

1. 一种多肽,所述多肽选自以下序列:
肽1:HGEFTFTSDLSKQMEEEEAVRLFIEWLKNNGGGSIGLHDPSHGTLPNGS-NH₂;
肽2:HGEFTFTSDLSKQMEEEEAVRLFIEWLKNAAEAAKIGLHDPSHGTLPNGS-NH₂;或
肽3:HGEFTFTSDLSKQMEEEEAVRLFIEWLKNNGGGSIWIGLHDPSHGTLPNGS-NH₂。
2. 包含权利要求1所述的多肽的组合物。
3. 如权利要求2所述的组合物,其特征在于,进一步包含药学上可接受的载体。
4. 权利要求1所述的多肽在制备药物中的用途,所述药物用于改善受试者与糖尿病相关的体征或症状。

胰岛新生多肽和类似物的缀合物及其方法

技术领域

[0001] 本发明涉及药物和医药领域,具体涉及用于治疗糖尿病和其他疾病的多肽疗法。

背景技术

[0002] 糖尿病(Diabetes mellitus,DM)是一种需要持续治疗的慢性疾病。用简单的术语来讲,当胰岛 β 细胞不能分泌足够的胰岛素以维持葡萄糖稳态则导致DM的发生。DM有两种主要类型:1型DM(T1D)和2型DM(T2D)。T1D患者由于机体无法产生胰岛素,需要每天注射胰岛素。T2D是由于胰岛素抵抗,细胞不能正常使用胰岛素。T2D有许多已批准的非胰岛素疗法。然而,由于病程发展胰岛 β 细胞功能丧失,很大一部分晚期T2D患者需要使用胰岛素进行治疗。

[0003] 糖尿病的发展与胰岛 β 细胞的大量损失有关。在诊断时,T1D患者的 β 细胞损失超过90%,T2D患者损失约50%。在寻求潜在的可刺激 β 细胞再生的方法上,已做了很多的尝试。可刺激 β 细胞再生已被认为是对T1D和T2D的最佳治疗方法。

[0004] 在过去的几十年里,研究人员已经证明,仓鼠胰岛新生相关蛋白(INGAP)、人前胰岛肽(HIP)、胰高血糖素样肽-1(GLP-1)、胰岛内分泌神经肽血管活性肠肽(VIP)、表皮生长因子和胃泌素等,都显示可在不同的动物模型中诱导位于胰腺的非内分泌部分的胰腺祖细胞分化为具有完全功能的胰岛。在这些化合物中,INGAP多肽(INGAP-PP)是一种从INGAP蛋白序列的104-118位的氨基酸衍生的15肽,已被证明可在多种动物模型中诱导胰岛新生,逆转链脲佐菌素(STZ)在小鼠体内诱导的糖尿病,增加T1D患者的C肽分泌,以及改善T2D患者的血糖控制。INGAP-PP的其他生物学效应也有相关报道,包括剂量依赖性刺激胰岛 β 细胞增殖、 β 细胞复制、减少 β 细胞凋亡和增加胰岛素分泌。在人体研究中,通过在T2D患者连续给药90天之后糖化血红蛋白(HbA1c)的降低、T1D患者C肽分泌的显著增加证实了其具有改善血糖稳态的作用。然而,INGAP-PP血浆的短半衰期和高给药剂量限制了该多肽的临床应用。

[0005] HIP,由一部分人类再生胰岛衍生3 α (ReG3A)基因编码的生物活性肽,是INGAP多肽的人类同源物。之前的研究表明,用HIP处理人胰腺导管组织可以刺激胰岛素的产生。给予HIP可改善糖尿病小鼠血糖控制和增加胰岛数目。在以探索其耐受性、安全性和药代动力学为目标的临床试验中,进行了稳定形态HIP的单剂量递增的临床试验。值得注意的是,临床试验的日剂量分别为60、120、240、480和720mg。与INGAP-PP一样,高剂量的使用将极大的限制该肽的临床应用。

[0006] 因此,需要开发用于治疗糖尿病或其它与胰腺功能受损相关的疾病的其它药物。

发明内容

[0007] 本发明部分基于将INGAP-PP或HIP多肽及其类似物与GLP-1受体激动剂、表皮生长因子受体激动剂或Cathelicidin类抗菌肽或类似物进行结合而形成的新型融合肽。本文所公开的多肽和类似物可用于治疗与胰腺功能受损相关的各种疾病和病症,治疗代谢性疾病(例如糖尿病:包括1型和2型糖尿病,糖尿病前期,代谢综合征,用于移植的胰岛的诱导、扩

增和增殖),促进神经保护或神经再生,促进肝再生和抑制炎症。

[0008] 一方面,本发明一般涉及具有通式(I)的化合物:

[0009] X-L-Y (I)

[0010] 其中X选自INGAP-PP或其类似物,或HIP或其类似物;L是与X共价结合的连接臂,Y是GLP-1受体激动剂。

[0011] 另一方面,本发明一般涉及具有通式(II)的化合物:

[0012] X-L-Y (II)

[0013] 其中X选自INGAP-PP或其类似物,或HIP或其类似物;L是与X共价结合的连接臂,Y是表皮生长因子受体激动剂。

[0014] 另一方面,本发明一般涉及具有通式(III)的化合物:

[0015] X-L-Y (III)

[0016] 其中X选自INGAP-PP或其类似物,或HIP或其类似物;L是与X共价结合的连接臂;Y是Cathelicidin类抗菌肽或其类似物。

[0017] 另一方面,本发明一般涉及具有通式(IV)的化合物:

[0018] Y-L-X (IV)

[0019] 其中X选自INGAP-PP或其类似物,或HIP或其类似物;L是与X共价结合的连接臂,Y是GLP-1受体激动剂。

[0020] 另一方面,本发明一般涉及具有通式(V)的化合物:

[0021] Y-L-X (V)

[0022] 其中X选自INGAP-PP或其类似物,或HIP或其类似物;L是与X共价结合的连接臂,Y是表皮生长因子受体激动剂。

[0023] 另一方面,本发明一般涉及具有通式(VI)的化合物:

[0024] Y-L-X (VI)

[0025] 其中X选自INGAP-PP或其类似物,或HIP或其类似物;L是与X共价结合的连接臂,Y是Cathelicidin类抗菌肽或其类似物。

[0026] 另一方面,本发明一般涉及包含以下序列的化合物:HGEGT FTSDL SKQME EEAVR LFIEW LKNGG GGSIG LHDP SHGTL NGS-NH₂。

[0027] 另一方面,本发明一般涉及包含以下序列的化合物:HGEGT FTSDL SKQME EEAVR LFIEW LKNAE AAKI GLHDP SHGTL PNGS-NH₂。

[0028] 另一方面,本发明一般涉及包含以下序列的化合物:HGEGT FTSDL SKQME EEAVR LFIEW LKNGG GGSIW IGLHD PSHGT LPNGS-NH₂。

[0029] 另一方面,本发明一般涉及包含以下序列的化合物:IGLHD PSHGT LPAGS GGGGS HGEGT FTSDL SKQME EEAVR LFIEW LKN。

[0030] 另一方面,本发明一般涉及包含以下序列的化合物:IGLHD PSHGT LPAGS GGGGG GHGEG TFTSD LSKQM EEEAV RLFIE WLKN。

[0031] 另一方面,本发明一般涉及包含以下序列的化合物:IGLHD PSHGT LPAGS AAAAA KHGEG TFTSD LSKQM EEEAV RLFIE WLKN。

[0032] 另一方面,本发明一般涉及包含以下序列的化合物:LLGDF FRKSK EKIGK EFKRI VQRIK DFLRN LVPRT ESGGG GSI GL HDPSH GTLPN GS-NH₂。

[0033] 另一方面,本发明一般涉及包含以下序列的化合物:LLGDF FRKSK EKIGK EFKRI VQRIK DFLRN LVPRT ESAEA AAKIG LHDPS HGTLN NGS-NH₂。

[0034] 另一方面,本发明一般涉及包含以下序列的化合物:IGLHD PSHGT LPAGS GGGGS LLGDF FRKSK EKIGK EFKRI VQRIK DFLRN LVPRT ES。

[0035] 另一方面,本发明一般涉及包含以下序列的化合物:IGLHD PSHGT LPAGS AEAEE KLLGD FFRKS KEKIG KEFKR IVQRI KDFLR NLVPR TES。

[0036] 另一方面,本发明一般涉及包含本文公开的化合物的组合物。

[0037] 另一方面,本发明一般涉及一种改善与受损胰腺功能相关的体征或症状的方法。该方法包括给予本文公开的化合物。

[0038] 另一方面,本发明一般涉及一种刺激胰岛细胞生长的方法。该方法包括将胰岛细胞与本文公开的化合物接触,从而刺激胰岛细胞的增殖。

[0039] 另一方面,本发明一般涉及一种产生胰岛细胞群的方法。该方法包括在体外将一个或多个胰岛细胞与本文公开的化合物接触,从而刺激一个或多个胰岛细胞的增殖,并产生大量胰岛细胞。

