

(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



(10) 国际公布号

WO 2018/045872 A1

(43) 国际公布日
2018 年 3 月 15 日 (15.03.2018)

(51) 国际专利分类号:

C07K 14/605 (2006.01) A61P 3/10 (2006.01)
A61K 38/26 (2006.01) A61P 3/04 (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2017/098674

(22) 国际申请日: 2017 年 8 月 23 日 (23.08.2017)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:

201610805193.7 2016 年 9 月 6 日 (06.09.2016) CN
201710539987.8 2017 年 7 月 4 日 (04.07.2017) CN
201710714470.8 2017 年 8 月 18 日 (18.08.2017) 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)。潘怡 (PAN, Yi); 中国江苏省南京市鼓楼区童家巷 24 号科研大楼, Jiangsu 210009 (CN)。邢芸 (XING,

Yun); 中国江苏省南京市鼓楼区童家巷 24 号科研大楼, Jiangsu 210009 (CN)。申育萌 (SHEN, Yumeng); 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 210042 (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,

(54) Title: POLYPEPTIDE AND USES THEREOF

(54) 发明名称: 一种多肽及其用途

(57) Abstract: A polypeptide, the amino acid sequence thereof being: HGEGTFTSDVSSYLEGQAAKEFIAWLKGRGSSGAPPPS. Uses of the polypeptide are: uses in preparing a medicament or pharmaceutical composition for treating or preventing diabetes, uses in preparing a medicament or pharmaceutical composition for weight loss, and uses in preparing a medicament or pharmaceutical composition for preventing or treating fatty liver disease. The polypeptide effectively exerts glucose-dependent insulin secretion effects; reduces blood sugar, and suppresses food intake with respect to an STZ diabetic model mouse, thus allowing same to maintain a great pancreatic islet morphology, increasing the area of the pancreatic islet thereof, and increasing the level of C-peptide, with sugar-reducing effects being significantly greater than those of exenatide and GLP-1; effectively reduces the fasting blood sugar of a db/db mouse, with effects significantly greater than those of GLP-1; and is efficacious with respect to fatty liver disease and obesity.

(57) 摘要: 一种多肽, 其氨基酸序列为: HGEGTFTSDVSSYLEGQAAKEFIAWLKGRGSSGAPPPS。该多肽的用途为: 用于制备治疗或预防糖尿病药物或药物组合物的用途, 用于制备减肥药物或药物组合物的用途, 以及用于制备预防或治疗脂肪肝病药物或药物组合物的用途。该多肽能够有效地发挥糖依赖性促胰岛素分泌作用; 针对 STZ 糖尿病模型小鼠, 能降低其血糖, 抑制其进食, 使其保持良好的胰岛形态, 增加其胰岛面积, 增加其 C 肽水平, 且降糖作用明显优于艾塞那肽和 GLP-1; 能有效地降低 db/db 小鼠的空腹血糖, 作用明显优于 GLP-1; 对脂肪肝病和肥胖症具有疗效。

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))。
- 包括说明书序列表部分(细则5.2(a))。

一种多肽及其用途

技术领域

本发明涉及一种多肽及其用途，具体而言涉及多肽 P8，其用途包括：用于制备预防或治疗糖尿病药物的用途、用于制备预防或治疗脂肪肝病药物的用途、以及用于制备减肥药物的用途，属于生化药学技术领域。

背景技术

据发明人了解，糖尿病是一种以慢性高血糖为特征的代谢紊乱综合征，目前认为遗传和环境的相互作用是主要诱因，但是其发病机理尚未完全明确。糖尿病可分为 4 型：1 型糖尿病、2 型糖尿病、妊娠期糖尿病和其他类型糖尿病。1 型糖尿病 (Type 1 diabetes mellitus, T1DM) 是一种自身免疫性疾病，由于对自身抗体耐受性的丧失使胰岛 β 细胞损伤，机体无法产生足够的胰岛素，胰岛素绝对缺乏，引起血糖升高，故患者一旦发病需终生注射胰岛素。2 型糖尿病 (Type 2 diabetes mellitus, T2DM)，又被称之为非胰岛素依赖糖尿病，缘于 β 细胞功能低下，胰岛素相对缺乏和胰岛素抵抗。近年来，2 型糖尿病的患病率逐渐增加，据世界卫生组织预测，2030 年，全球将有 3 亿 2 型糖尿病患者。目前，针对 2 型糖尿病的治疗药物主要是口服降糖药和胰岛素。虽然该类药物能有效降低血糖，并改善患者症状，但仍然存在低血糖和体重增加等缺陷。此外，随着糖尿病病程的延长，该类药物均不能阻止患者 β 细胞的恶化。

脂肪肝又称脂肪性肝病，是指由于各种原因引起的肝细胞内脂肪堆积过多的病变，该病正严重威胁国人的健康，成为仅次于病毒性肝炎的第二大肝病。脂肪肝是一种常见的临床现象，而非一种独立的疾病，其临床表现轻者无症状，重者病情凶猛。一般而言，脂肪肝属可逆性疾病，早期诊断并及时治疗常可恢复正常。

肥胖症在全球范围内已成为一种严重威胁健康的流行病，无论是发达国家还是发展中国家均面临着肥胖症加速发展的困扰，随之带来巨大的医疗费用和社会负担。据统计，目前全球已有 15 亿超重和 5 亿肥胖患者。对于这些 BMI 指数高的人群来说，肥胖会引发其他一些疾病发病率的上升，其中最为显著的是心血管疾病、糖尿病和癌症。

关于肥胖的医学治疗手段主要有外科手术和药物治疗两种，通过减肥手术减少胃的大小、增加饱胀感、减少食物摄取的量，从而达到减肥的效果，但是减肥手术有严重的手术和代谢并发症的风险，而且手术非常昂贵，因此药物治疗是更主要的选择。

在针对糖尿病的研究成果中，胰高血糖素样肽-1 (glucagon-like peptide-1, GLP-1) 是由胰高血糖素原基因编码，后经加工修饰得到的 30 个氨基酸的肠降血糖素 (incretin)；主要由小肠黏膜的 L 细胞合成并分泌，在胰岛的 α 细胞也有表达。GLP-1 具有两种生物活性形式，GLP-1 (7-37) 和 GLP-1 (7-36) 酰胺，血液循环中主要以 GLP-1 (7-36) 酰胺的活性形式存在，两者具有共同的生物学活性。

天然人 GLP-1 的稳定性较差，易被二肽基肽酶 IV (DPP IV) 降解，并快速被肾脏清除，其半衰期 $t_{1/2} \leq 2\text{min}$ 。GLP-1 经 DPP IV 切割掉 N 末端 His-Ala，生成 GLP-1 (9-36) 氨基多肽，最初研究认为，GLP-1 (9-36) 氨基多肽不具有生物学活性，而且对 GLP-1 受体 (GLP-1R)

还具有一定的拮抗作用，近些年发现 GLP-1（9-36）氨基多肽具有类胰岛素的作用。

GLP-1 的生理作用主要包括三个部分，一是通过与 GLP-1R 结合，发挥生理学效应，包括：①葡萄糖依赖性促胰岛素分泌；②抑制胰高血糖素分泌；③延迟胃排空，降低食欲，减少饮食，控制体重；④抑制 β 细胞凋亡，促进 β 细胞增值和分化。二是，GLP-1 经过 DPP IV 降解，生成 GLP-1（9-36）氨基多肽，能够抑制肝脏糖异生酶和脂肪酸合酶的表达，抑制糖异生和肝脏脂肪合成，发挥类胰岛素作用。三是 GLP-1(9-36)氨基多肽经过肽链内切酶（NEP 24.11）切割成 GLP-1（32-36）氨基 5 肽，在肥胖型小鼠上增加能量消耗，抑制体重增长。

发明人在针对糖尿病的研究中研制出了多肽 P8，并在后续研究中进一步发现多肽 P8 还具有治疗脂肪肝和肥胖症的功能。

发明内容

本发明所要解决的技术问题是：针对现有技术存在的问题，提供一种多肽，即多肽 P8，能治疗糖尿病、脂肪肝和肥胖症；并在此基础上，进一步提供该多肽的多种用途。

本发明的技术方案如下：

一种多肽，其特征是，该多肽的氨基酸序列为：

HGEGTFTSDVSSYLEGQAAKEFIAWLVKGRGSSGAPPPS。

上述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。

上述多肽用于制备减肥药物或药物组合物的用途。

上述多肽用于制备预防或治疗脂肪肝病药物或药物组合物的用途。

上述用途中，所述脂肪肝病为非酒精性脂肪肝。

上述用途中，所述药物组合物包括该多肽自身或其药用盐。

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。

发明人在实践研究中，将 GLP-1 的野生型进行改造：第 2 位的氨基酸由 Ala 替换成 Gly，在 GLP-1 的末尾添加 Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser，序列如下：

GLP-1: HAEGTFTSDVSSYLEGQAAKEFIAWLVKGRG

P8: H[G]EGTFTSDVSSYLEGQAAKEFIAWLVKGRG[SSGAPPPS]。

本发明通过氨基酸替换和末尾添加小肽，构建了一种降糖肽 P8。实验结果证明 P8 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，保持良好的胰岛形态（HE 染色），增加 STZ 糖尿病模型小鼠的胰岛面积（免疫染色，并累计面积），增加 STZ 糖尿病模型小鼠的 C 肽水平，其降糖作用明显优于艾塞那肽和 GLP-1；P8 肽能够有效地降低 db/db 小鼠的空腹血糖，作用明显优于 GLP-1。

在进一步地实践研究中，发明人为筛选出能用于制备预防或治疗脂肪肝病药物的多肽，尝试了若干已研发出的多肽，并发现先前获得的降糖调脂肽 P8 符合要求。多肽 P8 经实验确证对脂肪肝病具有疗效，这不仅为多肽 P8 开发出新的用途，也为脂肪肝病找到了新的治疗药

