物共价结合,所述间隔物与烷基共价结合。在某些例示性实施方案中,通过烷化间隔物的胺、羟基或硫醇来修饰胰高血糖素肽以包含烷基,将所述间隔物连接到胰高血糖素肽的 10、20、24、29 或 40 位氨基酸的侧链。被间隔物连接的氨基酸可为包含允许与间隔物连接的部分的任何氨基酸(例如单  $\alpha$ - 取代氨基酸或  $\alpha, \alpha$ - 二取代氨基酸)。例如,包含侧链  $\text{NH}_2$ 、 $-\text{OH}$  或  $-\text{COOH}$  的氨基酸(例如 Lys、Orn、Ser、Asp 或 Glu) 是合适的。在这点上,烷化的胰高血糖素肽可包含 SEQ ID NO :1 氨基酸序列或其经修饰的氨基酸序列,所述经修饰的氨基酸序列包含一个或多个本文所述氨基酸修饰,且 10、20、24、29 和 40 位氨基酸中的至少一个被修饰为包含侧链胺、羟基或羧酸酯的任何氨基酸。

[0352] 在某些实施方案中,间隔物为包含侧链胺、羟基或硫醇或二肽或三肽的氨基酸,所述二肽或三肽包含包含侧链胺、羟基或硫醇的氨基酸。

[0353] 当通过间隔物的胺基团发生烷化时,烷化可通过氨基酸的  $\alpha$  胺或侧链胺发生。在其中  $\alpha$  胺被烷化的情况下,间隔物氨基酸可为任何氨基酸。例如,间隔物氨基酸可为疏水氨基酸,例如 Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Trp、Met、Phe、Tyr、6- 氨基己酸、5- 氨基戊酸、7- 氨基庚酸和 8- 氨基辛酸。或者,间隔物氨基酸可为酸性残基,例如 Asp 和 Glu,前提是烷化发

生在酸性残基的  $\alpha$  胺上。在中间隔物氨基酸侧链胺被烷化的情况下,间隔物氨基酸为包含侧链胺的氨基酸,例如式 I 氨基酸(例如 Lys 或 Orn)。在这种情况下,可能间隔物氨基酸的  $\alpha$  胺和侧链胺二者都被烷化,由此胰高血糖素肽被二烷化。本发明实施方案包括所述二烷化的分子。

[0354] 当通过间隔物的羟基发生烷化时,所述氨基酸或二肽或三肽的氨基酸之一可为式 II 氨基酸。在特定例示性实施方案中,所述氨基酸为 Ser。

[0355] 当通过间隔物的硫醇基团发生烷化时,所述氨基酸或二肽或三肽的氨基酸之一可为式 III 氨基酸。在特定例示性实施方案中,所述氨基酸为 Cys。

[0356] 在某些实施方案中,间隔物为亲水双官能间隔物。在某些实施方案中,亲水双官能间隔物包含两个或多个反应性基团,例如胺、羟基、硫醇和羧基或其任何组合。在某些实施方案中,亲水双官能间隔物包含羟基和羧酸酯。在其它实施方案中,亲水双官能间隔物包含胺基团和羧酸酯。在其它实施方案中,亲水双官能间隔物包含硫醇基团和羧酸酯。在特定实施方案中,所述间隔物包含氨基聚(烷氧基)羧酸酯。在这点上,间隔物可包含例如  $\text{NH}_2(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n(\text{CH}_2)_m\text{COOH}$ , 其中  $m$  为自 1 到 6 的任何整数,  $n$  为自 2 到 12 的任何整数,所述间隔物例如 8-氨基-3,6-二氧杂辛酸,其可购自 Peptides International, Inc. (Louisville, KY)。

[0357] 在某些实施方案中,间隔物为疏水双官能间隔物。在某些实施方案中,疏水双官能间隔物包含两个或多个反应性基团,例如胺、羟基、硫醇和羧基或其任何组合。在某些实施方案中,疏水双官能间隔物包含羟基和羧酸酯。在其它实施方案中,疏水双官能间隔物包含胺基团和羧酸酯。在其它实施方案中,疏水双官能间隔物包含硫醇基团和羧酸酯。包含羧酸酯和羟基或硫醇基团的合适的疏水双官能间隔物为本领域已知,包括例如 8-羟基辛酸和 8-巯基辛酸。

[0358] 特定实施方案中的间隔物(例如氨基酸、二肽、三肽、亲水双官能间隔物或疏水双官能间隔物)长度是 3-10 个原子(例如 6-10 个原子(例如 6、7、8、9 或 10 个原子))。在更特定实施方案中,所述间隔物长度为约 3-10 个原子(例如 6-10 个原子),所述烷基为 C12-C18 烷基,例如 C14 烷基、C16 烷基,以使间隔物和烷基的总长为 14-28 个原子,例如约 14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27 或 28 个原子。在某些实施方案中,间隔物和烷基的长度为 17-28(例如 19-26、19-21) 个原子。

[0359] 根据某些前述实施方案,双官能间隔物可为合成的或天然存在的氨基酸,所述氨基酸包含长度为 3-10 个原子的氨基酸主链(例如 6-氨基己酸、5-氨基戊酸、7-氨基庚酸和 8-氨基辛酸)。或者,间隔物可为二肽或三肽间隔物,其具有长度为 3-10 个原子(例如 6-10 个原子)的肽主链。二肽或三肽间隔物可由天然和/或非天然氨基酸组成,包括例如本文教导的任何氨基酸。在某些实施方案中,间隔物包含整体负电荷,例如包含一个或两个带负电荷的氨基酸。在某些实施方案中,二肽间隔物选自  $\alpha$ -Ala-Ala、 $\beta$ -Ala- $\beta$ -Ala、Leu-Leu、Pro-Pro、 $\gamma$ -氨基丁酸- $\gamma$ -氨基丁酸和  $\gamma$ -Glu- $\gamma$ -Glu。

[0360] 经由胺、羟基和硫醇使肽烷化的合适的方法为本领域已知。例如,可用 Williamson 醚合成来形成胰高血糖素肽羟基和所述烷基之间的醚连接。同样,肽与卤代烷的亲核取代反应可产生任何醚、硫醚或氨基连接。

[0361] 烷化的胰高血糖素肽的烷基可为任何大小,例如任何长度的碳链,并可为直链或

有支链的。在本发明某些实施方案中,所述烷基为 C4-C30 烷基。例如,烷基可为 C4 烷基、C6 烷基、C8 烷基、C10 烷基、C12 烷基、C14 烷基、C16 烷基、C18 烷基、C20 烷基、C22 烷基、C24 烷基、C26 烷基、C28 烷基或 C30 烷基中的任何一种。在某些实施方案中,烷基为 C8-C20 烷基,例如 C14 烷基或 C16 烷基。

[0362] 在某些特定实施方案中,烷基包含胆汁酸的类固醇部分,所述胆汁酸例如胆酸、鹅脱氧胆酸、脱氧胆酸、石胆酸、牛磺胆酸、甘氨酸胆酸和胆固醇酸。

[0363] 在本发明某些实施方案中,通过让亲核长链烷烃与胰高血糖素肽反应来修饰胰高血糖素肽以包含烷基,其中胰高血糖素肽包含适于亲核取代的离去基团。在特定方面,长链烷烃的亲核基团包含胺、羟基或硫醇基团(例如十八胺、十四醇和十六烷硫醇)。胰高血糖素肽的离去基团可为氨基酸的侧链部分,或可为肽主链的部分。合适的离去基团包括例如 N-羟基琥珀酰亚胺、卤素和磺酸酯。

[0364] 在某些实施方案中,通过让亲核长链烷烃与连接到胰高血糖素肽的间隔物反应来修饰胰高血糖素肽以包含烷基,其中所述间隔物包含离去基团。在特定方面,长链烷烃包含胺、羟基或硫醇基团。在某些实施方案中,包含离去基团的间隔物可为本文所述的任何间隔物,例如进一步包含合适的离去基团的氨基酸、二肽、三肽、亲水双官能间隔物和疏水双官能间隔物。

[0365] 关于通过胰高血糖素肽或间隔物来烷化长链烷烃的本发明这些方面,所述长链烷烃可为任何大小,并可包含任何长度的碳链。长链烷烃可为直链或支链的。在某些方面,长链烷烃为 C4-C30 烷烃。例如,长链烷烃可为 C4 烷烃、C6 烷烃、C8 烷烃、C10 烷烃、C12 烷烃、C14 烷烃、C16 烷烃、C18 烷烃、C20 烷烃、C22 烷烃、C24 烷烃、C26 烷烃、C28 烷烃或 C30 烷烃中的任何一种。在某些实施方案中,长链烷烃包含 C8-C20 烷烃,例如 C14 烷烃、C16 烷烃或 C18 烷烃。

[0366] 同样在某些实施方案中,可在胰高血糖素肽和胆固醇部分之间发生烷化。例如,胆固醇羟基可替代长链烷烃上的离去基团以形成胆固醇-胰高血糖素肽产物。

[0367] 可进一步修饰本文所述烷化的胰高血糖素肽以包含亲水部分。在某些特定实施方案中,亲水部分可包含聚乙二醇(PEG)链。可通过任何合适的方式引入亲水部分,例如本文所述的任何方法。在这点上,烷化的胰高血糖素肽可包含 SEQ ID NO:1 或其经修饰的氨基酸序列,所述经修饰的氨基酸序列包含本文所述的一个或多个氨基酸修饰,其中在 10、20、24、29 和 40 位氨基酸位置中的至少一个包含烷基,且在 16、17、21、24、29 或 40 位、C-末端突出端内的位置或 C-末端氨基酸中至少一个氨基酸被修饰为 Cys、Lys、Orn、高 Cys 或 Ac-Phe,并且将氨基酸侧链共价键合到亲水部分(例如 PEG)。在某些实施方案中,将烷基连接到 10 或 40 位,任选经由包含 Cys、Lys、Orn、高 Cys 或 Ac-Phe 的间隔物,且在 24 位 Cys 残基处引入亲水部分。

[0368] 或者,烷化的胰高血糖素肽可包含间隔物,其中间隔物既被烷化又被修饰为包含亲水部分。合适的间隔物的非限制性实例包括包含选自 Cys、Ac-Cys、Lys、Orn、高 Cys 和 Ac-Phe 中的一个或多个氨基酸的间隔物。

[0369] 例示性实施方案

[0370] 根据本发明某些实施方案,具有 GIP 激动剂活性的胰高血糖素(SEQ ID NO:1)类似物包含以下修饰的 SEQ ID NO:1:(a) 赋予 GIP 激动剂活性的 1 位氨基酸修饰;(b) 稳定

类似物的 C- 末端部分 (12-29 位氨基酸)  $\alpha$  螺旋结构的修饰;和 (c) 任选 1-10 (例如 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10) 个另外的氨基酸修饰。在某些实施方案中,类似物表现出天然 GIP 针对 GIP 受体活性的至少约 1%,或表现出针对本文所述 GIP 受体的任何其它活性水平。

[0371] 在某些实施方案中,稳定  $\alpha$  螺旋结构的修饰是提供或引入分子内桥,包括例如共价分子内桥,例如本文所述的任何分子内桥。在某些实施方案中,共价分子内桥为内酰胺桥。这些实施方案类似物的内酰胺桥可为本文所述的内酰胺桥。参见例如“ $\alpha$  螺旋结构的稳定化”章节下内酰胺桥的教导。例如,内酰胺桥可为 i 和 i+4 位置处的氨基酸侧链之间或在 j 和 j+3 位置处的氨基酸侧链之间的内酰胺桥,其中 i 为 12、13、16、17、20 或 24,其中 j 为 17。在某些实施方案中,内酰胺桥可在 16 和 20 位氨基酸之间,其中 16 和 20 位的氨基酸之一被 Glu 取代,且 16 和 20 位的另一氨基酸被 Lys 取代。

[0372] 在备选实施方案中,稳定  $\alpha$  螺旋结构的修饰是在类似物的 16、20、21 和 24 位引入一个、二个、三个或四个  $\alpha$ ,  $\alpha$ -二取代氨基酸。在某些实施方案中, $\alpha$ ,  $\alpha$ -二取代氨基酸为 AIB。在某些方面, $\alpha$ ,  $\alpha$ -二取代氨基酸 (例如 AIB) 在 20 位,16 位氨基酸被带正电荷的氨基酸例如式 IV 氨基酸取代,这如本文所述。式 IV 氨基酸可为高 Lys、Lys、Orn 或 2,4-二氨基丁酸 (Dab)。

[0373] 在本发明的特定方面,1 位氨基酸修饰为用缺乏咪唑侧链的氨基酸例如芳香族大氨基酸 (例如 Tyr) 取代 His。

[0374] 在某些方面,胰高血糖素类似物包含 27、28 和 29 位中的一个、两个或全部位置的氨基酸修饰。例如,27 位的 Met 可被脂肪族大氨基酸取代,所述氨基酸任选 Leu;28 位 Asn 可被脂肪族小氨基酸取代,所述氨基酸任选 Ala;29 位的 Thr 可被脂肪族小氨基酸取代,所述氨基酸任选 Gly;或前述两个或三个组合。在特定实施方案中,胰高血糖素类似物包含 27 位的 Leu、28 位的 Ala 和 29 位的 Gly 或 Thr。

[0375] 在本发明某些实施方案中,胰高血糖素类似物包含在 29 位氨基酸 C-末端处的 1-21 个氨基酸的突出端。例如,所述突出端可包含 SEQ IDNO:95 或 96 氨基酸序列。另外或作为备选,胰高血糖素类似物可包含突出端,所述突出端的 1-6 个氨基酸为带正电荷的氨基酸。带正电荷的氨基酸可为式 IV 氨基酸,其包括但不限于 Lys、高 Lys、Orn 和 Dab。

[0376] 在某些实施方案中,胰高血糖素类似物如本文所述被酰化或烷化。例如,可用或不用间隔物在类似物的 10 或 40 位将所述酰基或烷基连接到胰高血糖素类似物,其如本文进一步所述。可另外或作为备选修饰类似物以包含亲水部分,其如本文进一步所述。另外,在某些实施方案中,所述类似物包含以下修饰中的任何一种或组合:

[0377] (a) 用 D-Ser、Ala、D-Ala、Gly、N-甲基-Ser、AIB、Val 或  $\alpha$ -氨基-N-丁酸取代 2 位 Ser;

[0378] (b) 用 Trp、Lys、Orn、Glu、Phe 或 Val 取代 10 位 Tyr;

[0379] (c) 酰基与 10 位的 Lys 连接;

[0380] (d) 用 Arg 或 Ile 取代 12 位 Lys;

[0381] (e) 用 Glu、Gln、高谷氨酸、高半胱磺酸、Thr、Gly 或 AIB 取代 16 位 Ser;

[0382] (f) 用 Gln 取代 17 位 Arg;

[0383] (g) 用 Ala、Ser、Thr 或 Gly 取代 18 位 Arg;

[0384] (h) 用 Ser、Thr、Ala、Lys、瓜氨酸、Arg、Orn 或 AIB 取代 20 位 Gln;

[0385] (i) 用 Glu、高谷氨酸、高半胱磺酸取代 21 位 Asp；

[0386] (j) 用 Ile 取代 23 位 Val；

[0387] (k) 用 Asn、Ser、Thr、Ala 或 AIB 取代 24 位 Gln；和

[0388] (l) 在 2、5、9、10、11、12、13、14、15、16、8、19、20、21、24、27、28 和 29 位中的任何位置的保守性取代。

[0389] 在例示性实施方案中，具有 GIP 激动剂活性的胰高血糖素 (SEQ ID NO :1) 类似物包含以下修饰：

[0390] (a) 赋予 GIP 激动剂活性的 1 位氨基酸修饰；

[0391] (b) i 和 i+4 位置的氨基酸侧链之间或 j 和 j+3 位置的氨基酸侧链之间的内酰胺桥，其中 i 为 12、13、16、17、20 或 24，且其中 j 为 17；

[0392] (c) 在 27、28 和 29 位中的一个、两个或全部位置的氨基酸修饰，例如在 27 和 / 或 28 位的氨基酸修饰；和

[0393] (d) 1-9 或 1-6 个另外的氨基酸修饰，例如 1、2、3、4、5、6、7、8 或 9 个另外的氨基酸修饰；

[0394] 并且类似物对 GIP 受体激活的 EC<sub>50</sub> 为约 10nM 或更小。

[0395] 这些实施方案的类似物的内酰胺桥可为本文所述的内酰胺桥。参见例如“ $\alpha$  螺旋结构的稳定化”章节下的内酰胺桥教导。例如，内酰胺桥可在 16 和 20 位氨基酸之间，其中 16 和 20 位的氨基酸之一被 Glu 取代，且 16 和 20 位的另一氨基酸被 Lys 取代。

[0396] 根据这些实施方案，类似物可包含例如 SEQ ID NO :5-94 中任意的氨基酸序列。

[0397] 在其它例示性实施方案中，具有 GIP 激动剂活性的胰高血糖素 (SEQ ID NO :1) 类似物包含以下修饰：

[0398] (a) 赋予 GIP 激动剂活性的 1 位氨基酸修饰；

[0399] (b) 类似物的 16、20、21 和 24 位中的一个、二个、三个或全部氨基酸被  $\alpha$ ， $\alpha$ -二取代氨基酸取代；

[0400] (c) 在 27、28 和 29 位中的一个、两个或全部位置的氨基酸修饰，例如在 27 和 / 或 28 位的氨基酸修饰；和

[0401] (d) 1-9 或 1-6 个另外的氨基酸修饰，例如 1、2、3、4、5、6、7、8 或 9 个另外的氨基酸修饰；

[0402] 并且类似物对 GIP 受体激活的 EC<sub>50</sub> 为约 10nM 或更小。

[0403] 这些实施方案的类似物的  $\alpha$ ， $\alpha$ -二取代氨基酸可为任何  $\alpha$ ， $\alpha$ -二取代氨基酸，其包括但不限于氨基异丁酸 (AIB)、用选自甲基、乙基、丙基和正丁基的相同或不同基团或用环辛烷或环庚烷（例如 1-氨基环辛烷-1-甲酸）二取代的氨基酸。在某些实施方案中， $\alpha$ ， $\alpha$ -二取代氨基酸为 AIB。在某些实施方案中，20 位的氨基酸被  $\alpha$ ， $\alpha$ -二取代氨基酸例如 AIB 取代。

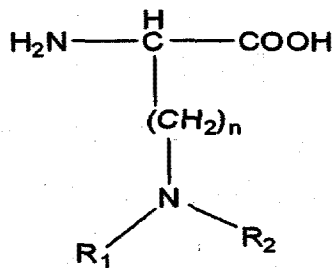
[0404] 根据这些实施方案，类似物可包含例如 SEQ ID NO :99-141、144-164、166-169 和 173-178 的任何氨基酸序列。

[0405] 在另外的其它实施方案中，具有 GIP 激动剂活性的胰高血糖素 (SEQ ID NO :1) 类似物包含以下修饰：

[0406] (a) 赋予 GIP 激动剂活性的 1 位氨基酸修饰；

[0407] (b) 用式 IV 氨基酸对 16 位 Ser 的氨基酸取代：

[0408]



[0409] [式 IV]，

[0410] 其中 n 为 1-16 或 1-10 或 1-7 或 1-6 或 2-6, R<sub>1</sub>和 R<sub>2</sub>各独立选自 H、C<sub>1</sub>-C<sub>18</sub>烷基、(C<sub>1</sub>-C<sub>18</sub>烷基)OH、(C<sub>1</sub>-C<sub>18</sub>烷基)NH<sub>2</sub>、(C<sub>1</sub>-C<sub>18</sub>烷基)SH、(C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>烷基)(C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>)环烷基、(C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>烷基)(C<sub>2</sub>-C<sub>5</sub>杂环)、(C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>烷基)(C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>芳基)R<sub>7</sub>和 (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>烷基)(C<sub>3</sub>-C<sub>9</sub>杂芳基)，其中 R<sub>7</sub>为 H 或 OH, 且式 IV 氨基酸侧链包含游离氨基；

[0411] (c) 用 α, α-二取代氨基酸进行 20 位 Gln 的氨基酸取代；

[0412] (d) 在 27、28 和 29 位中的一个、两个或全部位置的氨基酸修饰, 例如在 27 和 / 或 28 位的氨基酸修饰；和

[0413] (e) 1-9 或 1-6 个另外的氨基酸修饰, 例如 1、2、3、4、5、6、7、8 或 9 个另外的氨基酸修饰；

[0414] 并且类似物对 GIP 受体激活的 EC<sub>50</sub> 为约 10nM 或更小。

[0415] 这些实施方案类似物的式 IV 氨基酸可为任何氨基酸, 例如其中 n 为 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15 或 16 的式 IV 氨基酸。在某些实施方案中, n 为 2、3、4 或 5, 在这种情况下, 所述氨基酸分别为 Dab、Orn、Lys 或高 Lys。

[0416] 这些实施方案类似物的 α, α-二取代氨基酸可为任何 α, α-二取代氨基酸, 其包括但不限于氨基异丁酸 (AIB)、用选自甲基、乙基、丙基和正丁基的相同或不同基团或用环辛烷或环庚烷 (例如 1-氨基环辛烷-1-甲酸) 二取代的氨基酸。在某些实施方案中, α, α-二取代氨基酸为 AIB。

[0417] 根据这些实施方案, 类似物可包含例如 SEQ ID NO :99-165 的任何氨基酸序列。

[0418] 在另外的其它示例性实施方案中, 具有 GIP 激动剂活性的胰高血糖素 (SEQ ID NO : 1) 类似物包含：

[0419] (a) 赋予 GIP 激动剂活性的 1 位氨基酸修饰；和

[0420] (b) 在 29 位氨基酸 C-末端处的约 1-约 21 个氨基酸的突出端, 其中所述突出端的至少一个氨基酸被酰化或烷化；

[0421] 其中类似物对 GIP 受体激活的 EC<sub>50</sub> 为约 10nM 或更小。

[0422] 在某些实施方案中, 酰化或烷化的氨基酸为式 I、II 或 III 氨基酸。在更特定实施方案中, 式 I 氨基酸为 Dab、Orn、Lys 或高 Lys。同样在某些实施方案中, 约 1-约 21 个氨基酸的突出端包含 :GPSSGAPPPS (SEQ ID NO :95) 或 XGPSSGAPPPS (SEQ ID NO :96) 氨基酸序列, 其中 X 为任何氨基酸；或 GPSSGAPPPK (SEQ ID NO :170) 或 XGPSSGAPPPK (SEQ ID NO :171) 或 XGPSSGAPPPSK (SEQ ID NO :172), 其中 X 为 Gly 或脂肪族或非极性或非极性或小氨基酸。在某些实施方案中, 所述约 1-约 21 个氨基酸可包含相对于 SEQ ID NO :95、96、170、171

或 172 含有一个或多个保守性取代的序列。在某些实施方案中,酰化或烷化的氨基酸位于 C- 末端延伸的类似物的 37、38、39、40、41、42 或 43 位。在某些实施方案中,酰化或烷化氨基酸位于 C- 末端延伸的类似物的 40 位。

[0423] 在某些实施方案中,具有 GIP 激动剂活性的类似物进一步包含 27、28 和 29 位中的一个、两个或所有位置的氨基酸修饰,例如 27 和 / 或 28 位的氨基酸修饰。

[0424] 在以上任何例示性实施方案中,赋予 GIP 激动剂活性的 1 位氨基酸修饰可为用缺乏咪唑侧链的氨基酸取代 His。1 位的氨基酸修饰可例如为用芳香族大氨基酸取代 His。在某些实施方案中,芳香族大氨基酸为本文所述的任何芳香族大氨基酸,包括例如 Tyr。

[0425] 同样关于以上例示性的实施方案,27、28 和 29 位中的一个、两个或所有位置的氨基酸修饰可为本文所述这些位置的任何修饰。例如,27 位的 Met 可被脂肪族大氨基酸取代,所述氨基酸任选 Leu ;28 位的 Asn 可被脂肪族小氨基酸取代,所述氨基酸任选 Ala ;和 / 或 29 位的 Thr 可被脂肪族小氨基酸取代,所述氨基酸任选 Gly。或者,类似物可包含 27 和 / 或 28 位的所述氨基酸修饰。

[0426] 以上例示性实施方案类似物可进一步包含 1-9 或 1-6 个另外的添加的氨基酸修饰,例如 1、2、3、4、5、6、7、8 或 9 个另外的氨基酸修饰,例如,提高或降低针对 GIP、GLP-1 和胰高血糖素受体的以下任何活性的本文所述任何修饰:改进溶解性,改进作用时间或循环半衰期,延迟作用开始或提高稳定性。类似物可进一步包含例如:12 位的氨基酸修饰,任选用 Ile 取代;和 / 或 17 和 18 位的氨基酸修饰,任选用 Q 取代 17 位并用 A 取代 18 位;和 / 或向 C- 末端添加 GPSSGAPPPS (SEQ ID NO :95) 或 XGPSSGAPPPS (SEQ ID NO :96) 或相对于 SEQ ID NO :95 或 96 含有一个或多个保守性取代的序列。类似物可包含一个或多个以下修饰:

[0427] (i) 用 D-Ser、Ala、D-Ala、Gly、N- 甲基 -Ser、AIB、Val 或  $\alpha$ - 氨基 -N- 丁酸取代 2 位 Ser ;

[0428] (ii) 用 Trp、Lys、Orn、Glu、Phe 或 Val 取代 10 位 Tyr ;

[0429] (iii) 酰基与 10 位 Lys 连接 ;

[0430] (iv) 用 Arg 取代 12 位 Lys ;

[0431] (v) 用 Glu、Gln、高谷氨酸、高半胱磺酸、Thr、Gly 或 AIB 取代 16 位 Ser ;

[0432] (vi) 用 Gln 取代 17 位 Arg ;

[0433] (vii) 用 Ala、Ser、Thr 或 Gly 取代 18 位 Arg ;

[0434] (viii) 用 Ala、Ser、Thr、Lys、瓜氨酸、Arg、Orn 或 AIB 取代 20 位 Gln ;

[0435] (ix) 用 Glu、高谷氨酸、高半胱磺酸取代 21 位 Asp ;

[0436] (x) 用 Ile 取代 23 位 Val ;

[0437] (xi) 用 Asn、Ala、Ser、Thr 或 AIB 取代 24 位 Gln ;和

[0438] (xii) 在 2、5、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、24、27、28 和 29 位任何位置的保守性取代。

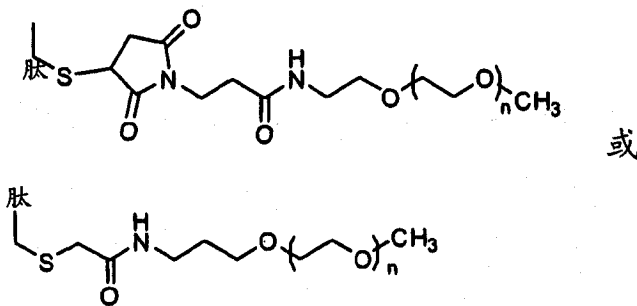
[0439] 某些实施方案类似物包含 (i) 到 (xii) 项修饰的组合。作为备选或另外,类似物可包含 3 位的氨基酸修饰 (例如用 Glu 对 Gln 的氨基酸取代),其中类似物具有小于 1% 的胰高血糖素针对胰高血糖素受体的活性。作为备选或另外,类似物可包含 7 位的氨基酸修饰 (例如用缺乏羟基的氨基酸例如 Abu 或 Ile 取代 Thr 氨基酸),其中类似物具有小于约

10%的 GLP-1 针对 GLP-1 受体的活性。

[0440] 关于例示性实施方案,类似物可与亲水部分共价连接。在某些实施方案中,类似物在 16、17、20、21、24、29、40 位或 C-末端的任何氨基酸位置共价连接亲水部分。在某些实施方案中,类似物包含 C-末端突出端(例如 SEQ ID NO:95 氨基酸序列)和包含亲水部分的氨基酸添加,以便让亲水部分在 40 位与类似物共价连接。

[0441] 在某些实施方案中,亲水部分与类似物的 Lys、Cys、Orn、高半胱氨酸或乙酰基-苯丙氨酸共价连接。Lys、Cys、Orn、高半胱氨酸或乙酰基-苯丙氨酸可为对胰高血糖素序列 (SEQ ID NO:1) 为天然的氨基酸,或其可为代替 SEQ ID NO:1 的天然氨基酸的氨基酸。在某些实施方案中,其中亲水部分与 Cys 连接,与亲水部分的连接可包含以下结构:

[0442]



[0443] 关于包含亲水部分的类似物,所述亲水部分可为本文所述的任何亲水部分。参见例如“亲水部分连接”章节下的教导。在某些实施方案中,亲水部分为聚乙二醇 (PEG)。某些实施方案中的 PEG 具有约 1,000 道尔顿-约 40,000 道尔顿例如约 20,000 道尔顿-约 40,000 道尔顿的分子量。

[0444] 关于例示性实施方案,类似物可包含其中侧链与酰基或烷基(例如对天然存在的氨基酸为非天然的酰基或烷基)共价连接的经修饰的氨基酸。酰化或烷化类似物可为符合“酰化和烷化”章节所述的酰化或烷化肽。在某些实施方案中,酰基为 C4-C30 脂肪酰基,例如 C10 脂肪酰基或烷基、C12 脂肪酰基或烷基、C14 脂肪酰基或烷基、C16 脂肪酰基或烷基、C18 脂肪酰基或烷基、C20 酰基或烷基或 C22 酰基或烷基。酰基或烷基可与类似物的任何氨基酸共价连接,所述氨基酸包括但不限于 10 或 40 位或 C-末端的氨基酸。在某些实施方案中,类似物包含 C-末端突出端(例如 SEQ ID NO:95 氨基酸序列)和包含酰基或烷基的氨基酸添加,以至于酰基或烷基与类似物在 40 位共价连接。在某些实施方案中,酰基或烷基共价连接到式 I、II 或 III 氨基酸的侧链,所述氨基酸例如 Lys 残基。可将酰基或烷基共价连接到对胰高血糖素序列 (SEQ ID NO:1) 为天然的氨基酸,或可连接到添加到 SEQ ID NO:1 序列的氨基酸或添加到后接 SEQ ID NO:95 (在 N-或 C-末端) 的 SEQ ID NO:1 序列的氨基酸,或可连接到代替天然氨基酸的氨基酸,例如 SEQ ID NO:1 的 10 位 Tyr。

[0445] 在其中类似物包含酰基或烷基的以上例示性实施方案中,类似物可如本文所述经由间隔物连接到酰基或烷基。所述间隔物例如长度可为 3-10 个原子,并可例如氨基酸(例如 6-氨基己酸、本文所述任何氨基酸)、二肽(例如 Ala-Ala、 $\beta$ Ala- $\beta$ Ala、Leu-Leu、Pro-Pro、 $\gamma$ Glu- $\gamma$ Glu)、三肽或亲水的或疏水双官能间隔物。在某些方面,间隔物和酰基或烷基总长为约 14-约 28 个原子。

[0446] 在又一些例示性实施方案中,具有 GIP 激动剂活性的胰高血糖素类似物包含 SEQ



ID NO :227、228、229 或 230 中任何一种的氨基酸序列,所述氨基酸序列进一步包含以下修饰:

[0447] (a) 任选赋予 GIP 激动剂活性的 1 位氨基酸修饰;

[0448] (b) 在 29 位氨基酸 C-末端处的约 1-约 21 个氨基酸的突出端,其中突出端的至少一个氨基酸被酰化或烷化;和

[0449] (d) 至多 6 个另外的氨基酸修饰;

[0450] 其中类似物对 GIP 受体激活的 EC<sub>50</sub> 为约 10nM 或更小。

[0451] 在某些方面,酰化或烷化的氨基酸为式 I、II 或 III 氨基酸。在更特定实施方案中,式 I 氨基酸为 Dab、Orn、Lys 或高 Lys。同样在某些实施方案中,所述约 1-约 21 个氨基酸包含以下氨基酸序列:GPSSGAPPPS (SEQ ID NO :95) 或 XGPSSGAPPPS (SEQ ID NO :96),其中 X 为任何氨基酸;或 GPSSGAPPPK (SEQ ID NO :170) 或 XGPSSGAPPPK (SEQ ID NO :171) 或 XGPSSGAPPPSK (SEQ ID NO :172),其中 X 为 Gly 或脂肪族或非极性或非极性的小氨基酸。在某些实施方案中,所述约 1-约 21 个氨基酸可包含相对于 SEQ ID NO :95、96、170、171 或 172 含有一个或多个保守性取代的序列。在某些实施方案中,酰化或烷化氨基酸位于 C-末端延伸的类似物的 37、38、39、40、41、42 或 43 位。在某些实施方案中,酰化或烷化氨基酸位于 C-末端延伸的类似物的 40 位。

[0452] 在以上任何例示性实施方案中,赋予 GIP 激动剂活性的 1 位氨基酸可为缺乏咪唑侧链的氨基酸。1 位氨基酸可例如为芳香族大氨基酸。在某些实施方案中,芳香族大氨基酸为本文所述的任何芳香族大氨基酸,包括例如 Tyr。

[0453] 以上例示性实施方案的类似物可进一步包含 1-6 个另外的氨基酸修饰,例如可为具有以下作用的任何本文所述修饰:提高或降低针对任何 GIP 受体、GLP-1 受体和胰高血糖素受体的活性,改进溶解性,改进作用时间或循环半衰期,延迟作用开始或提高稳定性。

[0454] 在某些方面,以上例示性实施方案所述胰高血糖素类似物包含另外的 27、28 和 29 位中的一个、两个或所有位置的氨基酸修饰。这些位置的修饰可为关于这些位置的本文所述任何修饰。例如,关于 SEQ ID NO :227、228、229 或 230,27 位可被脂肪族大氨基酸(例如 Leu、Ile 或正亮氨酸)或 Met 取代,28 位可被另一脂肪族小氨基酸(例如 Gly 或 Ala)或 Asn 取代,和/或 29 位可被另一脂肪族小氨基酸(例如 Ala 或 Gly)或 Thr 取代。或者,类似物可包含 27 和/或 28 位的所述氨基酸修饰。

[0455] 类似物可进一步包含一个或多个以下另外的修饰:

[0456] (i) 2 位氨基酸为 D-Ser、Ala、D-Ala、Gly、N-甲基-Ser、AIB、Val 或  $\alpha$ -氨基-N-丁酸中的任何一个;

[0457] (ii) 10 位氨基酸为 Tyr、Trp、Lys、Orn、Glu、Phe 或 Val;

[0458] (iii) 酰基与 10 位 Lys 连接;

[0459] (iv) 12 位氨基酸为 Ile、Lys 或 Arg;

[0460] (v) 16 位氨基酸为 Ser、Glu、Gln、高谷氨酸、高半胱氨酸、Thr、Gly 或 AIB 中的任何一个;

[0461] (vi) 17 位氨基酸为 Gln 或 Arg;

[0462] (vii) 18 位氨基酸为 Ala、Arg、Ser、Thr 或 Gly 中的任何一个;

[0463] (viii) 20 位氨基酸为 Ala、Ser、Thr、Lys、瓜氨酸、Arg、Orn 或 AIB 或另一  $\alpha$ ,  $\alpha$ -二

取代氨基酸中的任何一个；

[0464] (ix) 21 位氨基酸为 Glu、Asp、高谷氨酸、高半胱氨酸中的任何一个；

[0465] (x) 23 位氨基酸为 Val 或 Ile；

[0466] (xi) 24 位氨基酸为 Gln、Asn、Ala、Ser、Thr 或 AIB 中的任何一个；和

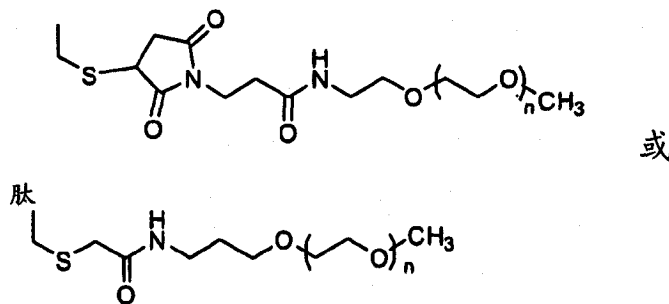
[0467] (cii) 在 2、5、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、24、27、28 和 29 位中的任何位置的一个或多个保守性取代。

[0468] 在某些实施方案中类似物包含 (i) 到 (xii) 的修饰组合。作为备选或另外，类似物可包含 3 位氨基酸修饰（例如用 Glu 对 Gln 的氨基酸取代），其中所述类似物具有小于 1% 的胰高血糖素针对胰高血糖素受体的活性。作为备选或另外，类似物可包含 7 位氨基酸修饰（例如用缺乏羟基的氨基酸例如 Abu 或 Ile 取代 Thr 氨基酸），其中所述类似物具有小于约 10% 的 GLP-1 针对 GLP-1 受体的活性。

[0469] 关于例示性实施方案，类似物可与亲水部分共价连接。在某些实施方案中，类似物在 16、17、20、21、24、29、40 位或 C-末端的任何氨基酸位置与亲水部分共价连接。在某些实施方案中，类似物包含在 24 位与类似物共价连接的亲水部分。

[0470] 在某些实施方案中，亲水部分与类似物的 Lys、Cys、Orn、高半胱氨酸或乙酰基-苯丙氨酸共价连接。Lys、Cys、Orn、高半胱氨酸或乙酰基-苯丙氨酸可为对 SEQ ID NO:1、227、228、229 或 230 天然的氨基酸，或其可为取代的氨基酸。在其中亲水部分与 Cys 连接的某些实施方案中，连接可包含以下结构：

[0471]



[0472] 关于包含亲水部分的类似物，亲水部分可为本文所述的任何亲水部分。参见例如“亲水部分连接”章节下的教导。在某些实施方案中，亲水部分为聚乙二醇 (PEG)。某些实施方案中的 PEG 具有约 1,000 道尔顿 - 约 40,000 道尔顿例如约 20,000 道尔顿 - 约 40,000 道尔顿的分子量。

[0473] 关于例示性实施方案，类似物可包含其中侧链与酰基或烷基共价连接的 C-末端突出端内的经修饰的氨基酸。酰化或烷化类似物可为符合“酰化和烷化”章节所述的酰化或烷化肽。在某些实施方案中，酰基为 C4-C30 脂肪酰基，例如 C10 脂肪酰基或烷基、C12 脂肪酰基或烷基、C14 脂肪酰基或烷基、C16 脂肪酰基或烷基、C18 脂肪酰基或烷基、C20 酰基或烷基或 C22 酰基或烷基。酰基或烷基可与类似物的任何氨基酸共价连接，所述氨基酸包括但不限于 10 或 40 位或 C-末端的氨基酸。在某些实施方案中，酰基或烷基与式 I、II 或 III 氨基酸的侧链共价连接，所述氨基酸例如 Lys 残基。可将酰基或烷基共价连接到对 SEQ ID NO:1、227、228、229 或 230 为天然的氨基酸，或可连接到取代的氨基酸。可将酰基或烷基共价连接到对 SEQ ID NO:95、96、171 或 172 为天然的氨基酸，或可连接到取代的氨基酸。

[0474] 在其中类似物包含酰基或烷基的以上例示性实施方案中,类似物可如本文所述经由间隔物与酰基或烷基连接。所述间隔物例如长度可为 3-10 个原子,并可例如为氨基酸(例如 6-氨基己酸、本文所述任何氨基酸)、二肽(例如 Ala-Ala、 $\beta$ Ala- $\beta$ Ala、Leu-Leu、Pro-Pro、 $\gamma$ Glu- $\gamma$ Glu)、三肽或亲水的或疏水双官能间隔物。在某些方面,间隔物和酰基或烷基总长为约 14-约 28 个原子。

[0475] 在某些极为具体的实施方案中,本发明类似物包含选自 SEQ ID NO:99-141、144-164、166、192-207、209-221 和 223 或选自 SEQ ID NO:167-169、173-178 和 225 的氨基酸序列。

[0476] 另外,本发明类似物的特定实例包括但不限于表 1-3 所引用的任何类似物。

[0477] 在又一些例示性实施方案中,具有 GIP 激动剂活性的胰高血糖素类似物包含酰基或烷基(例如对天然存在的氨基酸为非天然的酰基或烷基),其中酰基或烷基与间隔物连接,其中 (i) 间隔物与类似物 10 位氨基酸的侧链连接;或 (ii) 所述类似物包含在 29 位氨基酸的 C-末端处的 1-21 个氨基酸的突出端,所述间隔物与对应于关于 SEQ ID NO:1 的 37-43 位之一的位置的氨基酸的侧链连接,其中类似物对 GIP 受体激活的 EC50 为约 10nM 或更小。

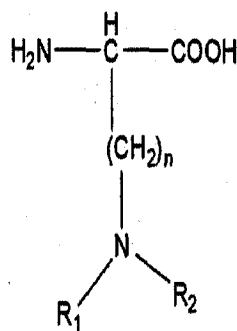
[0478] 在所述实施方案中,类似物可包含含以下修饰的 SEQ ID NO:1 氨基酸序列:(i) 赋予 GIP 激动剂活性的 1 位氨基酸修饰;(ii) 27、28 和 29 位中的一个、两个或所有位置的氨基酸修饰;(iii) 至少以下之一:

[0479] (A) 类似物包含 i 和 i+4 位置的氨基酸侧链之间或 j 和 j+3 位置的氨基酸侧链之间的内酰胺桥,其中 i 为 12、13、16、17、20 或 24,且其中 j 为 17;

[0480] (B) 类似物的 16、20、21 和 24 位氨基酸中的一个、二个、三个或全部被  $\alpha$ ,  $\alpha$ -二取代氨基酸取代;或

[0481] (C) 类似物包含 (i) 用式 IV 氨基酸取代 16 位的 Ser 氨基酸:

[0482]



[0483] [式 IV],

[0484] 其中 n 为 1-7,其中 R1 和 R2 各独立选自 H、C<sub>1</sub>-C<sub>18</sub>烷基、(C<sub>1</sub>-C<sub>18</sub>烷基)OH、(C<sub>1</sub>-C<sub>18</sub>烷基)NH<sub>2</sub>、(C<sub>1</sub>-C<sub>18</sub>烷基)SH、(C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>烷基)(C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>)环烷基、(C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>烷基)(C<sub>2</sub>-C<sub>5</sub>杂环)、(C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>烷基)(C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>芳基)R<sub>7</sub>和 (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>烷基)(C<sub>3</sub>-C<sub>9</sub>杂芳基),其中 R<sub>7</sub>为 H 或 OH,且式 IV 氨基酸侧链包含游离氨基;和 (ii) 用  $\alpha$ ,  $\alpha$ -二取代氨基酸在 20 位的 Gln 进行氨基酸取代;

[0485] 和 (iv) 至多 6 个另外的氨基酸修饰。

[0486] 这些实施方案类似物的  $\alpha$ ,  $\alpha$ -二取代氨基酸可为任何  $\alpha$ ,  $\alpha$ -二取代氨基酸,其包括但不限于氨基异丁酸(AIB)、被选自甲基、乙基、丙基和正丁基的相同或不同基团或被环辛烷或环庚烷(例如 1-氨基环辛烷-1-甲酸)二取代的氨基酸。在某些实施方案中, $\alpha$ ,

$\alpha$ -二取代氨基酸为 AIB。

[0487] 这些实施方案类似物的式 IV 氨基酸可为任何氨基酸,例如其中 n 为 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15 或 16 的式 IV 氨基酸。在某些实施方案中, n 为 2、3、4 或 5,在这种情况下,所述氨基酸分别为 Dab、Orn、Lys 或高 Lys。

[0488] 在以上任何例示性实施方案中,赋予 GIP 激动剂活性的 1 位氨基酸修饰可为用缺乏咪唑侧链的氨基酸取代 His。1 位的氨基酸修饰可例如为用芳香族大氨基酸取代 His。在某些实施方案中,芳香族大氨基酸为本文所述的任何芳香族大氨基酸,包括例如 Tyr。

[0489] 同样关于以上例示性的实施方案,27、28 和 29 位中的一个、两个 或所有位置的氨基酸修饰可为本文所述这些位置的任何修饰。例如,27 位的 Met 可被脂肪族大氨基酸取代,所述大氨基酸任选 Leu ;28 位的 Asn 可被脂肪族小氨基酸取代,所述小氨基酸任选 Ala ;和 / 或 29 位的 Thr 可被脂肪族小氨基酸取代,所述小氨基酸任选 Gly。或者,所述类似物可包含 27 和 / 或 28 位的所述氨基酸修饰。

[0490] 以上例示性实施方案的类似物可进一步包含 1-9 或 1-6 个另外的添加氨基酸修饰,例如 1、2、3、4、5、6、7、8 或 9 个另外的氨基酸修饰,例如,具有以下作用的本文所述任何修饰:提高或降低任何 GIP 受体、GLP-1 受体和胰高血糖素受体的活性,改进溶解性,改进作用时间或循环半衰期,延迟作用开始或提高稳定性。类似物可进一步包含例如:12 位的氨基酸修饰,任选用 Ile 取代;和 / 或 17 和 18 位的氨基酸修饰,任选用 Q 取代 17 位并用 A 取代 18 位;和 / 或添加 GPSSGAPPPS (SEQ ID NO :95) 或 XGPSSGAPPPS (SEQ ID NO :96) 或含有一个或多个关于 SEQ ID NO :95 或 96 保守性取代的序列至 C- 末端。类似物可包含一个或多个以下修饰:

[0491] (i) 用 D-Ser、Ala、D-Ala、Gly、N- 甲基 -Ser、AIB、Val 或  $\alpha$ - 氨基 -N- 丁酸取代 2 位 Ser ;

[0492] (ii) 用 Trp、Lys、Orn、Glu、Phe 或 Val 取代 10 位 Tyr ;

[0493] (iii) 酰基与 10 位 Lys 连接 ;

[0494] (iv) 用 Arg 取代 12 位 Lys ;

[0495] (v) 用 Glu、Gln、高谷氨酸、高半胱磺酸、Thr、Gly、Lys 或 AIB 取代 16 位 Ser ;

[0496] (vi) 用 Gln 取代 17 位 Arg ;

[0497] (vii) 用 Ala、Ser、Thr 或 Gly 取代 18 位 Arg ;

[0498] (viii) 用 Ala、Ser、Thr、Lys、瓜氨酸、Arg、Orn 或 AIB 取代 20 位 Gln ;

[0499] (ix) 用 Glu、高谷氨酸、高半胱磺酸取代 21 位 Asp ;

[0500] (x) 用 Ile 取代 23 位 Val ;

[0501] (xi) 用 Asn、Ala、Ser、Thr 或 AIB 取代 24 位 Gln ;和

[0502] (xii) 在 2、5、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、24、27、28 和 29 位中的任何位置的保守性取代。

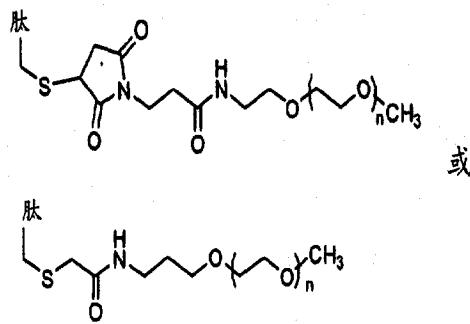
[0503] 在某些实施方案中,类似物包含 (i) 到 (xii) 修饰的组合。作为备选或另外,类似物可包含 3 位氨基酸修饰 (例如用 Glu 取代氨基酸 Gln),其中所述类似物具有小于 1% 的胰高血糖素针对胰高血糖素受体的活性。作为备选或另外,类似物可包含 7 位氨基酸修饰 (例如用缺乏羟基的氨基酸例如 Abu 或 Ile 取代 Thr 氨基酸)、位于 27 或 28 位氨基酸的 C- 末端的氨基酸缺失 (产生 27- 或 28- 个氨基酸的肽) 或其组合,其中所述类似物具有小

于约 10% 的 GLP-1 针对 GLP-1 受体的活性。

[0504] 关于例示性实施方案,类似物可与亲水部分共价连接。在某些实施方案中,类似物在 16、17、20、21、24、29、40 位或 C-末端的任何氨基酸位置与亲水部分共价连接。在某些实施方案中,类似物包含 C-末端突出端(例如 SEQ ID NO:95 的氨基酸序列)和包含亲水部分的氨基酸添加,以便让亲水部分与类似物在 40 位共价连接。

[0505] 在某些实施方案中,亲水部分与类似物的 Lys、Cys、Orn、高半胱氨酸或乙酰基-苯丙氨酸共价连接。Lys、Cys、Orn、高半胱氨酸或乙酰基-苯丙氨酸可为对胰高血糖素序列(SEQ ID NO:1)天然的氨基酸,或其可为取代 SEQ ID NO:1 的天然氨基酸的氨基酸。在其中亲水部分与 Cys 连接的某些实施方案中,与亲水部分的连接可包含以下结构:

[0506]



[0507] 关于包含亲水部分的类似物,亲水部分可为本文所述的任何亲水部分。参见例如“亲水部分连接”章节下的教导。在某些实施方案中,亲水部分为聚乙二醇(PEG)。某些实施方案中的 PEG 具有约 1,000 道尔顿-约 40,000 道尔顿例如约 20,000 道尔顿-约 40,000 道尔顿的分子量。

[0508] 在其中类似物包含酰基或烷基的例示性实施方案中,所述酰基或烷基经由间隔物与类似物连接,所述间隔物可为本文所述的任何间隔物。所述间隔物例如长度可为 3-10 个原子,并可例如为氨基酸(例如 6-氨基己酸、本文所述任何氨基酸)、二肽(例如 Ala-Ala、 $\beta$  Ala- $\beta$  Ala、Leu-Leu、Pro-Pro、 $\gamma$  Glu- $\gamma$  Glu)、三肽或亲水的或疏水的双官能间隔物。在某些方面,间隔物和酰基或烷基总长为约 14-约 28 个原子。

[0509] 所述酰基或烷基为如本文所述的任何酰基或烷基,例如对天然存在的氨基酸为非天然的酰基或烷基。在某些实施方案中,酰基或烷基为 C4-C30 脂肪酰基,例如 C10 脂肪酰基或烷基、C12 脂肪酰基或烷基、C14 脂肪酰基或烷基、C16 脂肪酰基或烷基、C18 脂肪酰基或烷基、C20 酰基或烷基或 C22 酰基或烷基或 C4-C30 烷基。在特定实施方案中,酰基为 C12-C18 脂肪酰基(例如 C14 或 C16 脂肪酰基)。

[0510] 在某些实施方案中,所述在类似物的 29 位氨基酸 C-末端处的约 1-约 21 个氨基酸的突出端包含以下氨基酸序列:GPSSGAPPPS(SEQ ID NO:95) 或 XGPSSGAPPPS(SEQ ID NO:96),其中 X 为任何氨基酸;或 GPSSGAPPPK(SEQ ID NO:170) 或 XGPSSGAPPPK(SEQ ID NO:171) 或 XGPSSGAPPPSK(SEQ ID NO:172),其中 X 为 Gly 或脂肪族或非极性或非极性的小氨基酸。在某些实施方案中,所述约 1-约 21 个氨基酸可包含相对于 SEQ ID NO:95、96、170、171 或 172 含有一个或多个保守性取代的序列。在某些实施方案中,酰化或烷化氨基酸位于 C-末端延伸的类似物的 37、38、39、40、41、42 或 43 位。在某些实施方案中,酰化或烷化氨基酸位于 C-末端延伸的类似物的 40 位。

**[0511] 药物组合物 and 治疗方法**

**[0512]** 在某些方面,本发明提供包含本文公开的任何新型胰高血糖素肽和可药用稀释剂、载体或赋形剂的药物组合物,所述新型胰高血糖素肽优选无菌并优选以至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98% 或 99% 的纯度水平。所述组合物可含有至少 A 浓度的胰高血糖素肽,其中 A 为 0.001mg/ml、0.01mg/ml、0.1mg/ml、0.5mg/ml、1mg/ml、2mg/ml、3mg/ml、4mg/ml、5mg/ml、6mg/ml、7mg/ml、8mg/ml、9mg/ml、10mg/ml、11mg/ml、12mg/ml、13mg/ml、14mg/ml、15mg/ml、16mg/ml、17mg/ml、18mg/ml、19mg/ml、20mg/ml、21mg/ml、22mg/ml、23mg/ml、24mg/ml、25mg/ml 或更高。在其它实施方案中,所述组合物可含有至多 B 浓度的胰高血糖素肽,其中 B 为 30mg/ml、25mg/ml、24mg/ml、23, mg/ml、22mg/ml、21mg/ml、20mg/ml、19mg/ml、18mg/ml、17mg/ml、16mg/ml、15mg/ml、14mg/ml、13mg/ml、12mg/ml、11mg/ml 10mg/ml、9mg/ml、8mg/ml、7mg/ml、6mg/ml、5mg/ml、4mg/ml、3mg/ml、2mg/ml、1mg/ml 或 0.1mg/ml。在某些实施方案中,组合物可含有 A-Bmg/ml 浓度范围的胰高血糖素肽,例如 0.001-30.0mg/ml。在一个实施方案中,药物组合物包含无菌水溶液,并任选储存在不同容器中。可在某些实施方案中使用本发明化合物,以制备即用于注射的预配溶液剂。在其它实施方案中,药物组合物包含冻干粉。药物组合物可进一步包装为药盒的部分,所述药盒包括用于将组合物给予患者的一次性器具。容器或药盒可标明储存在环境室温或冷冻温度。

**[0513]** 可用任何标准给药途径将胰高血糖素肽给予患者,所述标准给药途径包括胃肠外(例如静脉内、腹膜内、皮下或肌肉内)、鞘内、经皮、直肠、经口、经鼻或通过吸入。在一个实施方案中,皮下或肌肉内给予组合物。

**[0514]** 在一个实施方案中,提供含将胰高血糖素组合物给予患者的器具的药盒,所述器具例如注射器针头、注射笔、喷射注射器或其它无针头注射器。作为备选或另外地,药盒可包括一种或多种容器,例如小瓶、试管、瓶子、单室或多室预充式注射器、药筒、输液泵(外置式或植入式)、喷射注射器、预充式注射笔等,任选含有呈冻干形式或处于水溶液中的胰高血糖素肽。优选药盒亦包括使用说明。在某些实施方案中,药盒器具为气雾剂分配器,其中将组合物预包装在气雾剂装置中。在另一实施方案中,药盒包含注射器和针头,在一个实施方案中,将无菌胰高血糖素组合物预包装在注射器中。

**[0515]** 根据一个实施方案,提供药物组合物,其中所述组合物包含本发明的具有 GIP 活性的胰高血糖素类似物或其可药用盐和可药用载体。药物组合物可包含任何可药用成分,包括例如:酸化剂、添加剂、吸附剂、气溶胶喷射剂、空气清新剂、碱化剂、抗结块剂、抗凝血剂、抗微生物防腐剂、抗氧化剂、消毒剂、基料、粘合剂、缓冲剂、螯合剂、涂层剂、着色剂、干燥剂、去污剂、稀释剂、消毒剂、分解剂、分散剂、增溶剂、染料、润肤剂、乳化剂、乳液稳定剂、填充剂、薄膜形成剂、鲜味剂、矫味剂、助流剂、胶凝剂、粒化剂、保湿剂、润滑剂、粘膜粘着剂、软膏基料、软膏、油性溶媒、有机碱、锭剂基料、色素、增塑剂、抛光剂、防腐剂、掩蔽剂、皮肤渗透剂、增溶剂、溶剂、稳定剂、栓剂基料、表面活性剂、去污剂、助悬剂、甜味剂、治疗剂、增稠剂、张度剂、毒性剂、增粘剂、吸水剂、与水混溶助溶剂、水软化剂或湿润剂。

**[0516]** 在某些实施方案中,药物组合物包含以下组分中的任何一种或组合:阿拉伯树胶、乙酰氨基磺酸钾、柠檬酸乙酰三丁酯、柠檬酸乙酰三乙酯、琼脂、白蛋白、醇、无水醇、变性酒精、稀释酒精、油桐酸、藻酸、脂肪族聚酯、氧化铝、氢氧化铝、硬脂酸铝、支链淀粉、 $\alpha$ -直链淀粉、抗坏血酸、抗坏血酸棕榈酸酯、天冬氨酰苯甲氨酸甲酯、注射用抑菌水、膨润土、膨润