[0040] 另一方面,本发明一般涉及一种增加受试者胰岛细胞数量的方法。该方法包括给予本文公开的化合物。

[0041] 另一方面,本发明一般涉及改善与受试者代谢性疾病相关的体征或症状的方法。该方法包括给予此处公开的化合物。

[0042] 另一方面,本发明一般涉及一种降低糖尿病受试者糖耐量受损、血糖、空腹血糖、餐后血糖、胰岛素缺乏、空腹高胰岛素血症、胰岛素抵抗、空腹胰岛素水平受损、糖化血红蛋白(HbA1c)、精氨酸刺激的C肽(AUC)或其合并症状的方法。该方法包括给予本文公开的化合物。

[0043] 另一方面,本发明一般涉及一种促进神经保护或神经再生的方法,包括将神经细胞与本文公开的化合物接触。

[0044] 另一方面,本发明一般涉及一种促进肝再生的方法,包括将肝细胞与本文公开的化合物接触。

[0045] 另一方面,本发明一般涉及一种抑制炎症的方法,包括给予本文公开的化合物。

附图说明

[0046] 图1显示了多肽1的HPLC色谱图和MS质谱图。

[0047] 图2显示了多肽2的HPLC色谱图和MS质谱图。

[0048] 图3显示了多肽3的HPLC色谱图和MS质谱图。

具体实施方式

[0049] 本发明提供了化合物,特别是多肽和多肽类似物,其特征在于,具有治疗多种疾病和病症的功能,特别是与糖尿病相关的疾病和病症。本发明的多肽和多肽类似物还可用于治疗胰腺功能受损、治疗代谢性疾病、移植用离体胰岛的诱导、扩增和增殖,提高移植胰岛在体内的存活率,促进神经保护或神经再生,促进肝再生,抑制炎症。

[0050] 先前设计的INGAP-PP或HIP多肽类似物显示出了药物特性得到明显改善。表1和表

2分别是INGAP-PP和HIP多肽类似物的示例。(参见PCT/CN2014/073483和PCT/CN2013/072771,每个申请案均整体上在此并入以供参考)

[0051] 本发明公开了融合肽的设计和合成,该融合肽结合了INGAP-PP或HIP多肽与GLP-1受体激动剂类似物、表皮生长因子受体激动剂或Cathelicidin类抗菌肽(CAMP)或其类似物。期望这些缀合分子对 β 细胞和功能恢复、血糖稳态提供协同功效,从而具有相关优势。

[0052] 表1. INGAP-PP类似物示例

[0053]

| 肽名称/序列号 | 序列 |
|---------------|---|
| INGAP-PP (1) | H-IGLHDPSHGTLPNGS-OH |
| INGAP-PP (6) | H-IGLHAPSHGTLPNGS-OH |
| INGAP-PP (7) | H-IGLHDPSHGTLPAGS-OH |
| INGAP-PP (8) | H-IGLHAPSHGTLPAGS-OH |
| INGAP-PP (9) | H-IGLHDPSHGTLPAGSK-OH |
| INGAP-PP (10) | H-IGLHDPSHGTLP (Aib) GS-OH |
| INGAP-PP (11) | H-IGLHDPSHGTLP (N-methyl-L-Alanine) GS-OH |
| INGAP-PP (12) | Ac-IGLHDPSHGTLPAGS-OH |
| INGAP-PP (13) | H- (D-Isoleucine) GLHDPSHGTLPAGS-OH |
| INGAP-PP (14) | H- (L-NorValine) GLHDPSHGTLPAGS-OH |
| INGAP-PP (15) | H- (L-NorLeucine) GLHDPSHGTLPAGS-OH |
| INGAP-PP (16) | Ac-IGLHDPSHGTLPNGS-OH |
| INGAP-PP (17) | H- (D-Isoleucine) GLHDPSHGTLPNGS-OH |
| INGAP-PP (18) | H-IGLHDPSHGTEPNGS-OH |
| INGAP-PP (19) | H-IGLHDPSQGTLPNGS-OH |
| INGAP-PP (20) | H-IGLHDPTHGTLPNGS-OH |
| INGAP-PP (21) | H-IGLHDPSHGTLPNGE-OH |
| INGAP-PP (22) | H-IGLHDPSHGTLPNGK-OH |
| INGAP-PP (23) | H-IGLHDPSHGTLPAGK-OH |
| INGAP-PP (24) | H-IGLHDPSHGTEPAGS-OH |
| INGAP-PP (25) | H-IGLHDPSQGTLPAGS-OH |
| INGAP-PP (26) | H-IGLHDPTHGTLPAGS-OH |
| INGAP-PP (27) | H-IGLHDPSHGTLPAGE-OH |
| INGAP-PP (28) | H-IGLHDPSHGTLPAG-NH ₂ |
| INGAP-PP (29) | Ac-IGLHDPSHGTLPAGS-NH ₂ |
| INGAP-PP (30) | Ac-IGLHDPSHGTLPAG-NH ₂ |
| INGAP-PP (31) | Ac-IGLHDPSHGTLPNGS-NH ₂ |
| INGAP-PP (32) | H-IGLHDPSHGTLPNGS-NH ₂ |
| INGAP-PP (33) | H-IGLHDPSHGTLPNGSC-OH |
| INGAP-PP (34) | Ac-IGLHDPSHGTLPNGSC-OH |
| INGAP-PP (35) | H-IGLHDPSHGTLPNGSC-NH ₂ |
| INGAP-PP (36) | Ac-IGLHDPSHGTLPNGSC-NH ₂ |
| INGAP-PP (37) | H-IGLHDPSHGTLPNGC-OH |
| INGAP-PP (38) | Ac-IGLHDPSHGTLPNGC-OH |
| INGAP-PP (39) | H-IGLHDPSHGTLPNGC-NH ₂ |
| INGAP-PP (40) | Ac-IGLHDPSHGTLPNGC-NH ₂ |
| INGAP-PP (41) | H-IGLHDPSHGTLPAGS-NH ₂ |
| INGAP-PP (42) | H-IGLHDPSHGTLPAGSC-OH |
| INGAP-PP (43) | Ac-IGLHDPSHGTLPAGSC-OH |
| INGAP-PP (44) | H-IGLHDPSHGTLPAGSC-NH ₂ |
| INGAP-PP (45) | Ac-IGLHDPSHGTLPAGSC-NH ₂ |

| 肽名称/序列号 | 序列 |
|----------------------|------------------------------------|
| INGAP-PP (46) | H-IGLHDPSHGTLPAGC-OH |
| INGAP-PP (47) | Ac-IGLHDPSHGTLPAGC-OH |
| INGAP-PP (48) | H-IGLHDPSHGTLPAGC-NH ₂ |
| INGAP-PP (49) | Ac-IGLHDPSHGTLPAGC-NH ₂ |
| INGAP-PP (73) | IGLHDPSHGTLPAG |
| INGAP-PP (74) | IGLHDPSHGTLPNG |
| INGAP-PP (75) | Ac-IGLHDPSHGTLPNG |
| INGAP-PP (76) | IGLHDPSHGTLPNG-NH ₂ |
| INGAP-PP (77) | Ac-IGLHDPSHGTLPNG-NH ₂ |
| INGAP-PP (78) | H-IGLHDPSHGTLPQGS-OH |
| INGAP-PP (79) | H-IGLHDPSHGTLPDGS-OH |
| INGAP-PP (80) | H-IGLHDPSHGTLPESGS-OH |
| INGAP-PP (81) | H-IGLHEPSHGTLPNGS-OH |
| INGAP-PP (82) | H-IGLHQPSHGTLPNGS-OH |
| INGAP-PP (83) | H-IGLHNPSHGTLPNGS-OH |
| INGAP-PP (84) | H-IGLHEPSHGTLPAGS-OH |
| INGAP-PP (85) | H-IGLHQPSHGTLPAGS-OH |
| INGAP-PP (86) | H-IGLHNPSHGTLPAGS-OH |
| INGAP-PP (87) | H-IGLHDPSHGTLPQGSC-OH |
| INGAP-PP (88) | H-IGLHDPSHGTLPDGSC-OH |
| [0054] INGAP-PP (89) | H-IGLHDPSHGTLPESGSC-OH |
| INGAP-PP (90) | H-IGLHEPSHGTLPNGSC-OH |
| INGAP-PP (91) | H-IGLHQPSHGTLPNGSC-OH |
| INGAP-PP (92) | H-IGLHNPSHGTLPNGSC-OH |
| INGAP-PP (93) | H-IGLHDPSHGTLPQG-OH |
| INGAP-PP (94) | H-IGLHDPSHGTLPDG-OH |
| INGAP-PP (95) | H-IGLHDPSHGTLPESG-OH |
| INGAP-PP (96) | H-IGLHEPSHGTLPNG-OH |
| INGAP-PP (97) | H-IGLHQPSHGTLPNG-OH |
| INGAP-PP (98) | H-IGLHNPSHGTLPNG-OH |
| INGAP-PP (99) | H-IGLHEPSHGTLPAG-OH |
| INGAP-PP (100) | H-IGLHQPSHGTLPAG-OH |
| INGAP-PP (101) | H-IGLHNPSHGTLPAG-OH |
| INGAP-PP (102) | H-IGLHDPSHGTLPQGE-OH |
| INGAP-PP (103) | H-IGLHDPSHGTLPDGE-OH |
| INGAP-PP (104) | H-IGLHDPSHGTLPESGE-OH |
| INGAP-PP (105) | H-IGLHEPSHGTLPNGE-OH |
| INGAP-PP (106) | H-IGLHQPSHGTLPNGE-OH |
| INGAP-PP (107) | H-IGLHNPSHGTLPNGE-OH |
| INGAP-PP (108) | H-IGLHEPSHGTLPAGE-OH |
| INGAP-PP (109) | H-IGLHQPSHGTLPAGE-OH |
| INGAP-PP (110) | H-IGLHNPSHGTLPAGE-OH |

