

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2023 年 3 月 30 日 (30.03.2023)



(10) 国际公布号
WO 2023/045802 A1

(51) 国际专利分类号:
A61K 38/22 (2006.01) *A61P 3/10* (2006.01)

SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ,
UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW。

(21) 国际申请号: PCT/CN2022/118429

(22) 国际申请日: 2022 年 9 月 13 日 (13.09.2022)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:
202111126033.7 2021年9月24日 (24.09.2021) CN

(71) 申请人: 派格生物医药(苏州)股份有限公司
(**PEGBIO CO., LTD.**) [CN/CN]; 中国江苏省苏州市
苏州工业园区星湖街218号生物医药产业园B7楼601单元, Jiangsu 215123 (CN)。

(84) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的地区
保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ,
NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM,
AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG,
CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU,
IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT,
RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI,
CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

本国际公布:

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

(72) 发明人: 徐敏(**XU, Michael Min**); 中国江苏省苏州市
苏州工业园区星湖街218号生物医药产业园B7楼601单元, Jiangsu 215123 (CN)。 侯
银菊(**HOU, Yinju**); 中国江苏省苏州市苏州工业园区星湖街218号生物医药产业园B7楼
601单元, Jiangsu 215123 (CN)。

(74) 代理人: 北京林达刘知识产权代理事务所(普
通合伙)(**LINDA LIU & PARTNERS**); 中国北京市
东城区北三环东路36号北京环球贸易中
心C座16层, Beijing 100013 (CN)。

(81) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的国家
保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG,
BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU,
CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI,
GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ,
IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ,
LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK,
MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA,
PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD,

(54) Title: PHARMACEUTICAL COMPOSITION CONTAINING PEGYLATED EXENATIDE VARIANT AND USE THEREOF

(54) 发明名称: 一种含有聚乙二醇化艾塞那肽变体的药物组合物及其用途

(57) Abstract: The present invention relates to the technical field of protein drugs, and in particular to a pharmaceutical composition containing a pegylated exenatide variant and a use thereof. Specifically, the pharmaceutical composition provided in the present invention contains a pegylated exenatide variant and a pH regulator. In the present invention, by screening different components and concentrations, a pharmaceutical composition having excellent stability is developed; the pharmaceutical composition can be used as a drug for preventing and/or treating diabetes, and is suitable for long-term storage.

(57) 摘要: 本发明属于蛋白质药物技术领域, 具体涉及一种含有聚乙二醇化艾塞那肽变体的药物组合物及其用途。具体而言, 本发明提供的药物组合物包括聚乙二醇化艾塞那肽变体和 pH 调节剂。本发明通过对各种组分及浓度筛选, 开发出稳定性优良的药物组合物, 该药物组合物可作为预防和/或治疗糖尿病的药物, 适于长期保存。



WO 2023/045802 A1

一种含有聚乙二醇化艾塞那肽变体的药物组合物及其用途

优先权和相关申请

本申请要求于2021年9月24日提交中国专利局、申请号为202111126033.7、发明名称为“一种含有聚乙二醇化艾塞那肽变体的药物组合物及其用途”的中国专利申请的优先权，其全部内容通过引用结合在本申请中。

技术领域

本发明属于蛋白质药物技术领域，具体涉及一种含有聚乙二醇化艾塞那肽变体的药物组合物及其用途。

背景技术

随着经济社会的发展、人口平均寿命的延长和生活方式的变化，糖尿病已经成为世界各国主要的卫生保健问题。无论在发达国家或是发展中国家，糖尿病的发病率都在急剧上升。糖尿病是由于胰腺分泌功能缺陷或胰岛素作用缺陷引起的，以血糖升高为特征的代谢性疾病。糖尿病患者若血糖长期控制不佳，可导致器官组织损伤，成为“万病之源”，伴发各种器官，尤其是眼、心、血管、肾、神经损害或器官功能不全或衰竭，严重可致患者残疾或者死亡。根据发病机制不同，糖尿病主要分为I型糖尿病、II型糖尿病、妊娠期糖尿病和其他类型糖尿病。II型糖尿病患者是糖尿病的主体，占比约为90%。II型糖尿病的特点是胰岛素分泌或作用失调及 β -细胞功能障碍，致使脂肪、碳水化合物以及蛋白质代谢紊乱，造成慢性血糖过高，最终导致各种血管及脏器并发症出现。

胰高血糖素样肽-1 (Glucagon-like peptide-1, GLP-1) 于1985年被首次发现，其是人体进食后由胰高血糖素原基因表达，主要在肠道黏膜L-细胞分泌的一种产物，它能刺激胰岛 β -细胞分泌胰岛素，对稳定血糖水平有重要作用 (Knudsen. *J. Med. Chem.* 2004, 47, 17, 4128-4134)。但GLP-1在体内很容易被二肽基肽酶IV (DPPIV) 降解，半衰期不足2分钟，几乎不能成为有效的抗糖尿病药物。

艾塞那肽 (Exenatide, 或称 Exendin-4) 是在爬行动物毒蜥的唾液分泌物中发现的多肽，与GLP-1 (7-36) 具有高度同源性 (53%) (Eng et al. *J. Biol. Chem.* 265(33), 20259-62; Eng et al. *J. Biol. Chem.* 267(11), 7402-5)。研究表明，Exendin-4同样可以与GLP-1受体结合，并在药理上表现出与GLP-1相类似的激动作用，例如：增加胰岛素的合成及葡萄糖依赖性促胰岛素分泌；刺激 β 细胞增生和再生，抑制 β 细胞凋亡，从而增加 β 细胞的数量；抑制胰高血糖素的分泌；抑制肝糖生成，但不会引起严重低血糖；抑制餐后胃肠道动力及分泌功能；降低食欲，减少食物的摄入；对神经细胞具有保护作用 (Bonner-Weir et al. *Nat Biotechnol.* 23(7), 857-61; Raufman et al. *J. Biol. Chem.* 266(5), 2897-2902; Kolligs et al. *Diabetes.* 44(1), 16-19; Turton et al. *Nature.* 379(6560), 69-72)。Exendin-4促进胰岛素分泌和抑制餐后胰高血糖素分泌的作用具有血糖依赖性，优于目前所用的磺脲类降糖药，不易发生低血糖反应，能够极大减少血糖监测次数，并能减轻体重。由美国安米林 (Amylin) 和礼来 (Eli Lilly) 公司共同开发的一天注射两次的 Exendin-4 (通用名 Exenatide, 商品名: Byetta) 于2005年和2006年分别在美国和欧洲上市，使得该类药物开始在糖尿病及肥胖治疗领域得到广泛的应用。与天然GLP-1相比，Exenatide通过第2位氨基酸替换，有效地抑制了DPPIV的酶解，在体内的半衰期可达60-90分钟。

聚合物修饰技术是上世纪70年代发展起来的一种强有力的修饰技术，其中尤以聚乙二醇化技术为代表。该技术是将聚乙二醇 (PEG) 与蛋白质药物化学结合，对蛋白质的表面进行修饰。通过PEG的修饰，一方面增加了蛋白质的分子量，降低了其在肾脏的排泄速率；另一方面，偶联的PEG链在被修饰的蛋白质分子表面产生空间位阻效应，减低

血液中蛋白水解酶对该蛋白的水解作用，从而有效地延长了其在循环系统内的滞留时间，导致药物血浆周期延长和系统性药物暴露增加并提高疗效。

WO 2010/121559 A1 公开了一类聚乙二醇化的艾塞那肽变体化合物，相比于艾塞那肽，经聚乙二醇特异性修饰得到的缀合物在作用持续时间、生物利用度及治疗效果等方面均具有明显优势。临床研究表明，聚乙二醇化艾塞那肽变体对于 II 型糖尿病患者具有优异的疗效和安全性。

目前，以 GLP-1 受体激动剂为代表的多肽类药物多以注射液的形式保存及使用。多肽活性成分容易受到外界环境的影响，从而发生水解、脱氨、氧化和消旋等化学变化，所产生的杂质会严重影响药物的有效性和安全性。为解决该技术难题，在已获批上市的 GLP-1 类药物中，通常会在处方中额外加入缓冲体系，降低外界环境对溶液 pH 的影响，以此来维持活性成分的稳定性，例如，Liraglutide（商品名 Victoza）、Semaglutide（商品名 Ozempic）中使用了磷酸盐缓冲体系（参见 Victoza、Ozempic 药品说明书），Exenatide（商品名 Byetta）中使用了醋酸盐缓冲体系（参见 Byetta 药品说明书）。然而，目前尚未公开适于长期保存的聚乙二醇化艾塞那肽变体的注射液配方。

发明内容

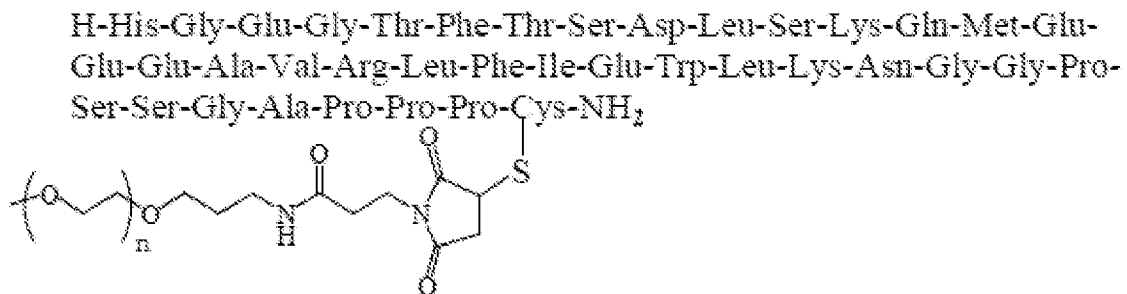
发明要解决的问题

鉴于目前尚未公开适于长期保存的聚乙二醇化艾塞那肽变体的注射液配方，本发明提供一种稳定的含有聚乙二醇化艾塞那肽变体的药物组合物，同时，本发明还提出了该药物组合物的用途。