土岩浆、苯扎氯铵、苜蓿素氯铵、苯甲酸、苯甲醇、苯甲酸苄酯、溴硝醇、丁基羟基茴香醚、丁羟甲苯、对羟基苯甲酸丁酯、丁基对羟基苯甲酸钠、藻酸钙、抗坏血酸钙、碳酸钙、环己基氨基磺酸钙、无水磷酸氢钙、脱水磷酸氢钙、磷酸三钙、丙酸钙、硅酸钙、山梨酸钙、硬脂酸钙、硫酸钙、硫酸钙半水合物、芥花籽油、卡波姆 (carbomer)、二氧化碳、羧甲基纤维素钙、羧甲基纤维素钠、 $\beta$ -胡萝卜素、角叉胶、蓖麻油、氢化蓖麻油、阳离子乳化钠、乙酸钠、乙酸钠邻苯二甲酸纤维素、乙基纤维素、微晶纤维素、粉状纤维素、硅化微晶纤维素、羧甲基纤维素钠、鲸脂醇、溴化十六烷基三甲铵、鲸蜡醇、氯己定、氯丁醇、氯甲酚、胆固醇、乙酸氯己定、葡萄糖酸氯己定、盐酸氯己定、氟利昂 (HCFC)、一氯二氟甲烷、含氯氟烃 (CFC)、氯苯氧基乙醇、氯二甲苯酚、淀粉糖浆干粉、无水柠檬酸、柠檬酸一水合物、可可油、着色剂、玉米油、棉籽油、甲酚、间甲酚、邻甲酚、对甲酚、交联甲羧纤维素钠、交联聚乙烯吡咯烷酮、环拉酸、环糊精、葡萄糖结合剂、糊精、右旋糖、无水右旋糖、双咪唑烷基脲、邻苯二甲酸二丁酯、癸二酸二丁酯、二乙醇胺、邻苯二甲酸二乙酯、二氟乙烷 (HFC)、二甲基- $\beta$ -环糊精、环糊精型化合物例如 **Captisol®**、二甲基醚、邻苯二甲酸二甲酯、依地酸二钾、依地酸二钠、磷酸氢二钠、多库酯钙、多库酯钾、多库酯钠、没食子酸十二酯、十二烷基三甲基溴化铵、依地酸钙二钠、乙二胺四乙酸、乙葡胺、乙醇、乙基纤维素、没食子酸乙酯、月桂酸乙酯、乙基麦芽酚、油酸乙酯、对羟甲基苯甲酸乙酯、对羟甲基苯甲酸钾、乙基对羟甲基苯甲酸钠、乙基香兰素、果糖、液体果糖、磨碎的果糖、无热原果糖、粉状果糖、富马酸、白明胶、葡萄糖、液体葡萄糖、饱和植物脂肪酸的甘油酯混合物、甘油、山萘酸甘油酯、单油酸甘油酯、单硬脂酸甘油酯、自乳化单硬脂酸甘油酯、硬脂酸棕榈酸甘油酯、甘氨酸、乙二醇、四乙二醇醚、瓜尔胶、七氟丙烷 (HFC)、十六基三甲基溴化铵、高果糖糖浆、人血清白蛋白、烃 (HC)、烯盐酸、II 型氢化植物油、羟乙基纤维素、2-羟乙基- $\beta$ -环糊精、羟丙基纤维素、低取代羟丙基纤维素、2-羟丙基- $\beta$ -环糊精、羟丙基甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素邻苯二甲酸酯、咪脲、靛蓝、离子交换剂、氧化铁、异丙醇、豆蔻酸异丙酯、棕榈酸异丙酯、等渗盐水、高岭土、乳酸、乳糖醇、乳糖、羊毛脂、羊毛脂醇、无水羊毛脂、卵磷脂、硅酸镁铝、碳酸镁、正常碳酸镁、无水碳酸镁、碱式碳酸镁、氢氧化镁、月桂基硫酸镁、氧化镁、硅酸镁、硬脂酸镁、三硅酸镁、无水三硅酸镁、苹果酸、麦芽、麦芽糖醇、麦芽糖醇溶液、麦芽糊精、麦芽酚、麦芽糖、甘露醇、中链甘油三酯、甲葡胺、薄荷醇、甲基纤维素、甲基丙烯酸甲酯、油酸甲酯、对羟甲基苯甲酸甲酯、甲基对羟甲基苯甲酸钾、甲基对羟甲基苯甲酸钠、微晶纤维素和羧甲基纤维素钠、矿物油、轻矿物油、矿物油和羊毛脂醇、油、橄榄油、单乙醇胺、蒙脱石、没食子酸辛酯、油酸、棕榈酸、石蜡、花生油、矿脂、矿脂和羊毛脂醇、药用釉料、苯酚、液化苯酚、苯氧乙醇、苯氧丙醇、苯基乙醇、乙酸苯汞、硼酸苯汞、硝酸苯汞、波拉克林 (polacrilin)、波拉克林钾、泊洛沙姆 (poloxamer)、聚右旋糖、聚乙二醇、聚环氧乙烷、聚丙烯酸酯、聚乙烯-聚氧丙烯-嵌段聚合物、聚甲基丙烯酸、聚氧乙烯烷基醚、聚氧乙烯蓖麻油衍生物、聚氧乙烯山梨醇脂肪酸酯、硬脂酸聚氧乙烯酯、聚乙烯醇、聚乙烯吡咯烷酮、藻酸钾、苯甲酸钾、碳酸氢钾、硫酸氢钾、氯化钾、柠檬酸钾、无水柠檬酸钾、磷酸氢钾、偏亚硫酸氢钾、磷酸二氢钾、丙酸钾、山梨酸钾、聚乙烯吡咯酮、丙醇、丙酸、碳酸丙烯、丙二醇、丙二醇藻酸、没食子酸丙酯、对羟甲基苯甲酸丙酯、丙基对羟甲基苯甲酸钾、丙基对羟甲基苯甲酸钠、硫酸精蛋白、油菜籽油、Ringer 氏溶液、糖精、糖精铵、糖精钙、糖精钠、红花油、皂石、血清蛋白质、芝麻油、硅胶、二氧化硅胶、藻酸钠、抗坏血酸钠、苯甲酸钠、碳酸氢钠、硫酸氢钠、氯化钠、无水柠檬酸钠、脱

水柠檬酸钠、氯化钠、甜精钠、依地酸钠、十二烷基硫酸钠、月桂基硫酸钠、偏亚硫酸氢钠、磷酸氢二钠、磷酸二氢钠、磷酸三钠、无水丙酸钠、丙酸钠、山梨酸钠、淀粉羟基乙酸钠、硬脂酰醇富马酸钠、亚硫酸钠、山梨酸、山梨坦酯（山梨坦脂肪酯）、山梨醇、山梨醇溶液 70%、大豆油、鲸蜡、淀粉、玉米淀粉、土豆淀粉、预胶化淀粉、灭菌玉米淀粉、硬脂酸、纯化的硬脂酸、硬脂醇、蔗糖、糖、可压缩糖、糖粉、糖球、转化糖、蔗糖-转化糖聚合物、晚霞黄 FCF、合成石蜡、滑石、酒石酸、酒石黄、四氟乙烷 (HFC)、梧桐油、硫汞撒、二氧化钛、 $\alpha$  生育酚、乙酸生育酚、琥珀酸  $\alpha$  生育酚、 $\beta$ -生育酚、 $\delta$ -生育酚、 $\gamma$ -生育酚、西黄嗜胶、醋精、柠檬酸三丁酯、三乙醇胺、柠檬酸三乙酯、三甲基- $\beta$ -环糊精、三甲基十四烷基溴化铵、tris 缓冲液、依地酸三钠、香兰素、I 型氢化植物油、水、软水、硬水、无二氧化碳水、无热原水、注射用水、吸入用无菌水、无菌注射用水、冲洗用无菌水、蜡、阴离子乳化钠、巴西棕榈蜡、阳离子乳化钠、鲸酯蜡、微晶蜡、非离子乳化钠、栓剂蜡、白蜡、黄蜡、白矿脂、羊毛脂、黄原胶、木糖醇、玉米蛋白、丙酸锌、锌盐、硬脂酸锌或 Handbook of Pharmaceutical Excipients 第三版, A. H. Kibbe (Pharmaceutical Press, London, UK, 2000) 中的任何赋形剂, 该书以其整体在此引作参考。Remington's Pharmaceutical Sciences 第 16 版, E. W. Martin (Mack Publishing Co., Easton, Pa., 1980) (以其整体在此引作参考) 揭示了在调配可药用组合物中所用的各种组分及制备可药用组合物的已知技术。除了与药物组合物不相容的常规试剂外, 还涵盖其在药物组合物中的应用。亦可将补充性的活性成分纳入所述组合物中。

[0517] 可将本文公开的药物制剂设计为短效、快速释放、长效或持续释放, 其如以下所述。药物制剂亦可调配为用于即释、控释或用与慢释。本发明组合物可进一步包含例如胶囊或脂质体或某些其它微囊形式, 或可以以延释形式给予来提供延长的储存时间和 / 或递送效果。所公开的药物制剂可按照任何给药方案来给予, 所述给药方案包括例如每日给药 (每天 1 次、每天 2 次、每天 3 次、每天 4 次、每天 5 次、每天 6 次)、每两天一次、每三天一次、每四天一次、每五天一次、每六天一次、每周一次、每两周一次、每三周一次、每月一次或每两月一次给药。

[0518] 在某些实施方案中, 前述组分可以以任何浓度存在于药物组合物中, 例如至少 A, 其中 A 为 0.0001% w/v、0.001% w/v、0.01% w/v、0.1% w/v、1% w/v、2% w/v、5% w/v、10% w/v、20% w/v、30% w/v、40% w/v、50% w/v、60% w/v、70% w/v、80% w/v 或 90% w/v。在某些实施方案中, 前述组分可以任何浓度存在于药物组合物中, 例如至多 B, 其中 B 为 90% w/v、80% w/v、70% w/v、60% w/v、50% w/v、40% w/v、30% w/v、20% w/v、10% w/v、5% w/v、2% w/v、1% w/v、0.1% w/v、0.001% w/v 或 0.0001%。在其它实施方案中, 前述组分可以以任何浓度范围存在于药物组合物中, 例如从约 A 到约 B。在某些实施方案中, A 为 0.0001%, 而 B 为 90%。

[0519] 可调配药物组合物以获得生理上相容的 pH。在某些实施方案中, 药物组合物的 pH 可为至少 5、至少 5.5、至少 6、至少 6.5、至少 7、至少 7.5、至少 8、至少 8.5、至少 9、至少 9.5、至少 10 或至少 10.5, 至多且包括 pH 11, 这视制剂和给药途径而定。在某些实施方案中, 药物组合物可包含缓冲剂以获得生理相容的 pH。缓冲剂可包括能够在所需 pH 处缓冲的任何化合物, 例如磷酸盐缓冲液 (例如 PBS)、三乙醇胺、Tris、N,N-二(羟乙基)甘氨酸、TAPS、N-(羟甲基)甲基甘氨酸、HEPES、TES、MOPS、PIPES、甲次砷酸盐、MES 和其它缓冲剂。在某些实施方案中, 缓冲液浓度为至少 0.5mM、至少 1mM、至少 5mM、至少 10mM、至少 20mM、至



少 30mM、至少 40mM、至少 50mM、至少 60mM、至少 70mM、至少 80mM、至少 90mM、至少 100mM、至少 120mM、至少 150mM 或至少 200mM。在某些实施方案中,缓冲液浓度不大于 300mM(例如至多 200mM、至多 100mM、至多 90mM、至多 80mM、至多 70mM、至多 60mM、至多 50mM、至多 40mM、至多 30mM、至多 20mM、至多 10mM、至多 5mM、至多 1mM)。

[0520] 可将为 GIP/GLP-1 共激动剂、胰高血糖素 /GIP 共激动剂和胰高血糖素 /GIP/GLP-1 三 - 激动剂的胰高血糖素肽用于先前业已阐述它们各自的活性为有用的任何适应症中。例如,胰高血糖素活性可提高葡萄糖水平,用于缓冲胰岛素的作用或在放射检查期间降低胃肠动力。GLP-1 活性可降低葡萄糖水平,这种活性用于治疗高血糖症,例如糖尿病。GLP-1 活性亦可例如通过降低食欲来诱导减重或防止增重。GIP 活性亦可降低葡萄糖水平,这种活性可用于治疗高血糖症,例如糖尿病。

[0521] GIP/GLP-1 共激动剂和胰高血糖素 /GIP/GLP-1 三 - 激动剂用于诱导减重或防止增重以及用于治疗高血糖症包括糖尿病尤其有利。本文公开的体内数据证明,GIP 激动剂活性与 GLP-1 激动剂活性组合对减轻体重比单独 GLP-1 产生的效果更好。为了减少日常摄食和体重并提高胰岛素敏感性及能量消耗,拮抗 GIP 是可取的,鉴于本领域的这一教导,上述活性尤其出乎意料。(Irwin 等, *Diabetologia* 50 :1532-1540 (2007) ;和 Althage 等, *J Biol Chem*, 2008 年 4 月 17 日的电子出版物)。

[0522] 本文公开的体内数据亦证明 GIP 激动剂活性与 GLP-1 激动剂活性联合降低葡萄糖水平。

[0523] 因此,预期将本文所述胰高血糖素肽用于降低或维持体重,或用于治疗高血糖症,或用于降低血糖水平,或用于使血糖水平正常化和 / 或稳定血糖水平。

[0524] 在某些实施方案中,提供治疗高血糖症的方法或减少增重或诱导减重的方法,所述方法包括给予有效量的包含本发明胰高血糖素肽的水溶液。在另外的实施方案中,提供治疗糖尿病的方法,所述方法包括同时给予常规剂量或降低剂量的胰岛素和本发明胰高血糖素肽。亦提供用本发明胰高血糖素肽而不同时给予胰岛素的治疗糖尿病的方法。

[0525] 预期所述用于治疗高血糖症的方法用于多种类型的高血糖症,包括糖尿病、I 型糖尿病、II 型糖尿病或妊娠期糖尿病、胰岛素依赖性或非胰岛素依赖性糖尿病,并降低包括肾病、视网膜病和血管病在内的糖尿病并发症。

[0526] 预期将用于降低食欲或促进减重的方法用于减轻体重、防止增重或用于治疗各种原因的肥胖症,包括药物诱导的肥胖症,并用于减少与肥胖症有关的并发症,所述并发症包括血管病(冠状动脉疾病、中风、外周性血管病、缺血 - 再灌注等)、高血压、II 型糖尿病发作、血脂过多症和 肌骨病。

[0527] 亦称为代谢综合征 X、胰岛素抗性综合征或雷文综合征 (Reaven's syndrome) 的代谢综合征,是影响超过 5 千万美国人的疾病。代谢综合征的特征通常为以下风险因子中的至少三个或更多个的聚类:(1) 腹部肥胖症(在腹部内或周围过多的脂肪组织);(2) 动脉粥样硬化异常脂血症 (atherogenic dyslipidemia) (血液脂肪病,包括增加动脉壁斑块堆积的高甘油三酯、低 HDL 胆固醇和高 LDL 胆固醇);(3) 升高血压;(4) 胰岛素抗性或葡萄糖耐受;(5) 血栓前状态 (prothrombotic state) (例如血液中高纤维蛋白原或纤溶酶原激活物抑制剂 -1);和 (6) 前炎性状态 (pro-inflammatory state) (例如升高血液中的 C- 活性蛋白)。其它风险因子可包括衰老、激素失衡和遗传易感性。

[0528] 代谢综合征与冠心病及与血管斑块聚积有关的其它疾病风险的增加有关,所述其它疾病例如中风和外周性血管病(又称为动脉粥样硬化心血管病(ASCVD))。代谢综合征患者可从其早期阶段的胰岛素抵抗状态发展到具有进一步增加的ASCVD风险的充分发展的II型糖尿病。并非意欲依附任何特定理论,但胰岛素抗性、代谢综合征和血管病之间的关系可涉及一种或多种同时发生的致病机制,包括损害胰岛素-刺激的血管舒张、由于增加氧化应激而产生的胰岛素抗性相关的NO可利用性降低和源自脂肪细胞的激素例如脂连蛋白异常(Lteif和Mather, Can. J. Cardiol. 20(suppl. B):66B-76B(2004))。

[0529] 根据2001年的美国国家胆固醇教育计划成人治疗组指南(ATP III),同一个体的任何以下三个特征满足代谢综合征标准:(a)腹部肥胖(男性腰围超过102cm,女性超过88cm);(b)血清甘油三酯(150mg/dl或以上);(c)HDL胆固醇(男性中40mg/dl或更低,女性中50mg/dl或更低);(d)血压(130/85或更高);和(e)禁食血糖(110mg/dl或以上)。根据世界卫生组织(WHO),具有高胰岛素水平(禁食血糖升高或仅餐后葡萄糖升高)和至少以下两条标准的个体满足代谢综合征的标准:(a)腹部肥胖(腰臀比率大于0.9,身体质量指数至少30kg/m<sup>2</sup>或腰围测量值超过37英寸);(b)胆固醇组显示至少150mg/dl的甘油三酯水平或低于35mg/dl的HDL胆固醇;(c)140/90或更高的血压或正在治疗高血压)。(Mathur,Ruchi,“Metabolic Syndrome(代谢综合征)”Shiel,Jr.,William C. 编辑, MedicineNet.com,2009年5月11日)。

[0530] 为本文目的,如果个体满足2001年美国国家胆固醇教育计划成人治疗组指南或WHO提出的标准中的任一个标准或两个标准都满足,那么认为该个体罹患代谢综合征。

[0531] 不依附任何特定理论,本文所述胰高血糖素肽用于治疗代谢综合征。因此,本发明提供在受试者中预防或治疗代谢综合征或降低其一个、二个、三个或更多个风险因子的方法,所述方法包括给予受试者有效防止或治疗代谢综合征或其风险因子的量的本文所述胰高血糖素肽。

[0532] 非酒精性脂肪肝病(NAFLD)指从单纯脂肪肝(脂肪变性)到非酒精性脂肪性肝炎(NASH)到肝硬化(不可逆的晚期肝瘢痕)的广谱肝脏疾病。NAFLD的所有阶段通常都在肝脏细胞(肝细胞)中聚积脂肪(脂肪浸润)。单纯脂肪肝是某种脂肪、甘油三酯类型在肝脏细胞中异常聚积但肝脏细胞无炎症或瘢痕。在NASH中,脂肪聚积与肝脏不同程度的炎症(肝炎)和瘢痕(纤维化)有关。炎症性细胞可破坏肝脏细胞(肝细胞坏死)。术语“脂肪性肝炎”和“脂肪坏死”中的脂肪性(steato)指脂肪浸润,肝炎指肝脏炎症,坏死指破坏肝脏细胞。NASH可最终导致肝脏瘢痕(纤维化),然后是不可逆的晚期瘢痕(肝硬化)。由NASH引起的肝硬化是NAFLD疾病谱的最后和最严重的阶段。(Mendler,Michel,“Fatty Liver: Nonalcoholic Fatty Liver Disease(NAFLD)and Nonalcoholic Steatohepatitis(NASH)(脂肪肝:非酒精性脂肪肝病(NAFLD)和非酒精性脂肪性肝炎(NASH),”Schoenfield, Leslie J. 主编, MedicineNet.com,2005年8月29日)。

[0533] 酒精性肝病或酒精诱导的肝病包含与过量消耗酒精有关或由其引起的三种病理上不同的肝脏疾病:脂肪肝(脂肪变性)、慢性或急性肝炎和肝硬化。酒精性肝炎的范围从温和的肝炎(异常实验室检测结果作为疾病的唯一指征)到严重的肝脏机能失调并有并发症例如黄疸病(由胆汁潴留引起的黄皮肤)、肝性脑病(由肝脏衰竭引起的神经功能障碍)、腹水(腹部的流体聚积)、出血性食管静脉曲张(食管的静脉曲张)、异常血液凝结和

昏迷。酒精性肝炎在组织学上具有肝细胞气球样变性、中性粒细胞炎症及有时的马洛里小体（细胞中间体丝状蛋白异常聚集）的特征外观。肝硬化的解剖特征在于肝脏中广泛的结节与纤维化联合出现。（Worman, Howard J., “Alcoholic Liver Disease (酒精性肝病)”, 哥伦比亚大学医学中心网站)。

[0534] 不依附任何特定理论, 本文所述胰高血糖素肽用于治疗酒精性肝病、NAFLD 或其任何阶段, 包括例如脂肪变性、脂肪性肝炎、肝炎、肝脏炎症、NASH、肝硬化或并其发症。因此, 本发明提供在受试者中预防或治疗酒精性肝病、NAFLD 或其任何阶段的方法, 所述方法包括给予受试者有效预防或治疗酒精性肝病、NAFLD 或其阶段的量的本文所述胰高血糖素肽。所述治疗方法包括降低以下中的一个、二个、三个或更多个: 肝脏脂肪含量、肝硬化的发生率或进展、肝细胞癌的发生率、炎症指征例如异常肝酶水平 (例如天冬氨酸氨基转移酶 AST 和 / 或丙氨酸氨基转移酶 ALT 或 LDH)、血清铁蛋白升高、血清胆红素升高和 / 或纤维化指征例如 TGF- $\beta$  水平升高。在优选实施方案中, 将胰高血糖素肽用于治疗其进展超过单纯脂肪肝 (脂肪变性) 并表现出炎症或肝炎指征的患者。所述方法可导致例如 AST 和 / 或 ALT 水平降低。

[0535] 可单独或与其它抗糖尿病药物或抗肥胖症药物联合给予本发明胰高血糖素肽。本领域已知或正在研究的抗糖尿病药物包括: 胰岛素; 磺脲类, 例如甲苯磺丁脲 (甲糖宁 (Orinase))、乙酸己脲 (戴美乐 (Dymelor))、甲磺氮草脲 (妥拉磺脲 (Tolinase))、氯磺丙脲 (特泌胰 (Diabinese))、格列甲嗪 (glipizide) ((利糖妥片 (Glucotrol))、格列本脲 (glyburide) (达安宁 (Diabeta)、优降糖 (Micronase)、达安辽 (Glynase))、格列美脲 (glimepiride) (亚莫利 (Amaryl)) 或格列齐特 (gliclazide) (达美康 (Diamicon)); 氯茴苯酸类, 例如瑞格列奈 (repaglinide) (Prandin) 或那格列奈 (nateglinide) (Starlix); 双胍类, 例如二甲双胍 (格华止 (Glucophage)) 或苯乙双胍; 噻唑烷二酮类, 例如罗格列酮 (rosiglitazone) (文迪雅 (Avandia))、匹格列酮 (pioglitazone) (Actos) 或曲格列酮 (troglitazone) (瑞如林 (Rezulin)) 或其它 PPAR  $\gamma$  抑制剂; 抑制碳水化合物消化的  $\alpha$  葡萄糖苷酶抑制剂, 例如米格列醇 (miglitol) (德赛天 (Glyset))、阿卡波糖 (acarbose) (阿卡糖 (Precose)/拜糖平 (Glucobay)); 艾塞那肽 (exenatide) (百泌达 (Byetta)) 或普兰林肽 (pramlintide); 二肽基肽酶 -4 (DPP-4) 抑制剂, 例如维格列汀 (vildagliptin) 或西格列汀 (sitagliptin); SGLT (钠 - 依赖的葡萄糖转运蛋白 1) 抑制剂; 葡糖酶激活剂 (GKA); 胰高血糖素受体拮抗剂 (GRA); 或 FBPase (果糖 1,6- 二磷酸酶) 抑制剂。

[0536] 本领域已知或正在研究的抗肥胖症药物包括: 瘦素 (Leptin) 和成纤维细胞生长因子 21 (FGF-21); 食欲抑制剂, 例如苯乙胺型刺激剂、苯丁胺 (任选用氟苯丙胺或右旋氟苯丙胺)、二乙胺苯丙酮 (Tenuate®)、苯二甲吗啉 (Prelu-2®、Bontril®)、苯非他明 (benzphetamine) (Didrex®)、西布曲明 (sibutramine) (Meridia®、Reductil®); 利莫那班 (rimonabant) (Acomplia®)、其它大麻受体拮抗剂; 泌酸调节肽; 盐酸氟西汀 (fluoxetinehydrochloride) (Prozac); Qnexa (托吡酯 (topiramate) 和苯丁胺)、Excalia (安非拉酮 (bupropion) 和唑尼沙胺 (zonisamide)) 或 Contrave (安非拉酮和纳曲酮 (naltrexone)); 或脂肪酶抑制剂, 类似于赛尼可 (xenical) (奥里斯特 (Orlistat)) 或赛利司他 (Cetilistat) (亦称为 ATL-962) 或 GT 389-255。

[0537] 可将保留胰高血糖素在低血糖症患者中升高葡萄糖作用的本发明胰高血糖素肽用于治疗低血糖症,例如预防或治疗急性、周期性的或夜间低血糖症。所述胰高血糖素肽亦可与胰岛素联合给予,以缓冲胰岛素的作用,并帮助糖尿病患者维持稳定的血糖水平。在所述实施方案中,提供在胰岛素依赖的患者中调节血糖水平的改良方法。本发明胰高血糖素肽可与胰岛素联合作为单一组合物给予,作为分开的溶液同时给予,或作为备选可让胰岛素和胰高血糖素肽在相对于彼此不同的时间给予。在某些实施方案中,所述方法包括给予治疗有效量的用于控制糖尿病的胰岛素和给予治疗有效量的用于防止低血糖症的经修饰的本发明新型胰高血糖素肽的步骤,其中所述给予步骤彼此在 12 小时内进行。修饰的胰高血糖素肽相对于给予的胰岛素的精确比率,部分视测定的患者葡萄糖水平和其它临床参数而定。“正常化”血液水平意指让血糖水平回到正常(例如若高于正常则为降低血糖水平,或若低于正常则为升高血糖水平)。“稳定”血糖水平意指减少一段时间内的血糖水平最大变化,所述一段时间例如 8 小时、16 小时、24 小时、2 天、3 天、4 天、5 天、6 天或 1 周。例如,给予胰高血糖素肽比不给予胰高血糖素肽时导致血糖水平随时间保持更接近正常范围的葡萄糖值。

[0538] 将保留所需活性的本发明胰高血糖素肽用于诱导放射学应用的消化道的临时麻痹,或用于治疗因低血液胰高血糖素水平而导致的其它代谢病。在所述实施方案中,提供用于诱导肠道临时麻痹的方法。所述方法包括将本文公开的一种或多种胰高血糖素肽给予患者的步骤。

[0539] 本发明在不同方面提供减少增重或诱导减重或用于治疗高血糖症的方法,所述方法包括以有效降低增重或诱导减重或降低食欲的量同时给予有需要的患者 GIP 受体激动剂分子和 GLP-1 受体激动剂分子。这两种分子可一起存在于同一组合物中。或者,可以以所述方法给予激活 GIP 和 GLP-1 两种受体的分子。不同受体激动剂组合(即激活特性)提供意料之外的相加作用或协同作用或其它意料之外的临床益处。所述方法涵盖给予常规剂量的胰岛素、给予减少剂量的胰岛素或不给予胰岛素。例示性 GIP 受体激动剂分子包括 GIP 或 GIP 类似物,例如所述类似物在目视检查最大匹配比对后保留至少 50%、60%、70%或 80% 的序列同一性。例示性 GLP-1 受体激动剂分子包括:GLP-1、GLP-1 类似物,例如其在目视检查最大匹配比对后保留至少 50%、60%、70%或 80% 的序列同一性;毒蜥外泌肽-4 类似物,例如其在目视检查最大匹配比对后保留至少 50%、60%、70%或 80% 的序列同一性;或其衍生物。表现出两种活性的例示性分子包括本发明胰高血糖素肽、激活 GLP-1 和 GIP 两种受体的 GLP-1 类似物、GIP 和 GLP-1 融合体或 GIP 类似物和 GLP-1 类似物融合体或其化学修饰衍生物。

[0540] 包括但不限于治疗低血糖症的本发明治疗方法可包括用任何标准给药途径给予患者本发明胰高血糖素肽的步骤,所述标准给药途径包括:胃肠外给药,例如静脉内、腹膜内、皮下或肌肉内给药;鞘内、经皮、直肠、经口、经鼻或通过吸入给药。

[0541] 根据某些实施方案,在逐个疾病基础上从所述方法中排除现有技术公开的用于治疗特定疾病的任何胰高血糖素类似物或 GLP-1 类似物。在另一实施方案中,美国专利号 6,864,069 所述作为 GLP-1 激动剂和胰高血糖素拮抗剂起作用用于治疗糖尿病的肽亦被排除在外。在另一实施方案中,本发明可排除胰高血糖素拮抗剂治疗糖尿病的用途,例如 Unson 等, *J. Biol. Chem.*, 264:789-794(1989)、Ahn 等, *J. Med. Chem.*, 44:3109-3116(2001)

和 Sapse 等, Mol. Med., 8(5):251-262(2002) 所述的拮抗剂。在某些实施方案中, 泌酸调节肽或含有泌酸调节肽的 8 个 C- 末端氨基酸 (SEQ ID NO:97) 的胰高血糖素肽可被排除在外。

[0542] 在小肠中发现的天然存在的消化性激素泌酸调节肽诱导减重 (参见 Diabetes 2005;54:2390-2395)。泌酸调节肽为含有胰高血糖素的 29 个氨基酸序列 (即 SEQ ID NO:1) 接着 8 个氨基酸羧基末端突出端 SEQ ID NO:97 (KRNRNIA) 的 37 个氨基酸的肽。尽管本发明涵盖的是本文所述胰高血糖素肽可任选与上述 8 个氨基酸羧基末端突出端 (SEQ ID NO:97) 链接, 但在本发明某些实施方案中, 亦明确涵盖缺乏 SEQ ID NO:97 的 8 个邻接羧基氨基酸的胰高血糖素肽。

[0543] 尽管可表现出所需的共激动剂或三-激动剂活性的对以下任何一种肽的进一步修饰、用所述化合物的药物组合物、药盒和治疗方法可包括在本发明中, 但从本发明化合物中排除这些肽: 含 [Arg12] 取代和 C- 末端酰胺的 SEQ ID NO:1 的肽; 含 [Arg12、Lys20] 取代和 C- 末端酰胺的 SEQ ID NO:1 的肽; 含 [Arg12、Lys24] 取代和 C- 末端酰胺的 SEQ ID NO:1 的肽; 含 [Arg12、Lys29] 取代和 C- 末端酰胺的 SEQ ID NO:1 的肽; 含 [Glu9] 取代的 SEQ ID NO:1 的肽; 失去 His1、含 [Glu9、Glu16、Lys29] 取代和 C- 末端酰胺的 SEQ ID NO:1 的肽; 含 [Glu9、Glu16、Lys29] 取代和 C- 末端酰胺的 SEQ ID NO:1 的肽; 含经由内酰胺桥连接的 [Lys13、Glu17] 取代和 C- 末端酰胺的 SEQ ID NO:1 的肽; 含经由内酰胺桥连接的 [Lys17、Glu21] 取代和 C- 末端酰胺的 SEQ ID NO:1 的肽; 失去 His1 的含经由内酰胺桥连接的 [Glu20、Lys24] 取代的 SEQ ID NO:1 的肽; 以下专利中公开的肽: 2008 年 2 月 13 日提交的 PCT/US2008/053857、2006 年 5 月 5 日提交的 PCT/US2006/017494、2007 年 8 月 17 日提交的 PCT/US2007/018415、2005 年 2 月 25 日提交的 PCT/GB2005/000710、2000 年 3 月 29 日提交的 PCT/GB00/01089、2006 年 2 月 10 日提交的 PCT/US2006/005020, 它们各自以其整体在此引作参考。

## 实施例

[0544] 本发明包括以下实施方案:

[0545] 1. 胰高血糖素 (SEQ ID NO:1) 类似物, 所述胰高血糖素类似物具有 GIP 激动剂活性且含以下修饰:

[0546] (a) 赋予 GIP 激动剂活性的 1 位氨基酸修饰,

[0547] (b) 选自以下的修饰:

[0548] (i) i 和 i+4 位置的氨基酸侧链之间或 j 和 j+3 位置的氨基酸侧链之间的内酰胺桥, 其中 i 为 12、13、16、17、20 或 24, 其中 j 为 17; 和

[0549] (ii) 所述类似物的 16、20、21 和 24 位氨基酸中的一个、二个、三个或全部被  $\alpha$ ,  $\alpha$ -二取代氨基酸取代; 和

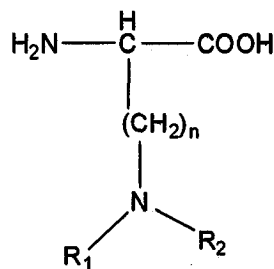
[0550] (c) 1-10 个另外的氨基酸修饰;

[0551] 其中所述类似物表现出至少 1% 的天然 GIP 针对 GIP 受体的活性。

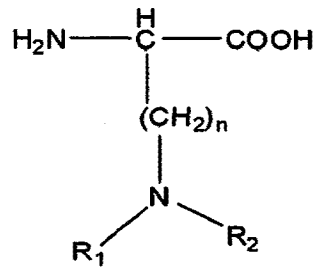
[0552] 2. 实施方案 1 的类似物, 其中所述 1 位的氨基酸修饰为用缺乏咪唑侧链的氨基酸取代 His。

[0553] 3. 实施方案 2 的类似物, 其中所述缺乏咪唑侧链的氨基酸为芳香族大氨基酸。

- [0554] 4. 实施方案 3 的类似物,其中所述芳香族大氨基酸为 Tyr。
- [0555] 5. 实施方案 1-4 中任一项的类似物,其中所述内酰胺桥在 16 和 20 位氨基酸之间,其中 16 和 20 位氨基酸之一被 Glu 取代,16 和 20 位氨基酸中的另一个被 Lys 取代。
- [0556] 6. 实施方案 1-4 中任一项的类似物,其中所述  $\alpha$ ,  $\alpha$ -二取代氨基酸为 AIB。
- [0557] 7. 实施方案 1-4 和 6 中任一项的类似物,其中所述 16 位或 20 位氨基酸被  $\alpha$ ,  $\alpha$ -二取代氨基酸取代。
- [0558] 8. 实施方案 7 的类似物,其中所述 20 位氨基酸为 AIB,所述 16 位氨基酸被带正电荷的氨基酸取代。
- [0559] 9. 实施方案 8 的类似物,其中所述带正电荷的氨基酸为式 IV 氨基酸:
- [0560]



- [0561] [式 IV],
- [0562] 其中 n 为 1-7,其中 R1 和 R2 各独立选自 H、C<sub>1</sub>-C<sub>18</sub>烷基、(C<sub>1</sub>-C<sub>18</sub>烷基)OH、(C<sub>1</sub>-C<sub>18</sub>烷基)NH<sub>2</sub>、(C<sub>1</sub>-C<sub>18</sub>烷基)SH、(C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>烷基)(C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>)环烷基、(C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>烷基)(C<sub>2</sub>-C<sub>5</sub>杂环)、(C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>烷基)(C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>芳基)R<sub>7</sub>和 (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>烷基)(C<sub>3</sub>-C<sub>9</sub>杂芳基),其中 R<sub>7</sub>为 H 或 OH,所述式 IV 氨基酸侧链包含游离氨基。
- [0563] 10. 实施方案 9 的类似物,其中所述式 IV 氨基酸为高 Lys、Lys、Orn 或 2,4-二氨基丁酸 (Dab)。
- [0564] 11. 实施方案 1-10 中任一项的类似物,所述类似物包含 27、28 和 29 位中的一个、两个或所有位置的氨基酸修饰。
- [0565] 12. 实施方案 11 的类似物,其中
- [0566] (a) 用脂肪族大氨基酸取代 27 位 Met,所述脂肪族大氨基酸任选 Leu;
- [0567] (b) 用脂肪族小氨基酸取代 28 位 Asn,所述脂肪族小氨基酸任选 Ala;
- [0568] (c) 用脂肪族小氨基酸取代 29 位 Thr,所述脂肪族小氨基酸任选 Gly;或
- [0569] (d) (a)、(b) 和 (c) 中的两个或全部组合。
- [0570] 13. 实施方案 12 的类似物,所述类似物包含 27 位 Leu、28 位 Ala 和 29 位 Gly 或 Thr。
- [0571] 14. 实施方案 1-13 中任一项的类似物,所述类似物包含 29 位氨基酸 C-末端的 1-21 个氨基酸的突出端。
- [0572] 15. 实施方案 14 的类似物,其中所述突出端包含 SEQ ID NO:95 或 96 氨基酸序列。
- [0573] 16. 实施方案 14 或 15 的类似物,其中所述突出端的 1-6 个氨基酸为带正电荷的氨基酸。
- [0574] 17. 实施方案 16 的类似物,其中所述 1-6 个带正电荷的氨基酸为式 IV 氨基酸:
- [0575]



[0576] [式 IV],

[0577] 其中 n 为 1-7, 其中 R1 和 R2 各独立选自 H、C<sub>1</sub>-C<sub>18</sub>烷基、(C<sub>1</sub>-C<sub>18</sub>烷基)OH、(C<sub>1</sub>-C<sub>18</sub>烷基)NH<sub>2</sub>、(C<sub>1</sub>-C<sub>18</sub>烷基)SH、(C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>烷基)(C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>)环烷基、(C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>烷基)(C<sub>2</sub>-C<sub>5</sub>杂环)、(C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>烷基)(C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>芳基)R<sub>7</sub>和(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>烷基)(C<sub>3</sub>-C<sub>9</sub>杂芳基), 其中 R<sub>7</sub>为 H 或 OH, 所述式 IV 氨基酸侧链包含游离氨基。

[0578] 18. 实施方案 17 的类似物, 其中所述式 IV 氨基酸为高 Lys、Lys、Orn 或 Dab。

[0579] 19. 实施方案 1-18 中任一项的类似物, 所述类似物包括包含与酰基或烷基共价连接的侧链的氨基酸, 所述酰基或烷基对于天然存在的氨基酸为非天然。

[0580] 20. 实施方案 19 的类似物, 其中连接到所述酰基或烷基的氨基酸为式 I、式 II 或式 III 氨基酸。

[0581] 21. 实施方案 19 的类似物, 其中所述式 I 氨基酸为 Lys。

[0582] 22. 实施方案 19-21 中任一项的类似物, 其中连接到所述酰基或烷基的氨基酸位于类似物关于 SEQ ID NO :1 的 10 位。

[0583] 23. 实施方案 19-21 中任一项的类似物, 其中当所述类似物包含 29 位氨基酸 C-末端的 1-21 个氨基酸突出端时, 所述连接到酰基或烷基的氨基酸位于对应于 37-43 位中任何位置。

[0584] 24. 实施方案 23 的类似物, 其中所述连接到酰基或烷基的氨基酸位于 40 位。

[0585] 25. 实施方案 19-24 中任一项的类似物, 其中所述酰基或烷基经由间隔物共价连接到所述氨基酸侧链。

[0586] 26. 实施方案 25 的类似物, 其中所述间隔物长度为 3-10 个原子。

[0587] 27. 实施方案 26 的类似物, 其中所述间隔物为氨基酸或二肽。

[0588] 28. 实施方案 27 的类似物, 其中所述间隔物为 6-氨基己酸。

[0589] 29. 实施方案 27 的类似物, 其中所述间隔物为选自以下的二肽: Ala-Ala、β-Ala-β-Ala、Leu-Leu、Pro-Pro 和 γ-Glu-γ-Glu。

[0590] 30. 实施方案 25-29 中任一项的类似物, 其中所述间隔物和所述酰基的总长为约 14- 约 28 个原子。

[0591] 31. 实施方案 19-30 中任一项的类似物, 其中所述酰基为 C12-C18 脂肪酰基。

[0592] 32. 实施方案 31 的类似物, 其中所述酰基为 C14 或 C16 脂肪酰基。

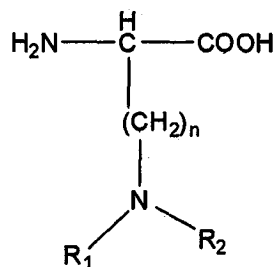
[0593] 33. 实施方案 1-32 中任一项的类似物, 所述类似物包含选自以下的修饰:

[0594] (a) 用 D-Ser、Ala、D-Ala、Gly、N-甲基-Ser、AIB、Val 或 α-氨基-N-丁酸取代 2 位 Ser;

[0595] (x) 用 Trp、Lys、Orn、Glu、Phe 或 Val 取代 10 位 Tyr;

[0596] (y) 酰基与 10 位 Lys 连接;

- [0597] (z) 用 Arg 或 Ile 取代 12 位 Lys ;
- [0598] (aa) 用 Glu、Gln、高谷氨酸、高半胱磺酸、Thr、Gly 或 AIB 取代 16 位 Ser ;
- [0599] (bb) 用 Gln 取代 17 位 Arg ;
- [0600] (cc) 用 Ala、Ser、Thr 或 Gly 取代 18 位 Arg ;
- [0601] (dd) 用 Ser、Thr、Ala、Lys、瓜氨酸、Arg、Orn 或 AIB 取代 20 位 Gln ;
- [0602] (ee) 用 Glu、高谷氨酸、高半胱磺酸取代 21 位 Asp ;
- [0603] (ff) 用 Ile 取代 23 位 Val ;
- [0604] (gg) 用 Asn、Ser、Thr、Ala 或 AIB 取代 24 位 Gln ;和
- [0605] (hh) 在 2、5、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、24、27、28 和 29 位中的任何位置的保守性取代。
- [0606] 34. 胰高血糖素 (SEQ ID NO :1) 类似物, 所述类似物具有 GIP 激动剂活性并且包含酰基, 其中所述酰基与间隔物连接, 其中 :
- [0607] (i) 所述间隔物与所述类似物 10 位氨基酸的侧链连接 ;或
- [0608] (ii) 所述类似物包含在 29 位氨基酸 C-末端的 1-21 个氨基酸的突出端, 所述间隔物与对应于关于 SEQ ID NO :1 的 37-43 位之一的氨基酸侧链连接 ;
- [0609] 其中所述类似物表现出至少 1% 的天然 GIP 针对 GIP 受体的活性。
- [0610] 35. 实施方案 34 的类似物, 所述类似物包含具有以下修饰的 SEQID NO :1 氨基酸序列 :
- [0611] (i) 赋予 GIP 激动剂活性的 1 位氨基酸修饰 ;和
- [0612] (ii) 以下中的至少一种或两种 :
- [0613] (A) 所述类似物包含 i 和 i+4 位置的氨基酸侧链之间或 j 和 j+3 位置的氨基酸侧链之间的内酰胺桥, 其中 i 为 12、13、16、17、20 或 24, 其中 j 为 17 ;和
- [0614] (B) 所述类似物的 16、20、21 和 24 位氨基酸中的一个、两个、三个或全部被  $\alpha$  ,  $\alpha$  - 二取代氨基酸取代 ;和
- [0615] (iii) 至多 6 个另外的氨基酸修饰。
- [0616] 36. 实施方案 35 的类似物, 其中所述类似物包含 :
- [0617] (i) 用式 IV 氨基酸进行 16 位 Ser 的氨基酸取代 :
- [0618]



[0619] [式 IV],

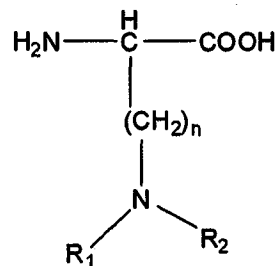
[0620] 其中 n 为 1-7, 其中 R1 和 R2 各独立选自 H、C<sub>1</sub>-C<sub>18</sub>烷基、(C<sub>1</sub>-C<sub>18</sub>烷基)OH、(C<sub>1</sub>-C<sub>18</sub>烷基)NH<sub>2</sub>、(C<sub>1</sub>-C<sub>18</sub>烷基)SH、(C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>烷基)(C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>)环烷基、(C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>烷基)(C<sub>2</sub>-C<sub>5</sub>杂环)、(C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>烷基)(C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>芳基)R<sub>7</sub>和 (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>烷基)(C<sub>3</sub>-C<sub>9</sub>杂芳基), 其中 R<sub>7</sub>为 H 或 OH, 并且所述式 IV 氨基酸侧链包含游离氨基 ;和



- [0621] (ii) 用  $\alpha$ ,  $\alpha$ -二取代氨基酸进行 20 位 Gln 的氨基酸取代。
- [0622] 37. 实施方案 34-36 中任一项的类似物, 所述类似物包含 27、28 和 29 位中的一个、两个或所有位置的氨基酸修饰。
- [0623] 38. 实施方案 37 的类似物, 所述类似物包含 27 位 Leu、28 位 Ala 和 29 位 Gly 或 Thr。
- [0624] 39. 实施方案 34-38 中任一项的类似物, 其中所述突出端包含 SEQID NO :95 或 96 的氨基酸序列。
- [0625] 40. 实施方案 34-39 中任一项的类似物, 其中所述间隔物与式 I、式 II 或式 III 氨基酸的侧链连接。
- [0626] 41. 实施方案 40 的类似物, 其中所述式 I 氨基酸为 Lys。
- [0627] 42. 实施方案 34-41 中任一项的类似物, 其中所述间隔物长度为 3-10 个原子。
- [0628] 43. 实施方案 42 的类似物, 其中所述间隔物为氨基酸或二肽。
- [0629] 44. 实施方案 43 的类似物, 其中所述间隔物为 6-氨基己酸。
- [0630] 45. 实施方案 43 的类似物, 其中所述间隔物为选自以下的二肽: Ala-Ala、 $\beta$ -Ala- $\beta$ -Ala、Leu-Leu、Pro-Pro 和  $\gamma$ -Glu- $\gamma$ -Glu。
- [0631] 46. 实施方案 34-45 中任一项的类似物, 其中所述间隔物和所述酰基的总长为约 14- 约 28 个原子长。
- [0632] 47. 实施方案 34-46 中任一项的类似物, 其中所述酰基为 C12-C18 脂肪酸。
- [0633] 48. 实施方案 47 的类似物, 其中所述酰基为 C14 或 C16。
- [0634] 49. 胰高血糖素 (SEQ ID NO :1) 类似物, 所述类似物具有 GIP 激动剂活性, 所述类似物含以下修饰:
- [0635] (a) 赋予 GIP 激动剂活性的 1 位氨基酸修饰,
- [0636] (b) i 和 i+4 位置的氨基酸侧链之间或 j 和 j+3 位置的氨基酸侧链之间的内酰胺桥, 其中 i 为 12、13、16、17、20 或 24, 其中 j 为 17;
- [0637] (c) 27、28 和 29 位中的一个、两个或所有位置的氨基酸修饰; 和
- [0638] (d) 1-6 个另外的氨基酸修饰;
- [0639] 其中所述类似物对 GIP 受体激活的 EC50 为约 10nM 或更小。
- [0640] 50. 实施方案 49 的类似物, 其中所述 1 位的氨基酸修饰为用缺乏咪唑侧链的氨基酸取代 His。
- [0641] 51. 实施方案 49 或 50 的类似物, 其中
- [0642] (a) 所述 1 位的氨基酸修饰为用芳香族大氨基酸取代 His, 所述芳香族大氨基酸任选 Tyr;
- [0643] (b) 所述内酰胺桥位于 16 和 20 位氨基酸之间, 其中 16 和 20 位氨基酸之一被 Glu 取代, 16 和 20 位氨基酸中的另一个被 Lys 取代; 和
- [0644] (c) 用脂肪族大氨基酸取代 27 位 Met, 所述芳香族大氨基酸任选 Leu;
- [0645] (d) 用脂肪族小氨基酸取代 28 位 Asn, 所述芳香族小氨基酸任选 Ala; 和
- [0646] (e) 用脂肪族小氨基酸取代 29 位 Thr, 所述芳香族小氨基酸任选 Gly。
- [0647] 52. 实施方案 49-51 中任一项的类似物, 所述类似物包含一种或多种以下修饰:
- [0648] (a) 12 位的氨基酸修饰, 任选用 Ile 取代;

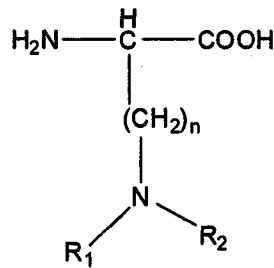
- [0649] (b) 17 和 18 位的氨基酸修饰,任选用 Q 取代 17 位,用 A 取代 18 位;
- [0650] (c) 在 C- 末端添加 GPSSGAPPPS (SEQ ID NO :95)。
- [0651] 53. 实施方案 49-52 中任一项的类似物,所述类似物包含一种或多种以下修饰:
- [0652] (ii) 用 D-Ser、Ala、D-Ala、Gly、N- 甲基 -Ser、AIB、Val 或  $\alpha$ - 氨基 -N- 丁酸取代 2 位 Ser ;
- [0653] (jj) 用 Trp、Lys、Orn、Glu、Phe 或 Val 取代 10 位 Tyr ;
- [0654] (kk) 酰基与 10 位 Lys 连接 ;
- [0655] (ll) 用 Arg 取代 12 位 Lys ;
- [0656] (mm) 用 Glu、Gln、高谷氨酸、高半胱磺酸、Thr、Gly 或 AIB 取代 16 位 Ser ;
- [0657] (nn) 用 Gln 取代 17 位 Arg ;
- [0658] (oo) 用 Ala、Ser、Thr 或 Gly 取代 18 位 Arg ;
- [0659] (pp) 用 Ala、Lys、瓜氨酸、Arg、Orn 或 AIB 取代 20 位 Gln ;
- [0660] (qq) 用 Glu、高谷氨酸、高半胱磺酸取代 21 位 Asp ;
- [0661] (rr) 用 Ile 取代 23 位 Val ;
- [0662] (ss) 用 Asn、Ala 或 AIB 取代 24 位 Gln ;和
- [0663] (tt) 在 2、5、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、24、27、28 和 29 位中的任何位置的保守性取代 ;
- [0664] 或其任何组合。
- [0665] 54. 胰高血糖素 (SEQ ID NO :1) 类似物,所述类似物具有 GIP 激动剂活性,其具有以下修饰:
- [0666] (a) 赋予 GIP 激动剂活性的 1 位氨基酸修饰 ;
- [0667] (b) 所述类似物的 16、20、21 和 24 位氨基酸中的一个、两个、三个或全部被  $\alpha$ ,  $\alpha$ - 二取代氨基酸取代 ;
- [0668] (c) 27、28 和 29 位中的一个、两个或所有位置的氨基酸修饰 ;和
- [0669] (d) 1-6 个另外的氨基酸修饰 ;
- [0670] 其中所述类似物对 GIP 受体激活的 EC<sub>50</sub> 为约 10nM 或更小。
- [0671] 55. 实施方案 54 的类似物,其中所述 1 位的氨基酸修饰为用缺乏咪唑侧链的氨基酸取代 His。
- [0672] 56. 实施方案 54 或 55 的类似物,其中
- [0673] (a) 所述 1 位的氨基酸修饰为用芳香族大氨基酸取代 His,
- [0674] 所述芳香族大氨基酸任选 Tyr ;
- [0675] (b) 所述  $\alpha$ ,  $\alpha$ - 二取代氨基酸为 AIB ;
- [0676] (c) 用脂肪族大氨基酸取代 27 位 Met,所述脂肪族大氨基酸任选 Leu ;
- [0677] (d) 用脂肪族小氨基酸取代 28 位 Asn,所述脂肪族小氨基酸任选 Ala ;和
- [0678] (e) 用脂肪族小氨基酸取代 29 位 Thr,所述脂肪族小氨基酸任选 Gly。
- [0679] 57. 实施方案 54-56 中任一项的类似物,所述类似物包含一种或多种以下修饰:
- [0680] (a) 12 位的氨基酸修饰,任选用 Ile 取代 ;
- [0681] (b) 17 和 18 位的氨基酸修饰,任选用 Q 取代 17 位,用 A 取代 18 位 ;
- [0682] (c) 在 C- 末端添加 GPSSGAPPPS (SEQ ID NO :95)。

- [0683] 58. 实施方案 54-57 中任一项的类似物,所述类似物包含一种或多种以下修饰:
- [0684] (m) 用 D-Ser、Ala、D-Ala、Gly、N-甲基-Ser、AIB、Val 或  $\alpha$ -氨基-N-丁酸取代 2 位 Ser;
- [0685] (n) 用 Trp、Lys、Orn、Glu、Phe 或 Val 取代 10 位 Tyr;
- [0686] (o) 酰基与 10 位 Lys 连接;
- [0687] (p) 用 Arg 取代 12 位 Lys;
- [0688] (q) 用 Glu、Gln、高谷氨酸、高半胱磺酸、Thr、Gly 或 AIB 取代 16 位 Ser;
- [0689] (r) 用 Gln 取代 17 位 Arg;
- [0690] (s) 用 Ala、Ser、Thr 或 Gly 取代 18 位 Arg;
- [0691] (t) 用 Ala、Lys、瓜氨酸、Arg、Orn 或 AIB 取代 20 位 Gln;
- [0692] (u) 用 Glu、高谷氨酸、高半胱磺酸取代 21 位 Asp;
- [0693] (v) 用 Ile 取代 23 位 Val;
- [0694] (w) 用 Asn、Ala 或 AIB 取代 24 位 Gln;和
- [0695] (x) 在 2、5、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、24、27、28 和 29 位中的任何位置的保守性取代;
- [0696] 或其任何组合。
- [0697] 59. 胰高血糖素 (SEQ ID NO :1) 类似物,所述类似物具有 GIP 激动剂活性,其具有以下修饰:
- [0698] (a) 赋予 GIP 激动剂活性的 1 位氨基酸修饰;
- [0699] (b) 用式 IV 氨基酸进行的 16 位 Ser 的氨基酸取代;
- [0700]



- [0701] [式 IV],
- [0702] 其中 n 为 1-7,其中 R1 和 R2 各独立选自 H、C<sub>1</sub>-C<sub>18</sub>烷基、(C<sub>1</sub>-C<sub>18</sub>烷基)OH、(C<sub>1</sub>-C<sub>18</sub>烷基)NH<sub>2</sub>、(C<sub>1</sub>-C<sub>18</sub>烷基)SH、(C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>烷基)(C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>)环烷基、(C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>烷基)(C<sub>2</sub>-C<sub>5</sub>杂环)、(C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>烷基)(C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>芳基)R<sub>7</sub>和 (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>烷基)(C<sub>3</sub>-C<sub>9</sub>杂芳基),其中 R<sub>7</sub>为 H 或 OH,所述式 IV 氨基酸侧链包含游离氨基;
- [0703] (c) 用  $\alpha$ ,  $\alpha$ -二取代氨基酸进行 20 位 Gln 的氨基酸取代;
- [0704] (d) 27、28 和 29 位中的一个、两个或所有位置的氨基酸修饰;和
- [0705] (e) 1-6 个另外的氨基酸修饰;
- [0706] 其中所述类似物对 GIP 受体激活的 EC<sub>50</sub> 为约 10nM 或更小。
- [0707] 60. 实施方案 59 的类似物,其中所述 1 位的氨基酸修饰为用缺乏咪唑侧链的氨基酸取代 His。
- [0708] 61. 实施方案 60 的类似物,其中所述缺乏咪唑侧链的氨基酸为芳香族大氨基酸。

- [0709] 62. 实施方案 61 的类似物,其中所述芳香族大氨基酸为 Tyr。
- [0710] 63. 实施方案 59-62 中任一项的类似物,其中 (b) 中所述式 IV 氨基酸为高 Lys、Lys、Orn 或 2,4-二氨基丁酸 (Dab)。
- [0711] 64. 实施方案 59-63 中任一项的类似物,其中所述  $\alpha$ ,  $\alpha$  二-取代的氨基酸为 AIB。
- [0712] 65. 实施方案 59-64 中任一项的类似物,其中 (i) 用脂肪族大氨基酸取代 27 位 Met,所述脂肪族大氨基酸任选 Leu;(ii) 用脂肪族小氨基酸取代 28 位 Asn,所述脂肪族小氨基酸任选 Ala;或 (iii) 用脂肪族小氨基酸取代 29 位 Thr,所述脂肪族小氨基酸任选 Gly;或其中所述类似物包含 (i)、(ii) 和 (iii) 的组合。
- [0713] 66. 实施方案 59-65 中任一项的类似物,所述类似物进一步包含 29 位氨基酸 C-末端的 GPSSGAPPPS (SEQ ID NO :95) 或 XGPSSGAPPPS (SEQ ID NO :96) 氨基酸序列。
- [0714] 67. 实施方案 59-66 中任一项的类似物,所述类似物包含一种或多种以下修饰:
- [0715] (a) 用 D-Ser、Ala、D-Ala、Gly、N-甲基-Ser、AIB、Val 或  $\alpha$ -氨基-N-丁酸取代 2 位 Ser;
- [0716] (b) 用 Glu 取代 3 位 Gln;
- [0717] (c) 用包含与酰基或烷基共价连接的侧链的氨基酸取代 10 位氨基酸 Tyr;
- [0718] (d) 在所述类似物的 C-末端氨基酸添加包含与酰基或烷基共价连接的侧链的氨基酸;
- [0719] (e) 用 Ile 取代 12 位 Lys;
- [0720] (f) 用 Gln 取代 17 位 Arg;
- [0721] (g) 用 Ala 取代 18 位 Arg;
- [0722] (h) 用 Glu 取代 21 位 Asp;和
- [0723] (i) 用 Asn 取代 24 位 Gln。
- [0724] 68. 实施方案 66 的类似物,所述类似物包含 (a) 赋予 DPP-IV 抗性的 2 位氨基酸修饰;和 (b) 与酰基或烷基共价连接的 40 位氨基酸。
- [0725] 69. 实施方案 68 的类似物,所述类似物包含连接到 24 位氨基酸的亲水部分。
- [0726] 70. 胰高血糖素 (SEQ ID NO :1) 类似物,所述类似物具有 GIP 激动剂活性,所述类似物包含:
- [0727] (a) 赋予 GIP 激动剂活性的 1 位氨基酸修饰;和
- [0728] (b) 29 位氨基酸 C-末端的 1-21 个氨基酸的突出端,其中对应于关于 SEQ ID NO :1 的 37-43 位中的任何位置的所述突出端中的至少一个氨基酸被酰化或烷化;
- [0729] 其中所述类似物对 GIP 受体激活的 EC<sub>50</sub> 为约 10nM 或更小。
- [0730] 71. 实施方案 70 的类似物,其中所述类似物进一步包含以下修饰之一:
- [0731] (A) 所述类似物包含 i 和 i+4 位置的氨基酸侧链之间或 j 和 j+3 位置的氨基酸侧链之间的内酰胺桥,其中 i 为 12、13、16、17、20 或 24,其中 j 为 17;
- [0732] (B) 所述类似物的 16、20、21 和 24 位氨基酸中的一个、两个、三个或全部被  $\alpha$ ,  $\alpha$ -二取代氨基酸取代;或
- [0733] (C) 所述类似物包含 (i) 用式 IV 氨基酸进行 16 位 Ser 的氨基酸取代;
- [0734]



[0735] [式 IV],

[0736] 其中 n 为 1-7, 其中 R1 和 R2 各独立选自 H、C<sub>1</sub>-C<sub>18</sub>烷基、(C<sub>1</sub>-C<sub>18</sub>烷基)OH、(C<sub>1</sub>-C<sub>18</sub>烷基)NH<sub>2</sub>、(C<sub>1</sub>-C<sub>18</sub>烷基)SH、(C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>烷基)(C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>)环烷基、(C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>烷基)(C<sub>2</sub>-C<sub>5</sub>杂环)、(C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>烷基)(C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>芳基)R<sub>7</sub>和(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>烷基)(C<sub>3</sub>-C<sub>9</sub>杂芳基), 其中 R<sub>7</sub>为 H 或 OH, 所述式 IV 氨基酸侧链包含游离氨基; 和 (ii) 用 α, α-二取代氨基酸进行 20 位 Gln 的氨基酸取代。

[0737] 72. 实施方案 70 或 71 的类似物, 所述类似物进一步包含 27 和 28 位之一或二者的氨基酸修饰。

[0738] 73. 实施方案 70-72 中任一项的类似物, 其中所述 1 位的氨基酸修饰为用缺乏咪唑侧链的氨基酸取代 His。

[0739] 74. 实施方案 73 的类似物, 其中所述缺乏咪唑侧链的氨基酸为芳香族大氨基酸。

[0740] 75. 实施方案 74 的类似物, 其中所述芳香族大氨基酸为 Tyr。

[0741] 76. 实施方案 70-75 中任一项的类似物, 其中所述 1-21 个氨基酸包含 GPSSGAPPPS(SEQ ID NO :95) 或 XGPSSGAPPPS(SEQ ID NO :96) 氨基酸序列, 其中 X 为含有关于 SEQ ID NO :95 或 96 的一种或多种保守性取代的任何氨基酸或氨基酸序列。

[0742] 77. 实施方案 76 的类似物, 其中所述 1-21 个氨基酸包含 GPSSGAPPPS(SEQ ID NO :95) 或 XGPSSGAPPPS(SEQ ID NO :96) 氨基酸序列, 其中 X 为任何氨基酸。

[0743] 78. 实施方案 70-77 中任一项的类似物, 其中所述酰化或烷化氨基酸为式 I、II 或 III 氨基酸。

[0744] 79. 实施方案 78 的类似物, 其中所述酰化或烷化氨基酸为 Lys。

[0745] 80. 实施方案 70-79 中任一项的类似物, 其中所述酰化或烷化氨基酸位于所述类似物的 37、38、39、40、41、42 或 43 位中的任何位置。

