(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 104045699 A
(43)申请公布日 2014.09.17

(21)申请号 201410096370.X

(22)申请日 2014.03.14

(66)本国优先权数据
PCT/CN2013/072771 2013.03.15 CN

(71)申请人 深圳君圣泰生物技术有限公司
地址 518057 广东省深圳市南山区高新中一道19号232室

(72)发明人 刘利平 白茹

(74)专利代理机构 深圳众鼎专利商标代理事务所(普通合伙) 44325
代理人 朱业刚

(51)Int.Cl.
C07K 14/47(2006.01)
C12N 5/071(2010.01)
C12N 5/079(2010.01)
A61K 38/17(2006.01)
A61P 3/10(2006.01)

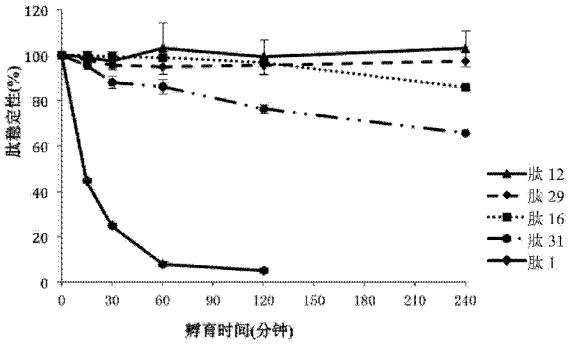
权利要求书2页 说明书28页
序列表43页 附图6页

(54)发明名称

一种多肽、多肽衍生物、多肽的可药用盐及药物组合物

(57)摘要

为克服现有技术中促胰岛新生多肽的血浆半衰期较短、活性较低的问题，本发明提供了一种多肽。同时，本发明还公开了上述多肽的衍生物、可药用盐及药物组合物。本发明提供的多肽在血液中的稳定性高，半衰期长。



CN 104045699 A

1. 一种多肽，其特征在于，具有如下通式：

R^1-IGLHDPSHGTLPNG$X^1(C)_m$-R^2；

其中，m 为 0 或 1；R^1 选自 -H 或 -Ac；R^2 选自 -OH 或 $-NH_2$；

并且，当 R^1 为 -H、R^2 为 -OH 且 m 为 0 不成立时，X^1 选自 Serine(S)、Glutamic acid(E)、Cysteine(C) 或 Lysine(K)；

当 R^1 为 -H、R^2 为 -OH 且 m 为 0 成立时，X^1 选自 Glutamic acid(E)、Cysteine(C) 或 Lysine(K)。

2. 根据权利要求 1 所述的多肽，其特征在于，具有如下序列：

H-IGLHDPSHGTLPNGE-OH（序列编号：21）或 H-IGLHDPSHGTLPNGK-OH（序列编号：22）。

3. 根据权利要求 1 所述的多肽，其特征在于，具有如下序列：

Ac-IGLHDPSHGTLPNGS-NH_2（序列编号：31）、

H-IGLHDPSHGTLPNGS-NH_2（序列编号：32）、

Ac-IGLHDPSHGTLPNGS-OH（序列编号：16）中的一种或多种。

4. 根据权利要求 1 所述的多肽，其特征在于，具有如下序列：

H-IGLHDPSHGTLPNGC-OH（序列编号：37）、

Ac-IGLHDPSHGTLPNGC-OH（序列编号：38）、

H-IGLHDPSHGTLPNGC-NH_2（序列编号：39）、

Ac-IGLHDPSHGTLPNGC-NH_2（序列编号：40）中的一种或多种。

5. 根据权利要求 1 所述的多肽，其特征在于，具有如下序列：

H-IGLHDPSHGTLPNGSC-OH（序列编号：33）、

Ac-IGLHDPSHGTLPNGSC-OH（序列编号：34）、

H-IGLHDPSHGTLPNGSC-NH_2（序列编号：35）、

Ac-IGLHDPSHGTLPNGSC-NH_2（序列编号：36）中的一种或多种。

6. 一种多肽，其特征在于，具有如下序列：

H-IGLHDPSHGTLPNG-OH（序列编号：74）、

Ac-IGLHDPSHGTLPNG-OH（序列编号：75）、

H-IGLHDPSHGTLPNG-NH_2（序列编号：76）、

Ac-IGLHDPSHGTLPNG-NH_2（序列编号：77）中的一种或多种。

7. 一种多肽衍生物，其特征在于，所述多肽衍生物为权利要求 1-6 中任意一项所述的多肽的修饰产物。

8. 根据权利要求 7 所述的多肽衍生物，其特征在于，所述修饰包括烷基化、酰基化、氨基甲酰化、碘化。

9. 根据权利要求 7 所述的多肽衍生物，其特征在于，所述修饰包括 N- 末端乙酰化、C- 末端酰胺化、D 型氨基酸非天然氨基酸替换所述多肽中的天然氨基酸、脂肪酸修饰中的一种或多种。

10. 根据权利要求 9 所述的多肽衍生物，其特征在于，所述非天然氨基酸选自 2- 氨基脂肪酸、3- 氨基脂肪酸、β - 丙氨酸、β - 氨基丙酸、2- 氨基丁酸、4- 氨基丁酸、哌啶羧酸、6- 氨基己酸、2- 氨基庚酸、2- 氨基异丁酸、3- 氨基异丁酸、2- 氨基庚二酸、2,4- 二氨基丁酸、锁链素、2,2' - 二氨基庚二酸、2,3- 二氨基丙酸、N- 乙基甘氨酸、N- 乙基天冬酰胺、羟赖氨酸、异

羟赖氨酸、3- 羟脯氨酸、4- 羟基脯氨酸、异锁链素、异 - 异亮氨酸、N- 甲基甘氨酸、N- 甲基异亮氨酸、6-N- 甲基赖氨酸、N- 甲基缬氨酸、正缬氨酸、正亮氨酸或鸟氨酸。

11. 根据权利要求 9 所述的多肽衍生物，其特征在于，所述脂肪酸修饰包括 C2、C4、C6、C8、C10、C12、C14、C16、C18、C20 或更长碳链的脂肪族基团酰化。

12. 如权利要求 1-6 中任意一项所述的多肽或者选自权利要求 7-11 中任意一项所述的多肽衍生物在制备治疗糖尿病的药物中的应用。

13. 一种多肽的可药用盐，其特征在于，所述多肽选自权利要求 1-6 中任意一项所述的多肽或者选自权利要求 7-11 中任意一项所述的多肽衍生物，所述的可药用盐为醋酸盐和盐酸盐。

14. 一种药物组合物，其特征在于，所述药物组合物由多肽与药用载体按配方制造而成；

所述多肽选自权利要求 1-6 中任意一项所述的多肽或者选自权利要求 7-11 中任意一项所述的多肽衍生物。

15. 根据权利要求 14 所述的药物组合物，其特征在于，所述药用载体包括水、缓冲盐溶液、生理盐水、林格氏液、乙二醇、甘油、油脂或可注射的有机酯中的一种或多种。

16. 根据权利要求 14 或 15 所述的药物组合物，其特征在于，所述药用载体包括碳水化合物、抗氧剂、螯合剂、二价金属离子、酶抑制剂、低分子量蛋白或稳定剂中的一种或多种。

17. 根据权利要求 16 所述的药物组合物，其特征在于，所述碳水化合物包括葡萄糖、蔗糖、葡聚糖、纤维素；所述抗氧剂包括抗坏血酸或谷胱甘肽；所述螯合剂包括乙二胺四乙酸；所述二价金属离子包括钙离子或镁离子。

18. 根据权利要求 14 所述的药物组合物，其特征在于，所述药物组合物还包括增稠剂、稀释剂、缓冲液、防腐剂、表面活性剂、增加所述多肽分子选择可能的物质、抗菌剂、抗炎剂、麻醉剂中的一种或多种。

19. 一种促进胰岛细胞增殖的方法，其特征在于，包括采用权利要求 1-6 中任意一项所述的多肽或者选自权利要求 7-11 中任意一项所述的多肽衍生物与胰岛细胞接触。

20. 一种产生胰岛细胞簇的方法，其特征在于，包括采用权利要求 1-6 中任意一项所述的多肽或者选自权利要求 7-11 中任意一项所述的多肽衍生物与胰腺导管细胞接触。

21. 一种促进肝细胞再生的方法，其特征在于，包括采用权利要求 1-6 中任意一项所述的多肽或者选自权利要求 7-11 中任意一项所述的多肽衍生物与肝细胞接触。

22. 一种促进神经细胞再生的方法，其特征在于，包括采用权利要求 1-6 中任意一项所述的多肽或者选自权利要求 7-11 中任意一项所述的多肽衍生物与神经细胞接触。

一种多肽、多肽衍生物、多肽的可药用盐及药物组合物

[0001] 本申请基于2013年3月15日提交的在先的PCT国际申请(申请号为PCT/CN2013/072771),并要求其优先权,将该在先申请的全部内容通过引用结合在本申请中。

技术领域

[0002] 本发明主要涉及到医药及制药领域,尤其是一种多肽以及该多肽的衍生物、可药用盐及药物组合物。

背景技术

[0003] 全世界有3亿多人患有糖尿病(DM)并忍受由此带来的痛苦。主要的糖尿病类型分为一型糖尿病(T1D)和二型糖尿病(T2D)两种。一型糖尿病是由于机体无法产生胰岛素从而病人需要每天给予胰岛素进行治疗;二型糖尿病的发病则是由于胰岛素抵抗,即机体细胞无法恰当的利用胰岛素。目前对于二型糖尿病已经有多种被证实确切有效的非胰岛素治疗方式,然而随着疾病的发展,有相当大比例的晚期二型糖尿病病人胰岛β细胞的功能丧失从而需要给予胰岛素治疗。

[0004] 糖尿病的发展与胰腺中胰岛的大量丧失有关。在被诊断出糖尿病之初,一型糖尿病病人90%以上的胰岛、二型糖尿病病人50%左右的胰岛已经丧失。胰岛新生被公认是治疗一型和二型糖尿病的最优方案,人们为寻找刺激胰岛新生的方法也做出了很多尝试和努力。

[0005] 目前,研究者发现胰岛新生相关蛋白(INGAP)、人促胰岛肽(HIP)、胰高血糖素样肽-1(GLP-1)、胰岛内分泌血管活性肠肽(VIP)、表皮生长因子和胃泌素等都具有引发非内分泌胰腺母细胞分化成功能完善的胰岛的功能,且已经在多种动物模型中得到证实。在所有的这些化合物中,INGAP蛋白序列中104—118区域15个氨基酸的INGAP多肽(INGAP-PP)可诱发胰岛新生,并且已经在逆转STZ诱发的小鼠糖尿病、增加一型糖尿病病人C-肽的释放、改善二型糖尿病病人的血糖控制等多种实验结果中得到证实。除此之外,另外有报道表明INGAP-PP还具有其他一些生物学效应,比如剂量依赖性的刺激胰岛β细胞数目的增加、增加胰岛素的分泌以及β细胞的大小。在人体开展的临床验证研究表明,其具有改善血糖平衡的功效,二型糖尿病病人给药90天HbA1c指标的改善以及一型糖尿病病人C-肽的释放明显增加等均进一步证实了上述INGAP-PP的功效。然而,INGAP-PP的血浆半衰期较短并且需要给予较高的剂量等特点使得该多肽的临床应用受到限制。

发明内容

[0006] 本发明所要解决的技术问题是针对现有技术中INGAP-PP的血浆半衰期较短的问题,提供一种多肽。

[0007] 本发明解决上述技术问题所采用的技术方案如下:

[0008] 提供一种多肽,具有如下通式:

[0009] R^1-IGLHDPSHGTLPNG$X^1$$(C)_m$-$R^2$;

[0010] 其中，m 为 0 或 1；R^1 选自 -H 或 -Ac；R^2 选自 -OH 或 $-NH_2$；

[0011] 并且，当 R^1 为 -H、R^2 为 -OH 且 m 为 0 不成立时，X^1 选自 Serine(S)、Glutamic acid(E)、Cysteine(C) 或 Lysine(K)；

[0012] 当 R^1 为 -H、R^2 为 -OH 且 m 为 0 成立时，X^1 选自 Glutamic acid(E)、Cysteine(C) 或 Lysine(K)。

[0013] 同时，本发明还提供了一种多肽，具有如下序列：H-IGLHDPSHGTLPNG-OH（序列编号：74）、Ac-IGLHDPSHGTLPNG-OH（序列编号：75）、H-IGLHDPSHGTLPNG-NH_2（序列编号：76）、Ac-IGLHDPSHGTLPNG-NH_2（序列编号：77）中的一种或多种。

[0014] 同时，本发明还提供了基于上述多肽的多肽衍生物，该多肽衍生物为上述多肽的修饰产物。

[0015] 进一步的，本发明还公开了上述多肽或多肽衍生物在制备治疗糖尿病的药物中的应用。

[0016] 进一步的，本发明还提供了上述多肽或多肽衍生物的可药用盐，所述可药用盐为醋酸盐和盐酸盐。

[0017] 进一步的，本发明还提供了一种药物组合物，所述药物组合物由上述多肽或多肽衍生物与药用载体按配方制造而成。

[0018] 进一步的，本发明还提供了一种促进胰岛细胞增殖的方法，包括采用上述多肽或多肽衍生物与胰岛细胞接触。

[0019] 进一步的，本发明还提供了一种产生胰岛细胞簇的方法，包括采用上述多肽或多肽衍生物与胰腺导管细胞接触。

[0020] 进一步的，本发明还提供了一种促进肝细胞再生的方法，包括采用上述多肽或多肽衍生物与肝细胞接触。

[0021] 进一步的，本发明还提供了一种促进神经细胞再生的方法，包括采用上述多肽或多肽衍生物与神经细胞接触。

[0022] 将本发明提供的多肽制备成药物后，使用时可有效的改善胰岛功能，并且该多肽的血浆半衰期长，稳定性好，可在血液中长时间发挥作用。

附图说明

[0023] 图 1 是本发明实施例 2 中，肽 1、肽 12、肽 16 对在细胞培养基中的稳定性对比图；

[0024] 图 2 是本发明实施例 2 中，肽 1、肽 12、肽 16、肽 29 和肽 31 在大鼠血浆中的稳定性对比图；

[0025] 图 3 是本发明实施例 2 中，肽 1、肽 12、肽 16、肽 29 在小鼠血浆中的稳定性对比图；

[0026] 图 4 是本发明实施例 2 另一组实验中，分别采用肽 1、肽 31 在小鼠血浆中的稳定性对比图；

[0027] 图 5 是本发明实施例 2 中，肽 1、肽 12、肽 16 在人血浆中的稳定性对比图；

[0028] 图 6 是本发明实施例 2 另一组实验中，肽 1、肽 29 和肽 31 在人血浆中的稳定性对比图；

[0029] 图 7 是本发明实施例 3 中，肽 1、肽 12、肽 16 胰岛素分泌量的对比图；

[0030] 图 8A 是本发明实施例 5 中，经过肽 1、肽 31 治疗 10 天后，雌性 C57BL/6J 小鼠 EIC

的数量对比图；

[0031] 图 8B 是本发明实施例 5 中，经过肽 1、肽 31 治疗 10 天后，雌性 C57BL/6J 小鼠 EIC 的总面积对比图；

[0032] 图 8C 是本发明实施例 5 中，经过肽 1、肽 31 给药后与胰腺导管上皮细胞相关联的 EIC 代表性免疫组化图；

[0033] 图 9 是本发明实施例 6 中，经过肽 1、肽 31 治疗 10 天后，促进胰岛新生的效果对比图。

具体实施方式

[0034] 为了使本发明所解决的技术问题、技术方案及有益效果更加清楚明白，以下结合实施例，对本发明进行进一步详细说明。应当理解，此处所描述的具体实施例仅仅用以解释本发明，并不用于限定本发明。

[0035] 本发明所述化合物，包含具有治疗各种疾病和病症，尤其是与糖尿病有关的疾病和病症的多肽或多肽衍生物。另外本发明的多肽和多肽衍生物可用于以下用途：治疗胰腺功能障碍、代谢性疾病、体外诱导胰岛增殖用于移植、提高体内移植胰岛的存活率、神经保护或促进神经再生、促进肝再生及抗炎等。

[0036] 如本文所公开的，本发明提供了具有与原 INGAP-PP 和 HIP 肽相比活性和稳定性相当或有所提高的一系列多肽（见表 2 和表 3）。改善了成药性的多肽使得它们更适合于临床开发。本发明还提供了包含本发明中所提到的多肽或多肽衍生物的药学组成成分及使用方法制备的药物，用于治疗代谢性疾病，包含但不限于一型糖尿病（T1D）和二型糖尿病（T2D）。本发明还提供本发明的组合物的合适的配方，包括缓释制剂。

[0037] 如前所述，来源于仓鼠的胰岛新生相关蛋白（INGAP）已经被证实具有促进胰岛新生的作用（见美国专利第 5834590 号）。这里提到的 INGAP-PP 是 INGAP 蛋白的 15 个氨基酸多肽片段，已经被证实具有逆转小鼠糖尿病模型的作用（Rosenberg et al.,Ann.Surg.240:875-884(2004);US publication2006/0009516;see also US publication2008/0171704;Kapur et al.,Islets4:1-9(2012);Chang et al.,Mol.Cell.Endocrinol.335:104-109(2011);Borelli et al.,Regulatory Peptides131:97-102(2005);Dungan et al.,Diabetes/Metabolism Res. Rev.25:558-565(2009);Zha et al.,J.Endocrinol.Invest.35:634-639(2012);Wang et al.,J.Cell.Physiol.224:501-508(2010);Petropavlovskaia et al.,J.Endocrinol.191:65-81(2006);Taylor-Fishwick et al.,Pancreas39:64-70(2010);Rosenberg,Diabetologia39:256-262(1996);Madrid et al.,Regulatory Peptides157:25-31(2009);and Taylor-Fishwick et al.,J.Endocrinol.190:729-737(2006)）。一个被称作人促胰岛肽（HIP）的多肽也同样被证实其功效（Levetan et al.,Endocrin. Pract.14:1075-1083(2008);US publication2011/0280833）。本发明提供的 INGAP-PP 和 HIP 多肽，包括表 2 和表 3 中的多肽，不是 INGAP-PP 或 HIP 母肽，而是表现出较 INGAP-PP 或 HIP 母肽非显而易见的性能提高的多肽。