用于解决问题的方案

[1]. 一种含有聚乙二醇化艾塞那肽变体的药物组合物，其包括以下组分：聚乙二醇化艾塞那肽变体和 pH 调节剂，

其中，所述聚乙二醇化艾塞那肽变体的结构为：



所述聚乙二醇化艾塞那肽变体中聚乙二醇修饰部分的分子量为 5~100kDa。

[2]. 根据[1]所述的药物组合物，所述聚乙二醇修饰部分的分子量为 10~50kDa。

[3]. 根据[1]或[2]所述的药物组合物，所述聚乙二醇修饰部分的分子量为 15~40kDa。

[4]. 根据[1]至[3]中任一项所述的药物组合物，所述聚乙二醇修饰部分的分子量为 20~29kDa。

[5]. 根据[1]至[4]中任一项所述的药物组合物，所述药物组合物包括溶剂。

[6]. 根据[5]所述的药物组合物，所述药物组合物的 pH 值为 2.0~6.0。

[7]. 根据[5]或[6]所述的药物组合物，所述药物组合物的 pH 值为 2.5~5.5。

[8]. 根据[5]至[7]中任一项所述的药物组合物，所述药物组合物的 pH 值为 3.0~5.0。

[9]. 根据[5]至[8]中任一项所述的药物组合物，所述药物组合物的 pH 值为 3.5~4.5。

[10]. 根据[1]至[9]中任一项所述的药物组合物，所述 pH 调节剂为酸。

[11]. 根据[10]所述的药物组合物，所述酸选自枸橼酸、醋酸、三氟乙酸、磷酸、盐酸、酒石酸、苹果酸和丙酸中的一种或多种。

[12].根据[10]或[11]所述的药物组合物,所述酸选自枸橼酸、醋酸、三氟乙酸和磷酸中的一种或多种。

[13].根据[10]至[12]中任一项所述的药物组合物,所述酸为枸橼酸。

[14].根据[1]至[9]中任一项所述的药物组合物,所述pH调节剂为缓冲体系。

5 [15].根据[14]所述的药物组合物,所述缓冲体系包括甘氨酸/盐酸、枸橼酸/枸橼酸钠、枸橼酸/磷酸氢二钠、醋酸/醋酸钠、乳酸/氢氧化钠、乳酸/碳酸钠、丙酸/丙酸钠、琥珀酸/琥珀酸钠和苹果酸/氢氧化钠中的任一种。

[16].根据[14]或[15]所述的药物组合物,所述缓冲体系选自甘氨酸/盐酸、醋酸/醋酸钠、乳酸/氢氧化钠、乳酸/碳酸钠、丙酸/丙酸钠、琥珀酸/琥珀酸钠和苹果酸/氢氧化钠中的任一种。

10 [17].根据[14]或[16]中任一项所述的药物组合物,所述缓冲体系为乳酸/氢氧化钠或乳酸/碳酸钠。

[18].根据[5]至[17]中任一项所述的药物组合物,以肽含量计,所述聚乙二醇化艾塞那肽变体的浓度为0.1~5.0mg/ml。

15 [19].根据[5]至[18]中任一项所述的药物组合物,以肽含量计,所述聚乙二醇化艾塞那肽变体的浓度为0.25~1.5mg/ml。

[20].根据[5]至[19]中任一项所述的药物组合物,以肽含量计,所述聚乙二醇化艾塞那肽变体的浓度为0.3~0.8mg/ml。

20 [21].根据[5]至[20]中任一项所述的药物组合物,以肽含量计,所述聚乙二醇化艾塞那肽变体的浓度为0.4~0.6mg/ml。

[22].根据[5]至[21]中任一项所述的药物组合物,以肽含量计,所述聚乙二醇化艾塞那肽变体的浓度为0.5mg/ml。

[23].根据[1]至[22]中任一项所述的药物组合物,所述药物组合物包括渗透压调节剂。

25 [24].根据[23]所述的药物组合物,所述渗透压调节剂选自甘露醇、山梨醇、木糖醇、甘油和氯化钠中的一种或多种。

[25].根据[23]至[24]所述的药物组合物,所述渗透压调节剂为甘露醇。

[26].根据[23]至[25]中任一项所述的药物组合物,所述渗透压调节剂的浓度为5~100mg/ml。

30 [27].根据[23]至[26]中任一项所述的药物组合物,所述渗透压调节剂的浓度为10~80mg/ml。

[28].根据[23]至[27]中任一项所述的药物组合物,所述渗透压调节的浓度为30~60mg/ml。

[29].根据[23]至[28]中任一项所述的药物组合物,所述渗透压调节的浓度为40~50mg/ml。

35 [30].根据[1]至[29]中任一项所述的药物组合物,所述药物组合物中还包括抑菌剂。

[31].根据[30]所述的药物组合物,所述抑菌剂选自间甲酚、苯酚、氯甲酚、三氯叔丁醇、苯甲醇和尼泊金酯中的一种或多种。

[32].根据[30]或[31]所述的药物组合物,所述抑菌剂选自间甲酚、苯酚、氯甲酚、三氯叔丁醇和尼泊金酯中的一种或多种。

40 [33].根据[30]至[32]中任一项所述的药物组合物,所述抑菌剂为间甲酚。

[34].根据[30]至[33]中任一项所述的药物组合物,所述抑菌剂的浓度为0.1~5mg/ml。

[35].根据[30]至[34]中任一项所述的药物组合物,所述抑菌剂的浓度为1.0~4.0mg/ml。

[36].根据[30]至[35]中任一项所述的药物组合物,所述抑菌剂的浓度为1.5~3.0mg/ml。

[37].根据[30]至[36]中任一项所述的药物组合物,所述抑菌剂的浓度为2.0~2.5mg/ml。

45 [38].根据[1]至[37]中任一项所述的药物组合物,所述药物组合物为注射液。

[39].根据[1]至[38]中任一项所述的药物组合物在制备用于预防和/或治疗糖尿病的药物中的用途。

发明的效果

为解决含有聚乙二醇化艾塞那肽变体的注射液在长期存储过程中稳定性的问题，本发明通过对各种组分及浓度筛选，开发出稳定性优良的药物组合物，该药物组合物适于长期保存。

进一步地，在合适的pH条件下，未添加缓冲体系的药物组合物能够取得相当甚至是更优的稳定性，这是出乎意料的。

具体实施方式

以下将详细说明本发明的各种示例性实施例、特征和方面。在这里专用的词“示例性”意为“用作例子、实施例或说明性”。这里作为“示例性”所说明的任何实施例不必解释为优于或好于其它实施例。

另外，为了更好地说明本发明，在下文的具体实施方式中给出了众多的具体细节。本领域技术人员应当理解，没有某些具体细节，本发明同样可以实施。在另外一些实例中，对于本领域技术人员熟知的方法、手段、器材和步骤未作详细描述，以便于凸显本发明的主旨。

如无特殊声明，本说明书中所使用的单位均为国际标准单位，并且本发明中出现的数值、数值范围，均应当理解为包含了工业生产中所不可避免的系统性误差。

本说明书中，使用“数值A~数值B”表示的数值范围是指包含端点数值A、B的范围。

本说明书中，使用“可以”表示的含义包括了进行某种处理以及不进行某种处理两方面的含义。

本说明书中，所提及的“一些具体/优选的实施方案”、“另一些具体/优选的实施方案”、“实施方案”等是指所描述的与该实施方案有关的特定要素(例如，特征、结构、性质和/或特性)包括在此处所述的至少一种实施方案中，并且可存在于其它实施方案中或者可不存在于其它实施方案中。另外，应理解，所述要素可以任何合适的方式组合在各种实施方案中。

<第一方面>

本发明的第一方面，本发明提供了一种含有聚乙二醇化艾塞那肽变体的药物组合物，其包括以下组分：聚乙二醇化艾塞那肽变体和 pH 调节剂。

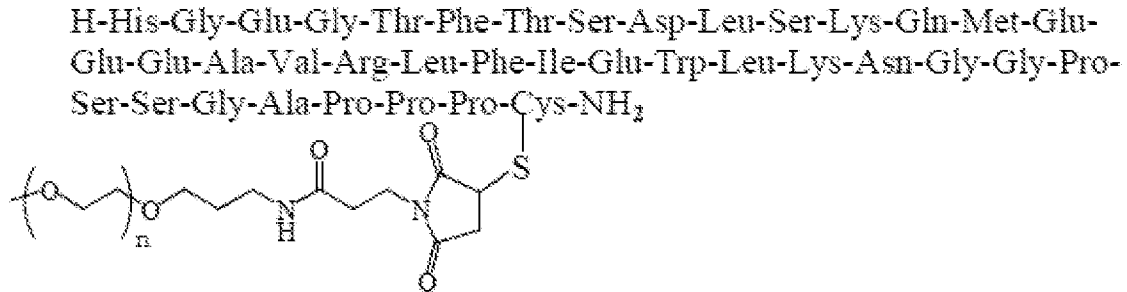
本发明通过对上述各种组分及浓度筛选，开发出稳定性优良的药物组合物，该药物组合物适于长期保存。具体而言：