[0746] 81. 实施方案 80 的类似物, 其中所述酰化或烷化氨基酸位于所述类似物的 40 位。

[0747] 82. 实施方案 70-81 中任一项的类似物, 其中所述类似物包含 16 和 20 位氨基酸之间的内酰胺桥, 其中 16 和 20 位氨基酸之一被 Glu 取代, 16 和 20 位氨基酸中的另一个被 Lys 取代。

[0748] 83. 实施方案 70-81 中任一项的类似物, 其中所述类似物包含对 16、20、21 或 24 位氨基酸中的一个、二个、三个或全部的 α, α-二取代氨基酸取代, 所述 α, α-二取代氨基酸为 AIB。

[0749] 84. 实施方案 83 的类似物, 其中所述类似物包含 20 位 AIB。

[0750] 85. 实施方案 70-81 中任一项的类似物, 其中所述类似物包含 16 位的高 Lys、Lys、Orn 或 2,4-二氨基丁酸 (Dab) 和 20 位 AIB。

[0751] 86. 实施方案 70-85 中任一项的类似物, 所述类似物包含一种或多种以下修饰:

[0752] (a) 用 D-Ser、Ala、D-Ala、Gly、N-甲基-Ser、AIB、Val 或 α-氨基-N-丁酸取代

2 位 Ser ;

[0753] (b) 用 Glu 取代 3 位 Gln ;

[0754] (c) 用包含与酰基或烷基共价连接的侧链的氨基酸取代 10 位氨基酸 Tyr ;

[0755] (e) 用 Ile 取代 12 位 Lys ;

[0756] (f) 用 Gln 取代 17 位 Arg ;

[0757] (g) 用 Ala 取代 18 位 Arg ;

[0758] (h) 用 Glu 取代 21 位 Asp ;和

[0759] (i) 用 Asn 取代 24 位 Gln。

[0760] 87. 实施方案 70-86 中任一项的类似物,所述类似物包含赋予 DPP-IV 抗性的 2 位氨基酸修饰。

[0761] 88. 实施方案 87 的类似物,其中所述 2 位氨基酸选自 D-Ser、Ala、D-Ala、Gly、N- 甲基 -Ser、AIB、Val 或  $\alpha$ - 氨基 -N- 丁酸。

[0762] 89. 实施方案 70-88 中任一项的类似物,所述类似物包含至多 6 个另外的氨基酸修饰。

[0763] 90. 胰高血糖素类似物,所述类似物包含 SEQ ID NO :227、228、229 或 230 中任何一种氨基酸序列及在 29 位氨基酸的 C- 末端的 1-21 个 氨基酸的突出端,其中所述类似物对 GIP 受体激活的 EC<sub>50</sub> 为约 10nM 或更小。

[0764] 91. 实施方案 90 的类似物,其中所述 1-21 个氨基酸的突出端包含 GPSSGAPPPS (SEQ ID NO :95) 或 XGPSSGAPPPS (SEQ ID NO :96) 氨基酸序列,其中 X 为任何氨基酸 ;或包含关于 SEQ ID NO :95 或 96 的一个或多个保守性取代的氨基酸序列。

[0765] 92. 实施方案 90 的类似物,其中所述 1-21 个氨基酸的突出端包含 GPSSGAPPPS (SEQ ID NO :95) 或 XGPSSGAPPPS (SEQ ID NO :96) 氨基酸序列,其中 X 为任何氨基酸。

[0766] 93. 实施方案 90-92 中任一项的类似物,其中所述突出端的对应于 37-43 位的任何位置的至少一个氨基酸被酰化或烷化。

[0767] 94. 实施方案 93 的类似物,其中所述酰化或烷化氨基酸位于所述类似物的 40 位。

[0768] 95. 实施方案 90-94 中任一项的类似物,其中所述胰高血糖素肽在 24 位氨基酸与亲水部分共价连接。

[0769] 96. 实施方案 95 的类似物,其中所述亲水部分与 Lys、Cys、Orn、高半胱氨酸或乙酰基 - 苯基丙氨酸共价连接。

[0770] 97. 实施方案 95 或 96 的类似物,其中所述亲水部分为聚乙二醇 (PEG)。

[0771] 98. 实施方案 90-97 中任一项的类似物,所述类似物进一步包含至多 6 个另外的氨基酸修饰。

[0772] 99. 实施方案 98 的类似物,所述类似物包含一种或多种以下修饰 :

[0773] (a) 所述 2 位氨基酸为 D-Ser、Ala、D-Ala、Gly、N- 甲基 -Ser、AIB、Val 或  $\alpha$ - 氨基 -N- 丁酸中的任何一种 ;

[0774] (l) 所述 10 位氨基酸为 Tyr、Trp、Lys、Orn、Glu、Phe 或 Val ;

[0775] (m) 酰基与 10 位 Lys 连接 ;

[0776] (n) 所述 12 位氨基酸为 Ile、Lys 或 Arg ;

[0777] (o) 所述 16 位氨基酸为 Ser、Glu、Gln、高谷氨酸、高半胱磺酸、Thr、Gly 或 AIB 中

的任一种；

[0778] (p) 所述 17 位氨基酸为 Gln 或 Arg；

[0779] (q) 所述 18 位氨基酸为 Ala、Arg、Ser、Thr 或 Gly 中的任一种；

[0780] 在本发明中,但从本发明化合物中排除这些肽:含 [Arg12] 取代和 C-末端酰胺的 SEQ ID NO:1 的肽;含 [Arg12、Lys20] 取代和 C-末端酰胺的 SEQ ID NO:1 的肽;含 [Arg12、Lys24] 取代和 C-末端酰胺的 SEQ ID NO:1 的肽;含 [Arg12、Lys29] 取代和 C-末端酰胺的 SEQ ID NO:1 的肽;含 [Glu9] 取代的 SEQ ID NO:1 的肽;失去 His1、含 [Glu9、Glu16、Lys29] 取代和 C-末端酰胺的 SEQ ID NO:1 的肽;含 [Glu9、Glu16、Lys29] 取代和 C-末端酰胺的 SEQ ID NO:1 的肽;含经由内酰胺桥连接的 [Lys13、Glu17] 取代和 C-末端酰胺的 SEQ ID NO:1 的肽;含经由内酰胺桥连接的 [Lys17、Glu21] 取代和 C-末端酰胺的 SEQ ID NO:1 的肽;失去 His1 的含经由内酰胺桥连接的 [Glu20、Lys24] 取代的 SEQ ID NO:1 的肽;以下专利中公开的肽:2008 年 2 月 13 日提交的 PCT/US2008/053857、2006 年 5 月 5 日提交的 PCT/US2006/017494、2007 年 8 月 17 日提交的 PCT/US2007/018415、2005 年 2 月 25 日提交的 PCT/GB2005/000710、2000 年 3 月 29 日提交的 PCT/GB00/01089、2006 年 2 月 10 日提交的 PCT/US2006/005020,它们各自以其整体在此引作参考。

[0781] (s) 所述 21 位氨基酸为 Glu、Asp、高谷氨酸、高半胱磺酸中的任何一种；

[0782] (t) 所述 23 位氨基酸为 Val 或 Ile；

[0783] (u) 所述 24 位氨基酸为 Gln、Asn、Ala 或 AIB 中的任一种；和

[0784] (v) 在 2、5、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、24、27、28 和 29 位中的任何位置的一种或多种保守性取代。

[0785] 100. 包含选自 SEQ ID NO:99-141、144-164、166、192-207、209-221 和 223 的氨基酸序列的类似物。

[0786] 101. 包含选自 SEQ ID NO:167-169、173-178 和 225 的氨基酸序列的类似物。

[0787] 102. 包含选自 SEQ ID NO:5-94 的氨基酸序列的类似物。

[0788] 103. 实施方案 53 或 58 的类似物,其中所述酰基经由间隔物与 Lys 连接。

[0789] 104. 实施方案 67-69、86 和 99 中任一项的类似物,其中所述酰基或烷基经由间隔物与所述氨基酸侧链连接。

[0790] 105. 实施方案 70、93 和 94 中任一项的类似物,其中所述关于 SEQ ID NO:1 的 37-43 位任何位置的酰化或烷化氨基酸经由间隔物与酰基或烷基共价连接。

[0791] 106. 实施方案 105 的类似物,其中所述酰化或烷化氨基酸位于相对于 SEQ ID NO:1 的 40 位。

[0792] 107. 实施方案 100-102 中任一项的类似物,其中当所述类似物包含酰基或烷基时,所述酰基或烷基经由间隔物与所述类似物连接。

[0793] 108. 实施方案 103-107 中任一项的类似物,其中所述间隔物长度为 3-10 个原子。

[0794] 109. 实施方案 108 的类似物,其中所述间隔物为氨基酸或二肽。

[0795] 110. 实施方案 109 的类似物,其中所述间隔物为 6-氨基己酸。

[0796] 111. 实施方案 109 的类似物,其中所述间隔物为选自以下的二肽:Ala-Ala、 $\beta$ -Ala- $\beta$ -Ala、Leu-Leu、Pro-Pro 和  $\gamma$ -Glu- $\gamma$ -Glu。

[0797] 112. 实施方案 103-111 中任一项的类似物,其中所述间隔物和所述酰基总长为约

14- 约 28 个原子。

[0798] 113. 实施方案 103-112 中任一项的类似物,其中所述酰基为 C12-C18 脂肪酰基。

[0799] 114. 实施方案 113 的类似物,其中所述酰基为 C14 或 C16 脂肪酰基。

[0800] 115. 前述实施方案中任一项的类似物,其中所述类似物对 GIP 受体激活的 EC50 为约 1nM 或更小。

[0801] 116. 前述实施方案中任一项的类似物,其中所述类似物具有野生型 GIP (SEQ ID NO :4) 针对 GIP 受体活性的至少约 4%。

[0802] 117. 前述实施方案中任一项的类似物,其中所述类似物对 GLP-1 受体激活的 EC50 为约 1nM 或更小。

[0803] 118. 前述实施方案中任一项的类似物,其中所述类似物具有 GLP-1 (SEQ ID NO :2) 针对 GLP-1 受体活性的至少约 4%。

[0804] 119. 前述实施方案中任一项的类似物,其中所述类似物对胰高血糖素受体激活的 EC50 为约 1nM 或更小。

[0805] 120. 前述实施方案中任一项的类似物,其中所述类似物具有胰高血糖素针对胰高血糖素受体活性的至少约 20%。

[0806] 121. 除实施方案 120 外的前述实施方案中任一项的类似物,其中所述类似物包含 3 位氨基酸修饰,并具有小于 1%的胰高血糖素针对胰高血糖素受体的活性。

[0807] 122. 除实施方案 117 和 118 外的前述实施方案中任一项的类似物,其中所述类似物包含 7 位的氨基酸修饰,并具有小于约 10%的 GLP-1 针对 GLP-1 受体的活性。

[0808] 123. 前述实施方案中任一项的类似物,其中所述胰高血糖素肽在 19、20、23、24、27、32、43 位的任何氨基酸位置或 C- 末端与亲水部分共价连接。

[0809] 124. 实施方案 123 的类似物,其中所述胰高血糖素肽在 27 或 43 位氨基酸与亲水部分共价连接。

[0810] 125. 实施方案 123 或 124 的类似物,其中所述亲水部分与 Lys、Cys、Orn、高半胱氨酸或乙酰基 - 苯基丙氨酸共价连接。

[0811] 126. 实施方案 123-125 中任一项的类似物,其中所述亲水部分为聚乙二醇 (PEG)。

[0812] 127. 实施方案 126 的类似物,其中所述 PEG 具有约 1,000 道尔顿 - 约 40,000 道尔顿的分子量。

[0813] 128. 实施方案 126 的类似物,其中所述 PEG 具有约 20,000 道尔顿 - 约 40,000 道尔顿的分子量。

[0814] 129. 实施方案 123-128 中任一项的类似物,其中所述类似物对 GIP 受体激活的 EC50 为约 10nM 或更小。

[0815] 130. 实施方案 123-128 中任一项的类似物,其中所述类似物具有野生型 GIP (SEQ ID NO :4) 针对 GIP 受体活性的至少约 0.4%。

[0816] 131. 实施方案 123-130 中任一项的类似物,其中所述类似物对 GLP-1 受体激活的 EC50 为约 10nM 或更小。

[0817] 132. 实施方案 123-130 中任一项的类似物,其中所述类似物具有 GLP-1 (SEQ ID NO :2) 针对 GLP-1 受体活性的至少约 0.4%。

[0818] 133. 实施方案 123-132 中任一项的类似物,其中所述类似物对胰高血糖素受体激



活的 EC50 为约 10nM 或更小。

[0819] 134. 实施方案 123-133 中任一项的类似物,其中所述类似物具有胰高血糖素针对胰高血糖素受体活性的至少 2%。

[0820] 135. 除实施方案 122 外的前述实施方案中任一项的类似物,其中所述类似物的 GIP 效价在所述类似物的 GLP-1 效价的约 15- 倍内。

[0821] 136. 除实施方案 121 外的前述实施方案中任一项的类似物,其中所述类似物的 GIP 效价在所述类似物的胰高血糖素效价的约 15- 倍内。

[0822] 137. 包含经由接头结合的两个肽的二聚体,其中这两个肽中至少一个为实施方案 1-136 中任一项的类似物。

[0823] 138. 实施方案 137 的二聚体,其中所述二聚体为同二聚体。

[0824] 139. 实施方案 137 或 138 的二聚体,其中所述接头选自双官能硫醇交联剂及双官能胺交联剂。

[0825] 140. 缀合物,所述缀合物与实施方案 1-136 中任一项的类似物、实施方案 137-139 中任一项的二聚体或其组合共价连接。

[0826] 141. 融合肽,所述融合肽包含与第二种肽融合的实施方案 1-136 中任一项的类似物或实施方案 137-139 中任一项的二聚体。

[0827] 142. 药物组合物,所述药物组合物包含实施方案 1-136 中任一项的类似物、实施方案 137-139 中任一项的二聚体、实施方案 140 的缀合物、实施方案 141 的融合肽或其组合和可药用载体。

[0828] 143. 包含实施方案 142 的药物组合物及将所述药物组合物给予患者的器具的药盒。

[0829] 144. 实施方案 143 的药盒,其中所述器具包括包含所述药物组合物的注射器。

[0830] 145. 减少增重或诱导减重的方法,所述方法包括以有效降低增重或诱导减重的量给予有需要的患者实施方案 142 的药物组合物。

[0831] 146. 治疗糖尿病的方法,所述方法包括以有效降低血糖水平的量给予有需要的患者实施方案 142 的药物组合物。

[0832] 147. 诱导肠道临时麻痹的方法,所述方法包括以有效诱导肠道临时麻痹的量给予有需要的患者实施方案 142 的药物组合物。

[0833] 可通过标准合成方法、重组 DNA 技术或制备肽和融合蛋白的任何其它方法来制备本发明化合物。尽管某些非天然氨基酸不能由标准重组 DNA 技术表达,但其制备技术为本领域已知。除了用合适的标准肽化学反应之外,还可通过标准有机化学反应合成包含非肽部分的本发明化合物。关于胰高血糖素肽的胰高血糖素和 GLP-1 活性的另外的数据亦公开在 2008 年 2 月 13 日提交的 PCT/US2008/053857 中,其以其整体在此引作参考。实施例 1

#### [0834] 通用合成方案

[0835] 在改良的 Applied Biosystem 430A 肽合成仪上,用 HBTU- 活化的 “Fast Boc” 单偶联 (single coupling) 从 0.2 毫摩尔的 Boc Thr(OBzl)Pam 树脂开始合成胰高血糖素类似物。Boc 氨基酸和 HBTU 获自 Midwest Biotech (Fishers, IN)。所用侧链保护基团为 :Arg (Tos)、Asn (Xan)、Asp (OcHex)、Cys (pMeBzl)、His (Bom)、Lys (2Cl-Z)、Ser (OBzl)、Thr (OBzl)、Tyr (2Br-Z) 和 Trp (CHO)。N- 末端 His 上的侧链保护基团是 Boc。

[0836] 用 20% 哌啶的二甲基甲酰胺溶液处理每一个完成的肽基树脂, 以从色氨酸除去甲酰基。在对甲酚和二甲基硫醚存在下进行液态氟化氢裂解。用 HF 仪器 (Penninsula Labs) 在冰浴中进行 1 小时裂解。蒸发 HF 后, 将残留物悬浮在乙醚中, 过滤固体物质。将每种肽提取到 30-70ml 乙酸水溶液中, 由 HPLC 分析稀释的等份样 [Beckman System Gold, 0.46x5cm Zorbax C8, 1ml/分钟, 45C, 214nm, A 缓冲液 = 0.1% TFA, B = 0.1% TFA/90% 乙腈, 梯度为经 10 分钟 10% -80% B]。

[0837] 在 FPLC 上经 2.2x25cm Kromasil C18 柱进行纯化, 同时在 214nm 处监测 UV, 收集 5 分钟馏分。合并同类馏分并冻干, 得到产物纯度为 > 95%。用 MALDI- 质谱分析确认准确的分子量和纯度。

[0838] 实施例 2

[0839] 通用聚乙二醇化方案: (Cys-马来酰亚胺基)

[0840] 通常让胰高血糖素 Cys 类似物溶解于磷酸盐缓冲的盐水 (5-10mg/ml) 中, 加入 0.01M 乙二胺四乙酸 (10-15% 的总体积)。加入过量 (2- 倍) 的马来酰亚胺基甲氧基 PEG 试剂 (Nektar), 在室温下搅拌反应物, 同时用 HPLC 监测反应进程。8-24 小时后, 使反应混合物酸化, 并将其装载到制备型反相柱上, 用 0.1% TFA/ 乙腈梯度进行纯化。合并合适的馏分并冻干, 得到所期需的聚乙二醇化类似物。

[0841] 实施例 3

[0842] 合成胰高血糖素 Cys<sup>17</sup>(1-29) 和类似的单 Cys 类似物

[0843] 60ml 反应瓶中有 0.2 毫摩尔 Boc Thr (OBzl) Pam 树脂 (SynChem Inc), 加入以下序列并让其在用 FastBoc HBTU- 活化的单偶联的改良 Applied Biosystems 430A 肽合成仪上运行。

[0844] HSQGTFTSDYSKYLDSCRAQDFVQWLMNT

[0845] 使用以下侧链保护基: Arg (Tos)、Asp (OcHex)、Asn (Xan)、Cys (pMeBzl)、Glu (OcHex)、His (Boc)、Lys (2Cl-Z)、Ser (Bzl)、Thr (Bzl)、Trp (CHO) 和 Tyr (Br-Z)。用 20% 哌啶 / 二甲基甲酰胺处理完成的肽基树脂, 以除去 Trp 的甲酰基保护, 然后转移到 HF 反应瓶中, 在真空干燥。加入 1.0ml 对甲酚和 0.5ml 二甲基硫醚连同磁力搅拌棒。将反应瓶连接到 HF 仪器 (Penninsula Labs), 在冰 / 甲醇浴中冷却, 抽空, 浓缩为大约 10ml 的液态氟化氢。在冰浴中将反应物搅拌 1 小时, 然后真空除去 HF。让残留物悬浮在乙基醚中; 过滤固体, 用醚洗涤, 将肽提取到 50ml 乙酸水溶液中。对裂解提取物小样品进行分析型 HPLC [0.46x5cm ZorbaxC8, 1ml/分钟, 45C, 214nm, 0.1% TFA 的 A 缓冲液, 0.1% TFA/90% ACN 的 B 缓冲液, 梯度 = 经 10 分钟 10% B-80% B]。将其余的提取物装载到 2.2x25cm Kromasil C18 制备型反相柱上, 用 Pharmacia FPLC 系统运行乙腈梯度。收集馏分 5 分钟, 同时在 214nm (2.0A) 处监测 UV。A = 0.1% TFA, B = 0.1% TFA/50% 乙腈。梯度 = 经 450 分钟 30% B-100% B。

[0846] 合并含有最纯产物 (48-52) 的馏分, 冷冻并冻干, 得到 30.1mg。产物的 HPLC 分析证明纯度 > 90%, MALDI 质谱分析证明所需的质量。类似地制备胰高血糖素 Cys<sup>21</sup>、胰高血糖素 Cys<sup>24</sup> 和胰高血糖素 Cys<sup>29</sup>。

[0847] 实施例 4

[0848] 合成胰高血糖素 -Cex 和其它 C-末端延伸的类似物

[0849] 将 285mg (0.2 毫摩尔) 甲氧基二苯胺树脂 (Midwest Biotech) 置于 60ml 反应瓶中, 加入以下序列并让其在使用 FastBoc HBTU- 活化的单偶联的改良 Applied Biosystems 430A 肽合成仪上运行。

[0850] HSQGTFTSDYSKYLD<sup>SRRAQDFVQWLMNTGPSSGAPPPS</sup>

[0851] 使用以下侧链保护基: Arg(Tos)、Asp(OcHex)、Asn(Xan)、Cys(pMeBzl)、Glu(OcHex)、His(Boc)、Lys(2Cl-Z)、Ser(Bzl)、Thr(Bzl)、Trp(CHO) 和 Tyr(Br-Z)。用 20% 哌啶 / 二甲基甲酰胺处理完成的肽基树脂, 以除去 Trp 的甲酰基保护, 然后转移到 HF 反应瓶中, 在真空干燥。加入 1.0ml 对甲酚和 0.5ml 二甲基硫醚连同磁力搅拌棒。将反应瓶连接到 HF 仪器 (Penninsula Labs), 在干冰 / 甲醇浴中冷却, 抽空, 浓缩为大约 10ml 的液态氟化氢。在冰浴中将反应物搅拌 1 小时, 然后真空除去 HF。让残留物悬浮在乙基醚中; 过滤固体, 用醚洗涤, 将肽提取到 50ml 乙酸水溶液中。对裂解提取物等份样进行分析型 HPLC [0.46x5cm ZorbaxC8, 1ml/分钟, 45C, 214nm, 0.1% TFA 的 A 缓冲液, 0.1% TFA/90% ACN 的 B 缓冲液, 梯度 = 经 10 分钟 10% B-80% B]。将提取物装载到 2.2x25cm Kromasil C18 制备型反相柱上, 用 Pharmacia FPLC 系统进行乙腈梯度以洗脱。收集馏分 5 分钟, 同时在 214nm (2.0A) 处监测 UV。A = 0.1% TFA, B = 0.1% TFA/50% 乙腈。梯度 = 经 450 分钟 30% B-100% B。合并 58-65 馏分, 冷冻并冻干, 得到 198.1mg。

[0852] 产物的 HPLC 分析证明纯度大于 95%, MALDI 质谱分析证明所期需的 4316.7 的理论质量, 产物含 C- 末端酰胺。从适当装载的 PAM- 树脂开始, 类似地制备含 C- 末端羧酸的泌酸调节肽和泌酸调节肽 -KRNR。

[0853] 实施例 5

[0854] 胰高血糖素 Cys<sup>17</sup>Mal-PEG-5K

[0855] 让 15.1mg 胰高血糖素 Cys<sup>17</sup>(1-29) 和 27.3mg 平均分子量 5000 的甲氧基聚(乙二醇)马来酰亚胺 (mPEG-Mal-5000, Nektar Therapeutics) 溶解于 3.5ml 磷酸盐缓冲的盐水 (PBS) 中, 加入 0.5ml 0.01M 乙二胺四乙酸 (EDTA)。在室温搅拌反应物, 由 HPLC 分析监测反应进展 [0.46x5cm Zorbax C8, 1ml/分钟, 45C, 214nm (0.5A), A = 0.1% TFA, B = 0.1% TFA/90% ACN, 梯度 = 经 10 分钟 10% B-80% B]。5 小时后将反应混合物装载到 2.2x25cm Kromasil C18 制备型反相柱上。在 Pharmacia FPLC 上实施乙腈梯度, 同时在 214nm 处监测 UV 波长, 收集馏分 5 分钟。A = 0.1% TFA, B = 0.1% TFA/50% 乙腈, 梯度 = 经 450 分钟 30% B-100% B。合并对应产物的馏分, 冷冻并冻干, 得到 25.9mg。

[0856] 在 HPLC 上分析该产物 [0.46x5cm Zorbax C8, 1ml/分钟, 45C, 214nm (0.5A), A = 0.1% TFA, B = 0.1% TFA/90% ACN, 梯度 = 经 10 分钟 10% B-80% B], 显示纯度大约 90%。MALDI (基质辅助激光解吸电离) 质谱分析显示 8700-9500 的广泛质量范围 (PEG 衍生物特有的)。这表明在起始胰高血糖素肽 (3429) 上加上了大约 5,000 原子质量单位 (a. m. u.) 的质量。

[0857] 实施例 6

[0858] 胰高血糖素 Cys<sup>21</sup>Mal-PEG-5K

[0859] 让 21.6mg 胰高血糖素 Cys<sup>21</sup>(1-29) 和 24mg mPEG-Mal-5000 (Nektar Therapeutics) 溶解于 3.5ml 磷酸盐缓冲的盐水 (PBS), 加入 0.5ml 0.01M 乙二胺四乙酸 (EDTA)。在室温下搅拌反应物。2 小时后, 再加入 12.7mg 的 mPEG-MAL-5000。8 小时后将反应混合物装载

到 2.2x25cm VydacC18 制备型反相柱上,在 Pharmacia FPLC 上以 4ml/分钟实施乙腈梯度,同时收集馏分 5 分钟。A = 0.1% TFA, B = 0.1% TFA/50% ACN, 梯度 = 经 450 分钟 20% B-80% B。

[0860] 合并对应于产物外观的馏分,冷冻并冻干,得到 34mg。通过分析型 HPLC 进行该产物的分析 [0.46x5cm Zorbax C8, 1ml/分钟, 45C, 214nm (0.5A), A = 0.1% TFA, B = 0.1% TFA/90% ACN, 梯度 = 经 10 分钟 10% B-80% B], 显示不同于起始胰高血糖素肽的均一产物。MALDI (基质辅助激光解吸电离) 质谱分析显示 8700-9500 的广泛质量范围 (PEG 类似物特有的)。这表明在起始胰高血糖素肽 (3470) 上加上了大约 5,000 原子质量单位的质量。

[0861] 实施例 7

[0862] 胰高血糖素 Cys<sup>24</sup>Mal-PEG-5K

[0863] 让 20.1mg 胰高血糖素 C<sup>24</sup>(1-29) 和 39.5mg mPEG-Mal-5000 (NektarTherapeutics) 搅拌溶解于 3.5ml PBS 中,加入 0.5ml 0.01M EDTA。在室温搅拌反应物 7 小时,然后再加 40mg 的 mPEG-Mal-5000。在大约 15 小时后,将反应混合物装载到 2.2x25cm Vydac C18 制备型反相柱上,用 Pharmacia FPLC 实施乙腈梯度。收集馏分 5 分钟,同时在波长 214nm 处监测 UV (2.0A)。A 缓冲液 = 0.1% TFA, B 缓冲液 = 0.1% TFA/50% ACN, 梯度 = 经 450 分钟 30% B-100% B。合并对应于产物的馏分,冷冻并冻干,得到 45.8mg。MALDI 质谱分析显示典型的最大为 9175.2 的 PEG 宽信号,其比胰高血糖素 C<sup>24</sup>(3457.8) 大约多 5,000 原子质量单位。

[0864] 实施例 8

[0865] 胰高血糖素 Cys<sup>24</sup>Mal-PEG-20K

[0866] 在室温下让 25.7mg 胰高血糖素 Cys<sup>24</sup>(1-29) 和 40.7mg mPEG-Mal-20K (Nektar Therapeutics) 搅拌溶解于 3.5ml PBS 中,加入 0.5ml 0.01M EDTA。6 小时后由 HPLC 测定的起始物质与产物的比率为大约 60 : 40。再加入 25.1mg 的 mPEG-Mal-20K, 让反应物再搅拌 16 小时。产物比率没有显著提高,因此将反应混合物装载到 2.2x25cm Kromasil C18 制备型反相柱上,并在 Pharmacia FPLC 上用经 450 分钟 30% B-100% B 的梯度进行纯化。A 缓冲液 = 0.1% TFA, B = 缓冲液 0.1% TFA/50% ACN, 流速 = 4ml/分钟, 收集 5 分钟馏分,同时在波长 214nm 处监测 UV (2.0A)。合并含同类产物的馏分,冷冻并冻干,得到 25.7mg。由分析型 HPLC 测得纯度为大约 90%。MALDI 质谱分析显示 23,000-27,000 的宽峰,这比起始胰高血糖素 C<sup>24</sup>(3457.8) 大约多 20,000 原子质量单位。

[0867] 实施例 9

[0868] 胰高血糖素 Cys<sup>29</sup>Mal-PEG-5K

[0869] 在室温下让 20.0mg 胰高血糖素 Cys<sup>29</sup>(1-29) 和 24.7mg mPEG-Mal-5000 (Nektar Therapeutics) 搅拌溶解于 3.5ml PBS 中,加入 0.5ml 0.01M EDTA。4 小时后再加 15.6mg 的 mPEG-Mal-5000 以驱使反应完成。8 小时后将反应混合物装载到 2.2x25cm Vydac C18 制备型反相柱上,在 Pharmacia FPLC 系统上实施乙腈梯度。收集馏分 5 分钟,同时在波长 214nm 处监测 UV。A = 0.1% TFA, B = 0.1% TFA/50% ACN。合并 75-97 的馏分,冷冻并冻干,得到 40.0mg 不同于在 HPLC 上回收的起始物质 (58-63 馏分) 的产物。由分析型 HPLC 分析该产物 [0.46x5cm Zorbax C8, 1ml/分钟, 45C, 214nm (0.5A), A = 0.1% TFA, B = 0.1%

TFA/90% ACN, 梯度 = 经 10 分钟 10% B-80% B], 显示纯度大于 95%。MALDI 质谱分析显示存在 8,000-10,000 (最大 9025.3) 的质量范围的 PEG 组分, 其大于起始胰高血糖素肽 (3484.8) 5,540 原子质量单位。

[0870] 实施例 10

[0871] 胰高血糖素 Cys<sup>24</sup>(2-丁内酯)

[0872] 向 24.7mg 胰高血糖素 Cys<sup>24</sup>(1-29) 中加入 4ml 0.05M 碳酸氢铵 /50% 乙腈和 5.5ul 的 2-溴-4-羟基丁酸-γ-内酯 (100ul 存在于 900ul 乙腈中) 溶液。在室温搅拌 3 小时后, 再向反应混合物中加入 105ul 内酯溶液, 再搅拌 15 小时。用 10% 乙酸水溶液将反应混合物稀释到 10ml, 装载到 2.2x25cm Kromasil C18 制备型反相柱上。在 Pharmacia FPLC 上实施乙腈梯度 (经 450 分钟 20% B-80% B), 同时收集馏分 5 分钟, 在 214nm 处监测 UV(2.0A)。流速 = 4ml/分钟, A = 0.1% TFA, B = 0.1% TFA/50% ACN。合并 74-77 馏分, 冷冻并冻干, 得到 7.5mg。HPLC 分析显示纯度为 95%, MALDI 质谱分析显示 3540.7 的质量, 即大于起始物质 84 的质量单位。该结果符合添加单一的丁内酯部分。

[0873] 实施例 11

[0874] 胰高血糖素 Cys<sup>24</sup>(S-羧甲基)

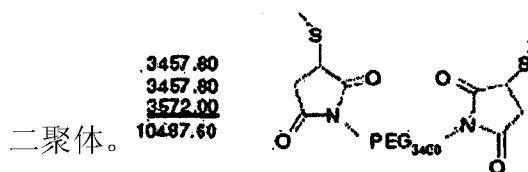
[0875] 将 18.1mg 胰高血糖素 Cys<sup>24</sup>(1-29) 溶解于 9.4ml 0.1M 磷酸钠缓冲液 (pH = 9.2) 中, 加入 0.6ml 溴乙酸溶液 (乙腈中 1.3mg/ml)。室温下搅拌反应物, 由分析型 HPLC 跟踪反应进程。1 小时后再加入 0.1ml 溴乙酸溶液。将反应物再搅拌 60 分钟, 然后用乙酸水溶液酸化, 装载到 2.2x25cm Kromasil C18 制备型反相柱上用于纯化。在 Pharmacia FPLC 上实施乙腈梯度 (流速 = 4ml/分钟), 同时收集 5 分钟馏分, 在 214nm 处监测 UV(2.0A)。A = 0.1% TFA, B = 0.1% TFA/50% ACN。合并馏分 26-29, 冷冻并冻干, 得到若干 mg 产物。分析型 HPLC 显示纯度为 90%, MALDI 质谱分析确认所期需产物的质量为 3515。

[0876] 实施例 12

[0877] 胰高血糖素 Cys<sup>24</sup>马来酰亚胺基、PEG-3.4K-二聚体

[0878] 让 16mg 胰高血糖素 Cys<sup>24</sup> 和 1.02mg 平均分子量 3400 的 Mal-PEG-Mal-3400 聚 (乙二醇)-双-马来酰亚胺 (Nektar Therapeutics) 溶解于 3.5 磷酸盐缓冲盐水和 0.5ml 0.01M EDTA 中, 室温下搅拌反应物。16 小时后, 再加入 16mg 的胰高血糖素 **Cys<sup>24</sup>, 继续搅拌。**  
胰高血糖素 Cys<sup>24</sup>(1-29)

大约 40 小时后, 将反应混合物装载到 Pharmacia PepRPC 16/10 柱上, 在 Pharmacia FPLC 上实施乙腈梯度, 同时收集馏分 2 分钟, 在 214nm 处监测 UV(2.0A)。流速 = 2ml/分钟, A = 0.1% TFA, B = 0.1% TFA/50% ACN。合并馏分 69-74, 冷冻并冻干, 得到 10.4mg。分析型 HPLC 显示纯度为 90%, MALDI 质谱分析显示 9500-11,000 范围内的组分, 这符合所期需的



[0879] 实施例 13

[0880] 合成胰高血糖素内酰胺

[0881] 将 285mg(0.2 毫摩尔) 甲氧基二苯甲胺树脂 (Midwest Biotech) 加入到 60mL 反应瓶中, 用 Boc DEPBT- 活化的单偶联让以下序列在改良的 Applied Biosystems 430A 肽合成仪上装配。

[0882] HSQGTFTSDYSKYLDERRAQDFVQWLMNT-NH<sub>2</sub> (12-16 内酰胺)

[0883] 使用以下侧链保护基: Arg(Tos)、Asp(OcHx)、Asn(Xan)、Glu(OFm)、His(BOM)、Lys(Fmoc)、Ser(Bzl)、Thr(Bzl)、Trp(CHO)、Tyr(Br-Z)。若由 16-20、20-24 或 24-28 构建内酰胺, 则 12 位用 Lys(C1-Z)。用 20% 哌啶 / 二甲基甲酰胺处理完成的肽基树脂 1 小时, 旋转以除去 Trp 的甲酰基基团以及 Lys12 和 Glu16 的 Fmoc 和 OFm 保护。在由阳性茚三酮检测确认除去后, 用二甲基甲酰胺接着用二氯甲烷然后再次用二甲基甲酰胺洗涤树脂。用二甲基甲酰胺和二异丙基乙基胺 (DIEA) 中的 520mg(1 毫摩尔) 六氟磷酸苯并三唑-1-基-氧基-三-吡咯烷酮子基-磷 (PyBOP) 处理树脂。反应进行 8-10 小时, 通过阴性茚三酮反应来确认环化。用二甲基甲酰胺接着用二氯甲烷洗涤树脂, 随后用三氟乙酸处理 10 分钟。通过阳性茚三酮反应确认除去 Boc 基团。用二甲基甲酰胺和二氯甲烷洗涤树脂, 干燥后转移到氢氟酸 (HF) 反应瓶中。加入 500L 对甲酚连同磁力搅拌棒。将反应瓶连接到 HF 仪器 (Peninsula Labs), 在干冰 / 甲醇浴中冷却, 抽空, 将大约 10mL 液态氢氟酸在反应瓶中浓缩。在冰浴中将反应物搅拌 1 小时, 随后真空除去 HF。让残留物悬浮在乙醚中; 过滤固体, 用醚洗涤, 用 150mL 20% 乙腈 / 1% 乙酸溶解肽。

[0884] 在以下条件下进行粗溶解肽的分析型 HPLC 分析 [4.6X30mmXterra C8, 1.50ml/分钟, 220nm, A 缓冲液 0.1% TFA/10% ACN, B 缓冲液 0.1% TFA/100% ACN, 梯度为经 15 分钟 5-95% B]。用水将提取物稀释 2 倍, 装载到 2.2X25cm Vydac C4 制备型反相柱上, 在 WatersHPLC 系统上用乙腈梯度洗脱 (A 缓冲液为 0.1% TFA/10% ACN, B 缓冲液为 0.1% TFA/10% CAN, 梯度为经 120 分钟 0-100% B, 流速为 15.00ml/分钟)。纯化肽的 HPLC 分析显示大于 95% 的纯度, 电子喷雾离子质谱分析确认 12-16 内酰胺的质量为 3506Da。类似地制备 16-20、20-24 和 24-28 内酰胺。

[0885] 实施例 14

[0886] 胰高血糖素溶解性测定

[0887] 在 0.01N HCl 中制备胰高血糖素 (或类似物) 的溶液 (1mg/ml 或 3mg/ml)。用 0.01N HCl 将 100ul 储液稀释到 1ml, 测定 UV 吸光度 (276nm)。用 200-250ul 0.1M Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (pH 9.2) 将剩余储液的 pH 调整到 pH7。让溶液在 4℃ 静置过夜, 然后离心。然后用 0.01N HCl 将 100ul 上清液稀释到 1ml, 测定 UV 吸收度 (一式两份)。

[0888] 为体积增大对初始吸光度读数作补偿, 用以下计算来确定溶解性百分比:

[0889]

$$\frac{\text{最终吸光度}}{\text{起始吸光度}} \times 100 = \text{溶解百分比}$$

[0890] 实施例 15

[0891] 胰高血糖素受体结合测定

[0892] 在竞争结合测定中用闪烁亲近测定技术测量肽对胰高血糖素受体的亲和力。在 96 孔白色 / 透明底的板 (Coming Inc., Acton, MA) 中让以下物质混合: 在闪烁亲近测定缓冲液 (0.05M Tris-HCl, pH 7.5, 0.15M NaCl, 0.1% w/v 牛血清白蛋白) 中进行 3- 倍系列稀释的肽、每孔 1-6 微克的 0.05nM (3-[<sup>125</sup>I]- 碘酪氨酸) Tyr10 胰高血糖素 (Amersham Biosciences, Piscataway, NJ)、从过表达人胰高血糖素受体的细胞制备的质膜片段和 1mg/ 孔聚乙烯亚胺 - 处理的麦芽凝集素 A 型闪烁亲近测定珠粒 (AmershamBiosciences, Piscataway, NJ)。在旋转振荡器上以 800rpm 振荡 5 分钟后, 让板在室温孵育 12 小时, 然后在 MicroB1450 液体闪烁计数器 (Perkin-Elmer, Wellesley, MA) 上读数。测量孔中比试验样品最高浓度大 4 倍的“冷”天然配体的非特异性结合 (NSB) 的放射性, 并检测无竞争物的孔中的总结合放射性。如下计算特异性结合的百分比: 特异性结合 % = ((结合 - NSB) / (总结合 - NSB)) X 100。用 Origin 软件 (OriginLab, Northampton, MA) 测定 IC<sub>50</sub> 值。

[0893] 实施例 16

[0894] 功能测定 -cAMP 合成

[0895] 在基于萤火虫荧光素酶报告测定中测量胰高血糖素类似物诱导 cAMP 的能力。在 96 孔聚 -D- 赖氨酸 - 包被的“Biocoat”板 (BD Biosciences, San Jose, CA) 中, 于 37°C、5% CO<sub>2</sub> 条件下, 通过在补充 0.25% 牛生长血清 (HyClone, Logan, UT) 的 DMEM (Invitrogen, Carlsbad, CA) 中培养 16 小时, 来对用受体 (胰高血糖素受体、GLP-1 受体或 GIP 受体) 和连接到 cAMP 响应元件的荧光素酶基因共转染的 HEK293 细胞实施血清剥夺, 然后用系列稀释的胰高血糖素、GLP-1、GIP 或新型胰高血糖素类似物孵育 5 小时。在结束孵育时, 每孔加入 100 微升 LucLite 发光底物试剂 (Perkin-Elmer, Wellesley, MA)。短时间振荡板, 黑暗中孵育 10 分钟, 在 MicroB-1450 液态闪烁计数器 (Perkin-Elmer, Wellesley, MA) 上测量光输出。用 Origin 软件 (OriginLab, Northampton, MA) 计算有效 50% 浓度。

[0896] 实施例 17

[0897] 胰高血糖素 Cys-马来酰亚胺基 PEG 类似物的稳定性测定

[0898] 将各种胰高血糖素类似物溶解于水或 PBS 中, 进行初始 HPLC 分析。调整 pH (4、5、6、7) 后, 让样品在 37°C 经特定时间孵育, 重新用 HPLC 分析以测定肽的完整性。测定特定感兴趣的肽的浓度, 计算相对于初始分析保留完整的百分比。

[0899] 实施例 18

[0900] 制备酰化和 / 或聚乙二醇化肽

[0901] 如下制备酰化和 / 或聚乙二醇化肽。用 CS Bio 4886 肽合成仪或 Applied Biosystems 430A 肽合成仪在固相载体树脂上合成肽。用 Schnolzer 等, Int. J. PEPTIDE Protein Res 40 : 180-193 (1992) 所述的原位中和化学。对于酰化的肽而言, 用 N $\epsilon$ -Fmoc 赖氨酸残基取代待酰化的靶标氨基酸残基 (例如 10 位)。用 20% 哌啶 / DMF 将完成的 N- 末端 BOC 保护的肽处理 30 分钟除去 Fmoc / 甲酰基基团。通过让 10 倍摩尔过量的 Fmoc- 保护的间隔物氨基酸 (过量 Fmoc-(N-BOC)- 色氨酸 -OH) 或酰基链 (过量 C17-COOH) 与 DMF/DIEA 中的 PyBOP 或 DEPBT 偶联试剂偶联, 可实现与游离  $\epsilon$ - 氨基 Lys 残基的偶联。随后除去间隔物氨基酸的 Fmoc 基团, 接着重复与酰基链的偶联。用 100% TFA 的最后处理导致除去任何侧链保护基团和 N- 末端 BOC 基团。用 5% DIEA/DMF 中和肽树脂, 干燥, 然后用 95 : 5 的 HF / 对甲酚在 0°C 经 1 小时使其从载体上裂解。在醚提取后, 用 5% HOAc 溶液使粗肽成

为溶剂化物。然后通过 ESI-MS 确证溶液样品含有符合分子量的肽。通过 RP-HPLC 用 10% CH<sub>3</sub>CN/0.1% TFA 到 100% CH<sub>3</sub>CN 中的 0.1% TFA 线性梯度纯化符合的肽。用 Vydac C18 22mmx250mm 蛋白质柱来纯化。通常用 20 : 80 比率的缓冲液完成酰化肽类似物的洗脱。将各部分合并在一起,在分析型 RP-HPLC 上检查其纯度。冻干纯馏分产生白色固态肽。

[0902] 若肽包含内酰胺桥和待酰化的靶标残基,则在将该氨基酸加到肽主链后进行上述酰化。

[0903] 对于肽的聚乙二醇化,在 7M 脲、50mM Tris-HCl 缓冲液中用将肽及 PEG 二者都溶解为澄清溶液所需的最小量溶剂(通常对于用 2-3mg 肽的反应小于 2mL),让等摩尔的肽与 40kDa 甲氧基聚(乙二醇)马来酰亚胺基-丙酰胺(Chirotech Technology Ltd.)反应。室温剧烈搅拌 4-6 小时,由分析型 RP-HPLC 分析反应物。聚乙二醇化产物表现得与原料明显不同,其保留时间缩短。在 Vydac C4 柱上用与初始肽纯化所用相似的条件进行纯化。通常在大约 50 : 50 缓冲液比率发生洗脱。收集并冻干纯聚乙二醇化肽馏分。

[0904] 如以上实施例 16 所述测定肽的生物学活性。酰化肽可表现出提高的针对 GLP-1 受体的效价。包含色氨酸间隔物可提供更好的针对胰高血糖素受体的效价。

[0905] 虽然酰化可让肽的半衰期延长数小时或更长,但以数十 kDa 重复的聚乙二醇化能延长更多。制备包含两种修饰类型的肽。预期这些肽表现出延长的循环半衰期以及对 DPP-IV 和其它蛋白酶的抗性。

[0906] 实施例 20

[0907] 在体内对增重、食欲和血糖水平的影响

[0908] 以下肽基本上如上所述合成。

[0909] (A) 聚乙二醇化胰高血糖素/GLP-1 共激动剂肽(嵌合体 2 AIB2 C2440K PEG,其为用 2 位 AIB、24 位 Cys 进一步修饰的嵌合体 2 肽(参见实施例 21),将 24 位 Cys 连接到 40K PEG 基团);

[0910] (B) 聚乙二醇化 GIP 拮抗剂(Pro3 C24 GIP NH<sub>2</sub>(1-42)40K PEG,其为用 3 位 Pro、24 位 Cys 修饰的 GIP 的 1-42 位氨基酸(天然 GIP 序列为 SEQ ID NO :4),将 24 位 Cys 连接到 40K PEG 基团,C-末端羧酸酯换成酰胺);

[0911] (C)GIP 激动剂(AIB2 C24 GIP(1-42)40K PEG,其为用 2 位 AIB、24 位 Cys 修饰的 GIP 的 1-42 位氨基酸(天然 GIP 序列为 SEQ ID NO :4),将 24 位 Cys 连接到 40K PEG 基团);和

[0912] 通过用各种肽或单独溶媒每周一次(70 或 210nmol/kg/周)皮下注射饮食诱导的肥胖(DIO)小鼠,来进行肽的体内试验。每组含初始平均体重各为 50g 的 8 只小鼠。定期测定体重、机体组成、摄食和血糖水平。

[0913] 如图 1-3 所示,与聚乙二醇化胰高血糖素/GLP-1 共激动剂比较,GIP 拮抗剂和 GIP 激动剂肽在降低小鼠体重、减少聚积性摄食和降低血糖水平方面都无效。

[0914] 实施例 21

[0915] 肽的 GIP、GLP-1 和胰高血糖素活性

[0916] 基本上如上所述合成 SEQ ID NO :5-94 的肽(每一种都包含取代 C-末端羧酸酯的酰胺),如实施例 16 在体外测定其针对 GIP 受体、GLP-1 受体和胰高血糖素受体的活性。每一种肽的 EC<sub>50</sub> 如表 1 所示。



[0917]

表 1

编号	SEQ ID NO:	胰高血糖素受体				GLP-1 受体				GIP 受体			
		EC <sub>50</sub> , nM	标准偏差	相对活性	EC <sub>50</sub> , nM	标准偏差	相对活性	EC <sub>50</sub> , nM	标准偏差	相对活性	EC <sub>50</sub> , nM	标准偏差	相对活性
mt-61	5	0.110	0.190	172.73%	0.180	0.040	22.22%	9.987	0.083	0.83%			
mt-62	6	0.450	0.190	42.22%	0.100	0.040	40.00%	5.183	0.083	1.60%			
mt-63	7	3.150	0.190	6.03%	0.310	0.040	12.90%	未检测					
mt-66	8	2.000	0.260	13.00%	0.130	0.050	38.46%	未检测					
mt-68	9	1.970	0.260	13.20%	0.820	0.050	6.10%	未检测					
mt-69	10	0.160	0.260	162.50%	0.410	0.050	12.20%	14.601	0.083	0.57%			
mt-84	11	0.450	0.060	13.33%	0.160	0.080	50.00%	未检测					
mt-85	12	4.560	0.060	1.32%	0.660	0.080	12.12%	未检测					
mt-92	13	不适用	0.430		0.110	0.060	54.55%	未检测					
mt-93	14	3.000	0.430	14.33%	0.040	0.060	150.00%	未检测					
mt-95	15	280.31	0.100	0.04%	48.920	0.040	0.08%	0.465	0.049	10.54%			
mt-96	16	61.70	0.180	0.29%	92.860	0.040	0.04%	0.058	0.049	84.48%			
mt-97	17	4.080	0.130	3.19%	2.360	0.030	1.27%	1.745	0.049	2.81%			
mt-98	18	957.07	0.100	0.01%	2.820	0.040	1.42%	0.196	0.049	25.00%			
mt-99	19	23313	0.180	0.00%	4548.9	0.070	0.00%	0.049	0.049	100.00%			
mt-100	20	1459	0.180	0.01%	552.43	0.060	0.01%	0.016	0.049	306.25%			
mt-101	21	未检测			未检测			71.312	0.042	0.06%			
mt-102	22	798.75	0.180	0.02%	98.38	0.060	0.06%	不适用	0.025				
mt-103		>4000			26.867			242					

[0918]

编号	SEQ ID NO:	胰高血糖素受体				GLP-1 受体				GIP 受体			
		EC <sub>50</sub> , nM	标准偏差	相对活性	EC <sub>50</sub> , nM	标准偏差	相对活性	EC <sub>50</sub> , nM	标准偏差	相对活性	EC <sub>50</sub> , nM	标准偏差	相对活性
mt-104	23	未检测									19.069	0.042	0.22%
mt-105	24	不适用	0.046								0.552	0.042	7.61%
mt-106	25	165	0.180	0.11%	264.4	0.060	0.02%	不适用			不适用	0.025	
mt-107	26	0.070	0.130	185.71%	24.770	0.040	0.16%	3.373			3.373	0.025	0.74%
mt-108	27	0.190	0.130	68.42%	0.320	0.040	12.50%	4.781			4.781	0.025	0.52%
mt-109	28	0.130	0.100	76.92%	3.860	0.030	0.78%	0.658			0.658	0.046	6.99%
mt-110	29	0.430	0.100	23.26%	2.020	0.030	1.49%	0.478			0.478	0.046	9.62%
mt-111	30	0.270	0.230	85.19%	0.660	0.070	10.61%	6.258			6.258	0.049	0.78%
mt-113	31	335.98	0.230	0.07%	172.66	0.070	0.04%	不适用			不适用	0.049	
mt-114	32	81.25	0.230	0.28%	143.65	0.070	0.05%	不适用			不适用	0.049	
mt-115	33	0.440	0.050	11.36%	0.150	0.030	20.00%	3.576			3.576	0.047	1.31%
mt-116	34	0.787	0.147	18.68%	3.798	0.041	1.07%	0.617			0.617	0.047	7.62%
mt-118	35	0.040	0.050	125.00%	1.280	0.030	2.34%	0.736			0.736	0.047	6.39%
mt-120	36	0.074	0.192	259.46%	0.399	0.054	13.45%	2.622			2.622	0.048	1.81%
mt-124	37	2.430	0.210	8.64%	0.040	0.040	100.00%	5.793			5.793	0.055	0.95%
mt-125	38	5.740	0.520	9.06%	1.260	0.040	3.17%	0.275			0.275	0.054	19.64%
mt-127	39	0.044	0.313	718.39%	0.055	0.048	87.75%	0.518			0.518	0.054	10.51%
mt-128	40	0.773	0.086	11.13%	0.120	0.040	33.33%	14.622			14.622	0.061	0.42%
mt-129	41	0.952	0.165	17.34%	4.073	0.046	1.12%	2.879			2.879	0.059	2.06%
mt-139	42	0.072	0.404	561.11%	0.142	0.059	41.46%	0.569			0.569	0.070	12.22%
mt-140	43	0.149	0.196	131.15%	0.068	0.034	49.56%	0.366			0.366	0.047	12.85%
mt-141	44	0.150	0.404	269.33%	0.160	0.059	36.78%	0.747			0.747	0.075	10.04%
mt-142	45	不适用	0.427		0.041	0.067	163.41%	0.132			0.132	0.048	36.36%

[0919]

编号	SEQ ID NO:	胰高血糖素受体				GLP-1 受体				GIP 受体			
		EC <sub>50</sub> , nM	标准偏差	相对活性	EC <sub>50</sub> , nM	标准偏差	相对活性	EC <sub>50</sub> , nM	标准偏差	相对活性	EC <sub>50</sub> , nM	标准偏差	相对活性
mt-143	46	0.086	0.427	496.51%	1.478	0.067	4.53%	2.635	0.048	1.82%			
mt-144	47	2.272	0.381	16.77%	0.036	0.051	141.67%	0.480	0.089	18.54%			
mt-145	48	0.204	0.096	47.06%	9.936	0.033	0.33%	1.086	0.052	4.79%			
mt-146	49	0.020	0.096	480.00%	13.093	0.033	0.25%	0.391	0.052	13.30%			
mt-147	50	0.116	0.105	90.52%	0.105	0.036	33.87%	0.144	0.062	43.06%			
mt-148	51	4.910	0.105	2.14%	0.098	0.036	36.22%	0.095	0.062	65.26%			
mt-149	52	16.315	0.105	0.64%	0.036	0.036	97.53%	0.068	0.062	91.18%			
mt-150	53	0.036	0.114	316.67%	3.474	0.038	1.09%	0.232	0.062	26.72%			
mt-151	54	0.378	0.114	30.16%	0.126	0.038	30.16%	0.852	0.062	7.28%			
mt-152	55	0.293	0.107	36.52%	0.016	0.027	168.75%	0.087	0.036	41.19%			
mt-154	56	1.325	0.098	7.40%	2.733	0.019	0.70%	5.530	0.059	1.07%			
mt-155	57	1.276	0.140	10.93%	0.025	0.025	98.99%	0.665	0.047	7.02%			
mt-156	58	2.965	0.181	6.10%	0.246	0.030	12.20%	0.919	0.041	4.41%			
mt-157	59	2.616	0.181	6.92%	0.081	0.030	37.04%	1.013	0.041	4.00%			
mt-158	60	1.047	0.156	14.90%	0.034	0.035	102.94%	0.174	0.031	17.82%			
mt-162	61	7.002	0.068	0.97%	0.011	0.012	109.09%	0.136	0.035	25.74%			
mt-163	62	0.027	0.068	251.85%	0.040	0.012	30.00%	0.740	0.035	4.73%			
mt-164	63	0.151	0.166	109.93%	0.046	0.026	56.52%	0.164	0.027	16.46%			
mt-165	64	0.489	0.092	18.81%	0.023	0.034	147.83%	0.074	0.020	27.03%			
mt-166	65	0.875	0.086	9.83%	0.134	0.036	26.87%	0.320	0.019	5.94%			
mt-167	66	0.362	0.125	34.53%	0.315	0.025	7.94%	0.399	0.020	5.01%			
mt-168	67	2.607	0.125	4.79%	1.724	0.025	1.45%	6.240	0.020	0.32%			
mt-169	68	0.199	0.102	51.26%	0.057	0.031	54.39%	0.142	0.021	14.79%			

[0920]

编号	SEQ ID NO:	胰高血糖素受体				GLP-1 受体				GIP 受体			
		EC <sub>50</sub> , nM	标准偏差	相对活性	EC <sub>50</sub> , nM	标准偏差	相对活性	EC <sub>50</sub> , nM	标准偏差	相对活性	EC <sub>50</sub> , nM	标准偏差	相对活性
mt-170	69	3.447	0.041	1.19%	0.202	0.030	14.60%	1.285	0.019	1.44%			
mt-172	70	9.162	0.041	0.45%	0.859	0.030	3.43%	7.542	0.019	0.25%			
mt-174	71	57.546	0.037	0.06%	0.017	0.020	117.65%	0.023	0.022	95.65%			
mt-175	72	2.418	0.036	1.49%	0.220	0.013	5.91%	1.930	0.018	0.93%			
mt-176	73	0.141	0.037	26.24%	8.693	0.020	0.23%	0.055	0.022	40.00%			
mt-177	74	0.095	0.037	38.95%	21.050	0.022	0.10%	0.114	0.022	19.30%			
mt-178	75	8.251	0.035	0.42%	0.171	0.014	8.19%	0.448	0.021	4.69%			
mt-179	76	1.269	0.037	2.92%	0.260	0.020	7.50%	0.473	0.018	3.74%			
mt-182	77	0.212	0.037	17.45%	10.008	0.017	0.17%	0.080	0.018	22.13%			
mt-186	78	1.576	0.035	2.22%	0.500	0.014	2.80%	15.209	0.021	0.14%			
mt-191	79	1.460	0.063	4.32%	0.011	0.023	209.09%	0.189	0.032	16.93%			
mt-192	80	不适用	0.079		47.022	0.026	0.06%	不适用	0.023				
mt-194	81	不适用	0.079		4.157	0.026	0.63%	不适用	0.023				
mt-197	82	47.664	0.063	0.13%	35.297	0.023	0.07%	不适用	0.032				
mt-198	83	11.890	0.063	0.53%	13.219	0.023	0.17%	148.63	0.032	0.02%			
mt-199	84	0.214	0.067	31.31%	2.796	0.029	1.04%	0.526	0.029	5.51%			
mt-200	85	0.560	0.067	11.96%	0.021	0.029	138.10%	0.631	0.029	4.60%			
mt-201	86	26.680	0.063	0.24%	0.012	0.023	191.67%	0.072	0.032	44.44%			
mt-202	87	2.360	0.067	2.84%	15.725	0.029	0.18%	2.198	0.029	1.32%			
mt-203	88	4.840	0.067	1.38%	0.14	0.029	20.71%	12.175	0.029	0.24%			
mt-204	89	108.089	0.067	0.06%	0.018	0.029	161.11%	0.147	0.029	19.73%			
mt-205	90	671.760	0.067	0.01%	0.204	0.029	14.22%	1.662	0.029	1.74%			
mt-206	91	331.314	0.042	0.01%	0.095	0.031	32.63%	0.115	0.015	13.04%			

[0921]

编号	SEQ ID NO:	胰高血糖素受体				GLP-1 受体				GIP 受体			
		EC <sub>50</sub> , nM	标准偏差	相对活性	EC <sub>50</sub> , nM	标准偏差	相对活性	EC <sub>50</sub> , nM	标准偏差	相对活性	EC <sub>50</sub> , nM	标准偏差	相对活性
mt-207	92	3204	0.042	1.31%	0.073	0.031	42.47%	0.622	0.015	2.41%			
mt-208	93	447.792	0.042	0.01%	0.262	0.031	11.83%	0.313	0.015	4.79%			
mt-209	94	4.656	0.042	0.90%	2.339	0.031	1.33%	1.053	0.015	1.42%			

相对活性是相对于所指明的受体的天然激素的活性

[0922] 基于这些数据,确定肽 mt-140、mt-147、mt-151、mt-152、mt-158、mt-164、mt-165、mt-166、mt-169、mt-170、mt-172、mt-175 和 mt-179 为例示性的 GLP-1/GIP/ 胰高血糖素三激动剂肽,而肽 mt-148、mt-149、mt-162、mt-174、mt-178、mt-201 和 mt-204 为例示性的

