(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
2018 年 12 月 27 日 (27.12.2018)

WIPO | PCT

(10) 国际公布号
WO 2018/232810 A1

(51) 国际专利分类号:
C07K 19/00 (2006.01) *A61P 3/10* (2006.01)
A61K 38/26 (2006.01) *A61P 37/02* (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2017/094009

(22) 国际申请日: 2017 年 7 月 24 日 (24.07.2017)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:
201710468842.3 2017年6月19日 (19.06.2017) CN

(71) 申请人: 中国药科大学 (CHINA PHARMACEUTICAL UNIVERSITY) [CN/CN]; 中国江苏省南京市鼓楼区童家巷24号科研大楼, Jiangsu 210009 (CN)。

(72) 发明人: 金亮 (JIN, Liang); 中国江苏省南京市鼓楼区童家巷24号科研大楼, Jiangsu 210009 (CN)。高华山 (GAO, Huashan); 中国江苏省南京市鼓楼区童家巷24号科研大楼, Jiangsu 210009 (CN)。赵茜 (ZHAO, Qian); 中国江苏省南京市鼓楼区童家巷24号科研大楼, Jiangsu 210009 (CN)。张艳峰 (ZHANG, Yanfeng); 中国江苏省南京市鼓楼区童家巷24号科研大楼, Jiangsu 210009 (CN)。卢世平 (LU, Shiping); 中国江苏省南京市鼓楼区童家巷24号科研大楼, Jiangsu 210009 (CN)。

(74) 代理人: 南京艾普利德知识产权代理事务所 (特殊普通合伙) (NANJING IPLEADER INTELLECTUAL PROPERTY AGENCY FIRM); 中国江苏省南京市玄武区玄武大道699-18号30幢, Jiangsu 210023 (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, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, 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, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW。

(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)。

根据细则4.17的声明:
— 关于发明人身份 (细则4.17(i))
— 关于申请人有权申请并被授予专利 (细则4.17(ii))
— 发明人资格 (细则4.17(iv))

本国际公布:
— 包括国际检索报告 (条约第21条(3))。

WO 2018/232810 A1

(54) **Title:** LONG-ACTING POLYPEPTIDE FOR LOWERING BLOOD GLUCOSE AND REGULATING LIPID AND USE THEREOF

(54) 发明名称: 长效降糖调脂多肽及其用途

(57) **Abstract:** Provided are a long-acting polypeptide for lowering blood glucose and regulating lipid and use thereof. The amino acid sequence of the polypeptide is HGEGTFTSDVSSYLEGQAAKEFIAWLVKGRGPGVLGGGCRCIPALDSLTPANED. The polypeptide can be used in the preparation of a medicament or a pharmaceutical composition for treating or preventing type 1 diabetes and type 2 diabetes, and can also be used in the preparation of an immunoregulatory medicament or pharmaceutical composition.

(57) 摘要: 提供了一种长效降糖调脂多肽及其用途, 该多肽的氨基酸序列为HGEGTFTSDVSSYLEGQAAKEFIAWLVKGRGPGVLGGGCRCIPALDSLTPANED, 该多肽可用于制备治疗或预防1型糖尿病、2型糖尿病药物或药物组合物, 也可用于制备免疫调节药物或药物组合物。

长效降糖调脂多肽及其用途

技术领域

本发明涉及一种长效降糖调脂多肽，具有更长的药效持续时间，同时兼具免疫调节功能，属于生化药学技术领域。

背景技术

据发明人所知，1 型糖尿病（T1DM）是一种由于胰腺 β 细胞被破坏而导致胰岛素绝对缺乏的疾病。目前，1 型糖尿病的研究主要分为前期诊断和预防阶段，以及中后期的治疗阶段。其中，诊断和预防主要针对糖尿病的发病机理而研究相应的诊断方法和预防措施。1 型糖尿病的发病机制涉及 T 细胞介导的自身免疫攻击以及在易感个体中 B 淋巴细胞产生针对 β 细胞的抗体反应，因此患者在出现临床症状前的较长一段时间内，体内就有针对胰岛 β 细胞的自身免疫反应存在，这就为疾病的诊断和预防提供了基础。目前研究者已经发现，在出现高血糖临床症状之前，自身免疫抗原可在数月或数年之前就可以被检测到。针对这些抗原，目前已经研制了多种疫苗，其靶点主要集中在自身免疫性 T 细胞；这些疫苗能够诱导保护性免疫耐受，改善病理性的自身免疫；免疫耐受通过抑制效应 T 细胞，并激活调节性 T 细胞（Treg 细胞），起到改善病理性自身免疫的效果，延缓糖尿病发展。

已经确诊为高血糖的 1 型糖尿病患者主要以治疗为主，胰岛素仍然是临床治疗的主要药物，加强的胰岛素治疗也是目前临床上控制 1 型糖尿病的主要的治疗手段，而胰岛移植、干细胞移植等方法也逐渐出现，但是都处于研究阶段，离应用还存在一定的距离。因此靶向 T1DM 其他缺陷的治疗也成为一种良好的治疗方式，特别是 T1DM 患者常见的治疗副作用，如体重增加，胰岛素剂量的增加，注射次数的和低血糖等。由于缺乏新的治疗方式，导致 T1DM 患者要不断地努力控制血糖。胰高血糖素样肽-1 受体激动剂（GLP-1 RA）已被认为是 T1DM 患者胰岛素的伴随疗法，因为它们能够保持或减轻体重、降低低血糖风险以及降低胰高血糖素水平等。GLP-1RA 能够保护 β 细胞，因此 GLP-1RA 可以通过停止自身免疫破坏或增加 β 细胞再生来增加 T1DM 患者的 β 细胞量。在诊断时，大多数 1 型糖尿病患者仍然具有分泌胰岛素的能力，相当于非糖尿病个体的 20-30％，因此，存在保持和增加 β 细胞量的机会，这可以通过 GLP-1RA 的治疗来实现，

这也将改善低血糖的风险，因为功能性 β 细胞的参与更有利于胰高血糖素的反应。

发明人于 2016.12.20 申请了申请号为 CN201611222521.7、申请公布号为 CN106519016A、名称为《降糖调脂肽——Progly 肽的设计及其用途》的中国发明专利申请，其中涉及的 Progly 肽为 GLP-1 类似物，能够有效降低 1 型糖尿病小鼠的空腹血糖，改善体重等，可以作为 1 型糖尿病的辅助治疗药物。

热休克蛋白 60（Hsp60）是一种主要的自身抗原，在 1 型糖尿病患者体内已经检测到高水平的抗 Hsp60 抗体，抗体的滴度与疾病严重程度正相关。其中 Hsp60 上 437 位～460 位的一段特异性多肽 P277 肽，其序列为 VLGGGCALLRCIPALDSLTPANED，是一种抗原决定簇，能特异地与效应 T 细胞反应。P277 肽与 Hsp60 一样具有引起血管内皮损伤的副作用，P227 肽免疫的 C57BL/6 小鼠，能够引起严重的血管内皮损伤，在高脂饲养新西兰大白兔模型上，P277 肽免疫诱发了严重动脉粥样硬化，并且发现大量 P277 抗体聚集在动脉硬化斑块周围，说明 P277 肽不仅存在调节免疫反应的 T 表位，还存在致动脉粥样硬化的 B 表位。

