

## • 新药发现与研究实例简析 •

新药创制是复杂的智力活动,涉及科学研究、技术创造、产品开发和疗效评价等多维科技活动。每个药物都有自身的研发轨迹,而构建化学结构是最重要的环节,因为它涵盖了药效、药代、安全性和生物药剂学等多重性质。本栏目以药物化学视角,对有代表性的药物的成功构建,加以剖析和解读。

本刊曾刊登了诺和诺德研发的降血糖药物利拉鲁肽的研发路径,作为胰高血糖素样肽-1受体 (GLP-1R) 激动剂,是对天然配体变换个别氨基酸并连接亲脂性脂肪链的改构物,将配体的2 min的半衰期延长到12 h,提高了活性和代谢稳定性,每日用药一次。研发者在深入解析和应用构效关系的基础上,进一步优化肽链、引入乙二醇连接基和优化脂肪二酸链,研发出后续药物塞马鲁肽,成为每周用药一次的长效药物,可注射用也可口服,同时具有减肥效用,跟随性的塞马鲁肽超越了首创药利拉鲁肽。(编者按)

DOI:10.16438/j.0513-4870.2018-0888

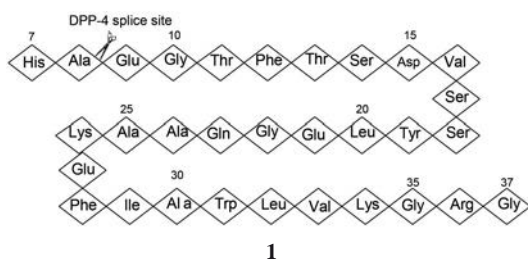
# 长效降血糖药物塞马鲁肽的研制

郭宗儒

(中国医学科学院、北京协和医学院药物研究所,北京 100050)

## 1 研发背景

治疗2型糖尿病的药物可针对不同的环节和靶标,其中包括胰高血糖素样肽-1 (glucagon-like-peptide-1, GLP-1) 受体激动剂。天然配体 GLP-1 (7-37) (**1**) 是内源性肽,具有控制血糖、改善 $\beta$ 细胞功能、降低体重和心收缩压等功能。然而 GLP-1 在体内容易被代谢,在血液中迅速被二肽基肽酶 (DPP-4) 水解失活,水解的特异性位点是 Ala7-Glu8 肽键。



诺和诺德研发 GLP-1 受体激动剂,已有一些同类药物上市,表1列出了药物名称和结构特征以及用药特点。艾塞那肽 (**2**, exenatide) 是礼来上市的第一个 GLP-1 受体激动剂,为毒蜥外泌肽去掉前8个氨基酸

而成的活性形式 His<sup>9</sup>-Ser<sup>47</sup>-NH<sub>2</sub>, 皮下注射,半衰期为2.4 h,虽然长于 GLP-1,但每日需给药两次。

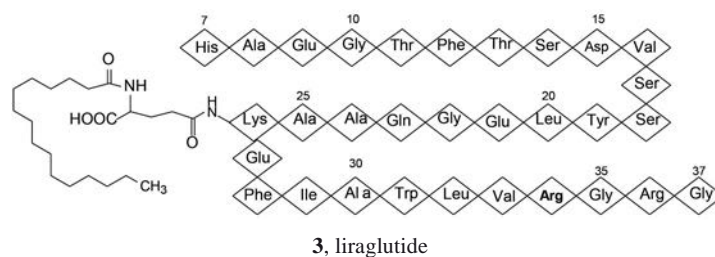
利拉鲁肽 (**3**, liraglutide) 是诺和诺德2009年研发的肽类药物,半衰期  $t_{1/2}$  11~15 h,患者用特制注射器可自行每日皮下注射一次,控制血糖于正常水平。其结构特征是将 GLP-1 的 Lys<sup>34</sup> 变换为 Arg<sup>34</sup>,并在 Lys<sup>26</sup> 共价连接出一个  $\gamma$ -Glu,经棕榈酸酰化而成。长链的亲脂性有利于同白蛋白发生疏水性结合,提高了药物的稳定性。