聚乙二醇化艾塞那肽变体

本发明提供的药物组合物，其活性成分为聚乙二醇化艾塞那肽变体。聚乙二醇化艾塞那肽变体是指通过聚乙二醇化(PEGylation)技术特异性修饰艾塞那肽变体后得到的缀合物。

其中，术语“艾塞那肽变体”是指 Cys³⁹-Exendin-4 (或 Cys³⁹-exenatide)，其为艾塞那肽氨基酸序列中的第 39 位的丝氨酸(Ser)置换为半胱氨酸(Cys)后得到的变体。具体地，Cys³⁹-Exendin-4 (或 Cys³⁹-exenatide) 的结构为：H-His-Gly-Glu-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Leu-Ser-Lys-Gln-Met-Glu-Glu-Glu-Ala-Val-Arg-Leu-Phe-Ile-Glu-Trp-Leu-Lys-Asn-Gly-Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Cys-NH₂，如 SEQ ID NO.1 所示。

术语“聚乙二醇化艾塞那肽变体”为 Cys³⁹-exenatide 与 mPEG-ppMAL (α-甲氧基-聚乙二醇-ω-[3-(3-马来酰亚胺基-1-氧代丙基)氨基]丙基醚)的缀合物，其结构为：



其中，n 独立地选自任意的自然数，使聚乙二醇修饰部分的分子量落入目标范围内。

术语“聚乙二醇修饰部分的分子量”为 mPEG-ppMAL 的分子量。由于聚合物是由一定分布范围内的不同聚合度的分子构成，一般用平均分子量表示聚合物的分子量。具体来说，可以为数均分子量，也可以为重均分子量。尽管在聚合物的聚合度差异较大时，数均分子量和重均分子量可能有一些偏差，但是对于分布范围较窄的聚合物来说，二者趋于相等。对于本发明的聚乙二醇化艾塞那肽变体，在提及其分子量时，既可以是重均分子量，也可以是数均分子量，优选数均分子量。

本发明中，对聚乙二醇化艾塞那肽变体中聚乙二醇修饰部分的分子量可不作特别限定，可由所属技术人员根据实际需要而确定。在本发明一些具体的实施方案中，聚乙二醇修饰部分的分子量为 5~100kDa，优选为 10~50kDa，更优选为 15~40kDa，示例性地，其分子量可以为 15kDa、16kDa、17kDa、18kDa、19kDa、20kDa、21kDa、22kDa、23kDa、24kDa、25kDa、26kDa、27kDa、28kDa、29kDa、30kDa、31kDa、32kDa、33kDa、34kDa、35kDa、36kDa、37kDa、38kDa、39kDa、40kDa 等。

在本发明一些更优选的实施方案中，聚乙二醇修饰部分的分子量为 20~29kDa。

相比于艾塞那肽，经上述修饰后，本发明的活性成分在作用持续时间、生物利用度及治疗效果等方面均具有明显优势，对于糖尿病患者具有优异的疗效和安全性。

本发明的药物组合物可以包含上述活性成分和 pH 调节剂，也可以为进一步包含其他药学上可接受的载体、佐剂或媒剂等的某种制剂形式，以便于临床应用或保存等。本发明对药物组合物的具体应用形式不作限定，可由所属领域技术人员根据实际需要而确定。例如，上述活性成分和 pH 调节剂和适量溶剂制成液体制剂，该溶剂可以为水、乙醇或与其与水形成的混合溶剂、丙二醇或与其与水形成的混合溶剂、甘油与水形成的混合溶剂、聚乙二醇与水形成的混合溶剂、花生油、麻油和豆油等，所述液体制剂更具体地可以为口服液、注射液等。在本发明一些具体的实施方案中，本发明的药物组合物为注射液，注射液的溶剂可选自水（例如注射用水）、乙醇与水形成的混合溶剂、丙二醇与水形成的混合溶剂、聚乙二醇与水形成的混合溶剂等中的任一种，优选为注射用水。

本发明对药物组合物中活性成分的含量不作特别限定，可由所属领域技术人员根据实际需要而确定。为确保优异的疗效和用药的便利性，在本发明一些具体的实施方案中，本发明的药物组合物中，以肽含量计，聚乙二醇化艾塞那肽变体的浓度为 0.1~5.0mg/ml。

本发明的发明人发现，聚乙二醇化艾塞那肽变体的浓度还影响着药物组合物的稳定性，上述肽浓度越高，其稳定性将越好。但当药物组合物为注射液时，当上述肽浓度升高时，其溶液粘度也越大，将不利于注射。因此，在本发明的一些优选的实施方案中，聚乙二醇化艾塞那肽变体的浓度不高于 1.5mg/ml，具体可以为 0.2mg/ml、0.25mg/ml、0.3mg/ml、0.35mg/ml、0.4mg/ml、0.45mg/ml、0.5mg/ml、0.55mg/ml、0.6mg/ml、0.65mg/ml、0.7mg/ml、0.75mg/ml、0.8mg/ml、0.85mg/ml、0.9mg/ml、0.95mg/ml、1.0mg/ml、1.1mg/ml、1.2mg/ml、1.3mg/ml、1.4mg/ml、1.5mg/ml 等。

当上述浓度低于 0.25mg/ml 时，药物组合物的稳定性略下降，因此，在本发明一些更优选的实施方案中，聚乙二醇化艾塞那肽变体的浓度为 0.25~1.5mg/ml，更优选为

0.3~0.8mg/ml, 甚至更优选为 0.4~0.6mg/ml。

考虑到当上述浓度为 0.5mg/ml 时, 药物组合物的稳定性已能满足需求, 因此, 在本发明一些更优选的实施方案中, 聚乙二醇化艾塞那肽变体的浓度为 0.5mg/ml。

pH 值

pH 值对聚乙二醇化艾塞那肽变体的稳定性具有较大影响。本发明提供的药物组合物, 在偏酸性条件下较为稳定。

在本发明一些具体的实施方案中, 药物组合物的 pH 值为 2.0~6.0。在此 pH 值范围内, 本发明的药物组合物可保持较好的稳定性。当 pH 值在 6.0 以上时, 聚乙二醇化艾塞那肽变体降解较快。

在本发明一些优选的实施方案中, 药物组合物的 pH 值为 2.5~5.5, 进一步优选为 3.0~5.0。该 pH 条件下, 药物组合物在低温 (例如 4℃) 存放时间 9 个月, 其液相纯度仍能保持在 90% 以上。示例性地, pH 值可以为 3.0、3.1、3.2、3.3、3.3、3.4、3.5、3.6、3.7、3.8、3.9、4.0、4.1、4.2、4.3、4.4、4.5、4.6、4.7、4.8、4.9、5.0 等。

在本发明一些更优选的实施方案中, 药物组合物的 pH 值为 3.5~4.5。若能维持该 pH 条件, 具体所使用的 pH 调节剂可不作限定, 如 pH 调节剂可为酸, 或者可为缓冲体系等, 该 pH 条件可减少或避免其它组分 (例如缓冲体系) 对稳定性所带来的负面影响。

在本发明一些更优选的实施方案中, 药物组合物的 pH 值为 3.5~4.5 时, 该 pH 条件下低温 (例如 4℃) 存放时间 9 个月, 其液相纯度仍能保持在 94% 以上。

pH 调节剂

本发明对 pH 调节剂的具体种类不作特别限定, 可由所属领域技术人员根据实际需要而确定。在本发明一些具体的实施方案中, pH 调节剂可以为酸, 也可以为缓冲体系。

(酸)

对于 pH 调节剂为酸的情况, 本发明对酸的具体种类不作特别限定, 可由所属领域技术人员根据实际需要而确定, 例如可以为枸橼酸、醋酸、马来酸、乳酸等。在本发明一些优选的实施方案中, 酸选自枸橼酸、醋酸、三氟乙酸、磷酸、盐酸、酒石酸、苹果酸和丙酸中的一种或多种。

在本发明一些更优选的实施方案中, 酸选自枸橼酸、醋酸、三氟乙酸和磷酸中的一种或多种。

在本发明一些更优选的实施方案中, pH 调节剂为枸橼酸。此实施方案不使用缓冲体系, 仅使用枸橼酸将 pH 值调至上述目标值 (例如 3.5~4.5), 可保持药物组合物在高温 (例如 40℃) 下长期稳定, 其综合稳定性甚至高于下文中使用缓冲体系 (例如乳酸缓冲体系) 的情况。

(缓冲体系)

缓冲体系由共轭酸碱对或两性物质组成, 能在一定程度上抵消、减轻外加酸或碱对溶液酸碱度的影响, 从而保持溶液的 pH 值相对稳定。

对于 pH 调节剂为缓冲体系的情况, 本发明对缓冲体系的具体种类不作特别限定, 可由所属领域技术人员根据实际需要而确定, 例如可以为乳酸/碳酸钠、乳酸/氢氧化钠、磷酸二氢钾/氢氧化钠等。

在本发明的一些优选的实施方案中, 药物组合物中所使用的缓冲体系包括甘氨酸/盐酸、枸橼酸/枸橼酸钠、枸橼酸/磷酸氢二钠、醋酸/醋酸钠、乳酸/氢氧化钠、乳酸/碳酸钠、丙酸/丙酸钠、琥珀酸/琥珀酸钠和苹果酸/氢氧化钠中的任一种。

在本发明一些更优选的实施方案中, 药物组合物中所使用缓冲体系选自甘氨酸/盐酸、醋酸/醋酸钠、乳酸/氢氧化钠、乳酸/碳酸钠、丙酸/丙酸钠、琥珀酸/琥珀酸钠和苹果酸/氢氧化钠中的任一种。在合适的 pH 范围内 (例如 pH 值为 3.5~4.5), 可不同程度地减缓聚乙二醇化艾塞那肽变体的降解。