发明人于 2016.10.28 申请了申请号为 CN201610949156.3、申请公布号为 CN106518987A、名称为《新型糖尿病免疫调节肽-VP 肽的设计及其用途》的中国发明专利申请，其中，通过表位扫描技术，精确扫描到 P277 肽的 B 表位，在最大程度保证 T 表位完整性和 B 表位空间结构的前提下，通过氨基酸突变来改造 B 表位，得到 VP 肽，能够保持免疫调节作用的同时，消除血管内皮损伤的副作用。

在上述已有成果的基础上，发明人在进一步地实践研究中发现，虽然 Progly 肽的药效持续时间不短，可达 2 小时，但是如果能通过进一步改进使其药效持续时间大幅延长，形成长效药物，则更加有利于该药物的市场推广。

发明内容

本发明所要解决的技术问题是：克服现有技术存在的问题，提供一种长效降糖调脂多肽，能大幅延长 Progly 肽的药效持续时间。

本发明的主要研究过程如下：发明人在实践研究中想要通过融合肽的方式来延长 Progly 肽的药效持续时间，然而在选择融合哪种肽时则颇费一番周折。按

以往研究经验来看，选择半衰期（或药效持续时间）较长的肽进行融合，应当能延长 Progly 肽的药效持续时间，然而在尝试多个这样的肽进行融合后，发现它们反而不利于 Progly 肽发挥药效。于是，发明人扩大了选择范围，尝试一些半衰期（或药效持续时间）不太长的肽进行融合，终于从中筛选出 VP 肽（其药效持续时间仅达 3-4 小时），VP 肽与 Progly 肽的融合肽不但能正常发挥 Progly 肽的药效，而且药效持续时间长达 10 小时，是符合发明人预期的长效降糖调脂多肽，同时兼具免疫调节功能。

本发明的技术方案如下：

一种长效降糖调脂多肽，其特征是，所述多肽的氨基酸序列为：

HGEGTFTSDVSSYLEGQAAKEFIAWLVKGRGPGVLGGGCRCIPALDSLTPANED。

上述长效降糖调脂多肽用于制备治疗或预防 1 型糖尿病药物或药物组合物的用途。

上述长效降糖调脂多肽用于制备治疗或预防 2 型糖尿病药物或药物组合物的用途。

上述长效降糖调脂多肽用于制备免疫调节药物或药物组合物的用途。

上述用途中，所述药物组合物包括药物载体和/或药物活性物质。

本发明的长效降糖调脂多肽可实现长达 10 小时的药效持续时间。该多肽为双功能多肽：既能与 GLP-1 类似物一样，降低 1 型糖尿病病人的血糖并降低糖化血红蛋白，降低 2 型糖尿病病人的血糖、抑制进食并降低糖化血红蛋白，又能与 VP 肽一样，调节免疫，抑制病理性的免疫攻击。

附图说明

图 1 为本发明实施例 1 的 PGLP-1 肽实验结果示意图。图中，PGLP-1 组与对照组相比时，*表示 $P < 0.05$，***表示 $P < 0.001$；GLP-1 组与对照组相比时，^^^表示 $P < 0.001$；PGLP-1 组与 GLP-1 组相比时，$^{\$}$表示 $P < 0.05$，$^{\$\$}$表示 $P < 0.01$，$^{\$\$\$}$表示 $P < 0.001$；GTT 指糖耐量实验；AUC 指曲线下面积。

图 2 为本发明实施例 1 的 VP 肽实验结果示意图。

图 3 为本发明实施例 1 的 P15 肽实验结果示意图。图中，PGLP-1-VP 即指 P15 肽；PGLP-1 组与对照组相比时，***表示 $P < 0.001$；GLP-1 组与对照组相比

时，^^^表示 $P < 0.001$；GTT 指糖耐量实验；AUC 指曲线下面积。

图 4 为本发明实施例 2 的累计进食影响结果示意图。

图 5 为本发明实施例 2 的血糖影响结果示意图。

图 6 为本发明实施例 2 的甘油三酯和游离脂肪酸影响结果示意图。

图 7 为本发明实施例 2 的 NOD 小鼠发病率和死亡率影响结果示意图。

图 8 为本发明实施例 2 的 NOD 小鼠空腹血糖影响结果示意图。

图 9 为本发明实施例 2 的 NOD 小鼠胰腺重量和胰腺炎影响结果示意图。

图 10 为本发明实施例 2 的 NOD 小鼠免疫调节因子 Th1/Th2 影响结果示意图。

具体实施方式

下面参照附图并结合实施例对本发明作进一步详细描述。但是本发明不限于所给出的例子。

实施例 1　本发明多肽与 Progly 肽、VP 肽的药效持续时间比较

（1）Progly 肽对正常小鼠的急性和持续降糖效果

8 周龄的雄性 C57BL/6 小鼠，随机分为 5 组，每组 10 只，分别为溶剂对照组（阴性对照组）、PGLP-1 组（1 nmol/kg）、PGLP-1 组（30 nmol/kg）、PGLP-1 组（100 nmol/kg）、GLP-1 组（30 nmol/kg）进行糖耐量实验。其中，PGLP-1 即 Progly 肽，GLP-1 即胰高血糖素样肽-1。

结果如图 1A 所示，与对照组相比，GLP-1、PGLP-1 均能够显著降低血糖值，曲线下面积与对照组相比，明显降低，说明 PGLP-1 能够与 GLP-1 一样具有糖依赖性的促胰岛素的分泌作用。同时 PGLP-1（1、30、100 nmol/kg）能够剂量依赖性地降低血糖，最小起效浓度为 1 nmol/kg。

评估 PGLP-1 的在体内的代谢水平，分别在皮下给予 GLP-1（30 nmol/kg）、PGLP-1（30 nmol/kg），然后分别在给药后的 0.5 h、1 h、2 h、4 h 给予葡萄糖（1.5 g/kg），在给糖之后的 15 min 检测血糖，结果如图 1B 所示，PGLP-1 在给药 2 h 后，与对照组相比仍然具有显著性差异（$p<0.05$），说明 PGLP-1 能够持续降糖达到 2 h 之久。而 GLP-1 降糖效果仅仅持续 0.5 h。

（2）VP 肽的药效持续时间

将 8 只雄性小鼠皮下注射 VP 肽，给药剂量 50 nmol/kg。给药后在不同的时

间点（0 h，0.5 h，1 h，2 h，3h，4 h）眼眶取血，采集小鼠血样，室温静置 10 min 后，3000 rpm×15 min。小心吸取上层血清，-20℃冻存。

采用 ELISA 试剂盒测定小鼠血清中 VP 肽的含量，检测灵敏度为 0.02 nmol/mL。VP 肽在小鼠体内的血药浓度-时间曲线如图 2 所示，皮下注射的可检测浓度可以达到 4 小时，说明皮下注射 VP 肽的药效持续时间为 3-4 h。

（3）本发明多肽的药效持续时间

8 周龄的雄性 C57BL/6 小鼠，随机分为 6 组，每组 10 只，分别为溶剂对照组（阴性对照组）、P15 组（0.1 nmol/kg）、P15 组（1 nmol/kg）、P15 组（30 nmol/kg）、P15 组（100 nmol/kg）、GLP-1 组（30 nmol/kg）进行糖耐量实验。P15 即本发明长效降糖调脂多肽。