GLP-1/GIP 共激动剂肽,肽 mt-116、mt-176、mt-177 和 mt-182 为例示性的 GIP/ 胰高血糖素共激动剂肽。

#### [0923] 实施例 22

[0924] 体内检测了实施例 21 的 GLP-1/GIP/ 胰高血糖素三激动剂肽 (mt-170)、GLP-1/GIP 共激动剂肽 (mt-178) 和两种 GIP/ 胰高血糖素共激动剂肽 (mt-182 和 mt-179), 其通过用上述这些肽、胰高血糖素 /GLP-1 共激动剂肽 (嵌合体 2AIB2 (包含以下修饰的天然胰高血糖素氨基酸序列 (SEQ ID NO :1) :17 位 Gln、18 位 Ala、20 位 Lys、21 位 Glu、23 位 Ile 和 24 位 Ala 及 C- 末端酰胺 (“嵌合体 2”), 且在 2 位有另外的 AIB 修饰); 或嵌合体 2AIB2 内酰胺 (与嵌合体 2AIB2 一样有 16 位 Glu 和 20 位 Lys 的进一步修饰, 其中内酰胺将 Glu16 和 Lys20 的侧链桥联在一起) 或单独溶媒, 每周一次 (70 或 210nmol/kg/ 周) 皮下注射饮食诱导的肥胖 (DIO) 小鼠来进行。每组含初始平均体重各为 50g 的 8 只小鼠。定期测定体重。

[0925] 如图 4 所示, 三激动剂和 GLP-1/GIP 共激动剂比嵌合体 2AIB2 对小鼠体重减轻的作用稍有效, 但不如嵌合体 2AIB2 内酰胺有效, 嵌合体 2AIB2 内酰胺显示出最强的降低体重的能力。与此相反, 两种 GIP/ 胰高血糖素共激动剂 (尤其是 mt-182) 在减轻体重方面作用都较小。

#### [0926] 实施例 23

[0927] 体内检测了 GLP-1/GIP/ 胰高血糖素三激动剂肽 (mt-170) 和 GLP-1/GIP 共激动剂肽 (mt-178), 其通过用上述这些肽、GLP 激动剂 (包含具 16 位 Glu 的 SEQ ID NO :3) 或单独溶媒, 每周一次 (10nmol/kg/ 周进行 4 周或 35nmol/kg/ 周进行 2 周) 皮下注射饮食诱导的肥胖 (DIO) 小鼠来进行。每组含初始平均体重各为 49g 的 8 只小鼠。定期测定体重和血糖水平。如图 5 和 6 所示, GLP-1/GIP 共激动剂和三激动剂二者都比 GLP-1 激动剂更有效降低体重并降低血糖水平。

#### [0928] 实施例 24

[0929] 通过用 AIB 在 16 位代替 mt-165 (SEQ ID NO :64) 和 mt-170 (SEQ ID NO :69) 的内酰胺, 研究了用  $\alpha$ ,  $\alpha$ -二取代氨基酸代替内酰胺对基于胰高血糖素的类似物的  $\alpha$  螺旋的稳定作用。将包含在 16 位用 AIB 代替内酰胺的 mt-165 序列的肽命名为 “mt-241”, 其具有 SEQ ID NO :167 的氨基酸序列, 而将包含在 16 位用 AIB 代替内酰胺的 mt-170 序列的肽命名为 “mt-248”, 其具有 SEQ ID NO :173 的氨基酸序列。

[0930] 基本上如上所述还制备缺乏内酰胺桥并包含 16 和 / 或 20 位 AIB 的其它线性肽。将这些肽命名为 “mt-242”、“mt-249”、“mt-250”、“mt-251”、“mt-252”、“mt-255”、“mt-258” 和 “mt-259”, 它们分别具有 SEQ ID NO :168、174-176、107、108、177 和 258 的氨基酸序列。基本上如实施例 16 所述检测这些肽中每一种针对胰高血糖素受体、GLP-1 受体和 GIP 受体的体外生物学活性。结果示于表 2 中。

#### [0931]

表 2

编号	SEQ ID NO:	胰高血糖素受体			GLP-1 受体			GIP 受体		
		EC <sub>50</sub> , nM	标准偏差	相对活性	EC <sub>50</sub> , nM	标准偏差	相对活性	EC <sub>50</sub> , nM	标准偏差	相对活性
mt-241	167	2.844	0.106	3.73%	0.023	0.030	130.43%	0.252	0.011	4.37%
mt-242	168	1.106	0.106	9.58%	0.102	0.030	29.41%	0.078	0.011	14.10%
mt-248	173	16.712	0.061	0.37%	0.103	0.010	9.71%	3.233	0.017	0.53%
mt-249	174	10.336	0.061	0.59%	0.391	0.010	2.56%	2.710	0.017	0.63%
mt-250	175	0.667	0.042	6.30%	0.033	0.021	63.64%	0.062	0.019	30.65%
mt-251	176	2.758	0.042	1.52%	0.015	0.021	140.00%	0.033	0.019	57.58%
mt-252	107	0.319	0.042	13.17%	0.018	0.021	116.67%	0.013	0.019	146.15%
mt-255	108	5.463	0.134	2.45%	0.018	0.021	116.67%	0.013	0.019	146.15%
mt-258	177	0.4873	0.0686	14.08%	0.0202	0.0119	58.91%	0.0570	0.0096	16.84%
mt-259	178	0.2967	0.0686	23.12%	0.0189	0.0119	62.96%	0.0799	0.0096	12.02%

[0932] 如表 2 中的结果所显示, 不含内酰胺的线性肽提供针对 GIP 受体以及胰高血糖素受体和 / 或 GLP-1 受体的活性。更确切地说, mt-242、mt-248、mt-249、mt-250、mt-252、

mt-255、mt-258 和 mt-259 表现出胰高血糖素 /GLP-1/GIP 三激动剂的活性,而 mt-251 表现出 GLP-1/GIP 共激动剂的活性。具有 16 位 Lys 和 20 位 AIB 的肽 mt-252 表现出针对胰高血糖素受体和 GLP-1 受体的效价,并表现出提高的针对 GIP 受体的活性。实施例 25

[0933] 基本上如上所述制备缺乏内酰胺环并包含 16 位 Lys 或相似残基及 20 位 AIB 的线性肽。所述肽具有 SEQ ID NO :99-141、144-164 和 166 的氨基酸序列。基本上如实施例 16 所述在体外检测所述肽针对胰高血糖素受体、GLP-1 和 GIP 受体的生物学活性。结果示于表 3 中。

[0934]



表 3

编号	SEQ ID NO:	胰高血糖素受体				GLP-1 受体				GIP 受体		
		EC <sub>50</sub> , nM	标准偏差	相对活性	EC <sub>50</sub> , nM	标准偏差	相对活性	EC <sub>50</sub> , nM	标准偏差	相对活性		
mt-252	107	0.319	0.042	13.17%	0.018	0.021	116.67%	0.013	0.019	146.15%		
mt-255	108	5.463	0.134	2.45%	0.211	0.041	19.43%	0.115	0.018	15.65%		
mt-256	109	58.947	0.0686	0.12%	0.0124	0.0119	95.97%	0.0034	0.0096	282.35%		
mt-257	110	0.2109	0.0686	32.53%	0.0303	0.0119	39.27%	0.0232	0.0096	41.38%		
mt-260	104	0.3207	0.0213	6.64%	0.0068	0.0175	257.35%	0.0018	0.0105	583.33%		
mt-261	105	0.1585	0.0213	13.44%	0.0047	0.0175	372.34%	0.0015	0.0105	700.00%		
mt-262	106	0.1343	0.0213	15.86%	0.0044	0.0175	397.73%	0.0027	0.0105	388.89%		
mt-263	111	3.1801	0.0213	0.67%	0.0147	0.0175	119.05%	0.0031	0.0105	338.71%		
mt-264	112	不适用			不适用			不适用				
mt-265	113	6.4308	0.0436	0.68%	0.9929	0.0176	1.77%	0.0624	0.0085	13.62%		
mt-266	114	18.645	0.0436	0.23%	1.5334	0.0176	1.15%	0.1639	0.0085	5.19%		
mt-267	115	62.010	0.0436	0.07%	2.0936	0.0176	0.84%	1.3122	0.0085	0.65%		
mt-268	116	6.5002	0.0436	0.67%	0.0155	0.0176	113.55%	0.0047	0.0085	180.85%		
mt-269	117	183.4936	0.1964	0.11%	0.0136	0.0197	144.85%	0.0057	0.0080	140.35%		
mt-270	118	305.77	0.1964	0.06%	0.0093	0.0197	211.83%	0.0049	0.0080	163.27%		
mt-271	119	112.980	0.1964	0.17%	0.0106	0.0197	185.85%	0.0056	0.0080	142.86%		
mt-272	120	1060.8	0.1964	0.02%	1.2293	0.0197	1.60%	0.0241	0.0080	33.20%		

[0935]

编号	SEQ ID NO:	胰高血糖素受体			GLP-1 受体			GIP 受体		
		EC <sub>50</sub> , nM	标准偏差	相对活性	EC <sub>50</sub> , nM	标准偏差	相对活性	EC <sub>50</sub> , nM	标准偏差	相对活性
mt-274	99	69.087	0.0417	0.06%	0.0916	0.0071	7.75%	0.0350	0.0139	39.71%
mt-275	121	0.0671	0.0417	62.15%	0.0068	0.0071	104.41%	0.0124	0.0139	112.10%
mt-276	122	0.0537	0.0417	77.65%	0.0066	0.0071	107.58%	0.0080	0.0139	173.75%
mt-277	123	0.0215	0.0506	235.35%	0.0086	0.0193	224.42%	0.0052	0.0237	455.77%
mt-278	124	0.0086	0.0506	588.37%	0.0042	0.0193	459.52%	0.0028	0.0237	846.43%
mt-279	125	0.0069	0.0506	733.33%	0.0046	0.0193	419.57%	0.0045	0.0237	526.67%
mt-280	126	0.0677	0.0506	74.74%	0.0126	0.0193	153.17%	0.0149	0.0237	159.06%
mt-281	127	0.2816	0.0469	16.65%	0.2165	0.0111	5.13%	0.39996	0.0267	6.68%
mt-282	128	2.4367	0.0287	1.18%	0.0134	0.0059	44.03%	0.0133	0.0102	76.69%
mt-283	129	7.9431	0.0287	0.36%	0.0158	0.0059	37.34%	0.0122	0.0102	83.61%
mt-284	130	4.1686	0.0287	0.69%	0.0155	0.0059	38.06%	0.0186	0.0102	54.84%
mt-285	131	12.622	0.0287	0.23%	0.7844	0.0059	0.75%	0.0280	0.0102	36.43%
mt-286	132	0.0612	0.0519	84.80%	0.0225	0.0117	52.00%	0.0159	0.0109	68.55%
mt-287	133	0.0187	0.0519	277.54%	0.0124	0.0117	94.35%	0.0093	0.0109	117.20%
mt-288	134	0.0207	0.0519	250.72%	0.0138	0.0117	84.78%	0.0137	0.0109	79.56%
mt-289	135	0.0766	0.0519	67.75%	0.0144	0.0117	81.25%	0.0234	0.0109	46.58%
mt-290	136	0.0530	0.0603	113.77%	0.0117	0.0183	156.41%	0.0329	0.0078	23.71%
mt-291	137	0.0159	0.0603	379.25%	0.0057	0.0183	321.05%	0.0086	0.0078	90.70%
mt-292	138	0.0133	0.0603	453.38%	0.0044	0.0183	415.91%	0.0082	0.0078	95.12%
mt-293	139	1.6442	0.0603	3.67%	0.2223	0.0183	8.23%	0.1638	0.0078	4.76%

[0936]

编号	SEQ ID NO:	胰高血糖素受体				GLP-1 受体				GIP 受体			
		EC <sub>50</sub> , nM	标准偏差	相对活性	标准偏差	EC <sub>50</sub> , nM	标准偏差	相对活性	标准偏差	EC <sub>50</sub> , nM	标准偏差	相对活性	标准偏差
mt-295	140	87.2847	0.0235	0.03%	0.0235	0.1143	0.0077	6.74%	0.0077	0.0577	0.0110	19.06%	0.0110
mt-296	141	0.4214	0.0478	11.34%	0.0478	0.0124	0.0162	130.65%	0.0162	0.0077	0.0163	211.69%	0.0163
mt-297	142	0.0132	0.0478	362.12%	0.0478	0.0129	0.0162	125.58%	0.0162	0.0168	0.0163	97.02%	0.0163
mt-298	101	1.7571	0.0638	3.63%	0.0638	0.0087	0.0157	180.46%	0.0157	0.0051	0.0206	403.92%	0.0206
mt-299	143	0.0260	0.0638	245.38%	0.0638	0.0087	0.0157	180.46%	0.0157	0.0439	0.0206	46.92%	0.0206
mt-306	144	1.4950	0.0478	3.20%	0.0478	0.0201	0.0162	80.60%	0.0162	0.0064	0.0163	254.69%	0.0163
mt-307	145	0.2878	0.0478	16.61%	0.0478	0.0143	0.0162	113.29%	0.0162	0.0127	0.0163	128.35%	0.0163
mt-308	146	12.1920	0.0478	0.39%	0.0478	0.0237	0.0162	68.35%	0.0162	0.0057	0.0163	285.96%	0.0163
mt-309	102	3.6109	0.0638	1.77%	0.0638	0.0104	0.0157	150.96%	0.0157	0.0091	0.0206	226.37%	0.0206
mt-310	103	0.7747	0.0638	8.24%	0.0638	0.0062	0.0157	253.23%	0.0157	0.0075	0.0206	274.67%	0.0206
mt-311	100	197.2482	0.0638	0.03%	0.0638	0.2174	0.0157	7.22%	0.0157	0.0545	0.0206	37.80%	0.0206
mt-323	148	0.2169	0.0846	39.00%	0.0846	0.0571	0.0203	35.55%	0.0203	0.0084	0.0103	122.62%	0.0103
mt-324	149	1.2332	0.0791	6.41%	0.0791	0.2303	0.0223	9.68%	0.0223	0.0387	0.0117	30.23%	0.0117
mt-325	150	0.0915	0.0791	86.45%	0.0791	2.6828	0.0223	0.83%	0.0223	0.0105	0.0117	111.43%	0.0117
mt-331	153	408.0393	0.0846	0.02%	0.0846	0.4484	0.0203	4.53%	0.0203	0.0968	0.0103	10.64%	0.0103
mt-333	154	0.6905	0.0193	2.80%	0.0193	0.0028	0.0024	85.71%	0.0024	0.0034	0.0077	226.47%	0.0077
mt-334	155	7.0725	0.0193	0.27%	0.0193	0.0034	0.0024	70.59%	0.0024	0.0041	0.0077	187.80%	0.0077
mt-335	156	1.5956	0.0193	1.21%	0.0193	0.0018	0.0024	133.33%	0.0024	0.0047	0.0077	163.83%	0.0077
mt-336	157	1561.65	0.0193	0.00%	0.0193	0.0334	0.0024	7.19%	0.0024	0.0395	0.0077	19.49%	0.0077
mt-337	158	106.3826	0.0248	0.02%	0.0248	0.0082	0.0061	74.39%	0.0061	0.0080	0.0092	115.00%	0.0092

[0937]

编号	SEQ ID NO:	胰高血糖素受体			GLP-1 受体			GIP 受体		
		EC <sub>50</sub> , nM	标准偏差	相对活性	EC <sub>50</sub> , nM	标准偏差	相对活性	EC <sub>50</sub> , nM	标准偏差	相对活性
mt-338	159	295.3407	0.0248	0.01%	0.2256	0.0061	2.70%	0.0234	0.0092	39.32%
mt-339	160	8.7218	0.0248	0.28%	0.0092	0.0061	66.30%	0.0040	0.0092	230.00%
mt-340	161	10.4694	0.0248	0.24%	0.0061	0.0061	100.00%	0.0028	0.0092	328.57%
mt-341	162	499.2008	0.0276	0.01%	0.0636	0.0093	14.62%	0.0566	0.0155	27.39%
mt-343	163	41.0674	0.0276	0.07%	0.0224	0.0093	41.52%	0.0243	0.0155	63.79%
mt-344	164	159.2771	0.0276	0.02%	0.0890	0.0093	10.45%	0.0319	0.0155	48.59%
mt-345	165	0.0183	0.0353	192.90%	0.0036	0.0055	152.78%	0.0541	0.0027	4.99%
mt-353	166	12.5069	0.0210	0.17%	0.0049	0.0063	128.57%	0.0035	0.0036	102.86%

[0938] 如表 3 所示,所述线性肽对 GIP 受体有活性,且在很多情况下,所述肽还对胰高血糖素受体和 / 或 GLP-1 受体有活性。更具体地, mt-252、mt-255、mt-257、mt-260、mt-261、

mt-262、mt-265、mt-266、mt-267、mt-275、mt-276、mt-277、mt-278、mt-279、mt-280、mt-286、mt-287、mt-288、mt-289、mt-290、mt-291、mt-292、mt-293、mt-295、mt-296、mt-297、mt-299、mt-306、mt-307、mt-310、mt-323、mt-324 和 mt-345 全部表现出针对 GIP 受体、GLP-1 受体和胰高血糖素受体的活性,而表 3 中的其它肽表现出针对 GIP 受体和 GLP-1 受体的活性(仅对 GIP 受体表现出活性的 mt-285 及对胰高血糖素受体和 GIP 受体表现出活性但对 GLP-1 受体无活性的 mt-325 除外)。

[0939] 当将包含 C-末端突出端的 mt-252 的数据与肽中不包含 C-末端突出端的 mt-257、mt-258 和 mt-259 的数据进行比较时,显然 C-末端突出端提高了针对所有胰高血糖素受体、GLP-1 受体和 GIP 受体的活性。

[0940] 当将包含 16 位 Lys 的 mt-252 的数据与肽中分别包含 16 位 Orn 残基和 16 位 Dab 残基的 mt-275 和 mt-276 的数据进行比较时,显然 Lys 可被与 Lys 类似的残基取代。

[0941] 进一步地,当将包含 3 位 Gln 的 mt-252 的数据与肽中包含 3 位 Glu 的 mt-256 和 mt-274 的数据进行比较时,显然用 Glu 残基取代 3 位 Gln 获得对 GLP-1 受体和 GIP 受体优于胰高血糖素受体的选择性。

[0942] 从 mt-260 到 mt-263 及 mt-265 到 mt-272 的数据明显看出用 C14、C16 和 C18 脂肪酸酰化的效果。从这些数据来看,显然用 C16 和 C18 脂肪酸酰化提供提高的针对 GLP-1 受体和 GIP 受体的活性。这些肽的酰化甚至使得即使是在该肽包含 Gln3Glu 取代时也提高针对胰高血糖素受体的活性。从三激动剂 mt-277 到 mt-280 的数据也可看到提高的针对胰高血糖素受体的活性。

[0943] 实施例 26

[0944] 在 D10 小鼠中测定了聚乙二醇化的环形含内酰胺的肽 mt-178(SEQ ID NO:75) 和聚乙二醇化的线性缺乏内酰胺的肽 mt-274(SEQ ID NO:99) 的体内活性,并将其与具有 SEQ ID NO:179 的基于 GLP-1 结构的纯 GLP-1 激动剂对照的体内活性进行比较。在第 0 天以 1、3 或 10nmol/kg/周将肽或溶媒对照腹腔内注射给小鼠。

[0945] 通过在使用所述肽之一或溶媒对照注射后 1 小时,给小鼠腹腔内注射 25% (w/v) 葡萄糖盐水溶液,来对小鼠进行 1 小时葡萄糖耐受测定 (GTT)。以 1.5g/kg 小鼠体重的剂量给予小鼠葡萄糖盐水溶液。在以下时间点测量血糖水平:注射肽或溶媒对照时 (-60 分钟)、注射葡萄糖盐水溶液时 (0 分钟) 或在使用葡萄糖盐水溶液注射后 15、30、60 或 120 分钟。1 小时 GTT 结果示于图 7 中。

[0946] 以与 1 小时 GTT 相同的方式也对小鼠进行 24 小时 GTT,不同之处是给予小鼠葡萄糖盐水溶液是在用肽或溶媒对照注射后 24 小时之时。24 小时的 GTT 结果示于图 8 中。

[0947] 在用肽或溶媒对照注射后 0 天和 7 天测量每只小鼠的总血糖水平,将其示于图 9 中。

[0948] 另外,在用肽或溶媒对照注射后 0、1、3、5 和 7 天测量每只小鼠的体重,将小鼠体重变化%示于图 10 中。

[0949] 如图 10 所示,用 mt-178 和 mt-274 以 3 或 10nmol/kg/周剂量注射的小鼠,与用 GLP-1 激动剂对照肽 (以 10nmol/kg/周的剂量) 注射的小鼠减重程度一样或减重程度更大。

[0950] 如图 7 和 8 所示,用 mt-178、mt-274 或 GLP-1 激动剂对照注射的小鼠与用溶媒对照注射的小鼠比较,表现出降低的血糖水平。mt-178 和 mt-274 的效价似乎大于 GLP-1 激动

剂对照肽的效价,因为 mt-178 和 mt-274 以 3nmol/kg/ 周剂量达到 GLP-1 激动剂对照肽以 10nmol/kg/ 周剂量的同样的效果。mt-274 似乎具有最高的效价,因为该肽以 1nmol/kg/ 周剂量达到与 GLP-1 激动剂对照肽以 10nmol/kg/ 周剂量相似的结果。

#### [0951] 实施例 27

[0952] 再次在小鼠中检测与实施例 26 所述相同的肽,不同的是将较高剂量(10 或 35nmol/kg/ 周)的肽皮下注射给小鼠。亦以这些剂量检测两个另外的肽:一个肽具有与 mt-178 相同的结构,但包含经由亲核取代形成的更稳定的硫醚连接(-SCH<sub>2</sub>CO-) 连接到 40 位 Cys 的 PEG 基团,所述更稳定的硫醚连接是相对于在 mt-178 中存在的通过马来酰亚胺 PEG 经由 Michael 加成形成的传统的硫醚连接而言;而第二个肽具有与 mt-274 相同的结构,但包含经由亲核取代形成的硫醚连接(-SCH<sub>2</sub>CO-) 连接到 40 位 Cys 的 PEG 基团。本文分别称这些肽为 mt-178(TE) 和 mt-274(TE)。

[0953] 在用肽或溶媒对照注射后 0 及 7 天测量小鼠,总血糖水平,其示于图 11 中。在用肽或溶媒对照注射后 7 天测量小鼠血糖的总变化,其示于图 12 中。

[0954] 在用肽或溶媒对照注射后 0、1、3、5、7 和 10 天测量每只小鼠的体重。作为时间函数的小鼠体重变化%示于图 13 中,同时在使用肽或溶媒对照注射后 7 天测量的小鼠体重的总变化示于图 14 中。

[0955] 如图 12 所示,与用溶媒对照注射的小鼠比较,用任何所测肽注射的所有小鼠的血糖总变化降低。在用 35nmol/kg/ 周的 mt-274 或 mt-178(TE) 注射的小鼠中观察到血糖最巨大的变化。

[0956] 如图 14 所示,与用溶媒对照注射的小鼠比较,用任何所测肽注射的所有小鼠的体重总变化降低。与血糖总变化一样,在用 35nmol/kg/ 周的 mt-274 或 mt-178(TE) 注射的小鼠中观察到体重最巨大的变化。

#### [0957] 实施例 28

[0958] 将实施例 26 所述的肽的体内活性与线性 mt-274 肽的酰化形式的体内活性进行比较。更具体地,制备并检测了 mt-274 的三种酰化形式,其中 C- 末端氨基酸(Lys 残基)与 C16 脂肪酰基、C14 脂肪酰基或 C18 脂肪酰基共价连接。本文分别将这些肽称为 mt-298、mt-309 和 mt-310。与母体肽 mt-274 一样,酰化肽亦包含 40kDa 的 PEG 基团。然而,酰化肽的 PEG 基团与肽的 24 位 Cys 残基侧链共价连接。本文提供酰化肽 mt-298、mt-309 和 mt-310 的氨基酸序列分别为 SEQ ID NO :101-103。

[0959] 制备并检测非酰化形式的 mt-298、mt-209 和 mt-310(下文称为 mt-311)。肽 mt-311 不同于 mt-274,mt-311 通过 24 位 Cys 残基侧链(与在 mt-274 中存在的 C- 末端 Cys 残基形成对比)与 PEG 基团共价连接,mt-311 的 C- 末端残基是 Lys 残基,而不像 mt-274 中存在的一样为 Cys 残基。

[0960] 在第 0 天以 10nmol/kg 将肽或溶媒对照皮下注射 DIO 小鼠 1 周。

[0961] 在用肽或溶媒对照注射后 0 及 7 天测量小鼠血糖水平,并示于图 15 中。在用肽或溶媒对照注射后 0、1、3、5 和 7 天测量每只小鼠的体重。作为时间的函数的小鼠体重变化%示于图 16 中,而在用肽或溶媒对照注射后 7 天测量的小鼠体重的总变化示于图 17 中。

[0962] 如图 17 所示,与用溶媒对照注射的小鼠比较,用任何所述肽注射的小鼠表现出体重降低。用聚乙二醇化环化的含内酰胺肽(mt-178) 注射的小鼠证明在注射后 7 天显示最

大的体重损失。

[0963] 如图 15 所示,用 mt-178、mt-274、mt-311 或其 C14 或 C16 酰化的形式注射的小鼠的血糖水平降低。用 C18 脂肪酰基酰化似乎不引起血糖水平降低,这提示酰基大小可能对肽的降低葡萄糖的作用是重要的。

[0964] 实施例 29

[0965] 基本上如上所述制备酰化但未聚乙二醇化的缺乏内酰胺的基于胰高血糖素的线性肽。具体而言,制备了包含 C-末端氨基酸上的 C14 脂肪酰基的 mt-260 (SEQ ID NO :104)、包含 C-末端氨基酸上的 C16 脂肪酰基的 mt-261 (SEQ ID NO :105) 和包含 C-末端氨基酸上的 C18 脂肪酰基的 mt-262 (SEQ ID NO :106)。这些肽每一种的结构都与 mt-298、mt-309 和 mt-310 的结构相似,但不同的是 mt-260、mt-261 和 mt-262 包含代替 24 位聚乙二醇化的 Cys 残基的 Asn 残基。

[0966] 以 25 或 125nmol/kg 的剂量给小鼠每日一次注射 7 天 mt-260、mt-261 或 mt-262 肽、对照肽 (利拉鲁肽,一种酰化的 GLP-1 类似物) 或溶媒对照。

[0967] 在用肽或溶媒对照注射后 0 和 7 天测量小鼠的血糖水平,并示于图 18 中。在用肽或溶媒对照注射后 0、1、3、5 和 7 天测量每只小鼠的体重。作为时间函数的小鼠体重变化% 示于图 19 中,而在用肽或溶媒对照注射后 7 天测量的小鼠体重的总变化示于图 20 中。

[0968] 如图 18 所示,酰化的未聚乙二醇化的线性肽 (mt-260、mt-261 和 mt-262) 对血糖水平的影响巨大。在 25nmol/kg 下,这些肽引起血糖水平的约 50% 降低;在较高剂量下,所述肽引起的血糖水平降低大于 50%。

[0969] 如图 19 所示,每一种酰化的未聚乙二醇化的线性肽 (低或高剂量) 引起的体重降低比低剂量的利拉鲁肽引起的体重降低更有效。在 7 天测定过程中体重持续降低。

[0970] 这些结果提示,对 GIP 受体和 GLP-1 受体有活性的酰化但未聚乙二醇化的基于胰高血糖素的线性肽能够显著降低血糖水平和体重,由此表明这些肽可用于治疗代谢紊乱 (包括糖尿病) 和用于治疗肥胖症。

[0971] 实施例 30

[0972] 以不同剂量在 DIO 小鼠 (N = 8 只 / 组 ;平均初始体重 = 48g) 中检测基于胰高血糖素的线性肽 mt-261 (SEQ ID NO :105)。仅用溶媒、利拉鲁肽 (30nmol/kg 体重) 或 mt-261 (0.3、1、3、10 或 30nmol/kg 体重) 每日一次皮下注射小鼠 1 周。

[0973] 在首次注射后 0、1、3、5 和 7 天测量小鼠体重。如图 21 所示,用 mt-261 或利拉鲁肽注射引起小鼠减重。肽 mt-261 表现出比利拉鲁肽更高的效价,因为 3nmol/kg mt-261 达到基本上与 30nmol/kg 利拉鲁肽一样的效果 (图 21)。

[0974] 在首次注射后 7 天通过核磁共振成像测量小鼠脂肪量。如图 22 所示,增加 mt-261 剂量通常与降低脂肪量相关。用 3nmol/kg mt-261 注射的小鼠的脂肪量与用 30nmol/kg 利拉鲁肽注射的小鼠脂肪量接近相同,这表明 mt-261 与利拉鲁肽比较效价更高。

[0975] 在首次注射后 0 和 7 天测量小鼠的血糖水平。如图 23 所示,低至 3 nmol/kg 剂量的 mt-261 引起血糖水平显著降低。与脂肪量和体重测定结果一致,用 3nmol/kg mt-261 注射的小鼠的血糖水平的降低与用 30nmol/kg 利拉鲁肽注射的小鼠的血糖水平降低相似,这表明 mt-261 与利拉鲁肽比较效价更高。

[0976] 在单独的实验中,在 9 组 C57BI/6 小鼠 (每组 8 只小鼠) 中检测未酰化的 mt-261

形式即 mt-263 (SEQ ID NO :111) 对小鼠体重、摄食、血糖水平和脂肪量的体内作用。小鼠为 11 月龄,在研究时已经进行了 9 个月的致糖尿病饮食。小鼠平均体重为 57g。用 3、10 或 30nmol/kg mt-263 每日一次皮下注射小鼠 1 周。对照组接受溶媒对照或 10 或 30nmol/kg/天的毒蜥外泌肽 -4。

[0977] 为了评估对体重的体内作用,在第 0、1、3、5 和 7 天测量小鼠体重,其中第 0 天为注射的首日。如图 24 所示,以三种剂量中的任何一种注射 mt-263 在 7 天检测期内引起体重稳态降低。对体重的作用亦表现出剂量依赖,因为在增加 mt-263 肽剂量时体重的总变化(示于图 25 中)增加。另外,如图 25 所示,由三种 mt-263 剂量中任何一种实现的体重总变化基本上大于用毒蜥外泌肽 -4 注射(以任一种剂量)实现的体重总变化。

[0978] 亦测定对摄食、脂肪量和血糖的体内作用。与溶媒对照和毒蜥外泌肽 -4 比较,第 7 天测量的用 mt-263 注射的小鼠的总摄食和脂肪量降低。另外,与用溶媒对照或毒蜥外泌肽 -4 注射的小鼠比较,用 mt-263 注射的小鼠血糖水平总变化(以第 7 天测量的与第 0 天测量的水平比较)显著降低(图 26)。10nmol/kg 剂量的肽似乎为最佳剂量,实现血糖水平的最大降低(几乎为 -80mg/dL)。

[0979] 亦将肽 mt-263 对体重、摄食和血糖水平的体内作用与肽 mt-349 (SEQ ID NO :262)、mt-280、mt-356 和 mt-357 和溶媒对照的相应作用比较。给予小鼠 30nmol/kg/天的所述肽之一 1 周。与溶媒对照比较,所有肽都有效减轻体重。

#### [0980] 实施例 31

[0981] 测定酰化的基于胰高血糖素的线性肽 mt-277、mt-278 和 mt-279 的体内作用,并将其与利拉鲁肽的相应作用进行比较。用溶媒对照或 10nmol/kg 的利拉鲁肽、mt-277、mt-278 或 mt-279 每日一次皮下注射 D10 小鼠(每组 8 只小鼠;平均初始体重 = 51.4g)1 周。

[0982] 在首次注射后 0、1、3、5 和 7 天测量小鼠体重。如图 27 所示,用 mt-277、mt-278 或 mt-279 注射引起小鼠显著减重。所有这些肽进一步显示比利拉鲁肽的效价高。

[0983] 在首次注射后 0 和 7 天测量小鼠的血糖水平。如图 28 所示,mt-277、mt-278 和 mt-279 中的每一种引起血糖水平显著降低,这种降低显著大于在用利拉鲁肽注射的小鼠中观察到的降低。

#### [0984] 实施例 32

[0985] 修饰具有 GLP-1 受体活性的基于胰高血糖素的类似物以包含 SEQ ID NO :95 氨基酸序列的 C-末端突出端,进一步修饰以包含 SEQ ID NO :95 的 C-末端 Lys。用 C14 脂肪酰基酰化位于类似物 40 位的 Lys 残基。基本上如实施例 16 所述检测该酰化的类似物针对胰高血糖素受体、GLP-1 受体和 GIP 受体的体外活性。让该体外活性与缺乏 C-末端突出端和 40 位酰化的具有 GLP-1 受体活性的基于胰高血糖素的类似物母体的体外活性进行比较。C-末端延伸的酰化类似物显示针对 GIP 受体活性提高大约 15%,针对胰高血糖素受体活性提高大约 52%。当用 C-末端延伸的酰化类似物刺激时,实际上降低针对 GLP-1 受体的活性。然而,该活性仍然大于 100%的天然 GLP-1 针对 GLP-1 受体达到的活性。

#### [0986] 实施例 33

[0987] 基本上如上所述合成酰化的胰高血糖素类似物肽(每一种都包含代替 C-末端羧酸酯的酰胺)。肽 mt-358、mt-367、mt-368 和 mt-369 为酰化的单体,而 mt-354、mt-376 和 mt-377 为酰化的二聚体,其中各二聚体包含经由 C-末端 Cys 残基连接的两个单体。肽



mt-367、mt-368 和 mt-369 包含目的为连接酰基的  $\gamma$  Glu- $\gamma$  Glu 二肽间隔物,而 mt-358 是在缺乏间隔物下被酰化。肽 mt-225、mt-227 和 mt-294 为聚乙二醇化单体,其包含在 16 位谷氨酸和 20 位赖氨酸之间的内酰胺桥。肽 mt-225 和 mt-227 包含为连接 PEG 目的的二肽间隔物,而 mt-294 经由通过与卤代乙酰基反应形成的硫醚来酰化。肽 mt-356 和 mt-357 起未酰化的对照肽作用,其中 mt-357 包含 7 位 Ile,而 mt-356 包含 Thr。所有这些肽针对 GIP 受体、GLP-1 受体和胰高血糖素受体的体外活性的检测基本上如实施例 16 所述来进行。相对于各种肽的天然激素的 EC<sub>50</sub> (nM) 和活性示于表 4 中。

[0988]

表 4

编码	酰基 (间隔物)位置	SEQ ID NO:	胰高血糖素受体				GLP-1 受体			GIP 受体		
			EC <sub>50</sub> , nM	标准 偏差	相对活性	EC <sub>50</sub> , nM	标准 偏差	相对活性	EC <sub>50</sub> , nM	标准 偏差	相对活性	
mt-356	不用	232	0.0869	0.1095	126.06%	0.0048	0.0108	224.02%	0.0530	0.0136	25.66%	
mt-357	不用	233	0.0420	0.1095	260.92%	1.2518	0.0108	0.86%	0.0066	0.0136	206.37%	
酰化的单体结构												
mt-358	40 (无)	234	0.0087	0.1095	1266.00%	0.0830	0.0108	13.04%	0.0045	0.0136	305.62%	
mt-368	40 (γEyE)	236	0.0069	0.0337	491.82%	0.0038	0.0157	418.93%	0.00097	0.0029	296.07%	
mt-367	40 (γEyE)	235	0.8201	0.0337	4.11%	0.0039	0.0157	405.94%	0.0014	0.0029	202.82%	

[0989]

编码	酰基 (间隔物)位置	SEQ ID NO:	胰高血糖素受体			GLP-1受体			GIP受体		
			EC <sub>50</sub> , nM	标准 偏差	相对活性	EC <sub>50</sub> , nM	标准 偏差	相对活性	EC <sub>50</sub> , nM	标准 偏差	相对活性
mt-369	10 (γEγE)	237	2.1893	0.0337	1.54%	0.0041	0.0157	385.05%	0.0014	0.0029	204.26%
酰化的二聚体结构											
mt-354*	40 <sup>†</sup> (无)	231	2.6078	0.0378	1.45%	0.0088	0.0120	136.99%	0.0046	0.0042	91.65%
mt-376**	40 <sup>†</sup> (无)	238	13.4644	0.0772	0.57%	0.0106	0.0134	126.82%	0.0068	0.0042	62.63%
mt-377**	40 <sup>†</sup> (无)	239	3.9038	0.0772	1.98%	0.0076	0.0134	177.88%	0.0031	0.0042	138.11%
聚乙二醇化、内酰胺化单体											
mt-225	无	259	2.712	0.054	1.99%	0.098	0.029	29.59%	1.899	0.017	0.90%
mt-227	无	260	4.244	0.054	1.27%	0.080	0.029	36.25%	1.320	0.017	1.29%

[0990]

编码	酰基 (间隔物)位置	SEQ ID NO:	胰高血糖素受体			GLP-1受体			GIP受体		
			EC <sub>50</sub> , nM	标准 偏差	相对活性	EC <sub>50</sub> , nM	标准 偏差	相对活性	EC <sub>50</sub> , nM	标准 偏差	相对活性
mt-294	无	261	229.996	0.0235	0.01%	0.0608	0.0077	12.66%	0.3727	0.0110	2.95%

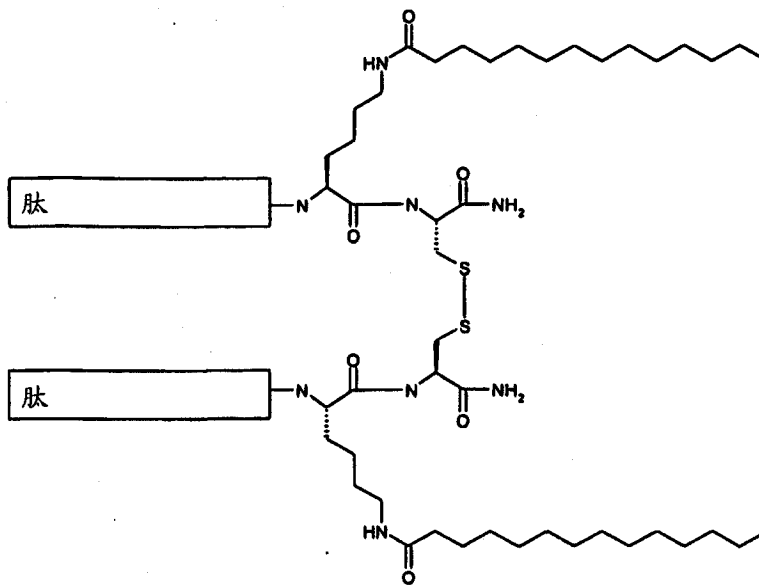
\* 表示二硫键连接的二聚体结构，其中每种肽单体经由如结构 A 所示的二硫键来连接。

\*\* 表示 PEG 连接的二聚体结构，其中每种肽单体经由如结构 B 所示的 PEG 来连接。

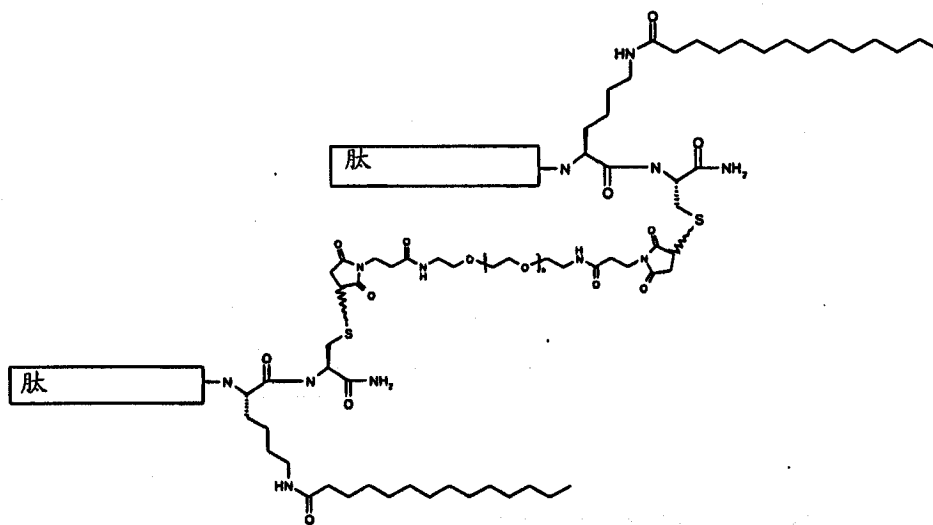
† 二聚体的每个单体包含单体的 40 位酰化(其中 1 位为 N-末端氨基酸)。

[0991]

## 二硫醚二聚体



结构 A



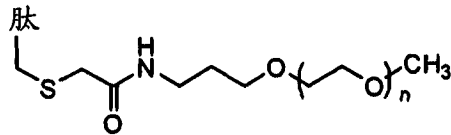
结构 B

[0992] 如表 4 所示,所有三种酰化的二聚体都显示针对 GLP-1 受体和 GIP 受体的有效活性。此外,与由 mt-358 显示的活性比较,由 mt-368 表现出的针对 GLP-1 受体的活性显著提高;与 mt-358 比较,mt-368 针对 GIP 受体的活性基本上保持,这提示胰高血糖素肽经由间隔物酰化可提高针对 GLP-1 受体的活性,而保持针对 GIP 受体的强活性。经由胰高血糖素类似物 10 位间隔物的酰化,似乎与胰高血糖素类似物的 40 位的位置一样好,因为对于 mt-367 和 mt-369 而言,针对 GLP-1 受体和 GIP 受体的相对活性大体上一样。

[0993] 实施例 34

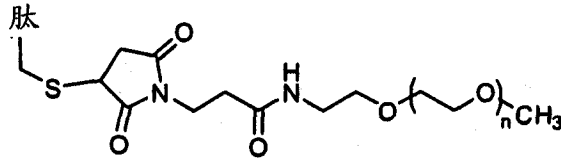
[0994] 基本上如本文所述制备具有相同氨基酸序列但聚乙二醇化接头不同的两种酰化的胰高血糖素类似物肽:mt-331 (SEQ ID NO:153) 包含与以下 PEG 结构的连接:

[0995]



[0996] 而 mt-311 (SEQ ID NO :100) 包含与以下 PEG 结构的连接：

[0997]



[0998] 经由每周一次皮下注射多组 DIO 小鼠 (每组 6 只小鼠 ; 平均体重 = 64.6g) 1 周来给予两种肽或溶媒对照。以 10 或 35nmol/kg 的剂量给予肽。

[0999] 在给予肽或溶媒对照后 0、1、3、5 和 7 天测量小鼠体重。用较高剂量的 mt-311 或 mt-331 注射的小鼠体重经过该周时间平稳降低。体重的总变化 (%) 示于图 29 中。如该图所示, 用 mt-311 注射的小鼠体重的总变化最大。

[1000] 在给予肽或溶媒对照后 0、1、3、5 和 7 天亦测量每组小鼠的总摄食。如图 30 所示, 与用溶媒对照注射的小鼠比较, 用任何剂量 mt-311 或 mt-331 注射的小鼠组的总摄食降低。

[1001] 在给予肽或溶媒对照后 0 及 7 天测量每组小鼠的血糖水平。在给予较高剂量的 mt-311 或 mt-331 后小鼠的血糖水平降低。如图 31 所示, 用 35nmol/kg mt-331 注射的小鼠的血糖水平降低更大。

[1002] 测量每组小鼠的脂肪量。然而, 给予所述肽似乎对脂肪量没有影响。

[1003] 实施例 35

[1004] 在 7 月龄的 C57BI/6 小鼠中检测两种氨基酸序列相同但因缺乏连接到 40 位 Lys 的酰基 (mt-331 (SEQ ID NO :153)) 或存在 C14 脂肪酰基 (mt-353 (SEQ ID NO :166)) 而不同的肽对体重、摄食、血糖水平和脂肪量的体内作用。对小鼠进行致糖尿病饮食 5 个月, 平均初始体重为 53g。将以 0.1、0.3、3 或 10nmol/kg 剂量的肽或溶媒对照皮下注射 1 周给予小鼠。

[1005] 在给予肽或溶媒对照后 0、1、3、5 和 7 天测量体重。如图 32 所示, 用 10nmol/kg 的 mt-331 或 mt-353 注射的小鼠的体重的总变化最显著。

[1006] 在给予肽或溶媒对照后 0、1、3、5 和 7 天测量小鼠摄食。如图 33 所示, 与给予溶媒对照的小鼠比较, 用 3 或 10nmol/kg 的 mt-331 或 mt-353 注射的小鼠的总摄食降低。

[1007] 亦监测小鼠的血糖水平。如图 34 所示, mt-331 以剂量依赖方式引起血糖水平降低。mt-353 的两种剂量另外引起血糖水平降低。给予任一种肽都没有显著影响脂肪量水平。

[1008] 实施例 36

[1009] 在 8 组 DIO 小鼠 (每组 8 只小鼠) 中检测分别具有 SEQ ID NO :123, 124 和 125 结构的三种酰化的三激动剂肽 mt-277、mt-278 和 mt-279 对体重、血糖水平和摄食的体内作用。所述肽具有相同的氨基酸序列但其所连接的脂肪酰基大小不同。利拉鲁肽以 10nM/kg 的浓度用作对照。每日一次皮下注射给予 1 周肽或溶媒对照。

[1010] 检测了针对胰高血糖素受体、GLP-1 受体和 GIP 受体的体外活性,每种肽相对于天然激素的%活性示于下表 5 中。

[1011] 表 5

[1012]

肽	针对 GLP-1 受体的%活	针对胰高血糖素受体的	针对 GIP 受体的%活性
---	----------------	------------	---------------

[1013]

	性	%活性	
利拉鲁肽	138	0.04	不适用
Mt-277	224	235	446
Mt-278	460	588	846
Mt-279	420	733	527

[1014] 在给予肽或溶媒对照后 0、1、3、5 和 7 天测量小鼠体重。经过该周后,与溶媒对照比较,用酰化的三激动剂肽中的一种注射的小鼠体重显著降低。如图 35 所示,用酰化的三激动剂肽中的一种注射的小鼠体重的总变化(%) 大约为 -15%,而利拉鲁肽达到的体重降低小于 5%。

[1015] 实施例 37

[1016] 在具有 58g 平均体重的 7 组 D10 小鼠(每组 8 只小鼠)中检测了聚乙二醇化的酰化肽(mt-309;SEQ ID NO:102)和非聚乙二醇化的酰化肽(mt-261;SEQ ID NO:105)的给药频率对功效的影响。以以下剂量和频率皮下注射各种肽给小鼠:5nmol/kg 的剂量每日一次、10nmol/kg 的剂量每两天一次或 30nmol/kg 的剂量每周一次。研究持续 6 天,以使每组小鼠在研究期结束时接受 30nmol/kg。在首次给予后 0 及 6 天测量体重和血糖水平。

[1017] 如图 36 所示,用 mt-309 每周一次注射的小鼠体重的总变化(%) 大约与用同一肽每日一次注射的小鼠体重的总变化一样。亦如图 36 所示,用 mt-261 每日一次注射的小鼠的体重的总变化与用该肽每两天一次注射的小鼠的体重的总变化接近一样。

[1018] 对于血糖水平亦可观察到与体重一样的趋势(图 37):每周一次注射 mt-309 与每日一次注射该肽实现同样的血糖水平下降,每日一次注射 mt-261 与每两天一次注射该肽实现同样的血糖水平下降。

[1019] 实施例 38

[1020] 在具有 56g 初始体重的 8 组 D10 小鼠(每组 8 只小鼠)中检测了酰化的胰高血糖素激动肽 mt-261(SEQ ID NO:105)的给药频率对功效的影响,以 5nmol/kg 每天一次、10nmol/kg 每两天一次、15nmol/kg 每三天一次或 1 天 30nmol/kg 的剂量皮下注射,以使每组小鼠每周接受 30nmol/kg 的总剂量。小鼠为 8 月龄,已进行了 6 个月的致糖尿病饮食。测量各组的体重、摄食、血糖水平和脂肪量。如图 38 所示,用肽每三天一次注射的小鼠表现出体重的最大降低。有趣的是,用肽每天一次注射的小鼠和用肽每两天一次注射的小鼠表现

出差不多相同的体重降低。

[1021] 实施例 39

[1022] 基本上如本文所述通过固相肽合成来制备以下胰高血糖素类似物肽：仅对胰高血糖素受体而不对 GIP 受体具有可观的激动剂活性并且包含肽 J 主链且在 3 位有另外修饰的胰高血糖素类似物肽

[1023] HS-X-GTFTSDYSKYLDTRRAAEFVAWL(N1e)DE

[1024] (SEQ ID NO :240)

[1025] 或仅对胰高血糖素受体而不对 GIP 受体具有可观的激动剂活性并且包含肽 K 主链且在 3 位有另外修饰的胰高血糖素类似物肽

[1026] HS-X-GTFTSDYSKYLD(Aib)RRAADFVAWLMDE

[1027] (SEQ ID NO :241)

[1028] 。基本上如实施例 16 所述检测所述肽针对胰高血糖素受体的体外活性。每一肽 EC<sub>50</sub>(nM) 示于表 6 中。

[1029] 表 6

[1030]

肽主链	3 位的氨基酸	SEQ ID NO:	对胰高血糖素受体的 EC <sub>50</sub> (nM)	%活性*
J	Q	242	0.24	25%
J	C(Acm)	243	0.18	33%
J	Dab(Ac)	244	0.31	19%

[1031]



J	Dap(脲)	245	0.48	13%
J	Q(Me)	246	0.48	13%
J	M(O)	247	0.91	7%
J	Orn(Ac)	248	0.92	7%
K	Q	249	0.39	15%
K	Dab(Ac)	250	0.07	86%
K	Q(Me)	251	0.11	55%

[1032] Q = 谷氨酰胺 ; C(Acm) = 乙酰氨基甲基 - 半胱氨酸 ; Dab(Ac) = 乙酰基二氨基丁酸 ; Dap(脲) = 氨基甲酰基二氨基丙酸 ; Q(Me) = 甲基谷氨酰胺 ; M(O) = 甲硫氨酸 - 亚砷 ; Orn(Ac) = 乙酰鸟氨酸 .