[0038] 如本文所用，术语“肽”是指两个或两个以上的氨基酸的聚合物。可被修饰成其类似物，衍生物，功能模拟物，伪肽等诸如此类包含至少两个氨基酸的聚合物。术语“肽”的含

义是被本专业领域的技术人员所熟知的。通常情况下，肽是由两个或多个氨基酸由酰胺键链接，酰胺键则由一个氨基酸的氨基与相邻氨基酸的羧基构成。本文所述的多肽可包含天然存在的氨基酸或者非天然存在的氨基酸。

[0039] 如本文所用的术语“衍生物”是指母体分子如多肽的一种变型。例如多肽的衍生物，可以包括相对于多肽而言一个或多个氨基酸被取代的一种变型。还可以包括对于多肽的修饰，包含但不限于非天然存在的氨基酸、D 型氨基酸、氨基和 / 或羧基末端（N- 或 C- 末端）修饰的氨基酸，特别是对于在 N- 末端的氨基和 / 或 C- 末端的羧基的修饰、脂肪酸修饰、肽模拟物和伪肽等本文所公开的诸如此类的修饰物。下面有对于改造修饰示例更详细地描述。

[0040] 如本文所用术语“胰腺功能障碍”是指与正常或健康个体胰腺相比功能下降的一种疾病或病症。胰腺功能受损的典型示例包含但不限于，一型糖尿病、二型糖尿病、成人隐匿性自身免疫糖尿病（LADA）、空腹血糖受损、糖耐量异常、胰岛素不足、空腹胰岛素血症、胰岛素抵抗或空腹胰岛素水平受损或者以上几种情况的组合。下面有对这些疾病和病症情况更详细地讨论。

[0041] 如本文所述，本发明提供了 INGAP-PP 和 HIP。表 1 显示了 INGAP-PP 和 HIP 肽，以及多种被用作本文所述实验阴性对照的杂肽的序列，这些杂肽在比较 INGAP-PP，HIP 与本发明的衍生物的活性研究实验时作为阴性对照。

[0042] 表 1. INGAP-PP 和 HIP 肽以及对照杂肽

[0043]

专利申请的肽编号 / 序列编号	序列
1(INGAP-PP)	H-IGLHDPSHGTLPNGS-OH
2(HIP)	H-IGLHDPTQGTEPNGE-OH
3	H-SHPNGSGTIGLHDPL-OH
4	H-SSTGGGDIPPHLLHN-OH
5	H-DGGTPQPGNWIELTH-OH

[0044] 表 2 展示了包括本发明提供的多种基于 INGAP-PP 的多肽序列。

[0045] 表 2

[0046]

专利申请的肽编号/序列编号	序列
1	H-IGLHDPSHGTLPNGS-OH
6	H-IGLHAPSHGTLPNGS-OH
7	H-IGLHDPSHGTLPAGS-OH
8	H-IGLHAPSHGTLPAGS-OH

[0047]

9	H-IGLHDPSHGTLPAGSK-OH
10	H-IGLHDPSHGTLP(Aib)GS-OH
11	H-IGLHDPSHGTLP(N-methyl-L-Alanine)GS-OH
12	Ac-IGLHDPSHGTLPAGS-OH
13	H-(D-Isoleucine)GLHDPSHGTLPAGS-OH
14	H-(L-NorValine)GLHDPSHGTLPAGS-OH
15	H-(L-NorLeucine)GLHDPSHGTLPAGS-OH
16	Ac-IGLHDPSHGTLPNGS-OH
17	H-(D-Isoleucine)GLHDPSHGTLPNGS-OH
18	H-IGLHDPSHGTEPNGS-OH
19	H-IGLHDPSQGTLPNGS-OH
20	H-IGLHDPTHGTLPNGS-OH
21	H-IGLHDPSHGTLPNGE-OH
22	H-IGLHDPSHGTLPNGK-OH
23	H-IGLHDPSHGTLPAGK-OH
24	H-IGLHDPSHGTEPAGS-OH
25	H-IGLHDPSQGTLPAGS-OH
26	H-IGLHDPTHGTLPAGS-OH
27	H-IGLHDPSHGTLPAGE-OH
28	H-IGLHDPSHGTLPAG-NH_2
29	Ac-IGLHDPSHGTLPAGS-NH_2
30	Ac-IGLHDPSHGTLPAG-NH_2
31	Ac-IGLHDPSHGTLPNGS-NH_2
32	H-IGLHDPSHGTLPNGS-NH_2
33	H-IGLHDPSHGTLPNGSC-OH
34	Ac-IGLHDPSHGTLPNGSC-OH
35	H-IGLHDPSHGTLPNGSC-NH_2
36	Ac-IGLHDPSHGTLPNGSC-NH_2
37	H-IGLHDPSHGTLPNGC-OH
38	Ac-IGLHDPSHGTLPNGC-OH
39	H-IGLHDPSHGTLPNGC-NH_2
40	Ac-IGLHDPSHGTLPNGC-NH_2
41	H-IGLHDPSHGTLPAGS-NH_2
42	H-IGLHDPSHGTLPAGSC-OH
43	Ac-IGLHDPSHGTLPAGSC-OH
44	H-IGLHDPSHGTLPAGSC-NH_2
45	Ac-IGLHDPSHGTLPAGSC-NH_2
46	H-IGLHDPSHGTLPAGC-OH
47	Ac-IGLHDPSHGTLPAGC-OH
48	H-IGLHDPSHGTLPAGC-NH_2
49	Ac-IGLHDPSHGTLPAGC-NH_2
73	H-IGLHDPSHGTLPAG-OH

[0048]

74	H-IGLHDPSHGTLPNG-OH
75	H-Ac-IGLHDPSHGTLPNG-OH
76	H-IGLHDPSHGTLPNG-NH_2
77	Ac-IGLHDPSHGTLPNG-NH_2

[0049] 表 3 展示了本发明提供的多种基于 HIP 的多肽序列。

[0050] 表 3

[0051]

专利申请的肽编号/序列编号	序列
2	H-IGLHDPTQGTEPNGE-OH
50	H-IGLHDPTQGTEPAGE-OH
51	H-IGLHDPTQGTEP(Aib)GE-OH
52	Ac-IGLHDPTQGTEPAGE-OH
53	H-(D-Isoleucine)GLHDPTQGTEPAGE-OH
54	Ac-IGLHDPTQGTEPNGE-OH
55	H-(D-Isoleucine)GLHDPTQGTEPNGE-OH
56	H-IGLHDPTQGTEPNGS-OH
57	H-IGLHDPTQGTEPAGS-OH
58	H-IGLHDPTQGTLPNGE-OH
59	H-IGLHDPTQGTLPAGE-OH
60	Ac-IGLHDPTQGTEPAG-NH_2
61	Ac-IGLHDPTQGTEPNGE-NH_2
62	Ac-IGLHDPTQGTEPAGE-NH_2
63	H-IGLHDPTQGTEPNGE-NH_2
64	H-IGLHDPTQGTEPNGC-OH
65	Ac-IGLHDPTQGTEPNGC-OH
66	H-IGLHDPTQGTEPNGC-NH_2
67	Ac-IGLHDPTQGTEPNGC-NH_2
68	H-IGLHDPTQGTEPAGE-NH_2
69	H-IGLHDPTQGTEPAGC-OH
70	Ac-IGLHDPTQGTEPAGC-OH
71	H-IGLHDPTQGTEPAGC-NH_2
72	Ac-IGLHDPTQGTEPAGC-NH_2

[0052] 如本领域技术人员所公知的，表 1- 表 3 中，多肽序列中，各字母所代表的氨基酸如表 4 所示：

[0053] 表 4

[0054]

中文名称	英文名称	符号与缩写
丙氨酸	Alanine	A 或 Ala

精氨酸	Arginine	R 或 Arg
天冬酰胺	Asparagine	N 或 Asn
天冬氨酸	Aspartic acid	D 或 Asp
半胱氨酸	Cysteine	C 或 Cys
谷氨酰胺	Glutamine	Q 或 Gln
谷氨酸	Glutamic acid	E 或 Glu
甘氨酸	Glycine	G 或 Gly
组氨酸	Histidine	H 或 His
异亮氨酸	Isoleucine	I 或 Ile
亮氨酸	Leucine	L 或 Leu
赖氨酸	Lysine	K 或 Lys
蛋氨酸	Methionine	M 或 Met
苯丙氨酸	Phenylalanine	F 或 Phe
脯氨酸	Proline	P 或 Pro
丝氨酸	Serine	S 或 Ser
苏氨酸	Threonine	T 或 Thr
色氨酸	Tryptophan	W 或 Trp
酪氨酸	Tyrosine	Y 或 Tyr
缬氨酸	Valine	V 或 Val

[0055]

[0056] 优选情况下，本发明提供的基于 INGAP-PP 的多肽序列具有如下通式：R^1-IGLHDPSHGTLPNG$X^1(C)_m$-R^2；

[0057] 其中，m 为 0 或 1；R^1 选自 -H 或 -Ac；R^2 选自 -OH 或 $-NH_2$；

[0058] 并且，当 R^1 为 -H、R^2 为 -OH 且 m 为 0 不成立时，X^1 选自 Serine(S)、Glutamic acid(E)、Cysteine(C) 或 Lysine(K)；

[0059] 当 R^1 为 -H、R^2 为 -OH 且 m 为 0 成立时，X^1 选自 Glutamic acid(E)、Cysteine(C) 或 Lysine(K)。

[0060] 具体的，本发明提供的多肽的一个实施例中，所述多肽具有如下序列：

[0061] H-IGLHDPSHGTLPNGE-OH（序列编号：21）或 H-IGLHDPSHGTLPNGK-OH（序列编号：22）。

[0062] 同时，本发明提供的另一个实施例中，所述多肽具有如下序列：

[0063] Ac-IGLHDPSHGTLPNGS-NH_2（序列编号：31）、

[0064] H-IGLHDPSHGTLPNGS-NH_2（序列编号：32）、

[0065] Ac-IGLHDPSHGTLPNGS-OH（序列编号：13）中的一种或多种。

[0066] 优选情况下，本发明提供的另一个实施例中，所述多肽具有如下序列：

[0067] H-IGLHDPSHGTLPNGC-OH（序列编号：37）、

[0068] Ac-IGLHDPSHGTLPNGC-OH（序列编号：38）、

[0069] H-IGLHDPSHGTLPNGC-NH_2（序列编号：39）、

[0070] Ac-IGLHDPSHGTLPNGC-NH_2（序列编号：40）中的一种或多种。

[0071] 同时，进一步优选情况下，本发明提供的另一个实施例中，所述多肽具有如下序列：

[0072] H-IGLHDPSHGTLPNGSC-OH（序列编号：33）、

[0073] Ac-IGLHDPSHGTLPNGSC-OH（序列编号：34）、

[0074] H-IGLHDPSHGTLPNGSC-NH_2（序列编号：35）、

[0075] Ac-IGLHDPSHGTLPNGSC-NH_2（序列编号：36）中的一种或多种。

[0076] 同时，本发明提供的另一种多肽，具有如下序列：

[0077] H-IGLHDPSHGTLPNG-OH（序列编号：74）、

[0078] Ac-IGLHDPSHGTLPNG-OH（序列编号：75）、

[0079] H-IGLHDPSHGTLPNG-NH_2（序列编号：76）、

[0080] Ac-IGLHDPSHGTLPNG-NH_2（序列编号：77）中的一种或多种。

[0081] 如本文所述，本发明提供的多肽，可以是由标准的 20 个天然存在的氨基酸构成，也可以由其他天然和 / 或非天然存在的氨基酸构成。如本文所述的多肽一般使用常规术语。例如，某些肽被指定 H-XXX-OH，指的是未被修饰的氨基（H-）或羧基（-OH）末端，这是被本领域技术人员所熟知的。氨基酸序列同样也可以表示氨基或羧基末端未被修饰。本文所描述的多肽，除非指明 N 端或 C- 末端具有特定的修饰，否则一个包含特定氨基酸序列的多肽，则包括不加修饰的和修饰的氨基和 / 或羧基末端，这是被本领域的专业技术人员所熟知的。一个特定的氨基酸序列的多肽可以包括修饰的氨基酸和 / 或额外的氨基酸，除非 N- 和 / 或 C- 末端包含妨碍进一步添加氨基酸的修饰。这样的修改包括，例如，N- 末端的乙酰化和 / 或 C- 末端的酰胺化。

[0082] 如本文所述，本发明的多肽可以通过改造修饰，形成多肽衍生物。正如本领域技术人员所熟知的，可以对多肽进行各种改造修饰。典型的改造修饰包含但不限于，N- 末端乙酰化、C- 末端酰胺化、D 型氨基酸替换、非天然氨基酸替换、脂肪酸修饰或以上各种修饰改造的组合。本发明包括任何被众所周知的多肽的修饰改造。例如，多肽衍生物可以包括对于多肽的化学修饰，如烷基化、酰基化、氨基甲酰化、碘化或其任何产生多肽衍生物的改造修饰。多肽的改造修饰可以包含改造过的氨基酸，例如，羟基脯氨酸或羧基谷氨酸，并且可以包括以非肽键相连的氨基酸。

[0083] 本领域技术人员熟知的各种方法均可在本发明的多肽或其衍生物的制备中加以利用(参见，如:Protein Engineering:A practical approach(IRL Press1992);Bodanszky,Principles of Peptide Synthesis(Springer-Verlag1984),Lloyd-Williams et al.,Tetrahedron49:11065-11133(1993);Kent,Ann.Rev.Biochem.57:957-989(1988);Merrifield,J.Am.Chem.Soc.,85:2149－2154(1963);Merrifield,Methods Enzymol.289:3-13(1997))。一种应用最多的方法是通过众所周知的化学合成多肽的制备方法来制备本发明的多肽或其衍生物。化学合成方法对于引入修饰的氨基酸和/或N-和/或C-末端修饰的非天然存在的氨基酸的是特别有用的。例如，化学合成方法制备本发明的多肽或其衍生物的优点是，可根据需要用D型氨基酸取代L型氨基酸。例如一个或多个D型氨基酸中的掺入，可以赋予多肽更强的体内外稳定性，尤其是在体内稳定性，因为内源性的内切蛋白酶通常对含有D型氨基酸的肽无效。本文中具有D型氨基酸的肽也可使用相应氨基酸的公知单字母代码的小写字母来命名。

[0084] 如果需要的话，可以对本发明的多肽的无侧链基团的一个或多个氨基酸进行侧链修饰或者引入氨基酸衍生物。多肽的可反应基团的选择性修饰可以赋予理想的特性。这样的修饰改造在某种程度上是由所需求的多肽性质而进行选择确定的。例如，多肽可以有自由的羧基末端，或可以进行C-末端的酰胺化修饰(见表2和3)。同样地，多肽可以有自由的氨基末端，或者可以进行N-末端的乙酰化修饰(表2和表3)。此外，本发明的多肽可任选对C-末端进行酰胺化和N-末端的乙酰化修饰。可以对多肽进行其它任何属于修饰改造含义的的N-和/或C-末端修饰改造。

[0085] 对于本发明的多肽的其它修饰改造可采用非天然氨基酸对多肽中的天然氨基酸进行取代，非天然氨基酸包含但不限于，2-氨基脂肪酸(Aad)、3-氨基脂肪酸(βAad)、β-丙氨酸，β-氨基丙酸(βAla)、2-氨基丁酸(Abu)、4-氨基丁酸、哌啶羧酸(4Abu)、6-氨基己酸(Acp)、2-氨基庚酸(Ahe)、2-氨基异丁酸(Aib)、3-氨基异丁酸(βAib)、2-氨基庚二酸(Apm)、2,4-二氨基丁酸(Dbu)、锁链素(Des)，2,2'-二氨基庚二酸(Dpm)，2,3-二氨基丙酸(Dpr)，N-乙基甘氨酸(EtGly)、N-乙基天冬酰胺(EtAsn)，羟赖氨酸(Hyl)、异羟赖氨酸(aHyl)、3-羟脯氨酸(3Hyp)、4-羟基脯氨酸(4Hyp)、异锁链素(Ide)、异-异亮氨酸(aIle)、N-甲基甘氨酸(MeGly)、N-甲基异亮氨酸(MeIle)、6-N-甲基赖氨酸(MeLys)、N-甲基缬氨酸(MeVal)、正缬氨酸(Nva)、正亮氨酸(Nle)和鸟氨酸(Orn)。当然，所有被修饰改造的α-氨基酸可以被相应的β-，γ-或ω-氨基羧酸所取代。

[0086] 另一种修饰改造是对本发明的多肽进行脂肪酸修饰。因此，可以对本发明的多肽进行包括C2，C4，C6，C8，C10，C12，C14，C16，C18，C20或更长碳链的脂肪族基团酰化。多肽也可利用异戊二烯化和/或磷脂酰肌醇(PI)等方式进行修饰改造。其它氨基酸，多肽或蛋白质的修饰对于本技术领域的技术人员是熟知的(参见，例如:Glazer et al.,Chemical modification of proteins:Selected methods and analytical procedures,Elsevier Biomedical Press,Amsterdam(1975))

[0087] 本发明还包括这里所公开的多肽的模拟物，也被称为“模拟肽”。模拟物包含模拟多肽功能的化学制品。例如，如果一个多肽包含两个具有功能活性的带电的化学部分，一个模拟物将两个带电荷的化学基团按空间取向模仿摆放并约束结构，因而能够保持带电荷的化学物质的三维结构并保留其功能活性。因此，一个本发明的多肽的模拟空间官能团，就会