结果如图 3A 所示，与对照组相比，GLP-1、P15 均能够显著降低血糖值，曲线下面积与对照组相比，明显降低，说明 P15 与 GLP-1 一样具有糖依赖性的促胰岛素分泌作用。同时 P15（0.1、1、30、100 nmol/kg）能够剂量依赖性的降低血糖，最小起效浓度为 0.1 nmol/kg。

评估 P15 在体内的代谢水平，分别在皮下给予 GLP-1（30 nmol/kg）、P15（30 nmol/kg），然后分别在给药后的 0.5 h、1 h、2 h、4 h、6 h、8 h、10 h、12 h 给予葡萄糖（1.5 g/kg），在给糖之后的 15 min 检测血糖，结果如图 3B 所示，P15 在给药 10 h 后，与对照组相比仍然具有显著性差异（$p<0.001$），说明 P15 的药效持续时间达到 10 h 之久。

实施例 2　本发明多肽的药效学评价

（1）STZ 糖尿病模型小鼠造模，及分组

80 只 6 周龄的雄性 c57 小鼠（购自扬州大学实比较医学中心，许可证号：SCXK（苏） 2012-0004），适应性饲养 1 周。实验前空腹 12 小时，按 50 mg/kg 的剂量腹腔注射 STZ 溶液（pH=5.2 的柠檬酸缓冲液），连续注射 5 天，注射后 1 周、2 周分别检测空腹血糖，血糖值均超过 11.0 mmol/L，为造模成功。

将成模小鼠随机分成 4 组，每组 12 只，分别为溶剂对照组（阴性对照组）、PGLP-1 组（阳性对照组）、VP 组（阳性对照组）、P15 组（实验组）。给药剂量为 30 nmol/kg，每天 2 次，溶剂为生理盐水，皮下注射 0.1 ml，固定时间点给药，AM 9：00—10:00，PM 8:00—9:00。阴性对照组，皮下注射 0.1 ml 生理盐水。

（2）对 STZ 糖尿病模型小鼠累计进食的影响

从给药开始，每组分别记录初始添食量，隔 2~3 天检测剩食量，并继续添加新的鼠粮，并记录，依次类推，到 4 周给药结束，记录小鼠的总进食量，并绘制累计进食曲线，结果如图 4 所示，P15 组同 PGLP-1 阳性对照组具有相同的抑制进食效果，明显少于溶剂组和 VP 组。

（3）对 STZ 糖尿病模型小鼠血糖的影响

给药前小鼠空腹 8 小时，AM8:00 开始禁食，PM4:00 尾静脉检测空腹血糖，检测用血糖检测仪（欧姆龙血糖仪 HEA-231 型），作为给药 0 周血糖。之后分别在给药 1、2、3、4 周，检测空腹血糖，禁食时间和检测时间同 0 周方法。

结果如图 5 所示，连续给药 2 周后，P15 组与阴性对照组相比，血糖明显降低（$p<0.01$，与对照组比较），到第 4 周，平均血糖值只有 9.3 mmol/L（$p<0.01$，与对照组比较），几乎接近正常值，与阳性对照组 PGLP-1 相似。说明 P15 处理能够发挥 GLP-1 RA 的作用，很好地降低 STZ 糖尿病模型小鼠的血糖。

（4）对 STZ 糖尿病模型小鼠甘油三酯和游离脂肪酸的影响

给药 4 周后，眼眶取血，静置收集血清，试剂盒分别检测甘油三酯（TG）和游离脂肪酸（FFA）水平，结果如图 6 所示。

结果显示，在血清甘油三酯水平方面，PGLP-1 和 P15 组明显降低血中的甘油三酯含量，与模型组比较，$p\leq0.001$，存在极明显差异；在血清游离脂肪酸水平方面，PGLP-1 和 P15 组明显降低血中的甘油三酯含量，与模型组比较，$p\leq0.01$，存在显著性差异。

结果说明，PGLP-1 和 P15 处理后能够明显降低 STZ 糖尿病模型小鼠的甘油三酯和游离脂肪酸水平。

（5）对 NOD 小鼠发病率和死亡率的影响

采用 NOD 小鼠，从第 5 周开始，检测空腹血糖（空腹 6 h），并给药（分对照组和实验组 PGLP-1 组、VP 组、P15 组），期间间隔 2 周检测血糖，血糖值连续两次≥11 mmol/L 认为发病。

结果显示，对照组小鼠从 15 周开始发病，到 39 周时，发病率为 66.67%，而实验组 PGLP-1 组、VP 组、P15 组分别在 17 周、21 周、17 周发病，说明 VP 组能够延缓发病时间。等观察期结束，实验组 PGLP-1 组、VP 组、P15 组的发病

率分别为 33.33%、40%、15.39%，说明在后期，VP 组抑制发病的作用开始减少，与对照组比较，实验组 P15 组的发病率显著降低，$p<0.05$，实验组 PGLP-1 组、VP 组虽然降低发病率，但是无显著性差异（图 7A）。

39 周观察期结束，分别记录小鼠死亡日期，并作图，结果显示，对照组小鼠，21 周开始死亡，到 39 周时，死亡 7 只，死亡率为 58.44%，而实验组 PGLP-1 组、VP 组、P15 组的死亡率分别为 33.33%、30%、15.39%，与对照组比较，实验组 P15 组的死亡率率显著降低，$p<0.05$，实验组 PGLP-1 组、VP 组虽然降低发病率，但是无显著性差异（图 7B）。

结果说明本发明多肽 P15 能够显著降低 NOD 小鼠的发病率与死亡率。

（6）对 NOD 小鼠空腹血糖的影响

采用 NOD 小鼠，从第 5 周开始，检测空腹血糖（空腹 6 h），并给药（分对照组和实验组 PGLP-1 组、VP 组、P15 组），期间间隔 2 周检测血糖。定期测定每组每只小鼠的血糖经过 24 周的治疗，继续观察 10 周。

P15 组未发生糖尿病，然而，空白对照组、PGLP-1 或 VP 组都相继有糖尿病的发生（图 8A）。这些数据表明，P15 能够预防糖尿病的再次发生。另外，P15 组血糖值从 29 周开始维持在较低水平（停止给药），第 39 周，P15 组血糖值明显低于对照组和 VP 组（排除糖尿病小鼠）（$p<0.05$）（图 8B）。

（7）对 NOD 小鼠胰腺重量和胰腺炎的影响

作为（6）的延续，39 周观察期结束后，处死小鼠，取小鼠胰腺，称胰腺重量，并分析各组之间的差异。

结果显示，P15 能够显著增加胰腺重量，与对照组相比，$p<0.05$，其他组均有升高，但是差异性不显著（图 9A）。将胰腺进行 HE 染色，分析小鼠胰腺炎的程度，结果如图所示，对照组全部伴随胰腺炎的发生，而实验组 PGLP-1、VP、P15 组分别有 1 只、1 只、3 只无胰腺炎（图 9B）。结果说明，P15 肽能够抑制胰腺炎的发生。