[1033] 如表 6 所示, 多个氨基酸可取代 3 位 Gln 而对胰高血糖素受体活性没有实质性的损失, 在某些情况下, 修饰实际上提高了所述活性, 例如肽 K 主链上的 Dab(Ac) 和 Q(Me) 修饰。

[1034] 实施例 40

[1035] 基本上如本文所述制备了仅对胰高血糖素受体而不对 GIP 受体具有可观的活性并且在不同胰高血糖素类似物主链上包含 3 位 Dab(Ac) 的胰高血糖素类似物肽, 检测了其针对胰高血糖素受体的体外活性。每一肽的结构和活性示于表 7 中

[1036] 表 7

[1037]

氨基酸序列	SEQ ID NO:	对胰高血糖素受体的 EC <sub>50</sub> (nM)	%活性*
-------	------------	---------------------------------	------

[1038]

野生型胰高血糖素	1	0.026	100
HSQGTFTSDYSKYLDsRRAQDFVQWLMDT	252	0.015	173
HSDab(Ac)GTFTSDYSKYLDAibRRAADFVAWLLDE	253	0.069	37
HSDab(Ac)GTFTSDYSKYLDAibRRAADFVAWLLDTGPSSGAPPPS 酰胺	254	0.023	113
HSDab(Ac)GTFTSDYSKYLDAibRRASDFVSWLLDE	255	0.048	54
HSDab(Ac)GTFTSDYSKYLDAibRRATDFVTWLLDE	256	0.057	46

[1039] 实施例 41

[1040] 基本上如本文所述制备具有 C-末端酰胺代替 C-末端  $\alpha$  羧酸酯的胰高血糖素类似物：

[1041] 肽 mt-367、mt-368 和 mt-369 分别包含 SEQ ID NO :235、236 和 237 结构。肽 mt-384 包含具有以下氨基酸修饰的 SEQ ID NO :1 氨基酸：1 位 Tyr；20 位 AIB；10 位 Lys，其中 Lys 经由  $\gamma$ -Glu- $\gamma$ -Glu 二肽间隔物与 C16 脂肪酰基共价结合；12 位 Ile；16 位 Lys；17 位 Gln；18 位 Ala；20 位 AIB；21 位 Glu；24 位 Asn；27 位 Leu；28 位 Ala 和 29 位 Gly；接着是 29 位氨基酸 C-末端的 SEQ ID NO :95 氨基酸。肽 mt-385 包含与肽 mt-384 相似的结构，但在 mt-385 中 7 位的 Thr 改变为 Ile。

[1042] 基本上如本文所述检测类似物针对胰高血糖素受体、GLP-1 受体和 GIP 受体中每一种的体外活性。结果示于表 8。

[1043] 表 8

[1044]

肽	针对受体的%相对活性		
	胰高血糖素	GLP-1	GIP
mt-367	4.11	405.94	202.82

[1045]

<b>mt-368</b>	<b>491.82</b>	<b>418.93</b>	<b>296.07</b>
<b>mt-369</b>	<b>1.54</b>	<b>385.05</b>	<b>204.26</b>
<b>mt-384</b>	<b>227.75</b>	<b>349.21</b>	<b>807.73</b>
<b>mt-385</b>	<b>239.45</b>	<b>3.18</b>	<b>714.88</b>

[1046] 用 10nmol/kg 表 8 中的一种肽每日一次皮下注射 7 天 9 组每组 8 只 DIO 小鼠 (品系 :C57B16 WT)。小鼠的平均初始体重为 57.6g。小鼠大约 10 个月龄,进行了约 8 个月的高脂肪饮食。

[1047] 在第 7 天测量体重的总变化。与溶媒对照比较,用表 8 肽注射的所有小鼠显示体重降低。用 mt-369 注射的小鼠的减重量最大 (约降低 25%),接着是用 mt-368 注射的小鼠 (约降低 22%) 和用 mt-384 注射的小鼠 (约降低 21%)。用 mt-367 或 mt-385 注射的小鼠表现出较低的但仍显著的减重 (mt-367 :约降低 18%,而 mt-385 :约降低 15%)。

[1048] 本文引用的包括出版物、专利申请和专利在内的所有参考文献在此引作参考,引用程度如同每一参考文献被单独并明确地表示引作参考并在本文中以其整体提出一样。

[1049] 除非本文另外指出或明确与上下文有矛盾,否则在阐述本发明上下文 (尤其是在以上权利要求上下文) 中术语 "一个" 和 "一种" 和 "该" 及类似说法的应用,应理解为既包括单数又包括复数。除非另外指出,否则术语 "包含"、"具有"、"包括" 和 "含有" 应理解为开放性术语 (即意味着 "包括但不限于")。

[1050] 本文值范围的列举仅意欲作为对单独提及每一个落入所述范围的单独值及每一个端点的速记方法,除非本文另外指出,否则本说明书包括每一个单独值及每一个端点,如同其在本文被单独列举一样。

[1051] 除非本文另外指出或另外明确与上下文有矛盾,否则可以以任何合适的次序来实施本文所述方法。除非另外声明,否则本文提供的任何及所有实施例或例示性语言 (例如 "例如") 的应用仅意欲更好地阐明 本发明,并非提出对本发明范围的限制。本发明书中的任何语言都不应该理解为表明任何未提出权利要求的部分对实行本发明是必不可少。

[1052] 本发明优选实施方案如本文所述,包括发明者已知的实施本发明最好的方式。在阅读了前述说明后,本领域一般技术人员可明了优选实施方案的变体。本发明人希望技术人员酌情使用所述变体,本发明人希望本发明除了如本文所明确阐述那样实施外还能另外实施。因此,本发明如适用法律所允许那样包括附加权利要求所列举的主题的所有修改及等同内容。此外,除非本文另外指出或另外明确与上下文有矛盾,否则本发明包括上述元件以其所有可能变化的任何组合。

[0001]

CPCH1063735P                      序 列 表

&lt;110&gt; 印第安纳大学研究及科技有限公司

&lt;120&gt; 基于 GIP 的混合激动剂用于治疗代谢紊乱和肥胖症

&lt;130&gt; 31135/43978C

&lt;160&gt; 262

&lt;170&gt; PatentIn version 3.5

&lt;210&gt; 1

&lt;211&gt; 29

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; 其它特征

&lt;223&gt; 野生型胰高血糖素

&lt;400&gt; 1

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

Arg	Arg	Ala	Gln	Asp	Phe	Val	Gln	Trp	Leu	Met	Asn	Thr
		20					25					

&lt;210&gt; 2

&lt;211&gt; 31

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; 其它特征

&lt;222&gt; (1).. (31)

&lt;223&gt; GLP-1(7-37)

&lt;400&gt; 2

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

[0002]

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

<210> 3  
 <211> 30  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成多肽

<220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (1).. (30)  
 <223> GLP-1 (7-36) 酰胺化

<220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (30).. (30)  
 <223> C 末端酰胺化

<400> 3

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

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

<210> 4  
 <211> 42  
 <212> PRT  
 <213> 人

<220>  
 <221> 成熟肽  
 <222> (1).. (42)  
 <223> 胃抑制剂多肽(gastric inhibitory polypeptide)

<400> 4

Tyr Ala Glu Gly Thr Phe Ile Ser Asp Tyr Ser Ile Ala Met Asp Lys

[0003]

1                    5                    10                    15  
Ile His Gln Gln Asp Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gln Lys Gly Lys  
                          20                    25                    30

Lys Asn Asp Trp Lys His Asn Ile Thr Gln  
                          35                    40

<210> 5  
<211> 29  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成多肽

<220>  
<221> 其它特征  
<223> 类似物 61

<220>  
<221> 其它特征  
<222> (16)..(20)  
<223> 16 和 20 位残基之间的内酰胺桥

<400> 5

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

Ile His Gln Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Met Asn Thr  
                          20                    25

<210> 6  
<211> 29  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成多肽

<220>

[0004]

<221> 其它特征  
<223> 类似物 62

<220>  
<221> 其它特征  
<222> (16)..(20)  
<223> 16 和 20 位残基之间的内酰胺桥

<400> 6

His	Ser	Gln	Gly	Thr	Phe	Thr	Ser	Asp	Tyr	Ser	Ile	Tyr	Leu	Asp	Glu
1				5				10					15		

Ile	His	Gln	Lys	Glu	Phe	Ile	Ala	Trp	Leu	Met	Asn	Thr
		20					25					

<210> 7  
<211> 29  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成多肽

<220>  
<221> 其它特征  
<223> 类似物 63

<220>  
<221> 其它特征  
<222> (12)..(16)  
<223> 16 和 20 位残基之间的内酰胺桥

<400> 7

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

Ile	His	Gln	Lys	Glu	Phe	Ile	Ala	Trp	Leu	Met	Asn	Thr
		20					25					

<210> 8  
<211> 29  
<212> PRT

[0005]

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<220>

<221> 其它特征

<223> 类似物 66

<400> 8

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

Ile His Gln Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Leu Ala Gln  
                          20                           25

<210> 9

<211> 29

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<220>

<221> 其它特征

<223> 类似物 68

<400> 9

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

Ile His Gln Glu Glu Phe Ile Ala Trp Leu Met Asn Thr  
                          20                           25

<210> 10

<211> 29

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

[0006]



<223> 合成多肽

<220>

<221> 其它特征

<223> 类似物 69

<220>

<221> 其它特征

<222> (16).. (20)

<223> 16 和 20 位残基之间的内酰胺桥

<400> 10

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

Ile	His	Gln	Glu	Glu	Phe	Ile	Ala	Trp	Leu	Met	Asn	Thr
			20					25				

<210> 11

<211> 29

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<220>

<221> 其它特征

<223> 类似物 84

<220>

<221> 其它特征

<222> (16).. (20)

<223> 16 和 20 位残基之间的内酰胺桥

<400> 11

His	Ser	Gln	Gly	Thr	Phe	Thr	Ser	Asp	Tyr	Ser	Ile	Tyr	Leu	Asp	Glu
1				5					10					15	

Ile	His	Gln	Lys	Glu	Phe	Ile	Cys	Trp	Leu	Leu	Ala	Gln
			20					25				

[0007]

- <210> 12  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
  
 <220>  
 <223> 合成多肽  
  
 <220>  
 <221> 其它特征  
 <223> 类似物 85  
  
 <220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (16)..(20)  
 <223> 16 和 20 位残基之间的内酰胺桥  
  
 <220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (24)..(24)  
 <223> 与半胱氨酸共价连接的 PEG (20kDa)  
  
 <400> 12  
  
 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Ile Tyr Leu Asp Glu  
 1                              5                              10                              15  
  
 Ile His Gln Lys Glu Phe Ile Cys Trp Leu Leu Ala Gln  
                             20                              25  
  
 <210> 13  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
  
 <220>  
 <223> 合成多肽  
  
 <220>  
 <221> 其它特征  
 <223> 类似物 92  
  
 <400> 13

[0008]

His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Ile Tyr Leu Asp Glu  
1                  5                  10                  15

Lys His Gln Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Leu Ala Gln  
                  20                  25

<210> 14  
<211> 29  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成多肽

<220>  
<221> 其它特征  
<223> 类似物 93

<220>  
<221> 其它特征  
<222> (16).. (20)  
<223> 16 和 20 位残基之间的内酰胺桥

<220>  
<221> 其它特征  
<222> (17).. (21)  
<223> 17 和 21 位残基之间的内酰胺桥

<400> 14

His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Ile Tyr Leu Asp Glu  
1                  5                  10                  15

Lys His Gln Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Leu Ala Gln  
                  20                  25

<210> 15  
<211> 29  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成多肽

[0009]

<220>

<221> 其它特征

<223> 类似物 95

<220>

<221> 其它特征

<222> (16)..(20)

<223> 16 和 20 位残基之间的内酰胺桥

<400> 15

His	Ala	Glu	Gly	Thr	Phe	Ile	Ser	Asp	Tyr	Ser	Ile	Ala	Met	Asp	Glu
1				5				10						15	

Ile	His	Gln	Lys	Asp	Phe	Val	Asn	Trp	Leu	Leu	Ala	Gln
		20					25					

<210> 16

<211> 29

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<220>

<221> 其它特征

<223> 类似物 96

<220>

<221> 其它特征

<222> (16)..(20)

<223> 16 和 20 位残基之间的内酰胺桥

<400> 16

Tyr	Ala	Glu	Gly	Thr	Phe	Ile	Ser	Asp	Tyr	Ser	Ile	Ala	Met	Asp	Glu
1				5				10						15	

Ile	His	Gln	Lys	Asp	Phe	Val	Asn	Trp	Leu	Leu	Ala	Gln
		20					25					

<210> 17

[0010]

<211> 29  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成多肽

<220>  
<221> 其它特征  
<223> 类似物 97

<220>  
<221> 其它特征  
<222> (16)..(20)  
<223> 16 和 20 位残基之间的内酰胺桥

<400> 17

His	Ala	Glu	Gly	Thr	Phe	Thr	Ser	Asp	Tyr	Ser	Ile	Tyr	Met	Asp	Glu
1				5					10					15	

Ile	His	Gln	Lys	Asp	Phe	Val	Asn	Trp	Leu	Leu	Ala	Gln
			20					25				

<210> 18  
<211> 29  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成多肽

<220>  
<221> 其它特征  
<223> 类似物 98

<220>  
<221> 其它特征  
<222> (16)..(20)  
<223> 16 和 20 位残基之间的内酰胺桥

<400> 18

Tyr	Ala	Glu	Gly	Thr	Phe	Thr	Ser	Asp	Tyr	Ser	Ile	Tyr	Met	Asp	Glu
1				5					10					15	

[0011]

Ile His Gln Lys Asp Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gln  
 20 25

<210> 19  
 <211> 42  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成多肽

<220>  
 <221> 其它特征  
 <223> 类似物 99

<400> 19

Tyr Ala Glu Gly Thr Phe Ile Ser Asp Tyr Ser Ile Ala Met Asp Lys  
 1 5 10 15

Ile His Gln Gln Asp Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gln Lys Gly Lys  
 20 25 30

Lys Asn Trp Leu Lys His Asn Ile Thr Gln  
 35 40

<210> 20  
 <211> 42  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成多肽

<220>  
 <221> 其它特征  
 <223> 类似物 100

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)

[0012]

<223> Xaa 为 Aib

<400> 20

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

Ile His Gln Gln Asp Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gln Lys Gly Lys  
                          20                            25                            30

Lys Asn Trp Leu Lys His Asn Ile Thr Gln  
                          35                            40

<210> 21

<211> 42

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<220>

<221> 其它特征

<223> 类似物 101

<400> 21

Tyr Ala Pro Gly Thr Phe Ile Ser Asp Tyr Ser Ile Ala Met Asp Lys  
1                            5                            10                            15

Ile His Gln Gln Asp Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gln Lys Gly Lys  
                          20                            25                            30

Lys Asn Trp Leu Lys His Asn Ile Thr Gln  
                          35                            40

<210> 22

<211> 42

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

[0013]

<223> 合成多肽

<220>

<221> 其它特征

<223> 类似物 102

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (2)..(2)

<223> Xaa 为 Aib

<400> 22

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

Ile	His	Gln	Gln	Asp	Phe	Val	Cys	Trp	Leu	Leu	Ala	Gln	Lys	Gly	Lys
		20						25					30		

Lys	Asn	Trp	Leu	Lys	His	Asn	Ile	Thr	Gln
	35						40		

<210> 23

<211> 42

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<220>

<221> 其它特征

<223> 类似物 104

<400> 23

Tyr	Ala	Pro	Gly	Thr	Phe	Ile	Ser	Asp	Tyr	Ser	Ile	Ala	Met	Asp	Lys
1				5					10					15	

Ile	His	Gln	Gln	Asp	Phe	Val	Cys	Trp	Leu	Leu	Ala	Gln	Lys	Gly	Lys
		20						25					30		

[0014]



Lys Asn Trp Leu Lys His Asn Ile Thr Gln  
35 40

<210> 24  
<211> 42  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成多肽

<220>  
<221> 其它特征  
<223> 类似物 105

<220>  
<221> 其它特征  
<222> (24)..(24)  
<223> 与半胱氨酸连接的 PEG (40kDa)

<400> 24

Tyr Ala Pro Gly Thr Phe Ile Ser Asp Tyr Ser Ile Ala Met Asp Lys  
1 5 10 15

Ile His Gln Gln Asp Phe Val Cys Trp Leu Leu Ala Gln Lys Gly Lys  
20 25 30

Lys Asn Trp Leu Lys His Asn Ile Thr Gln  
35 40

<210> 25  
<211> 29  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成多肽

<220>  
<221> 其它特征  
<223> 类似物 106

[0015]

<400> 25

Tyr Ala Glu Gly Thr Phe Ile Ser Asp Tyr Ser Ile Ala Met Asp Lys  
1                      5                                  10                                      15

Ile His Gln Gln Asp Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gln  
                    20                                      25

<210> 26

<211> 29

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<220>

<221> 其它特征

<223> 类似物 107

<220>

<221> 其它特征

<222> (16)..(20)

<223> 16 和 20 位残基之间的内酰胺桥

<400> 26

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

Ile His Gln Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Met Asn Thr  
                    20                                      25

<210> 27

<211> 29

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<220>

<221> 其它特征

[0016]

<223> 类似物 108

<220>

<221> 其它特征

<222> (16).. (20)

<223> 16 和 20 位残基之间的内酰胺桥

<400> 27

His Ser Gln Gly Thr Phe Ile Ser Asp Tyr Ser Lys Ala Leu Asp Glu  
1                   5                   10                   15

Ile His Gln Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Met Asn Thr  
          20                   25

<210> 28

<211> 29

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<220>

<221> 其它特征

<223> 类似物 109

<220>

<221> 其它特征

<222> (16).. (20)

<223> 16 和 20 位残基之间的内酰胺桥

<400> 28

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

Ile His Gln Lys Asp Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gln  
          20                   25

<210> 29

<211> 29

<212> PRT

<213> 人工序列

[0017]

<220>

<223> 合成多肽

<220>

<221> 其它特征

<223> 类似物 110

<220>

<221> 其它特征

<222> (16)..(20)

<223> 16 和 20 位残基之间的内酰胺桥

<400> 29

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

Ile His Gln Lys Asp Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gln  
                                     20                                      25

<210> 30

<211> 29

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<220>

<221> 其它特征

<223> 类似物 111

<220>

<221> 其它特征

<222> (16)..(20)

<223> 16 和 20 位残基之间的内酰胺桥

<400> 30

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

Ile His Gln Lys Asp Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gln

[0018]

20

25

<210> 31  
 <211> 24  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成多肽

<220>  
 <221> 其它特征  
 <223> 类似物 113

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> Xaa 为 3-苯基乳酸

<220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (11)..(15)  
 <223> 11 和 15 位残基之间的内酰胺桥

<400> 31

Xaa Ile Ser Asp Tyr Ser Ile Ala Met Asp Glu Ile His Gln Lys Asp  
 1                    5                    10                    15

Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gln  
 20

<210> 32  
 <211> 24  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成多肽

<220>  
 <221> 其它特征  
 <223> 类似物 114

[0019]

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (1).. (1)

<223> Xaa 为 3-苯基乳酸

<220>

<221> 其它特征

<222> (11).. (15)

<223> 11 和 15 位残基之间的内酰胺桥

<400> 32

Xaa Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu Ile His Gln Lys Asp  
1                    5                    10                    15

Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gln  
                  20

<210> 33

<211> 39

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<220>

<221> 其它特征

<223> 类似物 115

<220>

<221> 其它特征

<222> (16).. (20)

<223> 16 和 20 位残基之间的内酰胺桥

<400> 33

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

Ile His Gln Lys Asp Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gly Gly Pro Ser  
                  20                    25                    30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser

[0020]

35

<210> 34  
 <211> 39  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成多肽

<220>  
 <221> 其它特征  
 <223> 类似物 116

<220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (16)..(20)  
 <223> 16 和 20 位残基之间的内酰胺桥

&lt;400&gt; 34

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

Ile His Gln Lys Asp Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gly Gly Pro Ser  
                   20                    25                    30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser  
                   35

<210> 35  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成多肽

<220>  
 <221> 其它特征  
 <223> 类似物 118

&lt;220&gt;

[0021]

- <221> 其它特征
- <222> (16).. (20)
- <223> 16 和 20 位残基之间的内酰胺桥

<400> 35

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

Ile His Gln Lys Glu Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gln  
   20                                       25

- <210> 36
- <211> 39
- <212> PRT
- <213> 人工序列

- <220>
- <223> 合成多肽

- <220>
- <221> 其它特征
- <223> 类似物 120

- <220>
- <221> 其它特征
- <222> (16).. (20)
- <223> 16 和 20 位残基之间的内酰胺桥

<400> 36

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

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Met Asn Gly Gly Pro Ser  
   20                                       25                                       30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser  
   35

- <210> 37
- <211> 29
- <212> PRT

[0022]



<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<220>

<221> 其它特征

<223> 类似物 124

<220>

<221> 其它特征

<222> (16)..(20)

<223> 16 和 20 位残基之间的内酰胺桥

<400> 37

His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Ile Tyr Met Asp Glu  
1                      5                      10                      15

Ile His Gln Lys Asp Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gln  
                    20                      25

<210> 38

<211> 29

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<220>

<221> 其它特征

<223> 类似物 125

<220>

<221> 其它特征

<222> (16)..(20)

<223> 16 和 20 位残基之间的内酰胺桥

<400> 38

Tyr Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Ile Tyr Met Asp Glu  
1                      5                      10                      15

[0023]

Ile His Gln Lys Asp Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gln  
20 25

<210> 39  
<211> 39  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成多肽

<220>  
<221> 其它特征  
<223> 类似物 127

<220>  
<221> 其它特征  
<222> (16)..(20)  
<223> 16 和 20 位残基之间的内酰胺桥

<400> 39

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

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

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser  
35

<210> 40  
<211> 39  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成多肽

<220>  
<221> 其它特征  
<223> 类似物 128

[0024]

<220>

<221> 其它特征

<222> (16)..(20)

<223> 16 和 20 位残基之间的内酰胺桥

<400> 40

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

Ile	His	Gln	Lys	Asp	Phe	Ile	Ala	Trp	Leu	Met	Asn	Gly	Gly	Pro	Ser
			20					25					30		

Ser	Gly	Ala	Pro	Pro	Pro	Ser
			35			

<210> 41

<211> 39

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<220>

<221> 其它特征

<223> 类似物 129

<220>

<221> 其它特征

<222> (16)..(20)

<223> 16 和 20 位残基之间的内酰胺桥

<400> 41

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

Ile	His	Gln	Lys	Asp	Phe	Ile	Ala	Trp	Leu	Met	Asn	Gly	Gly	Pro	Ser
			20					25					30		

Ser	Gly	Ala	Pro	Pro	Pro	Ser
			35			

[0025]

<210> 42  
 <211> 39  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成多肽

<220>  
 <221> 其它特征  
 <223> 类似物 139

<220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (16)..(20)  
 <223> 16 和 20 位残基之间的内酰胺桥

<400> 42

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

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

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser  
                   35

<210> 43  
 <211> 39  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成多肽

<220>  
 <221> 其它特征  
 <223> 类似物 140

<220>  
 <221> 其它特征

[0026]

<222> (16)..(20)

<223> 16 和 20 位残基之间的内酰胺桥

<400> 43

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

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

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser  
                    35

<210> 44

<211> 39

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<220>

<221> 其它特征

<223> 类似物 141

<220>

<221> 其它特征

<222> (16)..(20)

<223> 16 和 20 位残基之间的内酰胺桥

<400> 44

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

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

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser  
                    35

[0027]

<210> 45  
<211> 39  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成多肽

<220>  
<221> 其它特征  
<223> 类似物 142

<220>  
<221> 其它特征  
<222> (16)..(20)  
<223> 16 和 20 位残基之间的内酰胺桥

<400> 45

Tyr Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Ile Tyr Met Asp Glu  
1                   5                   10                   15

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

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser  
          35

<210> 46  
<211> 39  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成多肽

<220>  
<221> 其它特征  
<223> 类似物 143

<220>  
<221> 其它特征  
<222> (16)..(20)  
<223> 16 和 20 位残基之间的内酰胺桥

[0028]

<400> 46

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

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

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser  
 35

<210> 47

<211> 39

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<220>

<221> 其它特征

<223> 类似物 144

<220>

<221> 其它特征

<222> (16)..(20)

<223> 16 和 20 位残基之间的内酰胺桥

<400> 47

Tyr Ala Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Ile Tyr Met Asp Glu  
 1 5 10 15

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

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser  
 35

<210> 48

<211> 39

[0029]

<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成多肽

<220>  
<221> 其它特征  
<223> 类似物 145

<220>  
<221> 其它特征  
<222> (16)..(20)  
<223> 16 和 20 位残基之间的内酰胺桥

<400> 48

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

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

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser  
                  35

<210> 49  
<211> 39  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成多肽

<220>  
<221> 其它特征  
<223> 类似物 146

<220>  
<221> 其它特征  
<222> (16)..(20)  
<223> 16 和 20 位残基之间的内酰胺桥

<400> 49

[0030]



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

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

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser  
35

<210> 50  
<211> 39  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成多肽

<220>  
<221> 其它特征  
<223> 类似物 147

<220>  
<221> 其它特征  
<222> (16).. (20)  
<223> 16 和 20 位残基之间的内酰胺桥

<400> 50

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

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

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser  
35

<210> 51  
<211> 39  
<212> PRT  
<213> 人工序列

[0031]

<220>  
<223> 合成多肽

<220>  
<221> 其它特征  
<223> 类似物 148

<220>  
<221> 其它特征  
<222> (16)..(20)  
<223> 16 和 20 位残基之间的内酰胺桥

<400> 51

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

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

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser  
35

<210> 52  
<211> 39  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成多肽

<220>  
<221> 其它特征  
<223> 类似物 149

<220>  
<221> 其它特征  
<222> (16)..(20)  
<223> 16 和 20 位残基之间的内酰胺桥

<400> 52

Tyr Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Ile Tyr Leu Asp Glu

[0032]

1                      5                                  10    15

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

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser  
                             35

<210> 53  
 <211> 39  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成多肽

<220>  
 <221> 其它特征  
 <223> 类似物 150

<220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (16)..(20)  
 <223> 16 和 20 位残基之间的内酰胺桥

<400> 53

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

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

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser  
                             35

<210> 54  
 <211> 39  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>

[0033]

<223> 合成多肽

<220>

<221> 其它特征

<223> 类似物 151

<220>

<221> 其它特征

<222> (16).. (20)

<223> 16 和 20 位残基之间的内酰胺桥

<400> 54

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

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

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser  
                                  35

<210> 55

<211> 39

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<220>

<221> 其它特征

<223> 类似物 152

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (2).. (2)

<223> Xaa 为 Aib

<220>

<221> 其它特征

<222> (16).. (20)

<223> 16 和 20 位残基之间的内酰胺桥

[0034]

<400> 55

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

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

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser  
                  35

<210> 56

<211> 39

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<220>

<221> 其它特征

<223> 类似物 154

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (1)..(1)

<223> Xaa 为马尿酸

<220>

<221> 其它特征

<222> (16)..(20)

<223> 16 和 20 位残基之间的内酰胺桥

<400> 56

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

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

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser  
                  35

[0035]

<210> 57  
<211> 39  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成多肽

<220>  
<221> 其它特征  
<223> 类似物 155

<220>  
<221> 其它特征  
<222> (12)..(16)  
<223> 16 和 20 位残基之间的内酰胺桥

<400> 57

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

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

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser  
                  35

<210> 58  
<211> 39  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成多肽

<220>  
<221> 其它特征  
<223> 类似物 156

<220>  
<221> 其它特征

[0036]

<222> (20)..(24)

<223> 20 和 24 位残基之间的内酰胺桥

<400> 58

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

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Val Glu Trp Leu Leu Ala Gly Gly Pro Ser  
                 20                   25                   30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser  
          35

<210> 59

<211> 39

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<220>

<221> 其它特征

<223> 类似物 157

<220>

<221> 其它特征

<222> (24)..(28)

<223> 24 和 28 位残基之间的内酰胺桥

<400> 59

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

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Val Glu Trp Leu Leu Lys Gly Gly Pro Ser  
                 20                   25                   30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser  
          35

[0037]

<210> 60  
 <211> 39  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成多肽

<220>  
 <221> 其它特征  
 <223> 类似物 158

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Xaa 为 Aib

<220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (16)..(20)  
 <223> 16 和 20 位残基之间的内酰胺桥

<400> 60

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

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Val Cys Trp Leu Leu Ala Gly Gly Pro Ser  
                           20                           25                           30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser  
                           35

<210> 61  
 <211> 39  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成多肽

<220>  
 <221> 其它特征  
 <223> 类似物 162

[0038]



<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Xaa 为 Aib

<220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (16)..(20)  
 <223> 16 和 20 位残基之间的内酰胺桥

<400> 61

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

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

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser  
                                   35

<210> 62  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成多肽

<220>  
 <221> 其它特征  
 <223> 类似物 163

<220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (16)..(20)  
 <223> 16 和 20 位残基之间的内酰胺桥

<400> 62

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

[0039]

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gly  
 20 25

<210> 63  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成多肽

<220>  
 <221> 其它特征  
 <223> 类似物 164

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Xaa 为 Aib

<220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (16)..(20)  
 <223> 16 和 20 位残基之间的内酰胺桥

<400> 63

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

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gly  
 20 25

<210> 64  
 <211> 40  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成多肽

<220>  
 <221> 其它特征  
 <223> 类似物 165

[0040]

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (2)..(2)

<223> Xaa 为 Aib

<220>

<221> 其它特征

<222> (16)..(20)

<223> 16 和 20 位残基之间的内酰胺桥

<400> 64

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

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

Ser	Gly	Ala	Pro	Pro	Pro	Ser	Cys
		35				40	

<210> 65

<211> 40

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<220>

<221> 其它特征

<223> 类似物 166

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (2)..(2)

<223> Xaa 为 d-丙氨酸

<220>

<221> 其它特征

<222> (16)..(20)

<223> 16 和 20 位残基之间的内酰胺桥

<400> 65

[0041]

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

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

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Cys  
                                 35                                  40

- <210> 66
- <211> 39
- <212> PRT
- <213> 人工序列

- <220>
- <223> 合成多肽

- <220>
- <221> 其它特征
- <223> 类似物 167

- <220>
- <221> 其它特征
- <222> (17)..(20)
- <223> 17 和 20 位残基之间的内酰胺桥

<400> 66

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

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

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser  
                                 35

- <210> 67
- <211> 39
- <212> PRT
- <213> 人工序列

[0042]

<220>

<223> 合成多肽

<220>

<221> 其它特征

<223> 类似物 168

<220>

<221> 其它特征

<222> (18).. (21)

<223> 18 和 21 位残基之间的内酰胺桥

<400> 67

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

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

Ser	Gly	Ala	Pro	Pro	Pro	Ser
			35			

<210> 68

<211> 29

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<220>

<221> 其它特征

<223> 类似物 169

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (2).. (2)

<223> Xaa 为 Aib

<220>

<221> 其它特征

<222> (16).. (20)

[0043]

<223> 16 和 20 位残基之间的内酰胺桥

<400> 68

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

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Val Cys Trp Leu Leu Ala Gly  
                 20                   25

<210> 69

<211> 40

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<220>

<221> 其它特征

<223> 类似物 170

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (2)..(2)

<223> Xaa 为 Aib

<220>

<221> 其它特征

<222> (16)..(20)

<223> 16 和 20 位残基之间的内酰胺桥

<220>

<221> 其它特征

<222> (40)..(40)

<223> 与半胱氨酸共价连接的 PEG (40kDa)

<400> 69

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

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

[0044]

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Cys  
 35 40

<210> 70  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成多肽

<220>  
 <221> 其它特征  
 <223> 类似物 172

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Xaa 为 Aib

<220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (16)..(20)  
 <223> 16 和 20 位残基之间的内酰胺桥

<220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (24)..(24)  
 <223> 与半胱氨酸共价连接的 PEG (40kDa)

<400> 70

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

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Val Cys Trp Leu Leu Ala Gly  
 20 25

<210> 71  
 <211> 40  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>

[0045]

<223> 合成多肽

<220>

<221> 其它特征

<223> 类似物 174

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (2)..(2)

<223> Xaa 为 Aib

<220>

<221> 其它特征

<222> (16)..(20)

<223> 16 和 20 位残基之间的内酰胺桥

<400> 71

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

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

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Cys  
35 40

<210> 72

<211> 39

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<220>

<221> 其它特征

<223> 类似物 175

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (2)..(2)

<223> Xaa 为 Aib

[0046]



<220>  
<221> 其它特征  
<222> (16).. (20)  
<223> 16 和 20 位残基之间的内酰胺桥

<220>  
<221> 其它特征  
<222> (24).. (24)  
<223> 与半胱氨酸共价连接的 PEG (40kDa)

<400> 72

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

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Val Cys Trp Leu Leu Ala Gly Gly Pro Ser  
                  20                    25                    30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser  
                  35

<210> 73  
<211> 40  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成多肽

<220>  
<221> 其它特征  
<223> 类似物 176

<220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (2).. (2)  
<223> Xaa 为 Aib

<220>  
<221> 其它特征  
<222> (16).. (20)  
<223> 16 和 20 位残基之间的内酰胺桥

<400> 73

[0047]

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

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

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Cys  
     35    40

<210> 74  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成多肽

<220>  
 <221> 其它特征  
 <223> 类似物 177

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Xaa 为 Aib

<220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (16)..(20)  
 <223> 16 和 20 位残基之间的内酰胺桥

<400> 74

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

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Val Cys Trp Leu Leu Ala Gly  
     20    25

<210> 75  
 <211> 40  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

[0048]

<220>  
<223> 合成多肽

<220>  
<221> 其它特征  
<223> 类似物 178

<220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (2).. (2)  
<223> Xaa 为 Aib

<220>  
<221> 其它特征  
<222> (16).. (20)  
<223> 16 和 20 位残基之间的内酰胺桥

<220>  
<221> 其它特征  
<222> (40).. (40)  
<223> 与半胱氨酸共价连接的 PEG (40kDa)

<400> 75

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

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

Ser	Gly	Ala	Pro	Pro	Pro	Ser	Cys
		35				40	

<210> 76  
<211> 29  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成多肽

<220>  
<221> 其它特征

[0049]

<223> 类似物 179

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (2).. (2)

<223> Xaa 为 Aib

<220>

<221> 其它特征

<222> (16).. (20)

<223> 16 和 20 位残基之间的内酰胺桥

<220>

<221> 其它特征

<222> (24).. (24)

<223> 与半胱氨酸共价连接的 PEG (40kDa)

<400> 76

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

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Val Cys Trp Leu Leu Ala Gly  
          20                   25

<210> 77

<211> 40

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<220>

<221> 其它特征

<223> 类似物 182

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (2).. (2)

<223> Xaa 为 Aib

<220>

<221> 其它特征

<222> (16).. (20)

<223> 16 和 20 位残基之间的内酰胺桥

[0050]

<220>

<221> 其它特征

<222> (40)..(40)

<223> 与半胱氨酸共价连接的 PEG (40kDa)

<400> 77

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

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

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Cys  
35 40

<210> 78

<211> 29

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<220>

<221> 其它特征

<223> 类似物 186

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (2)..(2)

<223> Xaa 为 Aib

<220>

<221> 其它特征

<222> (16)..(20)

<223> 16 和 20 位残基之间的内酰胺桥

<220>

<221> 其它特征

<222> (24)..(24)

<223> 与半胱氨酸共价连接的 PEG (40kDa)

<400> 78

[0051]

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

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Gly  
 20 25

- <210> 79
- <211> 39
- <212> PRT
- <213> 人工序列

- <220>
- <223> 合成多肽

- <220>
- <221> 其它特征
- <223> 类似物 191

- <220>
- <221> MOD\_RES
- <222> (2).. (2)
- <223> Xaa 为 Aib

<400> 79

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

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

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser  
 35

- <210> 80
- <211> 34
- <212> PRT
- <213> 人工序列

- <220>
- <223> 合成多肽

[0052]

<220>

<221> 其它特征

<223> 类似物 192

<400> 80

Phe	Thr	Ser	Asp	Tyr	Ser	Ile	Tyr	Leu	Asp	Glu	Gln	Ala	Ala	Lys	Glu
1				5				10						15	

Phe	Val	Asn	Trp	Leu	Leu	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Ser	Gly	Ala	Pro	Pro
		20					25						30		

Pro Ser

<210> 81

<211> 38

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<220>

<221> 其它特征

<223> 类似物 194

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (1)..(1)

<223> Xaa 为 Aib

<400> 81

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

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

Gly	Ala	Pro	Pro	Pro	Ser
					35

[0053]

<210> 82  
 <211> 26  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成多肽

<220>  
 <221> 其它特征  
 <223> 类似物 197

<220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (13).. (17)  
 <223> 13 和 17 位残基之间的内酰胺桥

<400> 82

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

Lys Glu Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gly  
                   20                   25

<210> 83  
 <211> 28  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成多肽

<220>  
 <221> 其它特征  
 <223> 类似物 198

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1).. (1)  
 <223> Xaa 为 Aib

<220>

[0054]



<221> 其它特征  
 <222> (15).. (19)  
 <223> 15 和 19 位残基之间的内酰胺桥  
 <400> 83

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

Ala Ala Lys Glu Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gly  
                     20                      25

<210> 84  
 <211> 40  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成多肽

<220>  
 <221> 其它特征  
 <223> 类似物 199

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2).. (2)  
 <223> Xaa 为 Aib

<220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (16).. (20)  
 <223> 16 和 20 位残基之间的内酰胺桥

<400> 84

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

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

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Cys  
                     35                      40

[0055]

<210> 85  
 <211> 40  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成多肽

<220>  
 <221> 其它特征  
 <223> 类似物 200

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Xaa 为 Aib

<220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (16)..(20)  
 <223> 16 和 20 位残基之间的内酰胺桥

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (27)..(27)  
 <223> Xaa 为 Nle

<400> 85

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

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Val Asn Trp Leu Xaa Ala Gly Gly Pro Ser  
                   20                   25                   30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Cys  
           35                   40

<210> 86  
 <211> 39  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

[0056]

<220>  
<223> 合成多肽

<220>  
<221> 其它特征  
<223> 类似物 201

<220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (2)..(2)  
<223> Xaa 为 Aib

<400> 86

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

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

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser  
          35

<210> 87  
<211> 40  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成多肽

<220>  
<221> 其它特征  
<223> 类似物 202

<220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (2)..(2)  
<223> Xaa 为 Aib

<220>  
<221> 其它特征  
<222> (16)..(20)  
<223> 16 和 20 位残基之间的内酰胺桥

[0057]

- <220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (40)..(40)  
 <223> 与半胱氨酸共价连接的 PEG (40kDa)
- <400> 87
- Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Val Ser Asp Tyr Ser Ile Tyr Leu Asp Glu  
 1                                  5                                  10                                  15
- Gln Ala Ala Lys Glu Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gly Gly Pro Ser  
                                 20                                  25                                  30
- Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Cys  
                                 35                                  40
- <210> 88  
 <211> 40  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列
- <220>  
 <223> 合成多肽
- <220>  
 <221> 其它特征  
 <223> 类似物 203
- <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Xaa 为 Aib
- <220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (16)..(20)  
 <223> 16 和 20 位残基之间的内酰胺桥
- <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (27)..(27)  
 <223> Xaa 为 Nle
- <220>

[0058]

<221> 其它特征  
 <222> (40)..(40)  
 <223> 与半胱氨酸共价连接的 PEG (40kDa)

<400> 88

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

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Val Asn Trp Leu Xaa Ala Gly Gly Pro Ser  
 20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Cys  
 35 40

<210> 89  
 <211> 40  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成多肽

<220>  
 <221> 其它特征  
 <223> 类似物 204

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Xaa 为 Aib

<220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (16)..(20)  
 <223> 16 和 20 位残基之间的内酰胺桥

<400> 89

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

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

[0059]

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Cys  
35 40

<210> 90  
<211> 40  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成多肽

<220>  
<221> 其它特征  
<223> 类似物 205

<220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (2)..(2)  
<223> Xaa 为 Aib

<220>  
<221> 其它特征  
<222> (16)..(20)  
<223> 16 和 20 位残基之间的内酰胺桥

<220>  
<221> 其它特征  
<222> (40)..(40)  
<223> 与半胱氨酸共价连接的 PEG (40kDa)

<400> 90

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

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

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Cys  
35 40

<210> 91

[0060]

<211> 43  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成多肽

<220>  
 <221> 其它特征  
 <223> 类似物 206

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2).. (2)  
 <223> Xaa 为 Aib

<220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (16).. (20)  
 <223> 16 和 20 位残基之间的内酰胺桥

<400> 91

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

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gly Lys Gly Lys  
                   20                    25                    30

Lys Asn Trp Leu Lys His Asn Ile Thr Gln Cys  
                   35                    40

<210> 92  
 <211> 43  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成多肽

<220>  
 <221> 其它特征  
 <223> 类似物 207

[0061]

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2).. (2)  
 <223> Xaa 为 Aib

<220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (16).. (20)  
 <223> 16 和 20 位残基之间的内酰胺桥

<400> 92

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

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gly Lys Gly Lys  
                   20                    25                    30

Lys Asn Trp Leu Lys His Asn Ile Thr Gln Cys  
                   35                    40

<210> 93  
 <211> 43  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成多肽

<220>  
 <221> 其它特征  
 <223> 类似物 208

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2).. (2)  
 <223> Xaa 为 Aib

<220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (16).. (20)  
 <223> 16 和 20 位残基之间的内酰胺桥

<220>  
 <221> 其它特征

[0062]



<222> (43)..(43)

<223> 与半胱氨酸共价连接的 PEG (40kDa)

<400> 93

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

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gly Lys Gly Lys  
                  20                   25                   30

Lys Asn Trp Leu Lys His Asn Ile Thr Gln Cys  
          35                   40

<210> 94

<211> 40

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<220>

<221> 其它特征

<223> 类似物 209

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (2)..(2)

<223> Xaa 为 Aib

<220>

<221> 其它特征

<222> (9)..(12)

<223> 9 和 12 位残基之间的内酰胺桥

<220>

<221> 其它特征

<222> (16)..(20)

<223> 16 和 20 位残基之间的内酰胺桥

<400> 94

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

[0063]

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

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Cys  
           35                                  40

<210> 95  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成多肽

<220>  
 <221> 其它特征  
 <223> CEX

<400> 95

Gly Pro Ser Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser  
 1                                  5                                  10

<210> 96  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成多肽

<220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (1)..(1)  
 <223> Xaa 为任意氨基酸

<400> 96

Xaa Gly Pro Ser Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser  
 1                                  5                                  10

[0064]

<210> 97  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成多肽

<400> 97

Lys Arg Asn Arg Asn Asn Ile Ala  
 1 5

<210> 98  
 <211> 4  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成多肽

<400> 98

Lys Arg Asn Arg  
 1

<210> 99  
 <211> 40  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成多肽

<220>  
 <221> 其它特征  
 <223> mt-274

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Xaa 为 Aib

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (20)..(20)

[0065]



<220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (24).. (24)  
 <223> 与半胱氨酸共价连接的 PEG (40kDa)

<220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (40).. (40)  
 <223> C 末端酰胺化

<400> 100

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

Gln Ala Ala Xaa Glu Phe Val Cys Trp Leu Leu Ala Gly Gly Pro Ser  
 20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Lys  
 35 40

<210> 101  
 <211> 40  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成多肽

<220>  
 <221> 其它特征  
 <223> mt-298

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2).. (2)  
 <223> Xaa 为 Aib

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (20).. (20)  
 <223> Xaa 为 Aib

<220>  
 <221> 其它特征

[0067]

<222> (24).. (24)  
 <223> 与半胱氨酸共价连接的 PEG (40kDa)

<220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (40).. (40)  
 <223> 与赖氨酸共价连接的 16 碳脂肪酰基

<220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (40).. (40)  
 <223> C 末端酰胺化

<400> 101

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

Gln Ala Ala Xaa Glu Phe Val Cys Trp Leu Leu Ala Gly Gly Pro Ser  
                                 20                                  25                                  30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Lys  
                                 35                                  40

<210> 102  
 <211> 40  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成多肽

<220>  
 <221> 其它特征  
 <223> mt-309

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2).. (2)  
 <223> Xaa 为 Aib

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (20).. (20)  
 <223> Xaa 为 Aib

[0068]

<220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (24)..(24)  
 <223> 与半胱氨酸共价连接的 PEG (40kDa)

<220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (40)..(40)  
 <223> 与赖氨酸共价连接的 14 碳脂肪酰基

<220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (40)..(40)  
 <223> C 末端酰胺化

<400> 102

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

Gln	Ala	Ala	Xaa	Glu	Phe	Val	Cys	Trp	Leu	Leu	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser
			20					25					30		

Ser	Gly	Ala	Pro	Pro	Pro	Ser	Lys
		35				40	

<210> 103  
 <211> 40  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成多肽

<220>  
 <221> 其它特征  
 <223> mt-310

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Xaa 为 Aib

<220>

[0069]

<221> MOD\_RES  
 <222> (20)..(20)  
 <223> Xaa 为 Aib  
  
 <220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (24)..(24)  
 <223> 与半胱氨酸共价连接的 PEG (40kDa)  
  
 <220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (40)..(40)  
 <223> 与赖氨酸共价连接的 18 碳脂肪酰基  
  
 <220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (40)..(40)  
 <223> C 末端酰胺化  
  
 <400> 103  
  
 Tyr Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Ile Tyr Leu Asp Lys  
 1                    5                    10                    15  
  
 Gln Ala Ala Xaa Glu Phe Val Cys Trp Leu Leu Ala Gly Gly Pro Ser  
                   20                    25                    30  
  
 Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Lys  
                   35                    40  
  
  
 <210> 104  
 <211> 40  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
  
 <220>  
 <223> 合成多肽  
  
  
 <220>  
 <221> 其它特征  
 <223> mt-260  
  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)

[0070]



<223> Xaa 为 Aib

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (20)..(20)

<223> Xaa 为 Aib

<220>

<221> 其它特征

<222> (40)..(40)

<223> 与赖氨酸共价连接的 14 碳脂肪酰基

<220>

<221> 其它特征

<222> (40)..(40)

<223> C 末端酰胺化

<400> 104

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

Gln Ala Ala Xaa Glu Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gly Gly Pro Ser  
                    20                      25                      30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Lys  
                    35                      40

<210> 105

<211> 40

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<220>

<221> 其它特征

<223> mt-261

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (2)..(2)

<223> Xaa 为 Aib

[0071]

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (20).. (20)

<223> Xaa 为 Aib

<220>

<221> 其它特征

<222> (40).. (40)

<223> 与赖氨酸共价连接的 16 碳脂肪酰基

<220>

<221> 其它特征

<222> (40).. (40)

<223> C 末端酰胺化

<400> 105

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

Gln	Ala	Ala	Xaa	Glu	Phe	Val	Asn	Trp	Leu	Leu	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser
			20				25						30		

Ser	Gly	Ala	Pro	Pro	Pro	Ser	Lys
		35					40

<210> 106

<211> 40

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<220>

<221> 其它特征

<223> mt-262

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (2).. (2)

<223> Xaa 为 Aib

<220>

<221> MOD\_RES

[0072]

<222> (20).. (20)

<223> Xaa 为 Aib

<220>

<221> 其它特征

<222> (40).. (40)

<223> 与赖氨酸共价连接的 18 碳脂肪酰基

<220>

<221> 其它特征

<222> (40).. (40)

<223> C 末端酰胺化

<400> 106

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

Gln Ala Ala Xaa Glu Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gly Gly Pro Ser  
                          20                            25                            30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Lys  
                          35                            40

<210> 107

<211> 40

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<220>

<221> 其它特征

<223> mt-252

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (2).. (2)

<223> Xaa 为 Aib

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (20).. (20)

<223> Xaa 为 Aib

[0073]

<220>

<221> 其它特征

<222> (40).. (40)

<223> C 末端酰胺化

<400> 107

Tyr	Xaa	Gln	Gly	Thr	Phe	Thr	Ser	Asp	Tyr	Ser	Ile	Tyr	Leu	Asp	Lys
1				5					10					15	

Gln	Ala	Ala	Xaa	Glu	Phe	Val	Asn	Trp	Leu	Leu	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser
			20					25					30		

Ser	Gly	Ala	Pro	Pro	Pro	Ser	Cys
		35					40

<210> 108

<211> 40

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<220>

<221> 其它特征

<223> mt-255

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (2).. (2)

<223> Xaa 为 Aib

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (20).. (20)

<223> Xaa 为 Aib

<220>

<221> 其它特征

<222> (40).. (40)

<223> 与半胱氨酸连接的 PEG (40kDa)

<220>

[0074]

<221> 其它特征  
 <222> (40)..(40)  
 <223> C 末端酰胺化

<400> 108

Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Ile Tyr Leu Asp Lys  
 1 5 10 15

Gln Ala Ala Xaa Glu Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gly Gly Pro Ser  
 20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Cys  
 35 40

<210> 109  
 <211> 40  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成多肽

<220>  
 <221> 其它特征  
 <223> mt-256

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Xaa 为 Aib

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (20)..(20)  
 <223> Xaa 为 Aib

<220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (40)..(40)  
 <223> C 末端酰胺化

<400> 109

Tyr Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Ile Tyr Leu Asp Lys

[0075]

1                    5                    10                    15

Gln Ala Ala Xaa Glu Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gly Gly Pro Ser  
                   20                    25                    30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Cys  
                   35                    40

<210> 110  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成多肽

<220>  
 <221> 其它特征  
 <223> mt-257

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Xaa 为 Aib

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (20)..(20)  
 <223> Xaa 为 Aib

<220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (29)..(29)  
 <223> C 末端酰胺化

<400> 110

Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Ile Tyr Leu Asp Lys  
 1                    5                    10                    15

Gln Ala Ala Xaa Glu Phe Val Cys Trp Leu Leu Ala Gly  
                   20                    25

[0076]

<210> 111  
 <211> 40  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成多肽

<220>  
 <221> 其它特征  
 <223> mt-263

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2).. (2)  
 <223> Xaa 为 Aib

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (20).. (20)  
 <223> Xaa 为 Aib

<220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (40).. (40)  
 <223> C 末端酰胺化

<400> 111

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

Gln Ala Ala Xaa Glu Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gly Gly Pro Ser  
                           20                            25                            30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Lys  
                           35                            40

<210> 112  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成多肽

[0077]

<220>  
 <221> 其它特征  
 <223> mt-264

<220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (2).. (2)  
 <223> Xaa 为 Aib

<220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (20).. (20)  
 <223> Xaa 为 Aib

<400> 112

Tyr	Xaa	Gln	Gly	Thr	Phe	Thr	Ser	Asp	Tyr	Ser	Ile	Tyr	Leu	Asp	Lys
1				5				10					15		

Gln	Ala	Ala	Xaa	Glu	Phe	Val	Asn	Trp	Leu	Leu	Ala	Gly
			20				25					

<210> 113  
 <211> 39  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成多肽

<220>  
 <221> 其它特征  
 <223> mt-265

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2).. (2)  
 <223> Xaa 为 Aib

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (20).. (20)  
 <223> Xaa 为 Aib

[0078]



<220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (24).. (24)  
 <223> 与赖氨酸共价连接的 14 碳脂肪酰基

<220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (39).. (39)  
 <223> C 末端酰胺化

<400> 113

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

Gln Ala Ala Xaa Glu Phe Val Lys Trp Leu Leu Ala Gly Gly Pro Ser  
                                   20                                    25                                    30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser  
                                   35

<210> 114  
 <211> 39  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成多肽

<220>  
 <221> 其它特征  
 <223> mt-266

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2).. (2)  
 <223> Xaa 为 Aib

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (20).. (20)  
 <223> Xaa 为 Aib

<220>  
 <221> 其它特征

[0079]

- <222> (24).. (24)  
<223> 与赖氨酸共价连接的 16 碳脂肪酰基
- <220>  
<221> 其它特征  
<222> (39).. (39)  
<223> C 末端酰胺化
- <400> 114
- |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Tyr | Xaa | Glu | Gly | Thr | Phe | Thr | Ser | Asp | Tyr | Ser | Ile | Tyr | Leu | Asp | Lys |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
- Gln Ala Ala Xaa Glu Phe Val Lys Trp Leu Leu Ala Gly Gly Pro Ser  
20 25 30
- Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser  
35
- <210> 115  
<211> 39  
<212> PRT  
<213> 人工序列
- <220>  
<223> 合成多肽
- <220>  
<221> 其它特征  
<223> mt-267
- <220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (2).. (2)  
<223> Xaa 为 Aib
- <220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (20).. (20)  
<223> Xaa 为 Aib
- <220>  
<221> 其它特征  
<222> (24).. (24)  
<223> 与赖氨酸共价连接的 18 碳脂肪酰基

[0080]

<220>

<221> 其它特征

<222> (39)..(39)

<223> C 末端酰胺化

<400> 115

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

Gln	Ala	Ala	Xaa	Glu	Phe	Val	Lys	Trp	Leu	Leu	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser
			20					25					30		

Ser	Gly	Ala	Pro	Pro	Pro	Ser
			35			

<210> 116

<211> 39

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<220>

<221> 其它特征

<223> mt-268

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (2)..(2)

<223> Xaa 为 Aib

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (20)..(20)

<223> Xaa 为 Aib

<220>

<221> 其它特征

<222> (39)..(39)

<223> C 末端酰胺化

<400> 116

[0081]

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

Gln Ala Ala Xaa Glu Phe Val Lys Trp Leu Leu Ala Gly Gly Pro Ser  
 20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser  
 35

<210> 117  
 <211> 39  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成多肽

<220>  
 <221> 其它特征  
 <223> mt-269

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Xaa 为 Aib

<220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (10)..(10)  
 <223> 与赖氨酸共价连接的 14 碳脂肪酰基

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (20)..(20)  
 <223> Xaa 为 Aib

<220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (39)..(39)  
 <223> C 末端酰胺化

<400> 117

Tyr Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Lys Ser Ile Tyr Leu Asp Lys

[0082]

1		5		10		15									
Gln	Ala	Ala	Xaa	Glu	Phe	Val	Asn	Trp	Leu	Leu	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser
		20					25						30		

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser  
35

- <210> 118
- <211> 39
- <212> PRT
- <213> 人工序列

- <220>
- <223> 合成多肽

- <220>
- <221> 其它特征
- <223> mt-270

- <220>
- <221> MOD\_RES
- <222> (2)..(2)
- <223> Xaa 为 Aib

- <220>
- <221> 其它特征
- <222> (10)..(10)
- <223> 与赖氨酸共价连接的 16 碳脂肪酰基

- <220>
- <221> MOD\_RES
- <222> (20)..(20)
- <223> Xaa 为 Aib

- <220>
- <221> 其它特征
- <222> (39)..(39)
- <223> C 末端酰胺化

<400> 118

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

[0083]

Gln Ala Ala Xaa Glu Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gly Gly Pro Ser  
 20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser  
 35

<210> 119  
 <211> 39  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成多肽

<220>  
 <221> 其它特征  
 <223> mt-271

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Xaa 为 Aib

<220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (10)..(10)  
 <223> 与赖氨酸共价连接的 18 碳脂肪酰基

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (20)..(20)  
 <223> Xaa 为 Aib

<220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (39)..(39)  
 <223> C 末端酰胺化

<400> 119

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

Gln Ala Ala Xaa Glu Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gly Gly Pro Ser  
 [0084]

20

25

30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser  
35

- <210> 120
- <211> 39
- <212> PRT
- <213> 人工序列

- <220>
- <223> 合成多肽

- <220>
- <221> 其它特征
- <223> mt-272

- <220>
- <221> MOD\_RES
- <222> (2).. (2)
- <223> Xaa 为 Aib

- <220>
- <221> MOD\_RES
- <222> (20).. (20)
- <223> Xaa 为 Aib

- <220>
- <221> 其它特征
- <222> (39).. (39)
- <223> C 末端酰胺化

<400> 120

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

Gln Ala Ala Xaa Glu Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gly Gly Pro Ser  
                           20                            25                            30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser  
35

[0085]

<210> 121  
 <211> 40  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成多肽

<220>  
 <221> 其它特征  
 <223> mt-275

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2).. (2)  
 <223> Xaa 为 Aib

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (16).. (16)  
 <223> Xaa 为 Orn

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (20).. (20)  
 <223> Xaa 为 Aib

<220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (40).. (40)  
 <223> C 末端酰胺化

<400> 121

Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Ile Tyr Leu Asp Xaa  
 1                            5                            10                            15

Gln Ala Ala Xaa Glu Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gly Gly Pro Ser  
                          20                            25                            30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Cys  
                          35                            40

<210> 122  
 <211> 40

[0086]



<212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成多肽

<220>  
 <221> 其它特征  
 <223> mt-276

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2).. (2)  
 <223> Xaa 为 Aib

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (16).. (16)  
 <223> Xaa 为 2,4-二氨基丁酸

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (20).. (20)  
 <223> Xaa 为 Aib

<220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (40).. (40)  
 <223> C 末端酰胺化

<400> 122

Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Ile Tyr Leu Asp Xaa  
 1                    5                    10                    15

Gln Ala Ala Xaa Glu Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gly Gly Pro Ser  
                   20                    25                    30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Cys  
                   35                    40

<210> 123  
 <211> 40  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

[0087]

<220>

<223> 合成多肽

<220>

<221> 其它特征

<223> mt-277

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (2).. (2)

<223> Xaa 为 Aib

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (20).. (20)

<223> Xaa 为 Aib

<220>

<221> 其它特征

<222> (40).. (40)

<223> 与赖氨酸共价连接的 14 碳脂肪酰基

<220>

<221> 其它特征

<222> (40).. (40)

<223> C 末端酰胺化

<400> 123

Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Ile Tyr Leu Asp Lys  
1                    5                    10                    15

Gln Ala Ala Xaa Glu Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gly Gly Pro Ser  
                  20                    25                    30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Lys  
                  35                    40

<210> 124

<211> 40

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

[0088]

<223> 合成多肽

<220>

<221> 其它特征

<223> mt-278

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (2).. (2)

<223> Xaa 为 Aib

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (20).. (20)

<223> Xaa 为 Aib

<220>

<221> 其它特征

<222> (40).. (40)

<223> 与赖氨酸共价连接的 16 碳脂肪酰基

<220>

<221> 其它特征

<222> (40).. (40)

<223> C 末端酰胺化

<400> 124

Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Ile Tyr Leu Asp Lys  
1 5 10 15

Gln Ala Ala Xaa Glu Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gly Gly Pro Ser  
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Lys  
35 40

<210> 125

<211> 40

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

[0089]

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; 其它特征

&lt;223&gt; mt-279

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; MOD\_RES

&lt;222&gt; (2)..(2)

&lt;223&gt; Xaa 为 Aib

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; MOD\_RES

&lt;222&gt; (20)..(20)

&lt;223&gt; Xaa 为 Aib

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; 其它特征

&lt;222&gt; (40)..(40)

&lt;223&gt; 与赖氨酸共价连接的 18 碳脂肪酰基

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; 其它特征

&lt;222&gt; (40)..(40)

&lt;223&gt; C 末端酰胺化

&lt;400&gt; 125

Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Ile Tyr Leu Asp Lys  
 1   5   10   15

Gln Ala Ala Xaa Glu Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gly Gly Pro Ser  
   20   25   30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Lys  
   35   40

&lt;210&gt; 126

&lt;211&gt; 40

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成多肽

&lt;220&gt;

[0090]



<220>

<221> MOD\_RES

<222> (20)..(20)

<223> Xaa 为 Aib

<220>

<221> 其它特征

<222> (24)..(24)

<223> 与半胱氨酸共价连接的 PEG (40kDa)

<220>

<221> 其它特征

<222> (29)..(29)

<223> C 末端酰胺化

<400> 127

Tyr	Xaa	Gln	Gly	Thr	Phe	Thr	Ser	Asp	Tyr	Ser	Ile	Tyr	Leu	Asp	Lys
1				5					10					15	

Gln	Ala	Ala	Xaa	Glu	Phe	Val	Cys	Trp	Leu	Leu	Ala	Gly
			20					25				

<210> 128

<211> 29

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<220>

<221> 其它特征

<223> mt-282

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (2)..(2)

<223> Xaa 为 Aib

<220>

<221> 其它特征

<222> (10)..(10)

<223> 与赖氨酸共价连接的 14 碳脂肪酰基

[0092]

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (20).. (20)

<223> Xaa 为 Aib

<220>

<221> 其它特征

<222> (29).. (29)

<223> C 末端酰胺化

<400> 128

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

Gln	Ala	Ala	Xaa	Glu	Phe	Val	Asn	Trp	Leu	Leu	Ala	Gly
			20					25				

<210> 129

<211> 29

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<220>

<221> 其它特征

<223> mt-283

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (2).. (2)

<223> Xaa 为 Aib

<220>

<221> 其它特征

<222> (10).. (10)

<223> 与赖氨酸共价连接的 16 碳脂肪酰基

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (20).. (20)

<223> Xaa 为 Aib

<220>

[0093]

<221> 其它特征  
 <222> (29).. (29)  
 <223> C 末端酰胺化

<400> 129

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

Gln Ala Ala Xaa Glu Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gly  
                   20                    25

<210> 130  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成多肽

<220>  
 <221> 其它特征  
 <223> mt-284

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2).. (2)  
 <223> Xaa 为 Aib

<220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (10).. (10)  
 <223> 与赖氨酸共价连接的 18 碳脂肪酰基

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (20).. (20)  
 <223> Xaa 为 Aib

<220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (29).. (29)  
 <223> C 末端酰胺化

<400> 130

[0094]



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

Gln Ala Ala Xaa Glu Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gly  
                                  20                                   25

- <210> 131
- <211> 29
- <212> PRT
- <213> 人工序列

- <220>
- <223> 合成多肽

- <220>
- <221> 其它特征
- <223> mt-285

- <220>
- <221> MOD\_RES
- <222> (2)..(2)
- <223> Xaa 为 Aib

- <220>
- <221> MOD\_RES
- <222> (20)..(20)
- <223> Xaa 为 Aib

- <220>
- <221> 其它特征
- <222> (29)..(29)
- <223> C 末端酰胺化

<400> 131

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

Gln Ala Ala Xaa Glu Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gly  
                                  20                                   25

- <210> 132
- <211> 40
- <212> PRT

[0095]

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<220>

<221> 其它特征

<223> mt-286

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (2)..(2)

<223> Xaa 为 Aib

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (20)..(20)

<223> Xaa 为 Aib

<220>

<221> 其它特征

<222> (40)..(40)

<223> 与赖氨酸共价连接的 14 碳脂肪酰基

<220>

<221> 其它特征

<222> (40)..(40)

<223> C 末端酰胺化

<400> 132

Tyr	Xaa	Gln	Gly	Thr	Phe	Thr	Ser	Asp	Tyr	Ser	Ile	Tyr	Leu	Asp	Lys
1				5					10					15	

Gln	Ala	Ala	Xaa	Glu	Phe	Val	Cys	Trp	Leu	Leu	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser
			20					25					30		

Ser	Gly	Ala	Pro	Pro	Pro	Ser	Lys
		35				40	

<210> 133

<211> 40

<212> PRT

<213> 人工序列

[0096]

<220>  
<223> 合成多肽

<220>  
<221> 其它特征  
<223> mt-287

<220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (2).. (2)  
<223> Xaa 为 Aib

<220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (20).. (20)  
<223> Xaa 为 Aib

<220>  
<221> 其它特征  
<222> (40).. (40)  
<223> 与赖氨酸共价连接的 16 碳脂肪酰基

<220>  
<221> 其它特征  
<222> (40).. (40)  
<223> C 末端酰胺化

<400> 133

Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Ile Tyr Leu Asp Lys  
1 5 10 15

Gln Ala Ala Xaa Glu Phe Val Cys Trp Leu Leu Ala Gly Gly Pro Ser  
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Lys  
35 40

<210> 134  
<211> 40  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成多肽

[0097]

<220>

<221> 其它特征

<223> mt-288

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (2)..(2)

<223> Xaa 为 Aib

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (20)..(20)

<223> Xaa 为 Aib

<220>

<221> 其它特征

<222> (40)..(40)

<223> 与赖氨酸共价连接的 18 碳脂肪酰基

<220>

<221> 其它特征

<222> (40)..(40)

<223> C 末端酰胺化

<400> 134

Tyr	Xaa	Gln	Gly	Thr	Phe	Thr	Ser	Asp	Tyr	Ser	Ile	Tyr	Leu	Asp	Lys
1				5					10					15	

Gln	Ala	Ala	Xaa	Glu	Phe	Val	Cys	Trp	Leu	Leu	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser
			20					25						30	

Ser	Gly	Ala	Pro	Pro	Pro	Ser	Lys
		35				40	

<210> 135

<211> 40

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

[0098]

<220>

<221> 其它特征

<223> mt-289

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (2)..(2)

<223> Xaa 为 Aib

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (20)..(20)

<223> Xaa 为 Aib

<220>

<221> 其它特征

<222> (40)..(40)

<223> C 末端酰胺化

<400> 135

Tyr	Xaa	Gln	Gly	Thr	Phe	Thr	Ser	Asp	Tyr	Ser	Ile	Tyr	Leu	Asp	Lys
1				5					10					15	

Gln	Ala	Ala	Xaa	Glu	Phe	Val	Cys	Trp	Leu	Leu	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser
			20					25						30	

Ser	Gly	Ala	Pro	Pro	Pro	Ser	Lys
		35					40

<210> 136

<211> 40

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<220>

<221> 其它特征

<223> mt-290

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (2)..(2)

[0099]

- <223> Xaa 为 Aib
- <220>
- <221> MOD\_RES
- <222> (20).. (20)
- <223> Xaa 为 Aib
- <220>
- <221> 其它特征
- <222> (24).. (24)
- <223> 与半胱氨酸共价连接的 PEG (40kDa)
- <220>
- <221> 其它特征
- <222> (40).. (40)
- <223> 与赖氨酸共价连接的 14 碳脂肪酰基
- <220>
- <221> 其它特征
- <222> (40).. (40)
- <223> C 末端酰胺化
- <400> 136
- Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Ile Tyr Leu Asp Lys  
1 5 10 15
- Gln Ala Ala Xaa Glu Phe Val Cys Trp Leu Leu Ala Gly Gly Pro Ser  
20 25 30
- Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Lys  
35 40
- <210> 137
- <211> 40
- <212> PRT
- <213> 人工序列
- <220>
- <223> 合成多肽
- <220>
- <221> 其它特征
- <223> mt-291

[0100]

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Xaa 为 Aib

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (20)..(20)  
 <223> Xaa 为 Aib

<220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (24)..(24)  
 <223> 与半胱氨酸共价连接的 PEG (40kDa)

<220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (40)..(40)  
 <223> 与赖氨酸共价连接的 16 碳脂肪酰基

<220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (40)..(40)  
 <223> C 末端酰胺化

<400> 137

Tyr	Xaa	Gln	Gly	Thr	Phe	Thr	Ser	Asp	Tyr	Ser	Ile	Tyr	Leu	Asp	Lys
1				5					10					15	