GSK 研发的阿比鲁肽 (**4**, albiglutide) 和礼来研发的杜拉鲁肽 (**5**, dulaglutide) 是用基因工程方法分别与白蛋白或 IgG4 重链 Fc 的融合蛋白,显著提高了产品的稳定性,半衰期7~8天,达到每周给药一次。**4** 和 **5** 是生物药。

诺和诺德在研发利拉鲁肽中,对 GLP-1 各氨基酸残基的作用和亲脂长链的特征积累了丰富经验,拟研发长效 GLP-1 受体激动剂,途径是通过变化氨基酸残基和亲脂链的组成,达到提高药效和稳定性、每周给药一次的目标。

**Table 1** The composition and dosage of marketed GLP-1 receptor agonists

No.	Drug	Chemical composition	Dosage	Launched year
2	Exenatide	Natural peptide with 39 amino acids from <i>Heloderma suspectum</i>	Twice daily	2005
3	Liraglutide	Arg <sup>34</sup> GLP-1 (7-37)-Lys <sup>26</sup> - $\gamma$ -Glu-C16 acid	Once daily	2009
4	Albiglutide	Two Gly8GLP-1 fused to human albumin	Once weekly	2014
5	Dulaglutide	Gly <sup>8</sup> Glu <sup>22</sup> Gly <sup>36</sup> -GLP-1 (7-37)-(Gly <sub>4</sub> Ser) <sub>3</sub> -Ala fused to Ala <sup>234,235</sup> Pro <sup>228</sup> -IgG4-Fc	Once weekly	2014



## 2 活性评价

**2.1 体外结合实验** 用表达人 GLP-1 受体基因的幼仓鼠细胞 (BHK cells) 膜为评价模型, 以不同浓度的受试物置换  $^{125}\text{I}$ -GLP-1 配体的能力, 计算化合物与受体的结合强度。由于不同亲脂链与白蛋白的结合能力不同, 对 GLP-1 的保护作用差异, 每个受试物的活性是在有 2% 白蛋白和没有白蛋白的条件下测定  $\text{IC}_{50}$ , 以表征亲脂链对目标物稳定性的影响。

**2.2 体外功能实验** 用表达人 GLP-1 受体和 CRE 荧光酶基因的幼仓鼠细胞模型, 评价化合物对离体细胞的功能性活性, 与不同浓度受试物温孵, 经处理后用 TopCount NXT 仪测定荧光读数, 经非线性回归计算化合物的  $\text{EC}_{50}$ 。

## 3 结构设计

**3.1 亲脂性链长对结合与功能的影响** 研发长效激动剂目标是改善药代动力学性质, 但不降低活性强度。基于研发利拉鲁肽获得的构效关系和经验性规律, 将  $\text{Lys}^{34}$  变换为  $\text{Arg}^{34}$ , 并在  $\text{Lys}^{26}$  的  $\zeta$  氨基经 Glu 酰化, 后者连接出亲脂性脂肪酸链, 合成的代表性化合物列于表 2。

表 2 的构效关系表明, 化合物 **6** 是 GLP-1 (7-37) (**1**) 的  $\text{Lys}^{34}$  被  $\text{Arg}^{34}$  替换, 对受体的结合性能没有影响, 但激动功能提高 1 倍, 因而以后的优化都制备  $\text{Arg}^{34}$  多