在本发明一些更优选的实施方案中，药物组合物中所使用的缓冲体系为乳酸缓冲体系，具体可以为乳酸/氢氧化钠或乳酸/碳酸钠。在合适的pH范围内(例如pH值为3.5~4.5)，使用该类缓冲体系可使药物组合物保持较好的稳定性。

对于上述缓冲体系的用量，本发明不作特别限定，可由所属领域技术人员根据实际需要而确定。本发明缓冲体系的用量以“缓冲盐的浓度”计量，术语“缓冲盐的浓度”指的是缓冲体系中阴离子浓度。在本发明一些的实施方案中，缓冲盐的浓度为10-50mmol/L，优选为20-40 mmol/L，更优选为25-35 mmol/L，甚至更优选为30mmol/L。本发明通过改变缓冲体系中共轭酸碱或两性物质的比例来调节不同的pH值。

本发明的药物组合物还可任选地包括其它组分，例如渗透压调节剂、抑菌剂等，具体而言：

渗透压调节剂

本发明对是否使用渗透压调节剂不作特别限定，在本发明一些优选的实施方案中，上述药物组合物包括渗透压调节剂。渗透调节剂用于调节药物组合物的渗透压。本发明对渗透压调节剂的具体种类不作特别限定，可为本领域现有技术中常用的物质，如海藻糖、甘露醇、半乳糖、麦芽糖和葡萄糖等。

在本发明一些具体的实施方案中，渗透压调节剂选自甘露醇、山梨醇、木糖醇、甘油和氯化钠中的一种或多种，该类渗透压调节剂不仅能够调节渗透压，还对药物组合物的稳定起到辅助作用。

在本发明一些优选的实施方案中，渗透压调节剂为甘露醇。相比于上述氯化钠等，甘露醇可增强药物组合物的稳定性。

对于渗透压调节剂的用量，本发明不作特别限定，可由所属领域技术人员根据实际需要而确定。在本发明一些具体的实施方案中，渗透压调节剂的浓度为5~100mg/ml，优选为10~80mg/ml，更优选为30~60mg/ml，示例性地，其浓度具体可以为30mg/ml、31mg/ml、32mg/ml、33mg/ml、34mg/ml、35mg/ml、36mg/ml、37mg/ml、38mg/ml、39mg/ml、40mg/ml、41mg/ml、42mg/ml、43mg/ml、44mg/ml、45mg/ml、46mg/ml、47mg/ml、48mg/ml、49mg/ml、50mg/ml、51mg/ml、52mg/ml、53mg/ml、54mg/ml、55mg/ml、56mg/ml、57mg/ml、58mg/ml、59mg/ml、60mg/ml等。

在本发明一些优选的实施方案中，渗透压调节剂的浓度为40~50mg/ml。

抑菌剂

本发明对是否使用抑菌剂不作特别限定，可由所属领域技术人员根据实际需要而确定。在本发明一些具体的实施方案中，药物组合物使用抑菌剂。

本发明对抑菌剂的具体种类不作特别限定，可由所述领域技术人员根据实际需要而确定，例如，间甲酚、苯酚、山梨酸等。在本发明一些优选的实施方案中，抑菌剂选自间甲酚、苯酚、氯甲酚、三氯叔丁醇、苯甲醇和尼泊金酯中的一种或多种。

在本发明一些更优选的实施方案中，抑菌剂选自间甲酚、苯酚、氯甲酚、三氯叔丁醇和尼泊金酯中的一种或多种。采用此类抑菌剂，药物组合物较为稳定。

在本发明一些更优选的实施方案中，抑菌剂为间甲酚，药物组合物的稳定性更好。

对于上述抑菌剂的用量，本发明不作特别限定，可由所属领域技术人员根据实际需要而确定。在本发明一些具体的实施方案中，抑菌剂的浓度为0.1~5mg/ml，优选为1.0~4.0mg/ml，更优选为1.5~3.0mg/ml，示例性地，其浓度具体可以为1.5mg/ml、1.6mg/ml、1.7mg/ml、1.8mg/ml、1.9mg/ml、2.0mg/ml、2.1mg/ml、2.2mg/ml、2.3mg/ml、2.4mg/ml、2.5mg/ml、2.6mg/ml、2.7mg/ml、2.8mg/ml、2.9mg/ml、3.0mg/ml等。

在本发明一些优选的实施方案中，抑菌剂的浓度为2.0~2.5mg/ml。

<第二方面>

本发明的第二方面，本发明还提出了上述药物组合物的用途。

医药用途

基于活性成分聚乙二醇化艾塞那肽变体可控制血糖水平的功效，上述任一种药物组合合物也可平稳有效地控制血糖水平，因此，本发明提供了上述药物组合合物，其用于预防和/或治疗糖尿病。

5 本发明还提供了上述药物组合合物在制备用于预防和/或治疗糖尿病的药物中的用途。

治疗方法

本发明还提供一种用于预防和/或治疗糖尿病的方法，其包括下列步骤：将预防和/或治疗有效量的上述药物组合合物施用于对其有需求的患者。

10 施用于患者的药物组合物的量将取决于施用的药物、施用的目的（如预防或治疗）、患者的状态、施用方式等而变化。在治疗性应用中，可以按足以治愈或至少部分地抑制疾病的症状及其并发症的量将药物组合合物施用于已经患有该疾病的患者。治疗有效量将取决于正在治疗的疾病病状并且通过主治临床医师的判断取决于以下因素，如疾病的严重性，患者的年龄、体重和一般状况等。

15 下面将结合实施例对本发明的实施方案进行详细描述，但是本领域技术人员将会理解，下列实施例仅用于说明本发明，而不应视为限定本发明的范围。实施例中未注明具体条件者，按照常规条件或制造商建议的条件进行。所用试剂或仪器未注明生产厂商者，均为可以通过市售获得的常规产品。

实施例一：聚乙二醇化艾塞那肽变体的制备

（一）艾塞那肽变体的制备

20 使用 Fmoc-Rink Amide MBHA 树脂类型的固相载体，选择 Fmoc 氨基保护策略合成含巯基的艾塞那肽变体。

第一步：将保护基保护的 39 位 Cys 以及缩合剂 HBTU/DIPEA 溶于 N,N-二甲基甲酰胺(DMF)溶剂中，反应 1~5 小时，用茚三酮方法监测缩合反应是否完全；

25 第二步：以 10-30%哌啶 DMF 溶液为脱保护剂，加至第一步的反应体系中，反应 10~30 分钟，用茚三酮方法监测氨基保护基是否完全脱除；

第三步：按照 SEQ ID NO.1 的多肽序列，依次使用相应的氨基酸，重复“第一步”和“第二步”，直到序列中的 N 端氨基酸偶联完毕；

第四步：加入裂解试剂三氟醋酸(TFA)，反应 1~5 小时，将多肽从固相载体上裂解下来，同时脱除各种保护基；

30 第五步：对裂解下来的多肽溶液用乙醚进行沉淀；过滤收集沉淀，然后用 C18 类型的色谱柱，选择 0.1%TFA/乙腈-水体系为流动相进行洗脱，收集组分溶液，冷冻干燥得到艾塞那肽变体；

第六步：用高效液相色谱方法鉴定产物纯度，LC-MS 质谱测定艾塞那肽变体分子量为 4201.6，理论值为 4202.7 ± 2.0 。

35 （二）聚乙二醇化艾塞那肽变体的制备

第一步：配制 pH=6.5 的磷酸盐缓冲溶液，充氮气 30~50min，把艾塞那肽变体与 mPEG-ppMAL（mPEG-ppMAL 分子量约为 23kDa，艾塞那肽变体与 mPEG-ppMAL 的投料摩尔比为 1:2）倒入装有磷酸盐缓冲液的反应瓶中，反应温度控制在 $22 \pm 2^\circ\text{C}$ ，搅拌反应 60min，并取样检测。反应结束后，反应液用 pH=4.0 的 NaAc-HAc 溶液稀释，再滴加
40 适量冰醋酸将混合液的 pH 值调为 4.0，得聚乙二醇化艾塞那肽变体粗品溶液；

第二步：上样于 SP 离子交换层析柱(GE 公司，XK16/20 柱，macroCap SP 填料)，上样后用 50mM 醋酸钠缓冲液平衡 2 个柱体积，然后在 20 个柱体积内线性增加到含 1M NaCl 的 50mM 醋酸钠缓冲液进行洗脱，收集洗脱液冻干，得到聚乙二醇化艾塞那肽变体，Maldi-TOF-MS 质谱检测产品的数均分子量为 27162.3。

45 实施例二：pH 的筛选

取配制总量 60%-70%的注射用水（≤25℃）加入配液桶中，将称量好的间甲酚加入配液桶中，取适量注射用水分多次冲洗容器并全部加入到配液桶中，搅拌至澄清无油状颗粒。缓慢搅拌下，将称量好的聚乙二醇化艾塞那肽变体原料药持续缓慢投入到配液桶中，取适量注射用水冲洗容器并全部加入到配液桶中，控制药液量达到配制总量的80%-90%，持续搅拌至原料完全溶解。用枸橼酸/枸橼酸钠溶液分别调节溶液 pH 至目标值，并定容。其中，各配方的组成如下表所示：