使得多肽的功能活性得以保留。

[0088] 模拟物或模拟肽可以包含化学修饰的多肽，包括非天然氨基酸在内的肽样分子、拟肽及其类似物、以及具有上述多肽功能活性的模拟肽的衍生物(参见，例如，Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery5th ed.,vols.1to3(ed.M.E.Wolff;Wiley Interscience1995))。识别模拟肽的方法是被本领域中的技术人员所熟知的，例如，从含有潜在模拟肽的数据库中进行筛选(Allen et al.,Acta Crystallogr.Section B,35:2331(1979))or using molecular modeling(Rusinko et al.,J.Chem.Inf.Comput.Sci.29:251(1989))。模拟物或模拟肽可以提供比如更高的稳定性等的理想性能，例如当受试者口服给药，稳定性的提高对于药物通过消化道的过程是相当有利的。

[0089] 被本领域所熟知的各种模拟物或模拟肽，包含但不限于含有受限氨基酸的肽样分子、模拟肽的二级结构的非肽分子、或酰胺键的电子等排体。含有受限非天然氨基酸的模拟物或模拟肽，包括但不限于，α-甲基化的氨基酸、α-,α-二烷基甘氨酸或α-氨基环烷羧酸、$^{N}\alpha-^{C}\alpha$-环化氨基酸、$^{N}\alpha$-甲基化氨基酸、β-或γ-氨基环烷羧酸、α,β-不饱和氨基酸、β,β-二甲基或β-甲基氨基酸，β-取代的-2,3-甲桥氨基酸、N--$^{C}\delta$或$^{C}\delta-^{C}\delta$-环化氨基酸、被取代的脯氨酸或其他氨基酸模拟物。模仿多肽二级结构的模拟物或模拟肽可以包含但不限于，非肽类β-转角模拟、γ-转角模拟或螺旋结构模拟，以上每一种模拟在本技术领域是众所周知的。作为非限制性的实施例，模拟肽也可以是含有酰胺键等排体的多肽样分子：比如反向倒转修饰、减少酰胺键、亚甲基硫醚或亚甲基-亚砜键、亚甲基醚键、烯键、硫代酰胺键、反式烯烃或氟烯烃键、1,5-二取代四唑环、酮亚甲基或氟酮甲基酮键或其他酰胺键电子等排体。本发明的多肽可以使用这些和其他的模拟物或模拟肽，这是被本领域技术人员所熟知的。

[0090] 本发明还提供本发明中多肽的伪肽衍生物。正如本领域中的人员所熟知的，伪肽是多肽的肽键(酰胺键)被修改成类酰胺键(参见，例如，Cudic and Stawikowski,Mini-Rev Organic Chem.4:268-280(2007);Anderson,in Neuropeptide Protocols,Brent and Carvell,eds.73:49-60(1996))。典型的类酰胺键包括但不限于，磺胺基肽类，膦酰基肽类，缩酚酸类和缩肽类，低聚脲，氮杂肽和拟肽(参见Cudic and Stawikowski,supra,2007)以及亚甲基氨基、硫醚、羟乙基衍生物及其类似物(Anderson,supra,1996)。

[0091] 本发明的多肽或其衍生物可以使用本领域技术人员所熟知的方法，包括众所周知的本文所述化学合成的方法。因此，当多肽或其衍生物包含一个或多个非标准氨基酸，他们极有可能是通过化学合成法制备而来。除了使用化学合成的方法制备多肽或其衍生物，还可以通过编码核酸表达来制备。这对于制备只含有天然氨基酸的多肽或其衍生物是特别有用的，在这种情况下可以使用众所周知的核酸编码多肽序列的制备方法(参见Sambrook et al.,Molecular Cloning:A Laboratory Manual,Third Ed.,Cold Spring Harbor Laboratory,New York(2001);Ausubel et al.,Current Protocols in Molecular Biology,John Wiley and Sons,Baltimore,MD(1999))。通常，这样的核酸是通过在合适的宿主生物体如细菌、酵母菌、哺乳动物或者昆虫细胞等进行重组表达的。对于本发明的多肽或其衍生物的大规模生产，通过细菌进行生产是特别有益的。肽可以在生物体中表达，并通过公知的纯化技术进行纯化。

[0092] 编码本发明的多肽或其衍生物的核酸分子可以被克隆到合适的载体，尤其是表达

载体，从而在宿主细胞中进行表达，或者利用体外转录 / 翻译反应，从而提供了一种获取大量多肽或其衍生物的方法。所述重组肽可以视需要生产带标记的融合体，如 His 标记，以便于识别和纯化。合适的载体、宿主细胞、体外转录 / 翻译系统和标记序列是被该领域的技术人员所熟知的并且有市售商品。

[0093] 在多顺反子表达载体中，多肽或其衍生物可以表达为单一拷贝，或视需要表达为具有肽序列多重拷贝的单一开放读码框。在此情况下，可通过表达含有肽序列多重拷贝的开放读码框得到肽，从而表达为具有此肽多重拷贝的多肽。此多肽可经翻译后处理得到本发明的多肽或其衍生物，比如，通过工程设计肽拷贝间的适当蛋白水解切割位点，将多肽切割为本发明的多肽或其衍生物。尽管此重组方法一般用于仅含有天然氨基酸的多肽或其衍生物，但此方法用于经适当工程设计的宿主表达非天然氨基酸也是可以理解的。此外，重组表达的多肽或其衍生物可采用已知的化学修饰方法选择性修饰引入需要的氨基酸，或 N 端和 / 或 C 端修饰。(参见 Glazer et al., supra, 1975)。

[0094] 因此，本发明另外提供了核酸编码的多肽或其衍生物。此核酸包括，如氨基酸序列序列编号 S:6-73 中任一序列的核酸编码。因此，如本文所公开的，当多肽含有一个或多个标准氨基酸可替换位点时，可用已知方法从表达载体中表达多肽。

[0095] 本发明的多肽或其衍生物包括本文所公开的序列或其衍生物。在包括氨基酸序列或肽在内的多肽或其衍生物的情况下，此多肽或其衍生物的长度一般为等于或少于 20 个氨基酸。例如，多肽或其衍生物的长度为等于或少于 19 个氨基酸，等于或少于 18 个氨基酸，等于或少于 17 个氨基酸。因此，如本文所公开的，本发明的多肽或其衍生物的长度有 10 个氨基酸、11 个氨基酸、12 个氨基酸、13 个氨基酸、14 个氨基酸(见多肽 73、74)、15 个氨基酸、16 个氨基酸、17 个氨基酸、18 个氨基酸、19 个氨基酸或 20 个氨基酸。在较短肽的情况下，本领域的技术人员可以理解为较短肽包含所公开的多肽或其衍生物的一个片断，例如，公开的多肽或其衍生物的 N 端和 / 或 C 端删掉一个或多个氨基酸，仍保持如本文所公开的功能性活性，包括但不限于本发明的多肽或其衍生物的一个或多个生物活性。此外，只要多肽或其衍生物的功能性活性仍然存在，也可以理解为包括较长肽链的肽。因此，多肽或其衍生物的长度可以为少于 150 个残基、少于 130 个残基、少于 120 个残基、少于 110 个残基、少于 100 个残基、少于 90 个残基、少于 80 个残基、少于 70 个残基、少于 60 个残基、少于 50 个残基、少于 45 个残基、少于 40 个残基、少于 35 个残基、少于 30 个残基、少于 25 个残基、少于 24 个残基、少于 23 个残基、少于 22 个残基、少于 21 个残基、少于 20 个残基、少于 19 个残基、少于 18 个残基、或少于 17 个残基。本领域的技术人员可以理解为本发明的多肽或其衍生物包括在较原生全长蛋白较长的已知序列中发现的一段序列，本发明的多肽或其衍生物不包括此原生全长序列。

[0096] 本发明还提供了发明的多肽或其衍生物的可药用盐的类型，这些盐类型是本领域的技术人员所熟知的。尤其有用的盐类型是醋酸盐和盐酸盐。此外，本领域的技术人员可以理解为盐类型包括可获取的许多适合盐类型中的任一种。本发明的多肽或其衍生物含有一个酸根或碱根，可以用来形成可药用的盐(例如参见 Berge et al., J. Pharm. Sci. 1977, 66, 1-19; and Handbook of Pharmaceutical Salts, Properties, and Use; Stahl and Wermuth, Ed.; Wiley-VCH and VHCA: Zurich, Switzerland, 2002)。

[0097] 制备可药用盐的适合的酸包括，但不限于：醋酸、2, 2- 二氯醋酸、酰化氨基酸、己

二酸、藻酸、抗坏血酸、L- 天冬氨酸、苯磺酸、苯甲酸、4 一乙酰氨基苯甲酸、硼酸、(+)- 樟脑酸、樟脑磺酸、(+)-(1S)- 樟脑 -10- 磺酸、癸酸、正己酸、辛酸、肉桂酸、柠檬酸、环拉酸、环己基氨基磺酸、十二烷基硫酸、1,2- 乙二磺酸、乙磺酸、2- 羟乙基磺酸、甲酸、富马酸、半乳糖二酸、龙胆酸、葡庚糖酸、D- 葡萄糖酸、D- 葡萄糖醛酸、L- 谷氨酸、α - 酮戊二酸、甘醇酸、马尿素、氢溴酸、盐酸、氢碘酸、(+)-L- 乳酸、(±)-DL- 乳酸、乳糖酸、月桂酸、马来酸、(一)-L- 苹果酸、丙二酸、(±)-DL- 苦杏仁酸、甲磺酸、2- 萘磺酸、1,5- 萘二磺酸、1- 羟基 -2- 萘甲酸、烟酸、硝酸、油酸、乳清酸、草酸、棕榈酸、扑酸、高氯酸、磷酸、L- 焦谷氨酸、葡糖二酸、水杨酸、4- 氨基水杨酸、癸二酸、硬脂酸、琥珀酸、硫酸、鞣酸、L- 酒石酸、硫氰酸、对甲苯磺酸、十一烯酸和戊酸。

[0098] 制备可药用盐的适合的碱包括，但不限于：无机碱，如氢氧化镁、氢氧化钙、氢氧化钾、氢氧化锌、或氢氧化钠；和有机碱，如伯、仲、叔、和丁、脂肪族和芳香族胺，包括：L- 精氨酸、苯乙苄胺、二苄乙二胺、胆碱、二甲胺乙醇、二乙醇胺、二乙胺、二甲胺、丙胺、二异丙胺、二乙氨基乙醇、乙醇胺、乙胺、乙二胺、异丙胺、葡甲胺、海巴明、1H- 咪唑、L- 赖氨酸、吗啡林、4-(2- 羟乙基）吗啉、甲胺、哌啶、哌嗪、丙胺、吡咯烷、1-(2- 羟乙基）吡咯烷、吡啶、奎宁环、喹啉、异喹啉、仲胺、三乙醇胺、三甲胺、三乙胺、N- 甲基 -D- 葡萄糖胺、三羟甲基氨基甲烷、和氨丁三醇。

[0099] 本发明的多肽或其衍生物可与药用载体按配方制造可被人或哺乳动物个体服用的药物组合物。药用载体可能是：例如，水、磷酸钠缓冲液、磷酸缓冲盐溶液、生理盐水或林格溶液或其他生理缓冲盐水、或其他溶液或溶媒，如乙二醇、甘油、油脂如橄榄油或可注射的有机酯。

[0100] 药用载体可能包括生理上可接受的化合物，例如，稳定或提高本发明的多肽或其衍生物的吸收的化合物。这些生理上可接受的化合物包括，如，葡萄糖、蔗糖或葡聚糖等的碳水化合物；抗坏血酸或谷胱甘肽等的抗氧剂；可破坏微生物膜的乙二胺四乙酸（EDTA）等的螯合剂；钙或镁等二价金属离子；低分子量蛋白；或其他稳定剂或辅料。本领域的技术人员应该了解根据需要选择药用载体，包括生理上可接受的化合物，例如，依据组合物的给药途径进行选择。适合的载体和它们的配方是本领域的技术人员所熟知的（例如参见 Remington:The Science and Practice of Pharmacy,19th ed.,ed.A.R.Gennaro,Mack Publishing Company,Easton,PA(1995);and Remington's Pharmaceutical Sciences,18th ed.,Mack Publishing Company,Easton PA(1990)）。经典的比如，适量的药用盐用在配方中调节制剂的等渗。溶液的 pH 一般在 5-8，比如 7-7.5。

[0101] 药用载体是本领域的技术人员所熟知的。这些最经典的是人用药的标准载体，包括如无菌水、生理盐水和上述的生理 pH 的缓冲溶液等的溶液。制药组合物可能包括载体、增稠剂、稀释剂、缓冲液、防腐剂、表面活性剂、和增加本发明的多肽或其衍生物分子选择可能的物质。制药组合物还可能包括一种或多种活性成分，比如抗菌剂、抗炎剂、麻醉剂和其他类似成分。

[0102] 进一步的载体包括缓释或控释制剂，比如与多肽或其衍生物以共价或非共价结合的固体疏水聚合物的半透基质，这些基质以成型制品的形式使用，如膜、脂质体、非脂质体的脂质复合物或微粒体等类似材料，或其它本领域技术人员熟知的生物相容性聚合物（举例参见 U.S.Patent No.6,824,822and8,329,648）。由磷脂或其

他脂类形成的脂质体是无毒的、生理上可接受和降解的，且制备和服用都相对简单(Gregoriadis,Liposome Technology,Vol.1(CRC Press,Boca Raton Fla.,1984)。各种给药方式是本领域技术人员所熟知的(Langer,Nature392(Suppl):5-10(1998);Langer et al.,Nature428:487-492(2004))。依据情况特定的载体，这对本领域的技术人员是显而易见的，比如说根据给药途径和给药组成的浓度选择。

[0103] 制药组合物根据局部或系统治疗的需要和治疗部位，可以有许多给药方式。可以理解为多种给药途径可用于发明的多肽或其衍生物。这些给药途径包括系统和局部给药，并且包括，且不限于静脉注射、腹腔注射、肌肉注射、皮下注射、透皮给药、经皮扩散或电泳、吸入给药、口服给药、局部注射、腔道给药、和缓释传输装置，包括局部植入缓释装置，如生物可降解或储蓄池式植入体。给药可以是局部的(包括眼部、阴道、直肠、鼻内)、口服的，吸入式的、非肠道的，例如静脉点滴、皮下注射、腹腔注射或肌肉注射。

[0104] 非肠道给药的制剂包括无菌水溶液或非水溶液、混悬剂和乳剂。非水溶液的实例有丙二醇、聚乙二醇、橄榄油等植物油、和可注射的有机酯，如油酸乙酯。水性载体有包括生理盐水和缓冲溶媒在内的水剂、乙醇 / 水剂、乳剂或混悬剂。肠外溶媒包括氯化钠溶液、林格葡萄糖、葡萄糖氯化钠、林格乳酸盐，或不挥发油类。静脉注射溶媒包括流体、营养补充剂、电解质补充剂(如林格葡萄糖)等。防腐剂和其它添加剂可能为，例如抗菌剂、抗氧剂、螯合剂，和堕性气体等。胰岛素是熟知的肽类治疗药物，因此，胰岛素给药的方法特别适合本发明的多肽或其衍生物的给药，这包括但不限于注射器、注射笔、输液泵、吸入器、口腔喷雾、片剂等。

[0105] 本发明的多肽或其衍生物的适宜剂量指南在文献 Dungan et al.,Diabetes Metab.Res.Rev.,25:558-565(2009) 中有提出。特别是，INGAP 人体临床试验为本发明的多肽或其衍生物提供了一个适合的可能剂量。由于本发明的多肽或其衍生物呈现出比母肽 INGAP 改进的药效(见实施例)，因此本发明的多肽或其衍生物的有效给药剂量低于 INGAP。

[0106] 如本文所述，本发明的多肽或其衍生物对治疗特定的疾病或病症特别有用。例如，本发明的这些多肽或其衍生物可以用于治疗胰腺功能受损、代谢功能紊乱、促进神经保护和神经再生、促进肝脏再生或抑制炎症。因此，本发明还提供了治疗胰腺功能受损、代谢功能紊乱、促进神经保护和神经再生、促进肝脏再生或抑制炎症的新的组合物。本发明的多肽或其衍生物在这些治疗领域的用途详述如下。

[0107] 如果需要，本发明的多肽或其衍生物可以以复方给药。例如，两个或多个本发明的多肽或其衍生物的复方，包括本发明公开的和表 2 和 3 中列出的，都可以按本文公开的方法给药。这一复方可以分别制剂或合并在同一制剂里联合给药，这根据给药的多肽性质和本发明的多肽或其衍生物的制剂相容性决定。另外，两个或多个本发明的多肽或其衍生物可以按顺序给药，包括在同一天或交错在不同天。

[0108] 此外，本领域的技术人员可以理解为，本发明的多肽或其衍生物在某一治疗条件下，可以根据需要与其他治疗药物一起给药。例如，在治疗糖尿病或相关疾病的情况下，其他抗糖尿病的药物可以与本发明的多肽或其衍生物一起给药。可以理解为，这种联合给药可以是以分别独立的制剂或组成在同一复方制剂中联合给药，这根据给药的药物性质和本发明的多肽或其衍生物的制剂相容性决定。另外，联合给药可以是按顺序给药，包括在同一天或交错在不同天。本领域的技术人员应理解适宜的给药方案是应适于本发明的多肽或其