剂。

在进一步地实践研究中,发明人为筛选出能用于制备减肥药物的多肽,尝试了若干已研发出的多肽,并发现先前获得的降糖调脂肽 P8 符合要求。多肽 P8 经实验确证对肥胖症具有疗效,这不仅为多肽 P8 开发出新的用途,也为肥胖症找到了新的治疗药剂。

附图说明

图 1 为本发明实施例 1 中多肽 P8 的糖依赖性的促胰岛素分泌作用 (IPTGG) 结果图。

图 2 为本发明实施例 2 中多肽 P8 对 STZ 糖尿病模型小鼠累计进食的影响结果图。

图 3 为本发明实施例 2 中多肽 P8 对 STZ 糖尿病模型小鼠血糖的影响结果图。

图 4 为本发明实施例 2 中多肽 P8 对 STZ 糖尿病模型小鼠甘油三酯和游离脂肪酸的影响结果图。

图 5 为本发明实施例 2 中多肽 P8 对 STZ 糖尿病模型小鼠胰岛形态 (HE 染色) 的影响结果图。

图 6 为本发明实施例 2 中多肽 P8 对 STZ 糖尿病模型小鼠胰岛面积的影响结果图。

图 7 为本发明实施例 2 中多肽 P8 对 STZ 糖尿病模型小鼠的 C 肽水平的影响结果图。

图 8 为本发明实施例 3 中多肽 P8 对 db/db 糖尿病模型小鼠的血糖的影响结果图。图中,用*表示 P8 组与 vehicle 组比较的显著性, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$; 用#表示 Exendin-4 与 vehicle 组比较的显著性, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$, ### $P < 0.001$; 用\$表示 P8 组与 GLP-1 组比较的显著性, \$ $P < 0.05$, \$\$ $P < 0.01$, \$\$\$ $P < 0.001$ 。

图 9 为本发明实施例 3 中多肽 P8 对 db/db 糖尿病模型小鼠的胰岛素耐量的影响结果图。

图 10 为本发明实施例 4 中判断造模是否成功时小鼠的血清检测结果示意图。其中, NC 为标准普通饲料喂养组小鼠, HFD 为高脂饲料喂养组小鼠。

图 11 为本发明实施例 4 中判断造模是否成功时小鼠肝组织 HE 染色的结果示意图。其中, NC 为标准普通饲料喂养组小鼠, HFD 为高脂饲料喂养组小鼠。

图 12 为本发明实施例 4 中溶剂对照组小鼠和 P8 干预组小鼠的血清检测结果示意图。其中, HFD 为溶剂对照组小鼠, P8 为 P8 干预组小鼠。

图 13 为本发明实施例 4 中溶剂对照组小鼠和 P8 干预组小鼠的肝组织 HE 染色结果示意图。其中, HFD 为溶剂对照组小鼠, P8 为 P8 干预组小鼠。

图 14 至图 17 分别为本发明实施例 5 在干预过程中小鼠体重重量、体重百分比、累积进食量、空腹血糖的变化曲线。

图 18、图 19 分别为本发明实施例 5 干预后小鼠的空腹糖耐量结果曲线、空腹胰岛素耐量结果曲线。

图 20 为本发明实施例 5 干预后小鼠的耗氧量结果曲线。

图 21 和图 22 分别为本发明实施例 5 干预后小鼠的 MRI 扫描图像显示结果、根据 MRI 扫描结果计算得出的统计结果。

以上各图中, Vehicle 或 Ve 表示溶剂对照组, P8 表示 P8 干预组, Exendin-4 或 Ex4 表示

Exendin-4 干预组。除图 8、图 10 以及图 12 外，用*表示与 vehicle 组比较的显著性，* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$ ，*** $P < 0.001$ 。

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：多肽 P8 的糖依赖性的促胰岛素分泌作用（IPTGG）

40 只 8 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）。随机分为 4 组，每组 10 只，分别为溶剂对照组（阴性对照组）、Exendin-4 组（阳性对照组）、GLP-1 组（阳性对照组）、P8 组（实验组）。腹腔糖耐量过程如下：c57 小鼠空腹 12 小时，测空腹血糖，分别注射肽或者溶剂，30 分钟注射葡萄糖（1.5g/kg），之后分别在注射糖之后 15、30、60、120 分钟检测血糖，并分别计算曲线下面积。结果如图 1 所示，P8 具有葡萄糖依赖性的促胰岛素分泌功能，与溶剂组和 GLP-1 组均具有显著性差异，与 Exendin-4 组效果一样。

实施例 2：多肽 P8 的药效学评价一

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）、Exendin-4 组（阳性对照组）、GLP-1 组（阳性对照组）、P8 组（实验组）。给药剂量为 25 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 1 天或 2 天检测剩食量，并继续添加新的鼠粮，并记录，依次类推，到 5 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 2 所示，P8 组累计进食明显少于溶剂对照组、GLP-1 组和 Exendin-4 组，具有明显的抑制进食效果。

3、对 STZ 糖尿病模型小鼠血糖的影响

小鼠空腹 8 小时，AM 8:00 开始禁食，PM 4:00，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、5 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 3 所示，P8 组能够显著降低 STZ 糖尿病模型小鼠的空腹血糖，明显优于 GLP-1 组和 Exendin-4 组，到第 5 周，与溶剂对照组比较， $p \leq 0.01$ ，具有显著性差异。

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 5 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 4 所示。结果显示, 血清甘油三酯水平, P8 组与溶剂对照组比较, $p \leq 0.001$, 具有极显著性差异; Exendin-4 组与溶剂对照组比较具有显著性差异, $p \leq 0.01$; GLP-1 与溶剂对照组比较, 无明显差异性; 血清游离脂肪酸水平, P8 组与溶剂对照组比较具有显著性差异, $p \leq 0.01$; GLP-1 组、Exendin-4 组与溶剂对照组比较, 无显著性差异。结果说明, 多肽 P8 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, 优于 GLP-1 组、Exendin-4 组。

5、对 STZ 糖尿病模型小鼠胰岛形态 (HE 染色) 的影响

给药 5 周后, 处死小鼠, 取胰腺, 用福尔马林固定, 经 HE 染色后, 观察胰岛形态, 结果如图 5 所示。溶剂对照组胰岛损伤严重, 几乎看不到完整的胰岛结构, GLP-1 组、Exendin-4 组和 P8 组胰岛形态得到明显改善, 可以观察到细胞着色浅、排列呈团索状的胰岛结构。说明 GLP-1 组、Exendin-4 组和 P8 组均能改善胰岛形态。

6、对 STZ 糖尿病模型小鼠胰岛面积的影响

给药 5 周后, 处死小鼠, 取胰腺, 福尔马林固定, 免疫染色 (insulin、ki67), 结果如图 6 所示。免疫染色图片显示, 溶剂对照组胰岛 β 细胞很少 (STZ 损伤诱导 β -细胞死亡), 而 GLP-1 组、Exendin-4 组和 P8 组胰岛 β 细胞增多, 说明 P8 组能够明显增加胰岛 β 细胞量, 增加胰岛 β 细胞面积。

7、对 STZ 糖尿病模型小鼠的 C 肽水平的影响

给药 5 周后, 眼眶取血, 静置收集血清, 试剂盒检测 C 肽水平, 结果如图 7 所示。结果显示, P8 组与溶剂对照组存在显著差异, $p \leq 0.05$; GLP-1 组、Exendin-4 组与溶剂对照组比较, 无明显差异, 说明 P8 处理后能够明显降低 STZ 糖尿病模型小鼠的 C 肽水平, 优于 GLP-1 组、Exendin-4 组。

实施例 3: 多肽 P8 的药效学评价二

1、对 db/db 糖尿病模型小鼠血糖的影响

24 只 6 周龄的雄性 db/db 小鼠 (购自南京大学, 许可证号: SCXK (苏) 2015-00001), 适应性饲养 1 周。从第 7 周开始检查血糖, AM 8:00 开始禁食, AM 12:00 尾静脉检测血糖, 检测用血糖检测仪 (欧姆龙血糖仪 HEA-231 型)。第 9 周时, 将小鼠随机分为 4 组, 每组 6 只, 分别为溶剂对照组 (阴性对照组)、Exendin-4 组 (阳性对照组)、GLP-1 组 (阳性对照组)、P8 组 (实验组), 开始给药, 并检测血糖。第 10 周时, 结果如图 8 所示, 与溶剂对照组、GLP-1 组相比, Exendin-4 组和 P8 组的血糖显著降低, 分别为 $p \leq 0.001$ 和 $p \leq 0.05$, 并持续维持较低的血糖水平; P8 组与溶剂对照组比较存在显著差异, 降糖明显优于 GLP-1 组, 与 Exendin-4 组基本持平。

2、对 db/db 糖尿病模型小鼠胰岛素耐量的影响

第 16 周, 小鼠空腹 8 小时, AM 8:00 开始禁食, PM 4:00, 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), 检测空腹血糖, 作为胰岛素耐量的 0 点血糖, 按 1 IU/kg 的剂量皮下注射胰岛素, 之后分别在注射胰岛素之后 15、30、60、90、120 分钟检

测血糖，并分别计算曲线下面积。结果如图 9 所示，多肽 P8 显著改善胰岛素耐量，与溶剂对照组和 GLP-1 组均具有显著性差异，与 Exendin-4 组效果一样。

临床证实 GLP-1 类似物能够明显的降低 2 型糖尿病病人的血糖，抑制进食，降低糖化血红蛋白等，同时，GLP-1 及其类似物能够降低 1 型糖尿病病人的血糖，降低糖化血红蛋白，但是有些个体存在体重减轻的不利因素。本发明将 GLP-1 的第 2 位的氨基酸由 Ala 替换成 Gly，在 GLP-1 的末尾添加 Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser，起到了降低 1 型糖尿病和 2 型糖尿病小鼠血糖的作用。