表 1 pH 筛选过程中的各配方组成

pH 值	肽含量	间甲酚	pH 调节剂	缓冲盐浓度
3.5	0.5mg/ml	2.2mg/ml	枸橼酸/枸橼酸钠	30mmol/L
4.0				
4.5				
5.0				
5.5				
6.0				
6.5				

将配制的制剂放置在 4℃ 条件下考察其稳定性，按规定时间取样、检测样品的纯度(%), 结果如下表所示：

表 2 不同 pH 条件对稳定性的影响

存放时间	pH 值						
	3.5	4.0	4.5	5.0	5.5	6.0	6.5
0d	98.8	98.8	98.8	98.8	98.8	98.8	98.8
15d	98.3	98.4	98.2	98.3	98.8	98.7	97.9
31d	97.2	97.7	97.4	97.3	98.0	97.5	95.7
2M	97.7	98.0	97.7	97.6	98.4	96.7	94.4
3M	97.4	97.6	97.3	96.7	97.3	95.5	92.3
6M	97.0	97.1	96.0	95.2	95.4	92.5	84.1
9M	96.2	96.5	94.0	93.0	93.7	89.4	78.9

综合表 1 和表 2 中不同 pH 条件下样品的检测结果可知，聚乙二醇化艾塞那肽变体在偏酸性条件下较为稳定。其中，pH 值为 3.5~4.5 时最稳定，pH 值在 6.0 以上时样品降解非常快。然后，在不同缓冲体系下对 pH 的筛选进行验证性实验，各配方的组成如下表所示：

表 3 pH 筛选验证性实验中的各配方组成

pH 值	肽含量	间甲酚	pH 调节剂	缓冲盐浓度
3.5	0.5mg/ml	2.2mg/ml	枸橼酸/枸橼酸钠	30mmol/L
4.0				
4.5				
5.0				
4.0				
4.5				
5.0				
3.5				
4.0				
4.5				
5.0				
			乳酸/氢氧化钠	

配制方法如前所述，将配制好的制剂分成 3 份分别放置在 40℃、25℃和 4℃条件下考察其稳定性，按规定时间取样、检测样品的纯度(%), 结果见表 4 和表 5。

表 4 不同温度对稳定性的影响

存放条件	存放时间	枸橼酸/枸橼酸钠 (pH)				醋酸/醋酸钠 (pH)		
		5.0	4.5	4.0	3.5	5.0	4.5	4.0
40℃	0D	99.2	99.2	99.2	99.2	99.2	99.2	99.2
	6D	96.5	97.2	97.9	97.5	96.5	97.5	98.0
	12D	93.5	95.6	96.8	97.5	93.7	95.4	96.4
	23D	88.4	92.3	94.9	95.5	90.0	92.6	93.8
	34D	81.6	86.7	89.7	90.2	85.3	87.2	87.8
	44D	64.9	71.1	74.3	75.3	78.8	79.7	80.5
25℃	0D	99.2	99.2	99.2	99.2	99.2	99.2	99.2
	12D	97.0	97.2	97.9	98.1	96.9	97.6	98.1
	35D	94.2	94.9	96.3	96.9	93.9	95.1	96.5
	58D	91.7	92.0	94.3	96.0	92.5	92.4	94.8
	78D	88.8	90.4	93.0	94.8	90.0	90.8	93.4
	111D	84.4	84.3	88.0	88.6	86.3	85.4	88.8
	135D	80.3	81.3	85.6	86.7	84.3	82.7	87.0
4℃	0D	99.2	99.2	99.2	99.2	99.2	99.2	99.2
	1M	98.4	98.2	98.9	99.0	98.5	98.7	99.1
	2M	98.3	98.1	98.4	98.8	98.5	98.8	99.0
	3M	97.9	97.9	98.5	98.5	98.2	98.6	98.8
	6M	96.9	96.9	97.7	98.2	98.5	98.2	98.5

表 5 不同温度对稳定性的影响

存放条件	存放时间	乳酸/氢氧化钠 (pH)			
		5.0	4.5	4.0	3.5
40℃	0D	99.1	99.1	99.1	99.1
	6D	97.4	97.8	97.8	98.0
	12D	94.5	95.9	96.1	97.0
	19D	92.6	94.2	93.8	94.0
	25D	86.5	88.1	89.3	90.2
	39D	82.9	85.6	86.2	87.6
	54D	76.5	78.2	80.8	83.4
25℃	0D	99.1	99.1	99.1	99.1
	19D	96.5	97.6	97.4	97.3
	39D	93.9	94.5	95.1	95.2
	56D	91.3	92.7	93.5	93.8
	82D	88.5	90.8	90.9	89.9
	104D	85.4	87.7	88.8	89.3
	132D	82.8	85.4	86.8	87.4
	158D	79.7	83.7	84.4	85.5
4℃	0D	99.1	99.1	99.1	99.1
	1M	98.7	98.9	99.1	99.0
	2M	98.1	98.6	98.8	99.0
	3M	98.1	98.5	98.6	98.9
	6M	96.7	97.6	97.4	97.7

综合表 4 和表 5 的检测结果可知, 不同缓冲体系下样品的稳定性表现出相对一致的变化趋势, 均在 pH=3.5~4.5 时较为稳定; 同时可发现, 相同 pH 条件下, 不同缓冲体系下样品的稳定性存在着一定的差异, 本发明进一步对 pH 调节剂进行筛选。

5 实施例三: pH 调节剂的筛选

取配制总量 60%-70%的注射用水 ($\leq 25^{\circ}\text{C}$) 加入配液桶中, 将称量好的间甲酚加入配液桶中, 取适量注射用水分多次冲洗容器并全部加入到配液桶中, 搅拌至澄清无油状颗粒。将已称量好的甘露醇加入配液桶中, 取适量注射用水冲洗容器并全部加入到配液桶中, 搅拌至甘露醇完全溶解 (若未使用甘露醇, 则该步骤省略)。缓慢搅拌下, 将称量好的聚乙二醇化艾塞那肽变体原料药持续缓慢投入到配液桶中, 取适量注射用水冲洗容器并全部加入到配液桶中, 控制药液量达到配制总量的 80%-90%, 持续搅拌至原料完全溶解。用 pH 调节剂调节溶液 pH 至目标值, 并定容。

(1) pH=4.5

采用同一批原料, 按上述方法进行两次配制, 各配方的组成如下表所示:

表 6 pH 调节剂筛选过程中的各配方组成

批次	pH 调节剂	肽含量	甘露醇	间甲酚	缓冲盐浓度	pH 值
第一次 配制	醋酸/醋酸钠	0.5mg/ml	41mg/ml	2.2mg/ml	30mmol/L	4.50
	琥珀酸/琥珀酸钠					
	丙酸/丙酸钠					
	枸橼酸/枸橼酸钠					
	乳酸/碳酸钠					
	苹果酸/氢氧化钠					
第二次 配制	醋酸/醋酸钠	0.5mg/ml	无	2.2mg/ml	30mmol/L	4.50
	乳酸/碳酸钠					
	乳酸/氢氧化钠					

将上述配制好的制剂分成 3 份分别放置在 40℃、25℃和 4℃条件下考察其稳定性，按规定时间取样、检测样品的纯度(%），结果见表 7。

表 7 不同 pH 调节剂对稳定性的影响

存放条件	存放时间	第一次配制						第二次配制			
		醋酸/醋酸钠	琥珀酸/琥珀酸钠	丙酸/丙酸钠	枸橼酸/枸橼酸钠	乳酸/碳酸钠	苹果酸/氢氧化钠	存放时间	醋酸/醋酸钠	乳酸/碳酸钠	乳酸/氢氧化钠
40℃	0D	98.9	98.9	98.9	98.9	98.9	98.9	0D	99.3	99.3	99.3
	6D	96.6	97.0	96.9	97.1	98.2	97.9	7D	96.8	97.5	97.5
	12D	94.4	95.3	95.6	94.8	96.6	96.0	19D	91.7	94.2	94.4
	20D	91.8	93.1	93.3	92.3	94.9	93.9	34D	84.8	90.3	89.9
	38D	86.4	88.5	88.9	85.7	90.8	88.6	50D	76.5	82.2	81.3
	52D	83.0	86.0	84.6	69.3	87.6	85.0	64D	72.7	78.5	77.2
	67D	79.2	82.5	81.0	63.5	84.9	81.7	85D	65.5	71.3	69.3
25℃	0D	98.9	98.9	98.9	98.9	98.9	98.9	0D	99.3	99.3	99.3
	14D	97.3	97.4	97.8	97.3	98.0	98.0	25D	96.5	97.6	97.6
	38D	94.1	95.1	95.8	94.2	96.3	95.9	57D	92.8	94.1	94.3
	52D	93.1	94.4	94.8	92.6	95.4	94.9	89D	88.3	94.3	92.3
	67D	92.3	93.0	94.3	90.8	94.8	93.7	116D	85.2	89.8	90.1
	87D	90.0	90.2	92.0	86.7	92.0	90.7	138D	83.2	88.7	88.6
	108D	87.9	88.0	90.7	84.0	90.7	88.6	183D	75.9	82.2	82.6
	137D	85.2	85.1	88.6	70.9	88.5	86.1				
4℃	0D	98.9	98.9	98.9	98.9	98.9	98.9	0D	99.3	99.3	99.3
	12D	98.4	98.5	98.5	98.3	99.0	98.0	1M	99.0	99.0	98.9
	38D	99.2	99.5	98.3	98.2	98.8	98.6	2M	98.5	99.0	98.9
	2M	98.2	98.3	98.3	97.9	98.6	98.6	3M	98.5	98.7	98.54
	3M	98.1	98.3	98.2	97.8	98.7	98.5	6M	98.1	98.4	98.2
	6M	98.3	98.0	98.0	97.2	98.7	98.3				
	9M	97.9	97.7	98.1	96.5	98.2	97.8				