（8）对 NOD 小鼠免疫调节因子 Th1/Th2 的影响

作为（6）的延续，39 周观察期结束后，处死小鼠，取脾脏，经过抗体染色，流式分析 Th1 和 Th2 的比例，以及 Th2/Th1 的比值。

结果显示，实验组 VP 组、P15 组能够显著增加 Th2 的比例，与对照组比

较，$p<0.05$，PGLP-1 组有轻微升高，但是差异不显著（图 10A 和 C）；实验组 PGLP-1 组、P15 组、VP 组对 Th1 无影响，各组之间无显著性差异（图 10A 和 B）；实验组 VP 组、P15 组的 Treg/Th17 的比值显著升高，$p<0.05$，PGLP-1 组有轻微升高，但是差异不显著（图 10A 和 D）。结果说明，P15 肽能通过提高 Th2 的比例，以及 Th2/Th1 的比值来调节小鼠体内免疫平衡。

综合来看，本发明 P15 肽能够有效地发挥糖依赖性促胰岛素分泌作用（IPTGG）；降低 STZ 糖尿病模型小鼠的血糖，抑制 STZ 糖尿病模型小鼠的进食；降低 NOD 小鼠的发病率和死亡率，增加胰腺重量，抑制胰腺炎；调节小鼠体内免疫平衡。

序列表

〈110〉 中国药科大学

〈120〉 长效降糖调脂多肽及其用途

〈160〉 1

〈210〉 1

〈211〉 54

〈212〉 PRT

〈213〉 人工序列

〈400〉 1

```
His Gly 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 Gly Pro
            20                  25                  30
Gly Val Leu Gly Gly Gly Cys Arg Cys Ile Pro Ala Leu Asp Ser Leu
        35                  40                  45
Thr Pro Ala Asn Glu Asp
    50
```

权 利 要 求 书

1. 一种长效降糖调脂多肽，其特征是，所述多肽的氨基酸序列为：HGEGTFTSDVSSYLEGQAAKEFIAWLVKGRGPGVLGGGCRCIPALDSLTPANED。

2. 权利要求 1 述及长效降糖调脂多肽用于制备治疗或预防 1 型糖尿病药物或药物组合物的用途。

3. 权利要求 1 述及长效降糖调脂多肽用于制备治疗或预防 2 型糖尿病药物或药物组合物的用途。

4. 权利要求 1 述及长效降糖调脂多肽用于制备免疫调节药物或药物组合物的用途。

5. 根据权利要求 2 或 3 或 4 述及的用途，其特征是，所述药物组合物包括药物载体和/或药物活性物质。

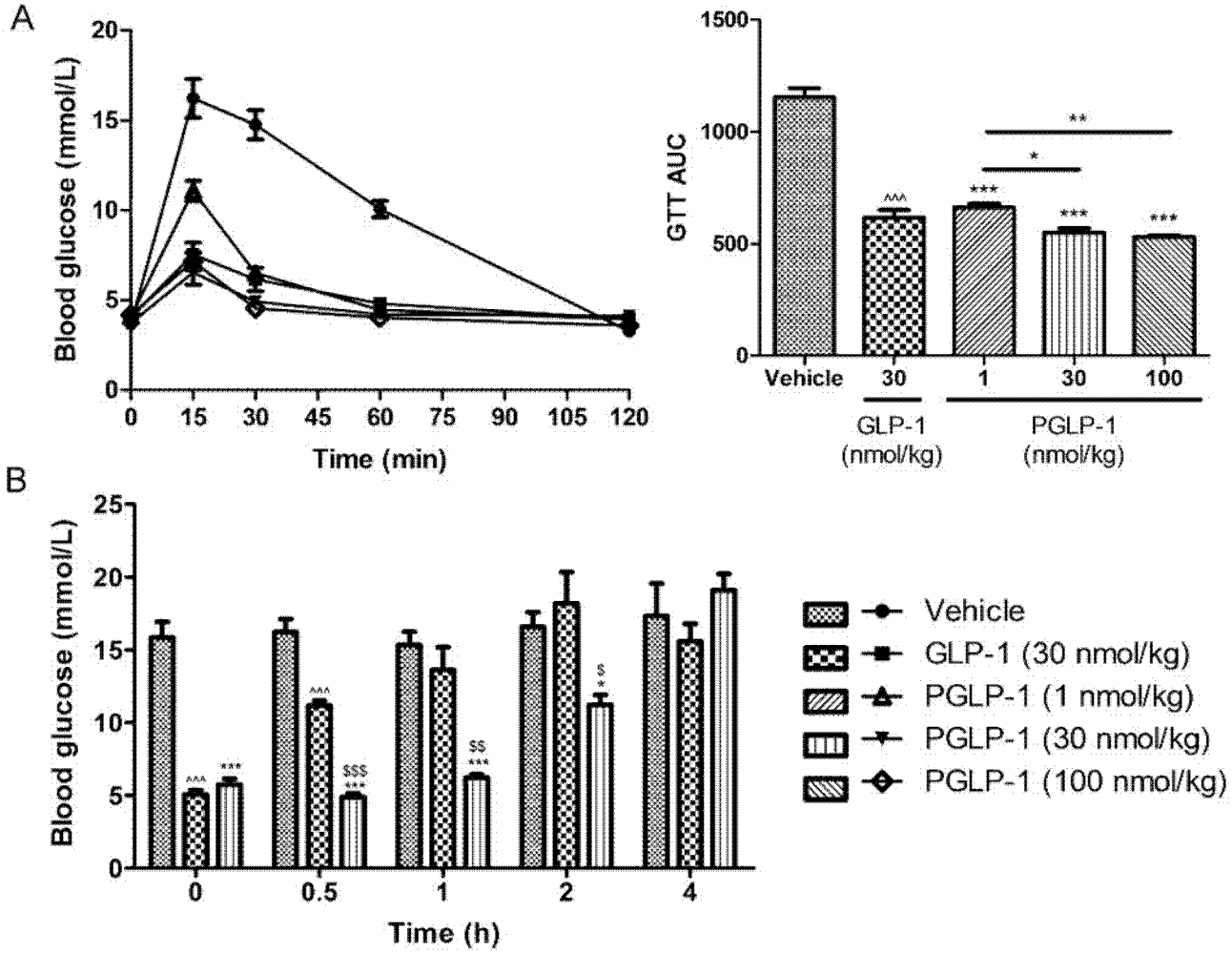

A
Blood glucose (mmol/L)
Time (min)
GTT AUC
Vehicle
30
1
30
100
GLP-1 (nmol/kg)
PGLP-1 (nmol/kg)
B
Blood glucose (mmol/L)
Time (h)
Vehicle
GLP-1 (30 nmol/kg)
PGLP-1 (1 nmol/kg)
PGLP-1 (30 nmol/kg)
PGLP-1 (100 nmol/kg)

图 1

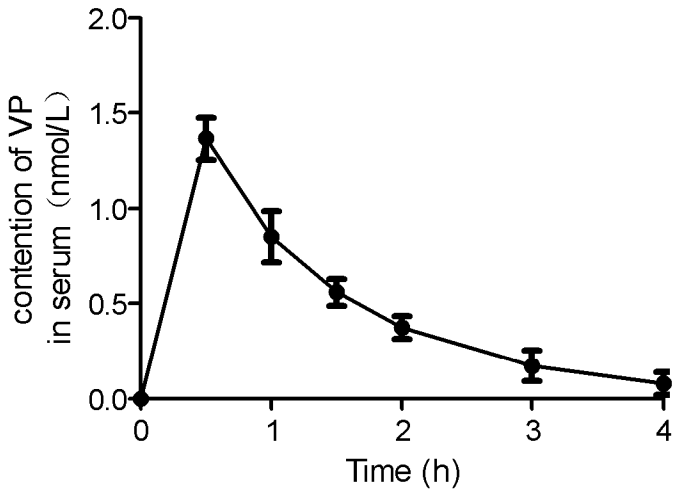

contention of VP in serum（nmol/L）
Time (h)