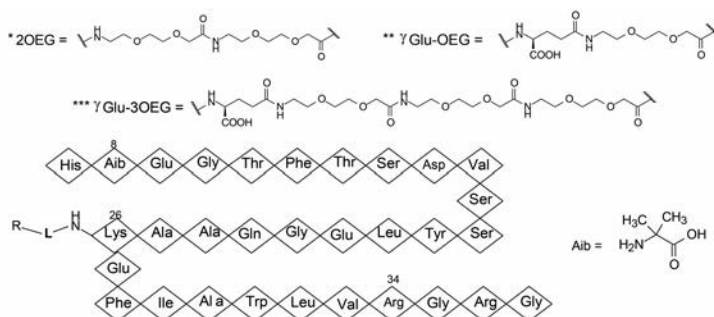
肽。利拉鲁肽 (**3**) 是在化合物 **6** 的  $\text{Lys}^{26}$  经  $\gamma$ -Glu 与棕榈酰基 (C16 酰基) 连接的分子, 白蛋白显著影响了 **6** 与受体的结合, 在有或没有白蛋白的存在下  $\text{IC}_{50}$  比值为 43, 系因亲脂性长链提高了利拉鲁肽与白蛋白的结合, **6** 的游离态分子减少的缘故, 但其功能与 **3** 相当, 是提高稳定性的缘故。然而 C18 酰基 (**7**) 的功能减弱, 不过长链的 C20 酰基若偶联亲水性的两个乙二醇 (2OEG) 片段 (**8**), 功能活性又显著提高, 提示亲脂链的长度和结构特征都对功能有影响。

**3.2 Aib<sup>8</sup>、Arg<sup>34</sup>-GLP-1 (7-37) 脂肪链的变换** 鉴于 GLP-1 (7-37) 被 DPP-4 水解的位点是  $\text{His}^7$ - $\text{Ala}^8$  肽键, 为避免被水解, 将化合物 **6** 的  $\text{Ala}^8$  变换成非天然的氨基异丁酸 (Aib<sup>8</sup>, **12**), 其结合性和功能保持不变。从而以 **12** 为母核 [ $\text{Aib}^8$ ,  $\text{Arg}^{34}$ -GLP-1 (7-37)], 连接不同的脂质链, 考察侧链对活性的影响, 如表 3 所示。

分析构效关系如下: ① 化合物 **6** 的  $\text{Ala}^8$  被氨基异丁酸替换为 Aib<sup>8</sup> 成 **12**, 对受体结合作用未变, 激动功能略有提升。连接亲脂链的化合物 **13**, 功能提高 2 倍多, 但仍略逊于利拉鲁肽 (**3**)。② 亲脂片段与激动剂之间的连接基 (L) 对结合力和功能有显著影响。例如化合物 **17** 与只用  $\gamma$ -Glu 连接的 **13** 相比, 功能提高了 4.5 倍, 存在 2% 白蛋白对结合力的影响降低了 23 倍, 提示增加了稳定性。在白蛋白存在下, 随着连接基的增长,

**Table 2** Structure, *in vitro* binding affinity and potency of typical compounds. HSA: Human serum albumin

Compd.	Xxx <sup>34</sup>	R	L	$\text{IC}_{50}/\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$		Ratio 2%/0%	Potency $\text{EC}_{50}$ /pmol·L <sup>-1</sup>
				0% HSA	2% HSA		
<b>1</b>	Lys	None	None	0.16	0.10	0.5	16.2
<b>6</b>	Arg	None	None	0.25	0.14	0.6	7.6
<b>3</b>	Arg	C16 monoacid	$\gamma$ -Glu <sup>*</sup>	0.11	4.78	43	8.5
<b>7</b>	Arg	C18 monoacid	$\gamma$ -Glu	0.60	1.95	3	11.7
<b>8</b>	Arg	C20 monoacid	$\gamma$ -Glu-2OEG <sup>**</sup>	0.16	0.97	6	3.7
<b>9</b>	Arg	C16 diacid	None	0.87	74.0	85	70.9
<b>10</b>	Arg	C18 diacid	None	2.83	295	104	238
<b>11</b>	Arg	C18 diacid	$\gamma$ -Glu-2OEG	0.38	148	527	3.8