[0055] 表2.HIP类似物示例

| 肽名称/序列号 | 序列 |
|----------------|----------------------|
| [0056] HIP (2) | H-IGLHDPTQGTEPNGE-OH |
| HIP (50) | H-IGLHDPTQGTEPAGE-OH |

| 肽名称/序列号 | 序列 |
|-----------------|-------------------------------------|
| HIP (51) | H-IGLHDPTQGTEP (Aib) GE-OH |
| HIP (52) | Ac-IGLHDPTQGTEPAGE-OH |
| HIP (53) | H- (D-Isoleucine) GLHDPTQGTEPAGE-OH |
| HIP (54) | Ac-IGLHDPTQGTEPNGE-OH |
| HIP (55) | H- (D-Isoleucine) GLHDPTQGTEPNGE-OH |
| HIP (56) | H-IGLHDPTQGTEPNGS-OH |
| HIP (57) | H-IGLHDPTQGTEPAGS-OH |
| HIP (58) | H-IGLHDPTQGTLPNGE-OH |
| HIP (59) | H-IGLHDPTQGTLPAGE-OH |
| HIP (60) | Ac-IGLHDPTQGTEPAG-NH ₂ |
| [0057] HIP (61) | Ac-IGLHDPTQGTEPNGE-NH ₂ |
| HIP (62) | Ac-IGLHDPTQGTEPAGE-NH ₂ |
| HIP (63) | H-IGLHDPTQGTEPNGE-NH ₂ |
| HIP (64) | H-IGLHDPTQGTEPNGC-OH |
| HIP (65) | Ac-IGLHDPTQGTEPNGC-OH |
| HIP (66) | H-IGLHDPTQGTEPNGC-NH ₂ |
| HIP (67) | Ac-IGLHDPTQGTEPNGC-NH ₂ |
| HIP (68) | H-IGLHDPTQGTEPAGE-NH ₂ |
| HIP (69) | H-IGLHDPTQGTEPAGC-OH |
| HIP (70) | Ac-IGLHDPTQGTEPAGC-OH |
| HIP (71) | H-IGLHDPTQGTEPAGC-NH ₂ |
| HIP (72) | Ac-IGLHDPTQGTEPAGC-NH ₂ |

[0058] 如本文所公开的,本发明提供了融合肽,该融合肽结合INGAP-PP或HIP多肽与GLP-1受体激动剂类似物、表皮生长因子受体激动剂或Cathelicidin类抗菌肽(CAMP)或具有临床开发所需要的理想的协同药物特性的类似物。本发明还提供了包含本发明化合物的药物组合物和根据本发明的化合物制备用于治疗代谢性疾病的药物,如用于治疗1型糖尿病(T1D)和2型糖尿病(T2D)。本发明还进一步提供了组合物的合适制剂,包括缓释制剂。

[0059] 如前所述,一种仓鼠蛋白被鉴定为具有促进胰岛新生作用并被命名为胰岛新生相关蛋白(INGAP)(美国专利号5834590)。下列文献描述了INGAP的十五肽片段,这里被称为INGAP-PP,及其在小鼠模型中具有逆转糖尿病的作用。(Rosenberg et al., Ann. Surg. 240: 875-884 (2004); 美国专利公开号2006/0009516; 另参见美国专利公开号2008/0171704; Kapur et al., Islets 4:1-9 (2012); Chang et al., Mol. Cell. Endocrinol. 335:104-109 (2011); Borelli et al., Regulatory Peptides 131:97-102 (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); Petropavlovskaja et al., J. Endocrinol. 191:65-81 (2006); Taylor-Fishwick et al., Pancreas 39:64-70 (2010); Rosenberg, Diabetologia 39:256-262 (1996); Madrid et al., Regulatory Peptides 157:25-31 (2009); 和 Taylor-Fishwick et al., J. Endocrinol. 190:729-737 (2006)。)下述文献描述了被称为人前胰岛肽(HIP)的一种人源多肽。(Levetan et al., Endocrin. Pract. 14:1075-1083 (2008); 美国专利公开号:2011/0280833)。

[0060] 胰高血糖素样肽-1受体激动剂,也被称为肠促胰岛素类似物。该类中若干药物已

被批准用于治疗T2D,包括艾塞那肽、利拉鲁肽、利司那肽、阿必鲁肽和杜拉鲁肽。GLP-1已被证明,在刺激胰岛素分泌,抑制胰高血糖素分泌,抑制胃排空,降低食欲和食物摄入方面具有明确作用。肠促胰岛素类似物临床试验显示可降低空腹和餐后血糖、糖化血红蛋白(HbA1c)和体重。在动物研究中,GLP-1受体激动剂已被报道可以通过增殖作用增加胰岛β细胞的量,然而,由于在T1D中使用GLP-1受体激动剂不能证明其促进胰岛β细胞再生的能力,所以其临床应用还没有被批准。尽管如此,它们可能有助于保护糖尿病病人剩余的β细胞。

[0061] 表皮生长因子(EGF)是一种通过与其受体EGFR结合而刺激细胞生长、增殖和分化的生长因子。人表皮生长因子(EGF)是一种具有53个氨基酸残基的多肽。之前,EGF和胃泌素的联合治疗试图增加β细胞的量和逆转糖尿病高血糖效果有限,因此有必要开展进一步的研究。

[0062] Cathelicidin类抗菌肽(CAMP)是一种天然存在的分泌肽,在多种器官中表达,在免疫调节、伤口愈合和细胞生长等方面具有多效性。在以前的研究中已经证实了大鼠、小鼠和人胰腺β细胞中有CAMP的表达。CAMP治疗可促进离体大鼠胰岛分泌胰岛素和胰高血糖素。每日对BBdp大鼠体内给予CAMP/LL-37肽治疗,可增强β细胞的新生和上调潜在的有益肠道微生物。因此,CAMP被认为是胰岛旁分泌信号的启动子,可增强胰岛功能和血糖调节。

[0063] 作为融合蛋白/多肽不可缺少的组成部分,连接臂在构建稳定的、具有生物活性的融合蛋白/多肽中担任有用的角色。实际经验中连接臂根据其结构一般分为3类:柔性连接臂、刚性连接臂和体内可裂解连接臂。除了具备将功能域连接在一起(如在柔性和刚性连接臂中)或在体内释放游离功能域(如体内可裂解连接臂)的基本功能之外,连接臂还在生产融合蛋白/肽方面表现出许多其他的优点,如,改善生物活性、增加表达率,达到理想的药代动力学性质。例如,许多蛋白药物与抗体的Fc结构域融合,如Fc-免疫球蛋白G1(Fc-IgG1),或与载体蛋白融合,如人血清白蛋白(HSA)或转铁蛋白(Tf),以延长其血浆半衰期,并获得增强的治疗效果。它们也被广泛地应用于药物靶向,因为蛋白质如单链抗体或细胞表面受体的配体可明确地将功能蛋白(例如毒素或细胞因子)靶向连接到特定类型的细胞。在药物释放体系中,蛋白药物与载体基团的结合,如细胞穿透肽、抗体或Tf可以实现蛋白药物在生物屏障如细胞膜、血脑屏障或肠上皮上的有效运输。多种融合蛋白药物,包括Enbrel®(肿瘤坏死因子/Fc-IgG1)、Ontak®(白介素-2/白喉毒素)、Orencia®(细胞毒性T淋巴细胞抗原-4/Fc-IgG1)、Amevive®(白细胞功能抗原-3/Fc-IgG1)、Arcalyst®(白介素-1受体胞外域/Fc-IgG1)和Nplate®(促血小板生成素/Fc-IgG1)均已被FDA批准。