图 2

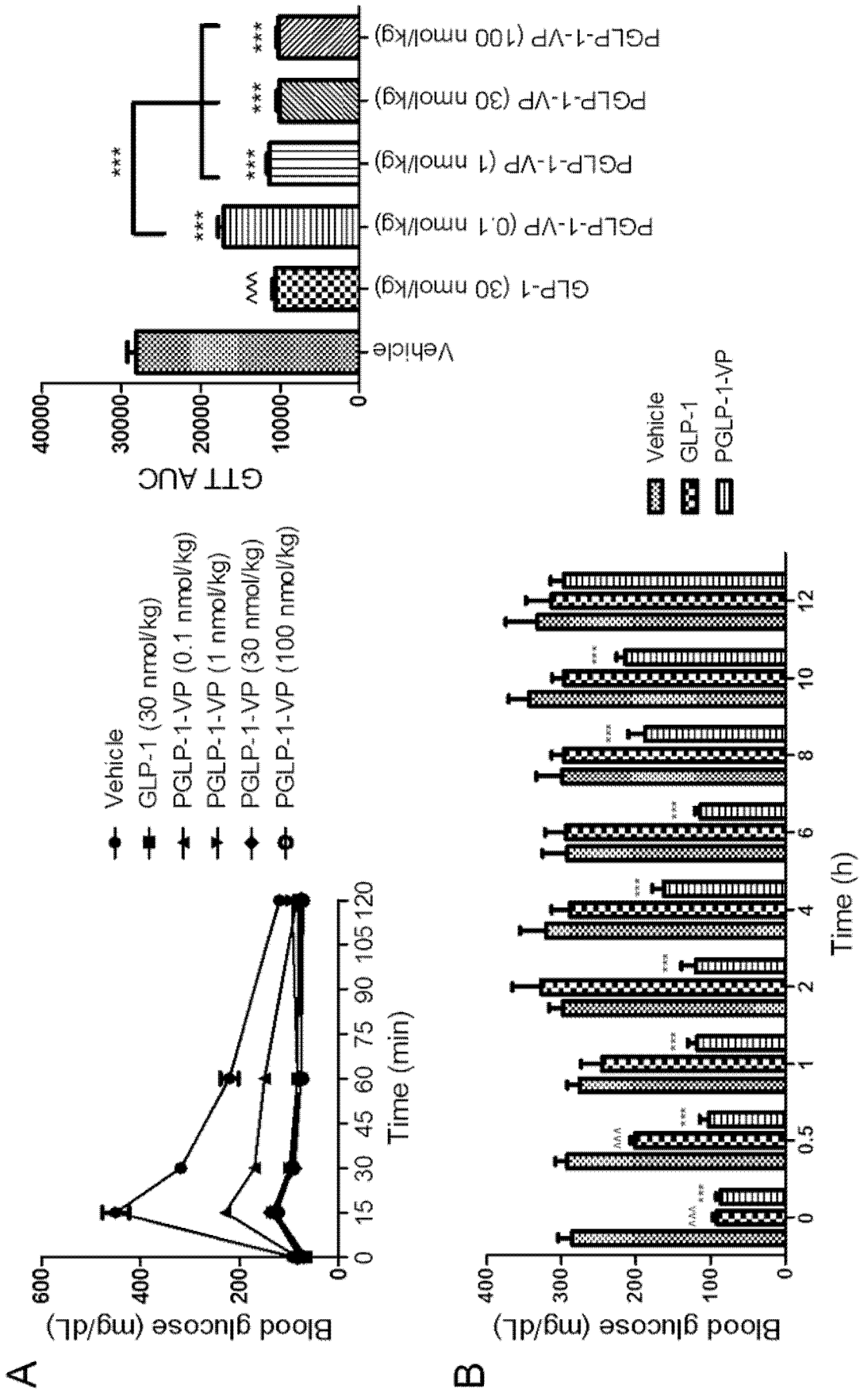

A
Blood glucose (mg/dL)
Time (min)
Vehicle
GLP-1 (30 nmol/kg)
PGLP-1-VP (0.1 nmol/kg)
PGLP-1-VP (1 nmol/kg)
PGLP-1-VP (30 nmol/kg)
PGLP-1-VP (100 nmol/kg)
GTT AUC
Vehicle
GLP-1 (30 nmol/kg)
PGLP-1-VP (0.1 nmol/kg)
PGLP-1-VP (1 nmol/kg)
PGLP-1-VP (30 nmol/kg)
PGLP-1-VP (100 nmol/kg)
B
Blood glucose (mg/dL)
Time (h)
Vehicle
GLP-1
PGLP-1-VP

图 3

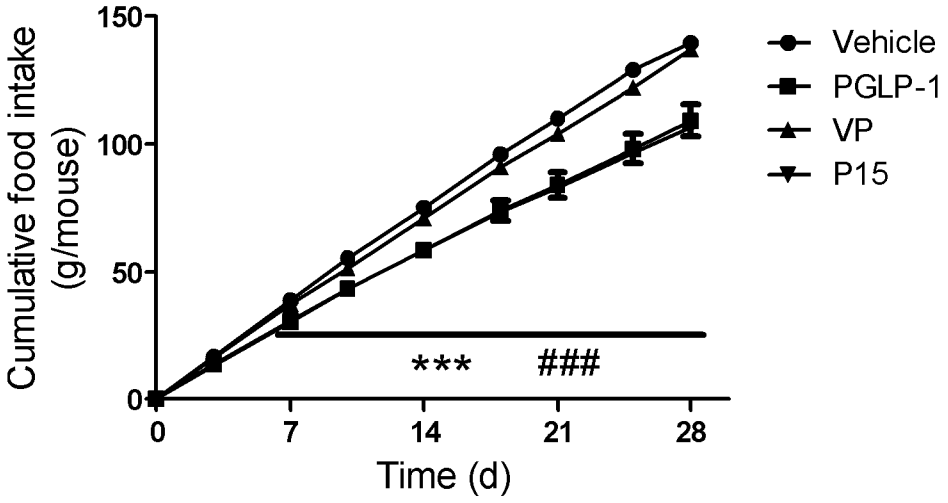

Cumulative food intake (g/mouse)
150
100
50
0
0
7
14
21
28
Time (d)
***
###
Vehicle
PGLP-1
VP
P15