实施例 4：多肽 P8 对脂肪肝模型小鼠的影响

40 只雄性 c57 小鼠适应性喂养 1 周，随机分为两组，标准普通饲料喂养 10 只，高脂饲料喂养 30 只，各组均自由饮水。

(1) 判断造模是否成功

在第 12 周末，两组分别随机抽取 1 只小鼠，禁食 12 h 后，眼眶取血检测血清谷丙转氨酶 (ALT)、谷草转氨酶 (AST)、甘油三酯 (TG) 和总胆固醇 (TC)，取血后迅速取出肝脏病理切片，HE 染色观察肝组织脂肪变情况。

结果如图 10 和图 11 所示，高脂饲料喂养组小鼠的血清谷丙转氨酶 (ALT)、谷草转氨酶 (AST)、甘油三酯 (TG) 和总胆固醇 (TC) 均异常升高，且肝组织 HE 染色有大量脂滴形成，由此可确定脂肪肝模型小鼠造模成功。因此，将高脂饲料喂养组定为模型组。

(2) 多肽 P8 给药后对模型组小鼠的影响

自第 13 周开始，将普通饲料喂养组 9 只小鼠继续予普通饲料喂养作为正常对照组 (NC 组)，将高脂饲料喂养组中取 20 只小鼠并随机分为 2 组，其中 1 组为溶剂对照组，1 组为 P8 干预组。

各组分别按下述实验方案进行干预：

正常对照组 (NC 组) 9 只，普通饲料喂养+生理盐水 0.2 ml/kg 腹腔注射，时长 6 周；溶剂对照组 (HFD 组) 10 只，高脂饲料喂养+生理盐水 0.2 ml/kg 腹腔注射，时长 6 周；P8 干预组 (HFD+P8 组) 10 只，高脂饲料喂养+P8 肽 50 nmol/kg，0.2 ml/kg 腹腔注射，时长 6 周。

干预结束后，将各组小鼠禁食 12 h 后，眼眶取血检测血清谷丙转氨酶 (ALT)、谷草转氨酶 (AST)、甘油三酯 (TG) 和总胆固醇 (TC)，取血后迅速取出肝脏病理切片，HE 染色观察肝组织脂肪变情况。

结果表明，正常对照组小鼠的血清谷丙转氨酶 (ALT)、谷草转氨酶 (AST)、甘油三酯 (TG) 和总胆固醇 (TC) 与图 10 中 NC 组保持一致，肝组织 HE 染色结果与图 11 中 NC 组保持一致。

如图 12 所示，与溶剂对照组相比，在给药 6 周后，P8 干预组小鼠血清中的 ALT、AST、TG、TC 均显著降低 ($P < 0.001$) 具有显著性差异。

如图 13 所示，在干预 6 周后，溶剂对照组的肝细胞弥漫小泡性脂肪空泡变性、重度水

样变性，细胞核被挤压变形部分消失，肝细胞索紊乱，但未见明显炎症、纤维化、坏死等病灶；与溶剂对照组相比，P8 干预组大鼠的肝脏组织肝脏组织结构正常，肝小叶结构明显，肝细胞索呈放射状排列，肝细胞内未见气球样变性，几乎接近正常小鼠肝脏结构。

由此可见，多肽 P8 具有预防或治疗脂肪肝的作用。

实施例 5：多肽 P8 对肥胖模型小鼠的影响

若干雄性 c57 小鼠适应性喂养 1 周，随机分为两组，标准普通饲料喂养 10 只，高脂饲料喂养数量大于 30 只，各组均自由饮水。

（一）选出造模成功的小鼠

在第 12 周末，高脂饲料喂养组小鼠中，空腹体重大于等于 35g（即超过标准普通饲料喂养组小鼠平均体重的 20%）的小鼠即为肥胖模型小鼠，挑选 30 只作为模型组。

（二）以多肽 P8、Exendin-4 分别对模型组小鼠进行干预

自第 13 周开始，将标准普通饲料喂养组 10 只小鼠继续给予普通饲料喂养作为正常对照组（NC 组），将模型组 30 只小鼠随机分为 3 组，每组 10 只，其中 1 组为溶剂对照组（HFD 组），1 组为 P8 干预组（HFD+P8 组），1 组为 Exendin-4 干预组（HFD+Exendin-4 组）。

各组分别按下述实验方案进行干预：

正常对照组（NC 组）10 只，标准普通饲料喂养，时长 6 周；溶剂对照组（HFD 组）10 只，高脂饲料喂养+生理盐水 0.2 ml/kg 腹腔注射，时长 6 周；P8 干预组（HFD+P8 组）10 只，高脂饲料喂养+P8 肽 50 nmol/kg，0.2 ml/kg 腹腔注射，时长 6 周；Exendin-4 干预组（HFD+Exendin-4 组）10 只，高脂饲料喂养+Exendin-4 肽 50 nmol/kg，0.2 ml/kg 腹腔注射，时长 6 周。本实施例采用多肽 P8：HGEGTFTSDVSSYLEGQAAKEFIAWLVKGRGSSGAPPPS。干预期间注意观察小鼠的毛发改变，食欲、大小便、活动、体重等变化情况。

（三）干预时小鼠空腹血糖、体重、进食量的变化

对（二）中的小鼠，每周检测各小鼠空腹血糖、体重，并对其进食量进行记录。

结果表明，如图 14 至图 17 所示，与对照组相比，P8 组与 Exendin-4 组均能显著降低肥胖小鼠体重，并且其进食量较对照组略有下降；由其空腹血糖可知，肥胖小鼠有轻微高血糖，胰岛素抵抗，经治疗后，P8 组与 Exendin-4 组均使小鼠血糖降至正常。

（四）干预后小鼠的空腹糖耐量及空腹胰岛素耐量

对（二）中的小鼠，在干预结束后，对溶剂对照组、P8 干预组、Exendin-4 干预组分别进行空腹糖耐量及空腹胰岛素耐量检测。

空腹糖耐量检测过程如下：肥胖小鼠空腹 12 h，测空腹血糖，并立即注射葡萄糖（1.0 g/kg），之后分别在注射葡萄糖之后 15、30、45、60、120 min 检测血糖，记录血糖值，绘制曲线，计算曲线下面积。

空腹胰岛素耐量检测过程如下：肥胖小鼠空腹 4 h，测空腹血糖，并立即注射胰岛素（0.5 U/kg），之后分别在注射葡萄糖之后 15、30、45、60 min 检测血糖，记录血糖值，绘制曲线，计算曲线下面积。

空腹糖耐量的结果如图 18 所示, 从葡萄糖耐量实验曲线下面积 (GTT AUC) 来看, P8 组与 Exendin-4 组的曲线下面积均明显小于对照组, 且与对照组比较具有明显差异 (P8: $P<0.005$; Exendin-4: $P<0.001$)。

空腹胰岛素耐量的结果如图 19 所示, 从胰岛素耐量实验曲线下面积 (ITT AUC) 来看, P8 组与 Exendin-4 组的曲线下面积均明显小于对照组, 且与对照组比较具有明显差异 (P8: $P<0.005$; Exendin-4: $P<0.001$)。

结果表明, 肥胖小鼠经过 P8 及 Exendin-4 治疗后, 显著改善葡萄糖耐量和胰岛素耐量, 这说明多肽 P8 可以改善葡萄糖耐量和胰岛素耐量, 增加胰岛素的敏感性。

(五) 干预后小鼠的耗氧量变化

采用开放式 Oxymax 间接测热系统 (美国 Columbus 公司) 采集并分析小鼠代谢指标, 评估小鼠的整体代谢状况。整个实验过程中的饲养条件如下: 1 只/笼; 小鼠高脂饲料, 装于系统自带的进食器中; 小鼠饮用水与常规用水相同, 装于系统自带的饮水瓶中; 6: 00-18: 00 为白昼时间 (开启灯光), 18: 00-6: 00 为夜晚时间 (关闭灯光); 程序运行开始后尽量保持测试房间安静。

取 (二) 中干预结束后的小鼠共 9 只, 溶剂对照组、P8 干预组、Exendin-4 干预组各 3 只, 以备耗氧量变化检测。

为消除环境改变、单笼饲养、饲料性状改变导致的应激反应对小鼠整体代谢情况的影响, 实验正式开始前 3 天, 将 9 只小鼠从日常饲养笼转移至间接测热笼中, 将该时间段作为适应期, 数据弃去不用。正式实验第 1 天的数据弃去不用, 收集第 2 天和第 3 天的数据, 取其平均值计入统计分析, 第 4 天进行静息代谢率的测定。

每个测定循环中由系统自带的计算机自动收集数据, 测定顺序为 1 号笼、2 号笼、3 号笼……9 号笼, 每测定 3 个笼子后自动校正 1 次系统各参数, 循环往复。主要数据收集和简要方法如下:

(1). 摄食量 (food intake): 系统自动收集每个循环内进食器的重量变化, 以 12 h 或 24 h 内的累积重量变化值作为昼/夜或全天摄食量, 以小鼠体重进行校正, 单位为克/公斤体重/天 (g/kg per day)。

(2). 氧气消耗量 (oxygen consumption, VO_2): 由系统自动收集小鼠 24 h 内氧气消耗量, 以小鼠瘦体质重量 (lean mass) 进行校正, 单位为毫升/瘦体质重量 (公斤)/小时 (ml/kg lean mass/h)。