[0064] Fc融合是连接两个活性基团的有效方法。一些Fc融合药物已被FDA批准,并且Fc融合药物优于其他类型的生物药物的优点已被充分认可。

[0065] 本发明提供了通过合适的连接臂将INGAP-PP或HIP肽和类似物与GLP-1受体激动剂、表皮生长因子受体激动剂或Cathelicidin类抗菌肽或类似物进行结合:

[0066] 1) INGAP-PP或HIP及其类似物+连接臂+GLP-1受体激动剂

[0067] 2) INGAP-PP或HIP及其类似物+连接臂+表皮生长因子受体激动剂

[0068] 3) INGAP-PP或HIP及其类似物+连接臂+Cathelicidin类抗菌肽或其类似物

[0069] 4) GLP-1受体激动剂+连接臂+INGAP-PP或HIP及其类似物

[0070] 5) 表皮生长因子受体激动剂+连接臂+INGAP-PP或HIP及其类似物

[0071] 6) Cathelicidin类抗菌肽或其类似物+连接臂+INGAP-PP或HIP及其类似物

[0072] 连接臂可以是来自天然存在的多结构域蛋白的柔性或刚性连接臂,例如 $(GGGS)_n$ ($n=1-4$)、 $(EAAAK)_n$ ($n=1-3$)、 $(Gly)_n$ ($n=6-8$)、 $A(EAAAK)_4ALEA(EAAAK)_4A$ 等,仅列举少数;这些连接臂通过共价连接将功能域连接到一起从而在体内过程中像一个分子一样发挥作用。功能域之间的稳定连接具有许多优点,如延长的血浆半衰期(例如白蛋白或Fc融合)。连接臂也可以是体内可裂解的连接臂,如在特定条件下可以裂解的连接臂,例如:当还原试剂或蛋白酶存在时,在体内释放出功能域。这种类型的连接臂可以减少空间位阻,提高生物活性,或连接臂裂解后实现重组融合蛋白各个域的独立作用/代谢。

[0073] 如本文所使用,术语“肽(多肽)”是一种两个或更多个氨基酸的聚合物。多肽经修饰可形成包括类似物、衍生物、功能模拟物、伪肽等,只要该肽包含至少两个氨基酸的聚合物。术语“肽”的含义是本领域技术人员所熟知的。通常,肽包括两个或多个氨基酸,其由一个氨基酸残基的羧基与相邻氨基酸残基的氨基之间以酰胺键结合。如本文所述,肽可包括天然存在的氨基酸或非天然存在的氨基酸。

[0074] 如本文所使用的,术语“类似物”是指母体分子(如,母肽)的变体。例如,母肽的类似物可以包括变体,其中母肽的一个或多个氨基酸被取代。如本文所公开的,类似物还可包括母肽的修饰,包括但不限于非天然存在的氨基酸、D型氨基酸、修饰的氨基和/或羧基末端(N-或C-末端)氨基酸,特别是N-末端的氨基修饰和/或C-末端的羧基修饰、脂肪酸修饰、酯化、肽模拟、伪肽等。修饰示例详见下文。

[0075] 如本文所使用的,术语“胰腺功能受损”是指,与正常或健康的个体相比,胰腺功能下降的胰腺相关疾病或体征。胰腺功能受损的疾病或体征的示例,包括但不限于,1型糖尿病、2型糖尿病、成人隐匿性自身免疫性糖尿病(LADA)、空腹血糖受损、糖耐量受损、胰岛素缺乏、空腹高胰岛素血症、胰岛素抵抗、空腹胰岛素水平受损,由损伤或炎症导致的部分胰腺切除,或上述疾病或体征的组合。

[0076] 如本文所述,本发明提供了INGAP-PP或HIP多肽与GLP-1受体激动剂、表皮生长因子受体激动剂或Cathelicidin类抗菌肽(CAMP)或类似物等融合产生的多肽的类似物。

[0077] 表3.序列示例

| 编码 | 序列 |
|------|--|
| 肽 1 | HGEGT FTSDL SKQME EEAVR LFIEW LKNGG GGSIG LHDPS HGTLP NGS-NH2 |
| 肽 2 | HGEGT FTSDL SKQME EEAVR LFIEW LKNAE AAAKI GLHDP SHGTL PNGS-NH2 |
| 肽 3 | HGEGT FTSDL SKQME EEAVR LFIEW LKNGG GGSIW IGLHD PSHGT LPNGS-NH2 |
| 肽 4 | IGLHD PSHGT LPAGS GGGGS HGEGT FTSDL SKQME EEAVR LFIEW LKN |
| 肽 5 | IGLHD PSHGT LPAGS GGGGG GHGEG TFTSD LSKQM EEEAV RLFIE WLKN |
| 肽 6 | IGLHD PSHGT LPAGS AEAAA KHGEG TFTSD LSKQM EEEAV RLFIE WLKN |
| 肽 7 | LLGDF FRKSK EKIGK EFKRI VQRIK DFLRN LVPRT ESGGG GSIGL HDPSH GTLPN GS-NH2 |
| 肽8 | LLGDF FRKSK EKIGK EFKRI VQRIK DFLRN LVPRT ESAEA AAKIG LHDPS HGTLP NGS-NH2 |
| 肽 9 | IGLHD PSHGT LPAGS GGGGS LLGDF FRKSK EKIGK EFKRI VQRIK DFLRN LVPRT ES |
| 肽 10 | IGLHD PSHGT LPAGS AEAAA KLLGD FFRKS KEKIG KEFKR IVQRI KDFLR NLVPR TES |

[0079] 如本文所述,连接臂的示例在表4中给出。

[0080] 表4连接臂示例

| 连接臂类型 | 序列 |
|-------|--|
| 柔性 | $(GGGGS)_n$ ($n=1-4$) |
| | $(Gly)_8$ |
| | $(Gly)_6$ |
| 刚性 | $(EAAAK)_n$ ($n=1-3$) |
| | A(EAAAK) ₄ ALEA(EAAAK) ₄ A |
| | AEAAAKEAAKA |
| | PAPAP |
| 可裂解 | $(Ala-Pro)_n$ ($n=5-17$) |
| | Cys-Cys disulfide |
| | VSQTSKLTR ↓ AETVFPDV |
| | PLG ↓ LWA |
| | TRHRQPR ↓ GWE |

[0082] 一方面,本发明一般涉及具有通式 (I) 的化合物:

[0083] X-L-Y (I)

[0084] 其中X选自INGAP-PP或其类似物,或HIP或其类似物;L是与X共价结合的连接臂,Y是GLP-1受体激动剂。

[0085] 另一方面,本发明一般涉及具有通式(II)的化合物:

[0086] X-L-Y (II)

[0087] 其中X选自INGAP-PP或其类似物,或HIP或其类似物;L是与X共价结合的连接臂,Y是表皮生长因子受体激动剂。

[0088] 另一方面,本发明一般涉及具有通式(III)的化合物:

[0089] X-L-Y (III)

[0090] 其中X选自INGAP-PP或其类似物,或HIP或其类似物;L是与X共价结合的连接臂,Y是Cathelicidin类抗菌肽或其类似物。

[0091] 另一方面,本发明一般涉及具有通式(IV)的化合物:

[0092] Y-L-X (IV)

[0093] 其中X选自INGAP-PP或其类似物,或HIP或其类似物;L是与X共价结合的连接臂,Y是GLP-1受体激动剂。

[0094] 另一方面,本发明一般涉及具有通式(V)的化合物:

[0095] Y-L-X (V)

[0096] 其中X选自INGAP-PP或其类似物,或HIP或其类似物;L是与X共价结合的连接臂,Y是表皮生长因子受体激动剂。

[0097] 另一方面,本发明一般涉及具有通式(VI)的化合物:

[0098] Y-L-X (VI)

[0099] 其中X选自INGAP-PP或其类似物,或HIP或其类似物;L是与X共价结合的连接臂,Y是Cathelicidin类抗菌肽或其类似物。

[0100] 可以使用任何合适的连接臂L。在某些实施例中,L是柔性连接臂。在某些实施例中,L是刚性连接臂。在某些实施方案中,L是体内可裂解的连接臂。在某些实施例中,L是含有抗体Fc结构域的连接臂。在某些实施例中,L是含有Fc-IgG1的连接臂。

[0101] 另一方面,本发明一般涉及包含以下序列的化合物:HGEGT FTSDL SKQME EEAVR LFIEW LKNGG GGSIG LHDP SHGTL NGS-NH₂。

[0102] 另一方面,本发明一般涉及包含以下序列的化合物:HGEGT FTSDL SKQME EEAVR LFIEW LKNAE AAKI GLHDP SHGTL PNGS-NH₂。

[0103] 另一方面,本发明一般涉及包含以下序列的化合物:HGEGT FTSDL SKQME EEAVR LFIEW LKNGG GGSIW IGLHD PSHGT LPNGS-NH₂。

[0104] 另一方面,本发明一般涉及包含以下序列的化合物:IGLHD PSHGT LPAGS GGGGS HGEGT FTSDL SKQME EEAVR LFIEW LKN。

[0105] 另一方面,本发明一般涉及包含以下序列的化合物:IGLHD PSHGT LPAGS GGGGG GHGEG TFTSD LSKQM EEEAV RLFIE WLKN。

[0106] 另一方面,本发明一般涉及包含以下序列的化合物:IGLHD PSHGT LPAGS AAAAA KHGEG TFTSD LSKQM EEEAV RLFIE WLKN。

[0107] 另一方面,本发明一般涉及包含以下序列的化合物:LLGDF FRKSK EKIGK EFKRI

VQRIK DFLRN LVPRT ESGGG GSI GL HDPSH GTLPN GS-NH₂.