图 4

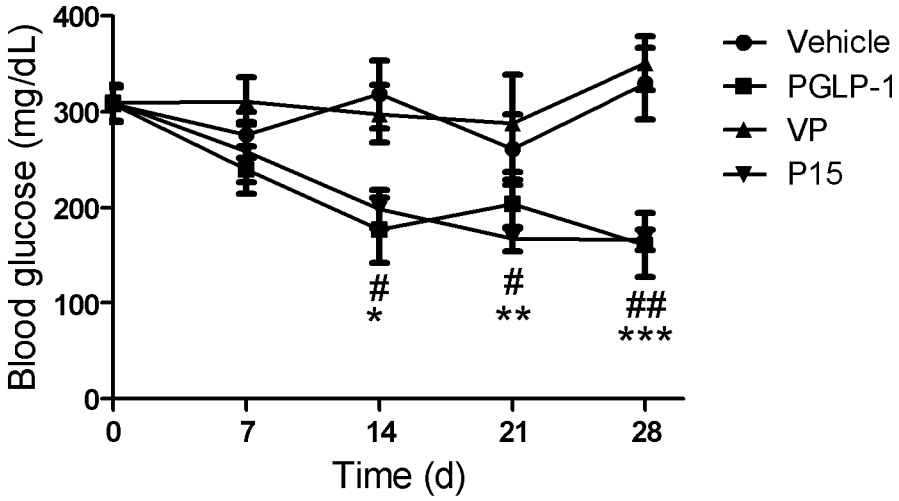

Blood glucose (mg/dL)
400
300
200
100
0
0
7
14
21
28
Time (d)
#
*
#
**
##
***
Vehicle
PGLP-1
VP
P15

图 5

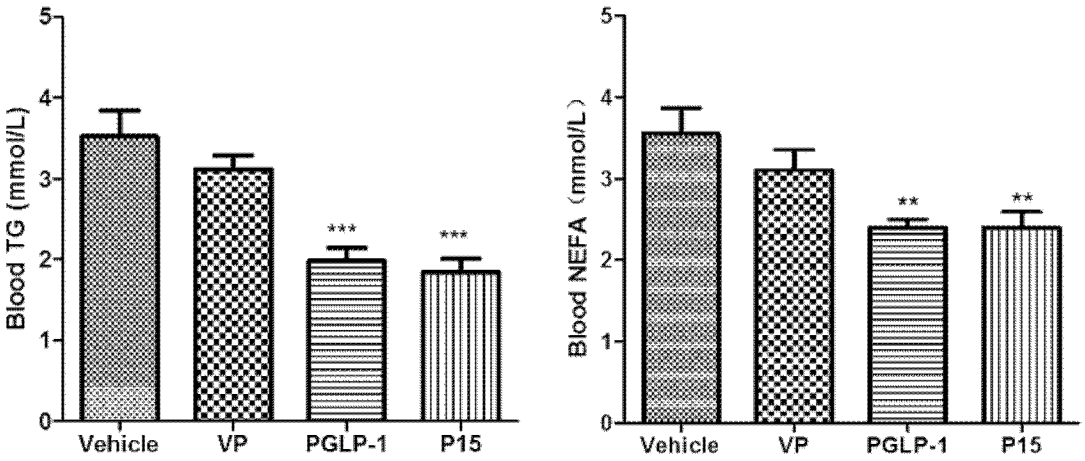

Blood TG (mmol/L)
5
4
3
2
1
0
***
***
Vehicle
VP
PGLP-1
P15
Blood NEFA（mmol/L）
5
4
3
2
1
0
**
**
Vehicle
VP
PGLP-1
P15

图 6

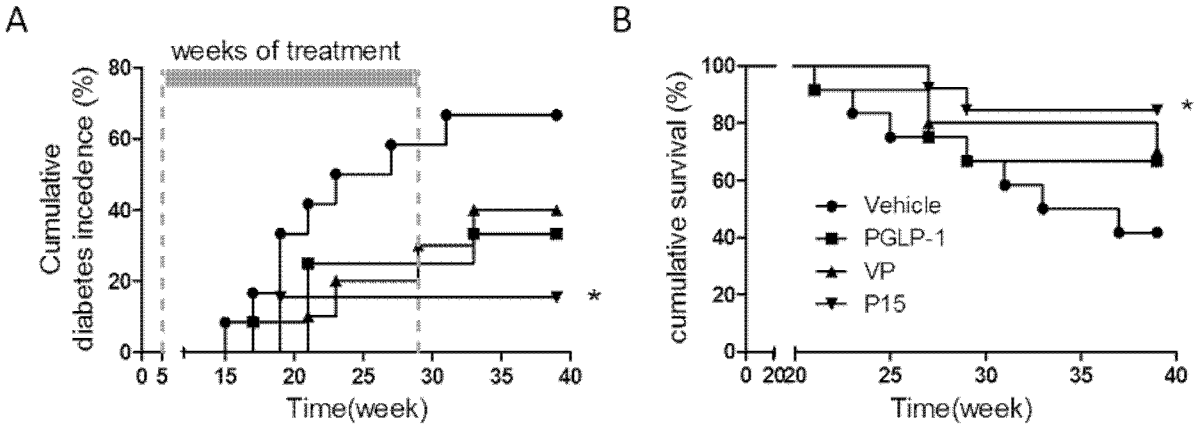

A
weeks of treatment
Cumulative diabetes incedence (%)
Time(week)
*
B
cumulative survival (%)
Vehicle
PGLP-1
VP
P15
Time(week)
*

图 7

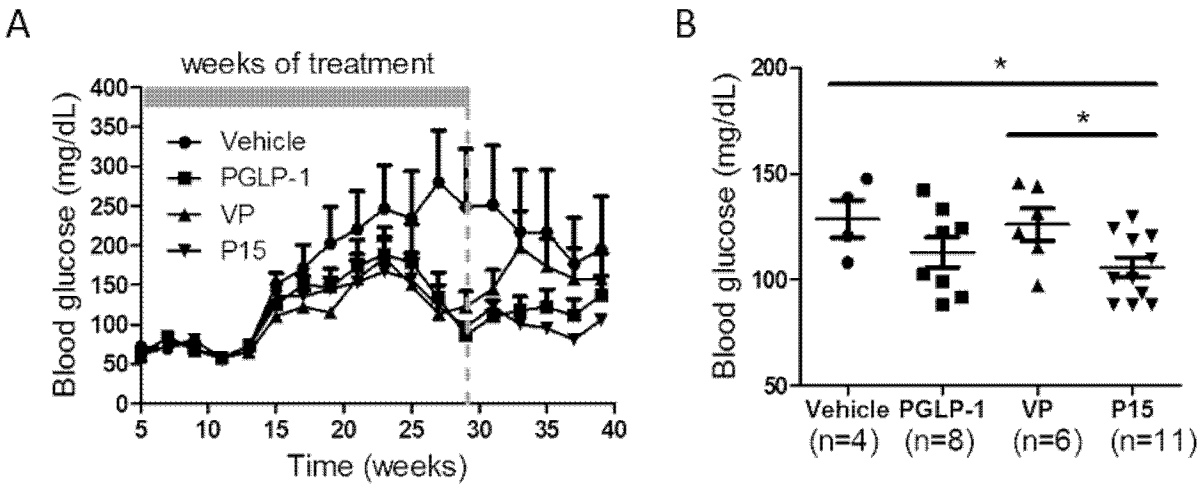

A
weeks of treatment
Blood glucose (mg/dL)
Vehicle
PGLP-1
VP
P15
Time (weeks)
B
Blood glucose (mg/dL)
*
*
Vehicle (n=4)
PGLP-1 (n=8)
VP (n=6)
P15 (n=11)