衍生物与其它药物或治疗成分的有效给药。

[0109] 在治疗糖尿病或相关疾病的情况下，适用于抗糖尿病的药物包括，但不限于，胰岛素、普兰林肽、GLP-1 受体激动剂、口服抗糖尿病药物等。抗糖尿病药物的实例包括，但不限于胰岛素，氯茴苯酸类，例如，瑞格列奈（Prandin™）和那格列奈（Starlix™）；磺脲类药物，例如，格列吡嗪（Glucotrol™）、格列美脲（Amaryl™）和格列本脲（DiaBeta™、Glynase™）；二肽基肽酶 -4 （DPP-4）抑制剂，例如，沙格列汀（Onglyza™）、西格列汀（Januvia™），和利拉利汀（Tradjenta™）；双胍类，例如，二甲双胍（Fortamet™、Glucophage™）；噻唑烷二酮类，例如，罗格列酮（Avandia™）及吡格列酮（Actos™）；α - 葡萄糖苷酶抑制剂，例如，阿卡波糖（Precose™）和米格列醇（Glyset™）；胰岛淀粉样多肽类似物，例如，普兰林肽（Symlin™）；肠促胰岛素类似物，例如，艾塞那肽（Byetta™）和利拉鲁肽（Victoza™）。因此，本发明用于治疗糖尿病或相关疾病的用途和方法中，一种抗糖尿病药物可以于本发明的多肽或其衍生物一起给药。

[0110] 一型糖尿病和隐匿性自身免疫性糖尿病（LADA）都是自身免疫性疾病。因此，在受试者为一型糖尿病或 LADA 患者的情况下，其它的治疗药物可能与本发明的多肽或其衍生物一起服用，比如，免疫调节剂。免疫调节剂可用于阻滞或降低自身免疫相关的对新生胰岛或 β 细胞的破坏。免疫调节剂的实例包括，但不限于，西罗莫司（雷帕霉素，Rapamune™）、他克莫司（FK506，Prograf™）、利索茶碱、抗胸腺细胞球蛋白、巴利昔单抗（Simulect™）、DiaPep277™ 等。

[0111] 如本文所述，本发明的多肽或其衍生物展示出超出母肽 INGAP-PP 和 HIP 多肽意料之外的特性。如本文所公开的，本发明的多肽或其衍生物在培养基和血浆中展示出高于母肽的稳定性（见实施例 3）。本发明的多肽或其衍生物在改善血糖、空腹胰岛素方面显著有效（见实施例 4）。进而，本发明的多肽或其衍生物展示显著提高刺激原生胰岛细胞分泌胰岛素的能力（见实施例 5）。此外，本发明的多肽或其衍生物显示出更优越的药代动力学属性（见实施例 6）。本发明的多肽或其衍生物的大量意外和优异的属性表明本发明的多肽或其衍生物，包括表 2 和 3 中列出的不是母肽 INGAP-PP 和 HIP 的多肽或其衍生物，可以用于治疗用途。

[0112] 在另一个实施例中，本发明提供了包括服用本发明的多肽或其衍生物在内的一种改善胰岛功能受损相关症状的方法。胰岛功能受损相关的疾病或状态包括，但不限于，一型糖尿病、二型糖尿病、隐匿性自身免疫性糖尿病（LADA）、空腹血糖受损、糖耐量异常、胰岛素不足、空腹胰岛素血症、胰岛素抵抗、或空腹胰岛素水平受损，或它们的综合症状。胰岛为调节血糖产生胰岛素。在如一型、二型和 LADA 糖尿病的情况下，机体对血糖不能产生正常响应，导致很多相关疾病（见 Cecil Textbook of Medicine, Bennett and Plum, eds., 20th ed., W.B. Saunders, Philadelphia (1996); Harrison's Principles of Internal Medicine, Fauci et al., eds., 14th ed., McGraw-Hill, New York (1998)）。本领域的技术人员可以理解为与胰岛功能降低相关的状态都包括在胰岛功能受损的意思范围内。

[0113] 糖尿病是严重的代谢疾病，是指存在长期升高的血糖水平（高血糖）。这种高血糖状态是肽类激素——胰岛素的相对或绝对缺乏导致的。胰岛素是由胰岛的 β 细胞产生和分泌的。胰岛素能促进葡萄糖的利用，蛋白质的合成，以及碳水化合物能源的糖原的形成和储

存。葡萄糖以糖原的形式被存储在体内，是一种聚合的葡萄糖的形式，它可转化成葡萄糖，以满足代谢的需要。在正常情况下，胰岛素分泌有基础水平和葡萄糖刺激后的增强水平，都是通过将葡萄糖转化成糖原，以保持代谢平衡。

[0114] 糖尿病包括几个不同的高血糖状态。这些状态包括一型(胰岛素依赖型糖尿病或IDDM)和二型糖尿病(非胰岛素依赖型糖尿病或NIDDM)。一型糖尿病个体的高血糖与胰岛素的缺乏、减少或不存在相关，胰岛素不足以维持血糖在生理范围之内。一型糖尿病的治疗包括胰岛素替代给药，一般为非肠道给药。二型糖尿病个体的高血糖起初与胰岛素的正常或升高水平有关；这些人由于外周组织和肝脏的胰岛素抵抗状态而无法维持代谢平衡，或随着病情的进展，负责分泌胰岛素的胰岛 β 细胞逐步恶化。因此，二型糖尿病的初始治疗会是基于饮食和生活习惯改变，增加如磺脲类口服降糖药的治疗。然而，也经常需要胰岛素治疗，特别是在疾病后期，以便控制高血糖，并最大限度地减少并发症。

[0115] 本发明还提供一种方法，用于改善代谢疾病相关的受试者的体征或症状，这些受试者包括服用本发明的多肽或其衍生物的受试者。这种代谢疾病包括，但不限于，糖尿病，糖尿病前期或代谢综合征。

[0116] 糖尿病前期是一种血糖水平高于正常，但还没有高到足以被列为二型糖尿病的状态。代谢综合征是对一组一起出现的并增加冠状动脉疾病、中风和二型糖尿病风险的风险因子的名称。代谢综合征的两个最重要的危险因素是身体中部和上部的超重(向心性肥胖)(所谓的“苹果形”)和胰岛素抵抗，即身体使用胰岛素比正常效率低。身体需要胰岛素来控制糖量。因此，血糖和脂肪水平升高。如果受试者有以下三个或三个以上的症状，认为患有代谢综合征：血压等于或高于130/85mmHg；空腹血糖(葡萄糖)等于或高于100mg/dL；大腰围(腰部周围的长度)(男性，40英寸或以上；女性，35英寸或以上)；低HDL胆固醇(男性，40mg/dL以下；女性，50mg/dL以下)；三酸甘油酯等于或高于150mg/dL。

[0117] 本领域技术人员将很容易理解，并可以很容易地确定适当的指标，以表明本发明的多肽或其衍生物在改善胰岛功能障碍和/或代谢性疾病相关病症的相关体征或症状的有效性。例如，一型和二型糖尿病都可以用一些已知的诊断和/或监测疾病病程，和/或监测治疗的有效性的参数来鉴定。这些参数包括，但不限于，血糖水平、空腹血糖水平、口服糖耐量试验(OGTT)、胰岛素水平、空腹胰岛素水平、糖化血红蛋白水平等。

[0118] 因此，本发明的多肽或其衍生物可以用于改善与胰腺功能障碍和/或代谢性疾病的一个或多个体征或症状。在糖尿病的情况下，这些体征或症状包括，但不限于，葡萄糖耐量受损、血糖升高(特别是高于200mg/dl)、空腹血糖升高(特别是高于140mg/dl)、餐后血糖(进食后)升高、胰岛素不足、空腹胰岛素血症、胰岛素抵抗、空腹胰岛素水平受损、糖化血红蛋白升高(HbA1c)等。这些体征或症状是本领域的技术人员众所周知的，并可以由本领域的技术人员常规测定的，包括可通过医学实验室进行测试。在本发明的一个实施例中，本发明提供了一种方法，降低疾病(如糖尿病)状态相关的体征或症状，例如，一种通过服用本发明的多肽或其衍生物而降低受损的糖耐量、血糖，特别是日均血糖浓度、空腹血糖、餐后血糖(进食后)、胰岛素不足、空腹胰岛素血症、胰岛素抵抗、糖化血红蛋白(HbA1c)、精氨酸刺激的C肽、糖基化终产物(AGE)、或它们的组合的方法。治疗糖尿病药物有效性的监测方法是本技术领域的技术人员众所周知的(举例见Cecil Textbook of Medicine,supra;Harrison’s Principles of Internal Medicine supra,Dungan et

al.,Diabetes/Metabolism Res.Rev.25:558-565(2009);U.S.Patent No.8,329,648)。因此,本发明提供了一种通过服用本发明的多肽或其衍生物而降低受损的糖耐量、血糖,特别是日均血糖浓度、空腹血糖、餐后(进食后)血糖、胰岛素不足、空腹胰岛素血症、胰岛素抵抗、糖化血红蛋白(HbA1c)、精氨酸刺激的C肽、糖基化终产物(AGE)、或它们的组合的方法。

[0119] 正如本文所公开的,本发明的多肽或其衍生物对刺激胰岛细胞的生长和诱导的β-细胞簇特别有效。本发明示例的多肽或其衍生物表现出改善胰岛新生型的效果超过母肽。因此,本发明还提供了一个本发明的多肽或其衍生物体外接触胰岛细胞,从而刺激胰岛细胞增殖的方法,从而胰岛细胞的增殖受到刺激。在另一个实施例中,本发明提供了一种产生胰岛细胞群的方法,包括本发明的多肽或其衍生物体外接触一个或多个胰岛细胞,由此一个或多个胰岛细胞受到刺激,并产生胰岛细胞群。本发明的方法可用于移植胰岛的离体胰岛诱导,扩展和增殖,以及提高胰岛移植的在体存活率。因此,本发明提供了使用本发明的多肽或其衍生物外接触胰岛细胞,增加胰岛细胞数量,并选择性使用细胞用于移植的体外胰岛扩展和增殖的方法。本发明还提供了一种方法,通过给受试者服用本发明的多肽或其衍生物而提高移植胰岛的在体存活率,此处受试者是胰岛细胞移植的接收者。因此,本发明的多肽或其衍生物可以采用在体和离体方法产生用于移植的细胞,以及增加移植胰岛细胞的存活率。这些移植细胞的获取途径有利用本发明的多肽或其衍生物的在体方法,或从传统的胰岛细胞移植来源,如尸体。

[0120] 在特定实施例中,一个或多个胰岛细胞可以获自受试者。可以通过刺激胰岛细胞增殖产生胰岛细胞群,用于,例如,移植入受试者和恢复胰岛功能。因此,本发明的方法可以进一步包括将胰岛细胞移植到受试者内的步骤。在特定实施例中,一个或多个胰岛细胞可以从受试者移植的胰岛细胞中获得。或者,要移植的胰岛细胞可以从具有兼容的血型的合适捐献者获得。

[0121] 胰岛移植此前已有描述(举例见Shapiro et al.,N.Engl.J.Med.343:230-238(2000))。胰岛细胞可以获自受试者,或合适的捐献者,包括尸体的胰岛细胞。一般来说,移植受体需要服用免疫抑制药物(举例见此文描述的免疫抑制药物),以降低胰岛细胞的排斥反应。使用合适的免疫抑制药物,在器官或细胞移植领域中是众所周知的。因此,采用本发明的方法,刺激胰岛细胞可以体外增殖胰岛细胞群,这样的细胞群可以使用众所周知的胰岛细胞移植方法移植到受试者体内。此外,本发明的多肽或其衍生物可用于胰腺导管细胞诱导分化成胰岛细胞,特别是β-细胞(见Yatoh et al.,Diabetes56:1802-1809(2007))。因此,本发明进一步提供了通过胰腺导管细胞接触本发明的多肽或其衍生物,将胰腺导管细胞分化成胰岛细胞的方法。采用此方法,体外接触胰腺导管细胞时,如本文所述,胰腺导管细胞被分化,并用于移植。

[0122] 本发明还进一步提供了一种增加受试者体内胰岛细胞的数量的方法,包括给受试者服用本发明的多肽或其衍生物。服用本发明的多肽或其衍生物这样的方法可用于治疗手段,以增加个体内的胰岛细胞,而不需要从个体内或适合的捐献者采集胰岛细胞,且不需要通过复杂的移植方法植入受试者体内,以及避免如果捐献的细胞不是来自患者自身,而需要定期使用免疫抑制剂。

[0123] 如前所述,INGAP肽已被证明在糖尿病模型的小鼠上,可以改善神经功能,增强神经再生(Tam et al.,FASEB J.18:1767-1769(2004))。INGAP肽还显示出

可以提高背根神经节神经元的神经突触生长(Tam et al.,Biochem.Biophys.Res.Communic.291:649-654(2002;Tam et al.,NeuroReport17:189-193(2006))。如本文所述,本发明的多肽或其衍生物比INGAP母肽更有活性,并预计与INGAP活性类似但活性更强。因此,本发明提供了一种方法,通过神经细胞接触本发明的多肽或其衍生物,促进神经保护或神经再生,从而刺激神经保护作用和/或神经再生。与神经细胞的接触可以发生在体内或体外。在体内与神经细胞接触的情况下,受试者服用本发明的多肽或其衍生物的同时可以进行其它本文所公开的治疗方法。在体外接触神经细胞的情况下,离体应用可用于神经保护细胞,且细胞再给予受试者。这些通过移植引入神经细胞的方法是本领域技术人员众所周知的(举例见Dunnett et al.,Brit.Med.Bulletin53:757-776(1997))。这些移植已被用于治疗神经系统疾病,如帕金森氏症和亨廷顿氏病。

[0124] HIP肽已有描述可加速肝脏再生(Lieu et al.,Hepatol.42:618-626(2005)。如本文所述,本发明的多肽或其衍生物比HIP母肽更具活性,预计活性与HIP类似,但活性更强。因此,本发明还提供了一种通过肝细胞接触本发明的多肽或其衍生物,促进肝细胞再生,从而促进肝再生。与肝细胞的接触可以发生在体内或体外。在体内与肝细胞接触的情况下,受试者服用本发明的多肽或其衍生物的同时可以进行其它本文所公开的治疗方法。在体外接触肝细胞的情况下,可诱导肝细胞增殖,例如,生产肝细胞群。肝细胞群可用于离体使用或给予受试者。这些通过移植引入肝细胞的方法是本领域技术人员众所周知的。这些移植细胞可用于重组受损的,或有代谢缺陷的肝组织。可经门静脉或脾脏注入肝细胞,并迁移至肝脏,永久性停留并执行正常的肝脏代谢功能(举例见Khan et al.,Cell Transplant.19:409-418(2010))。

[0125] HIP蛋白(也称为胰腺炎相关蛋白(PAP))已发现在体内外具有抗炎活性(Closa et al.,World J.Gastroenterol.13:170-174(2007))。因此,本发明的多肽或其衍生物预期具有抗炎活性。因此,本发明还提供了一种通过服用本发明的多肽或其衍生物,抑制炎症的方法。

[0126] 本发明还提供了使用本发明的多肽或其衍生物制备药物,治疗胰腺功能受损、治疗代谢性疾病、促进神经保护或神经再生、促进肝再生或抑制炎症。

[0127] 本发明还提供了使用本发明的多肽或其衍生物制备药物,治疗胰腺功能受损、治疗代谢性疾病、促进神经保护或神经再生、促进肝再生或抑制炎症。例如,这些用途可能是采用本发明所公开的方法。

[0128] 如本文所述,本发明的多肽或其衍生物可用于多种方法。这些方法包括,但不限于,治疗胰腺功能受损、治疗代谢性疾病、促进神经保护或神经再生、促进肝再生或抑制炎症。本发明在治疗领域的许多应用中,需要服用本发明的多肽或其衍生物。然而,还可理解为,另一种方式是使用基因疗法,受试者服用含有核酸编码肽的适当基因治疗载体,来表达本发明的肽。这样的基因疗法详述见下,且被本领域的技术人员熟知(举例见Anderson,Nature392(Supp.):25-30(1998))。

[0129] 基因载体是指可以携带插入的多核苷酸进入宿主细胞的分子。基因载体实例有,脂质体、生物相容性聚体胶束、包括天然聚体和合成聚体;脂蛋白;多肽;多糖;脂多糖;人工病毒包膜;金属颗粒;以及细菌、病毒,如杆状病毒、腺病毒和逆转录病毒、噬菌体、粘粒、质粒、真菌载体和其它通常用在本领域的各种真核和原核宿主表达、可能被用于基因治疗、

以及用于简单的蛋白表达的重组载体。

[0130] 本发明的多肽或其衍生物可采用基因载体传递到细胞或组织。基因传递，基因转染，转导等本文所用方法，是指不考虑引入方法而将外源多核苷酸引入(有时也被称为转基因)至宿主细胞的术语。这样的方法包括多种公知的技术，如载体介导的基因转移(例如，病毒感染/转染，或其他各种蛋白质为基础的或基于脂质的基因传递复合物)，以及促进“赤裸”多核苷酸传递的技术(如电击，“基因枪”传递和其他各种用于引入多核苷酸的技术)。引入的多核苷酸在宿主细胞中可稳定或瞬时存在。稳定存在通常需要引入的多核苷酸或者含有与宿主细胞相容的复制原点，或整合到宿主细胞的复制子，如染色体外复制子(例如，质粒)或核或线粒体染色体。一些载体是本领域已知的能够介导基因转移到哺乳动物细胞中的。

[0131] 病毒载体是指重组产生的病毒或病毒颗粒，其包含在体、离体或体外被传递到宿主细胞的多核苷酸。病毒载体实例，包括逆转录病毒载体，腺病毒载体，腺相关病毒载体，α 病毒载体等。α 病毒载体也开发用于基因疗法和免疫疗法，例如基于 Semliki 森林病毒的载体、基于 Sindbis 病毒的载体(见 Schlesinger and Dubensky Curr.Opin. Biotechnol.5:434-439(1999)and Ying,et al.Nat.Med.5(7):823-827(1999))。