**Table 3** SAR of derivatives of Aib<sup>8</sup>, Arg<sup>34</sup>-GLP-1(7-37) with C16-C20 acids and diacids attached to different linkers

Compd.	R	L	IC <sub>50</sub> /nmol·L <sup>-1</sup>		Ratio 2%/0%	Potency EC <sub>50</sub> /pmol·L <sup>-1</sup>
			0% HSA	2% HSA		
6	–	–	0.25	0.14	0.6	7.6
12	None	None	0.17	0.08	0.5	6.2
13	C16 monoacid	γ-Glu	0.32	5.05	42	19.2
14	C16 monoacid	2OEG*	0.12	0.75	2.3	11.1
15	C16 monoacid	γ-Glu-OEG**	0.16	3.40	21	14.7
16	C16 monoacid	γ-Glu-2OEG	0.19	3.78	20	2.7
17	C16 monoacid	γ-Glu-3OEG***	0.03	0.22	8.0	4.3
18	C18 monoacid	γ-Glu-2OEG	0.04	1.99	50	3.2
19	C20 monoacid	γ-Glu-2OEG	0.18	0.88	4.9	4.8
20	C12 diacid	γ-Glu-2OEG	5.16	4.75	0.9	42.6
21	C14 diacid	γ-Glu-2OEG	2.65	8.87	3.3	15.7
22	C16 diacid	2OEG	3.25	12.8	3.9	166
23	C16 diacid	γ-Glu-2OEG	0.94	20.5	22	8.6

化合物与受体的结合力为 **17** > **16** = **15** > **13**。③ 增长亲脂链对受体的结合作用有显著提升(无论白蛋白是否存在), 例如化合物 **18** 强于 **16**, 但功能活性变化不大, 如化合物 **16**, **18** 和 **19** 的功能活性相近, 都高于利拉鲁肽 (**3**), 提示连接基的延长是有益的。

化合物 **20**~**23** 的亲脂链末端含有羧基(由 diacid 合成), 目的是引入负电荷提高与白蛋白的碱性基团结合, 但末端羧基对结合性与功能没有改善, 反而降低。化合物 **23** 的功能比 **16** 弱 2 倍。

**3.3 二酸类和连接基的优化** 以 Aib<sup>8</sup>, Arg<sup>34</sup>-GLP-1(7-37) 为核心骨架, 在 Lys<sup>26</sup> 处经不同的连接基连接 C18 二酸的亲脂链, 合成的化合物列于表 4。功能实验表明, 不同的连接基对活性的影响差异很大, 例如较简单的连接基 γ-Glu、γ-Glu-OEG 或 γ-Glu-2OEG 的活性 EC<sub>50</sub> 为 5~10 pmol·L<sup>-1</sup> (**25**~**28**), 而连接基 benzyl-β-Ala-2OEG (**30**) 的活性减弱到 5 990 pmol·L<sup>-1</sup>。连接基也影响对受体的结合能力, 在没有白蛋白存在时 IC<sub>50</sub> 从 0.1 nmol·L<sup>-1</sup> 到 9 nmol·L<sup>-1</sup>, 相差 70 倍, 而加入 2% 白蛋白的结合活性差距加大, 比例的波动范围由 2 倍 (**30**) 到 940 倍 (**28**), 提示不同的连接基对白蛋白的结合力是不同的, 提供了优化稳定性的方向。

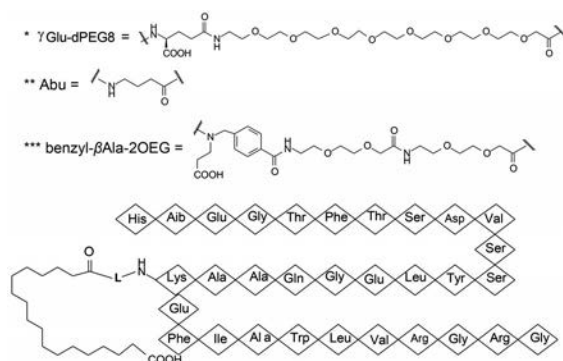
**3.4 不同连接基和脂肪二酸连接于肽的不同位置对活性的影响** 优化至此, 获得了数个良好活性的化合物, 其中尤以化合物 **28** 的活性和稳定性突出, 不仅对