结果表明, 在整个测定期间, 三组小鼠的摄食量无显著区别, 这说明能量摄入减少并不是导致肥胖小鼠体重和脂肪含量降低的主要原因。如图 20 所示, 与对照组小鼠相比, P8 组和 Exendin-4 组小鼠昼夜氧气消耗量 (VO_2) 显著增加 ($P<0.05$); 在 24 小时内, P8 组和 Exendin-4 组小鼠的能量消耗值始终高于对照组小鼠。这说明多肽 P8 可以提高小鼠代谢水平。

(六) 干预后小鼠的脂肪量变化

对 (二) 中的小鼠, 在干预结束后, 对溶剂对照组、P8 干预组、Exendin-4 干预组分别

进行如下实验过程。

小鼠身体组成成分分析采用 Lunar PIXImus 密度测量仪 (Lunar 公司) 和双能 X 线吸收测量仪 (DEXA)。所有图像分析均采用呼吸门控法。在整个测试过程中, 小鼠体温用动物保温系统 (SA Instruments 公司) 维持在 37°C。每只小鼠均采集 20 帧冠状面图像和 20 帧轴状面图像, 层厚为 1.0 mm。为了得到更好的脂肪组织对比效果, 采用 T1-weighted spin-echo 成像方法检测, 成像参数为 repetition time (TR)=500 ms, echo time (TE)=10.7 ms, field of view=50.0 × 45.0 mm (冠状面), 45.0 × 45.0 mm (轴状面), matrix size=256 × 256。每只小鼠至少检测两次, 取其均值进入统计分析。

此外, 所有小鼠均进行了磁共振 (MRI) 分析, 所用仪器为 Echo MRI-100 全身组成成分分析仪 (Echo Medicine Systems 公司), 通过全身扫描得到小鼠体脂含量 (fat mass) 和瘦体质 (lean mass) 含量结果, 并计算其与体重的比值。每只小鼠至少检测三次, 取其均值进入统计分析。

结果表明, 与溶剂对照组小鼠相比, P8 组与 Exendin-4 组小鼠腹内脂肪及皮下脂肪均显著减少; 其中, MRI 扫描图像显示结果如图 21 所示, 根据 MRI 扫描结果计算得出的统计结果如图 22 所示。三组小鼠的解剖结果也支持上述结果。

综上所述, P8 组小鼠体重较 Vehicle 组小鼠显著减轻, 且主要和体内脂肪含量减少有关。

以上实验结果表明, 多肽 P8 对肥胖症具有疗效。

序列表

<110> 中国药科大学

<120> 一种多肽及其用途

<160> 1

<210> 1

<211> 39

<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 Ser

20

25

30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser

35

1、一种多肽，其特征是，该多肽的氨基酸序列为：

HGEGTFTSDVSSYLEGQAAKEFIAWLVKGRGSSGAPPPS。

2、权利要求 1 述及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 述及多肽用于制备减肥药物或药物组合物的用途。