图 8

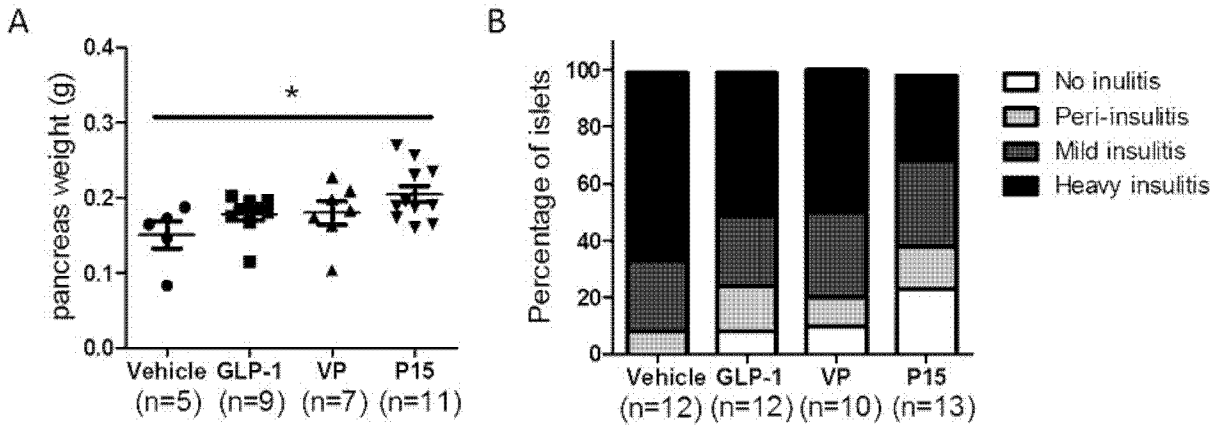
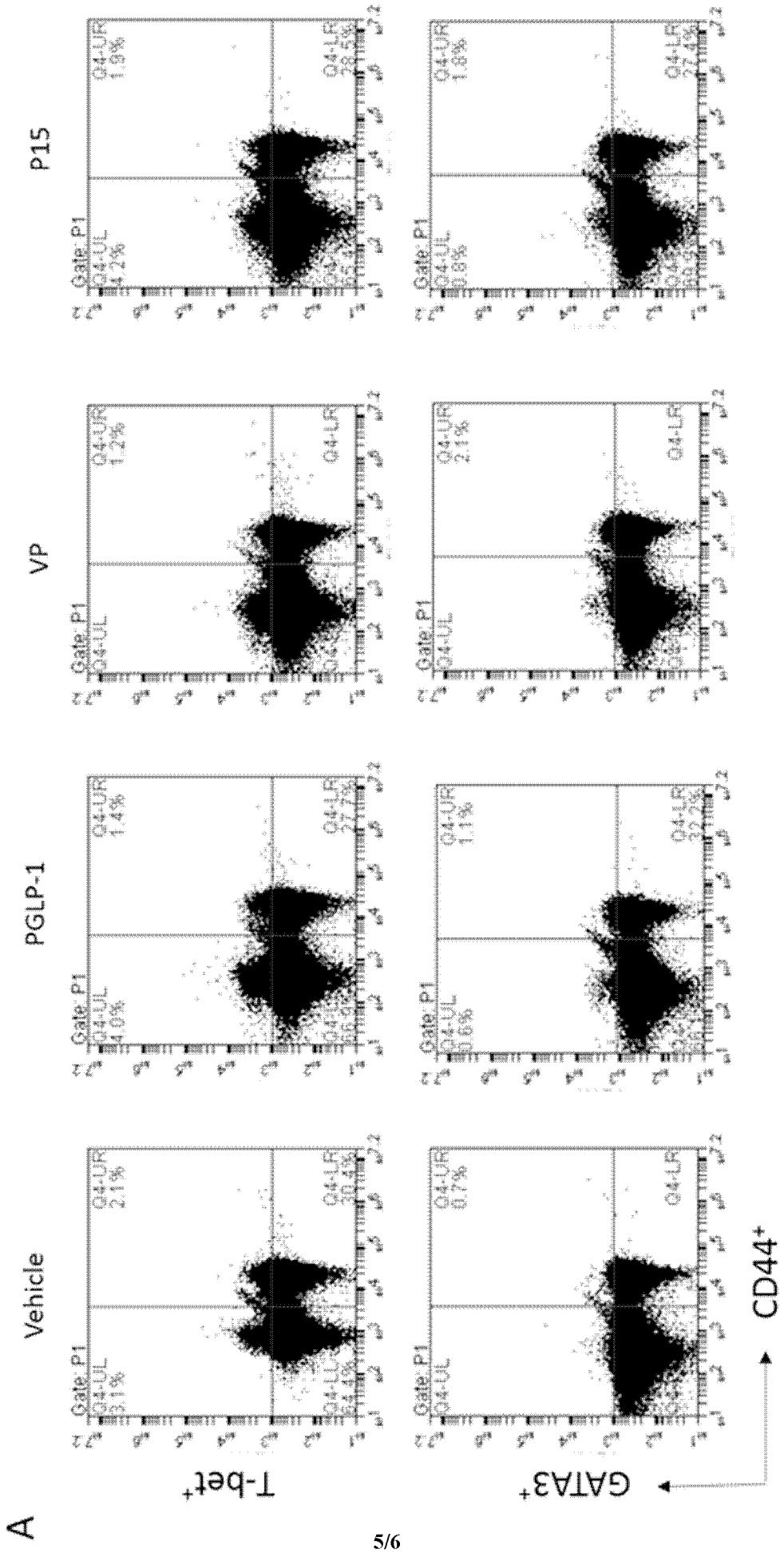

A
pancreas weight (g)
*
Vehicle (n=5)
GLP-1 (n=9)
VP (n=7)
P15 (n=11)
B
Percentage of islets
No inulitis
Peri-insulitis
Mild insulitis
Heavy insulitis
Vehicle (n=12)
GLP-1 (n=12)
VP (n=10)
P15 (n=13)

图 9


A
Vehicle
PGLP-1
VP
P15
T-bet+
GATA3+
CD44+
Gate: P1
Q4-UL
Q4-UR
Q4-LL
Q4-LR

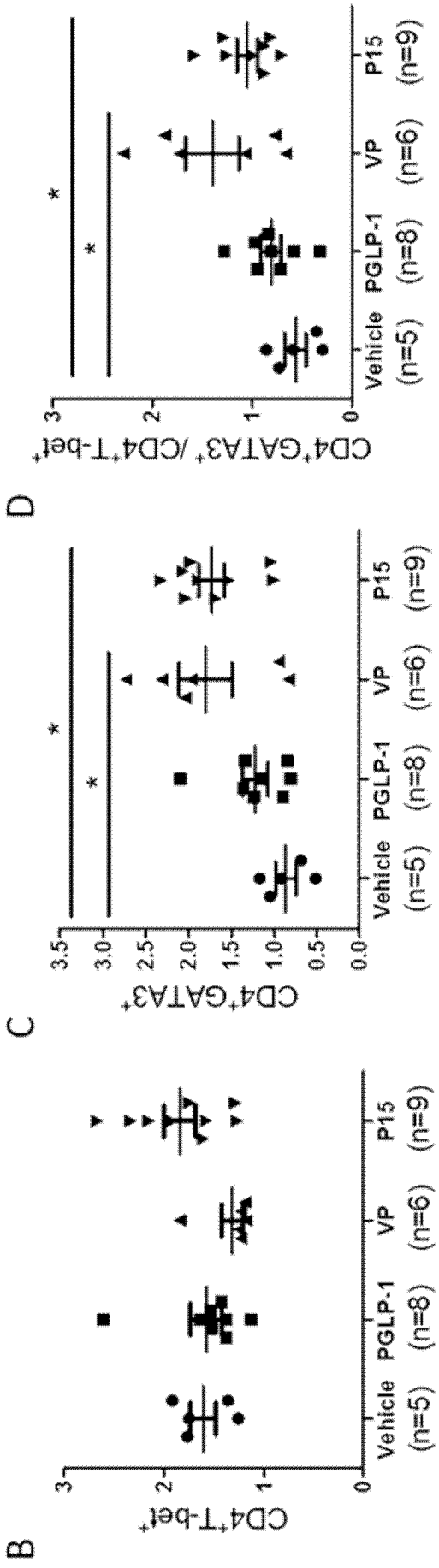

B
CD4+T-bet+
C
CD4+GATA3+
D
CD4+GATA3+/CD4+T-bet+
Vehicle (n=5)
PGLP-1 (n=8)
VP (n=6)
P15 (n=9)
*