[0132] 在逆转录病毒载体介导的基因转移的方面，载体构建是指包括反转录病毒基因组或其部分，以及治疗性基因的多核苷酸。本文所用的逆转录病毒介导的基因转移或逆转录病毒转导含义相同，是指基因或核酸序列被稳定地转移到宿主细胞中，凭借病毒进入细胞，并整合到宿主基因组中。该病毒可以通过其正常的感染机制进入宿主细胞或者被修改，使得它绑定到一个不同的宿主细胞表面受体或配体而进入细胞。本文所用的逆转录病毒载体是指能够通过病毒或病毒样的输入机制引入外源核酸到细胞中的病毒颗粒。逆转录病毒以 RNA 的形式携带遗传信息；然而，一旦病毒感染细胞，RNA 反转录成 DNA 形式，其被整合到被感染的细胞的基因组的 DNA 中。这种整合的 DNA 形式被称为原病毒。

[0133] 在 DNA 病毒载体介导的基因转移方面，如腺病毒(Ad)或腺相关病毒(AAV)，载体构建是指包括病毒基因组或其部分，以及转基因的多核苷酸。腺病毒是一组相对容易鉴别、单一群体的病毒，包括超过 50 种血清型(举例见 WO95/27071)。腺病毒不需要整合入宿主细胞的基因组中。重组腺病毒衍生的载体，特别是那些降低野生型病毒重组和产生可能性的，也会被构建(举例见 WO95/00655 和 WO95/11984)。野生型腺相关病毒有很高的感染性和整合进入宿主细胞基因组的专属性(举例见 Hermonat and Muzyczka,Proc.Natl.Acad.Sci. USA81:6466-6470(1984) 和 Lebkowski et al.,Mol.Cell.Biol.8:3988-3996(1988))。

[0134] 众所周知，载体包含启动子和克隆位点，其可以操作性连接到多核苷酸。这样的载体可以在体外或体内转录 RNA，并且是市售获得，比如 Stratagene(La Jolla,CA) 和 Promega Biotech(Madison,WI)。为了优化表达和/或在体外转录，这可能需要删除、添加或改变 5’和/或 3’非翻译部分的克隆，以消除额外的、潜在的不适当的替代翻译起始密码子或其它可能会干扰或减少表达的基因序列，这不论是转录还是翻译水平。或者，表达一致的核糖体结合位点可以被立即插入起始密码子的 5’位置以增强表达。

[0135] 基因载体还包括 DNA/ 脂质体复合物，胶束和靶向病毒蛋白 -DNA 复合物。在本发明的方法中，也可以使用包括靶向抗体或片断的脂质体。为增强细胞传输，本发明的核酸或蛋白可与抗体耦合或与片断结合，从而与细胞表面抗原结合，例如，胰岛细胞上发现的表面

标记物。

[0136] 在另一实施例中，本发明提供了一种方法，通过用核酸编码的本发明的多肽或其衍生物细胞与受试者接触并将本发明的多肽或其衍生物引入体内。核酸细胞的接触可以发生在体外，如离体应用，或体内。这些方法通常是指基因治疗方法。在体外接触细胞时，受试者可以服用表达多核苷酸的细胞。这种方法允许表达治疗性蛋白或肽，如用于治疗用途的本发明的多肽或其衍生物。这些治疗应用，可用于治疗各种疾病，包括但不限于，如本文所公开的，治疗胰腺功能障碍，治疗代谢性疾病，促进神经保护或神经再生，促进肝再生或抑制炎症。

[0137] 可以理解为，本发明多个实施例提到的基本不影响活性的修饰也在本文提供的发明定义中。因此，下面的实施例意在说明，但不限制本发明。

[0138] 实施例 1 多肽的生产

[0139] 本实施例介绍了多肽的生产

[0140] 本研究中所用到的所有多肽都使用氯甲酸 9- 芴甲酯（Fmoc）固相合成法化合而成。简单是说：将已称重的 2- 氯三苯甲基氯树脂（1.6mmol/g），溶于二氯甲烷（DCM）中。对于目标肽为 C- 末端酰胺化的肽，则使用 Rink 酰胺树脂来代替 2- 氯三苯甲基氯树脂。对在二甲基甲酰胺（DMF）中有羟基苯并三唑（西格玛化工有限公司，圣路易斯，密苏里州，美国）存在的偶联反应，使用预活化的 Fmoc- 氨基酸。整个合成过程使用过量的氨基酸。在含 20％哌啶的 DMF 中进行的 Fmoc 基脱保护作用导致链延伸反应发生。当链延伸反应完成后，使用含有 25％哌啶的 DMF 将 Fmoc 保护基团从多肽的 N 末端除去，然后用 DMF 溶液洗涤四次。对于 N- 末端为乙酰化的多肽，在用三氟乙酸（TFA）裂解前，将含有 20％乙酸酐的 DMF 溶液加入到树酯中，至终浓度达到 7mL/g，反应 30 分钟后，用 DMF 和 DCM 溶液洗涤 4 次。随后，真空干燥树酯。再用标准 TFA 将所制备的多肽从树酯上裂解下来，裂解过程包括：使用 5％的 TFA 水溶液冲洗，并随后进行多次乙醚萃取。所有合成的多肽都使用反向 HPLC 纯化至浓度 >95％。使用质谱进行多肽的鉴定和纯度分析。

[0141] 在各项体外实验中，将上述制备的多肽溶解在双蒸水中作为储备液，在各项体内药效实验中，将上述多肽溶于无菌生理盐水中以达到所需的浓度。最终的多肽溶液通过 0.22μm 的滤膜过滤，以达到灭菌效果。

[0142] 该多肽或其衍生物还可通过其他熟知的方法制备，包括使用多肽合成，或是使含有所需多肽或其衍生物代码的核酸表达的方法生产多肽。因此，当目标多肽含有一个或多个非天然氨基酸时，其更有可能是通过化学合成的方法制备。当多肽仅仅是含有一个或多个天然氨基酸时，合成过程多采用众所周知的载体表达的方法制备。

[0143] 以下实验所使用到的各种多肽都已在表 1-3 中列出。

[0144] 实施例 2 肽的稳定性实验

[0145] 本实施例介绍了在多种条件下肽的稳定性实验。

[0146] 准确称取一定量已选定的肽，将其溶解在蒸馏水中至浓度为 5mg/mL，作为原液，以考察多肽在培养液中的稳定性。使用 F-12K 培养基（GIBCO-BRL，美国马里兰州盖瑟斯堡）将原液稀释至 0.25mg/mL 作为工作液。将每 100μL 的工作液转移至单独的样品瓶中。将样品瓶置于 37℃培养箱培养 0，24，48 和 72 小时后，使用 HPLC 定量分析。

[0147] 表 5 显示了在培养基中的化合物的稳定性。表 5 显示了 INGAP-PP（肽 1）和选定

的多肽，肽 12 和肽 16（见表 2）在培养基中的稳定性比较。特别是，图 1 显示了 INGAP 肽（肽 1）和所选同系物肽肽 12、肽 16 的稳定性比较。

[0148] 表 5

[0149]

多肽	0h	4h	8h	12h	24h
肽 1	100	86.66	74.92	64.78	40.03
肽 16	100	87.38	77.52	65	51.56
肽 12	100	100.67	101.4	100	103.73

[0150] 正如图 1、表 5 所示，在培养基中，肽 16 较 INGAP-PP 肽（肽 1）的稳定性有一定程度的增加。

[0151] 检测多肽在大鼠、小鼠和人血浆中的稳定性。简要叙述如下：准确称量一定量的多肽和尤卡托品（阳性对照），将待测化合物溶于 50％甲醇－水溶液中，并稀释至 20mg/mL，将尤卡托品溶解于二甲基亚砜（DMSO）中，并稀释至 10mM，将以上两种溶液作为原液。将尤卡托品原液用 DMSO 稀释至 0.2mM，作为工作溶液。制备含有 200ng/mL 咪达唑仑和甲苯磺丁脲的乙腈溶液，作为工作终止液。向置于冰上预冷的 96 孔板中，每孔加入 300μL 终止液。

[0152] 稳定性试验中，将多肽和尤卡托品分别注入血浆中，混合均匀，再每种混合液取 100μL 转移至预冷的终止液中作为 0 时间点。剩余的混合物置于 37℃水浴中，以 100rpm 速度振摇孵育（n=2）。孵育最终浓度为尤卡托品为 1μM，其他待测化合物为 100μg/mL。

[0153] 在所设计的时间节点，将 100μL 孵育的混合物转移到终止液中，以沉淀蛋白质。将样品以 RCF5000×g 速度旋转离心 10 分钟，取上清液转移至检测板上。使用 LC-MS/MS 法对样品进行分析。

[0154] 计算剩余供试化合物质量百分比的自然对数与时间曲线的斜率，$T_{1/2}$ 通过以下公式计算：

[0155] $T_{1/2}=0.693/(-slope)$。

[0156] 大鼠血浆稳定性试验中，孵育时间肽 1 和尤卡托品为 0、15、30、60 和 120 分钟，肽 12、肽 16、肽 29 和肽 31 为 0、15、30、60、120 和 240 分钟。图 2 显示了化合物在大鼠血浆中的稳定性。如图 2 和表 6 所示，同系物肽 16 和肽 31 显示了在大鼠血浆中比 INGAP 肽（肽 1）更稳定。

[0157] 表 6

[0158]

	肽 1	肽 12	肽 16	肽 29	肽 31
0min	100±0.0	100±0.0	100±0.0	100±0.0	100±0.0
15min	44.51±1.55	98.96±0.2	99.5±0.13	98.34±0.16	95.36±0.43
30min	24.72±0.99	97.46±0.0	99.29±4.03	95.54±2.06	87.99±4.41

60min	7.97±0.56	102.96±10.45	99.05±11.44	94.77±0.11	86.08±3.44
120min	4.98±3.94	99.17±0.49	96.75±7.76	95.61±1.00	76.34±1.14
240min	\	102.84±8.78	85.66±8.13	97.42±1.37	65.76±1.17

[0159] 小鼠血浆的稳定性实验中，肽 1 和尤卡托品孵育时间为 0、15、30 和 60 分钟；肽 12、肽 16、肽 29 的孵育时间分别为 0、15、30、60、120、240 和 480 分钟。图 3 和表 7 显示了待测化合物在小鼠血浆中的稳定性。图 3 和表 7 中特别显示了小鼠血浆中的 INGAP-PP（肽 1）和选定的多肽类似物，肽 12、肽 16、肽 29（见表 2）的稳定性比较。

[0160] 表 7 显示了待测化合物在小鼠血浆中的稳定性。

[0161] 表 7

[0162]

	肽 1	肽 12	肽 16	肽 29
0min	100	100	100	100
15min	28.92	80.48	86.47	95.32
30min	13.07	69.47	78.87	89.11
60min	1.9	56.60	62.94	82.25
120min	\	36.47	51.31	64.07
240min	\	11.69	26.48	36.86
480min	\	0	8.47	17.45

[0163]

[0164] 正如图 3 和表 7 所示，小鼠血浆中，多肽类似物：肽 12、肽 16、肽 29 较 INGAP-PP(肽 1）显示出更好的稳定性。

[0165] 在另一组小鼠血浆的稳定性实验中，肽 1 和尤卡托品孵育时间为 0、15、30、60 和 120 分钟；肽 31 的孵育时间分别为 0、15、30、60、120 和 240 分钟。图 4 和表 8 显示了待测化合物在小鼠血浆中的稳定性。图 4 和表 8 中特别显示了小鼠血浆中的 INGAP-PP（肽 1）和选定的多肽类似物，肽 31（见表 2）的稳定性比较。

[0166] 表 8 显示了待测化合物在小鼠血浆中的稳定性。

[0167] 表 8

[0168]

	肽 1	肽 31
0min	100	100

15min	34.56±2.5	\
30min	20.09±5.04	81.12±8.28
60min	5.08±2.0	74.41±8.19
120min	1.49±0.15	64.60±10.54
240min	\	47.66±10.68

[0169] 正如图 4 和表 8 所示，小鼠血浆中，多肽类似物 :肽 31 较 INGAP-PP（肽 1）显示出更好的稳定性。

[0170] 人体血浆中的稳定性实验，肽 1，肽 12，肽 16 和尤卡托品的孵育时间为 0，30，60 和 120 分钟。图 5 和表 9 显示了化合物在人血浆中的稳定性。图 5 特别显示了，INGAP-PP（肽 1）和所选定的多肽类似物 :肽 12 和肽 16（见表 2），在人血浆中的稳定性比较。

[0171] 表 9 显示了化合物在人血浆中的稳定性。

[0172] 表 9

[0173]

	肽 1	肽 12	肽 16
0min	100	100	100
30min	36.46	84.71	86.98
60min	19.34	75.12	82.91
120min	2.18	60.90	69.45

[0174]

[0175] 正如图 5 和表 9 所示，肽类似物的肽 12 和肽 16，较 INGAP-PP（肽 1）在人血浆中显示出更显著的稳定性。

[0176] 另一组人体血浆中的稳定性实验中，肽 1、肽 29、肽 31 和尤卡托品的孵育时间为 0、15、30、60、120 和 240 分钟。图 6 和表 10 显示了化合物在人血浆中的稳定性。特别是，图 6 和表 10 显示了 INGAP 肽与同系物肽 29 和肽 31 在人血浆中的稳定性比较。如图 6 和表 10 显示，肽 29 和肽 31 在人血浆中显示较好的稳定性，比 INGAP 肽（肽 1）明显稳定。

[0177] 表 10

[0178]

	肽 1	肽 29	肽 31
0min	100±2.60	100±6.63	100±5.68
15min	96.32±0.86	\	\

30min	80.99±3.47	95.31±7.14	102.02±8.53
60min	65.65±6.07	101.09±2.55	98.56±9.34
120min	48.47±4.33	103.61±1.52	97.99±6.90
240nim	33.13±0.00	99.28±5.61	90.81±0.81

[0179] 测试了 INGAP 肽和所选同系物在缓冲液中的稳定性。将肽 1、肽 16 或肽 31 分别溶于 pH 从 4.0 至 8.0 的等渗缓冲液中至浓度为 10mg/mL。与肽 1 相似，发现肽 16 和肽 31 在 pH4.0 至 6.0 的缓冲液中更稳定。进一步评估肽稳定性的研究中发现，肽 16 和肽 31 在等渗醋酸缓冲液（pH5.0）中在 4℃可以保持稳定长达 90 天，在 25℃可以保持稳定不到 7 天。

[0180] 以上结果表明，各种多肽，在包括培养基、小鼠和人的血浆的多种实验条件下，均表现出更良好的稳定性，且所表现出稳定性优于 INGAP-PP 肽。

[0181] 实施例 3 肽对葡萄糖刺激的胰岛素分泌的影响

[0182] 本实施例介绍了肽对葡萄糖刺激的胰岛素分泌的影响（GSIS）。

[0183] 摘取雄性成年 Sprague-Dawley（SD）大鼠的胰腺组织。7 天的驯化后，通过脱颈椎的方法处死动物，摘取整个胰腺组织，并用胶原酶消化分离胰岛。消化后，将胰岛细胞保存在 37℃湿润环境下的 pH 值为 7.4，含有 10%（体积 / 体积）胎牛血清，1%青霉素 / 链霉素，10mM 葡萄糖（5% CO_2/95% O_2）的 RPMI1640（美国加州卡尔斯巴德）培养基中，并分为以下几组：不添加入任何化合物（对照组），加入 100nM 的胰高血糖素样肽 -1（GLP-1 组），加入 10μg/mL 的肽 1 组、肽 12 组、肽 16 组组见下表 11。

[0184] 表 11

[0185]

组别	1	2	3	4	5	6
A	1.5mM 葡萄糖	12mM 葡萄糖	12mM 葡萄糖；100nM GLP-1	12mM 葡萄糖；10μg/ml 肽 12	12mM 葡萄糖；10μg/ml 肽 16	12mM 葡萄糖；10μg/ml 肽 1
B	1.5mM 葡萄糖	12mM 葡萄糖	12mM 葡萄糖；100nM GLP-1	12mM 葡萄糖；10μg/ml 肽 12	12mM 葡萄糖；10μg/ml 肽 16	12mM 葡萄糖；10μg/ml 肽 1
C	1.5mM 葡萄糖	12mM 葡萄糖	12mM 葡萄糖；100nM GLP-1	12mM 葡萄糖；10μg/ml 肽 12	12mM 葡萄糖；10μg/ml 肽 16	12mM 葡萄糖；10μg/ml 肽 1
D	1.5mM 葡萄糖	12mM 葡萄糖	12mM 葡萄糖；100nM GLP-1	12mM 葡萄糖；10μg/ml 肽 12	12mM 葡萄糖；10μg/ml 肽 16	12mM 葡萄糖；10μg/ml 肽 1

[0186] 在 CO_2/O_2（5/95％）、37℃的环境中，于 1.0ml 含有 0.5%(w/v)BSA 和 1.5mM 葡萄糖的 Krebs－Ringer 的碳酸氢盐缓冲液（KRB）中预孵育 45 分钟之后，将培养的胰岛在 pH 为 7.4 的 KRB 中漂洗。然后将 5 个胰岛为一组在抚育在 0.6ml 的 KRB 中 60 分钟，其中添加 1.5 或 12.0mM 的葡萄糖，以及添加或不添加多肽。孵育结束后，收集培养基的等分试样以定量检测胰岛素。

[0187] 胰岛素定量的结果见表 12。

[0188] 表 12

[0189]

组别	胰岛素分泌量(ng/ml)					
	1	2	3	4	5	6
1	12.7	21.79	26.02	52.6	51.3	29.01
2	13.58	23.99	25.7	46.88	93.07	11.41
3	10.56	18.11	23.94	82.15	95.21	22.03
4	7.13	19.13	30.21	28.78	79.86	21.04
平均值	10.99	20.76	26.47	52.60	79.86	20.87