5、权利要求 1 述及多肽用于制备预防或治疗脂肪肝药物或药物组合物的用途。

6、根据权利要求 5 述及的用途，其特征是，所述脂肪肝为非酒精性脂肪肝。

7、根据权利要求 2 至 6 任一项述及的用途，其特征是，所述药物组合物包括该多肽自身或其药用盐。

8、根据权利要求 2 至 6 任一项述及的用途，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。

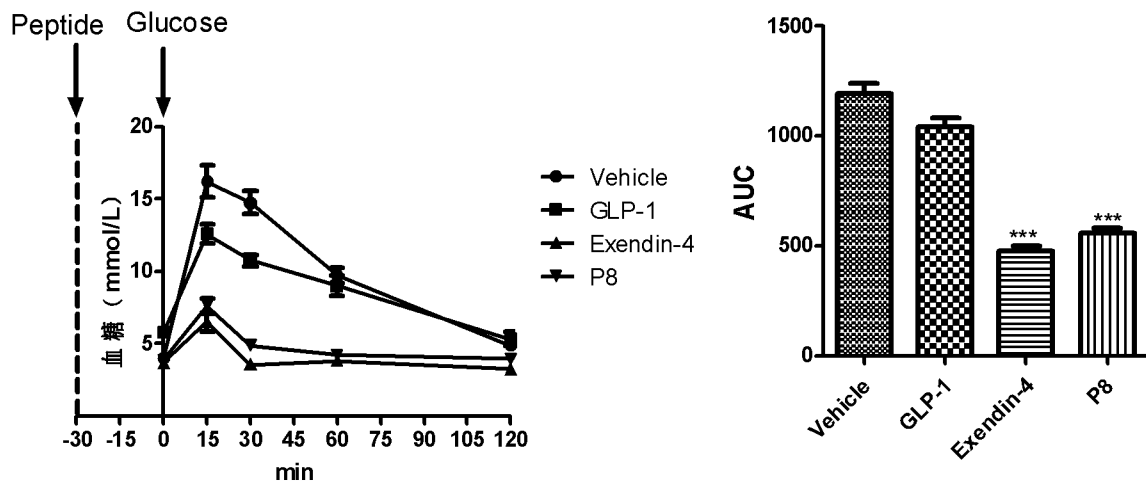


图 1

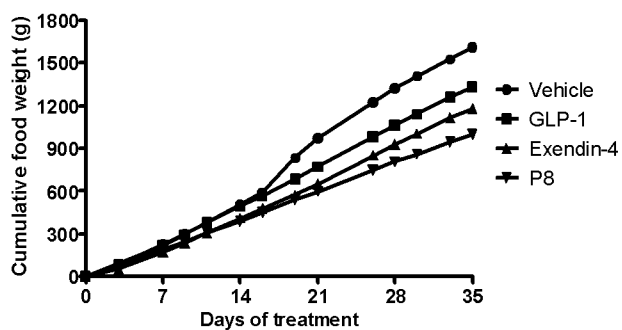


图 2

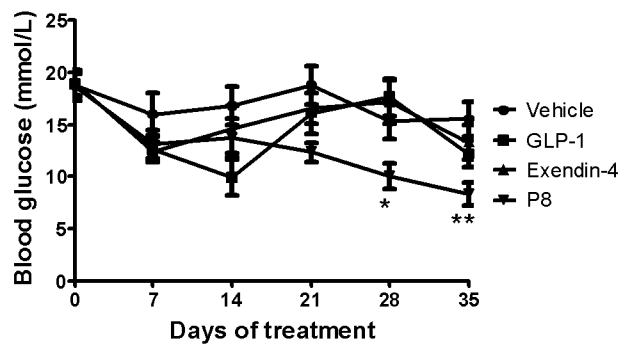


图 3

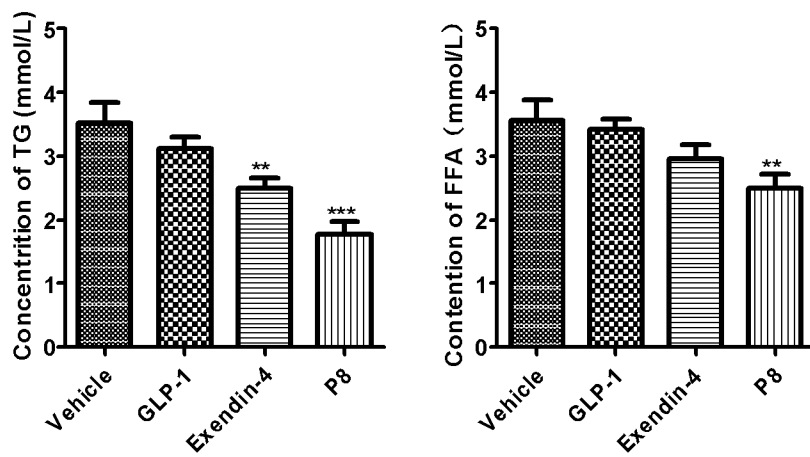


图 4

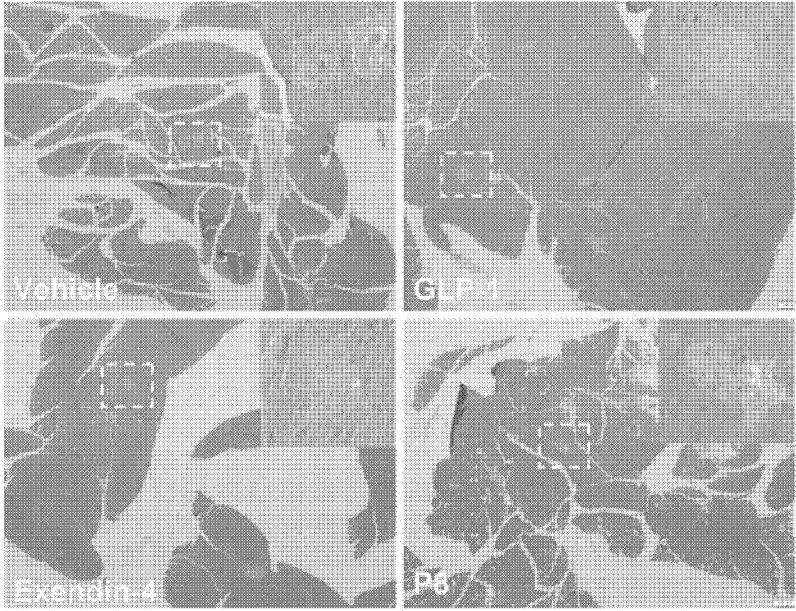


图 5

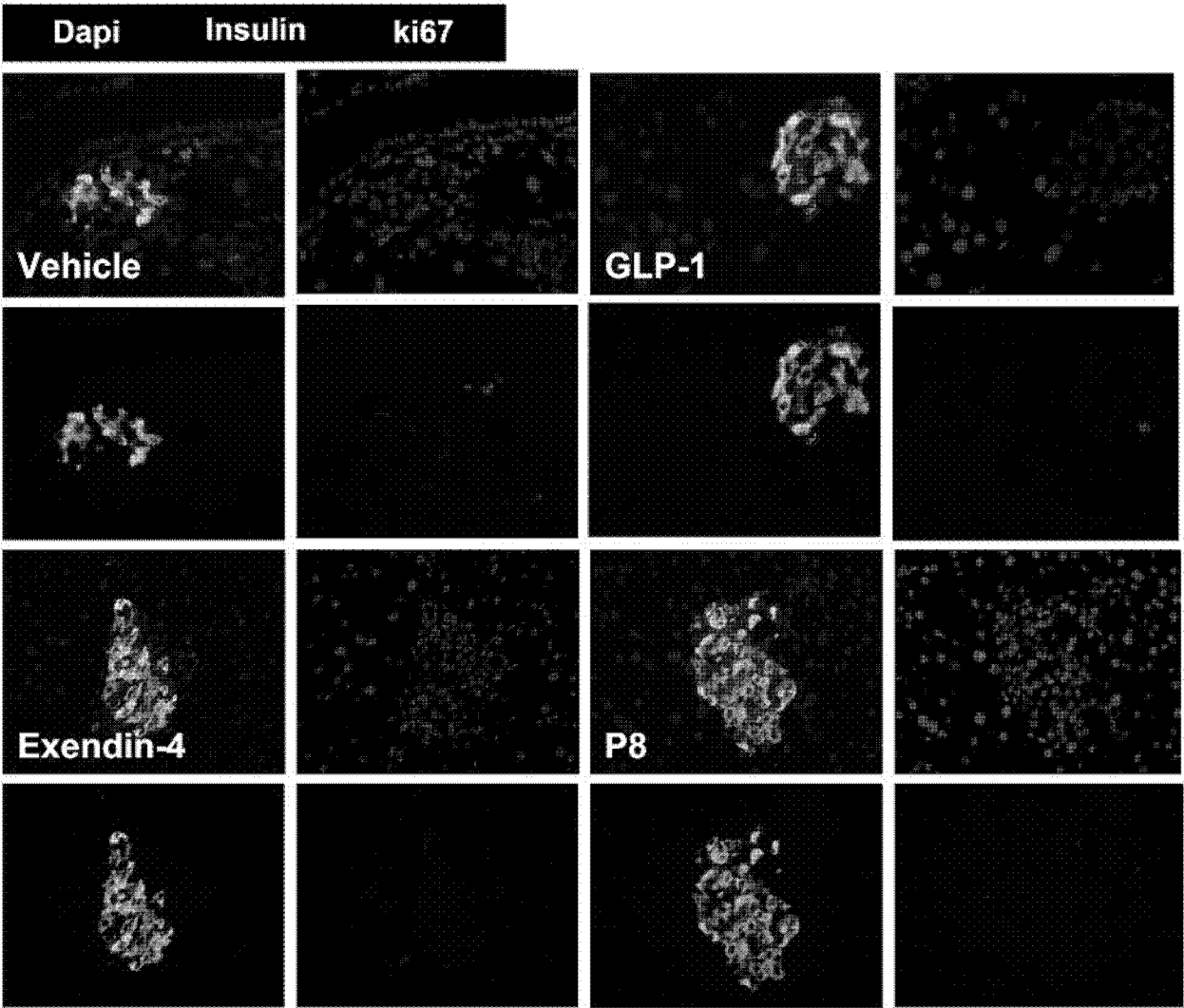


图 6

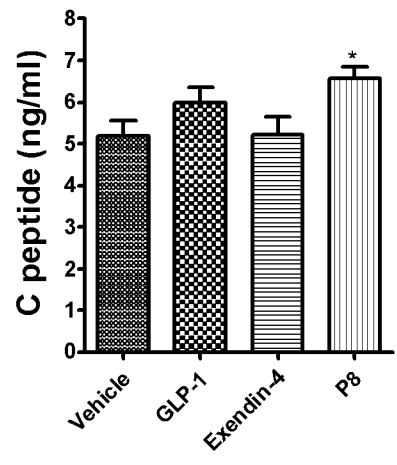


图 7

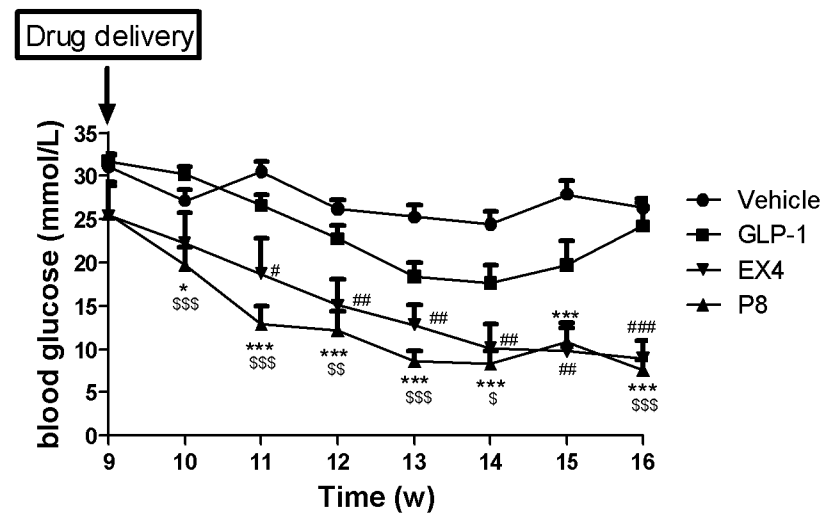


图 8

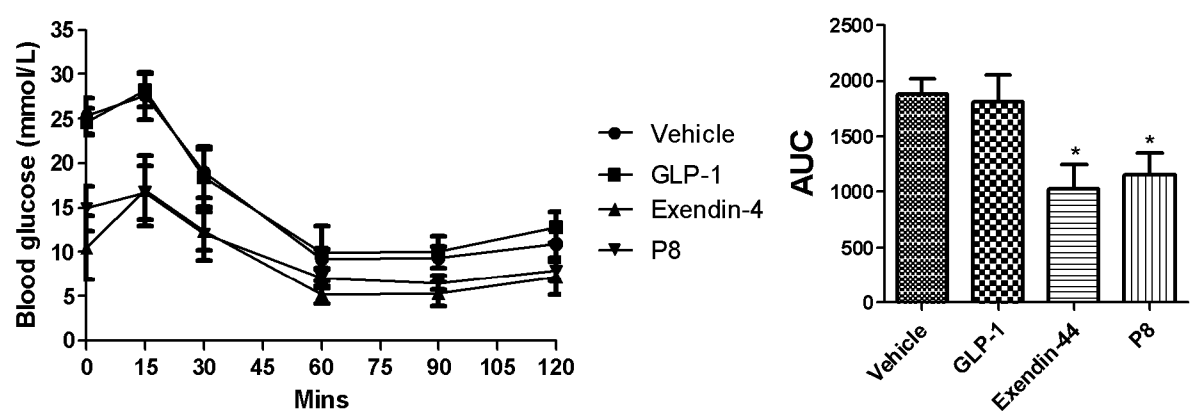


图 9

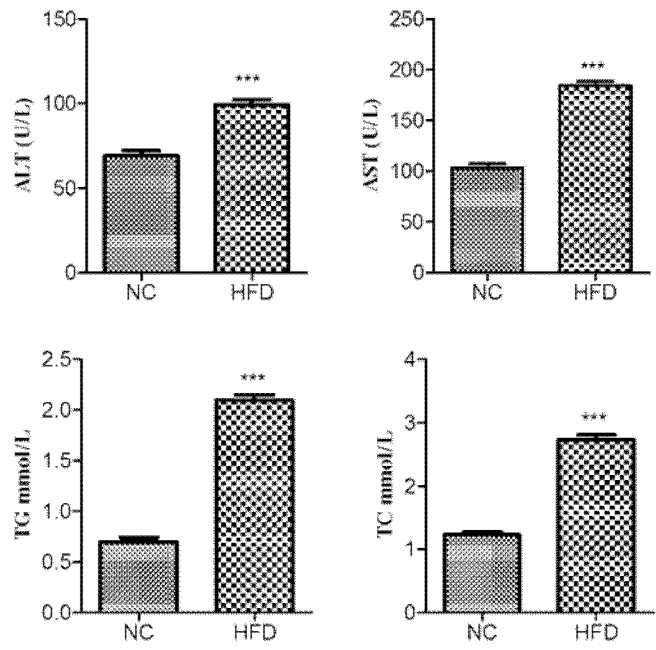


图 10

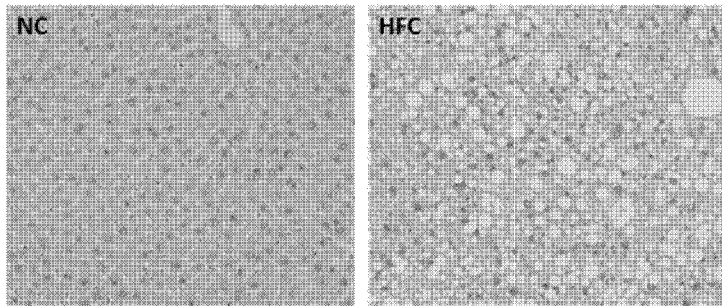


图 11

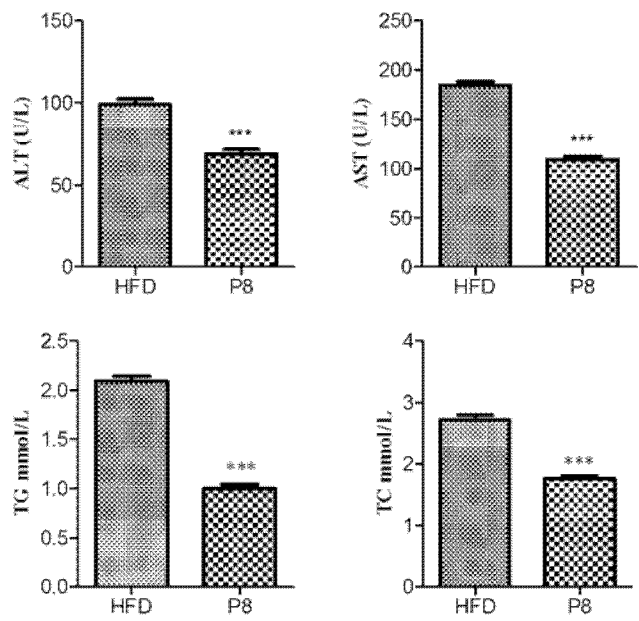


图 12

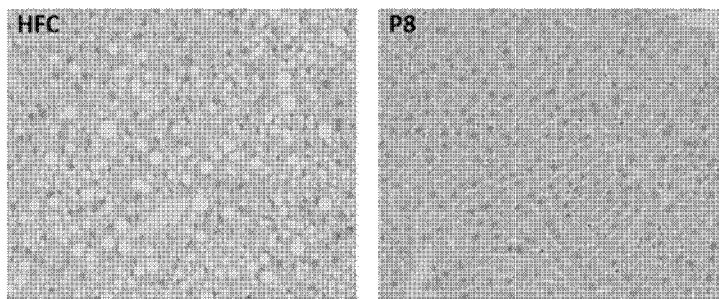


图 13

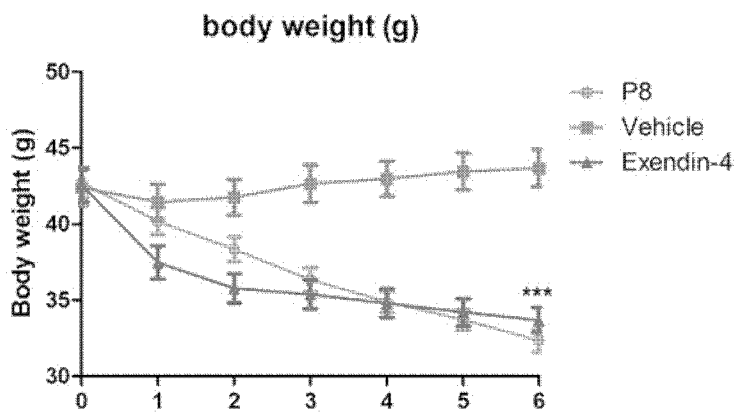


图 14

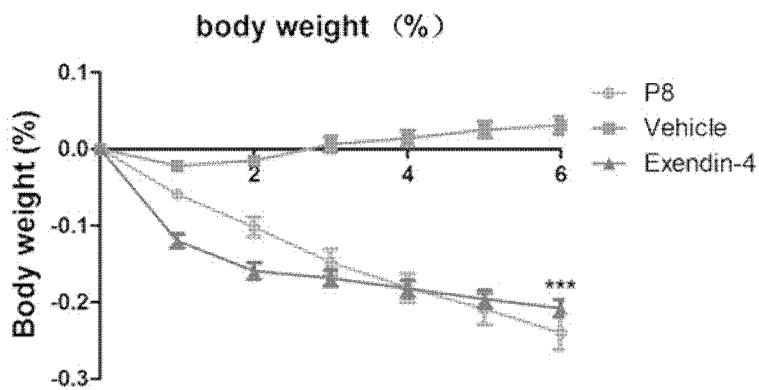


图 15

进食

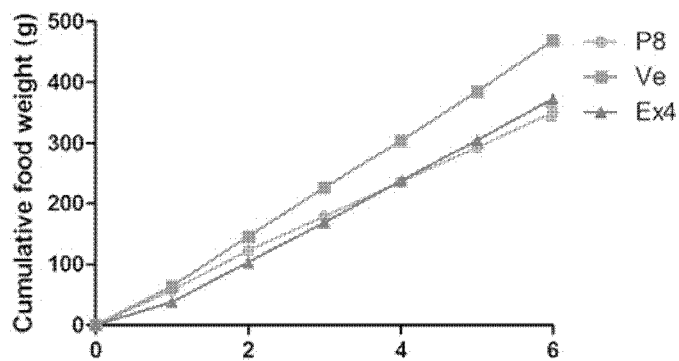


图 16

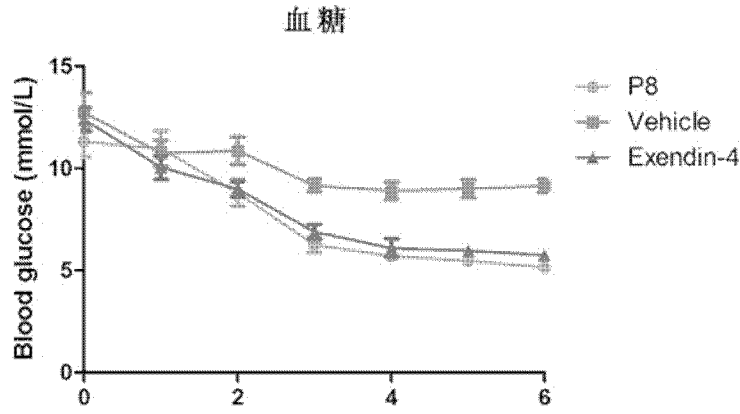


图 17

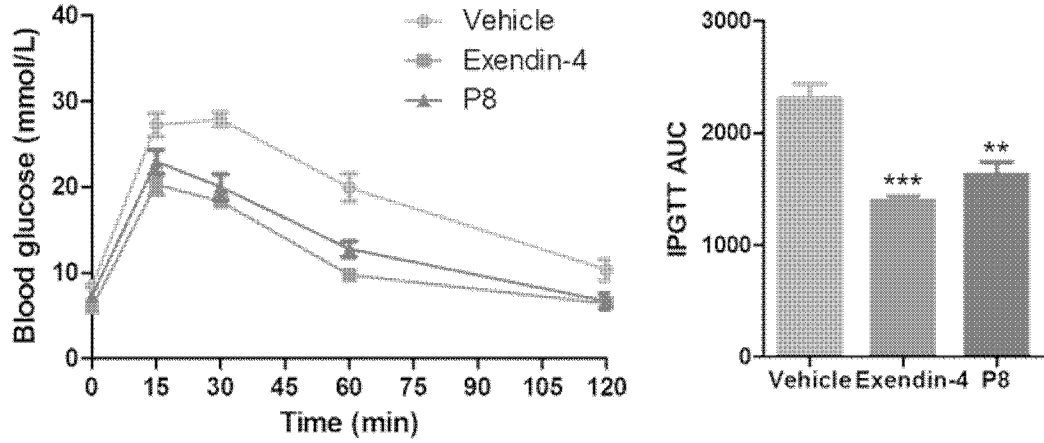


图 18

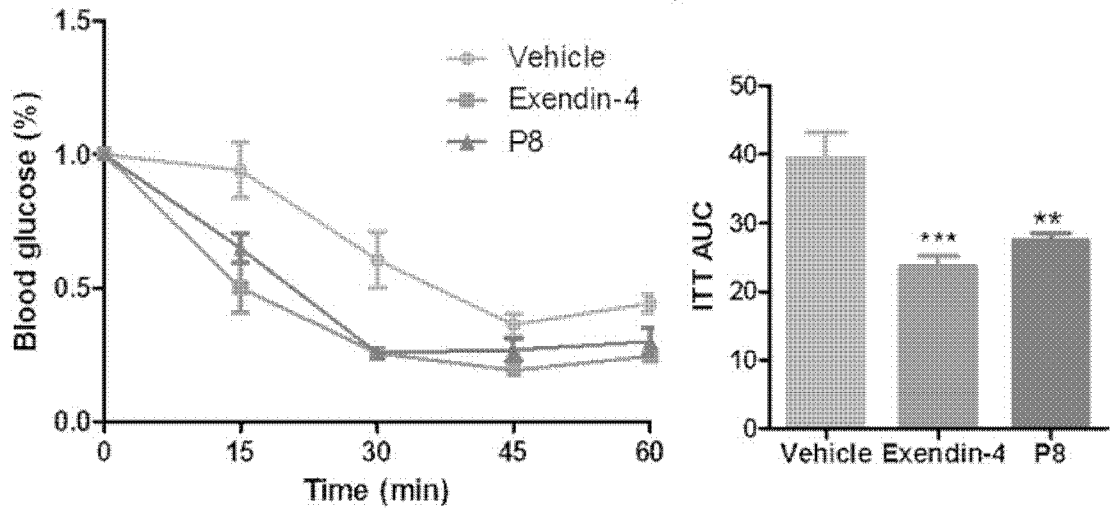


图 19

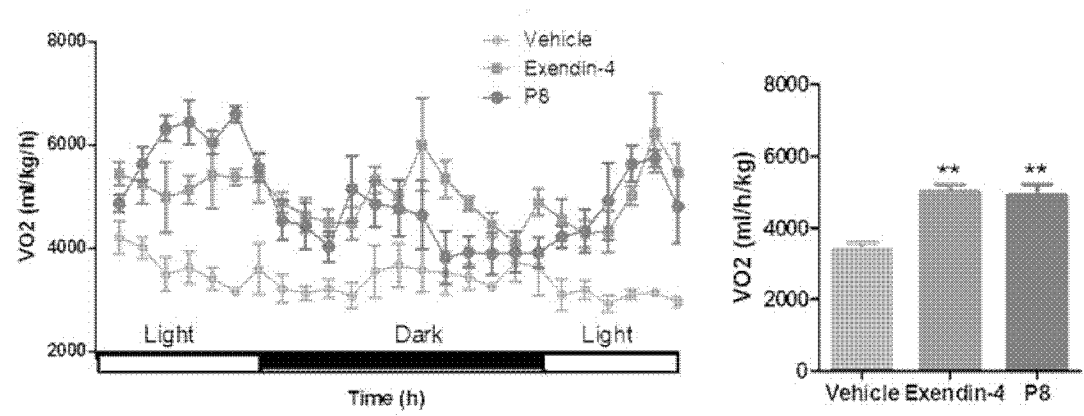


图 20

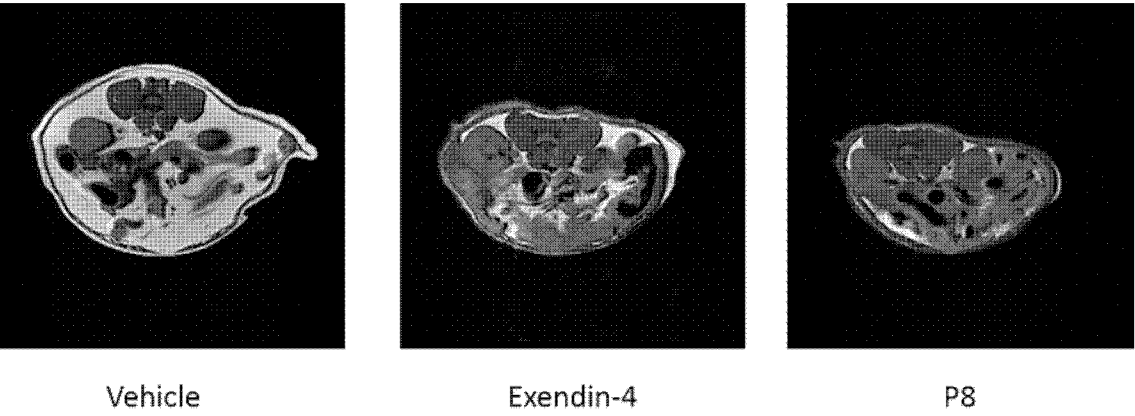


图 21

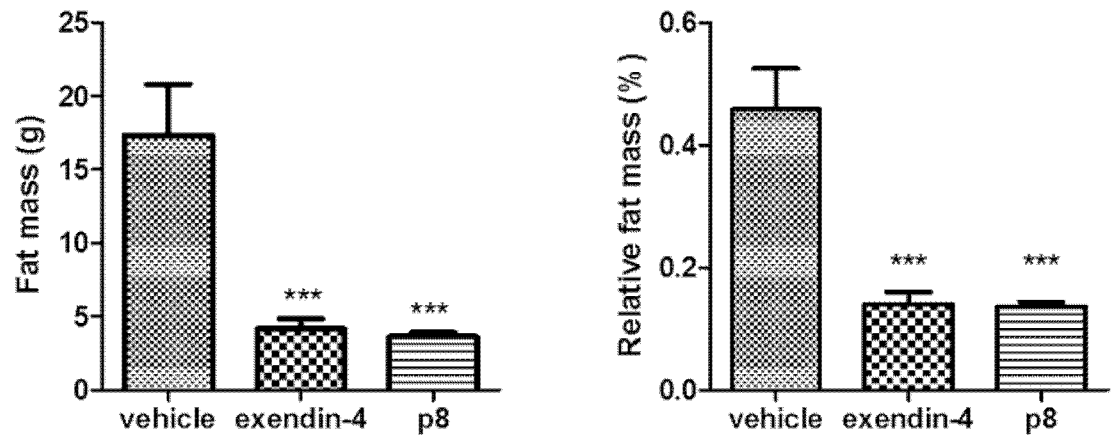


图 22

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2017/098674

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07K 14/605 (2006.01) i; A61K 38/26 (2006.01) i; A61P 3/10 (2006.01) i; A61P 3/04 (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)

CPRSABS; CNABS; DWPI; SIPOABS; VEN; CNKI; CNTXT; WOTXT; EPTXT; USTXT; Pubmed; NCBI Genbank; Uniprot; EBI-EMBL; Google; 申请人/发明人, 序列, 胰高血糖素样肽, 糖尿病, 肥胖, 非酒精性脂肪肝, glucagon-like peptide, GLP-1, diabetes, T1DM, T2DM, fat, obesity, nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
PX	CN 106279400 A (CHINA PHARMACEUTICAL UNIVERSITY), 04 January 2017 (04.01.2017), claims 1-5	1-3, 7-8
X	CN 101712722 A (ELI LILLY AND COMPANY), 26 May 2010 (26.05.2010), claims 1, 17 and 18, and description, paragraph 409	1-4, 7-8
Y	CN 101712722 A (ELI LILLY AND COMPANY), 26 May 2010 (26.05.2010), claims 1, 17 and 18, and description, paragraph 409	5-6
Y	CN 105727261 A (DUKE UNIVERSITY), 06 July 2016 (06.07.2016), description, paragraphs 122-123 and 336, and sequence 59	1-8