图 10

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2017/094009

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07K 19/00 (2006.01) i; A61K 38/26 (2006.01) i; A61P 3/10 (2006.01) i; A61P 37/02 (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)

C07K; 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)

VEN; CNTXT; CNABS; CPRSABS; DWPI; SIPOABS; USTXT; WOTXT; KRTXT; JPTXT; CATXT; EPTXT; ISI WEB OF KNOWLED - GE; CNKI; PUBMED; WANFANG; BAIDU SCHOLAR: 胰高血糖素样肽, GLP-1 类似物, GLP-1 受体激动剂, 热休克蛋白, 融合, 嵌合, 杂合, 半衰期, 长效, 中国药科大学, 金亮, 高华山, 赵茜, 张艳峰, 卢世平, glucagon like peptide, GLP-1, GLP-1 analogs, GLP-1 receptor agonists, heat shock protein, HSP60, P277, fusion, fused, chimeric, chimeras, hyb?rid, half life, half lives, long act, long lasting;

GENBANK, EMBL, NATIONAL BIO-SEQUENCE DATABASE OF CHINESE PATENT: sequence research for sequences of SEQ ID NO: 1 and the amino acid of Progly peptides and VP peptides

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	CN 106519016 A (CHINA PHARMACEUTICAL UNIVERSITY), 22 March 2017 (22.03.2017), see entire document	1-5
A	CN 106518987 A (CHINA PHARMACEUTICAL UNIVERSITY), 22 March 2017 (22.03.2017), see entire document	1-5
A	CN 106279400 A (CHINA PHARMACEUTICAL UNIVERSITY), 04 January 2017 (04.01.2017), see entire document	1-5
A	CN 1831012 A (CHINA PHARMACEUTICAL UNIVERSITY), 13 September 2006 (13.09.2006), see entire document	1-5
A	WO 2011043530 A1 (ALTEOGEN INC. et al.), 14 April 2011 (14.04.2011), see entire document	1-5

☒ 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	Date of mailing of the international search report
14 March 2018	23 March 2018
Name and mailing address of the ISA State Intellectual Property Office of the P. R. China No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao Haidian District, Beijing 100088, China Facsimile No. (86-10) 62019451	Authorized officer LIN, Junkai Telephone No. (86-10) 62412317

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2017/094009

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 filed or furnished:

   a. (means)

   ☒ on paper

   ☐ in electronic form

   b. (time)

   ☒ in the international application as filed

   ☐ together with the international application in electronic form

   ☐ subsequently to this Authority for the purposes of search

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 in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2017/094009

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	贝凯 等., "长效 GLP-1 受体激动剂的研发进展" 微生物学免疫学进展, 45(1), 28 February 2017 (2017-02 -28), ISSN: 1005-5673, pages 74-79, see entire document (BEI, Kai, et al., "Development and Present Situation of Long-Acting Glucagon-Like Peptide-1 Agonists", PROGRESS IN MICROBIOLOGY AND IMMUNOLOGY)	1-5

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2017/094009

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
CN 106519016 A	22 March 2017	None	
CN 106518987 A	22 March 2017	None	
CN 106279400 A	04 January 2017	None	
CN 1831012 A	13 September 2006	None	
WO 2011043530 A1	14 April 2011	KR 101229610 B1	05 February 2013
		KR 20110039175 A	15 April 2011

国际检索报告

国际申请号 PCT/CN2017/094009

A. 主题的分类

C07K 19/00(2006.01)i; A61K 38/26(2006.01)i; A61P 3/10(2006.01)i; A61P 37/02(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)

C07K; 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））

VEN; CNTXT; CNABS; CPRSABS; DWPI; SIPOABS; USTXT; WOTXT; KRTXT; JPTXT; CATXT; EPTXT; ISI WEB OF KNOWLEDGE; CNKI; PUBMED;万方;百度学术:胰高血糖素样肽,GLP-1类似物，GLP-1受体激动剂，热休克蛋白，融合，嵌合，杂合，半衰期，长效，中国药科大学，金亮，高华山，赵茜，张艳峰，卢世平，glucagon like peptide,GLP-1，GLP-1 analogs，GLP-1 receptor agonists，heat shock protein，HSP60，P277，fusion,fused,chimeric,chimeras,hybrid,half life,half lives,long act,long lasting; GENBANK,EMBL,中国专利生物序列检索系统:对SEQ ID NO:1的序列、Progly肽和VP肽的氨基酸序列的序列检索。

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
A	CN 106519016 A (中国药科大学) 2017年 3月 22日 (2017-03-22) 参见全文	1-5
A	CN 106518987 A (中国药科大学) 2017年 3月 22日 (2017-03-22) 参见全文	1-5
A	CN 106279400 A (中国药科大学) 2017年 1月 4日 (2017-01-04) 参见全文	1-5
A	CN 1831012 A (中国药科大学) 2006年 9月 13日 (2006-09-13) 参见全文	1-5
A	WO 2011043530 A1 (ALTEOGEN INC等) 2011年 4月 14日 (2011-04-14) 参见全文	1-5

☑ 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	国际检索报告邮寄日期
2018年 3月 14日	2018年 3月 23日
ISA/CN的名称和邮寄地址 中华人民共和国国家知识产权局(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	受权官员 林峻凯 电话号码 (86-10)62412317

国际检索报告

国际申请号
PCT/CN2017/094009

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
A	贝凯等. "长效GLP-1受体激动剂的研发进展" 微生物学免疫学进展, 第45卷，第1期，2017年 2月 28日 (2017 - 02 - 28)， ISSN：1005-5673, 第74-79页，参见全文	1-5

国际检索报告

国际申请号
PCT/CN2017/094009

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对要求保护的发明必要的核苷酸和/或氨基酸序列，国际检索是在下列基础上进行的：

a. (提交提供)

☑ 纸件形式

☐ 电子形式

b. (提交时间)

☑ 含在申请提交时的国际申请中

☐ 以电子形式与国际申请一起提交

☐ 为检索之用随后提交本单位

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申请中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：

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号
PCT/CN2017/094009

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 106519016 A	2017年 3月 22日	无	
CN 106518987 A	2017年 3月 22日	无	
CN 106279400 A	2017年 1月 4日	无	
CN 1831012 A	2006年 9月 13日	无	
WO 2011043530 A1	2011年 4月 14日	KR 101229610 B1	2013年 2月 5日
		KR 20110039175 A	2011年 4月 15日