细胞的功能活性和与受体的结合能力强, 而且与白蛋白的结合作用也强(有或无白蛋白的结合作用相差近千倍, 预示 **28** 的稳定性高)。然而这并没有证明 C18 二酸连接于 Lys<sup>26</sup> 为最佳的位置, 为此, 在 GLP-1(7-37) 肽链的不同位置用 Lys 替换氨基酸残基, 经不同的连接基连接 C18 二酸, 合成的化合物列于表 5。

结果表明, 功能活性低于 10 pmol·L<sup>-1</sup> 的化合物有 **37**~**39**, **41** 和 **46**, 而且与受体结合的活性低于 0.5 nmol·L<sup>-1</sup>, 然而这些化合物与白蛋白的结合作用不强, 比值超过 100 的化合物只有 3 个, 提示变化亲脂链的结合位置没有显示优势。

#### 4 体内药代动力学和药效学评价

**4.1 亲脂链对大鼠血浆暴露量的影响** 研发利拉鲁肽已证实化合物体外与受体的结合能力, 当加入白蛋白降低的越多(比值高), 体内血浆半衰期越长(Madsen K, Knudsen LB, Agersoe H, et al. Structure-activity and protraction relationship of long-acting glucagon-like peptide-1 derivative: importance of fatty acid length, polarity, and bulkness. J Med Chem, 2007, 50: 6126-6132)。为了证明在这个系列中也有这种相关性, 评价了化合物 **20** (C12 diacid, γ-Glu-2OEG)、**21** (C14 diacid, γ-Glu-2OEG)、**23** (C16 diacid, γ-Glu-2OEG)、**28** (C18 diacid, γ-Glu-2OEG) 和 **49** (C20 diacid, γ-Glu-2OEG) 的大鼠血浆半衰期。化合物静脉注射测定 48 h 的血药浓

**Table 4** Compounds of Aib<sup>8</sup>, Arg<sup>34</sup>-GLP-1 (7-37) with C18-C20 diacids attached to different linkers

Compd.	L	IC <sub>50</sub> /nmol·L <sup>-1</sup>		Ratio 2%/0%	Potency EC <sub>50</sub> /pmol·L <sup>-1</sup>
		0% HSA	2% HSA		
24	None	1.86	27.0	14	269
25	γ-Glu	0.21	112	541	9.9
26	γ-Glu-OEG	0.17	79.9	477	4.8
27	Dγ-Glu-2OEG	0.13	30.0	230	7.1
28	γ-Glu-2OEG	0.38	357	940	6.2
29	γ-Glu-3OEG	0.71	6.17	8.6	27.7
30	γ-Glu-dPEG8 <sup>*</sup>	5.31	11.4	2.1	47.3
31	(γ-Glu) <sub>2</sub> -2OEG	0.25	19.5	77	27.8
32	(γ-Glu) <sub>3</sub> -2OEG	0.36	15.2	43	67.0
33	Abu-(γ-Glu) <sub>2</sub> -2OEG	1.77	16.8	9.5	70.3
34	Abu-2OEG <sup>**</sup>	0.20	8.80	44	21.2
35	Abu-γ-Glu-OEG	0.58	20.7	36	10.7
36	Benzyl-βAla-2OEG <sup>***</sup>	9.19	51.7	5.6	5 990

**Table 5** Compounds of GLP-1 (7-37) peptides attached with C18 diacids via γ-Glu and OEG containing linkers and to 16, 22, 25, 26, 27, 36, 37 and 38 positions of the peptides