Y	CN 105801705 A (TASGEN BIOTECHNOLOGY (TIANJIN) CO., LTD.), 27 July 2016 (27.07.2016), description, paragraphs 44 and 49, and sequence 2	1-8
Y	US 2006205037 A1 (SADEGHI, H. et al.), 14 September 2006 (14.09.2006), description, paragraph 395	1-8
Y	周赛君等, “糖尿病非酒精性脂肪肝防治新进展”, 世界华人消化杂志, 18 November 2015 (18.11.2015), 23(32), pages 5113-5122, (ZHOU, Saijun, et al., “Prevention and Treatment of Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus”, World Chinese Journal of Digestology)	5-6

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	“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
“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	“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
“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date	“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
“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)	“&” document member of the same patent family
“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	

Date of the actual completion of the international search 31 October 2017	Date of mailing of the international search report 17 November 2017
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 GUO, Tingting Telephone No. (86-10) 62413879

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2017/098674

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	赵丽娟等, “GLP-1 及其类似物的胰外作用研究进展”, 医学与哲学, 31 January 2015 (31.01.2015), 36(1B), page 94, (ZHAO, Lijuan et al., “Progress of Extrapancratic Effects by GLP-1 and Its Analogues”, Medicine and Philosophy)	5-6
A	WO 2009109927 A2 (TEL HASHOMER MEDICAL RESEARCH INFRASTRUCTURE AND SERVICES LTD.), 11 September 2009 (11.09.2009), entire document	1-8

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2017/098674

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
CN 106279400 A	04 January 2017	None	
CN 101712722 A	26 May 2010	JP 2011006447 A	13 January 2011
		PT 1355942 E	21 November 2008
		WO 0246227 A2	13 June 2002
		CY 1108485 T1	09 April 2014
		MX PA 03005036 A	05 September 2003
		NZ 525577 A	27 May 2005
		HU 229218 B1	30 September 2013
		HU 1300326 A2	28 October 2003
		WO 0246227 A3	24 April 2003
		SK 288342 B6	01 March 2016
		CY 1109377 T1	02 July 2014
		NO 20032565 A	01 August 2003
		IL 155812 D0	23 December 2003