Gln	Ala	Ala	Xaa	Glu	Phe	Val	Cys	Trp	Leu	Leu	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser
			20					25						30	

Ser	Gly	Ala	Pro	Pro	Pro	Ser	Lys
		35					40

<210> 138  
 <211> 40  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成多肽

<220>

[0101]

<221> 其它特征

<223> mt-292

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (2).. (2)

<223> Xaa 为 Aib

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (20).. (20)

<223> Xaa 为 Aib

<220>

<221> 其它特征

<222> (24).. (24)

<223> 与半胱氨酸共价连接的 PEG (40kDa)

<220>

<221> 其它特征

<222> (40).. (40)

<223> 与赖氨酸共价连接的 18 碳脂肪酰基

<220>

<221> 其它特征

<222> (40).. (40)

<223> C 末端酰胺化

<400> 138

Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Ile Tyr Leu Asp Lys  
1 5 10 15

Gln Ala Ala Xaa Glu Phe Val Cys Trp Leu Leu Ala Gly Gly Pro Ser  
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Lys  
35 40

<210> 139

<211> 40

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

[0102]



<220>

<221> 其它特征

<223> mt-293

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (2)..(2)

<223> Xaa 为 Aib

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (20)..(20)

<223> Xaa 为 Aib

<220>

<221> 其它特征

<222> (24)..(24)

<223> 与半胱氨酸共价连接的 PEG (40kDa)

<220>

<221> 其它特征

<222> (40)..(40)

<223> C 末端酰胺化

<400> 139

Tyr	Xaa	Gln	Gly	Thr	Phe	Thr	Ser	Asp	Tyr	Ser	Ile	Tyr	Leu	Asp	Lys
1				5					10					15	

Gln	Ala	Ala	Xaa	Glu	Phe	Val	Cys	Trp	Leu	Leu	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser
			20					25					30		

Ser	Gly	Ala	Pro	Pro	Pro	Ser	Lys
		35				40	

<210> 140

<211> 40

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

[0103]

<220>  
 <221> 其它特征  
 <223> mt-295

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2).. (2)  
 <223> Xaa 为 Aib

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (20).. (20)  
 <223> Xaa 为 Aib

<220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (40).. (40)  
 <223> 与半胱氨酸共价连接的 PEG (40kDa)

<220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (40).. (40)  
 <223> C 末端酰胺化

<400> 140

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

Gln Ala Ala Xaa Glu Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gly Gly Pro Ser  
    20   25   30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Cys  
    35   40

<210> 141  
 <211> 40  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成多肽

<220>  
 <221> 其它特征

[0104]

<223> mt-296

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (2)..(2)

<223> Xaa 为 Aib

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (20)..(20)

<223> Xaa 为 Aib

<220>

<221> 其它特征

<222> (40)..(40)

<223> 与赖氨酸共价连接的 16 碳脂肪酰基

<220>

<221> 其它特征

<222> (40)..(40)

<223> C 末端酰胺化

<400> 141

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

Gln	Ala	Ala	Xaa	Glu	Phe	Val	Cys	Trp	Leu	Leu	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser
			20					25					30		

Ser	Gly	Ala	Pro	Pro	Pro	Ser	Lys
		35				40	

<210> 142

<211> 40

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<220>

<221> 其它特征

<223> mt-297

[0105]

- <220>
- <221> MOD\_RES
- <222> (2)..(2)
- <223> Xaa 为 Aib

- <220>
- <221> MOD\_RES
- <222> (20)..(20)
- <223> Xaa 为 Aib

- <220>
- <221> 其它特征
- <222> (40)..(40)
- <223> 与赖氨酸共价连接的 16 碳脂肪酰基

- <220>
- <221> 其它特征
- <222> (40)..(40)
- <223> C 末端酰胺化

<400> 142

Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Ile Tyr Leu Asp Lys  
 1 5 10 15

Gln Ala Ala Xaa Glu Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Gly Gly Pro Ser  
 20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Lys  
 35 40

- <210> 143
- <211> 40
- <212> PRT
- <213> 人工序列

- <220>
- <223> 合成多肽

- <220>
- <221> 其它特征
- <223> mt-299

- <220>
- <221> MOD\_RES

[0106]

<222> (2).. (2)  
<223> Xaa 为 Aib

<220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (20).. (20)  
<223> Xaa 为 Aib

<220>  
<221> 其它特征  
<222> (24).. (24)  
<223> 与半胱氨酸共价连接的 PEG (40kDa)

<220>  
<221> 其它特征  
<222> (40).. (40)  
<223> 与赖氨酸共价连接的 16 碳脂肪酰基

<220>  
<221> 其它特征  
<222> (40).. (40)  
<223> C 末端酰胺化

<400> 143

Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Ile Tyr Leu Asp Lys  
1 5 10 15

Gln Ala Ala Xaa Glu Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Gly Gly Pro Ser  
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Lys  
35 40

<210> 144  
<211> 40  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成多肽

<220>  
<221> 其它特征  
<223> mt-306

[0107]

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (2)..(2)

<223> Xaa 为 Aib

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (20)..(20)

<223> Xaa 为 Aib

<220>

<221> 其它特征

<222> (40)..(40)

<223> 与赖氨酸共价连接的 14 碳脂肪酰基

<220>

<221> 其它特征

<222> (40)..(40)

<223> C 末端酰胺化

<400> 144

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

Gln	Ala	Ala	Xaa	Glu	Phe	Val	Cys	Trp	Leu	Leu	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser
			20					25					30		

Ser	Gly	Ala	Pro	Pro	Pro	Ser	Lys
		35				40	

<210> 145

<211> 40

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<220>

<221> 其它特征

<223> mt-307

<220>

[0108]

<221> MOD\_RES  
 <222> (2).. (2)  
 <223> Xaa 为 Aib

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (20).. (20)  
 <223> Xaa 为 Aib

<220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (40).. (40)  
 <223> 与赖氨酸共价连接的 18 碳脂肪酰基

<220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (40).. (40)  
 <223> C 末端酰胺化

<400> 145

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

Gln Ala Ala Xaa Glu Phe Val Cys Trp Leu Leu Ala Gly Gly Pro Ser  
                   20                    25                    30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Lys  
                   35                    40

<210> 146  
 <211> 40  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成多肽

<220>  
 <221> 其它特征  
 <223> mt-308

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2).. (2)

[0109]

<223> Xaa 为 Aib

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (20).. (20)

<223> Xaa 为 Aib

<220>

<221> 其它特征

<222> (40).. (40)

<223> C 末端酰胺化

<400> 146

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

Gln	Ala	Ala	Xaa	Glu	Phe	Val	Cys	Trp	Leu	Leu	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser
			20					25					30		

Ser	Gly	Ala	Pro	Pro	Pro	Ser	Lys
		35					40

<210> 147

<211> 40

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<220>

<221> 其它特征

<223> mt-322

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (2).. (2)

<223> Xaa 为 Aib

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (20).. (20)

<223> Xaa 为 Aib

[0110]



- <220>
- <221> 其它特征
- <222> (40).. (40)
- <223> 与赖氨酸共价连接的 3-SH-丙酰基

- <220>
- <221> 其它特征
- <222> (40).. (40)
- <223> C 末端酰胺化

<400> 147

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

Gln Ala Ala Xaa Glu Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gly Gly Pro Ser  
                   20                    25                    30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Lys  
                   35                    40

- <210> 148
- <211> 40
- <212> PRT
- <213> 人工序列

- <220>
- <223> 合成多肽

- <220>
- <221> 其它特征
- <223> mt-323

- <220>
- <221> MOD\_RES
- <222> (2).. (2)
- <223> Xaa 为 Aib

- <220>
- <221> MOD\_RES
- <222> (20).. (20)
- <223> Xaa 为 Aib

- <220>
- <221> 其它特征

[0111]

- <222> (40)..(40)  
 <223> 与赖氨酸共价连接的 8 碳脂肪酰基  
  
 <220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (40)..(40)  
 <223> C 末端酰胺化  
  
 <400> 148  
  
 Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Ile Tyr Leu Asp Lys  
 1 5 10 15  
  
 Gln Ala Ala Xaa Glu Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gly Gly Pro Ser  
 20 25 30  
  
 Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Lys  
 35 40  
  
 <210> 149  
 <211> 40  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
  
 <220>  
 <223> 合成多肽  
  
 <220>  
 <221> 其它特征  
 <223> mt-324  
  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Xaa 为 Aib  
  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (20)..(20)  
 <223> Xaa 为 Aib  
  
 <220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (40)..(40)  
 <223> C 末端酰胺化

[0112]

<400> 149

Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Ser Ser Asp Tyr Ser Ile Tyr Leu Asp Lys  
 1                          5                          10                          15

Gln Ala Ala Xaa Glu Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gly Gly Pro Ser  
                     20                          25                          30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Cys  
                     35                          40

<210> 150

<211> 40

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<220>

<221> 其它特征

<223> mt-325

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (2)..(2)

<223> Xaa 为 Aib

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (7)..(7)

<223> Xaa 为 2-氨基丁酸

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (20)..(20)

<223> Xaa 为 Aib

<220>

<221> 其它特征

<222> (40)..(40)

<223> C 末端酰胺化

<400> 150

[0113]

Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Xaa Ser Asp Tyr Ser Ile Tyr Leu Asp Lys  
 1                                    5                                    10                                    15

Gln Ala Ala Xaa Glu Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gly Gly Pro Ser  
    20                                    25                                    30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Cys  
    35                                    40

<210> 151

<211> 40

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<220>

<221> 其它特征

<223> mt-329

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (2).. (2)

<223> Xaa 为 Aib

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (20).. (20)

<223> Xaa 为 Aib

<220>

<221> 其它特征

<222> (40).. (40)

<223> 与赖氨酸共价连接的 8 碳脂肪酰基

<220>

<221> 其它特征

<222> (40).. (40)

<223> C 末端酰胺化

<400> 151

Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Ile Tyr Leu Asp Lys

[0114]

1	5	10	15
Gln	Ala Ala Xaa	Glu Phe Val Cys Trp	Leu Leu Ala Gly Gly Pro Ser
	20	25	30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Lys
35 40

<210> 152  
 <211> 40  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成多肽

<220>  
 <221> 其它特征  
 <223> mt-330

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2).. (2)  
 <223> Xaa 为 Aib

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (20).. (20)  
 <223> Xaa 为 Aib

<220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (40).. (40)  
 <223> 与赖氨酸共价连接的 8 碳脂肪酰基

<220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (40).. (40)  
 <223> C 末端酰胺化

<400> 152

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

[0115]

Gln Ala Ala Xaa Glu Phe Val Cys Trp Leu Leu Ala Gly Gly Pro Ser  
 20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Lys  
 35 40

<210> 153  
 <211> 40  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成多肽

<220>  
 <221> 其它特征  
 <223> mt-331

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2).. (2)  
 <223> Xaa 为 Aib

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (20).. (20)  
 <223> Xaa 为 Aib

<220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (24).. (24)  
 <223> 与半胱氨酸共价连接的 PEG (40kDa)

<220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (40).. (40)  
 <223> C 末端酰胺化

<400> 153

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

Gln Ala Ala Xaa Glu Phe Val Cys Trp Leu Leu Ala Gly Gly Pro Ser

[0116]

	20	25	30
Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Lys			
	35	40	
<210>	154		
<211>	40		
<212>	PRT		
<213>	人工序列		
<220>			
<223>	合成多肽		
<220>			
<221>	其它特征		
<223>	mt-333		
<220>			
<221>	MOD_RES		
<222>	(2)..(2)		
<223>	Xaa 为 Aib		
<220>			
<221>	MOD_RES		
<222>	(20)..(20)		
<223>	Xaa 为 Aib		
<220>			
<221>	MOD_RES		
<222>	(40)..(40)		
<223>	Xaa 为 d-赖氨酸		
<220>			
<221>	其它特征		
<222>	(40)..(40)		
<223>	与 d 赖氨酸共价连接的 14 碳脂肪酰基		
<220>			
<221>	其它特征		
<222>	(40)..(40)		
<223>	C 末端酰胺化		
<400>	154		
Tyr Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Ile Tyr Leu Asp Lys			
	1	5	10
			15

[0117]

Gln Ala Ala Xaa Glu Phe Val Cys Trp Leu Leu Ala Gly Gly Pro Ser  
 20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Xaa  
 35 40

<210> 155  
 <211> 40  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成多肽

<220>  
 <221> 其它特征  
 <223> mt-334

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2).. (2)  
 <223> Xaa 为 Aib

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (20).. (20)  
 <223> Xaa 为 Aib

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (40).. (40)  
 <223> Xaa 为 d-Lysine

<220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (40).. (40)  
 <223> C 末端酰胺化

<400> 155

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

[0118]



Gln Ala Ala Xaa Glu Phe Val Cys Trp Leu Leu Ala Gly Gly Pro Ser  
 20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Xaa  
 35 40

<210> 156

<211> 40

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<220>

<221> 其它特征

<223> mt-335

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (2).. (2)

<223> Xaa 为 Aib

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (20).. (20)

<223> Xaa 为 Aib

<220>

<221> 其它特征

<222> (24).. (24)

<223> 与半胱氨酸共价连接的 PEG (40kDa)

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (40).. (40)

<223> Xaa 为 d-赖氨酸

<220>

<221> 其它特征

<222> (40).. (40)

<223> 与赖氨酸共价连接的 14 碳脂肪酰基

<220>

<221> 其它特征

<222> (40).. (40)

[0119]



<220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (40)..(40)  
 <223> C 末端酰胺化

<400> 157

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

Gln Ala Ala Xaa Glu Phe Val Cys Trp Leu Leu Ala Gly Gly Pro Ser  
                  20                   25                   30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Xaa  
           35                   40

<210> 158  
 <211> 39  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成多肽

<220>  
 <221> 其它特征  
 <223> mt-337

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Xaa 为 Aib

<220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (10)..(10)  
 <223> 与赖氨酸共价连接的 14 碳脂肪酰基

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (20)..(20)  
 <223> Xaa 为 Aib

<220>  
 <221> 其它特征

[0121]



Gln Ala Ala Xaa Glu Phe Val Cys Trp Leu Leu Ala Gly Gly Pro Ser  
 20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser  
 35

<210> 160  
 <211> 41  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成多肽

<220>  
 <221> 其它特征  
 <223> mt-339

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2).. (2)  
 <223> Xaa 为 Aib

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (20).. (20)  
 <223> Xaa 为 Aib

<220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (40).. (40)  
 <223> 与赖氨酸共价连接的 14 碳脂肪酰基

<220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (41).. (41)  
 <223> C 末端酰胺化

<400> 160

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

[0123]

Gln Ala Ala Xaa Glu Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gly Gly Pro Ser  
 20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Lys Cys  
 35 40

<210> 161  
 <211> 41  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成多肽

<220>  
 <221> 其它特征  
 <223> mt-340

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2).. (2)  
 <223> Xaa 为 Aib

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (20).. (20)  
 <223> Xaa 为 Aib

<220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (41).. (41)  
 <223> C 末端酰胺化

<400> 161

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

Gln Ala Ala Xaa Glu Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gly Gly Pro Ser  
 20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Lys Cys  
 35 40

[0124]









Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Lys Cys  
35 40

<210> 165  
<211> 40  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成多肽

<220>  
<221> 其它特征  
<223> mt-345

<220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (2).. (2)  
<223> Xaa 为 Aib

<220>  
<221> 其它特征  
<222> (40).. (40)  
<223> 与赖氨酸共价连接的 14 碳脂肪酰基

<220>  
<221> 其它特征  
<222> (40).. (40)  
<223> C 末端酰胺化

<400> 165

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

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Cys Trp Leu Met Asn Gly Gly Pro Ser  
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Lys  
35 40

<210> 166  
<211> 40

[0128]



<210> 167  
 <211> 40  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成多肽

<220>  
 <221> 其它特征  
 <223> mt-241

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Xaa 为 Aib

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Xaa 为 Aib

<220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (40)..(40)  
 <223> C 末端酰胺化

<400> 167

Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Ile Tyr Leu Asp Xaa  
 1                    5                    10                    15

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

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Cys  
                   35                    40

<210> 168  
 <211> 40  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>

[0130]

<223> 合成多肽

<220>

<221> 其它特征

<223> mt-242

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (2)..(2)

<223> Xaa 为 Aib

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (16)..(16)

<223> Xaa 为 Aib

<220>

<221> 其它特征

<222> (40)..(40)

<223> C 末端酰胺化

<400> 168

Tyr	Xaa	Gln	Gly	Thr	Phe	Thr	Ser	Asp	Tyr	Ser	Ile	Tyr	Leu	Asp	Xaa
1				5					10					15	

Gln	Ala	Ala	Gln	Glu	Phe	Val	Asn	Trp	Leu	Leu	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser
			20					25					30		

Ser	Gly	Ala	Pro	Pro	Pro	Ser	Cys
		35				40	

<210> 169

<211> 40

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<220>

<221> 其它特征

<223> mt-273

[0131]

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (2)..(2)

<223> Xaa 为 Aib

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (12)..(16)

<223> 16 和 20 位残基之间的内酰胺桥

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (20)..(20)

<223> Xaa 为 Aib

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (40)..(40)

<223> C 末端酰胺化

<400> 169

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

Gln	Ala	Ala	Xaa	Glu	Phe	Val	Asn	Trp	Leu	Leu	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser
			20					25						30	

Ser	Gly	Ala	Pro	Pro	Pro	Ser	Cys
		35				40	

<210> 170

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 170

Gly	Pro	Ser	Ser	Gly	Ala	Pro	Pro	Pro	Lys
1				5					10

<210> 171

[0132]

<211> 11  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成多肽

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1).. (1)  
 <223> Xaa 为 Gly 或脂肪族或非极性或稍带极性的小氨基酸  
 <400> 171

Xaa Gly Pro Ser Ser Gly Ala Pro Pro Pro Lys  
 1 5 10

<210> 172  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成多肽

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1).. (1)  
 <223> Xaa 为 Gly 或脂肪族或非极性或稍带极性的小氨基酸

<400> 172

Xaa Gly Pro Ser Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Lys  
 1 5 10

<210> 173  
 <211> 40  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成多肽

<220>  
 <221> 其它特征

[0133]





<220>

<221> MOD\_RES

<222> (2)..(2)

<223> Xaa 为 Aib

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (16)..(16)

<223> Xaa 为 Aib

<220>

<221> 其它特征

<222> (40)..(40)

<223> 与半胱氨酸共价连接的 PEG (40kDa)

<220>

<221> 其它特征

<222> (40)..(40)

<223> C 末端酰胺化

<400> 174

Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Ile Tyr Leu Asp Xaa  
1                  5                  10                  15

Gln Ala Ala Gln Glu Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gly Gly Pro Ser  
                  20                  25                  30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Cys  
          35                            40

<210> 175

<211> 40

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<220>

<221> 其它特征

<223> mt-250

<220>

<221> MOD\_RES

[0135]

<222> (2)..(2)  
<223> Xaa 为 Aib

<220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (16)..(16)  
<223> Xaa 为 Aib

<220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (20)..(20)  
<223> Xaa 为 Aib

<220>  
<221> 其它特征  
<222> (40)..(40)  
<223> C 末端酰胺化

<400> 175

Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Ile Tyr Leu Asp Xaa  
1 5 10 15

Gln Ala Ala Xaa Glu Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gly Gly Pro Ser  
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Cys  
35 40

<210> 176  
<211> 40  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成多肽

<220>  
<221> 其它特征  
<223> mt-251

<220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (2)..(2)  
<223> Xaa 为 Aib

[0136]

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (20).. (20)

<223> Xaa 为 Aib

<220>

<221> 其它特征

<222> (40).. (40)

<223> C 末端酰胺化

<400> 176

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

Gln	Ala	Ala	Xaa	Glu	Phe	Val	Asn	Trp	Leu	Leu	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser
			20					25					30		

Ser	Gly	Ala	Pro	Pro	Pro	Ser	Cys
		35				40	

<210> 177

<211> 29

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<220>

<221> 其它特征

<223> mt-258

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (2).. (2)

<223> Xaa 为 Aib

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (20).. (20)

<223> Xaa 为 Aib

<220>

[0137]

<221> 其它特征  
 <222> (29).. (29)  
 <223> C末端酰胺化

<400> 177

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

Gln Ala Ala Xaa Glu Phe Val Cys Trp Leu Leu Ala Gly  
                   20                    25

<210> 178  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成多肽

<220>  
 <221> 其它特征  
 <223> mt-259

<220>  
 <221> 其它特征  
 <223> C末端酰胺化

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2).. (2)  
 <223> Xaa 为 Aib

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (20).. (20)  
 <223> Xaa 为 Aib

<400> 178

Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Ile Tyr Leu Asp Ser  
 1                    5                    10                    15

Gln Ala Ala Xaa Glu Phe Val Cys Trp Leu Leu Ala Gly  
                   20                    25

[0138]

<210> 179  
 <211> 30  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成多肽

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Xaa 为 Aib

<220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (24)..(24)  
 <223> 与半胱氨酸共价连接的 PEG (40kDa)

<400> 179

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

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

<210> 180  
 <211> 42  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成多肽

<220>  
 <221> 其它特征  
 <223> SEQ ID NO: 24

<220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (24)..(24)  
 <223> 与亲水基团共价连接的取代的氨基酸

[0139]

<400> 180

Tyr Ala Pro Gly Thr Phe Ile Ser Asp Tyr Ser Ile Ala Met Asp Lys  
1                                    5                                    10                                    15

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

Lys Asn Trp Leu Lys His Asn Ile Thr Gln  
                                  35                                    40

<210> 181

<211> 40

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<220>

<221> 其它特征

<223> SEQ ID NO: 69

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (2)..(2)

<223> Xaa 为 Aib

<220>

<221> 其它特征

<222> (16)..(20)

<223> 16 和 20 位残基之间的内酰胺桥

<220>

<221> 其它特征

<222> (40)..(40)

<223> 与亲水基团共价连接的取代的氨基酸

<400> 181

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

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gly Gly Pro Ser

[0140]

	20	25	30
Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Xaa	35	40	
<210>	182		
<211>	29		
<212>	PRT		
<213>	人工序列		
<220>			
<223>	合成多肽		
<220>			
<221>	其它特征		
<223>	SEQ ID NO: 70		
<220>			
<221>	MOD_RES		
<222>	(2)..(2)		
<223>	Xaa 为 Aib		
<220>			
<221>	其它特征		
<222>	(16)..(20)		
<223>	16 和 20 位残基之间的内酰胺桥		
<220>			
<221>	其它特征		
<222>	(24)..(24)		
<223>	与亲水基团共价连接的取代的氨基酸		
<220>			
<221>	其它特征		
<222>	(29)..(29)		
<223>	Xaa 可为任何天然存在的氨基酸		
<400>	182		
Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Ile Tyr Leu Asp Glu	1	5	10 15
Gln Ala Ala Lys Glu Phe Val Xaa Trp Leu Leu Ala Xaa	20	25	

[0141]

<210> 183  
<211> 39  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成多肽

<220>  
<221> 其它特征  
<223> SEQ ID NO: 72

<220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (2)..(2)  
<223> Xaa 为 Aib

<220>  
<221> 其它特征  
<222> (16)..(20)  
<223> 16 和 20 位残基之间的内酰胺桥

<220>  
<221> 其它特征  
<222> (24)..(24)  
<223> 与亲水基团共价连接的取代的氨基酸

<400> 183

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

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Val Xaa Trp Leu Leu Ala Gly Gly Pro Ser  
                  20                    25                    30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser  
                  35

<210> 184  
<211> 40  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>

[0142]



<223> 合成多肽

<220>

<221> 其它特征

<223> SEQ ID NO: 75

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (2)..(2)

<223> Xaa 为 Aib

<220>

<221> 其它特征

<222> (16)..(20)

<223> 16 和 20 位残基之间的内酰胺桥

<220>

<221> 其它特征

<222> (40)..(40)

<223> 与亲水基团共价连接的取代的氨基酸

<400> 184

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

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

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Xaa  
                                   35                                    40

<210> 185

<211> 29

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<220>

<221> 其它特征

<223> SEQ ID NO: 76

[0143]

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (2).. (2)

<223> Xaa 为 Aib

<220>

<221> 其它特征

<222> (16).. (20)

<223> 16 和 20 位残基之间的内酰胺桥

<220>

<221> 其它特征

<222> (24).. (24)

<223> 与亲水基团共价连接的取代的氨基酸

<400> 185

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

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

<210> 186

<211> 40

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<220>

<221> 其它特征

<223> SEQ ID NO: 77

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (2).. (2)

<223> Xaa 为 Aib

<220>

<221> 其它特征

<222> (16).. (20)

<223> 16 和 20 位残基之间的内酰胺桥

<220>

[0144]





<210> 189  
 <211> 40  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成多肽

<220>  
 <221> 其它特征  
 <223> SEQ ID NO: 88

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Xaa 为 Aib

<220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (16)..(20)  
 <223> 16 和 20 位残基之间的内酰胺桥

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (27)..(27)  
 <223> Xaa 为 Nle

<220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (40)..(40)  
 <223> 与亲水基团共价连接的取代的氨基酸

<400> 189

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

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Val Asn Trp Leu Xaa Ala Gly Gly Pro Ser  
                   20                    25                    30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Xaa  
                   35                    40

<210> 190  
 <211> 40

[0147]



<220>  
 <221> 其它特征  
 <223> SEQ ID NO: 93

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Xaa 为 Aib

<220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (16)..(20)  
 <223> 16 和 20 位残基之间的内酰胺桥

<220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (43)..(43)  
 <223> 与亲水基团共价连接的取代的氨基酸

<400> 191

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

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gly Lys Gly Lys  
                   20                    25                    30

Lys Asn Trp Leu Lys His Asn Ile Thr Gln Xaa  
                   35                    40

<210> 192  
 <211> 40  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成多肽

<220>  
 <221> 其它特征  
 <223> SEQ ID NO: 99

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)

[0149]

<223> Xaa 为 Aib

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (20).. (20)

<223> Xaa 为 Aib

<220>

<221> 其它特征

<222> (40).. (40)

<223> 与亲水基团共价连接的取代的氨基酸

<220>

<221> 其它特征

<222> (40).. (40)

<223> C 末端酰胺化

<400> 192

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

Gln	Ala	Ala	Xaa	Glu	Phe	Val	Asn	Trp	Leu	Leu	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser
			20					25					30		

Ser	Gly	Ala	Pro	Pro	Pro	Ser	Xaa
		35					40

<210> 193

<211> 40

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<220>

<221> 其它特征

<223> SEQ ID NO: 100

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (2).. (2)

<223> Xaa 为 Aib

[0150]



<220>

<221> MOD\_RES

<222> (20)..(20)

<223> Xaa 为 Aib

<220>

<221> 其它特征

<222> (24)..(24)

<223> 与亲水基团共价连接的取代的氨基酸

<220>

<221> 其它特征

<222> (40)..(40)

<223> C 末端酰胺化

<400> 193

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

Gln Ala Ala Xaa Glu Phe Val Xaa Trp Leu Leu Ala Gly Gly Pro Ser  
                          20                           25                           30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Lys  
                          35                           40

<210> 194

<211> 40

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<220>

<221> 其它特征

<223> SEQ ID NO: 101, 102, 103

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (2)..(2)

<223> Xaa 为 Aib

<220>

<221> MOD\_RES

[0151]

<222> (20).. (20)

<223> Xaa 为 Aib

<220>

<221> 其它特征

<222> (24).. (24)

<223> 与亲水基团共价连接的取代的氨基酸

<220>

<221> 其它特征

<222> (40).. (40)

<223> 与酰基或烷基共价连接的取代的氨基酸

<220>

<221> 其它特征

<222> (40).. (40)

<223> C 末端酰胺化

<400> 194

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

Gln Ala Ala Xaa Glu Phe Val Xaa Trp Leu Leu Ala Gly Gly Pro Ser  
                  20                   25                   30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Xaa  
          35                   40

<210> 195

<211> 40

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<220>

<221> 其它特征

<223> SEQ ID NO: 104, 105, 106

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (2).. (2)

<223> Xaa 为 Aib

[0152]

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (20).. (20)

<223> Xaa 为 Aib

<220>

<221> 其它特征

<222> (40).. (40)

<223> 与酰基或烷基共价连接的取代的氨基酸

<220>

<221> 其它特征

<222> (40).. (40)

<223> C 末端酰胺化

<400> 195

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

Gln	Ala	Ala	Xaa	Glu	Phe	Val	Asn	Trp	Leu	Leu	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser
			20					25					30		

Ser	Gly	Ala	Pro	Pro	Pro	Ser	Xaa
		35				40	

<210> 196

<211> 40

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<220>

<221> 其它特征

<223> SEQ ID NO: 108

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (2).. (2)

<223> Xaa 为 Aib

<220>

[0153]

- <221> MOD\_RES  
 <222> (20).. (20)  
 <223> Xaa 为 Aib
- <220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (40).. (40)  
 <223> 与亲水基团共价连接的取代的氨基酸
- <220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (40).. (40)  
 <223> C 末端酰胺化
- <400> 196
- Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Ile Tyr Leu Asp Lys  
 1                    5                    10                    15
- Gln Ala Ala Xaa Glu Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gly Gly Pro Ser  
                   20                    25                    30
- Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Xaa  
                   35                    40
- <210> 197  
 <211> 39  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列
- <220>  
 <223> 合成多肽
- <220>  
 <221> 其它特征  
 <223> SEQ ID NO: 113, 114, 115
- <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2).. (2)  
 <223> Xaa 为 Aib
- <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (20).. (20)

[0154]



<220>

<221> MOD\_RES

<222> (20).. (20)

<223> Xaa 为 Aib

<220>

<221> 其它特征

<222> (39).. (39)

<223> C 末端酰胺化

<400> 198

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

Gln Ala Ala Xaa Glu Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gly Gly Pro Ser  
                   20                    25                    30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser  
                   35

<210> 199

<211> 40

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<220>

<221> 其它特征

<223> SEQ ID NO: 123, 124, 125

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (2).. (2)

<223> Xaa 为 Aib

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (20).. (20)

<223> Xaa 为 Aib

<220>

<221> 其它特征

[0156]







<400> 201

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

Gln Ala Ala Xaa Glu Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gly  
                    20                      25

<210> 202

<211> 40

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<220>

<221> 其它特征

<223> SEQ ID NO: 132

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (2)..(2)

<223> Xaa 为 Aib

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (20)..(20)

<223> Xaa 为 Aib

<220>

<221> 其它特征

<222> (40)..(40)

<223> 与酰基或烷基共价连接的取代的氨基酸

<220>

<221> 其它特征

<222> (40)..(40)

<223> C 末端酰胺化

<400> 202

Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Ile Tyr Leu Asp Lys  
1                      5                      10                      15

[0159]

Gln Ala Ala Xaa Glu Phe Val Cys Trp Leu Leu Ala Gly Gly Pro Ser  
 20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Xaa  
 35 40

<210> 203

<211> 40

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<220>

<221> 其它特征

<223> SEQ ID NO: 136, 137, 138

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (2)..(2)

<223> Xaa 为 Aib

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (20)..(20)

<223> Xaa 为 Aib

<220>

<221> 其它特征

<222> (24)..(24)

<223> 与亲水基团共价连接的取代的氨基酸

<220>

<221> 其它特征

<222> (40)..(40)

<223> 与酰基或烷基共价连接的取代的氨基酸

<220>

<221> 其它特征

<222> (40)..(40)

<223> C 末端酰胺化

<400> 203

Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Ile Tyr Leu Asp Lys

[0160]

1                    5                    10                    15

Gln Ala Ala Xaa Glu Phe Val Xaa Trp Leu Leu Ala Gly Gly Pro Ser

                         20                    25                    30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Xaa

                         35                    40

<210> 204  
 <211> 40  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成多肽

<220>  
 <221> 其它特征  
 <223> SEQ ID NO: 139

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Xaa 为 Aib

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (20)..(20)  
 <223> Xaa 为 Aib

<220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (24)..(24)  
 <223> 与亲水基团共价连接的取代的氨基酸

<220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (40)..(40)  
 <223> C 末端酰胺化

<400> 204

Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Ile Tyr Leu Asp Lys

1                    5                    10                    15

[0161]

Gln Ala Ala Xaa Glu Phe Val Xaa Trp Leu Leu Ala Gly Gly Pro Ser  
 20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Lys  
 35 40

<210> 205  
 <211> 40  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成多肽

<220>  
 <221> 其它特征  
 <223> SEQ ID NO: 140

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2).. (2)  
 <223> Xaa 为 Aib

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (20).. (20)  
 <223> Xaa 为 Aib

<220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (40).. (40)  
 <223> 与亲水基团共价连接的取代的氨基酸

<220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (40).. (40)  
 <223> C 末端酰胺化

<400> 205

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

Gln Ala Ala Xaa Glu Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gly Gly Pro Ser

[0162]

	20	25	30
Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Xaa			
	35	40	
<210>	206		
<211>	40		
<212>	PRT		
<213>	人工序列		
<220>			
<223>	合成多肽		
<220>			
<221>	其它特征		
<223>	SEQ ID NO: 141		
<220>			
<221>	MOD_RES		
<222>	(2)..(2)		
<223>	Xaa 为 Aib		
<220>			
<221>	MOD_RES		
<222>	(20)..(20)		
<223>	Xaa 为 Aib		
<220>			
<221>	其它特征		
<222>	(40)..(40)		
<223>	与酰基或烷基共价连接的取代的氨基酸		
<220>			
<221>	其它特征		
<222>	(40)..(40)		
<223>	C 末端酰胺化		
<400>	206		
Tyr Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Ile Tyr Leu Asp Lys			
1	5	10	15
Gln Ala Ala Xaa Glu Phe Val Cys Trp Leu Leu Ala Gly Gly Pro Ser			
	20	25	30

[0163]

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Xaa  
 35 40

<210> 207  
 <211> 40  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成多肽

<220>  
 <221> 其它特征  
 <223> SEQ ID NO: 142

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Xaa 为 Aib

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (20)..(20)  
 <223> Xaa 为 Aib

<220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (40)..(40)  
 <223> 与酰基或烷基共价连接的取代的氨基酸

<220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (40)..(40)  
 <223> C 末端酰胺化

<400> 207

Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Ile Tyr Leu Asp Lys  
 1 5 10 15

Gln Ala Ala Xaa Glu Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Gly Gly Pro Ser  
 20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Xaa

[0164]

35

40

<210> 208  
 <211> 40  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成多肽

<220>  
 <221> 其它特征  
 <223> SEQ ID NO: 143

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Xaa 为 Aib

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (20)..(20)  
 <223> Xaa 为 Aib

<220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (24)..(24)  
 <223> 与亲水基团共价连接的取代的氨基酸

<220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (40)..(40)  
 <223> 与酰基或烷基共价连接的取代的氨基酸

<220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (40)..(40)  
 <223> C 末端酰胺化

<400> 208

Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Ile Tyr Leu Asp Lys  
 1 5 10 15

Gln Ala Ala Xaa Glu Phe Val Xaa Trp Leu Met Asn Gly Gly Pro Ser  
 20 25 30

[0165]

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Xaa  
35 40

<210> 209  
<211> 40  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成多肽

<220>  
<221> 其它特征  
<223> SEQ ID NO: 144, 145

<220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (2).. (2)  
<223> Xaa 为 Aib

<220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (20).. (20)  
<223> Xaa 为 Aib

<220>  
<221> 其它特征  
<222> (40).. (40)  
<223> 与酰基或烷基共价连接的取代的氨基酸

<220>  
<221> 其它特征  
<222> (40).. (40)  
<223> C 末端酰胺化

<400> 209

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

Gln Ala Ala Xaa Glu Phe Val Cys Trp Leu Leu Ala Gly Gly Pro Ser  
20 25 30

[0166]



Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Xaa  
 35 40

<210> 210  
 <211> 40  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成多肽

<220>  
 <221> 其它特征  
 <223> SEQ ID NO: 148

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Xaa 为 Aib

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (20)..(20)  
 <223> Xaa 为 Aib

<220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (40)..(40)  
 <223> 与酰基或烷基共价连接的取代的氨基酸

<220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (40)..(40)  
 <223> C 末端酰胺化

<400> 210

Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Ile Tyr Leu Asp Lys  
 1 5 10 15

Gln Ala Ala Xaa Glu Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gly Gly Pro Ser  
 20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Xaa  
 35 40

[0167]

<210> 211  
 <211> 40  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成多肽

<220>  
 <221> 其它特征  
 <223> SEQ ID NO: 152

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Xaa 为 Aib

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (20)..(20)  
 <223> Xaa 为 Aib

<220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (40)..(40)  
 <223> 与酰基或烷基共价连接的取代的氨基酸

<220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (40)..(40)  
 <223> C 末端酰胺化

<400> 211

Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Ile Tyr Leu Asp Lys  
 1                    5                    10                    15

Gln Ala Ala Xaa Glu Phe Val Cys Trp Leu Leu Ala Gly Gly Pro Ser  
                   20                    25                    30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Xaa  
           35                    40

[0168]

<210> 212  
 <211> 40  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成多肽

<220>  
 <221> 其它特征  
 <223> SEQ ID NO: 152

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2).. (2)  
 <223> Xaa 为 Aib

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (20).. (20)  
 <223> Xaa 为 Aib

<220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (40).. (40)  
 <223> 与酰基或烷基共价连接的取代的氨基酸

<220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (40).. (40)  
 <223> C 末端酰胺化

<400> 212

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

Gln Ala Ala Xaa Glu Phe Val Cys Trp Leu Leu Ala Gly Gly Pro Ser  
   20   25   30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Xaa  
    35   40

<210> 213  
 <211> 40

<212> PRT  
 <213> 人工序列  
  
 <220>  
 <223> 合成多肽  
  
 <220>  
 <221> 其它特征  
 <223> SEQ ID NO: 153  
  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Xaa 为 Aib  
  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (20)..(20)  
 <223> Xaa 为 Aib  
  
 <220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (24)..(24)  
 <223> 与亲水基团共价连接的取代的氨基酸  
  
 <220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (40)..(40)  
 <223> C 末端酰胺化  
  
 <400> 213  
  
 Tyr Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Ile Tyr Leu Asp Lys  
 1                    5                    10                    15  
  
 Gln Ala Ala Xaa Glu Phe Val Xaa Trp Leu Leu Ala Gly Gly Pro Ser  
                   20                    25                    30  
  
 Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Lys  
                   35                    40  
  
 <210> 214  
 <211> 40  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

[0170]

<220>

<223> 合成多肽

<220>

<221> 其它特征

<223> SEQ ID NO: 154

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (2).. (2)

<223> Xaa 为 Aib

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (20).. (20)

<223> Xaa 为 Aib

<220>

<221> 其它特征

<222> (40).. (40)

<223> 与酰基或烷基共价连接的取代的氨基酸

<220>

<221> 其它特征

<222> (40).. (40)

<223> C 末端酰胺化

<400> 214

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

Gln Ala Ala Xaa Glu Phe Val Cys Trp Leu Leu Ala Gly Gly Pro Ser  
                   20                         25                         30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Xaa  
                   35                         40

<210> 215

<211> 40

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

[0171]

<223> 合成多肽

<220>

<221> 其它特征

<223> SEQ ID NO: 156

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (2).. (2)

<223> Xaa 为 Aib

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (20).. (20)

<223> Xaa 为 Aib

<220>

<221> 其它特征

<222> (24).. (24)

<223> 与亲水基团共价连接的取代的氨基酸

<220>

<221> 其它特征

<222> (40).. (40)

<223> 与酰基或烷基共价连接的取代的氨基酸

<220>

<221> 其它特征

<222> (40).. (40)

<223> C 末端酰胺化

<400> 215

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

Gln Ala Ala Xaa Glu Phe Val Xaa Trp Leu Leu Ala Gly Gly Pro Ser  
                  20                    25                    30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Xaa  
                  35                    40

<210> 216

<211> 40

<212> PRT

[0172]

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<220>

<221> 其它特征

<223> SEQ ID NO: 157

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (2)..(2)

<223> Xaa 为 Aib

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (20)..(20)

<223> Xaa 为 Aib

<220>

<221> 其它特征

<222> (24)..(24)

<223> 与亲水基团共价连接的取代的氨基酸

<220>

<221> 其它特征

<222> (40)..(40)

<223> C 末端酰胺化

<400> 216

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

Gln	Ala	Ala	Xaa	Glu	Phe	Val	Xaa	Trp	Leu	Leu	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser
			20					25					30		

Ser	Gly	Ala	Pro	Pro	Pro	Ser	Xaa
		35					40

<210> 217

<211> 39

<212> PRT

<213> 人工序列

[0173]

<220>  
<223> 合成多肽

<220>  
<221> 其它特征  
<223> SEQ ID NO: 235

<220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (2).. (2)  
<223> Xaa 为 Aib

<220>  
<221> 其它特征  
<222> (10).. (10)  
<223> 与酰基或烷基共价连接的取代的氨基酸

<220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (20).. (20)  
<223> Xaa 为 Aib

<220>  
<221> 其它特征  
<222> (40).. (40)  
<223> C 末端酰胺化

<400> 217

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

Gln Ala Ala Xaa Glu Phe Val Cys Trp Leu Leu Ala Gly Gly Pro Ser  
                  20                           25                           30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser  
          35

<210> 218  
<211> 41  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成多肽

[0174]



<220>  
 <221> 其它特征  
 <223> SEQ ID NO: 160

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2).. (2)  
 <223> Xaa 为 Aib

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (20).. (20)  
 <223> Xaa 为 Aib

<220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (40).. (40)  
 <223> 与酰基或烷基共价连接的取代的氨基酸

<220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (41).. (41)  
 <223> C 末端酰胺化

<400> 218

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

Gln Ala Ala Xaa Glu Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gly Gly Pro Ser  
                   20                    25                    30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Xaa Cys  
                   35                    40

<210> 219  
 <211> 39  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成多肽

[0175]

- <220>
- <221> 其它特征
- <223> SEQ ID NO: 162
  
- <220>
- <221> MOD\_RES
- <222> (2).. (2)
- <223> Xaa 为 Aib
  
- <220>
- <221> 其它特征
- <222> (10).. (10)
- <223> 与酰基或烷基共价连接的取代的氨基酸
  
- <220>
- <221> MOD\_RES
- <222> (20).. (20)
- <223> Xaa 为 Aib
  
- <220>
- <221> 其它特征
- <222> (24).. (24)
- <223> 与亲水基团共价连接的取代的氨基酸

- <220>
- <221> 其它特征
- <222> (39).. (39)
- <223> C 末端酰胺化

<400> 219

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

Gln Ala Ala Xaa Glu Phe Val Xaa Trp Leu Leu Ala Gly Gly Pro Ser  
                                   20                                    25                                    30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser  
                                   35

- <210> 220
- <211> 41
- <212> PRT
- <213> 人工序列

<220>

[0176]

<223> 合成多肽

<220>

<221> 其它特征

<223> SEQ ID NO: 163

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (2)..(2)

<223> Xaa 为 Aib

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (20)..(20)

<223> Xaa 为 Aib

<220>

<221> 其它特征

<222> (40)..(40)

<223> 与酰基或烷基共价连接的取代的氨基酸

<220>

<221> 其它特征

<222> (41)..(41)

<223> 与亲水基团共价连接的取代的氨基酸

<220>

<221> 其它特征

<222> (41)..(41)

<223> C 末端酰胺化

<400> 220

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

Gln Ala Ala Xaa Glu Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gly Gly Pro Ser  
                    20                      25                      30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Xaa Xaa  
                    35                      40

<210> 221

<211> 41

<212> PRT

[0177]

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<220>

<221> 其它特征

<223> SEQ ID NO: 164

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (2).. (2)

<223> Xaa 为 Aib

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (20).. (20)

<223> Xaa 为 Aib

<220>

<221> 其它特征

<222> (41).. (41)

<223> 与亲水基团共价连接的取代的氨基酸

<220>

<221> 其它特征

<222> (41).. (41)

<223> C 末端酰胺化

<400> 221

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

Gln Ala Ala Xaa Glu Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gly Gly Pro Ser  
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Lys Xaa  
35 40

<210> 222

<211> 40

<212> PRT

<213> 人工序列

[0178]

<220>  
<223> 合成多肽

<220>  
<221> 其它特征  
<223> SEQ ID NO: 165

<220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (2)..(2)  
<223> Xaa 为 Aib

<220>  
<221> 其它特征  
<222> (40)..(40)  
<223> 与酰基或烷基共价连接的取代的氨基酸

<220>  
<221> 其它特征  
<222> (40)..(40)  
<223> C 末端酰胺化

<400> 222

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

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Cys Trp Leu Met Asn Gly Gly Pro Ser  
                  20                    25                    30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Xaa  
                  35                    40

<210> 223  
<211> 40  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成多肽

<220>  
<221> 其它特征  
<223> SEQ ID NO: 166

[0179]

- <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2).. (2)  
 <223> Xaa 为 Aib
- <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (20).. (20)  
 <223> Xaa 为 Aib
- <220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (24).. (24)  
 <223> 与亲水基团共价连接的取代的氨基酸
- <220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (40).. (40)  
 <223> 与酰基或烷基共价连接的取代的氨基酸
- <220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (40).. (40)  
 <223> C 末端酰胺化
- <400> 223
- Tyr Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Ile Tyr Leu Asp Lys  
 1                   5                   10                   15
- Gln Ala Ala Xaa Glu Phe Val Xaa Trp Leu Leu Ala Gly Gly Pro Ser  
           20                   25                   30
- Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Xaa  
           35                   40
- <210> 224  
 <211> 40  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列
- <220>  
 <223> 合成多肽

[0180]

<220>  
 <221> 其它特征  
 <223> SEQ ID NO: 173

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2).. (2)  
 <223> Xaa 为 Aib

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (16).. (16)  
 <223> Xaa 为 Aib

<220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (40).. (40)  
 <223> 与亲水基团共价连接的取代的氨基酸

<220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (40).. (40)  
 <223> C 末端酰胺化

<400> 224

Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Ile Tyr Leu Asp Xaa  
 1                    5                    10                    15

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

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Xaa  
                   35                    40

<210> 225  
 <211> 40  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成多肽

<220>  
 <221> 其它特征

[0181]

<223> SEQ ID NO: 174

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (2).. (2)

<223> Xaa 为 Aib

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (16).. (16)

<223> Xaa 为 Aib

<220>

<221> 其它特征

<222> (40).. (40)

<223> 与亲水基团共价连接的取代的氨基酸

<220>

<221> 其它特征

<222> (40).. (40)

<223> C 末端酰胺化

<400> 225

Tyr	Xaa	Gln	Gly	Thr	Phe	Thr	Ser	Asp	Tyr	Ser	Ile	Tyr	Leu	Asp	Xaa
1				5					10					15	

Gln	Ala	Ala	Gln	Glu	Phe	Val	Asn	Trp	Leu	Leu	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser
			20					25						30	

Ser	Gly	Ala	Pro	Pro	Pro	Ser	Xaa
		35				40	

<210> 226

<211> 30

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (2).. (2)

<223> Xaa 为 Aib

[0182]



<220>  
<221> 其它特征  
<222> (24).. (24)  
<223> 与亲水基团共价连接的取代的氨基酸

<400> 226

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

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

<210> 227  
<211> 29  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成多肽

<220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (2).. (2)  
<223> Xaa 为 Aib

<220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (20).. (20)  
<223> Xaa 为 Aib

<220>  
<221> 其它特征  
<222> (29).. (29)  
<223> C 末端酰胺化

<400> 227

Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Ile Tyr Leu Asp Lys  
1                      5                      10                      15

Gln Ala Ala Xaa Glu Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gly  
                  20                      25

[0183]

- <210> 228
- <211> 29
- <212> PRT
- <213> 人工序列
  
- <220>
- <223> 合成多肽
  
- <220>
- <221> MOD\_RES
- <222> (2).. (2)
- <223> Xaa 为 D-Ser、DAla、Val、Gly、N-甲基 Ser、N-甲基 Ala 或 Aib
  
- <220>
- <221> MOD\_RES
- <222> (16).. (16)
- <223> Xaa 为 Lys、Glu、Ser、Orn、Dab、Aib 或任何  $\alpha,\alpha$ -二取代的氨基酸
  
- <220>
- <221> MOD\_RES
- <222> (20).. (20)
- <223> Xaa 为任何  $\alpha,\alpha$ -二取代的氨基酸
  
- <220>
- <221> MOD\_RES
- <222> (27).. (27)
- <223> Xaa 为 Ile、Leu 或 Nle
  
- <220>
- <221> MOD\_RES
- <222> (28).. (28)
- <223> Xaa 为 Ala 或 Gly
  
- <220>
- <221> MOD\_RES
- <222> (29).. (29)
- <223> Xaa 为 Thr、Ala 或 Gly
  
- <220>
- <221> 其它特征
- <222> (29).. (29)
- <223> C 末端酰胺化
  
- <400> 228
  

Tyr	Xaa	Gln	Gly	Thr	Phe	Thr	Ser	Asp	Tyr	Ser	Ile	Tyr	Leu	Asp	Xaa
1				5					10				15		

[0184]

Gln Ala Ala Xaa Glu Phe Val Asn Trp Leu Xaa Xaa Xaa  
 20 25

<210> 229  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成多肽

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Xaa 为 Aib

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (20)..(20)  
 <223> Xaa 为 Aib

<220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (29)..(29)  
 <223> C 末端酰胺化

<400> 229

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

Arg Arg Ala Xaa Asp Phe Val Gln Trp Leu Leu Ala Gly  
 20 25

<210> 230  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成多肽

[0185]

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2).. (2)  
 <223> Xaa 为 D-Ser、DAla、Val、Gly、N-甲基 Ser、N-甲基 Ala 或 Aib

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (16).. (16)  
 <223> Xaa 为 Lys、Glu、Ser、Orn、Dab、Aib 或  $\alpha,\alpha$ -二取代的氨基酸

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (20).. (20)  
 <223> Xaa 为任何  $\alpha,\alpha$ -二取代的氨基酸

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (27).. (27)  
 <223> Xaa 为 Ile、Leu 或 Nle

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (28).. (28)  
 <223> Xaa 为 Ala 或 Gly

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (29).. (29)  
 <223> Xaa 为 Thr、Ala 或 Gly

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (29).. (29)  
 <223> C 末端酰胺化

<400> 230

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

Arg Arg Ala Xaa Asp Phe Val Gln Trp Leu Xaa Xaa Xaa  
 20 25

<210> 231  
 <211> 41  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

[0186]

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成多肽

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; 其它特征

&lt;223&gt; Mt-354

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; 其它特征

&lt;223&gt; 同二聚体

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; MOD\_RES

&lt;222&gt; (2)..(2)

&lt;223&gt; Xaa 为 Aib

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; MOD\_RES

&lt;222&gt; (20)..(20)

&lt;223&gt; Xaa 为 Aib

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; 其它特征

&lt;222&gt; (40)..(40)

&lt;223&gt; 与赖氨酸共价连接的 14 碳脂肪酰基

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; MOD\_RES

&lt;222&gt; (40)..(40)

&lt;223&gt; C 末端酰胺化

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; DISULFID

&lt;222&gt; (41)..(41)

&lt;223&gt; 用具有相同结构的第二个肽的 Cys 残基形成的二硫键

&lt;400&gt; 231

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

Gln	Ala	Ala	Xaa	Glu	Phe	Val	Asn	Trp	Leu	Leu	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser
				20				25						30	

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Lys Cys

[0187]

35 40

<210> 232  
 <211> 40  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成多肽

<220>  
 <221> 其它特征  
 <223> Mt-356

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Xaa 为 Aib

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (20)..(20)  
 <223> Xaa 为 Aib

<220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (40)..(40)  
 <223> C 末端酰胺化

<400> 232

Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Ile Tyr Leu Asp Lys  
 1 5 10 15

Gln Ala Ala Xaa Glu Phe Val Asn Trp Leu Met Asn Gly Gly Pro Ser  
 20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Lys  
 35 40

<210> 233  
 <211> 40  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

[0188]



<223> Mt-358

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (2)..(2)

<223> Xaa 为 Aib

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (20)..(20)

<223> Xaa 为 Aib

<220>

<221> 其它特征

<222> (40)..(40)

<223> 与赖氨酸共价连接的 16 碳脂肪酰基

<220>

<221> 其它特征

<222> (40)..(40)

<223> C 末端酰胺化

<400> 234

Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Ile Ser Asp Tyr Ser Ile Tyr Leu Asp Lys  
 1                      5                      10                      15

Gln Ala Ala Xaa Glu Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gly Gly Pro Ser  
                     20                      25                      30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Lys  
                     35                      40

<210> 235

<211> 40

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<220>

<221> 其它特征

<223> Mt-367

[0190]



- <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Xaa 为 Aib
- <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (20)..(20)  
 <223> Xaa 为 Aib
- <220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (40)..(40)  
 <223> 经由  $\gamma$ -Glu- $\gamma$ -Glu 间隔物与赖氨酸共价连接的 16 碳脂肪酰基
- <220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (40)..(40)  
 <223> C 末端酰胺化
- <400> 235
- |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Tyr | Xaa | Glu | Gly | Thr | Phe | Thr | Ser | Asp | Tyr | Ser | Ile | Tyr | Leu | Asp | Lys |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |     |
- 
- |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Gln | Ala | Ala | Xaa | Glu | Phe | Val | Asn | Trp | Leu | Leu | Ala | Gly | Gly | Pro | Ser |
|     |     |     | 20  |     |     |     | 25  |     |     |     |     |     | 30  |     |     |
- 
- |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ser | Gly | Ala | Pro | Pro | Pro | Ser | Lys |
|     |     | 35  |     |     |     | 40  |     |
- <210> 236  
 <211> 40  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列
- <220>  
 <223> 合成多肽
- <220>  
 <221> 其它特征  
 <223> Mt-368
- <220>  
 <221> MOD\_RES

[0191]

<222> (2).. (2)  
<223> Xaa 为 Aib

<220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (20).. (20)  
<223> Xaa 为 Aib

<220>  
<221> 其它特征  
<222> (40).. (40)  
<223> 经由  $\gamma$ -Glu- $\gamma$ -Glu 间隔物与赖氨酸共价连接的 16 碳脂肪酰基

<220>  
<221> 其它特征  
<222> (40).. (40)  
<223> C 末端酰胺化

<400> 236

Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Ile Tyr Leu Asp Lys  
1                    5                    10                    15

Gln Ala Ala Xaa Glu Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gly Gly Pro Ser  
                  20                    25                    30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Lys  
                  35                    40

<210> 237  
<211> 40  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成多肽

<220>  
<221> 其它特征  
<223> Mt-369

<220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (2).. (2)  
<223> Xaa 为 Aib

[0192]

<220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (10)..(10)  
 <223> 经由  $\gamma$ -Glu- $\gamma$ -Glu 间隔物与赖氨酸共价连接的 16 碳脂肪酰基

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (20)..(20)  
 <223> Xaa 为 Aib

<220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (40)..(40)  
 <223> C 末端酰胺化

<400> 237

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

Gln Ala Ala Xaa Glu Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gly Gly Pro Ser  
                   20                    25                    30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Lys  
                   35                    40

<210> 238  
 <211> 41  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成多肽

<220>  
 <221> 其它特征  
 <223> Mt-376

<220>  
 <221> 其它特征  
 <223> 同二聚体

<220>  
 <221> MOD\_RES

[0193]

<222> (2)..(2)  
 <223> Xaa 为 Aib

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (20)..(20)  
 <223> Xaa 为 Aib

<220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (40)..(40)  
 <223> 与赖氨酸共价连接的 14 碳脂肪酰基

<220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (41)..(41)  
 <223> C 末端酰胺化

<220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (41)..(41)  
 <223> 与 20 kDa PEG 共价连接的 Cys 残基, 所述 20 kDa PEG 继而与具有相同结构的第二个肽的 Cys 残基共价连接

<400> 238

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

Gln Ala Ala Xaa Glu Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gly Gly Pro Ser  
                     20                      25                      30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Lys Cys  
                     35                      40

<210> 239  
 <211> 41  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成多肽

<220>  
 <221> 其它特征

[0194]

<223> Mt-377

<220>

<221> 其它特征

<223> 同二聚体

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (2)..(2)

<223> Xaa 为 Aib

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (20)..(20)

<223> Xaa 为 Aib

<220>

<221> 其它特征

<222> (40)..(40)

<223> 与赖氨酸共价连接的 14 碳脂肪酰基

<220>

<221> 其它特征

<222> (41)..(41)

<223> 与半胱氨酸共价连接的 PEG (5kDa)

<220>

<221> 其它特征

<222> (41)..(41)

<223> C 末端酰胺化

<220>

<221> 其它特征

<222> (41)..(41)

<223> 与 5 kDa PEG 共价连接的 Cys 残基, 所述 5 kDa PEG 继而与具有相同结构的第二个肽的 Cys 残基共价连接

<400> 239

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

Gln	Ala	Ala	Xaa	Glu	Phe	Val	Asn	Trp	Leu	Leu	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser
			20					25					30		

Ser	Gly	Ala	Pro	Pro	Pro	Ser	Lys	Cys
			35				40	

[0195]

<210> 240  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成多肽

<220>  
 <221> 其它特征  
 <223> Peptide J

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (3)..(3)  
 <223> Xaa 为谷氨酰胺类似物

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (27)..(27)  
 <223> Xaa 为 Nle

<400> 240

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

Arg Arg Ala Ala Glu Phe Val Ala Trp Leu Xaa Asp Glu  
                   20                    25

<210> 241  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成多肽

<220>  
 <221> 其它特征  
 <223> 肽 K

<220>

[0196]

<221> MOD\_RES  
 <222> (3)..(3)  
 <223> Xaa 为谷氨酰胺类似物

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Xaa 为 Aib

<400> 241

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

Arg Arg Ala Ala Asp Phe Val Ala Trp Leu Met Asp Glu  
           20                   25

<210> 242  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成多肽

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (27)..(27)  
 <223> Xaa 为 Nle

<400> 242

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

Arg Arg Ala Ala Glu Phe Val Ala Trp Leu Xaa Asp Glu  
           20                   25

<210> 243  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>

[0197]

<223> 合成肽

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (3).. (3)

<223> Xaa 为乙酰氨基甲基-半胱氨酸

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (27).. (27)

<223> Xaa 为 Nle

<400> 243

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

Arg Arg Ala Ala Glu Phe Val Ala Trp Leu Xaa Asp Glu  
                  20                   25

<210> 244

<211> 29

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (3).. (3)

<223> Xaa 为乙酰基二氨基丁酸

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (27).. (27)

<223> Xaa 为 Nle

<400> 244

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

Arg Arg Ala Ala Glu Phe Val Ala Trp Leu Xaa Asp Glu

[0198]



20

25

<210> 245  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成多肽

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (3).. (3)  
 <223> Xaa 为氨基甲酰基二氨基丙酸

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (27).. (27)  
 <223> Xaa 为 Nle

<400> 245

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

Arg Arg Ala Ala Glu Phe Val Ala Trp Leu Xaa Asp Glu  
                   20                    25