[0190] 胰岛素定量的结果见图 7 和表 12。图 7 和表 12 显示了在使用或未使用所选的肽 12，肽 16 和肽 1(10μg/mL) 的情况下，葡萄糖刺激的胰岛分泌的胰岛素量。将与 100nM 的胰高血糖素样肽 1（GLP-1）共孵育组，列作阳性对照组。在 12.0mM 葡萄糖浓度的条件下，与不加肽的培养组相比，使用 GLP-1、肽 16，肽 12 培养的胰岛细胞，显现更高的胰岛素释放。特别值得关注的是，肽 16，肽 12 组比 GLP-1 组在刺激胰岛素分泌方面，作用高出 2-3 倍。相反，INGAP-PP 组（肽 1）在本实验中未观察到明显刺激胰岛素分泌作用。

[0191] 以上结果表明，本发明提供的多肽能够刺激胰岛细胞分泌胰岛素。

[0192] 实施例 4

[0193] 多肽在 SD 大鼠体内的药代动力学性质

[0194] 本实施例描述了单次皮下（SC）给于大鼠多肽后的体内药代动力学（PK）特性。

[0195] 雄性SD大鼠购自上海Sino-British SIPPR/BK实验动物有限公司，经过7天驯养，9 只身体健康（体重 230-270 克）的动物用于本次实验。肽 1、肽 16 或肽 31 等多肽均用无菌生理盐水溶解并分别得到所需的最终浓度，并通过皮下注射（SC）的方式进行单次给药。详细信息列于表 13。

[0196] 表 13. PK 实验的分组和给药信息

[0197]

组别	性别	动物数量	测试物	给药剂量 (mg/kg)
1	雄性	3	肽 1	25
2	雄性	3	肽 16	25
3	雄性	3	肽 31	25

[0198] 每组 3 只动物，分别于给药后 5 分钟，15 分钟，30 分钟，1 小时，2 小时，4 小时，6 小时，8 小时和 24 小时的时间点采集血液。收集血液样品（约 400 微升）置于含有 EDTA-K2 离

心管中，在 4℃的条件下，8000rpm 离心 6 分钟以从血液样品中分离血浆。所得血浆在分析前冷冻保存于 -80℃。

[0199] 使用串联质谱（LC-MS/MS）分析来确定血浆样品中肽的浓度。利用 WinNonlin® Professional5.2(Pharsight;St.Louis MO) 软件的非房室模型计算 PK 参数。部分 PK 参数列于表 14 中。$AUC_{(0-t)}$ 表示从给药开始时间到最后一次观察时的曲线下面积，$AUC_{(0-\infty)}$ 表示从给药开始时间到至无限远的曲线下面积，以及 C_{max} 代表检测到的最大浓度。

[0200] 表 14. SD 大鼠皮下给药后的部分 PK 参数

[0201]

测试物		肽 1	肽 16	肽 31
性别	雌性/雄性	25	25	25
给药剂量	mg/kg	雄性	雄性	雄性
$AUC_{(0-t)}$	μg/L*hr	294.13±124.80	11177.17±1884.33	15562.38±1529.00
$AUC_{(0-\infty)}$	μg/L*hr	297.86±122.41	11179.40±1883.66	15563.32±1528.94
C_{max}	μg/L	1188.86±609.56	22055.34±5872.06	25975.89±3098.76

[0202] 相同性别的 SD 大鼠给予相同剂量的 INGAP-PP（肽 1）或其类似物，相比于 INGAP-PP（肽 1），所述类似物肽肽 16 和肽 31 具有显著增加 AUC 和 C_{max} 的作用，从而证明肽 16 和肽 31 与 INGAP-PP（肽 1）相比显著改善了药代动力学性质。

[0203] 为了进一步研究多肽的药代动力学（PK）性质，测定了给药 30 分钟后多肽在胰腺－靶器官中的浓度。简单地说，INGAP-PP（肽 1）或肽 31 分别溶解在无菌生理盐水，然后以 25mg/kg 的剂量水平经皮下注射给药（SC）的方式给予雄性 Sprague-Dawley（SD）大鼠，每组五只动物，均在给药 30 分钟后的时间点采集血液和胰腺。收集血液样品（约 400 微升）置于含有 EDTA-K2 离心管中，在在 4℃、8000rpm 条件下离心 6 分钟以分离血浆。血液采集完毕并处死动物后，立即从每个动物分离胰腺，清除脂肪和淋巴结后称重，并放入含有蛋白酶抑制剂混合物（Merck Millipore，货号 539137）的 5 倍体积的冰冷无菌生理盐水，以均质器进行匀浆。

[0204] 用串联质谱（LC-MS/MS）对血浆和胰腺组织匀浆中多肽的浓度进行分析，结果列于表 15 中。

[0205] 表 15. 血浆和胰腺组织匀浆中多肽的浓度

[0206]

样品类型	多肽浓度 (ng/mL)	
	肽 1	肽 31
血浆	209.81±107.08	15356.49±3516.52
胰腺	NA	1633.48±339.93

[0207] NA：低于最低定量限（LLOQ）2.5ng/mL

[0208] 相比于 INGAP-PP（肽 1），其类似物肽 31 在血浆和胰腺中的浓度显著增加，显示出类似物肽 31 相较于母肽 INGAP-PP（肽 1）具有改进的 PK 特性。

[0209] 这些结果表明，相较于 INGAP-PP（肽 1），其类似物肽 31 显示出显著改善的体内药代动力学性质。

[0210] 实施例 5

[0211] 多肽对于诱导胰岛素阳性的 β 细胞小簇的影响作用

[0212] 本实施例介绍了多肽对于诱导正常 C57BL/6J 小鼠胰岛素阳性的 β 细胞小簇的作用。

[0213] 在 1 周驯养后，将雌性 C57BL/6J 小鼠随机分为 3 组（每组 5 只动物）。对照组皮下注射无菌生理盐水，给药容积为 10mL/kg，连续给予 10 天。其他两组分别注射 INGAP-PP（肽 1）或其多肽类似物肽肽 31，剂量分别为每天 50mg/kg 或 5mg/kg，给药持续时间与对照组相同。在第 11 天，从每个动物中取出胰腺，清除脂肪和淋巴结后称重，固定在 10％中性福尔马林缓冲液（NBF）中，并在 24 小时之内进行处理以用于形态分析。

[0214] 给药 10 天后收集各组动物的胰腺组织，采用免疫组化来评价多肽促进胰岛新生的活性，具体方法为通过测定胰岛素阳性的 β 细胞小簇（EIC）的数量和面积来评价胰岛新生活性。其中，EIC 表明了胰岛新生。

[0215] 相比于生理盐水对照组，INGAP-PP （肽 1）或 INGAP-PP 类似物肽 31 组给药 10 天可显著增加 EIC 的数量面积。图 8A 和表 16 显示了雌性 C57BL/6J 小鼠经过 10 天治疗 EIC 的数量。

[0216] 表 16

[0217]

动物数	样本数	对照组	肽 1	肽 31
1	1	0	2	5
	2	1	0	4
2	1	1	2	5
	2	1	4	4
3	1	1	\	3
	2	0	\	2
4	1	1	2	3
	2	1	4	3
5	1	1	2	6
	2	0	4	5
平均数		0.70	2.50	4.00

[0218] 图 8B 和表 17 显示了雌性 C57BL/6J 小鼠经过 10 天治疗的 EIC 总面积。

[0219] 表 17

[0220]

动物数	样本数	对照组	肽 1	肽 31
1	1	0	0.092	0.154
	2	0.008	0	0.102
2	1	0.003	0.028	0.124

[0221]

	2	0.001	0.065	0.17
3	1	0.002	\	0.089
	2	0	\	0.024
4	1	0.005	0.054	0.076
	2	0.0003	0.092	0.044
5	1	0.001	0.051	0.131
	2	0	0.094	0.114
平均数		0.0020	0.0595	0.1028

[0222] 图 8C 示出的代表性的 INGAP-PP 肽或 INGAP-PP 类似物给药后与胰腺导管上皮细胞相关联的 EIC。该 INGAP-PP 或 INGAP-PP 类似物治疗组与生理盐水组相比，显示出 EIC 数量和面积的显著增加。值得一提的是，肽 31（为 5mg/kg）治疗组的 EIC 数量和面积与 INGAP-PP（肽 1）（为 50mg/kg）治疗组相比具有显著性增加（$p < 0.05$）。

[0223] 该结果证实了的 INGAP-PP 和它的类似物给药 10 天具有刺激正常小鼠胰岛新生的生物活性。更重要的是，INGAP-PP 的类似物肽 31 给药组在给药剂量为 INGAP-PP1/10 的情况下，显示出具有与 INGAP-PP 相当的或更强的功效。

[0224] 实施例 6

[0225] 多肽促进胰岛新生的作用在胰岛大小分布的影响方面的体现

[0226] 本实施例描述了多肽通过对正常 C57BL/6J 小鼠胰岛大小分布的影响所反映出的其胰岛新生的作用。

[0227] 1 周的驯养后，将雌性 C57BL/6J 小鼠随机分成 3 组（每组 6 只）。对照组通过皮下注射给予无菌生理盐水，给药容积为 10mL/kg，连续给药 10 天。其他 2 组每天给予 INGAP-PP（肽 1）25mg/kg 或 INGAP-PP 类似物肽 310.25mg/kg，同样连续给药 10 天。INGAP-PP 或 INGAP-PP 类似物的不同给药剂量的选择基于已知的 INGAP-PP 的药效学剂量和 INGAP-PP 类似物的药代动力学性质。在第 11 天，从每个动物中取出胰腺，清除脂肪和淋巴结后称重，固定在 10％中性福尔马林缓冲液（NBF）中，并在 24 小时之内进行处理以用于形态分析。胰岛素染色阳性切片使用图像分析软件（奥林巴斯 DP70 显微镜用摄像头连接到配备版本 6.0 的 Image-Pro Plus 软件的计算机）进行追踪，并对胰岛大小分布进行分析。

[0228] 图 9 和表 18 显示了相较于生理盐水对照组，用 INGAP-PP 肽 1 或 INGAP-PP 类似物肽 31 治疗 10 天对于促进小胰岛在胰岛大小的分布中比例增加的作用。

[0229] 表 18

[0230]

胰岛大小（μm^2）	对照组	肽 1	肽 31
＜ 1000	39.6	57.01	55.93
1000-5000	36.63	32.71	33.89
＞ 5000	23.76	10.28	10.17

[0231] 特别是多肽治疗组胰岛大小小于 1000 μm^2 的有大约 50％的增加（多肽治疗组小于 1000 μm^2 的胰岛占到所有胰岛数目的 60% 而生理盐水组只有 40％），然而在 1000 和

5000 μ m^2 之间大小的胰岛比例没有差别，胰岛大小大于 5000 μ m^2 的约减少 50％（多肽治疗组大于 5000 μ m^2 约占所有胰岛数目的 10％而生理盐水组占到 20％）。

[0232] 这些结果表明，肽 1 和肽 31 表现出对于促进小胰岛在胰岛大小的分布中比例增加的作用。此外，所用的肽 31 在肽 1 给药剂量 1/100 的剂量下表现出活性。

[0233] 本申请很多地方引用了出版的文章。本文通过引用作为参考的方式，完整的披露了这些文献，以便更全面地描述本发明所属领域的现况。尽管本发明已通过援引以上实施例作为资料参考，但在不脱离本发明科学真实精神的情况下，我们对资料做出了可以理解调整。

氨基酸序列表

<110> 深圳君圣泰生物技术有限公司

<120> 一种多肽、多肽衍生物、多肽的可药用盐及药物组合物

<160> 77

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
<211> 15
<212> PRT
<213> 仓鼠属(Cricetulus sp.)

<220>
<223> N 末端 - H

<220>
<223> C 末端 - OH

<400> 1
Ile Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Asn Gly Ser
1 5 10 15

<210> 2
<211> 15
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<220>
<223> N 末端 - H

<220>
<223> C 末端 - OH

<400> 2
Ile Gly Leu His Asp Pro Thr Gln Gly Thr Glu Pro Asn Gly Glu
1 5 10 15

<210> 3
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 人工序列的说明:人工合成氨基酸(Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide)

<220>
<223> N 末端 - H

<220>
<223> C 末端 - OH

<400> 3
Ser His Pro Asn Gly Ser Gly Thr Ile Gly Leu His Asp Pro Leu
1 5 10 15

<210> 4
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 人工序列的说明:人工合成氨基酸(Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide)

<220>
<223> N 末端 - H

<220>
<223> C 末端 - OH

<400> 4
Ser Ser Thr Gly Gly Gly Asp Ile Pro Pro His Leu Leu His Asn
1 5 10 15

<210> 5
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 人工序列的说明 :人工合成氨基酸(Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide)

<220>
<223> N 末端 - H

<220>
<223> C 末端 - OH

<400> 5
Asp Gly Gly Thr Pro Gln Pro Gly Asn Trp Ile Glu Leu Thr His
1 5 10 15

<210> 6
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 人工序列的说明 :人工合成氨基酸(Description of Artificial Sequence:

Synthetic peptide)

<220>
<223> N 末端 - H

<220>
<223> C 末端 - OH

<400> 6
Ile Gly Leu His Ala Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Asn Gly Ser
1 5 10 15

<210> 7
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 人工序列的说明 :人工合成氨基酸(Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide)

<220>
<223> N 末端 - H

<220>
<223> C 末端 - OH

<400> 7
Ile Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Ala Gly Ser
1 5 10 15

<210> 8
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 人工序列的说明：人工合成氨基酸(Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide)

<220>
<223> N 末端 - H

<220>
<223> C 末端 - OH

<400> 8
Ile Gly Leu His Ala Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Ala Gly Ser
1 5 10 15

<210> 9
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 人工序列的说明：人工合成氨基酸(Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide)

<220>
<223> N 末端 - H

<220>
<223> C 末端 - OH

<400> 9
Ile Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Ala Gly Ser Lys
1 5 10 15

<210> 10

<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 人工序列的说明:人工合成氨基酸(Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide)

<220>
<223> N 末端 - H

<220>
<221> MOD_RES
<222> (13)..(13)
<223> Aib

<220>
<223> C 末端 - OH

<400> 10
Ile Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Xaa Gly Ser
1 5 10 15

<210> 11
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 人工序列的说明:人工合成氨基酸(Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide)

<220>
<223> N 末端 - H

<220>

<221> MOD_RES
<222> (13)..(13)
<223> N-methyl-L-Alanine

<220>
<223> C 末端 - OH

<400> 11
Ile Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Ala Gly Ser
1 5 10 15

<210> 12
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 人工序列的说明 :人工合成氨基酸(Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide)

<220>
<223> N 末端 - Ac

<220>
<223> C 末端 - OH

<400> 12
Ile Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Ala Gly Ser
1 5 10 15

<210> 13
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的说明:人工合成氨基酸(Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide)

<220>
<223> N 末端 - H

<220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
<223> D-Isoleucine

<220>
<223> C 末端 - OH

<400> 13
Ile Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Ala Gly Ser
1 5 10 15

<210> 14
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 人工序列的说明:人工合成氨基酸(Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide)

<220>
<223> N 末端 - H

<220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
<223> L-NorValine

<220>

<223> C 末端 - OH

<400> 14
Val Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Ala Gly Ser
1 5 10 15

<210> 15
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 人工序列的说明 :人工合成氨基酸(Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide)

<220>
<223> N 末端 - H

<220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
<223> L-NorLeucine

<220>
<223> C 末端 - OH

<400> 15
Leu Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Ala Gly Ser
1 5 10 15

<210> 16
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的说明:人工合成氨基酸(Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide)

<220>
<223> N 末端 - Ac

<220>
<223> C 末端 - OH

<400> 16
Ile Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Asn Gly Ser
1 5 10 15

<210> 17
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 人工序列的说明:人工合成氨基酸(Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide)

<220>
<223> N 末端 - H

<220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
<223> D-Isoleucine

<220>
<223> C 末端 - OH

<400> 17
Ile Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Asn Gly Ser
1 5 10 15

<210> 18
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 人工序列的说明:人工合成氨基酸(Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide)

<220>
<223> N 末端 - H

<220>
<223> C 末端 - OH

<400> 18
Ile Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Glu Pro Asn Gly Ser
1 5 10 15

<210> 19
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 人工序列的说明:人工合成氨基酸(Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide)

<220>
<223> N 末端 - H

<220>
<223> C 末端 - OH

<400> 19

Ile Gly Leu His Asp Pro Ser Gln Gly Thr Leu Pro Asn Gly Ser
1 5 10 15

<210> 20

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的说明:人工合成氨基酸(Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide)

<220>

<223> N 末端 - H

<220>

<223> C 末端 - OH

<400> 20

Ile Gly Leu His Asp Pro Thr His Gly Thr Leu Pro Asn Gly Ser
1 5 10 15

<210> 21

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的说明:人工合成氨基酸(Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide)

<220>

<223> N 末端 - H

<220>
<223> C 末端 - OH

<400> 21
Ile Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Asn Gly Glu
1 5 10 15

<210> 22
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 人工序列的说明:人工合成氨基酸(Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide)

<220>
<223> N 末端 - H

<220>
<223> C 末端 - OH

<400> 22
Ile Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Asn Gly Lys
1 5 10 15

<210> 23
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 人工序列的说明:人工合成氨基酸(Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide)

<220>
<223> N 末端 - H

<220>
<223> C 末端 - OH

<400> 23
Ile Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Ala Gly Lys
1 5 10 15

<210> 24
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 人工序列的说明:人工合成氨基酸(Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide)

<220>
<223> N 末端 - H

<220>
<223> C 末端 - OH

<400> 24
Ile Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Glu Pro Ala Gly Ser
1 5 10 15

<210> 25
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 人工序列的说明:人工合成氨基酸(Description of Artificial Sequence:

Synthetic peptide)

<220>
<223> N 末端 - H

<220>
<223> C 末端 - OH

<400> 25
Ile Gly Leu His Asp Pro Ser Gln Gly Thr Leu Pro Ala Gly Ser
1 5 10 15

<210> 26
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 人工序列的说明 :人工合成氨基酸(Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide)