		ES 2328510 T3	13 November 2009
		SK 6702003 A3	03 August 2004
		HU 230603 B1	28 March 2017
		EA 005584 B1	28 April 2005
		EA 200300644 A1	25 December 2003
		CA 2716959 A1	13 June 2002
		DE 60135581 D1	09 October 2008
		NO 20111369 A	01 August 2003
		EP 1724284 A3	18 April 2007
		SI 1355942 T1	28 February 2009
		EP 1724284 A2	22 November 2006
		HU 0302529 A3	30 March 2009
		IL 184429 A	15 April 2010
		PL 209550 B1	30 September 2011
		UA 81897 C2	25 February 2008
		KR 100942864 B1	17 February 2010
		ZA 200303642 A	12 August 2004
		SI 1724284 T1	31 December 2009
		KR 20080085082 A	22 September 2008
		NO 332221 B1	30 July 2012
		UA 93662 C2	10 March 2011
		PT 1724284 E	30 September 2009
		IL 184429 D0	31 October 2007
		CN 1483041 A	17 March 2004
		CZ 20031602 A3	12 April 2006
		EC SP 064643 A	25 July 2003
		EP 1355942 A2	29 October 2003
		ZA 200303642 B	12 August 2004
		HU 0302529 A2	28 October 2003
		US 2004053370 A1	18 March 2004
		DE 60139430 D1	10 September 2009
		SK 288088 B6	03 June 2013
		AT 437891 T	15 August 2009
		CA 2434237 A1	13 June 2002
		US 7271149 B2	18 September 2007
		AT 406384 T	15 September 2008

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2017/098674

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
CN 105727261 A	06 July 2016	US 2016120952 A1	05 May 2016
		US 9127047 B2	08 September 2015
		JP 2011526303 A	06 October 2011
		CA 2953975 A1	30 December 2009
		US 2013085099 A1	04 April 2013
		EP 2307038 A4	27 March 2013
		US 2013079277 A1	28 March 2013
		US 2010022455 A1	28 January 2010
		US 8178495 B2	15 May 2012
		CA 2726894 A1	30 December 2009
		US 2016030521 A1	04 February 2016
		US 9200083 B2	01 December 2015
		US 2013085104 A1	04 April 2013
		JP 2017088627 A	25 May 2017
		WO 2009158704 A3	18 March 2010
		WO 2009158704 A2	30 December 2009
		CN 102131516 B	16 March 2016
		EP 2926825 A1	07 October 2015
		HK 1215182 A1	19 August 2016
		CN 102131516 A	20 July 2011
CN 105801705 A	27 July 2016	EP 2307038 A2	13 April 2011
		JP 2015218177 A	07 December 2015
CN 105801705 A	27 July 2016	None	
US 2006205037 A1	14 September 2006	None	
WO 2009109927 A2	11 September 2009	US 2011046071 A1	24 February 2011
		EP 2259791 A2	15 December 2010
		IL 207532 D0	30 December 2010
		WO 2009109927 A3	25 February 2010