Compd.	Residue modification	L	Acylation position	IC <sub>50</sub> /nmol·L <sup>-1</sup>		Ratio 2%/0%	Potency EC <sub>50</sub> /pmol·L <sup>-1</sup>
				0% HSA	2% HSA		
37	Arg <sup>26</sup> Arg <sup>34</sup> Lys <sup>36</sup>	2OEG	Lys <sup>36</sup>	0.11	14.5	127	7.0
38	Aib <sup>8</sup> Lys <sup>27</sup>	γ-Glu-2OEG	Lys <sup>27</sup>	0.06	5.39	98	4.6
39	Aib <sup>8</sup> Lys <sup>16</sup>	γ-Glu-2OEG	Lys <sup>16</sup>	0.50	25.5	51	9.9
40	Aib <sup>8</sup> Aib <sup>22</sup> Aib <sup>35</sup> Lys <sup>36</sup>	OEG	Lys <sup>37</sup>	0.77	19.3	25	409
41	Aib <sup>8</sup> Lys <sup>22</sup>	γ-Glu-2OEG	Lys <sup>22</sup>	0.06	17.7	280	2.7
42	Aib <sup>8</sup> Lys <sup>25</sup>	γ-Glu-2OEG	Lys <sup>25</sup>	1.13	41.6	37	41.8
43	Aib <sup>8</sup> Ar <sup>26</sup> Ar <sup>34</sup> Lys <sup>36</sup>	None	Lys <sup>36</sup>	0.52	23.0	45	159
44	Aib <sup>8</sup> Ar <sup>26</sup> Ar <sup>34</sup> Lys <sup>38</sup>	None	Lys <sup>38</sup>	0.31	7.55	24	87.3
45	Aib <sup>8</sup> Ar <sup>26</sup> Ar <sup>34</sup> Lys <sup>38</sup>	2OEG	Lys <sup>38</sup>	0.11	3.99	36	13.2
46	Aib <sup>8</sup> Ar <sup>26</sup> Ar <sup>34</sup> Lys <sup>38</sup>	γ-Glu-2OEG	Lys <sup>38</sup>	0.09	30.1	334	1.5
47	Aib <sup>8</sup> Ar <sup>34</sup> Lys <sup>38</sup>	2OEG	Lys <sup>38</sup>	0.27	6.73	25	67.5
48	Gly <sup>8</sup> Ar <sup>34</sup>	2OEG	Lys <sup>26</sup>	0.1	6.5	64	26.0

度, 结果表明, 随着碳链的增长, 曲线下面积增大, 尤其是 **28** (C18) 和 **49** (C20) 的血浆暴露量显著高于 C12~C16, 不过化合物 **49** 的体外比值 85, 显著低于 **28** (940)。

**4.2 Aib<sup>8</sup> 对大鼠血浆暴露量的影响** 配体 GLP-1 (7-37) 对 DPP-4 的不稳定性是由于 Ala<sup>8</sup>-Glu<sup>9</sup> 是酶剪切的位点, 为了考察肽中残基 Aib<sup>8</sup>-Glu<sup>9</sup> 对体内稳定性的影响, 大鼠静脉注射利拉鲁肽 (**3**, Ala<sup>8</sup>-Glu<sup>9</sup>, γ-Glu, C16)、**11** (Ala<sup>8</sup>-Glu<sup>9</sup>, C18 diacid, γ-Glu-2OEG) 和 **28** (Aib<sup>8</sup>-Glu<sup>9</sup>, C18 diacid, γ-Glu-2OEG) 测定在 48 h 的血浆暴露量, 结果表明, **28** 显著大于 **3** 和 **11**, **3** 和 **11** 的曲线下面积相同, 说明 Aib<sup>8</sup> 置换 Ala<sup>8</sup> 残基提高了肽对 DPP-4 酶