<220>
<223> N 末端 - H

<220>
<223> C 末端 - OH

<400> 26
Ile Gly Leu His Asp Pro Thr His Gly Thr Leu Pro Ala Gly Ser
1 5 10 15

<210> 27
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 人工序列的说明:人工合成氨基酸(Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide)

<220>
<223> N 末端 - H

<220>
<223> C 末端 - OH

<400> 27
Ile Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Ala Gly Glu
1 5 10 15

<210> 28
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 人工序列的说明:人工合成氨基酸(Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide)

<220>
<223> N 末端 - H

<220>
<223> C 末端 - NH2

<400> 28
Ile Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Ala Gly
1 5 10

<210> 29

<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 人工序列的说明:人工合成氨基酸(Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide)

<220>
<223> N 末端 - Ac

<220>
<223> C 末端 - NH2

<400> 29
Ile Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Ala Gly Ser
1 5 10 15

<210> 30
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 人工序列的说明:人工合成氨基酸(Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide)

<220>
<223> N 末端 - Ac

<220>
<223> C 末端 - NH2

<400> 30
Ile Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Ala Gly
1 5 10

<210> 31
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 人工序列的说明:人工合成氨基酸(Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide)

<220>
<223> N 末端 - Ac

<220>
<223> C 末端 - NH2

<400> 31
Ile Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Asn Gly Ser
1 5 10 15

<210> 32
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 人工序列的说明:人工合成氨基酸(Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide)

<220>
<223> N 末端 - H

<220>
<223> C 末端 - NH2

<400> 32
Ile Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Asn Gly Ser
1 5 10 15

<210> 33
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 人工序列的说明:人工合成氨基酸(Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide)

<220>
<223> N 末端 - H

<220>
<223> C 末端 - OH

<400> 33
Ile Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Asn Gly Ser Cys
1 5 10 15

<210> 34
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 人工序列的说明:人工合成氨基酸(Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide)

<220>
<223> N 末端 - Ac

<220>
<223> C 末端 - OH

<400> 34
Ile Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Asn Gly Ser Cys
1 5 10 15

<210> 35
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 人工序列的说明:人工合成氨基酸(Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide)

<220>
<223> N 末端 - H

<220>
<223> C 末端 - NH2

<400> 35
Ile Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Asn Gly Ser Cys
1 5 10 15

<210> 36
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 人工序列的说明:人工合成氨基酸(Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide)

<220>
<223> N 末端 - Ac

<220>
<223> C 末端 - NH2

<400> 36
Ile Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Asn Gly Ser Cys
1 5 10 15

<210> 37
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 人工序列的说明:人工合成氨基酸(Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide)

<220>
<223> N 末端 - H

<220>
<223> C 末端 - OH

<400> 37
Ile Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Asn Gly Cys
1 5 10 15

<210> 38
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 人工序列的说明:人工合成氨基酸(Description of Artificial Sequence:

Synthetic peptide)

<220>
<223> N 末端 - Ac

<220>
<223> C 末端 - OH

<400> 38
Ile Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Asn Gly Cys
1 5 10 15

<210> 39
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 人工序列的说明 :人工合成氨基酸(Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide)

<220>
<223> N 末端 - H

<220>
<223> C 末端 - NH2

<400> 39
Ile Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Asn Gly Cys
1 5 10 15

<210> 40
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 人工序列的说明:人工合成氨基酸(Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide)

<220>
<223> N 末端 - Ac

<220>
<223> C 末端 - NH2

<400> 40
Ile Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Asn Gly Cys
1 5 10 15

<210> 41
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 人工序列的说明:人工合成氨基酸(Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide)

<220>
<223> N 末端 - H

<220>
<223> C 末端 - NH2

<400> 41
Ile Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Ala Gly Ser
1 5 10 15

<210> 42

<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 人工序列的说明:人工合成氨基酸(Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide)

<220>
<223> N 末端 - H

<220>
<223> C 末端 - OH

<400> 42
Ile Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Ala Gly Ser Cys
1 5 10 15

<210> 43
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 人工序列的说明:人工合成氨基酸(Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide)

<220>
<223> N 末端 - Ac

<220>
<223> C 末端 - OH

<400> 43
Ile Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Ala Gly Ser Cys
1 5 10 15

<210> 44
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 人工序列的说明:人工合成氨基酸(Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide)

<220>
<223> N 末端 - H

<220>
<223> C 末端 - NH2

<400> 44
Ile Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Ala Gly Ser Cys
1 5 10 15

<210> 45
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 人工序列的说明:人工合成氨基酸(Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide)

<220>
<223> N 末端 - Ac

<220>
<223> C 末端 - NH2

<400> 45

Ile Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Ala Gly Ser Cys
1 5 10 15

<210> 46

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的说明:人工合成氨基酸(Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide)

<220>

<223> N 末端 - H

<220>

<223> C 末端 - OH

<400> 46

Ile Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Ala Gly Cys
1 5 10 15

<210> 47

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的说明:人工合成氨基酸(Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide)

<220>

<223> N 末端 - Ac

<220>
<223> C 末端 - OH

<400> 47
Ile Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Ala Gly Cys
1 5 10 15

<210> 48
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 人工序列的说明:人工合成氨基酸(Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide)

<220>
<223> N 末端 - H

<220>
<223> C 末端 - NH2

<400> 48
Ile Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Ala Gly Cys
1 5 10 15

<210> 49
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 人工序列的说明:人工合成氨基酸(Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide)

<220>
<223> N 末端 - Ac

<220>
<223> C 末端 - NH2

<400> 49
Ile Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Ala Gly Cys
1 5 10 15

<210> 50
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 人工序列的说明:人工合成氨基酸(Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide)

<220>
<223> N 末端 - H

<220>
<223> C 末端 - OH

<400> 50
Ile Gly Leu His Asp Pro Thr Gln Gly Thr Glu Pro Ala Gly Glu
1 5 10 15

<210> 51
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 人工序列的说明:人工合成氨基酸(Description of Artificial Sequence:

Synthetic peptide)

<220>
<223> N 末端 - H

<220>
<221> MOD_RES
<222> (13)..(13)
<223> Aib

<220>
<223> C 末端 - OH

<400> 51
Ile Gly Leu His Asp Pro Thr Gln Gly Thr Glu Pro Xaa Gly Glu
1 5 10 15

<210> 52
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 人工序列的说明:人工合成氨基酸(Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide)

<220>
<223> N 末端 - Ac

<220>
<223> C 末端 - OH

<400> 52
Ile Gly Leu His Asp Pro Thr Gln Gly Thr Glu Pro Ala Gly Glu
1 5 10 15

<210> 53
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 人工序列的说明:人工合成氨基酸(Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide)

<220>
<223> N 末端 - H

<220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
<223> D-Isoleucine

<220>
<223> C 末端 - OH

<400> 53
Ile Gly Leu His Asp Pro Thr Gln Gly Thr Glu Pro Ala Gly Glu
1 5 10 15

<210> 54
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 人工序列的说明:人工合成氨基酸(Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide)

<220>
<223> N 末端 - Ac

<220>
<223> C 末端 - OH

<400> 54
Ile Gly Leu His Asp Pro Thr Gln Gly Thr Glu Pro Asn Gly Glu
1 5 10 15

<210> 55
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 人工序列的说明:人工合成氨基酸(Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide)

<220>
<223> N 末端 - H

<220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
<223> D-Isoleucine

<220>
<223> C 末端 - OH

<400> 55
Ile Gly Leu His Asp Pro Thr Gln Gly Thr Glu Pro Asn Gly Glu
1 5 10 15

<210> 56
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 人工序列的说明:人工合成氨基酸(Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide)

<220>
<223> N 末端 - H

<220>
<223> C 末端 - OH

<400> 56
Ile Gly Leu His Asp Pro Thr Gln Gly Thr Glu Pro Asn Gly Ser
1 5 10 15

<210> 57
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 人工序列的说明:人工合成氨基酸(Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide)

<220>
<223> N 末端 - H

<220>
<223> C 末端 - OH

<400> 57
Ile Gly Leu His Asp Pro Thr Gln Gly Thr Glu Pro Ala Gly Ser
1 5 10 15

<210> 58

<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 人工序列的说明:人工合成氨基酸(Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide)

<220>
<223> N 末端 - H

<220>
<223> C 末端 - OH

<400> 58
Ile Gly Leu His Asp Pro Thr Gln Gly Thr Leu Pro Asn Gly Glu
1 5 10 15

<210> 59
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 人工序列的说明:人工合成氨基酸(Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide)

<220>
<223> N 末端 - H

<220>
<223> C 末端 - OH

<400> 59
Ile Gly Leu His Asp Pro Thr Gln Gly Thr Leu Pro Ala Gly Glu
1 5 10 15

<210> 60
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 人工序列的说明:人工合成氨基酸(Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide)

<220>
<223> N 末端 - Ac

<220>
<223> C 末端 - NH2

<400> 60
Ile Gly Leu His Asp Pro Thr Gln Gly Thr Glu Pro Ala Gly
1 5 10

<210> 61
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 人工序列的说明:人工合成氨基酸(Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide)

<220>
<223> N 末端 - Ac

<220>
<223> C 末端 - NH2

<400> 61
Ile Gly Leu His Asp Pro Thr Gln Gly Thr Glu Pro Asn Gly Glu
1 5 10 15

<210> 62
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 人工序列的说明:人工合成氨基酸(Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide)

<220>
<223> N 末端 - Ac

<220>
<223> C 末端 - NH2

<400> 62
Ile Gly Leu His Asp Pro Thr Gln Gly Thr Glu Pro Ala Gly Glu
1 5 10 15

<210> 63
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 人工序列的说明:人工合成氨基酸(Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide)

<220>
<223> N 末端 - H

<220>
<223> C 末端 - NH2

<400> 63
Ile Gly Leu His Asp Pro Thr Gln Gly Thr Glu Pro Asn Gly Glu
1 5 10 15

<210> 64
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 人工序列的说明:人工合成氨基酸(Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide)

<220>
<223> N 末端 - H

<220>
<223> C 末端 - OH

<400> 64
Ile Gly Leu His Asp Pro Thr Gln Gly Thr Glu Pro Asn Gly Cys
1 5 10 15

<210> 65
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 人工序列的说明:人工合成氨基酸(Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide)

<220>
<223> N 末端 - Ac

<220>
<223> C 末端 - OH

<400> 65
Ile Gly Leu His Asp Pro Thr Gln Gly Thr Glu Pro Asn Gly Cys
1 5 10 15

<210> 66
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 人工序列的说明:人工合成氨基酸(Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide)

<220>
<223> N 末端 - H

<220>
<223> C 末端 - NH2

<400> 66
Ile Gly Leu His Asp Pro Thr Gln Gly Thr Glu Pro Asn Gly Cys
1 5 10 15

<210> 67
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 人工序列的说明:人工合成氨基酸(Description of Artificial Sequence:

Synthetic peptide)

<220>
<223> N 末端 - Ac

<220>
<223> C 末端 - NH2

<400> 67
Ile Gly Leu His Asp Pro Thr Gln Gly Thr Glu Pro Asn Gly Cys
1 5 10 15

<210> 68
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 人工序列的说明 :人工合成氨基酸(Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide)

<220>
<223> N 末端 - H

<220>
<223> C 末端 - NH2

<400> 68
Ile Gly Leu His Asp Pro Thr Gln Gly Thr Glu Pro Ala Gly Glu
1 5 10 15

<210> 69
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 人工序列的说明:人工合成氨基酸(Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide)

<220>
<223> N 末端 - H

<220>
<223> C 末端 - OH

<400> 69
Ile Gly Leu His Asp Pro Thr Gln Gly Thr Glu Pro Ala Gly Cys
1 5 10 15

<210> 70
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 人工序列的说明:人工合成氨基酸(Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide)

<220>
<223> N 末端 - Ac

<220>
<223> C 末端 - OH

<400> 70
Ile Gly Leu His Asp Pro Thr Gln Gly Thr Glu Pro Ala Gly Cys
1 5 10 15

<210> 71

<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 人工序列的说明:人工合成氨基酸(Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide)

<220>
<223> N 末端 - H

<220>
<223> C 末端 - NH2

<400> 71
Ile Gly Leu His Asp Pro Thr Gln Gly Thr Glu Pro Ala Gly Cys
1 5 10 15

<210> 72
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 人工序列的说明:人工合成氨基酸(Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide)

<220>
<223> N 末端 - Ac

<220>
<223> C 末端 - NH2

<400> 72
Ile Gly Leu His Asp Pro Thr Gln Gly Thr Glu Pro Ala Gly Cys
1 5 10 15

<210> 73
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 人工序列的说明:人工合成氨基酸(Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide)

<400> 73
Ile Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Ala Gly
1 5 10

<210> 74
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 人工序列的说明:人工合成氨基酸(Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide)

<400> 74
Ile Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Asn Gly
1 5 10

<210> 75
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 人工序列的说明:人工合成氨基酸(Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide)

<220>
<223> N 末端 - Ac

<400> 75
Ile Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Asn Gly
1 5 10

<210> 76
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 人工序列的说明 :人工合成氨基酸(Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide)

<220>
<223> C 末端 - NH2

<400> 76
Ile Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Asn Gly
1 5 10

<210> 77
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 人工序列的说明 :人工合成氨基酸(Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide)

<220>
<223> N 末端 - Ac

<220>
<223> C 末端 - NH2

<400> 77
Ile Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Asn Gly
1 5 10

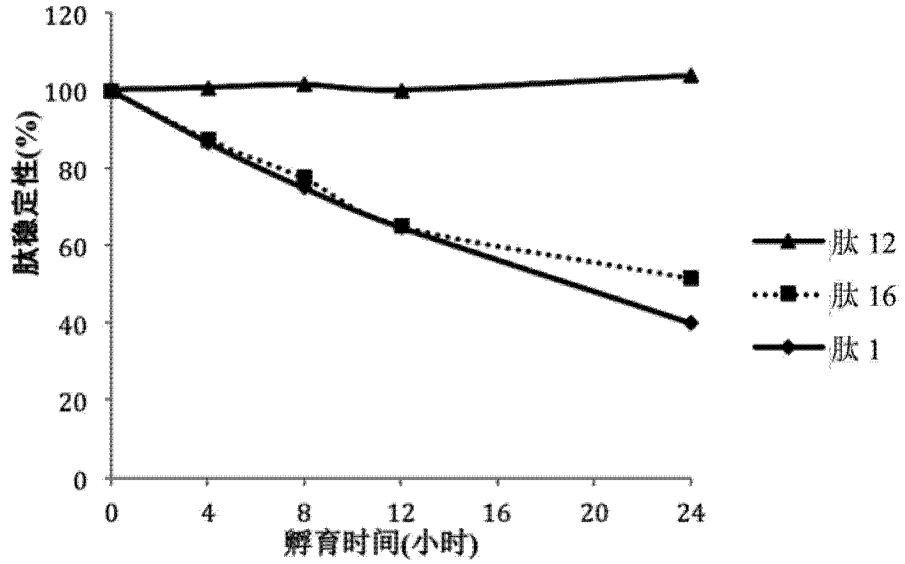

120
100
80
60
40
20
0
肽稳定性(%)
0
4
8
12
16
20
24
孵育时间(小时)
肽 12
肽 16
肽 1

图 1

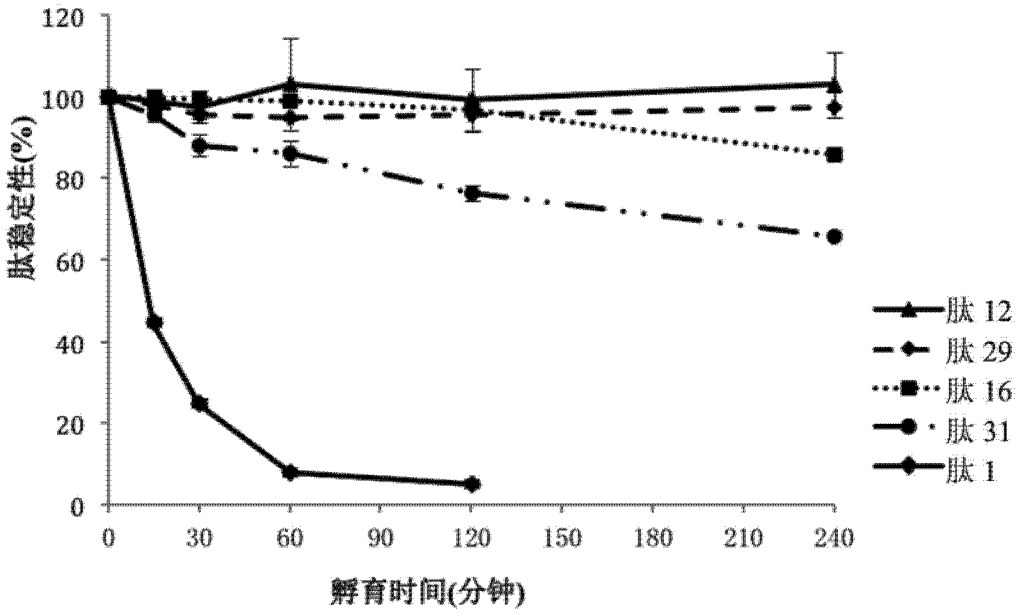

120
100
80
60
40
20
0
肽稳定性(%)
0
30
60
90
120
150
180
210
240
孵育时间(分钟)
肽 12
肽 29
肽 16
肽 31
肽 1