A. 主题的分类 C07K 14/605(2006.01)i; A61K 38/26(2006.01)i; A61P 3/10(2006.01)i; A61P 3/04(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)) CPRSABS; CNABS; DWPI; SIPOABS; VEN; CNKI; CNTXT; WOTXT; EPTXT; USTXT; Pubmed; NCBI Genbank; Uniprot; EBI-EMBL; Google; 申请人/发明人, 序列, 胰高血糖素样肽, 糖尿病, 肥胖, 非酒精性脂肪肝, glucagon-like peptide, GLP-1, diabetes, T1DM, T2DM, fat, obesity, nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD																										
C. 相关文件 <table border="1"> <thead> <tr> <th>类 型*</th> <th>引用文件, 必要时, 指明相关段落</th> <th>相关的权利要求</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>PX</td> <td>CN 106279400 A (中国药科大学) 2017年 1月 4日 (2017 - 01 - 04) 权利要求1-5</td> <td>1-3, 7-8</td> </tr> <tr> <td>X</td> <td>CN 101712722 A (伊莱利利公司) 2010年 5月 26日 (2010 - 05 - 26) 权利要求1、17、18, 说明书第409段</td> <td>1-4, 7-8</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>CN 101712722 A (伊莱利利公司) 2010年 5月 26日 (2010 - 05 - 26) 权利要求1、17、18, 说明书第409段</td> <td>5-6</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>CN 105727261 A (杜克大学) 2016年 7月 6日 (2016 - 07 - 06) 说明书第122-123、336段, 序列59</td> <td>1-8</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>CN 105801705 A (天视珍生物技术天津有限公司) 2016年 7月 27日 (2016 - 07 - 27) 说明书第44、49段, 序列2</td> <td>1-8</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>US 2006205037 A1 (SADEGHI, H. 等.) 2006年 9月 14日 (2006 - 09 - 14) 说明书第395段</td> <td>1-8</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>周赛君 等. "糖尿病非酒精性脂肪肝防治新进展." 世界华人消化杂志., 第23卷, 第32期, 2015年 11月 18日 (2015 - 11 - 18), 第5113-5122页</td> <td>5-6</td> </tr> </tbody> </table>			类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求	PX	CN 106279400 A (中国药科大学) 2017年 1月 4日 (2017 - 01 - 04) 权利要求1-5	1-3, 7-8	X	CN 101712722 A (伊莱利利公司) 2010年 5月 26日 (2010 - 05 - 26) 权利要求1、17、18, 说明书第409段	1-4, 7-8	Y	CN 101712722 A (伊莱利利公司) 2010年 5月 26日 (2010 - 05 - 26) 权利要求1、17、18, 说明书第409段	5-6	Y	CN 105727261 A (杜克大学) 2016年 7月 6日 (2016 - 07 - 06) 说明书第122-123、336段, 序列59	1-8	Y	CN 105801705 A (天视珍生物技术天津有限公司) 2016年 7月 27日 (2016 - 07 - 27) 说明书第44、49段, 序列2	1-8	Y	US 2006205037 A1 (SADEGHI, H. 等.) 2006年 9月 14日 (2006 - 09 - 14) 说明书第395段	1-8	Y	周赛君 等. "糖尿病非酒精性脂肪肝防治新进展." 世界华人消化杂志., 第23卷, 第32期, 2015年 11月 18日 (2015 - 11 - 18), 第5113-5122页	5-6
类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求																								
PX	CN 106279400 A (中国药科大学) 2017年 1月 4日 (2017 - 01 - 04) 权利要求1-5	1-3, 7-8																								
X	CN 101712722 A (伊莱利利公司) 2010年 5月 26日 (2010 - 05 - 26) 权利要求1、17、18, 说明书第409段	1-4, 7-8																								
Y	CN 101712722 A (伊莱利利公司) 2010年 5月 26日 (2010 - 05 - 26) 权利要求1、17、18, 说明书第409段	5-6																								
Y	CN 105727261 A (杜克大学) 2016年 7月 6日 (2016 - 07 - 06) 说明书第122-123、336段, 序列59	1-8																								
Y	CN 105801705 A (天视珍生物技术天津有限公司) 2016年 7月 27日 (2016 - 07 - 27) 说明书第44、49段, 序列2	1-8																								
Y	US 2006205037 A1 (SADEGHI, H. 等.) 2006年 9月 14日 (2006 - 09 - 14) 说明书第395段	1-8																								
Y	周赛君 等. "糖尿病非酒精性脂肪肝防治新进展." 世界华人消化杂志., 第23卷, 第32期, 2015年 11月 18日 (2015 - 11 - 18), 第5113-5122页	5-6																								
☒ 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 2017年 10月 31日		国际检索报告邮寄日期 2017年 11月 17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 郭婷婷 电话号码 (86-10)62413879																								

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
Y	赵丽娟 等. "GLP-1及其类似物的胰外作用研究进展." 医学与哲学., 第36卷, 第1B期, 2015年 1月 31日 (2015 - 01 - 31), 第68-70, 94页	5-6
A	WO 2009109927 A2 (TEL HASHOMER MEDICAL RESEARCH INFRASTRUCTURE AND SERVICES LTD.) 2009年 9月 11日 (2009 - 09 - 11) 全文	1-8

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2017/098674

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	106279400	A	2017年 1月 4日	无	
CN	101712722	A	2010年 5月 26日	JP	2011006447 A 2011年 1月 13日
				PT	1355942 E 2008年 11月 21日
				WO	0246227 A2 2002年 6月 13日
				CY	1108485 T1 2014年 4月 9日
				MX	PA03005036 A 2003年 9月 5日
				NZ	525577 A 2005年 5月 27日
				HU	229218 B1 2013年 9月 30日
				HU	1300326 A2 2003年 10月 28日
				WO	0246227 A3 2003年 4月 24日
				SK	288342 B6 2016年 3月 1日
				CY	1109377 T1 2014年 7月 2日
				NO	20032565 A 2003年 8月 1日
				IL	155812 D0 2003年 12月 23日
				ES	2328510 T3 2009年 11月 13日
				SK	6702003 A3 2004年 8月 3日
				HU	230603 B1 2017年 3月 28日
				EA	005584 B1 2005年 4月 28日
				EA	200300644 A1 2003年 12月 25日
				CA	2716959 A1 2002年 6月 13日
				DE	60135581 D1 2008年 10月 9日
				NO	20111369 A 2003年 8月 1日
				EP	1724284 A3 2007年 4月 18日
				SI	1355942 T1 2009年 2月 28日
				EP	1724284 A2 2006年 11月 22日
				HU	0302529 A3 2009年 3月 30日
				IL	184429 A 2010年 4月 15日
				PL	209550 B1 2011年 9月 30日
				UA	81897 C2 2008年 2月 25日
				KR	100942864 B1 2010年 2月 17日
				ZA	200303642 A 2004年 8月 12日
				SI	1724284 T1 2009年 12月 31日
				KR	20080085082 A 2008年 9月 22日
				NO	332221 B1 2012年 7月 30日
				UA	93662 C2 2011年 3月 10日
				PT	1724284 E 2009年 9月 30日
				IL	184429 D0 2007年 10月 31日
				CN	1483041 A 2004年 3月 17日
				CZ	20031602 A3 2006年 4月 12日
				EC	SP064643 A 2003年 7月 25日
				EP	1355942 A2 2003年 10月 29日
				ZA	200303642 B 2004年 8月 12日
				HU	0302529 A2 2003年 10月 28日
				US	2004053370 A1 2004年 3月 18日
				DE	60139430 D1 2009年 9月 10日
				SK	288088 B6 2013年 6月 3日
				AT	437891 T 2009年 8月 15日
				CA	2434237 A1 2002年 6月 13日
				US	7271149 B2 2007年 9月 18日
				AT	406384 T 2008年 9月 15日

表 PCT/ISA/210 (同族专利附件) (2009年7月)

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2017/098674

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	105727261	A	2016年 7月 6日	US	2016120952	A1	2016年 5月 5日
				US	9127047	B2	2015年 9月 8日
				JP	2011526303	A	2011年 10月 6日
				CA	2953975	A1	2009年 12月 30日
				US	2013085099	A1	2013年 4月 4日
				EP	2307038	A4	2013年 3月 27日
				US	2013079277	A1	2013年 3月 28日
				US	2010022455	A1	2010年 1月 28日
				US	8178495	B2	2012年 5月 15日
				CA	2726894	A1	2009年 12月 30日
				US	2016030521	A1	2016年 2月 4日
				US	9200083	B2	2015年 12月 1日
				US	2013085104	A1	2013年 4月 4日
				JP	2017088627	A	2017年 5月 25日
				WO	2009158704	A3	2010年 3月 18日
				WO	2009158704	A2	2009年 12月 30日
				CN	102131516	B	2016年 3月 16日
				EP	2926825	A1	2015年 10月 7日
				HK	1215182	A1	2016年 8月 19日
				CN	102131516	A	2011年 7月 20日
				EP	2307038	A2	2011年 4月 13日
				JP	2015218177	A	2015年 12月 7日
CN	105801705	A	2016年 7月 27日	无			
US	2006205037	A1	2006年 9月 14日	无			
WO	2009109927	A2	2009年 9月 11日	US	2011046071	A1	2011年 2月 24日
				EP	2259791	A2	2010年 12月 15日
				IL	207532	D0	2010年 12月 30日
				WO	2009109927	A3	2010年 2月 25日

表 PCT/ISA/210 (同族专利附件) (2009年7月)