根据表 7 结果可知，在枸橼酸盐缓冲条件下，活性成分降解速度较快；在乳酸盐缓冲条件下，活性成分的稳定性相对较好；其余几种缓冲体系对活性成分稳定性的影响程度较为一致。

5 相较于第一次，第二次配制省去渗透压调节剂。根据表 7 结果可知，相同缓冲体系下，当省去渗透压调节剂时，活性成分的降解速度有所加快。这说明，渗透压调节剂除了有调节渗透压作用外，同时还对制剂稳定起到辅助作用。

(2) pH=4.0

选取三批原料分别按照上述方法进行配制，各配方的组成如下表所示：

表 8 pH 调节剂筛选过程中的各配方组成

批次	pH 调节剂	肽含量	间甲酚	缓冲盐浓度	pH 值
1	醋酸/醋酸钠	0.5mg/ml	2.2mg/ml	30mmol/L	4.0
	琥珀酸/琥珀酸钠				
	枸橼酸/枸橼酸钠				
	乳酸/氢氧化钠				
	乳酸/碳酸钠				
2	枸橼酸	0.5mg/ml	2.2mg/ml	/	4.0
	枸橼酸/枸橼酸钠				
	醋酸/醋酸钠				
	乳酸/氢氧化钠				
	琥珀酸/琥珀酸钠				
3	枸橼酸	0.5mg/ml	2.2mg/ml	/	4.0
	醋酸/醋酸钠				
	乳酸/氢氧化钠				

将上述配制好的制剂放置在 40℃ 条件下考察其稳定性，按规定时间取样、检测样品的纯度(%），结果见表 9 所示：

表 9 不同 pH 调节剂对稳定性的影响

批次	存放时间	pH 调节剂					
		醋酸/醋酸钠	琥珀酸/琥珀酸钠	枸橼酸/枸橼酸钠	乳酸/碳酸钠	乳酸/氢氧化钠	枸橼酸
1	0D	98.9	98.9	98.9	98.9	98.9	/
	7D	97.9	97.9	98.1	98.0	98.3	/
	22D	94.0	93.7	95.5	95.4	94.9	/
	36D	88.1	88.1	90.9	91.5	90.4	/
	47D	84.5	84.5	87.0	87.6	86.6	/
	61D	78.5	78.6	68.5	82.9	82.4	/
2	0D	98.2	98.2	98.2	/	98.2	98.2
	7D	96.8	96.8	97.4	/	96.9	96.1
	14D	94.0	95.1	96.3	/	95.7	95.2
	21D	90.1	91.3	94.0	/	91.2	91.6
	28D	91.5	92.9	94.8	/	93.2	94.1
	35D	87.0	88.4	81.6	/	88.7	89.2
	47D	82.7	84.9	77.9	/	84.1	85.2
	58D	74.5	81.4	72.7	/	82.3	81.5
3	0D	97.9	/	/	/	97.9	97.9
	7D	96.4	/	/	/	96.4	96.5
	14D	95.1	/	/	/	94.9	95.2
	21D	93.7	/	/	/	93.9	94.0
	28D	92.5	/	/	/	93.0	93.0
	35D	91.6	/	/	/	90.9	91.8
	48D	89.8	/	/	/	89.5	89.4
	63D	82.5	/	/	/	81.7	85.6
	78D	79.8	/	/	/	79.0	81.5

由表 9 的结果可以看出, pH=4.0 条件下, 各 pH 调节剂对稳定性的影响表现出与 pH=4.5 时相同的趋势。其中, 在枸橼酸盐缓冲条件下, 活性成分降解较快; 而在乳酸盐缓冲条件下, 仍保持了较高的稳定性。出乎意料的是, 在不加入缓冲体系、仅使用枸橼酸调节 pH 至目标值时, 所得制剂经高温长期放置后纯度仍然较高, 其综合稳定性甚至高于乳酸缓冲体系。这说明, 在合适的 pH 条件下, 即使未添加缓冲体系, 所得制剂也能取

得与添加乳酸缓冲体系相当甚至更高的稳定性。

实施例四：肽浓度的筛选

取配制总量 60%-70%的注射用水（≤25℃）加入配液桶中，将称量好的间甲酚加入配液桶中，取适量注射用水分多次冲洗容器并全部加入到配液桶中，搅拌至澄清无油状颗粒。将已称量好的甘露醇加入配液桶中，取适量注射用水冲洗容器并全部加入到配液桶中，搅拌至甘露醇完全溶解。缓慢搅拌下，将称量好的聚乙二醇化艾塞那肽变体原料药持续缓慢投入到配液桶中，取适量注射用水冲洗容器并全部加入到配液桶中，控制药液量达到配制总量的 80%-90%，持续搅拌至原料完全溶解。用 pH 调节剂-枸橼酸溶液调节溶液 pH 至目标值，并定容。各配方的组成如下表所示：

表 10 肽浓度筛选过程中的各配方组成

pH 调节剂	肽浓度	pH 值	甘露醇	间甲酚
枸橼酸	0.25mg/mL	3.8	41mg/mL	2.2mg/mL
	0.5mg/mL			
	1.5mg/mL			

将上述配制好的制剂放置在 40℃ 条件下考察其稳定性，按规定时间取样、检测样品的纯度(%), 结果见表 11 所示：

表 11 不同肽浓度对稳定性的影响

40℃							
肽浓度	0 天	7 天	14 天	21 天	30 天	44 天	59 天
0.25mg/ml	97.8	95.6	93.4	90.0	88.8	83.4	79.6
0.5mg/ml	97.8	96.2	94.0	90.6	88.8	85.7	81.3
1.5mg/ml	97.8	96.6	94.6	92.1	90.3	86.3	83.1

由表 11 数据可知，制剂中肽浓度越高，稳定性则越强。但考虑到肽浓度高于 1.5mg/mL 时溶液粘度变大，不利于注射，而肽浓度为 0.5mg/mL 时的稳定性已经能满足需求，因此本发明的肽浓度可优选为 0.5mg/mL。

实施例五：渗透压调节剂的筛选

取配制总量 60%-70%的注射用水（≤25℃）加入配液桶中，将称量好的间甲酚加入配液桶中，取适量注射用水分多次冲洗容器并全部加入到配液桶中，搅拌至澄清无油状颗粒。将已称量好渗透压调节剂加入配液桶中，取适量注射用水冲洗容器并全部加入到配液桶中，搅拌至完全溶解。缓慢搅拌下，将称量好的聚乙二醇化艾塞那肽变体原料药持续缓慢投入到配液桶中，取适量注射用水冲洗容器并全部加入到配液桶中，控制药液量达到配制总量的 80%-90%，持续搅拌至原料完全溶解。用 pH 调节剂-枸橼酸溶液调节溶液 pH 至目标值，并定容。各配方的组成如下表所示：

表 12 渗透压调节剂的筛选过程中的各配方组成

pH 调节剂	渗透压调节剂	pH 值	肽浓度	间甲酚
枸橼酸	41mg/ml 甘露醇	4.5	0.5mg/ml	2.2mg/ml
	0.9% 氯化钠			

将上述配制好的制剂放置在 40℃ 条件下考察其稳定性，按规定时间取样、检测样品的纯度(%), 结果见表 13 所示：

表 13 不同渗透压调节剂对稳定性的影响

40℃							
渗透压调节剂	0 天	7 天	14 天	28 天	35 天	42 天	49 天
甘露醇	97.2	95.1	93.9	91.2	89.1	84.6	83.3
氯化钠	97.2	92.1	88.2	81.8	77.9	74.7	72.2

由表 13 的数据可知，添加甘露醇的制剂稳定性优于添加氯化钠。

然后，进一步考察将部分甘露醇替换为甘氨酸后对制剂稳定性的影响。各配方的组成如下表所示：

5

表 14 甘氨酸和甘露醇对比考察过程的各配方组成

编号	pH 调节剂	缓冲盐浓度	甘氨酸 (mg/ml)	甘露醇 (mg/ml)	pH 值	肽浓度	间甲酚
1	醋酸/醋酸钠	30mmol/L	17.72	/	4.5	0.5mg/ml	2.2mg/ml
2			15.50	5.38			
3			13.29	10.75			
4			8.86	21.5			
5			/	43			
6			/	41			
7			/	/			

将上述配制好的制剂放置在 25℃、40℃ 条件下考察其稳定性，按规定时间取样、检测样品的纯度(%），结果见表 15 所示：

表 15 甘氨酸和甘露醇对稳定性的影响

储存条件		1	2	3	4	5	6	7
0d		99.34	99.37	99.36	99.30	99.31	99.29	99.30
25℃	4d	98.55	98.69	98.99	99.14	99.18	99.20	98.99
	10d	97.24	98.07	98.50	98.85	99.03	99.03	98.68
	15d	95.06	97.23	97.91	98.50	98.79	98.80	98.36
	21d	92.11	94.16	96.53	98.18	98.66	98.66	98.01
40℃	4d	93.75	96.20	97.16	98.40	98.87	98.83	98.31
	10d	76.57	83.68	91.45	93.24	97.08	96.99	96.00
	15d	62.91	71.57	82.46	88.45	95.96	96.78	95.29
	21d	48.29	57.25	67.96	81.28	95.47	95.53	92.52