<210> 246  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成多肽

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (3).. (3)  
 <223> Xaa 为甲基谷氨酰胺

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (27).. (27)

[0199]

<223> Xaa 为 N1e

<400> 246

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

Arg Arg Ala Ala Glu Phe Val Ala Trp Leu Xaa Asp Glu  
                  20                    25

<210> 247

<211> 29

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (3).. (3)

<223> Xaa 为甲硫氨酸亚砷

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (27).. (27)

<223> Xaa 为 N1e

<400> 247

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

Arg Arg Ala Ala Glu Phe Val Ala Trp Leu Xaa Asp Glu  
                  20                    25

<210> 248

<211> 29

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

[0200]



<220>

<223> 合成多肽

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (3)..(3)

<223> Xaa 为乙酰基二氨基丁酸

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (16)..(16)

<223> Xaa 为 Aib

<400> 250

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

Arg Arg Ala Ala Asp Phe Val Ala Trp Leu Met Asp Glu  
20 25

<210> 251

<211> 29

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (3)..(3)

<223> Xaa 为甲基谷氨酰胺

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (16)..(16)

<223> Xaa 为 Aib

<400> 251

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

[0202]

Arg Arg Ala Ala Asp Phe Val Ala Trp Leu Met Asp Glu  
 20 25

<210> 252  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成多肽

<400> 252

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

Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asp Thr  
 20 25

<210> 253  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成多肽

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (3)..(3)  
 <223> Xaa 为乙酰基二氨基丁酸

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Xaa 为 Aib

<400> 253

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

Arg Arg Ala Ala Asp Phe Val Ala Trp Leu Leu Asp Glu

[0203]



<220>

<221> MOD\_RES

<222> (3).. (3)

<223> Xaa 为乙酰基二氨基丁酸

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (16).. (16)

<223> Xaa 为 Aib

<400> 255

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

Arg	Arg	Ala	Ser	Asp	Phe	Val	Ser	Trp	Leu	Leu	Asp	Glu
		20						25				

<210> 256

<211> 29

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (3).. (3)

<223> Xaa 为乙酰基二氨基丁酸

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (16).. (16)

<223> Xaa 为 Aib

<400> 256

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

Arg	Arg	Ala	Thr	Asp	Phe	Val	Thr	Trp	Leu	Leu	Asp	Glu
		20						25				

[0205]

<210> 257

<400> 257  
000

<210> 258

<400> 258  
000

<210> 259

<211> 40  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<220>

<221> 其它特征  
<223> mt-225

<220>

<221> MOD\_RES  
<222> (2)..(2)  
<223> Xaa 为 Aib

<220>

<221> 其它特征  
<222> (16)..(20)  
<223> 内酰胺桥连接 Glu16 和 Lys20

<220>

<221> MOD\_RES  
<222> (40)..(40)  
<223> 赖氨酸的  $\epsilon$  氨基与 Ala-Ac-Cys(PEG)连接, 其中所述 Ac-Cys(PEG)为包含用乙酰基(CH<sub>3</sub>CO)加帽的  $\alpha$  氨基并包含与其侧链共价连接的 40 kDa PEG 的 Cys 残基

<400> 259

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

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

[0206]



Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Lys  
 35 40

<210> 260  
 <211> 40  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成肽

<220>  
 <221> 其它特征  
 <223> mt-227

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2).. (2)  
 <223> Xaa 为 Aib

<220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (16).. (20)  
 <223> 内酰胺桥连接 Glu16 和 Lys20

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (40).. (40)  
 <223> 赖氨酸的  $\epsilon$  氨基与 Ala-Ac-Cys (PEG) 连接, 其中所述 Ac-Cys (PEG) 为包含用乙酰基 (CH<sub>3</sub>CO) 加帽的  $\alpha$  氨基并包含与其侧链共价连接的 40 kDa PEG 的 Cys 残基

<400> 260

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

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

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Lys  
 35 40

<210> 261

[0207]

<211> 40  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成肽

<220>  
 <221> 其它特征  
 <223> mt-294

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Xaa 为 Aib

<220>  
 <221> 其它特征  
 <222> (16)..(20)  
 <223> 内酰胺桥连接 Glu16 和 Lys20

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (40)..(40)  
 <223> 经由硫醚键共价连接的 Cys-PEG

<400> 261

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

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

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Cys  
                           35                    40

<210> 262  
 <211> 40  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成肽

[0208]

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (2)..(2)

<223> Xaa 为 Aib

<400> 262

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

Arg	Arg	Ala	Gln	Asp	Phe	Val	Gln	Trp	Leu	Met	Asn	Thr	Gly	Pro	Ser
			20					25					30		

Ser	Gly	Ala	Pro	Pro	Pro	Ser	Lys
		35					40

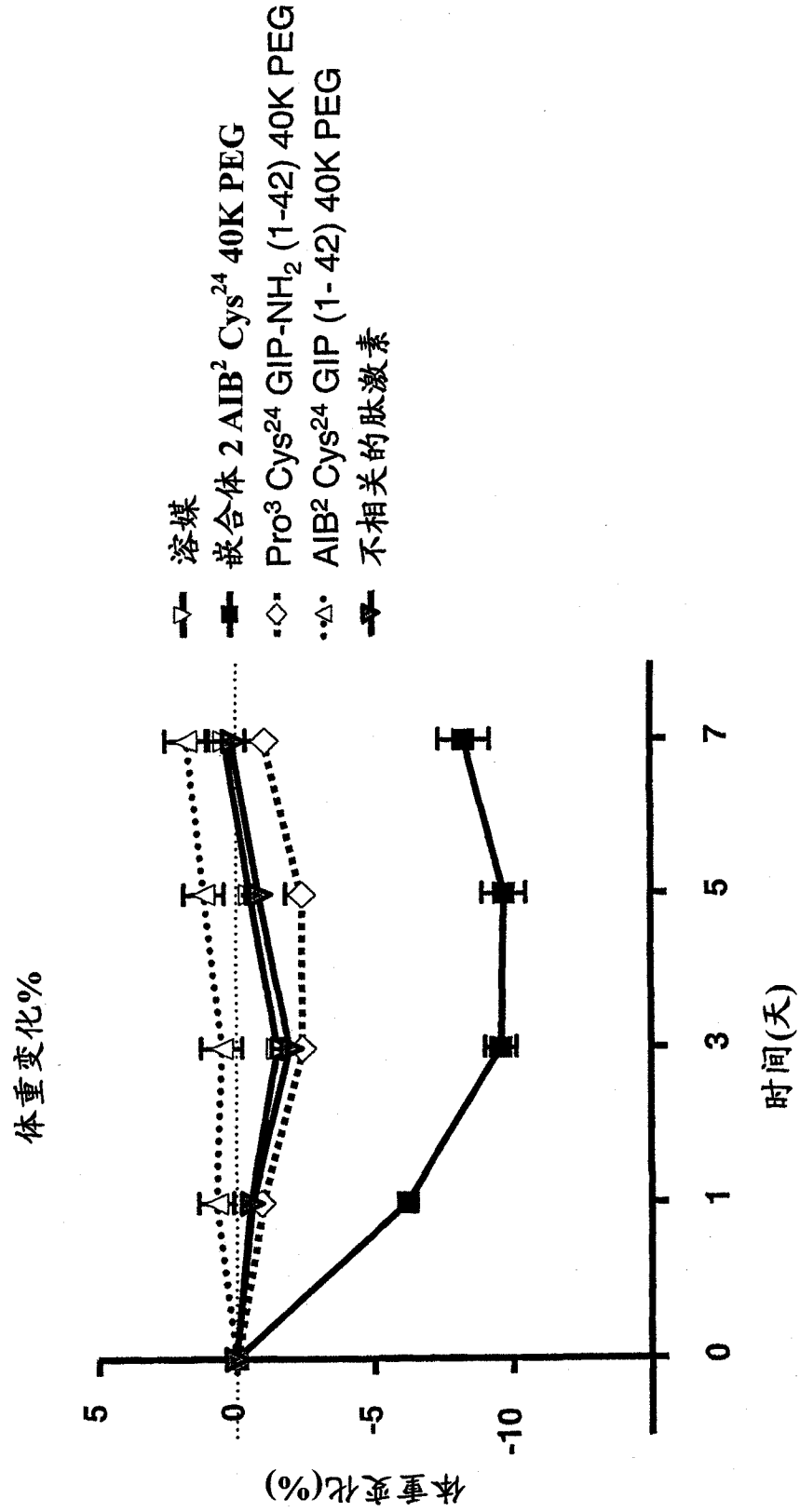


图 1

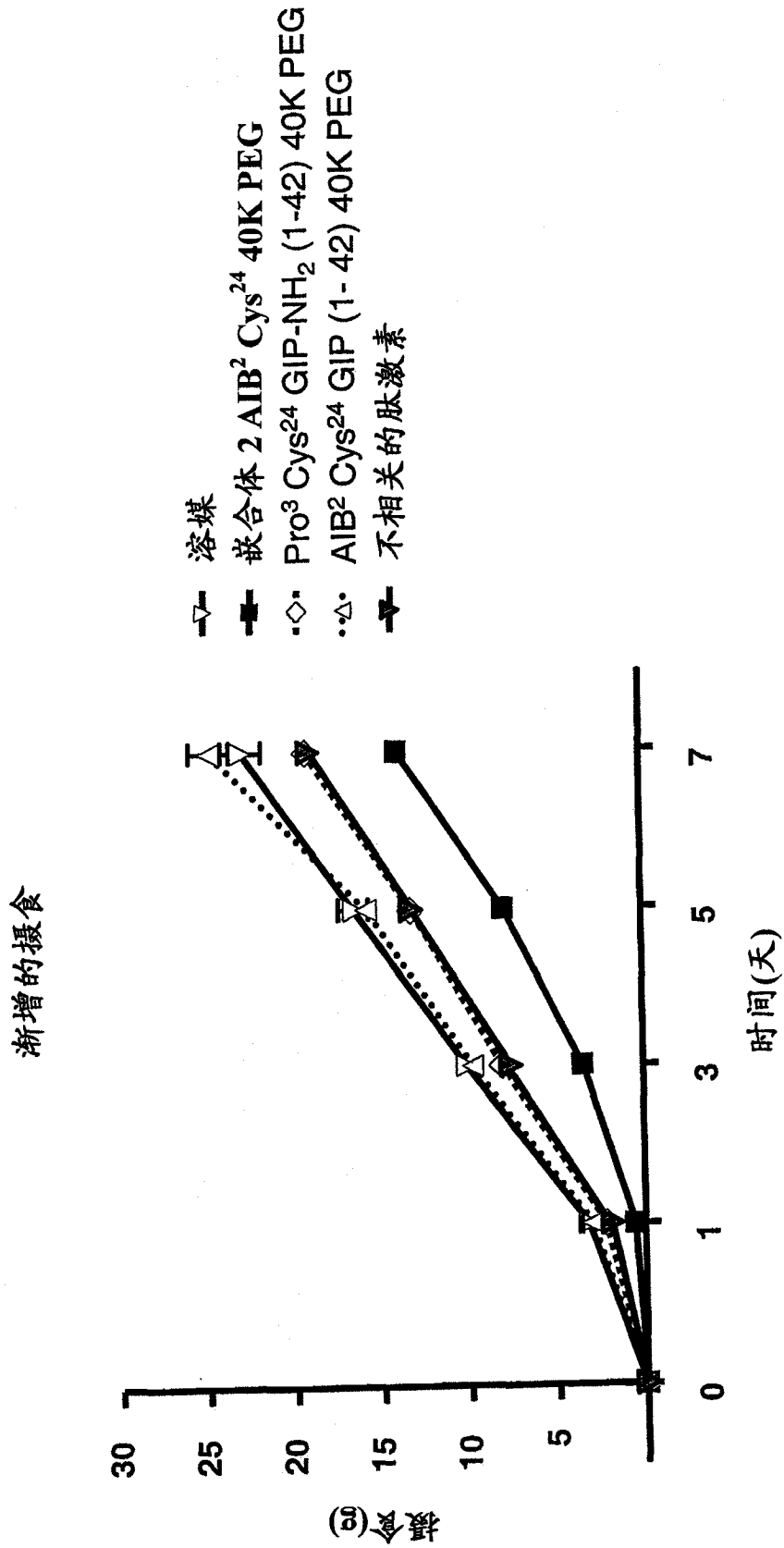


图 2

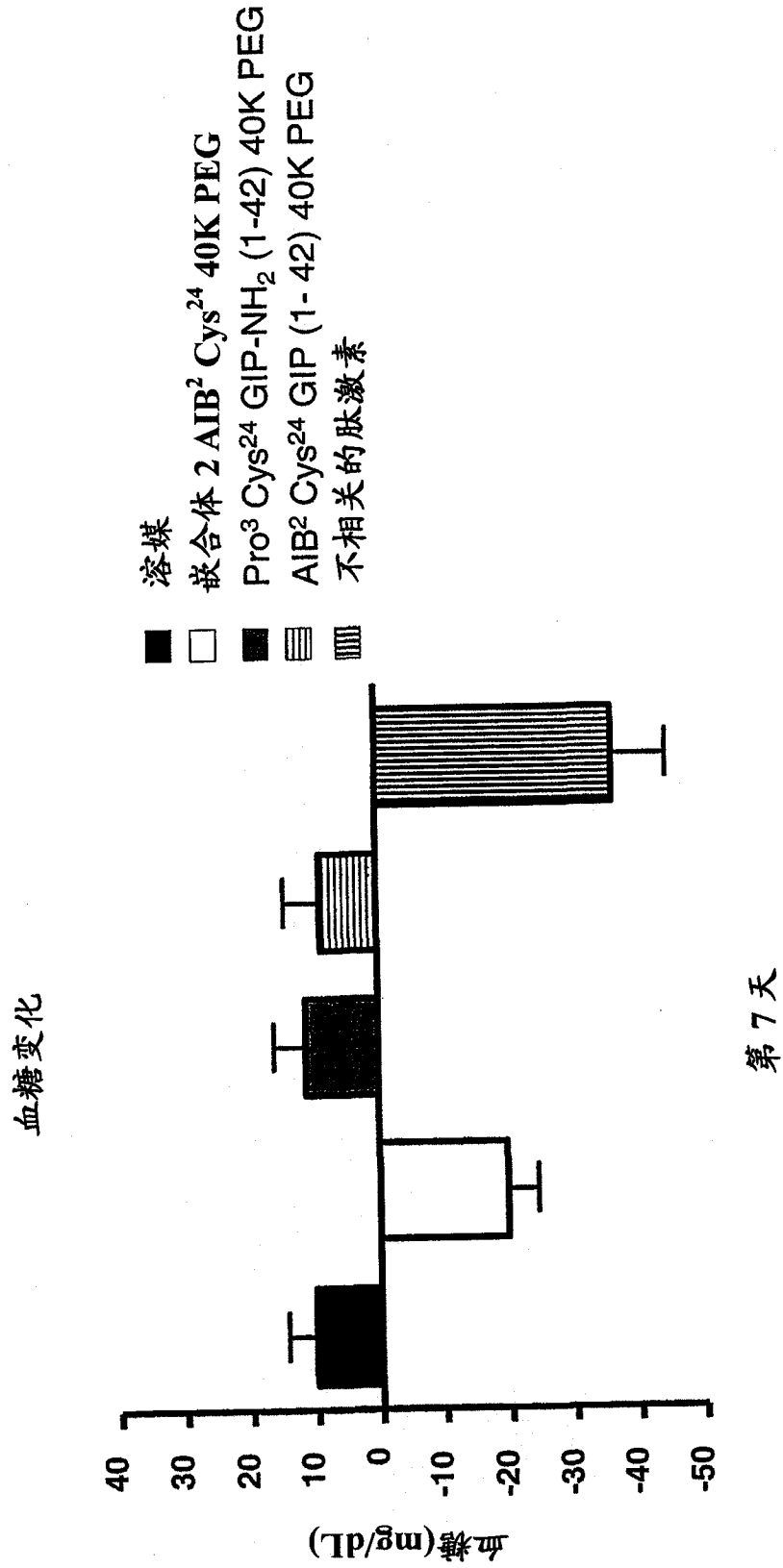


图 3

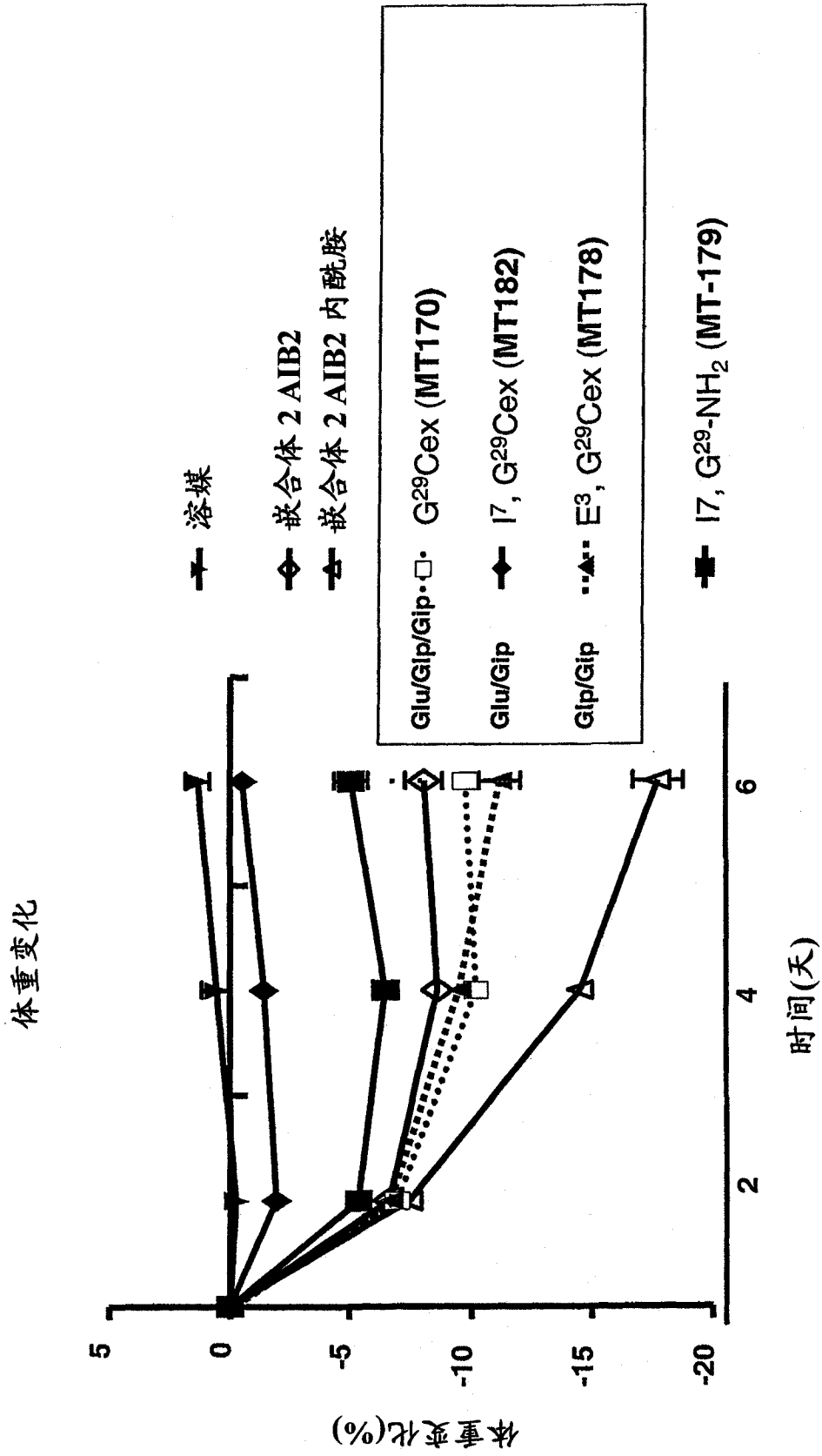


图 4

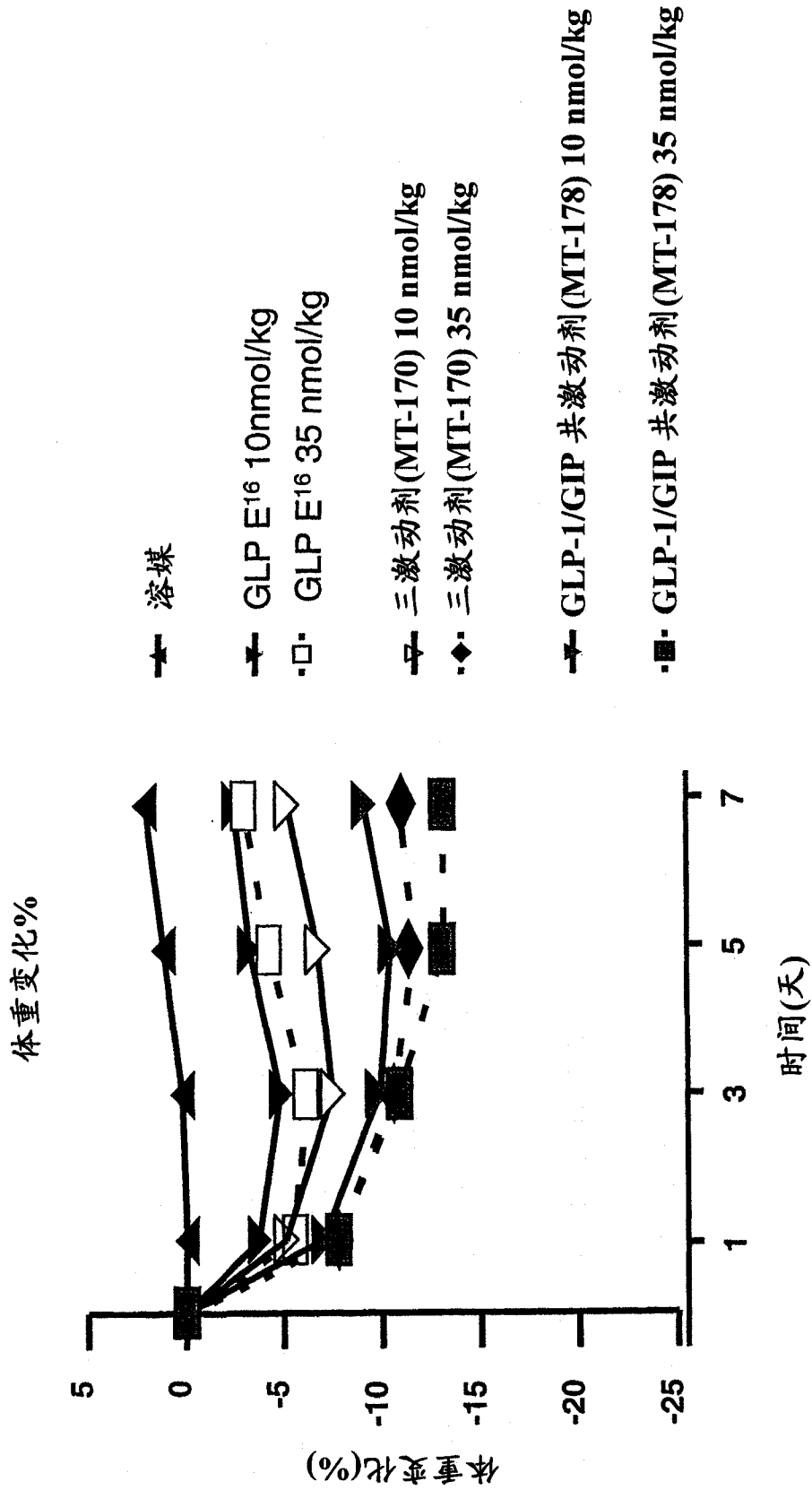


图 5



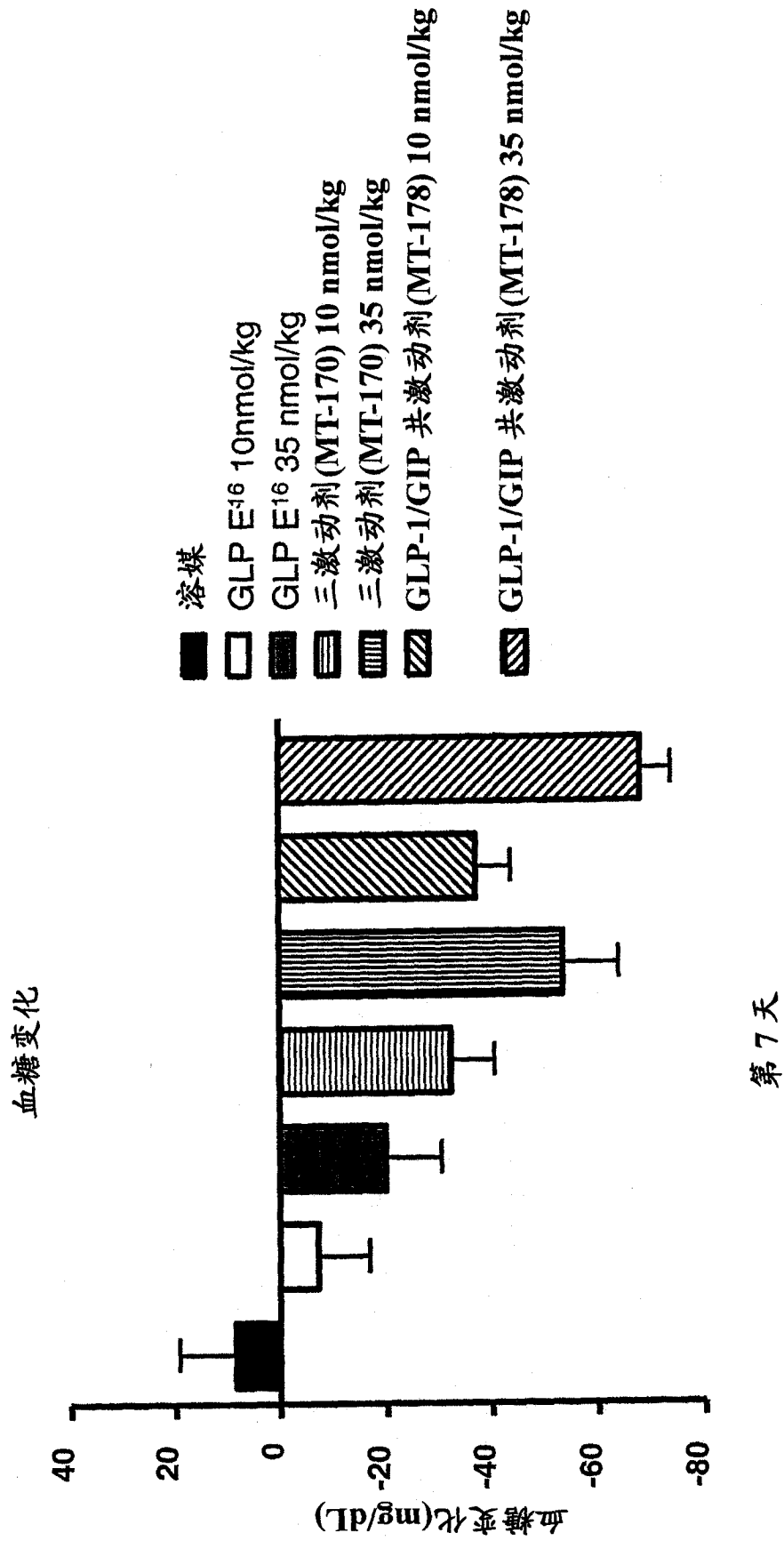


图 6

1 小时葡萄糖耐受测试  
\*排除 4 只小鼠

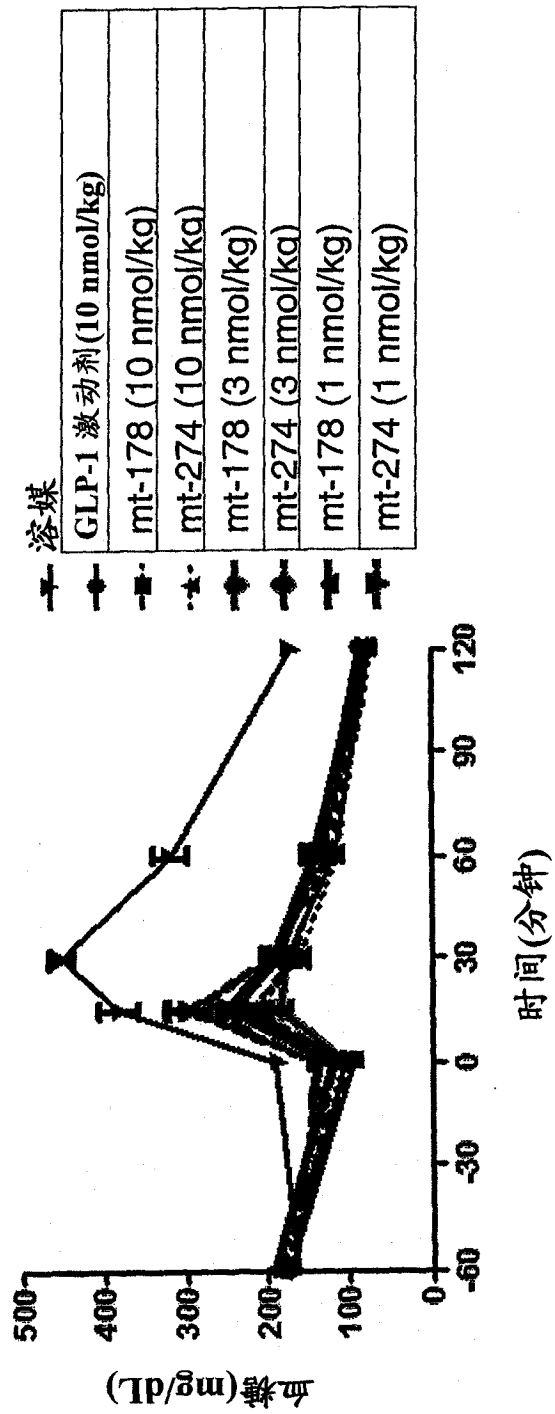


图 7

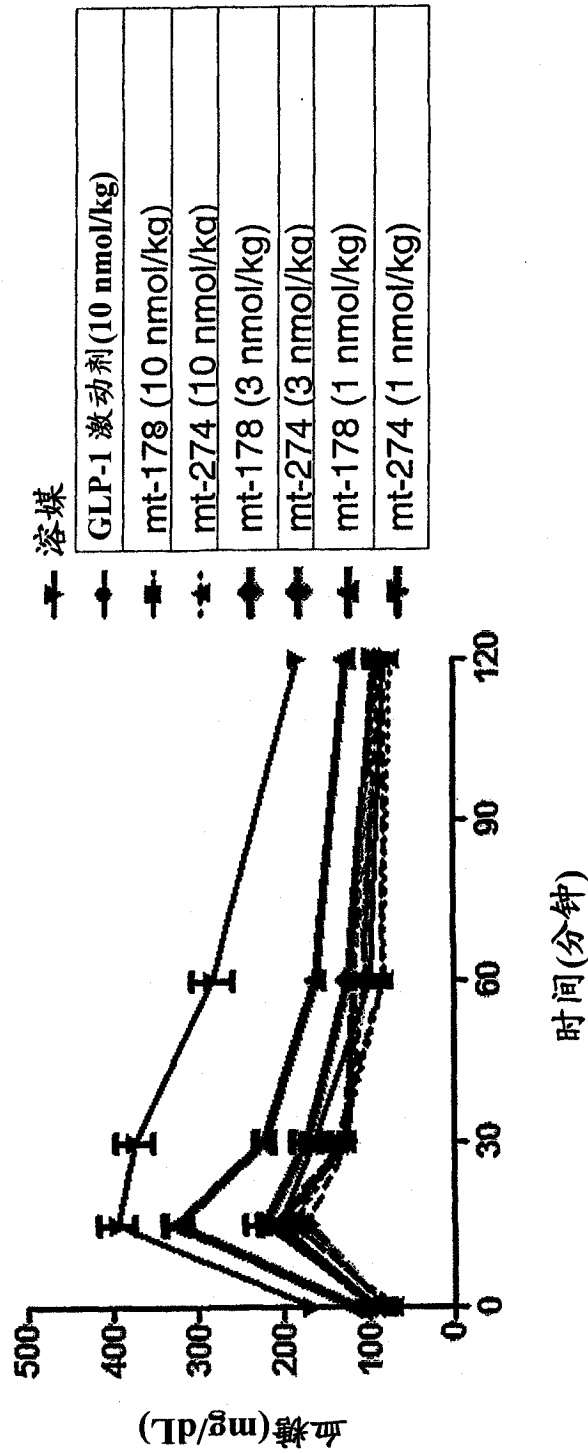


图 8

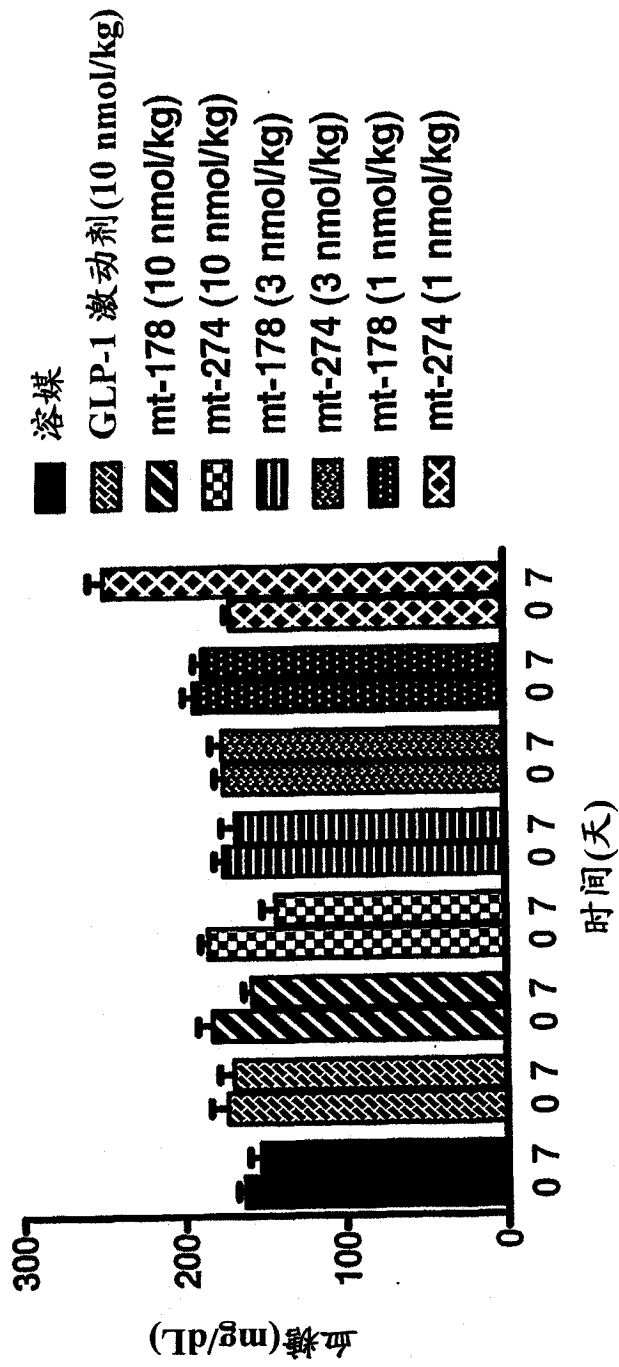


图 9

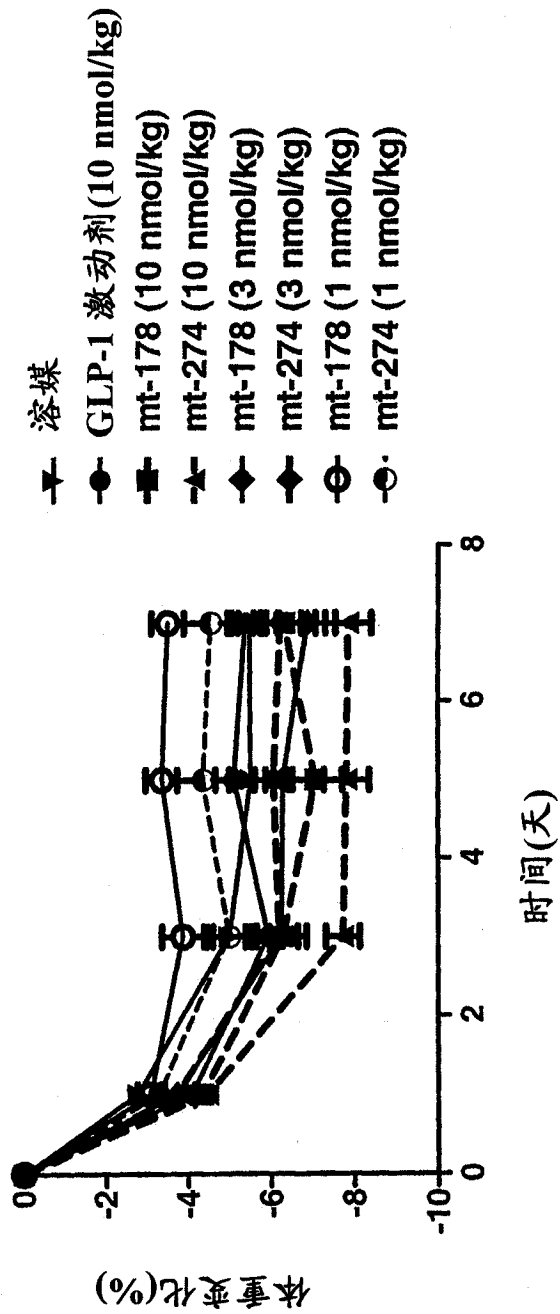


图 10

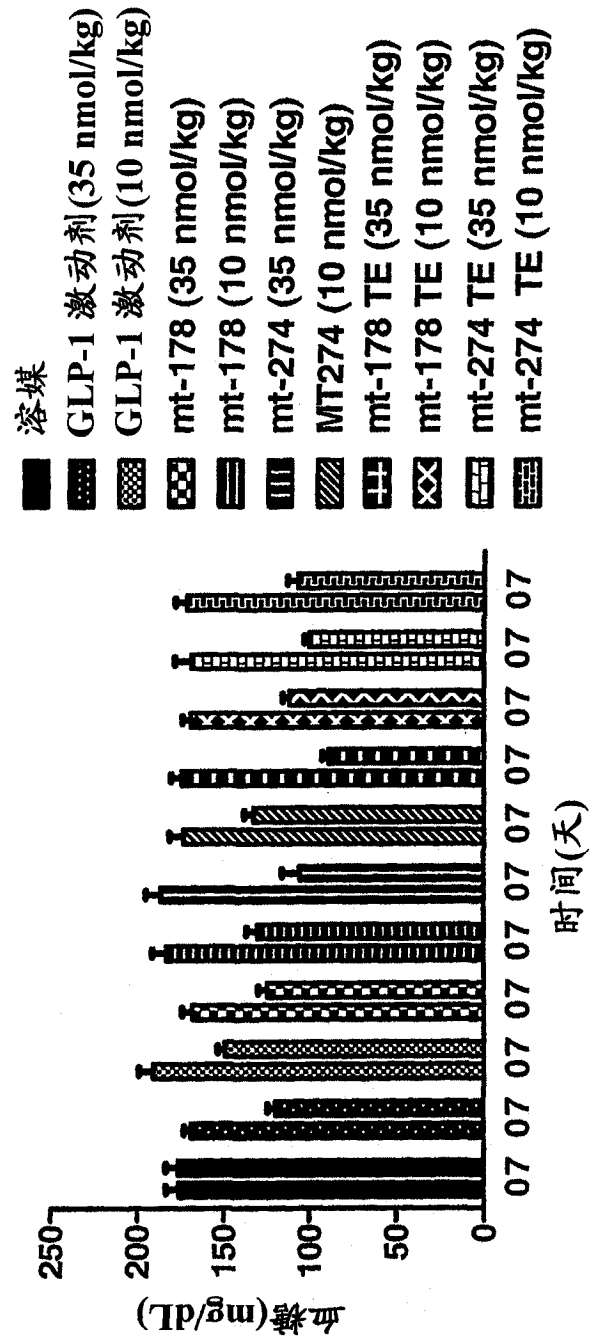


图 11

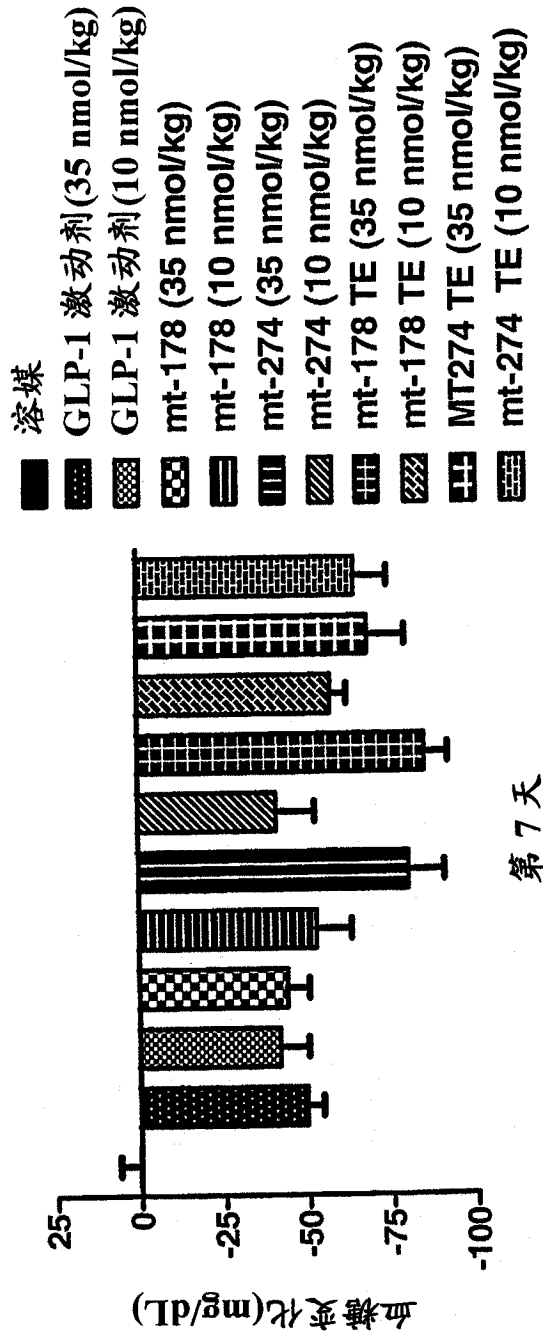


图 12

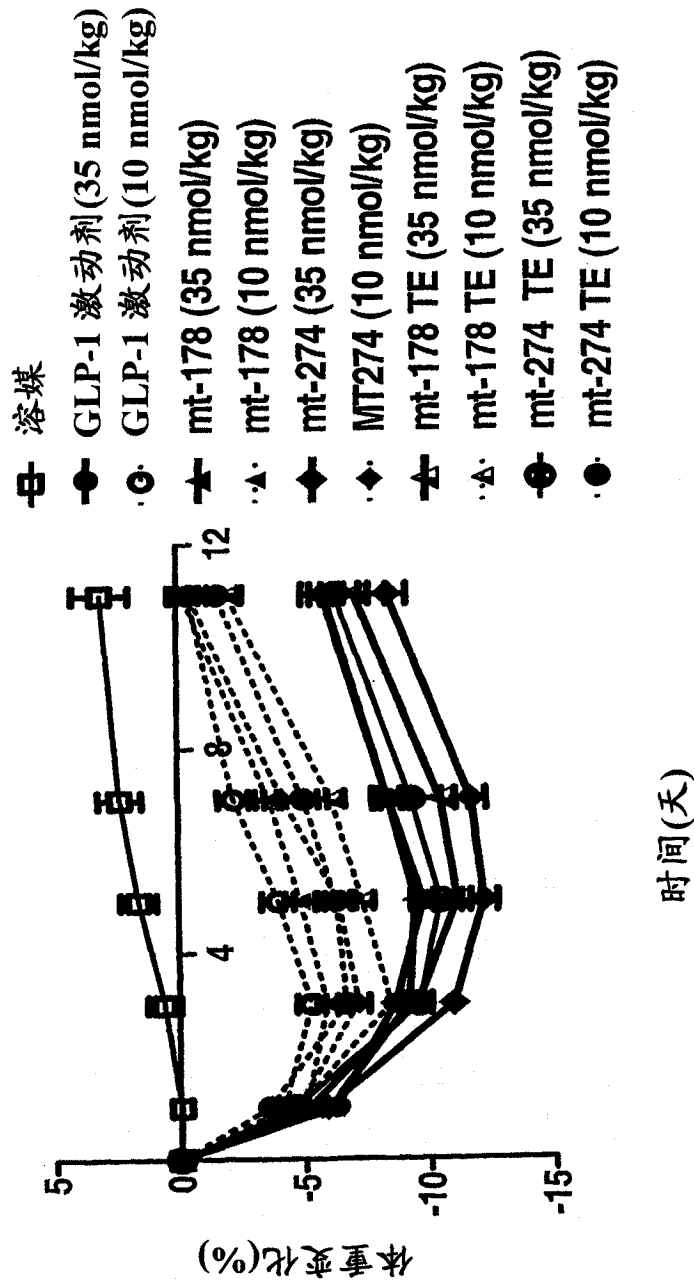


图 13

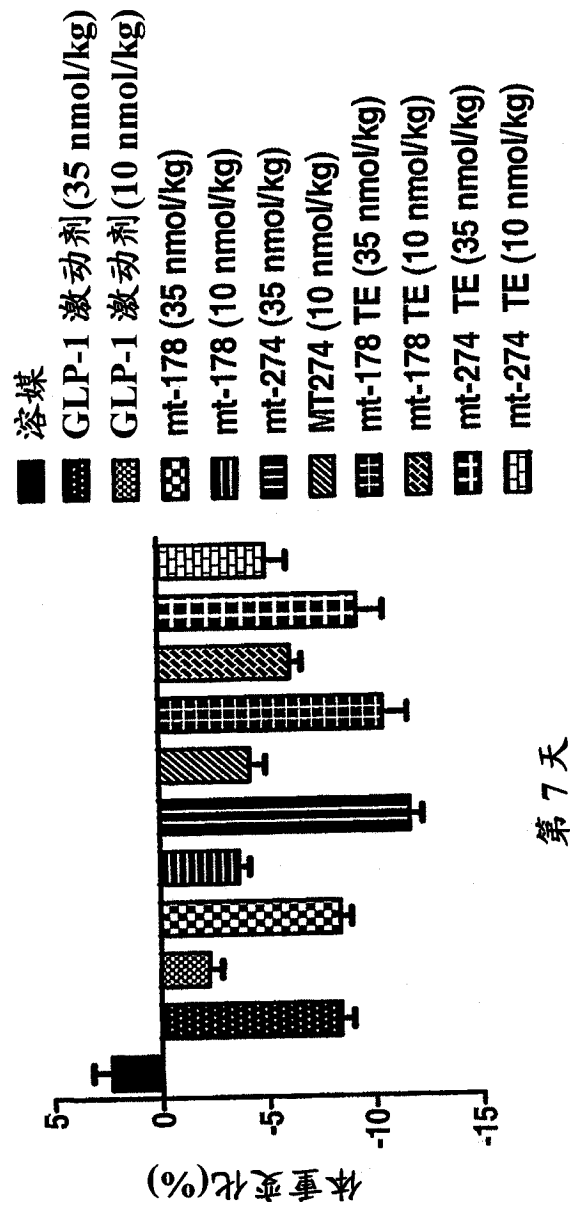


图 14



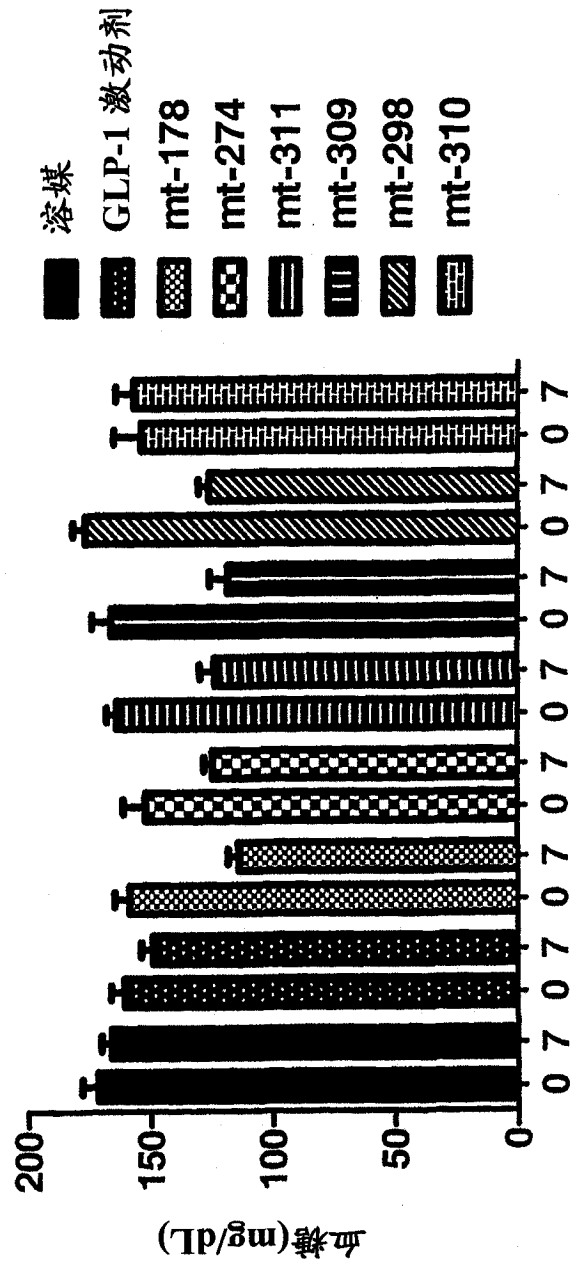


图 15

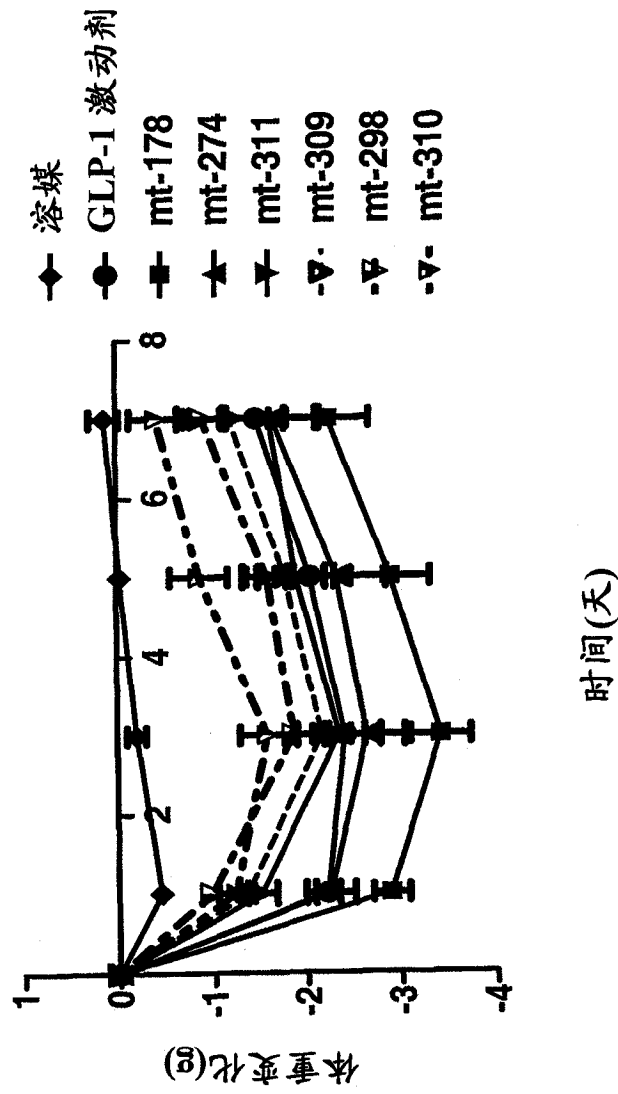
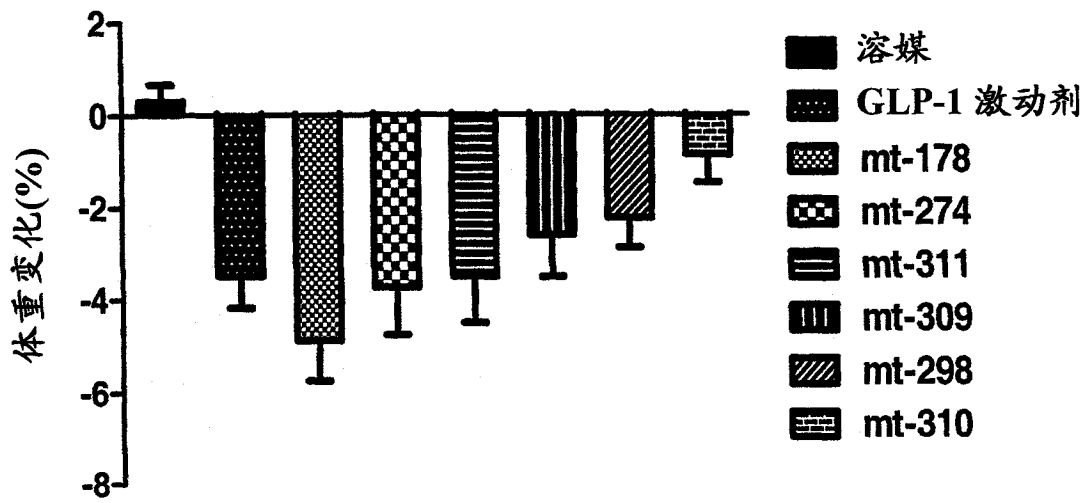