[0108] 另一方面,本发明一般涉及包含以下序列的化合物:LLGDF FRKSK EKIGK EFKRI VQRIK DFLRN LVPRT ESAEA AAKIG LHDP S HGTL P NGS-NH₂.

[0109] 另一方面,本发明一般涉及包含以下序列的化合物:IGLHD PSHGT LPAGS GGGGS LLGDF FRKSK EKIGK EFKRI VQRIK DFLRN LVPRT ES.

[0110] 另一方面,本发明一般涉及包含以下序列的化合物:IGLHD PSHGT LPAGS AEAAA KLLGD FFRKS KEKIG KEFKR IVQRI KDFLR NLVPR TES.

[0111] 另一方面,本发明一般涉及包含本文公开的化合物的组合物。

[0112] 在某些实施方案中,所述组合物是药物组合物,其包含适于治疗用途的药学上可接受的载体。

[0113] 在某些实施方案中,该组合物可用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,促进肝脏再生或抑制炎症。

[0114] 另一方面,本发明一般涉及一种改善与受损胰腺功能相关的体征或症状的方法。该方法包括给予本文公开的化合物。

[0115] 在该方法的某些实施方案中,胰腺功能受损是1型糖尿病、2型糖尿病、成人隐匿性自身免疫性糖尿病(LADA)、空腹血糖受损、糖耐量受损、胰岛素缺乏、空腹高胰岛素血症、胰岛素抵抗或空腹胰岛素水平受损,或以上情况的组合。

[0116] 在该方法的某些实施方案中,可给予抗糖尿病药物。

[0117] 另一方面,本发明一般涉及一种刺激胰岛细胞生长的方法。该方法包括将胰岛细胞与本文公开的化合物相接触,从而刺激胰岛细胞的增殖。

[0118] 另一方面,本发明一般涉及一种产生胰岛细胞群的方法。该方法包括在体外将一个或多个胰岛细胞与本文公开的化合物相接触,从而刺激一个或多个胰岛细胞的增殖,并产生大量胰岛细胞。

[0119] 在该方法的某些实施方案中,一个或多个胰岛细胞是从一个受试者获得。

[0120] 在某些实施例中,该方法还进一步包括将胰岛细胞群移植到受试者中。

[0121] 在该方法的某些实施方案中,从受试者获得一个或多个胰腺细胞进而将胰岛细胞群移植给该受试者。

[0122] 另一方面,本发明一般涉及一种增加受试者胰岛细胞数量的方法。该方法包括给予本文公开的化合物。

[0123] 另一方面,本发明一般涉及一种改善受试者与代谢性疾病相关的体征或症状的方法。该方法包括给予本文公开的化合物。

[0124] 在该方法的某些实施方案中,代谢性疾病是糖尿病、糖尿病前期或代谢综合征。

[0125] 另一方面,本发明一般涉及一种方法,降低糖尿病受试者受损的糖耐量、血糖、空腹血糖、餐后血糖、胰岛素缺乏、空腹高胰岛素血症、胰岛素抵抗、空腹胰岛素水平受损、糖化血红蛋白(HbA1c)、精氨酸刺激的C肽(AUC)、或以上情况的组合。该方法包括给予本文公开的化合物。

[0126] 另一方面,本发明一般涉及一种促进神经保护或神经再生的方法,包括将神经细胞与本文公开的化合物接触。

[0127] 另一方面,本发明一般涉及一种促进肝再生的方法,包括将肝细胞与本文公开的

化合物接触。

[0128] 在该方法的某些实施方案中,接触发生在体外。在该方法的某些实施方案中,接触发生在体内。

[0129] 在另一个方面,本发明一般涉及抑制炎症的方法,包括给予本文公开的化合物。

[0130] 如本文所述,与单独使用INGAP-PP/HIP肽(包括表1和2所列的肽和类似物)或GLP-1受体激动剂/表皮生长因子受体激动剂/Cathelicidin类抗菌肽(CAMP)相比,本发明的化合物和类似物具有意想不到的特性。如本文所公开的,本发明的化合物和类似物在刺激原代胰岛细胞分泌胰岛素方面的能力显著提高(见实施例II)。此外,本发明的肽类似物在改善血糖和口服葡萄糖耐量方面表现出优异的效果(参见实施例III)。本发明的化合物和类似物的许多意想不到的和优越的性质表明,本发明的化合物和类似物,包括表3的示例化合物和类似物,可应用于治疗。与单独使用INGAP-PP/HIP肽(包括表1和2所列的肽和类似物)或GLP-1受体激动剂/表皮生长因子受体激动剂/Cathelicidin类抗菌肽(CAMP)或类似物相比,本发明的化合物和类似物显示出更强的效力。

[0131] 应当理解,在本文提供的发明定义里也提出了,该修饰没有实质影响到各个示例的活性。因此,下列实施例旨在说明,但不限于本发明。

[0132] 实施例I

[0133] 肽和肽类似物的生产

[0134] 本实施例描述了肽和肽类似物的生产。

[0135] 本研究中用的所有肽都是采用9-芴甲氧羰基(Fmoc)化学的固相肽合成方法合成的。简而言之,在二氯甲烷(DCM)中加入预称量好的2-氯三苯甲基氯树脂(1.6mmol/g)进行溶胀。对于C末端酰胺化的肽,使用Rink酰胺树脂代替2-氯三苯甲基氯树脂。在二甲基甲酰胺(DMF)中,在羟基苯并三唑(Sigma化学公司,圣路易斯,密苏里州,美国)存在下,使用Fmoc预活化的氨基酸进行偶联反应。在合成过程中使用过量的氨基酸。链延伸反应后,在含20%哌啶的DMF中,进行Fmoc脱保护。当链延伸反应完成后,在含25%哌啶DMF中,将Fmoc保护基团从肽的N端除去,然后用DMF洗涤四次。对于N-末端乙酰化的肽,在三氟乙酸(TFA)裂解之前,以7mL/g树脂的比例加入溶有20%乙酸酐的DMF溶液,反应30分钟,然后用DMF和DCM洗涤4次。用DMF和DCM洗涤4次后,将树脂真空干燥。随后,采用标准TFA裂解方法在含5%水的TFA溶液中,将合成好的肽从树脂上裂解下来,然后进行多步醚萃取。用液相色谱仪,将所有合成肽用反相高效液相色谱法纯化至纯度>95%。通过质谱分析对所合成的多肽进行鉴别和纯度测定。

[0136] 对于离体研究,将上述制备的肽溶于双蒸水中制备储备液,用于体内药效研究时,上述制备的肽溶解在无菌生理盐水中达到所需浓度。将最终的肽溶液通过0.22 μ m的滤膜过滤除菌。

[0137] 肽和其类似物也可以使用其他众所周知的方法来生产,包括使用肽合成的方法或表达编码所需肽或肽类似物的核酸来生产多肽。因此,当类似物中包括一个或多个非标准氨基酸时,它们更可能通过化学合成方法产生。当肽仅包含一个或多个标准氨基酸替换时,多肽可以使用已知的表达方法利用表达载体进行表达。

[0138] 在下面的实验中所使用的特定肽见表3,在图1-3中显示了肽1、肽2和肽3的HPLC色谱图和MS质谱图。3个肽所用的连接臂分别是“GGGG”、“AEAAK”和“GGGG”,对于表3中所示