由表 15 的数据可知，只添加甘露醇的配方（编号 5 和 6）稳定性最佳；只添加甘氨酸的配方（编号 1）稳定性最差，在 25℃ 和 40℃ 条件下都降解最快。这说明，甘氨酸对样品有破坏作用，甘露醇对样品有一定的保护作用，可增强其稳定性，因此本发明可使用甘露醇作为渗透压调节剂。

实施例六：抑菌剂的筛选

取配制总量 60%-70% 的注射用水（≤25℃）加入配液桶中，将称量好的抑菌剂加入配液桶中，取适量注射用水分多次冲洗容器并全部加入到配液桶中，搅拌至澄清无油状颗粒。将已称量好甘露醇加入配液桶中，取适量注射用水冲洗容器并全部加入到配液桶中，搅拌至完全溶解。缓慢搅拌下，将称量好的聚乙二醇化艾塞那肽变体原料药持续缓慢投入到配液桶中，取适量注射用水冲洗容器并全部加入到配液桶中，控制药液量达到配制总量的 80%-90%，持续搅拌至原料完全溶解。用 pH 调节剂调节溶液 pH 至目标值，并定容。各配方的组成如下表所示：

10

15

20

表 16 抑菌剂筛选过程中的各配方组成

pH 调节剂	甘露醇	pH 值	肽浓度	抑菌剂
醋酸/醋酸钠	43mg/ml	4.5	0.5mg/ml	2.2mg/ml 间甲酚
				2.2mg/ml 苯甲醇

将上述配制好的制剂放置在 25℃、40℃ 条件下考察其稳定性，按规定时间取样、检测样品的纯度(%), 结果见表 17 所示：

表 17 不同抑菌剂对稳定性的影响

储存条件		间甲酚	苯甲醇
0d		99.35	97.21
25℃	7d	99.24	79.44
	10d	99.13	75.40
	15d	99.01	72.76
	21d	98.65	71.54
40℃	7d	97.11	74.18
	10d	96.17	73.59
	15d	94.96	70.81
	21d	91.69	65.47

由表 17 的数据可知，添加苯甲醇的样品纯度迅速下降，而加入间甲酚的样品则较为稳定。

实施例七：含有聚乙二醇化艾塞那肽变体组合物的稳定性考察

取配制总量 60%-70%的注射用水（≤25℃）加入配液桶中，将称量好的间甲酚加入配液桶中，取适量注射用水分多次冲洗容器并全部加入到配液桶中，搅拌至澄清无油状颗粒。将已称量好甘露醇加入配液桶中，取适量注射用水冲洗容器并全部加入到配液桶中，搅拌至完全溶解。缓慢搅拌下，将称量好的聚乙二醇化艾塞那肽变体原料药持续缓慢投入到配液桶中，取适量注射用水冲洗容器并全部加入到配液桶中，控制药液量达到配制总量的 80%-90%，持续搅拌至原料完全溶解。用枸橼酸调节溶液 pH 至目标范围，并定容。

选取两批原料，按照表 18 的配方进行配制：

表 18 配方组成

pH 值	肽含量	甘露醇	pH 调节剂	间甲酚
3.5-4.5	0.5mg/ml	47mg/ml	枸橼酸	2.2mg/ml

将上述配制好的制剂分别放置于 2-8℃和 25℃条件下考察其稳定性，按规定时间取样、检测样品的纯度(%), 结果见表 19。

表 19 稳定性考察结果

批次编号	0M 实测 pH	储存条件	纯度	
			0M	6M
1	4.15	2-8℃	99.02	98.20
		25℃		90.40
2	4.01	2-8℃	98.90	97.80
		25℃		90.70

根据表 19 的结果可知，本发明所提供的含有聚乙二醇化艾塞那肽变体的配方在低温（2-8℃）和常温（25℃）下经长期放置后，其纯度均在 90%以上，尤其是低温（2-8℃）下，活性成分降解极少。这说明，本发明提供的配方适于长期保存。

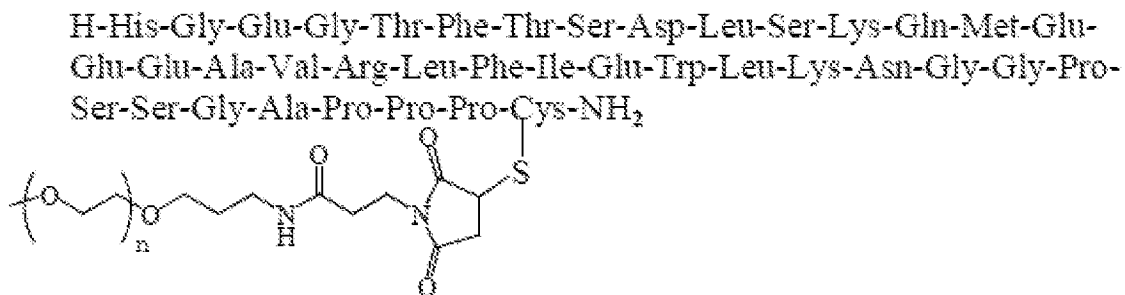
以上已经描述了本公开的各实施例，上述说明是示例性的，并非穷尽性的，并且也不限于所披露的各实施例。在不偏离所说明的各实施例的范围和精神的情况下，对于本技术领域的普通技术人员来说许多修改和变更都是显而易见的。本文中所用术语的选择，旨在最好地解释各实施例的原理、实际应用或对市场中的技术的改进，或者使本技术领域的其它普通技术人员能理解本文披露的各实施例。

5

权 利 要 求 书

1.一种含有聚乙二醇化艾塞那肽变体的药物组合物，其包括以下组分：聚乙二醇化艾塞那肽变体和pH调节剂，

其中，所述聚乙二醇化艾塞那肽变体的结构为：



5 所述聚乙二醇化艾塞那肽变体中聚乙二醇修饰部分的分子量为 5~100kDa，优选为 10~50kDa，更优选为 15~40kDa，甚至更优选为 20~29kDa。

2.根据权利要求1所述的药物组合物，其中，所述药物组合物包括溶剂。

3.根据权利要求2所述的药物组合物，其中，所述药物组合物的pH值为2.0~6.0，优选为2.5~5.5，更优选为3.0~5.0，甚至更优选为3.5~4.5。

10 4.根据权利要求1-3任一所述的药物组合物，其中，所述pH调节剂为酸；

所述酸优选自枸橼酸、醋酸、三氟乙酸、磷酸、盐酸、酒石酸、苹果酸和丙酸中的一种或多种，更优选自枸橼酸、醋酸、三氟乙酸和磷酸中的一种或多种，甚至更优选为枸橼酸。

5.根据权利要求1-3任一所述的药物组合物，其中，所述pH调节剂为缓冲体系；

15 所述缓冲体系优选包括甘氨酸/盐酸、枸橼酸/枸橼酸钠、枸橼酸/磷酸氢二钠、醋酸/醋酸钠、乳酸/氢氧化钠、乳酸/碳酸钠、丙酸/丙酸钠、琥珀酸/琥珀酸钠和苹果酸/氢氧化钠中的任一种，更优选自甘氨酸/盐酸、醋酸/醋酸钠、乳酸/氢氧化钠、乳酸/碳酸钠、丙酸/丙酸钠、琥珀酸/琥珀酸钠和苹果酸/氢氧化钠中的任一种，甚至更优选为乳酸/氢氧化钠或乳酸/碳酸钠。

20 6.根据权利要求2-5任一所述的药物组合物，其中，以肽含量计，所述聚乙二醇化艾塞那肽变体的浓度为0.1~5.0mg/ml，优选为0.25~1.5mg/ml，更优选为0.3~0.8mg/ml，甚至更优选为0.4~0.6mg/ml，甚至再优选为0.5mg/ml。

7.根据权利要求1-6任一所述的药物组合物，其中，所述药物组合物包括渗透压调节剂，所述渗透压调节剂优选自甘露醇、山梨醇、木糖醇、甘油和氯化钠中的一种或多种，
25 更优选为甘露醇；

优选地，所述渗透压调节剂的浓度为5~100mg/ml，优选为10~80mg/ml，更优选为30~60mg/ml，甚至更优选为40~50mg/ml。

8.根据权利要求1-7任一所述的药物组合物，其中，所述药物组合物还包括抑菌剂，所述抑菌剂优选自间甲酚、苯酚、氯甲酚、三氯叔丁醇、苯甲醇和尼泊金酯中的一种或多种，
30 更优选自间甲酚、苯酚、氯甲酚、三氯叔丁醇和尼泊金酯中的一种或多种，甚至更优选为间甲酚；

优选地，所述抑菌剂的浓度为0.1~5mg/ml，优选为1.0~4.0mg/ml，更优选为1.5~3.0mg/ml，甚至更优选为2.0~2.5mg/ml。

9.根据权利要求1-8任一所述的药物组合物，其中，所述药物组合物为注射液。

35 10.权利要求1-9任一所述的药物组合物在制备用于预防和/或治疗糖尿病的药物中的用途。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2022/118429

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 38/22(2006.01)i; A61P 3/10(2006.01)i

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K; A61P

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

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

CNABS, DWPI, WPABSC, CNTXT, ENTXTC, ENTXT, OETXT, WPABS, VCN, VEN, CNKI, 百度学术搜索, BAIDU SCHOLAR, WEB OF SCIENCE, PubMed: 艾塞那肽, 胰高血糖素样肽, 聚乙二醇, 糖尿病, Exenatide, Exendin-4, GLP-1, PEG, Diabetes GenBank, EMBL, 中国专利生物序列检索系统, Chinese Patent Biological Sequence Retrieval System: 基于 SEQ ID No: 1 的序列检索, Sequence Retrieval based on SEQ ID No: 1