的稳定性。

基于化合物 **28** 的体内外活性和代谢稳定性, 确定为候选物, 定名塞马鲁肽 (semaglutide) (Lau J, Bloch P, Schäffer L, et al. Discovery of the once-weekly glucagon-like peptide-1 (GLP-1) analogue semaglutide. J Med Chem, 2015, 58: 7370-7380)。

**4.3 对微型猪的体内药代动力学评价** 为了评价 **28** 是否为长效作用的 GLP-1 受体激动剂, 与每日一次用药利拉鲁肽作比较, 用微型猪作动物模型, 给药途径是静脉和皮下注射, 表 6 列出了这两种给药途径的药代动力学数据。

**Table 6** Pharmacokinetic evaluation in Göttingen mini-pigs following administration of semaglutide (**28**, 2 nmol·kg<sup>-1</sup> i.v. or 2 nmol·kg<sup>-1</sup> s.c.) and liraglutide (**3**, 0.5 nmol·kg<sup>-1</sup> i.v. or 1.0 nmol·kg<sup>-1</sup> s.c.)

Compd.	i.v. administration			s.c. administration		
	CL/L·h <sup>-1</sup> ·kg <sup>-1</sup>	V <sub>d</sub> /L·kg <sup>-1</sup>	t <sub>1/2</sub> /h	T <sub>max</sub> /h	MRT/h	F/%
Liraglutide	0.003 8	0.067 4	12.4	7	23.0	66
Semaglutide	0.001 6	0.101 9	46.1	12	63.6	94

结果提示, 静脉注射利拉鲁肽的分布容积 (V<sub>d</sub>) 0.067 L·kg<sup>-1</sup> (67 mL·kg<sup>-1</sup>), 非常接近于微型猪的血液体积 65 mL·kg<sup>-1</sup>, 并且提示利拉鲁肽药物浓度迅速在血液与外周组织达到平衡。利拉鲁肽的清除率 (CL) 为 0.003 8 L·h<sup>-1</sup>·kg<sup>-1</sup> (0.063 mL·min<sup>-1</sup>·kg<sup>-1</sup>), 半衰期 (t<sub>1/2</sub>) 12.4 h。而塞马鲁肽的 V<sub>d</sub> 为 102 L·kg<sup>-1</sup> (0.102 mL·kg<sup>-1</sup>), 比利拉鲁肽高 1.5 倍, 说明游离的塞马鲁肽在血液中有较低的浓度, 是因为与白蛋白结合较多的缘故, 塞马鲁肽的清除率 (CL) 为 0.001 6 L·h<sup>-1</sup>·kg<sup>-1</sup> (0.027 mL·min<sup>-1</sup>·kg<sup>-1</sup>), 比利拉鲁肽低 2 倍, 半衰期 (t<sub>1/2</sub>) 长 3 倍。皮下注射的平均存留时间 (MRT) 塞马鲁肽是利拉鲁肽的 3 倍, 生物利用度 (F) 高达 94%。这些数据预示塞马鲁肽的长效性显著强于利拉鲁肽。