的肽,连接臂前面的序列是示例性GLP-1受体激动剂,连接臂之后的序列是一个示例性的INGAP-PP或HIP类似物。其他的示例性肽也列于表3中。

[0139] 实施例II

[0140] 多肽对于葡萄糖刺激胰岛素分泌的影响

[0141] 本实施例描述了多肽对葡萄糖刺激的胰岛素分泌(GSIS)的影响。

[0142] 胰脏从雄性成年C57BL/6J小鼠分离获得。在7天驯化后,用颈椎脱位处死动物,摘取整个胰脏并用胶原酶消化分离胰岛。消化后,胰岛培养在一定湿度的环境(5%CO₂/95%O₂),37°C的pH 7.4的RPMI 1640培养液中(卡尔斯巴德,加利福尼亚州,美国),培养液中含有10%(v/v)胎牛血清、1%青霉素/链霉素、10mM葡萄糖,不添加任何化合物(对照),或添加10nM胰高血糖素样肽-1(GLP-1)、或10nM的INGAP-PP;或10nM的肽1、肽2或肽3,具体参见下表5。

[0143] 表5葡萄糖刺激胰岛素分泌(GSIS)实验各实验组的参数

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
|---|---------------|----------------|-----------------------------------|--------------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| A | 2.8 mM 葡萄糖 | 16.7 mM 葡萄糖 | 16.7 mM 葡萄糖; 10 nM GLP-1 | 16.7 mM 葡萄糖; 10 nM INGAP-PP | 16.7 mM 葡萄糖; 10 nM 肽 1 | 16.7 mM 葡萄糖; 10 nM 肽 2 | 16.7 mM 葡萄糖; 10 nM 肽 3 |
| B | 2.8 mM 葡萄糖 | 16.7 mM 葡萄糖 | 16.7 mM 葡萄糖; 10 nM GLP-1 | 16.7 mM 葡萄糖; 10 nM INGAP-PP | 16.7 mM 葡萄糖; 10 nM 肽 1 | 16.7 mM 葡萄糖; 10 nM 肽 2 | 16.7 mM 葡萄糖; 10 nM 肽 3 |
| C | 2.8 mM 葡萄糖 | 16.7 mM 葡萄糖 | 16.7 mM 葡萄糖; 10 nM GLP-1 | 16.7 mM 葡萄糖; 10 nM INGAP-PP | 16.7 mM 葡萄糖; 10 nM 肽 1 | 16.7 mM 葡萄糖; 10 nM 肽 2 | 16.7 mM 葡萄糖; 10 nM 肽 3 |
| D | 2.8 mM 葡萄糖 | 16.7 mM 葡萄糖 | 16.7 mM 葡萄糖; 10 nM GLP-1 | 16.7 mM 葡萄糖; 10 nM INGAP-PP | 16.7 mM 葡萄糖; 10 nM 肽 1 | 16.7 mM 葡萄糖; 10 nM 肽 2 | 16.7 mM 葡萄糖; 10 nM 肽 3 |

[0145] 将培养的胰岛用pH7.4的克雷布斯-林格-碳酸氢盐缓冲液(KRB)进行漂洗,预先用CO₂/O₂(5/95%)的混合物充气、在含有0.5%(w/v)BSA和2.8mM葡萄糖的1.0mL的KRB中于37°C预孵育45分钟。预孵育结束后,每组5个胰岛在含有2.8或16.7mM葡萄糖及添加或不添加肽的0.6mL的KRB中孵育60分钟。孵育结束时,收集培养基测定胰岛素含量。

[0146] 胰岛素含量的测定结果如表6所示。测定结果表明,在添加或未添加10nM肽1、肽2或肽3共同孵育的情况下,胰岛的葡萄糖刺激胰岛素分泌增加。同时包含与10nM胰高血糖素样肽1(GLP-1)或INGAP-PP共孵育的对照组。在16.7mM葡萄糖浓度下,含有GLP-1、肽1、肽2或肽3共同孵育的胰岛比没有加入肽的对照组释放的胰岛素量显著增加,并且本实验中加入INGAP-PP时并没有观察到刺激胰岛素增加。特别是肽1、肽2或肽3比单独使用的GLP-1具有更高的刺激胰岛素分泌的作用。

[0147] 以上结果表明,融合肽类似物具有刺激胰岛细胞分泌胰岛素的作用,也验证了胰岛素分泌量高于单独使用GLP-1或INGAP-PP。

[0148] 表6. 葡萄糖刺激胰岛素分泌实验结果

| 组别 | 胰岛素分泌量 |
|--------------------------------|--|
| | ng/胰岛/小时 |
| 2.8 mM 葡萄糖 | 0.38±0.12 |
| 16.7 mM 葡萄糖 | 2.3±0.8 ^{**} |
| [0149] 16.7 mM 葡萄糖+10 nM GLP-1 | 5.4±2.1 ^{###} |
| 16.7 mM 葡萄糖+10 nM INGAP-PP | 2.5±1.0 [#] |
| 16.7 mM 葡萄糖+10 nM 肽 1 | 7.2±3.1 ^{&&} |
| 16.7 mM 葡萄糖+10 nM 肽 2 | 12.8±4.2 ^{§, &&&} |
| 16.7 mM 葡萄糖+10 nM 肽 3 | 10.6±3.9 ^{§, &&&} |

[0150] ^{**}P<0.01 vs. 2.8mM; ^{###}P<0.01 vs. 16.7mM;

[0151] [§]P<0.05 vs. 16.7mM+10nM GLP-1; ^{\$\$\$}P<0.01 vs. 16.7mM+10nM GLP-1;

[0152] ^{&&}P<0.01 vs. 16.7mM+10nM INGAP-PP; ^{&&&}P<0.001 vs. 16.7mM+10nM INGAP-PP

[0153] 实施例III

[0154] 多肽类似物对于糖尿病小鼠模型的药效作用

[0155] 本实施例描述了使用链脲佐菌素 (STZ) 诱导的糖尿病小鼠模型的体内药效研究。

[0156] 经驯化1周后, 6~8周龄C57BL/6J小鼠注射以枸橼酸盐缓冲液溶解的剂量为150mg/kg的STZ建立T1D动物模型。STZ注射后10天血糖大于16.7mmol/L的小鼠被纳入研究。随后, 以250nM/kg的INGAP-PP或GLP-1或肽2连续给药10天后将动物处死。另一组糖尿病小鼠给予生理盐水作为模型对照组。第8天测定动物血糖水平。各组给予对应药物十天后, 在禁食6小时的动物中进行口服葡萄糖耐量试验 (OGTT)。从尾部取血样, 用ACCU-CHEK™血糖仪 (罗氏, ACCU-CHEK®卓越) 测定血糖水平。

[0157] 表7. 血糖和OGTT的AUC结果

| | 正常对照组 | 模型对照组 | 模型+GLP-1 | 模型+INGAP-PP | 模型+肽 2 |
|---------------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| [0158] 血糖 (mM) (第 8 天) | 8.3±1.2 | 27.9±8.7 | 22.1±6.8 | 25.9±9.1 | 18.6±5.3 |
| OGTT 的 AUC (第 10 天) | 1980.2±318.4 | 3351.5±793.4 | 3054.7±728.9 | 3207.6±801.5 | 2512.3±571.8 |

[0159] 表7显示了GLP-1、INGAP-PP、和肽2对STZ诱导糖尿病小鼠模型疗效的比较。在治疗第8天测定血糖 (BG, mM)。在第10天进行口服葡萄糖耐量试验 (OGTT) 计算葡萄糖 ($T_{0\sim 120\text{分钟}}$) 的曲线下面积 (AUC)。

[0160] 肽2给药组的血糖水平和生理盐水模型对照组相比具有显著性差异。此外, 肽2给药组动物的血糖水平低于GLP-1和INGAP-PP给药组的血糖水平。此外, 肽2给药组也表现出最强的葡萄糖耐受性。

[0161] 以上实验结果表明, 代表性的融合肽类似物肽2在糖尿病小鼠模型中能有效改善糖尿病的体征和症状, 其效果比单独使用的GLP-1或INGAP-PP更强。

[0162] 申请人的披露是通过相关附图的优选的实施方案进行描述的, 其中类似的数字代表相同或类似含义的元素。在本说明书的“一个实施方案”、“一例实施方案”或类似的语言引用表示, 结合该实施例描述的某种特征、结构或特性出现在本发明的至少一个实施方案中。因此, 在本发明的说明书中, “在一个实施方案中”、“在一例实施方案中”和类似表述可

能但不一定都指相同的实施方案。

[0163] 在一个或多个实施方案中, 申请人所披露的特征、结构或特性可以以任何合适的方式组合。在本发明的描述中, 列举了许多具体细节, 以便于对本发明实施方案的透彻理解。然而, 相关领域的技术人员应认识到, 申请人的组合物和/或方法可以在缺乏一个或多个具体细节, 或者用其他方法、组分、材料等情况下实施。在其他情况中, 未详细示出或描述公知的结构、材料或操作以避免模糊本文披露的各方面。