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CN 101870728 A (PEGBIO CO., LTD., SUZHOU, JIANGSU) 27 October 2010 (2010-10-27) see abstract, claims 1-35, description, paragraphs 6, 7, 88, and 122-141, and embodiment 13, SEQ ID NO:3	1-10
X	CN 104277104 A (PEGBIO CO., LTD., SUZHOU, JIANGSU) 14 January 2015 (2015-01-14) see abstract, claims 1-14, and SEQ ID NO:3	1, 7, 9, 10
A	CN 104277104 A (PEGBIO CO., LTD., SUZHOU, JIANGSU) 14 January 2015 (2015-01-14) see abstract, claims 1-14, and SEQ ID NO:3	2-6, 8
X	CN 106938050 A (PEGBIO CO., LTD., SUZHOU, JIANGSU) 11 July 2017 (2017-07-11) see abstract, claims 1-33, and SEQ ID NO:3	1, 7, 9, 10
A	CN 106938050 A (PEGBIO CO., LTD., SUZHOU, JIANGSU) 11 July 2017 (2017-07-11) see abstract, claims 1-33, and SEQ ID NO:3	2-6, 8
A	WO 2021003277 A1 (AERAMI THERAPEUTICS, INC.) 07 January 2021 (2021-01-07) see abstract, and claims 1-21	1-10
A	US 2017274089 A1 (NANO PREC MEDICAL, INC.) 28 September 2017 (2017-09-28) see abstract, and claims 1-31	1-10



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
 “E” earlier application or patent but published on or after the international filing date
 “L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
 “O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
 “P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

“T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
 “X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
 “Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
 “&” document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

02 December 2022

Date of mailing of the international search report

16 December 2022

Name and mailing address of the ISA/CN

China National Intellectual Property Administration (ISA/
CN)
No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao, Haidian District, Beijing
100088, China

Facsimile No. (86-10)62019451

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2022/118429

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
 - a. ☒ forming part of the international application as filed:
 - ☒ in the form of an Annex C/ST.25 text file.
 - ☐ on paper or in the form of an image file.
 - b. ☐ furnished together with the international application under PCT Rule 13*ter*.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.
 - c. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:
 - ☐ in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13*ter*.1(a)).
 - ☐ on paper or in the form of an image file (Rule 13*ter*.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).
2. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
3. Additional comments:

[1] The actually submitted sequence table is an XML file of the standard ST.26.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2022/118429

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
CN	101870728	A	27 October 2010	US	2012196795	A1	02 August 2012
				EP	2423223	A1	29 February 2012
				IN	4542KOLNP2011	A	27 July 2012
				CN	102421796	A	18 April 2012
				KR	20120024626	A	14 March 2012
				JP	2012524730	A	18 October 2012
				ZA	201108484	B	30 January 2013
				WO	2010121559	A1	28 October 2010
				BR	PI1014416	A2	18 August 2020
				RU	2011147083	A	27 May 2013
				JP	2015164916	A	17 September 2015
CN	104277104	A	14 January 2015	None			
CN	106938050	A	11 July 2017	US	2019134161	A1	09 May 2019
				AU	2016383387	A1	12 July 2018
				RU	2018127330	A	31 January 2020
				KR	20180096785	A	29 August 2018
				DK	3406264	T3	28 February 2022
				WO	2017114425	A1	06 July 2017
				JP	2019500399	A	10 January 2019
				ES	2912251	T3	25 May 2022
				RS	63168	B1	31 May 2022
				EP	3406264	A1	28 November 2018
				KR	20200016403	A	14 February 2020
				GB	201811757	D0	29 August 2018
WO	2021003277	A1	07 January 2021	BR	112021026616	A2	15 February 2022
				US	2022249618	A1	11 August 2022
				EP	3993774	A1	11 May 2022
				CN	114269369	A	01 April 2022
US	2017274089	A1	28 September 2017	WO	2016037128	A1	10 March 2016
				US	2020040140	A1	06 February 2020

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2022/118429

A. 主题的分类

A61K 38/22 (2006.01) i; A61P 3/10 (2006.01) i

按照国际专利分类 (IPC) 或者同时按照国家分类和 IPC 两种分类

B. 检索领域

检索的最低限度文献 (标明分类系统和分类号)

A61K; A61P

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

在国际检索时查阅的电子数据库 (数据库的名称, 和使用的检索词 (如使用))

CNABS, DWPI, WPABSC, CNTXT, ENTXTC, ENTXT, OETXT, WPABS, VCN, VEN, CNKI, 百度学术搜索, WEB OF SCIENCE, PubMed; 艾塞那肽, 胰高血糖素样肽, 聚乙二醇, 糖尿病, Exenatide, Exendin-4, GLP-1, PEG, Diabetes GenBank, EMBL, 中国专利生物序列检索系统: 基于 SEQ ID No:1 的序列检索

C. 相关文件

类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
X	CN 101870728 A (派格生物医药苏州有限公司) 2010年10月27日 (2010 - 10 - 27) 参见摘要, 权利要求1-35, 说明书第6, 7, 88, 122-141段, 实施例13, SEQ ID NO:3	1-10
X	CN 104277104 A (派格生物医药苏州有限公司) 2015年1月14日 (2015 - 01 - 14) 参见摘要, 权利要求1-14, SEQ ID NO:3	1, 7, 9, 10
A	CN 104277104 A (派格生物医药苏州有限公司) 2015年1月14日 (2015 - 01 - 14) 参见摘要, 权利要求1-14, SEQ ID NO:3	2-6, 8
X	CN 106938050 A (派格生物医药苏州有限公司) 2017年7月11日 (2017 - 07 - 11) 参见摘要, 权利要求1-33, SEQ ID NO:3	1, 7, 9, 10
A	CN 106938050 A (派格生物医药苏州有限公司) 2017年7月11日 (2017 - 07 - 11) 参见摘要, 权利要求1-33, SEQ ID NO:3	2-6, 8
A	WO 2021003277 A1 (AERAMI THERAPEUTICS INC) 2021年1月7日 (2021 - 01 - 07) 参见摘要, 权利要求1-21	1-10
A	US 2017274089 A1 (NANO PREC MEDICAL INC) 2017年9月28日 (2017 - 09 - 28) 参见摘要, 权利要求1-31	1-10

☐ 其余文件在C栏的续页中列出。☒ 见同族专利附件。

* 引用文件的具体类型:

“A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件

“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利

“L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件 (如具体说明的)

“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件

“P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件

“T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件

“X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性

“Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性

“&” 同族专利的文件

国际检索实际完成的日期

2022年12月2日

国际检索报告邮寄日期

2022年12月16日

ISA/CN的名称和邮寄地址

中国国家知识产权局 (ISA/CN)

中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088

传真号 (86-10)62019451

授权官员

赵彦豪

电话号码 62411043

第I栏

核苷酸和/或氨基酸序列(续第1页第1. c项)

1. 关于国际申请中所公开的任何核苷酸和/或氨基酸序列, 国际检索是基于下列序列表进行的:

a. ☒ 作为国际申请的一部分提交的:

☒ 附件C/ST. 25文本文件形式

☐ 纸件或图形文件形式

b. ☐ 根据细则13之三. 1(a) 仅为国际检索目的以附件C/ST. 25文本文件形式与国际申请同时提交的:

c. ☐ 仅为国际检索目的在国际申请日之后提交的:

☐ 附件C/ST. 25文本文件形式(细则13之三. 1(a))

☐ 纸件或图形文件形式(细则13之三. 1(b) 和行政规程第713段)

2. ☐ 另外, 在提交/提供了多个版本或副本的序列表的情况下, 提供了关于随后提交的或附加的副本中的信息与申请时提交的作为申请一部分的序列表的信息相同或未超出申请时提交的申请中的信息范围(如适用)的所需声明。

3. 补充意见:

[1] 实际提交的序列表是ST. 26标准的XML文件。

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2022/118429

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
CN	101870728	A	2010年10月27日	US	2012196795	A1	2012年8月2日
				EP	2423223	A1	2012年2月29日
				IN	4542K0LNP2011	A	2012年7月27日
				CN	102421796	A	2012年4月18日
				KR	20120024626	A	2012年3月14日
				JP	2012524730	A	2012年10月18日
				ZA	201108484	B	2013年1月30日
				WO	2010121559	A1	2010年10月28日
				BR	PI1014416	A2	2020年8月18日
				RU	2011147083	A	2013年5月27日
				JP	2015164916	A	2015年9月17日
CN	104277104	A	2015年1月14日	无			
CN	106938050	A	2017年7月11日	US	2019134161	A1	2019年5月9日
				AU	2016383387	A1	2018年7月12日
				RU	2018127330	A	2020年1月31日
				KR	20180096785	A	2018年8月29日
				DK	3406264	T3	2022年2月28日
				WO	2017114425	A1	2017年7月6日
				JP	2019500399	A	2019年1月10日
				ES	2912251	T3	2022年5月25日
				RS	63168	B1	2022年5月31日
				EP	3406264	A1	2018年11月28日
				KR	20200016403	A	2020年2月14日
				GB	201811757	D0	2018年8月29日
WO	2021003277	A1	2021年1月7日	BR	112021026616	A2	2022年2月15日
				US	2022249618	A1	2022年8月11日
				EP	3993774	A1	2022年5月11日
				CN	114269369	A	2022年4月1日
US	2017274089	A1	2017年9月28日	WO	2016037128	A1	2016年3月10日
				US	2020040140	A1	2020年2月6日