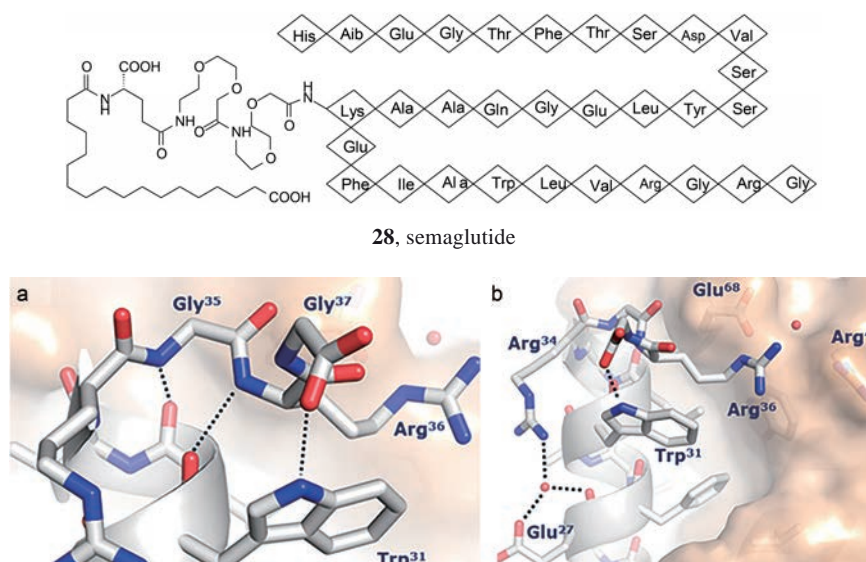
**4.4 对 db/db 小鼠的降血糖作用** db/db 小鼠是 2 型糖尿病动物模型, 具有高血糖、高胰岛素血症和肥胖的生理生化特征。对一些高活性的化合物评价降血糖作用, 表明塞马鲁肽是最强的一个, 其降糖水平和持续时间显著强于利拉鲁肽 (数据从略)。

基于上述体内外药效和药代性质, 塞马鲁肽 (**28**)

进入临床研究, 经三期试验, 证明是注射或口服治疗 2 型糖尿病的长效药物, 每周用药一次, 为治疗糖尿病和减肥药物, 于 2017 年 FDA 批准上市。

### 5 塞马鲁肽母核与 GLP-1 受体结合的晶体结构

塞马鲁肽分子与 GLP-1 受体的胞外域的复合物晶体结构难以达到衍射分析的要求, 因而制备了未经酰化的肽母核与受体胞外域的单晶。X 射线衍射分析 (1.8 Å) 提示, 其结合方式与天然配体 GLP-1 (7-37) OH 的模式完全相同, 这是因为氨基酸序列高度一致的缘故 (Underwood CR, Garibay P, Knudsen LB, et al. Crystal structure of glucagon-like peptide-1 in complex with the extracellular domain of the glucagon-like peptide-1 receptor. J Biol Chem, 2010, 285: 723-730)。Lys<sup>26</sup> 虽与受体的 Glu<sup>128</sup> 结合, 但该结合位点对活性贡献不大。以前的实验结果表明将 Lys<sup>26</sup> 变换成其他氨基酸残基对受体结合的影响不大, 提示将其酰化并连接出亲脂链对于受体结合没有明显影响, 这也是用没有亲脂链的肽母核制备单晶的依据。图 1 是塞马鲁肽母核与 GLP-1 受体的胞外域复合物晶体部分结构图, 结合特征如下: ① GLP-1 (7-37) 的 Lys<sup>34</sup> 没有参与同受体的结合, 以柔性构象方式存在; 而变换成塞马鲁肽的 Arg<sup>34</sup> 采取了朝向 Glu<sup>27</sup> 的构象, 是经过水分子介导相互结合, 形成稳固的构象。② 塞马鲁肽的 Gly<sup>35</sup> 和 Arg<sup>36</sup> 分别与本身骨架上的 Leu<sup>32</sup> 和 Trp<sup>31</sup> 的羰基形成氢键 (图 1a)。③ Arg<sup>36</sup> 的侧链取向于受体的 Glu<sup>68</sup> 和塞马鲁肽的 Trp<sup>31</sup> 之间的裂隙处, 在疏水相互作用中形成一个顶盖 (图 1b)。



**Figure 1** Crystal structure of the semaglutide peptide backbone (gray) in complex with the GLP-1 receptor extracellular domain; a: The structure of the C-terminus of the semaglutide peptide backbone. Hydrogen bond interactions are illustrated as dotted lines; b: Arg36 closes the hydrophobic ligand-receptor interface by aligning with Trp31 and Glu68. A water molecule is coordinated by Glu27 and Arg34