[0164] 在本说明书和所附的权利要求中, 除非上下文清楚表明, 否则单数形式的“一个”、“一例”和“这个”也包括复数引用。

[0165] 除非另行定义, 本文使用的所有技术和科学术语与本领域普通技术人员通常所理解的含义相同。虽然与本发明中所描述的类似或等同的任何方法和材料也可用于本披露的实践或测试, 但此处描述的是优选的方法和材料。除所公开的特定顺序外, 本文所披露的方法可按逻辑上可能的任何顺序实施。

[0166] 援引并入

[0167] 本公开发明对其他文件, 如专利、专利申请、专利公开文本、期刊、书籍、报纸、网页内容等进行了参考和引用, 所有这些文献均整体上在此并入以供参考。本文中引用作为参考的任何材料或其部分材料, 如果与本发明明确提出的现有定义、声明或其他公开材料相抵触, 仅在引用材料与当前公开材料不产生冲突的情况下才予以援引加入。在发生冲突的情况下, 应以将当前公开发明作为优选公开发明, 并以有利于当前公开发明的方式解决该冲突。

[0168] 等同形式

[0169] 本发明公开的示例性实施例旨在帮助阐明本发明, 并无意也不应被解释为限制本发明的范围。实际上, 通过解读文件的整体内容(包括实施例, 引用的科学文献及专利文献), 除了实施例中展现和描述的内容之外, 对本发明的各种进一步修正及大量进一步的实施例对本领域普通技术人员来说都是显而易见的。所附的如下示例包含重要的附加信息, 例证和指导, 其适用于本发明各种实施例和等价形式的实践。

[0039] Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Ala Glu Ala Ala
 [0040] 20 25 30
 [0041] Ala Lys Ile Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Asn Gly
 [0042] 35 40 45
 [0043] Ser
 [0044] <210> 3
 [0045] <211> 50
 [0046] <212> PRT
 [0047] <213> Artificial Sequence
 [0048] <220>
 [0049] <223> 肽3
 [0050] <220>
 [0051] <221> MOD_RES
 [0052] <222> (50) .. (50)
 [0053] <223> 丝氨酸被氨基修饰
 [0054] <400> 3
 [0055] His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu
 [0056] 1 5 10 15
 [0057] Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly Gly Gly
 [0058] 20 25 30
 [0059] Ser Ile Trp Ile Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Asn
 [0060] 35 40 45
 [0061] Gly Ser
 [0062] 50

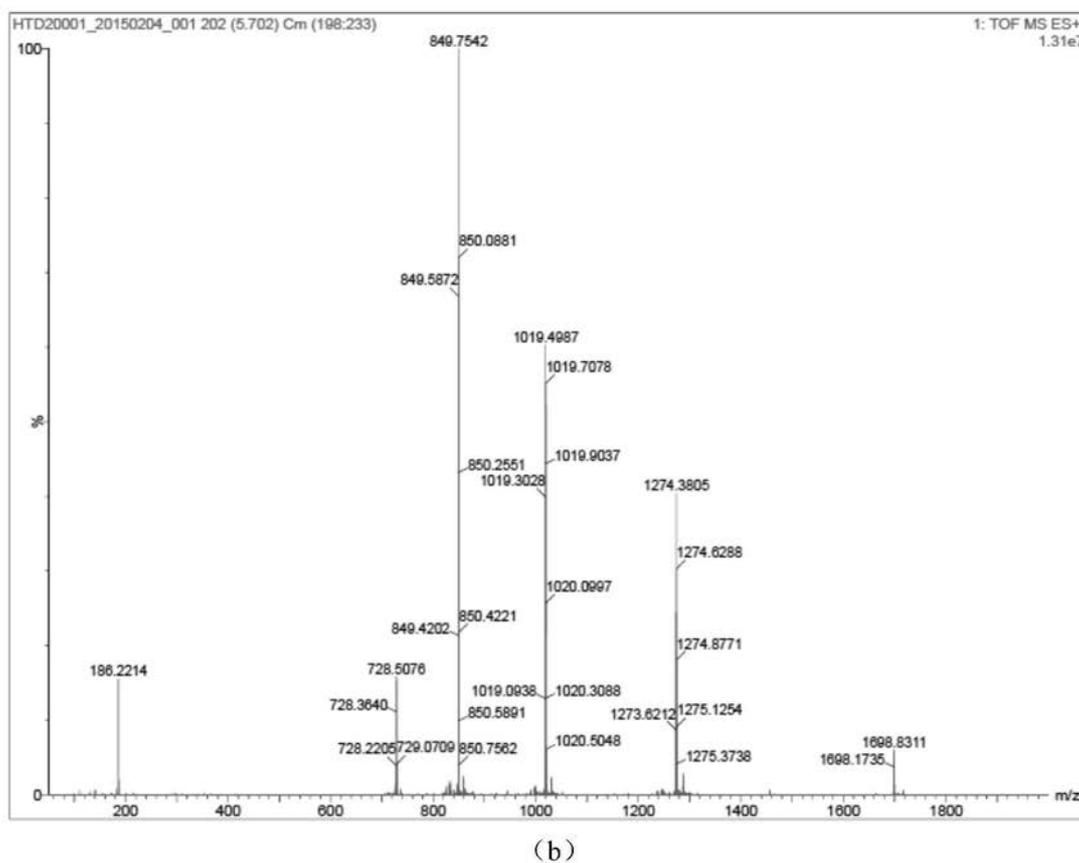
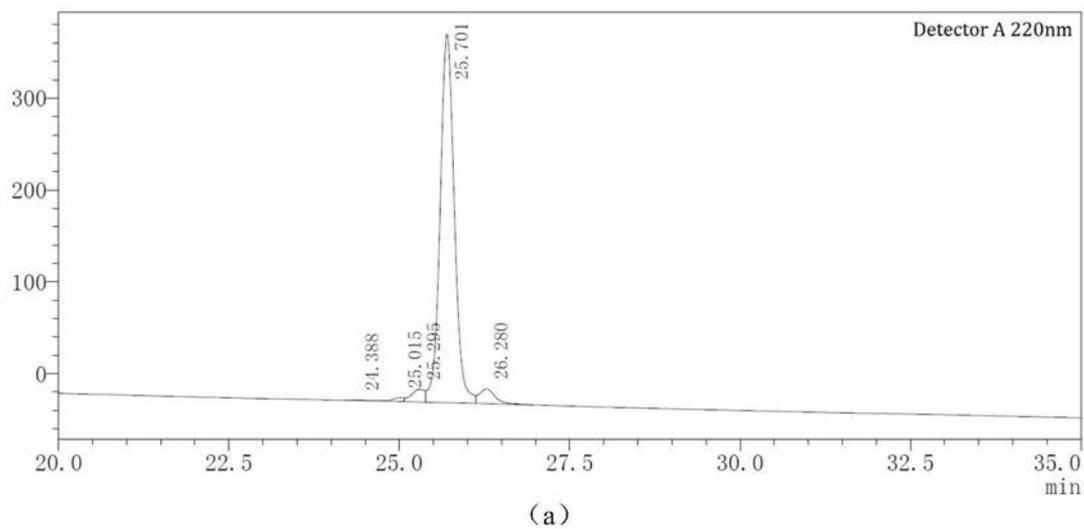