图 2

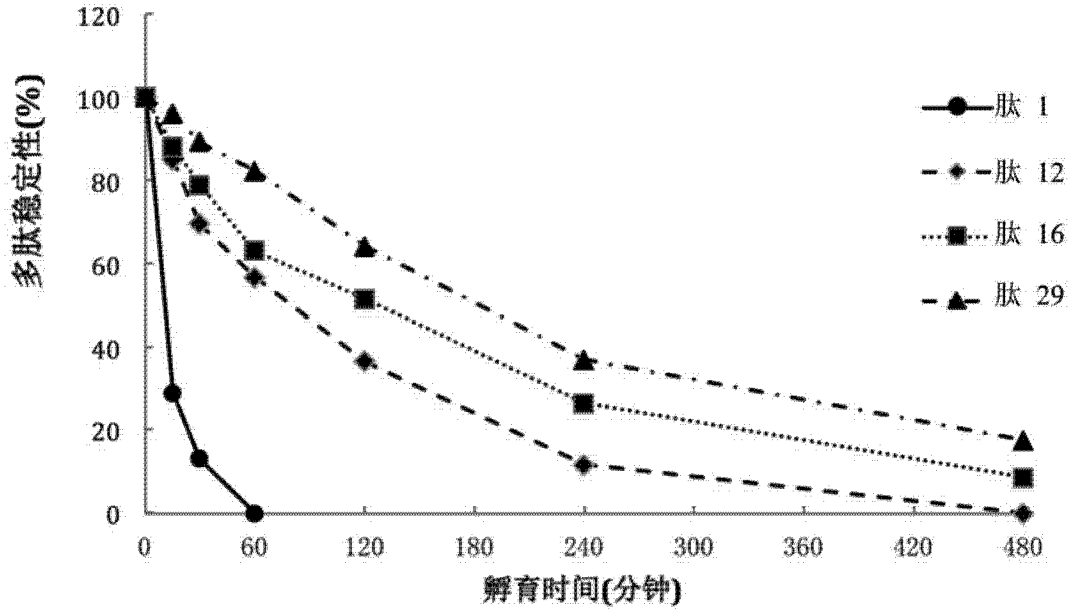

120
100
80
60
40
20
0
多肽稳定性(%)
0
60
120
180
240
300
360
420
480
孵育时间(分钟)
肽 1
肽 12
肽 16
肽 29

图 3

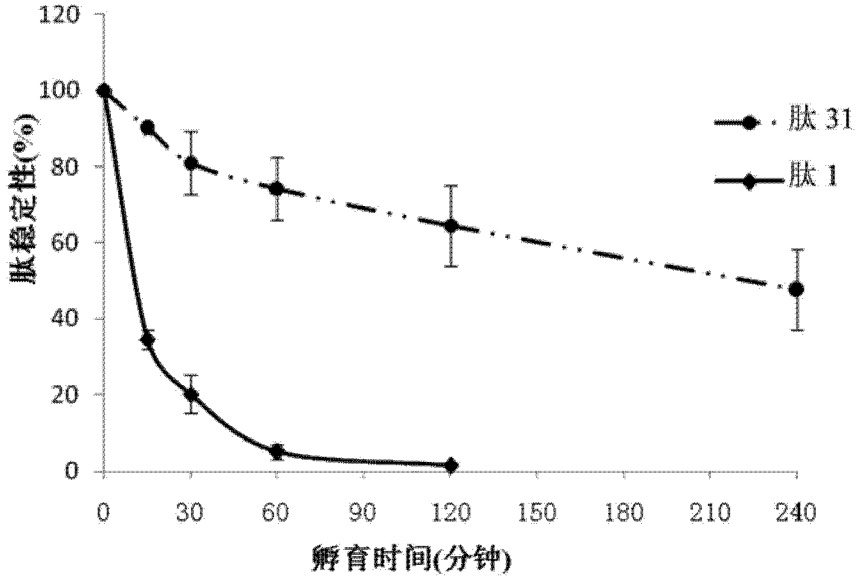

120
100
80
60
40
20
0
肽稳定性(%)
0
30
60
90
120
150
180
210
240
孵育时间(分钟)
肽 31
肽 1

图 4

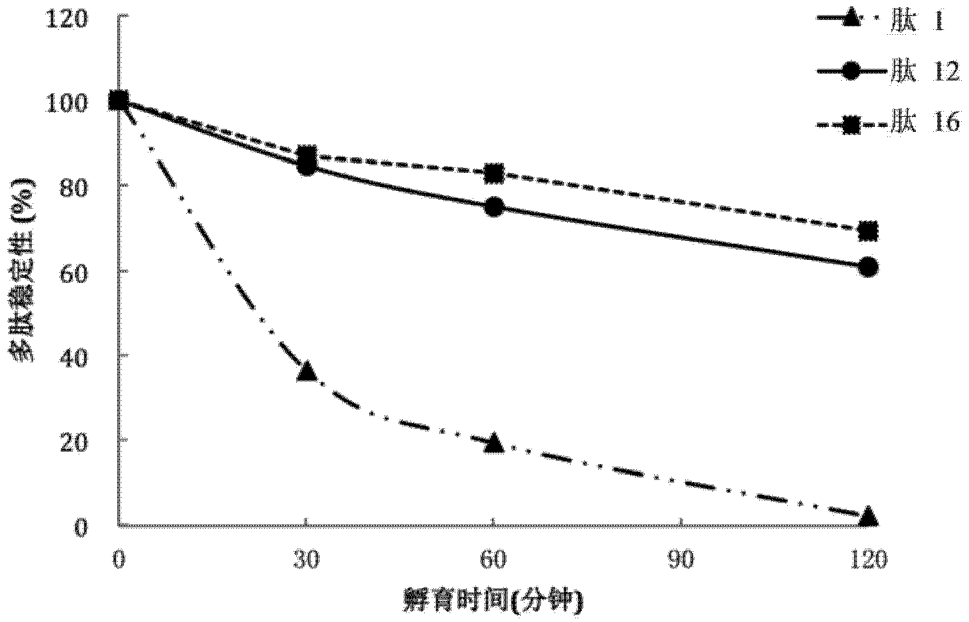

肽 1
肽 12
肽 16
多肽稳定性 (%)
120
100
80
60
40
20
0
0
30
60
90
120
孵育时间(分钟)

图 5

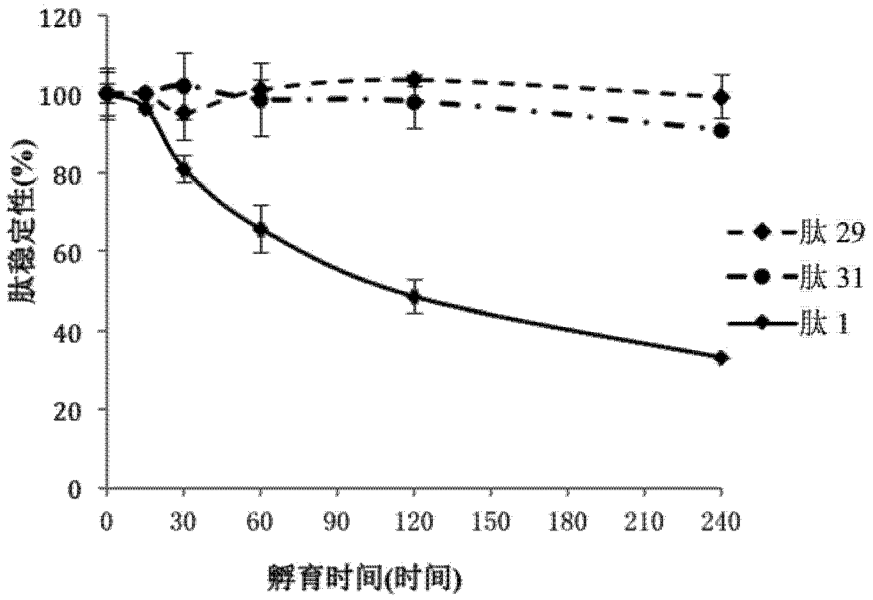

肽 29
肽 31
肽 1
肽稳定性(%)
120
100
80
60
40
20
0
0
30
60
90
120
150
180
210
240
孵育时间(时间)

图 6

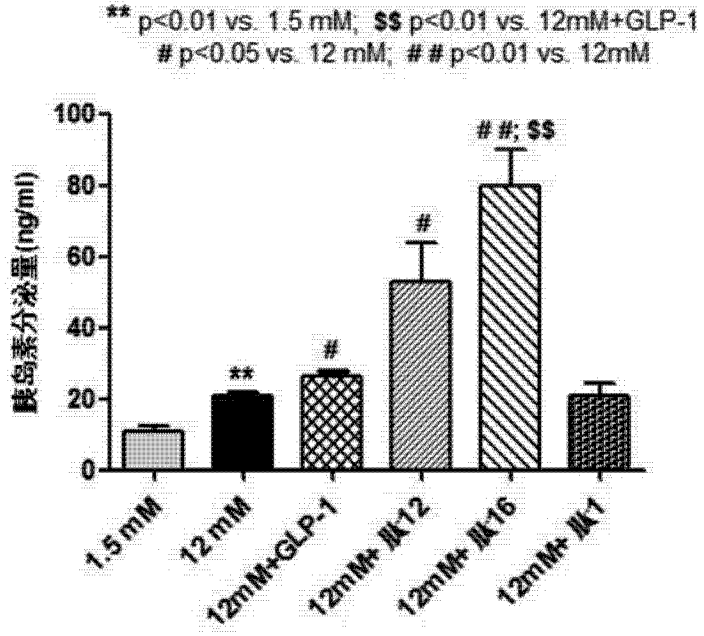

** p<0.01 vs. 1.5 mM; $$ p<0.01 vs. 12mM+GLP-1
# p<0.05 vs. 12 mM; # # p<0.01 vs. 12mM
胰岛素分泌量(ng/ml)
100
80
60
40
20
0
**
#
#
#; $$
1.5 mM
12 mM
12mM+GLP-1
12mM+ JK12
12mM+ JK16
12mM+ JK1

图 7

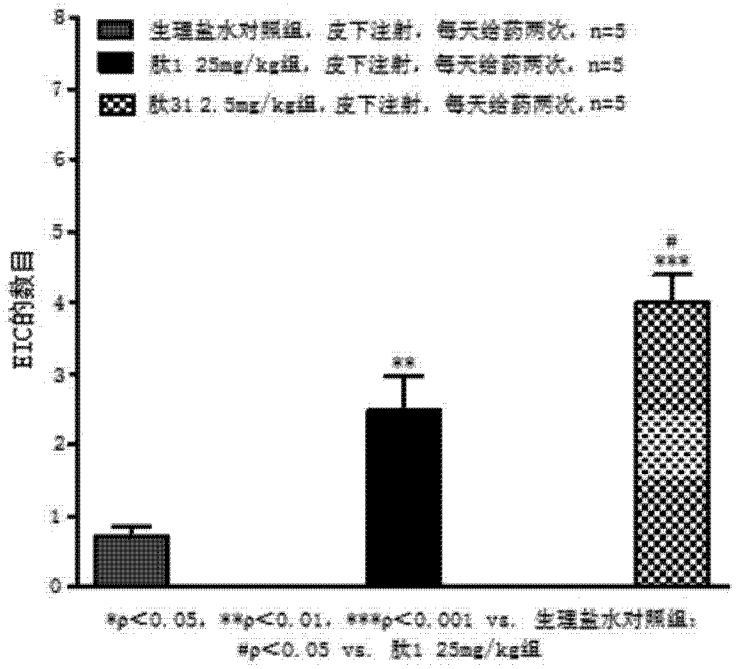

生理盐水对照组，皮下注射，每天给药两次，n=5
肽1 25mg/kg组，皮下注射，每天给药两次，n=5
肽31 2.5mg/kg组，皮下注射，每天给药两次，n=5
EIC的数目
8
7
6
5
4
3
2
1
0
**
#
***
*p<0.05，**p<0.01，***p<0.001 vs. 生理盐水对照组；
#p<0.05 vs. 肽1 25mg/kg组

图 8A

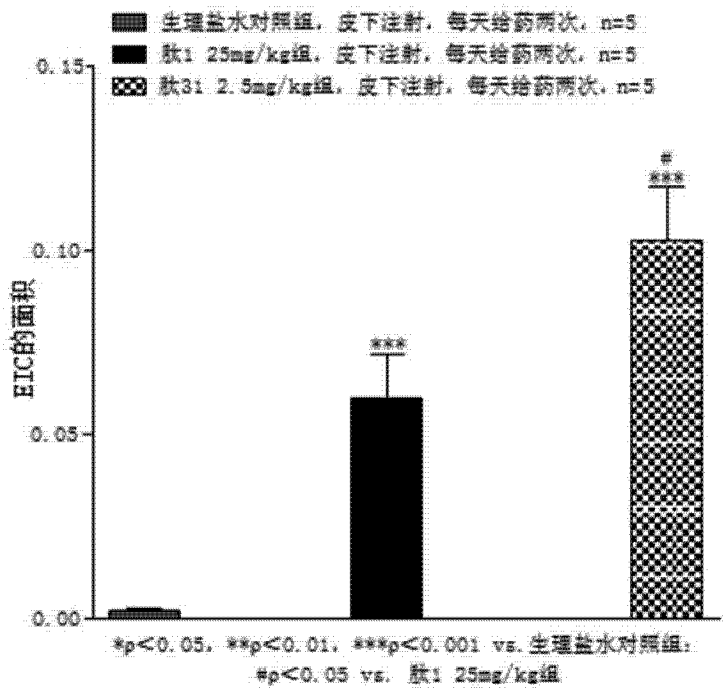

生理盐水对照组，皮下注射，每天给药两次，n=5
肽1 25mg/kg组，皮下注射，每天给药两次，n=5
肽31 2.5mg/kg组，皮下注射，每天给药两次，n=5
EIC的面积
0.15
0.10
0.05
0.00
***
#
***
*p<0.05，**p<0.01，***p<0.001 vs.生理盐水对照组；
#p<0.05 vs. 肽1 25mg/kg组

图 8B

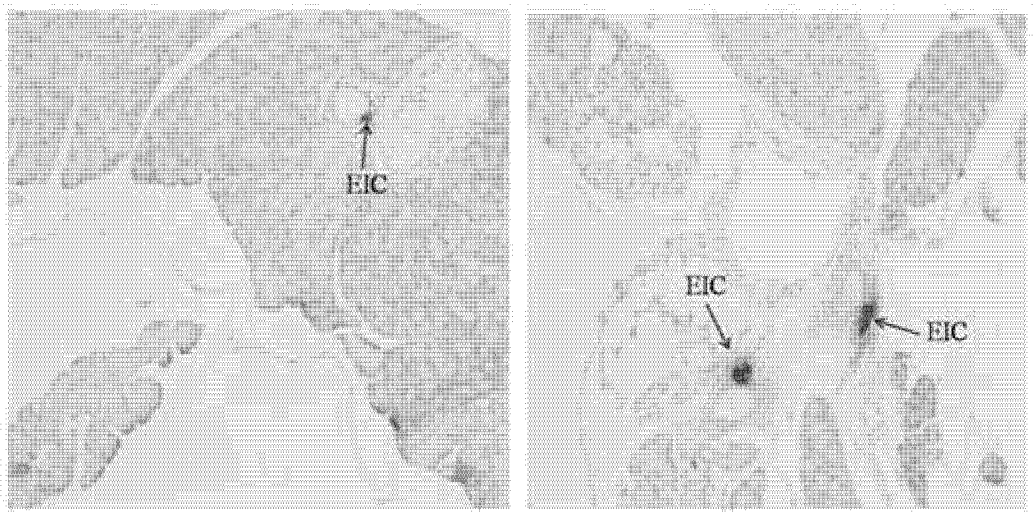

EIC
EIC
EIC

图 8C

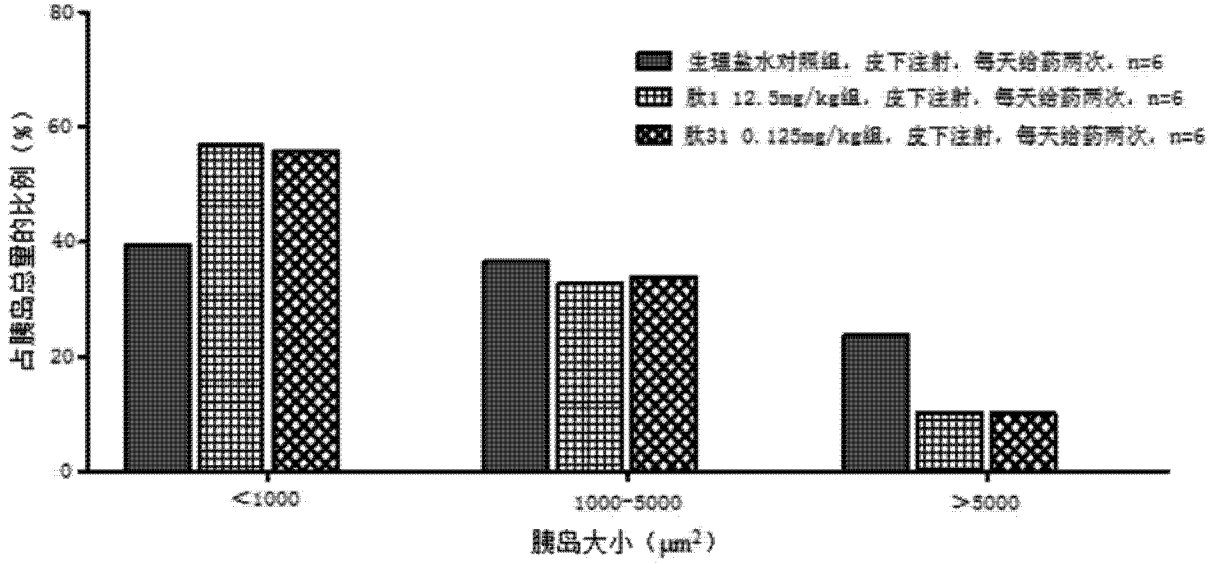

80
60
40
20
0
占胰岛总量的比例（%）
生理盐水对照组，皮下注射，每天给药两次，n=6
肽1 12.5mg/kg组，皮下注射，每天给药两次，n=6
肽31 0.125mg/kg组，皮下注射，每天给药两次，n=6
<1000
1000-5000
>5000
胰岛大小（μm²）

图 9