图 16



第 7 天

图 17

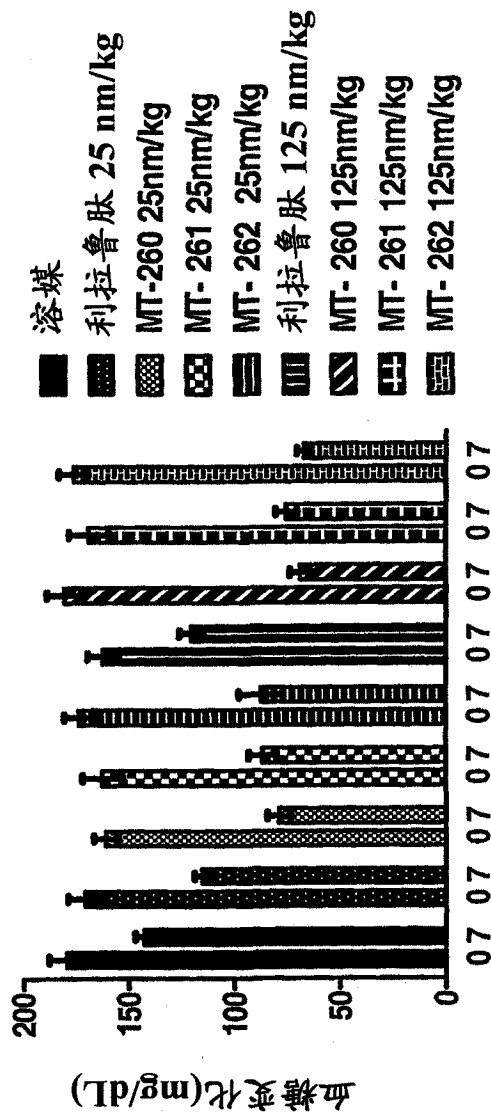


图 18

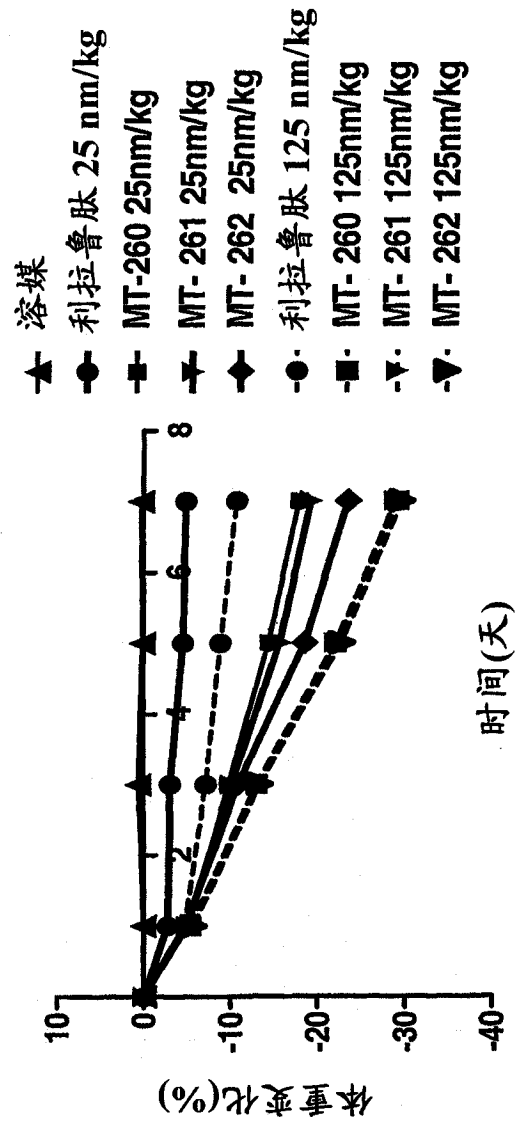


图 19

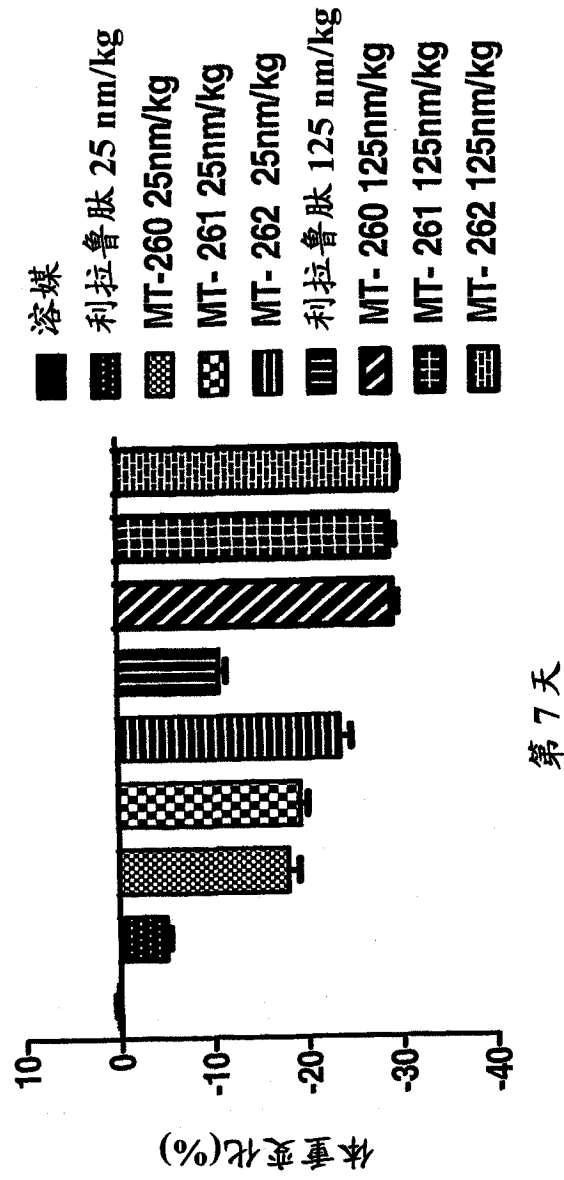


图 20

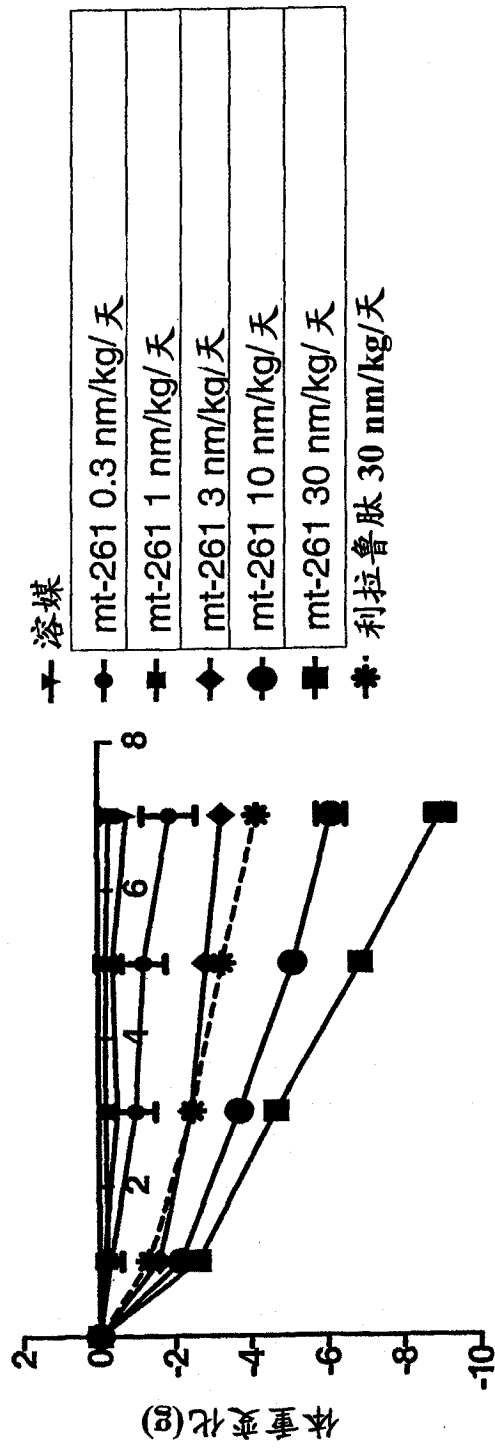


图 21

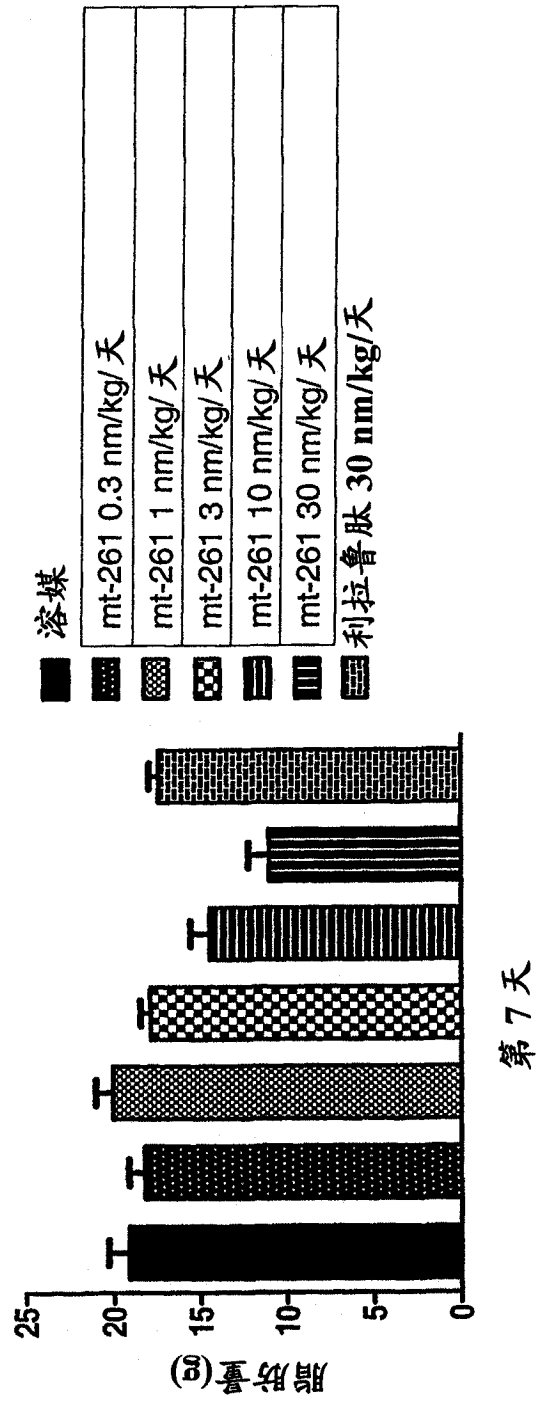


图 22

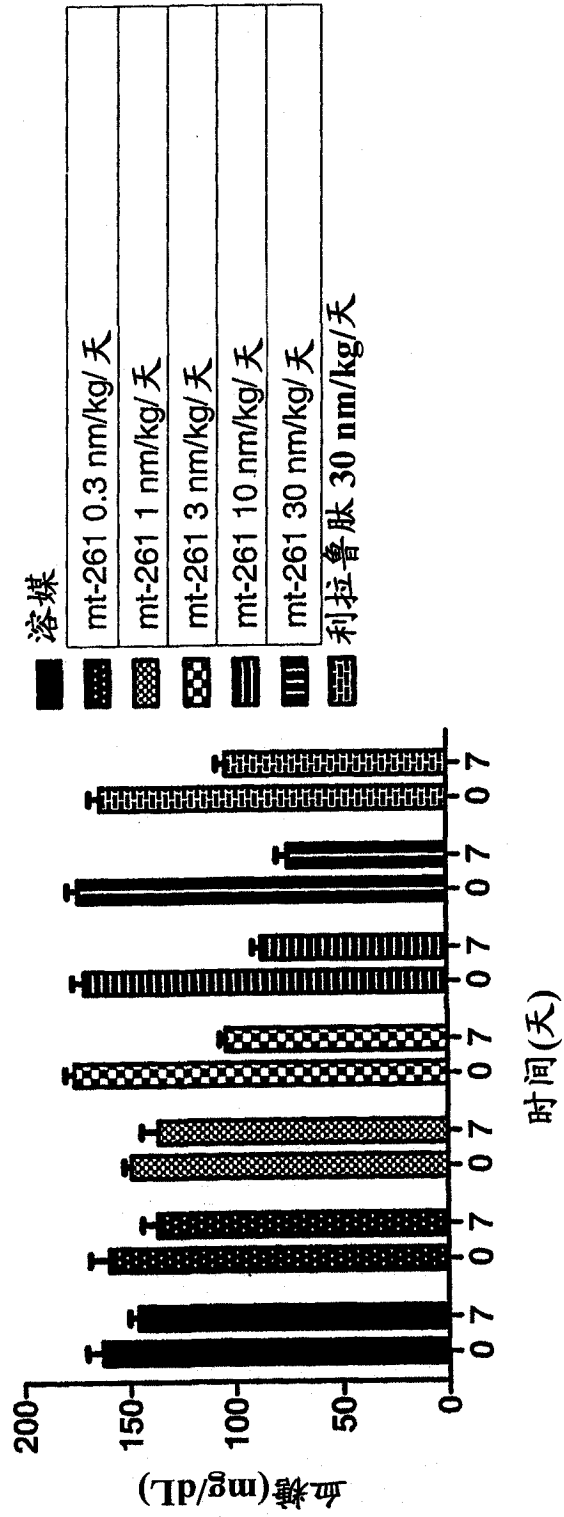


图 23

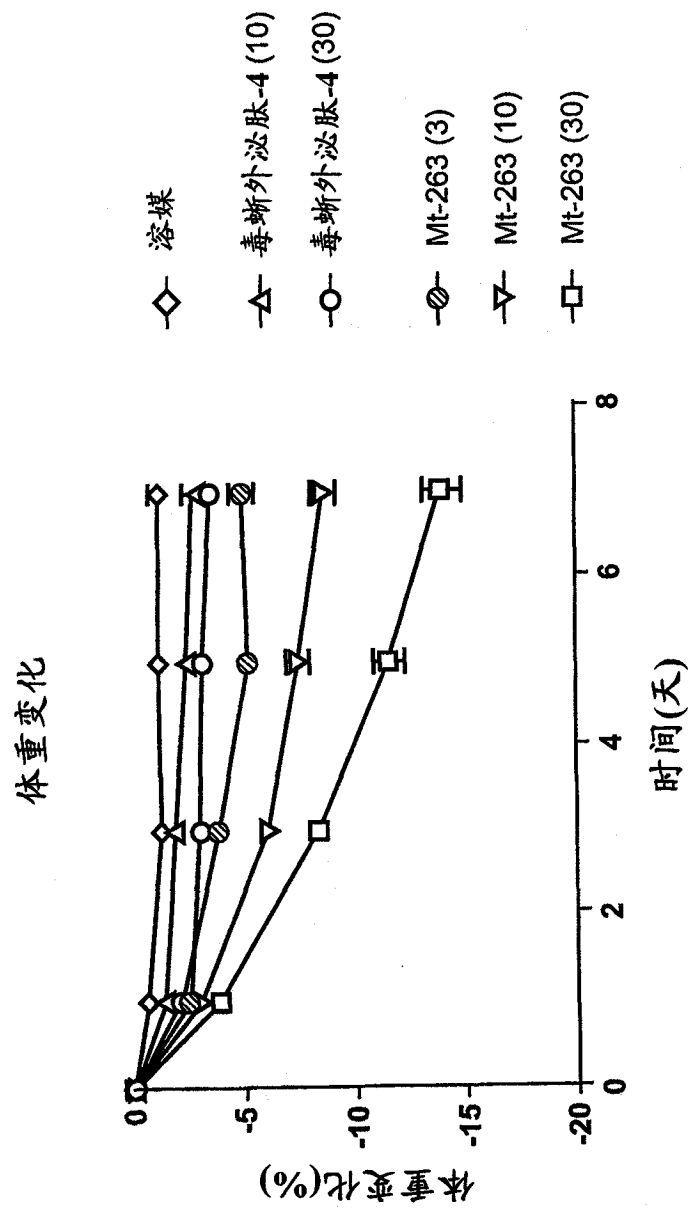


图 24



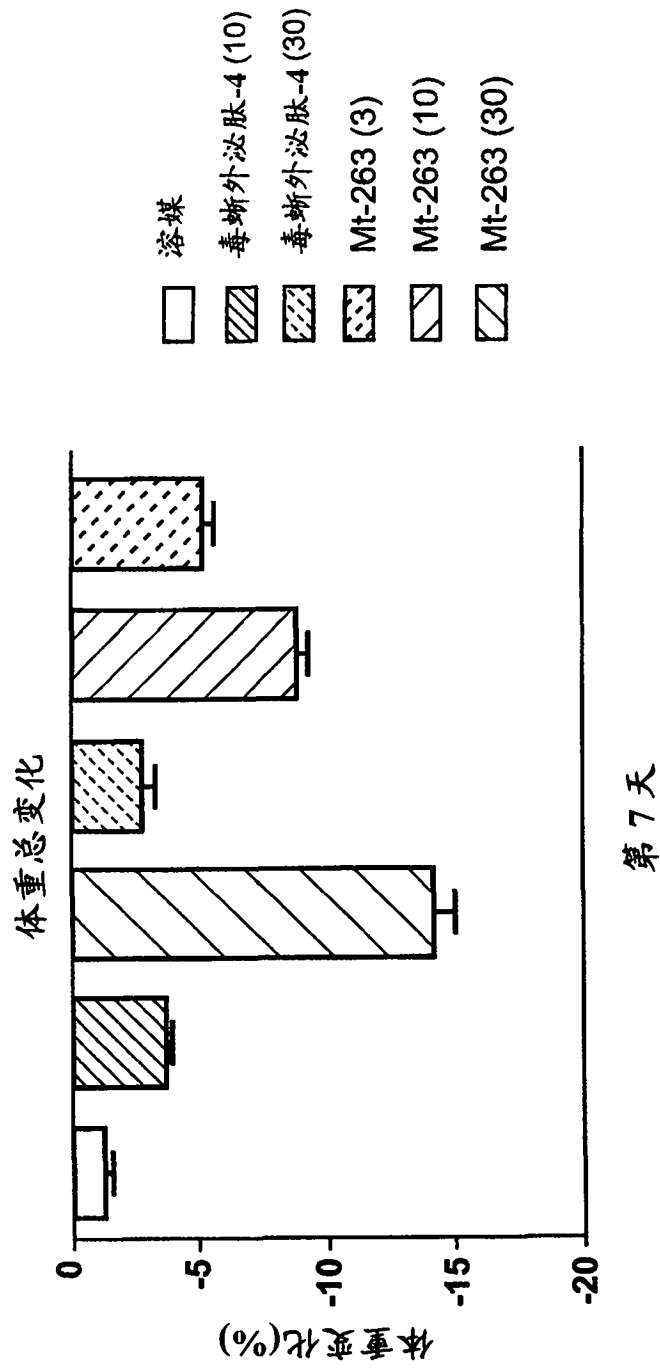


图 25

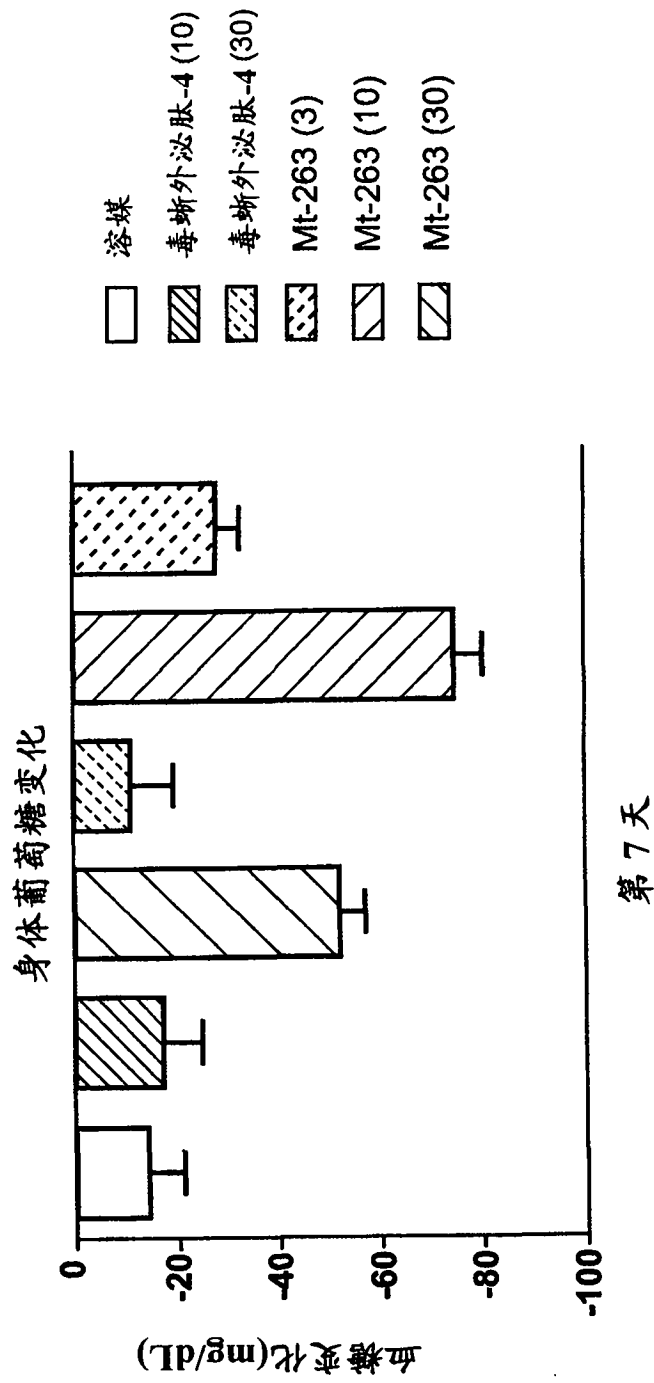


图 26

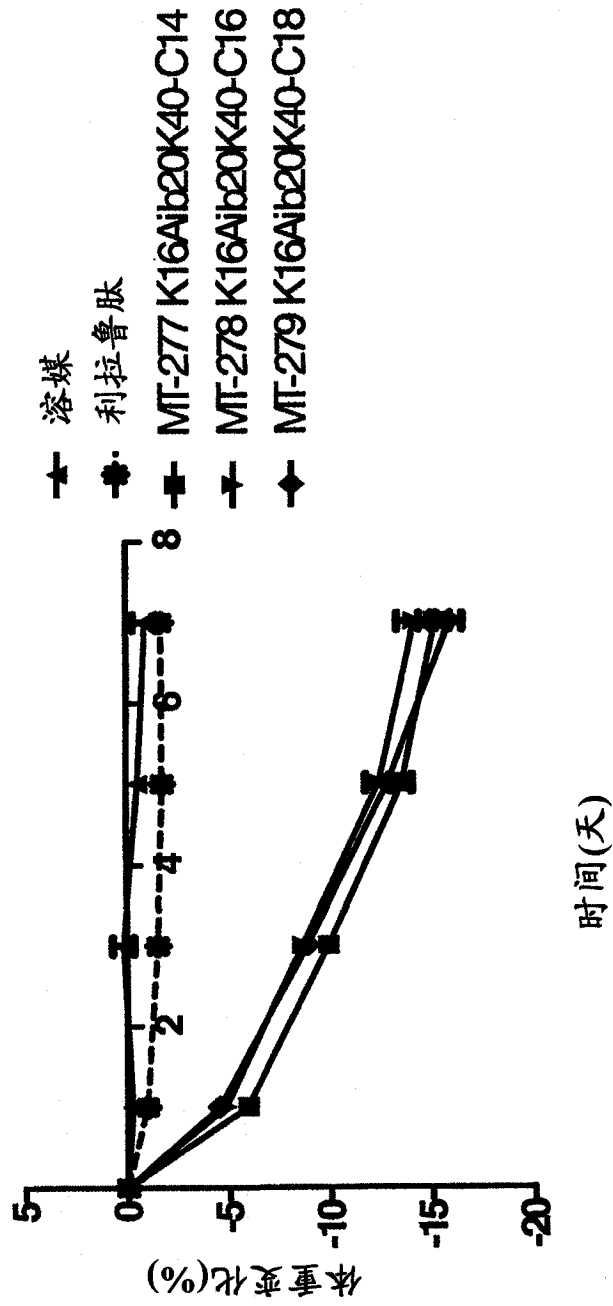


图 27

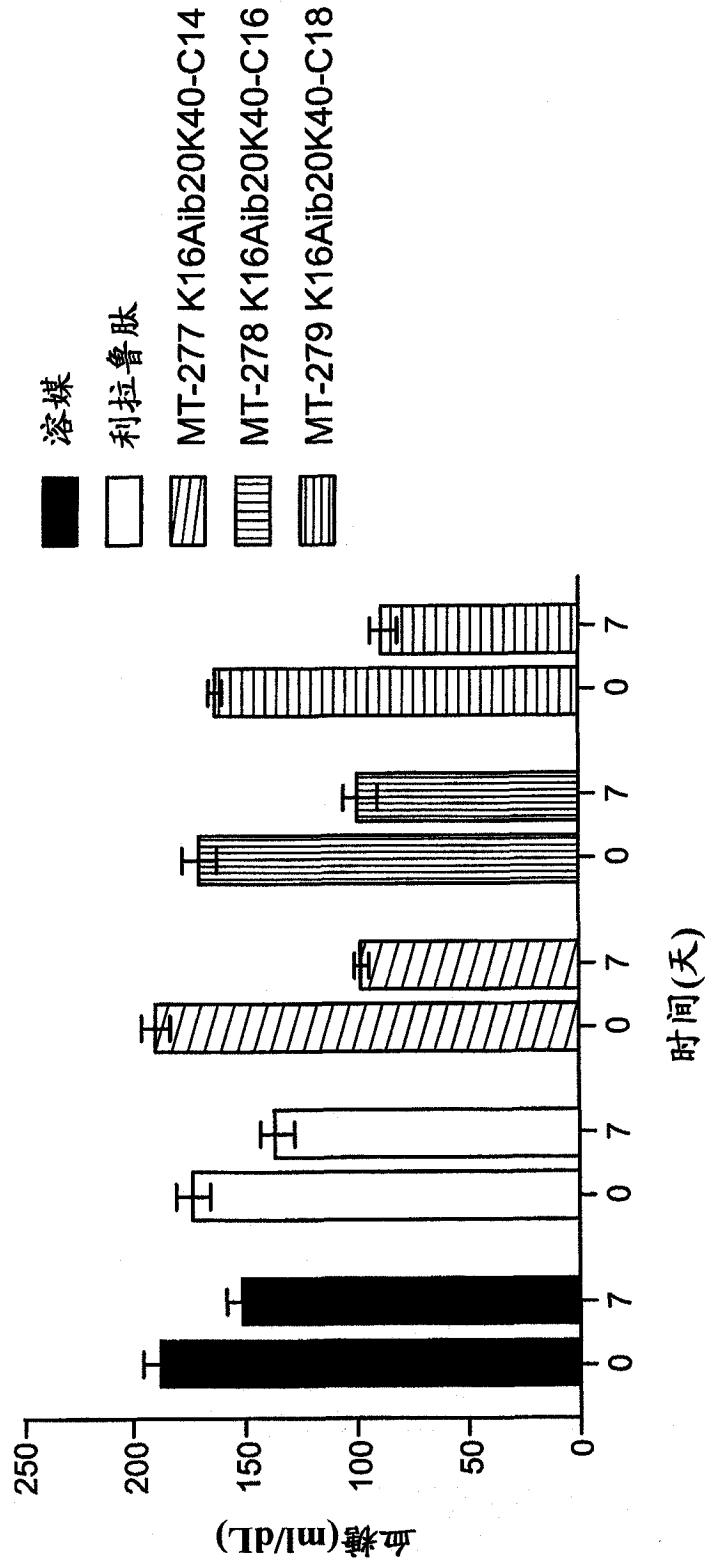


图 28

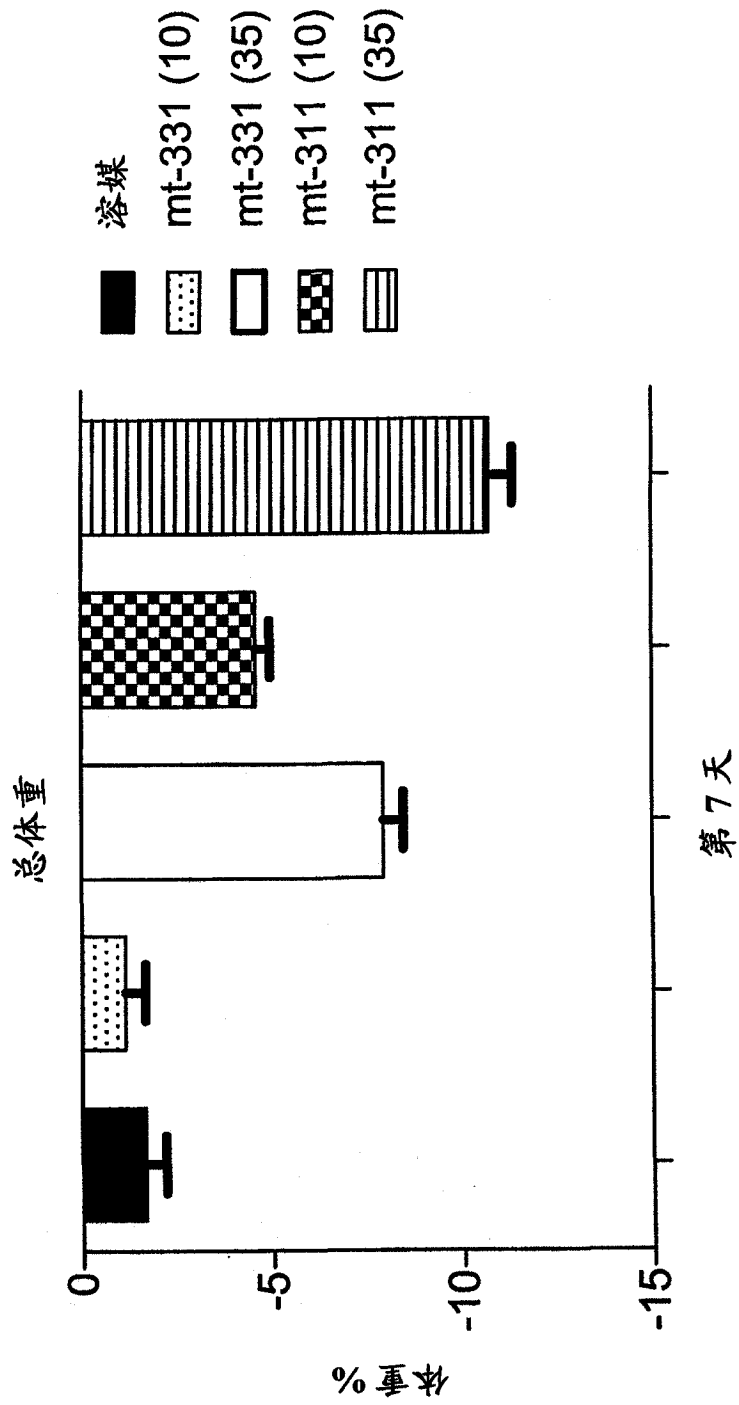


图 29

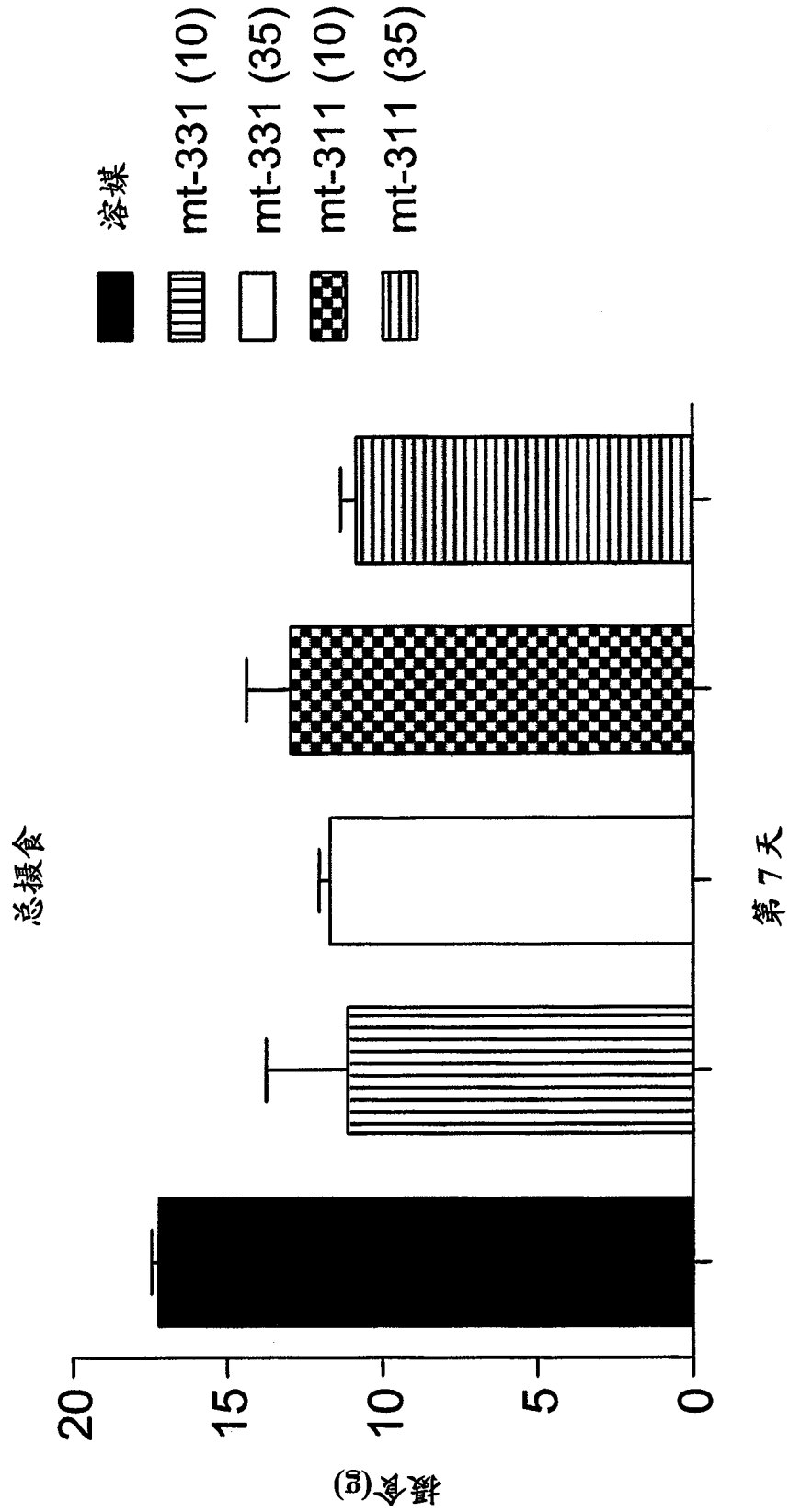


图 30

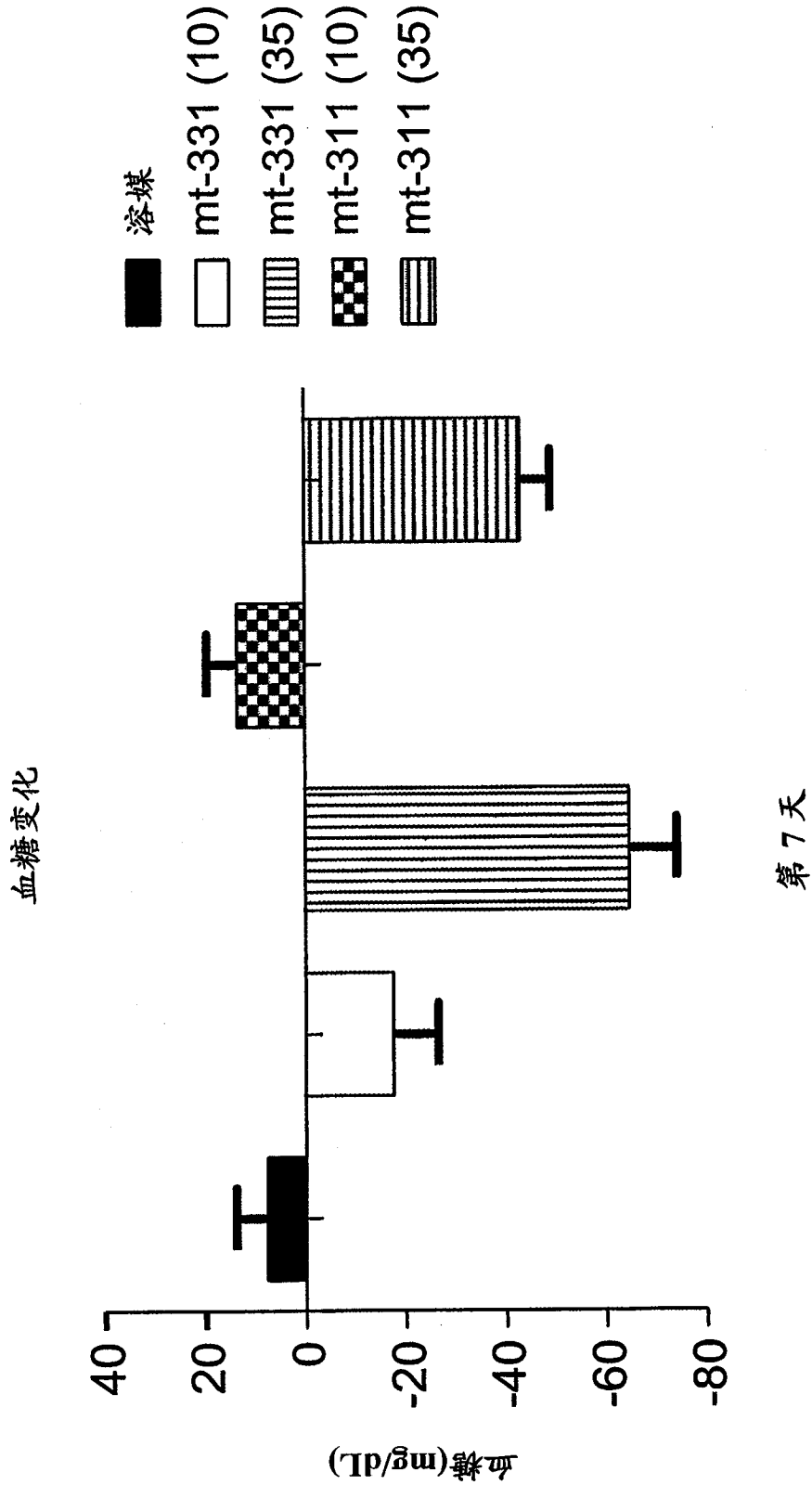


图 31

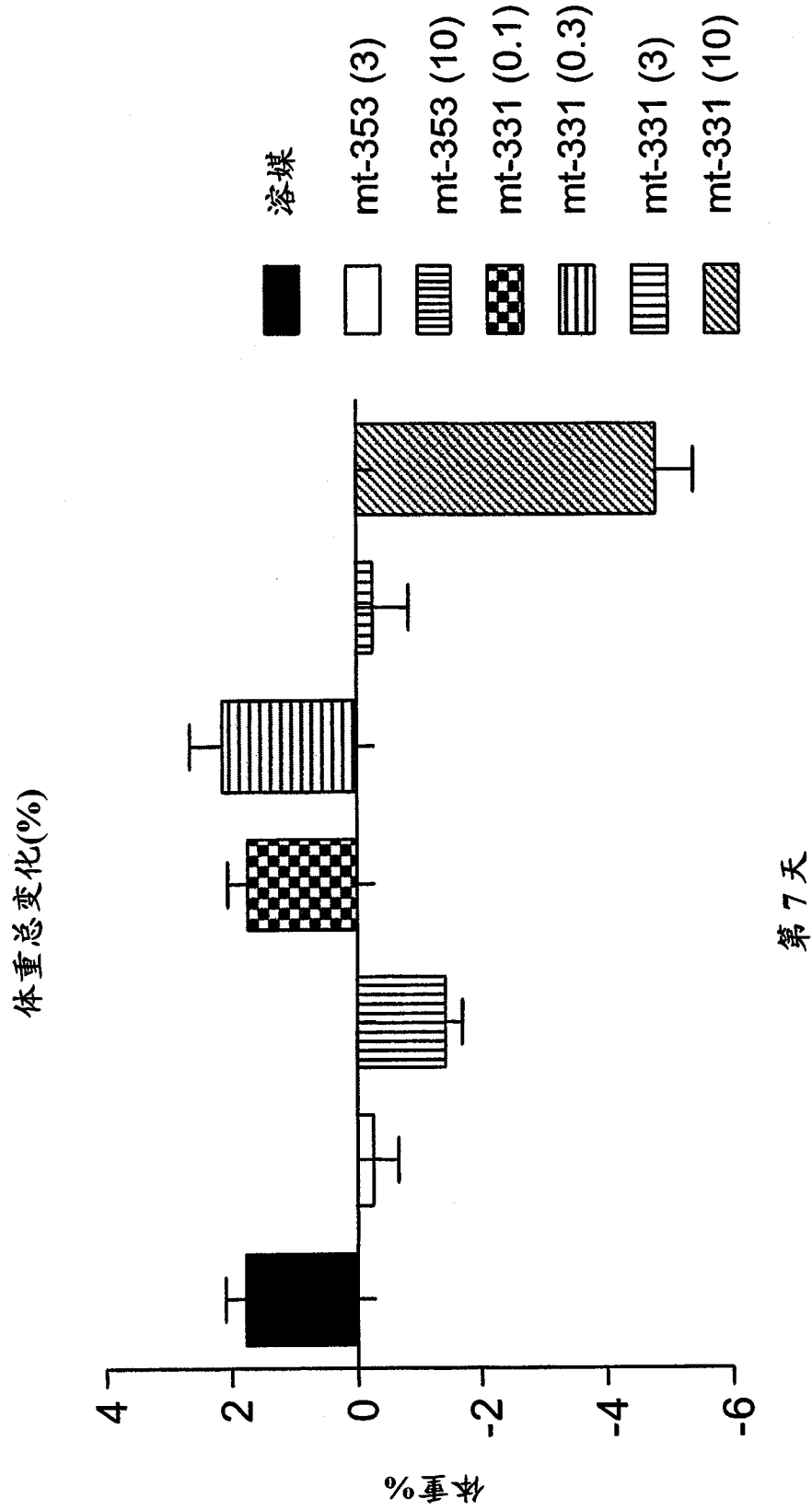


图 32



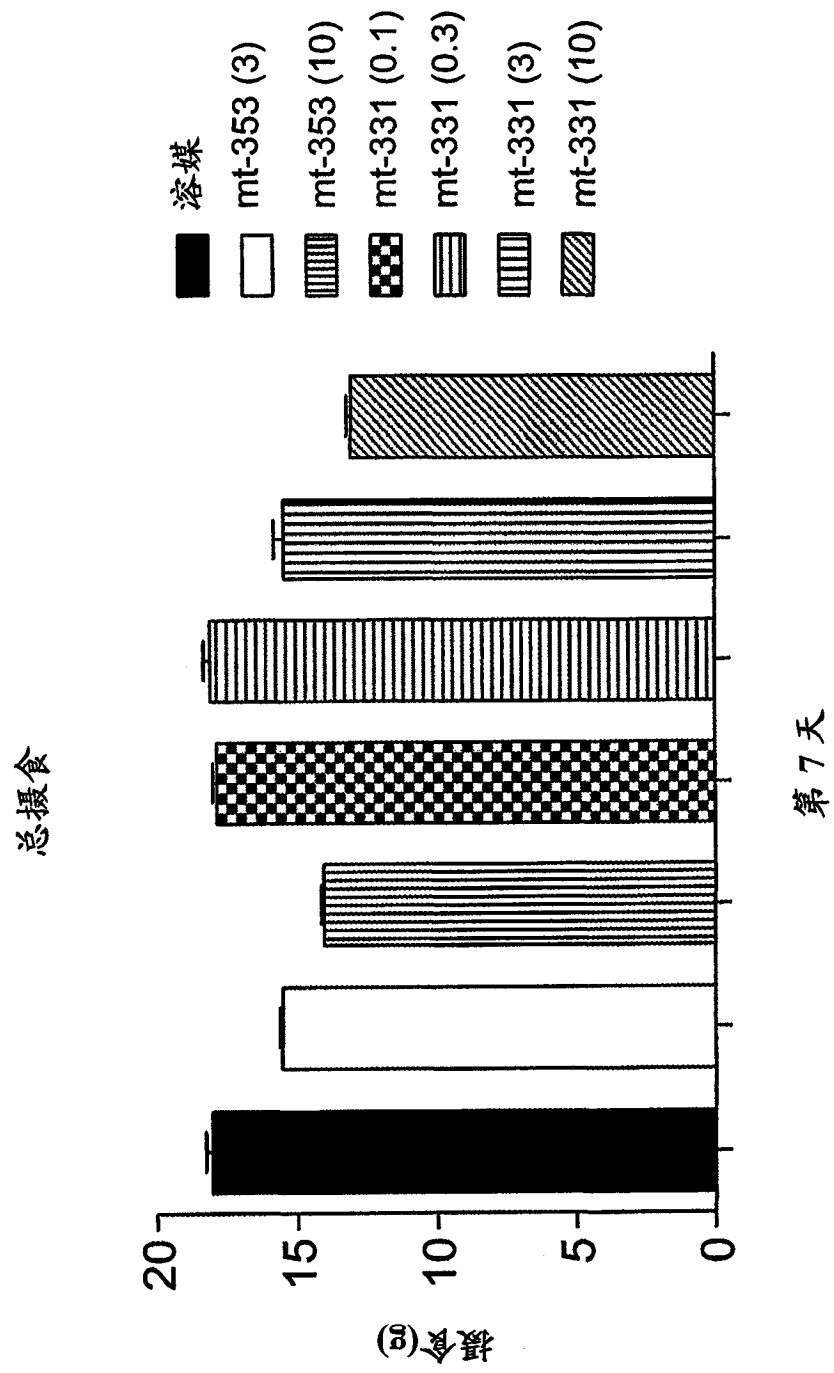


图 33

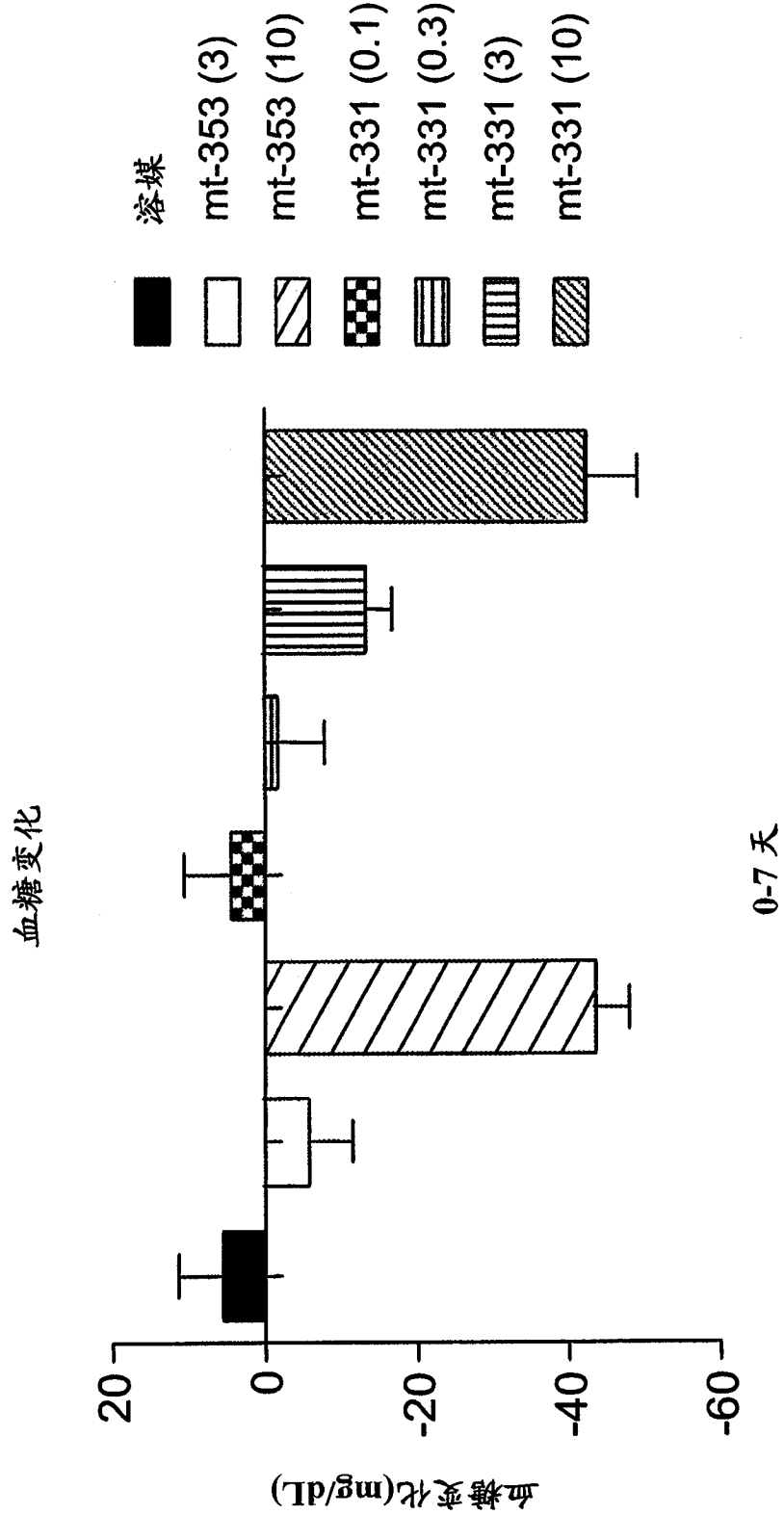


图 34

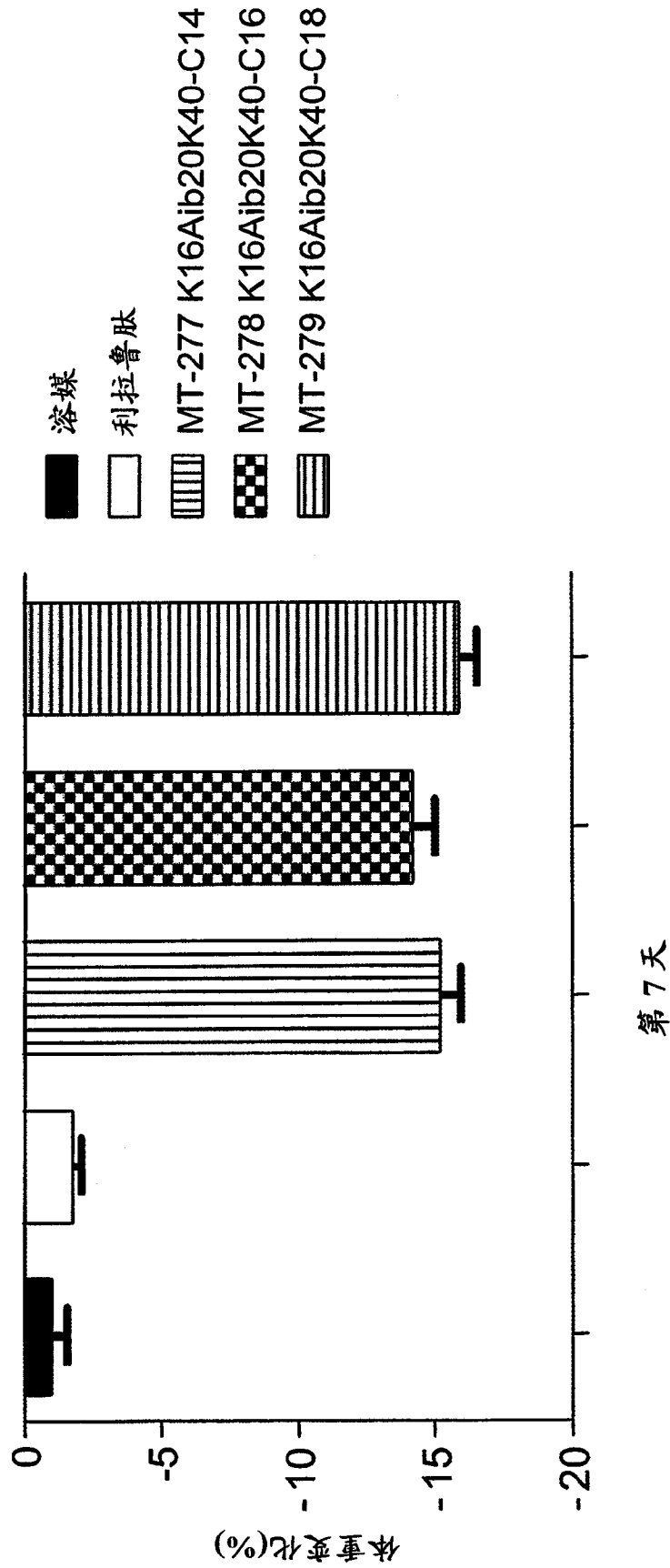


图 35

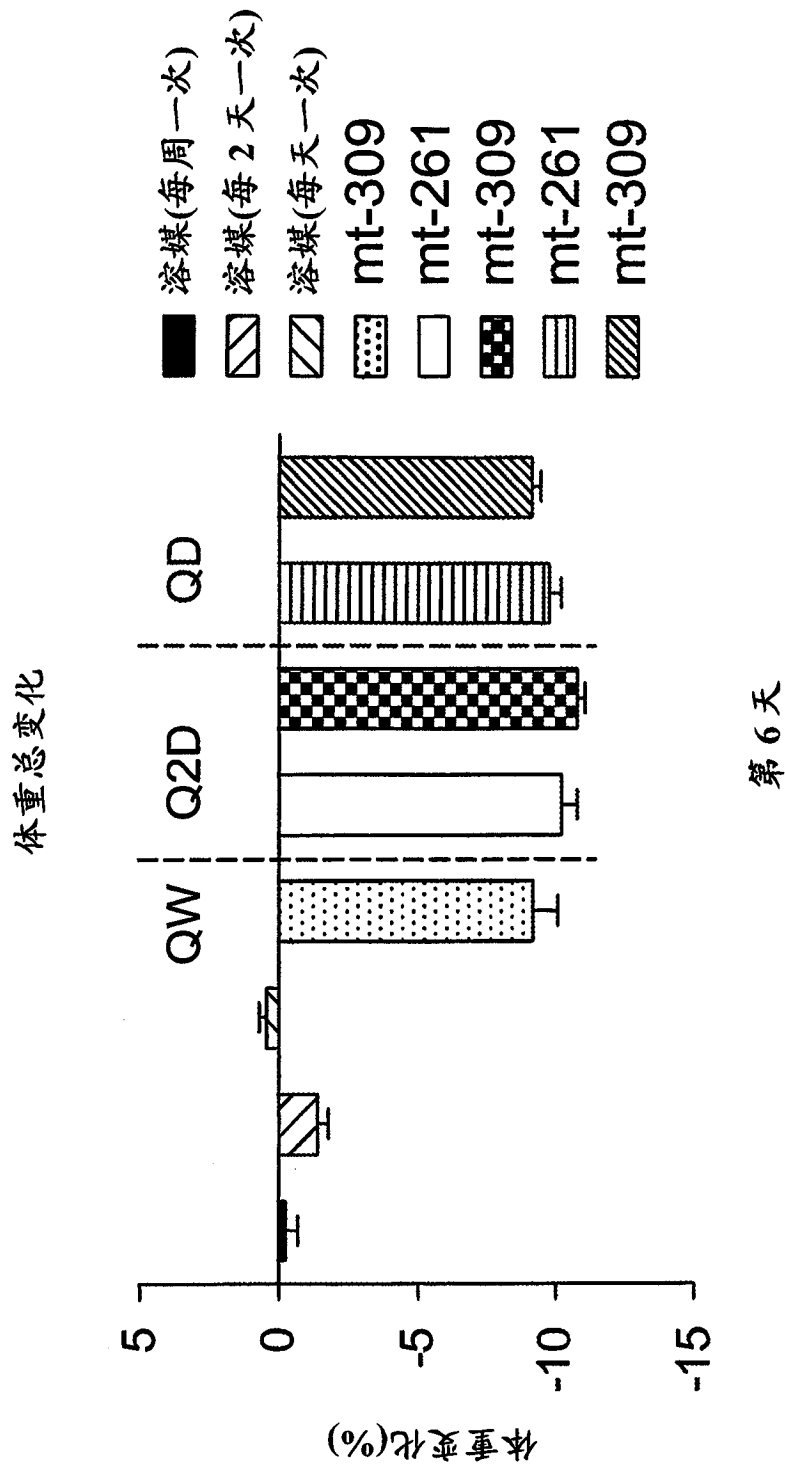


图 36

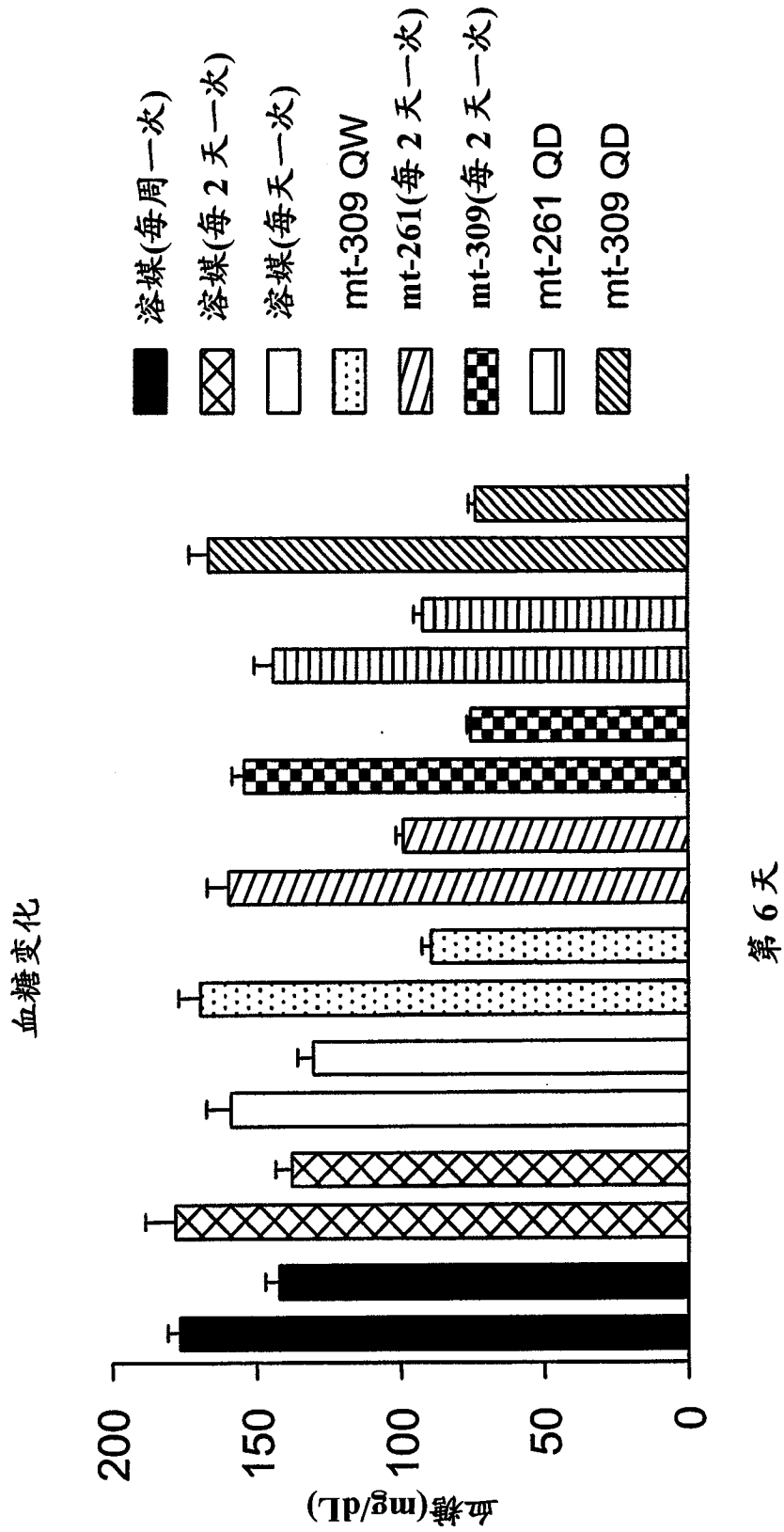


图 37

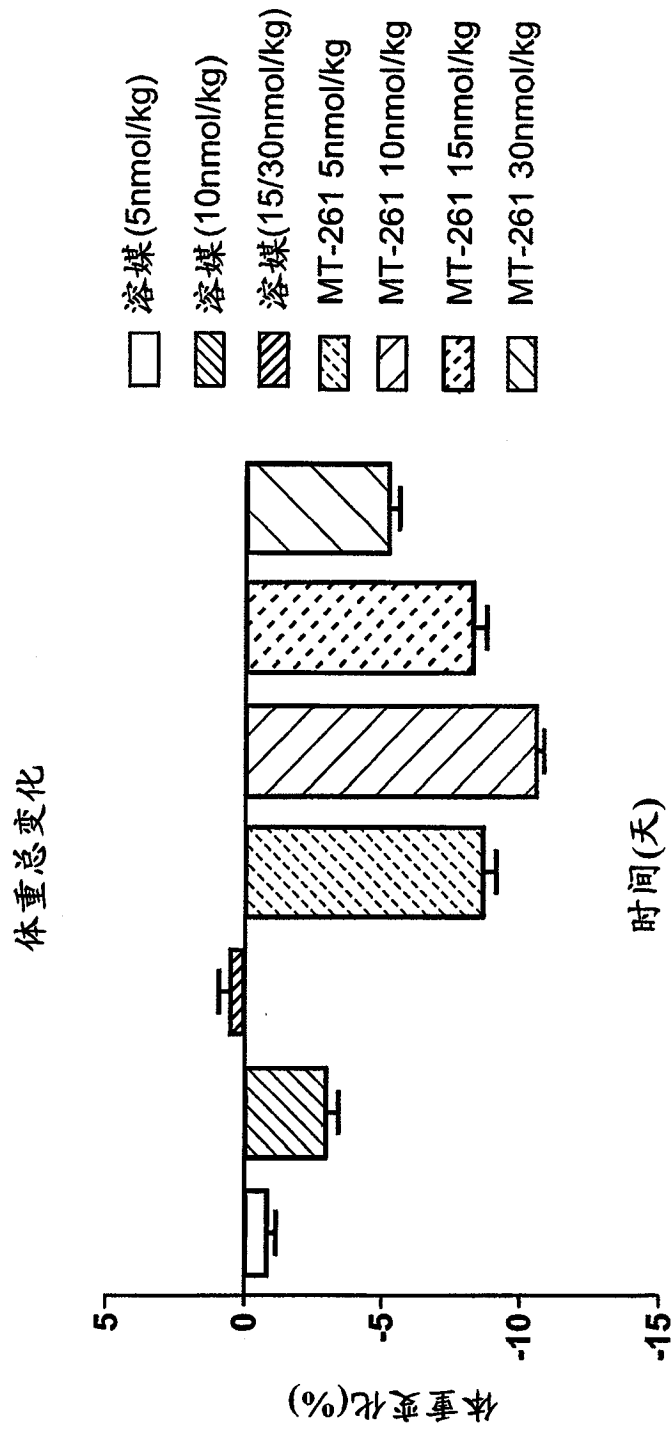


图 38