图1. 肽1的高效液相色谱和质谱 (a) : 高效液相色谱 (b) : 质谱

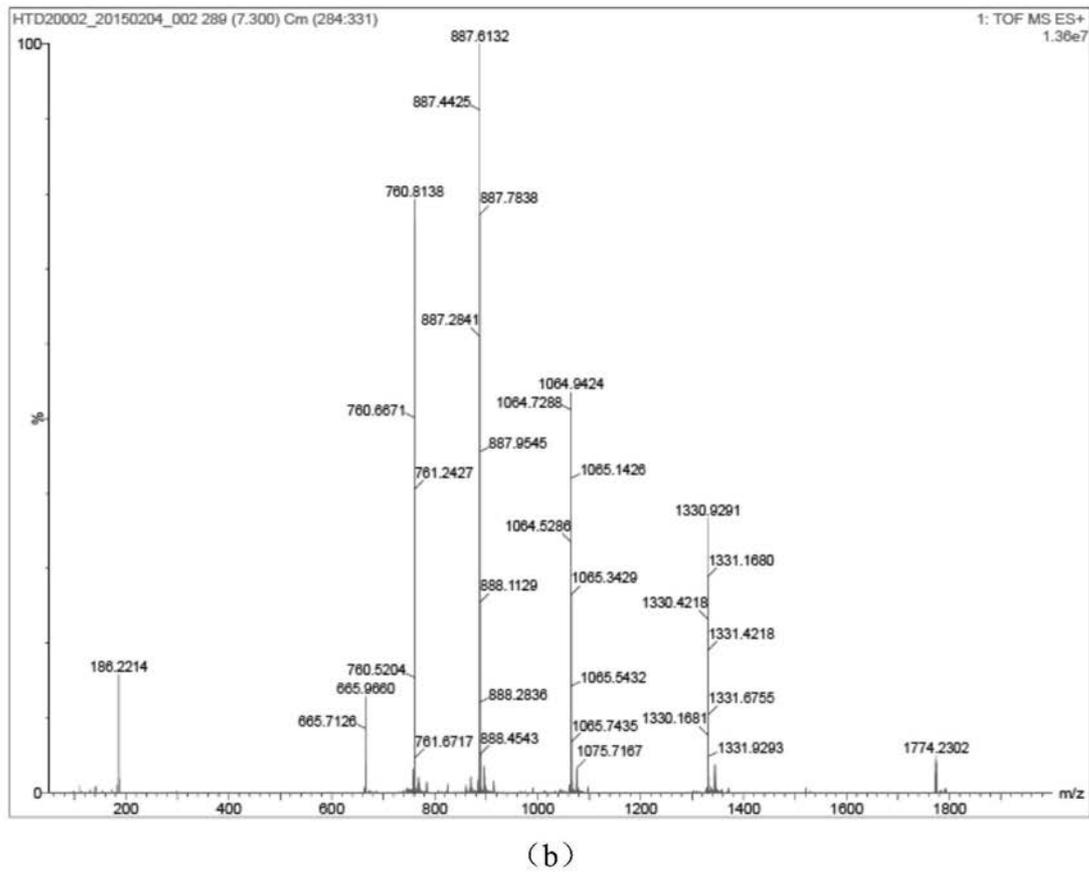
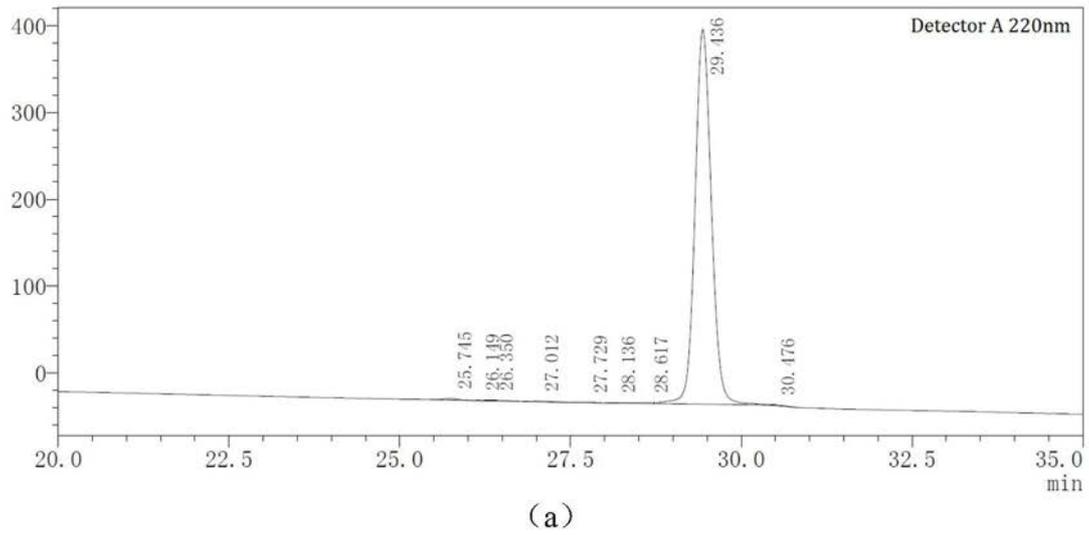


图2. 肽2的高效液相色谱和质谱 (a) : 高效液相色谱 (b) : 质谱

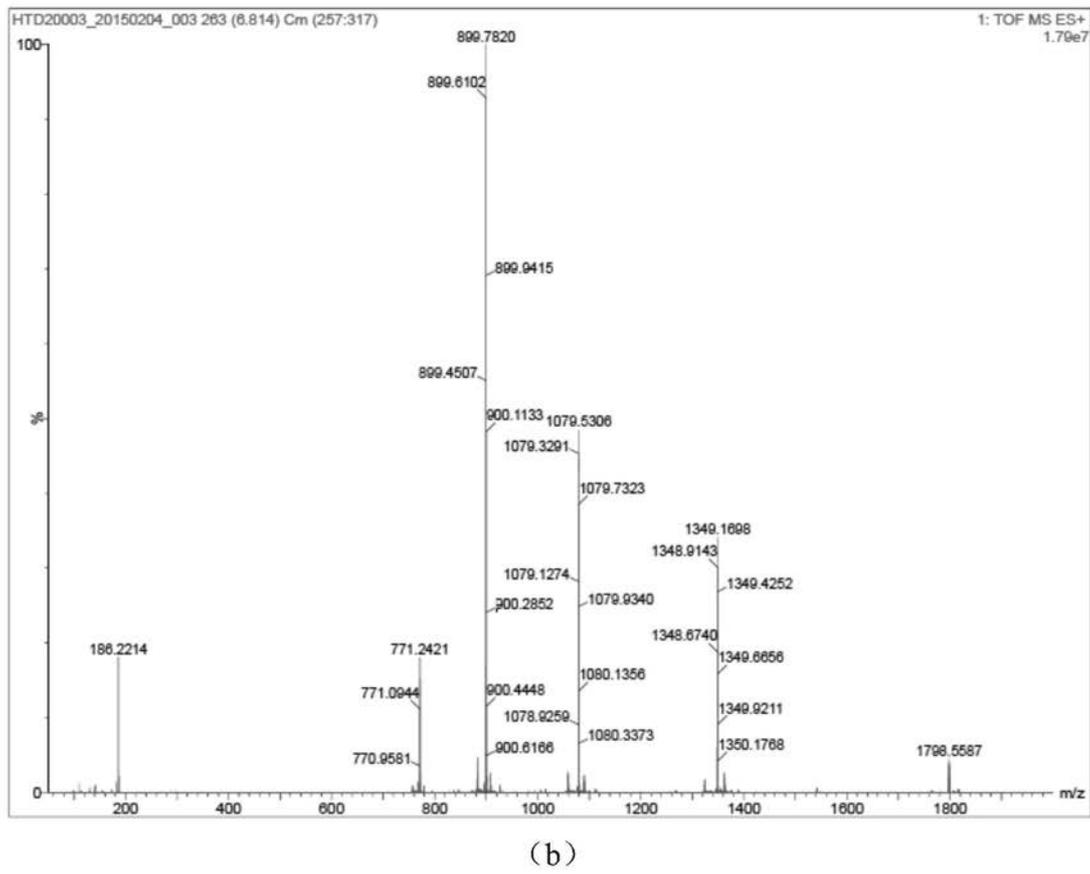
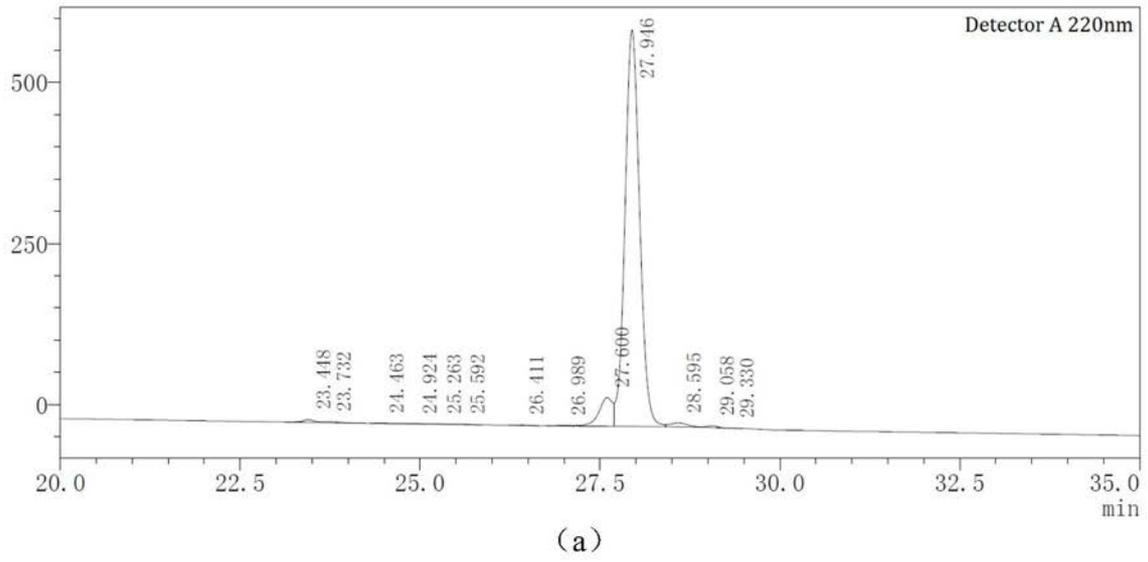


图3.肽3的高效液相色谱和质谱 (a) :高效液相色谱 (b) :质谱