



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I757305 B

(45)公告日：中華民國 111 (2022) 年 03 月 11 日

(21)申請案號：106122465

(22)申請日：中華民國 106 (2017) 年 06 月 29 日

(51)Int. Cl. : *C07K14/575 (2006.01)* *A61K38/22 (2006.01)*
A61K47/56 (2017.01) *A61K47/64 (2017.01)*
A61K47/68 (2017.01) *A61P3/08 (2006.01)*

(30)優先權：2016/06/29 南韓 10-2016-0081995
 2016/12/29 南韓 10-2016-0182982
 2017/06/02 南韓 10-2017-0069217

(71)申請人：南韓商韓美藥品股份有限公司 (南韓) HANMI PHARM. CO., LTD. (KR)
 南韓

(72)發明人：金正國 KIM, JUNG KUK (KR)；朴永振 PARK, YOUNG JIN (KR)；崔仁榮 CHOI, IN YOUNG (KR)；鄭聖燁 JUNG, SUNG YOUB (KR)

(74)代理人：洪武雄；陳昭誠

(56)參考文獻：

TW 201307380A

TW 201309323A

TW 201607553A

審查人員：王顥棟

申請專利範圍項數：34 項 圖式數：8 共 144 頁

(54)名稱

升糖素衍生物、其接合物、及包含其之組成物、及其醫療用途

(57)摘要

本發明係有關於升糖素衍生物、其接合物、及包含其之組成物、及其醫療用途，及特別地用於代謝症候群、低血糖症、及先天性高胰島素症。

The present invention relates to a glucagon derivative, a conjugate thereof, and a composition comprising the same, and a therapeutic use thereof, and in particular, for metabolic syndrome, hypoglycemia, and congenital hyperinsulinism.

特徵化學式：

X1-X2-QGTF-X7-SD-X10-S-X12-X13-X14-X15-X16-X17

-X18-X19-X20-X21-F-X23-X24-W-L-X27-X28-X29-X30

(通式 1，SEQ ID NO: 45)

I757305

發明摘要

※ 申請案號：106122465

※ 申請日：106/06/29

【發明名稱】(中文/英文)

C07K 14/575 (2006.01)

A61K 38/22 (2006.01)

※IPC 分類：A61K 47/56 (2017.01)

A61K 47/64 (2017.01)

A61K 47/68 (2017.01)

A61P 3/08 (2006.01)

升糖素衍生物、其接合物、及包含其之組成物、及其
醫療用途

GLUCAGON DERIVATIVE, A CONJUGATE THEREOF,
AND A COMPOSITION COMPRISING THE SAME, AND
A THERAPEUTIC USE THEREOF

【中文】

本發明係有關於升糖素衍生物、其接合物、及包含其
之組成物、及其醫療用途，及特別地用於代謝症候群、低
血糖症、及先天性高胰島素症。

【英文】

The present invention relates to a glucagon derivative, a
conjugate thereof, and a composition comprising the same, and
a therapeutic use thereof, and in particular, for metabolic
syndrome, hypoglycemia, and congenital hyperinsulinism.

【代表圖】

【本案指定代表圖】：第（ ）圖。

【本代表圖之符號簡單說明】：

無，皆為實驗數據，故本案無指定代表圖。

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：

X1-X2-QGTF-X7-SD-X10-S-X12-X13-X14-X15-X16-X17
-X18-X19-X20-X21-F-X23-X24-W-L-X27-X28-X29-X30
(通式 1，SEQ ID NO: 45)

發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動)

【發明名稱】(中文/英文)

升糖素衍生物、其接合物、及包含其之組成物、及其醫療用途

GLUCAGON DERIVATIVE, A CONJUGATE THEREOF, AND A COMPOSITION COMPRISING THE SAME, AND A THERAPEUTIC USE THEREOF

【技術領域】

【0001】 本發明係有關於升糖素衍生物、其接合物、及含其之組成物、及其用途，特別其用於代謝症候群、低血糖症、及先天性高胰島素症之醫療用途。

【先前技術】

【0002】 由於晚近經濟成長及飲食習慣的改變等，代謝症候群相關疾病包括各種疾病諸如肥胖、高脂血症、動脈硬化、高胰島素血症、糖尿病、及肝病的發病率快速升高。此等疾病可獨立出現，但通常大部分係彼此緊密關聯出現，伴隨有各種症狀。

【0003】 體重過重及肥胖造成血壓升高及膽固醇濃度增加，引發或惡化各種疾病，諸如心臟病、糖尿病、關節炎等。此外，肥胖問題也變成兒童或青少年以及成人的動脈硬化、高血壓、高脂血症、或心臟病發病率提高的主因。

【0004】 然而，肥胖不容易治療，原因在於肥胖是

與食欲控制機轉及能量代謝機轉相關聯的複雜疾病。據此，肥胖的治療不僅要求肥胖病人努力，同時也需要能夠處理食欲控制及能量代謝相關聯的異常機轉之治療方法。如此，致力於發展用於治療異常機轉的藥物。

【0005】 由於此等努力結果，已經發展出諸如利莫納班(Rimonabant[®])(賽諾菲阿萬堤(Sanofi-Aventis))、西布曲明(Sibutramin[®])(亞培(Abbott))、曲酮(Contrave[®])(武田(Takeda))、奧利司他(Orlistat[®])(羅氏(Roche))等藥物，但其具有嚴重副作用或抗肥胖功效極微弱的缺點。舉例言之，根據報告，利莫納班顯示中樞神經系統障礙之副作用，西布曲明及曲酮顯示心血管副作用，及奧利司他服用一年只顯示減少約 4 千克體重。

【0006】 對比之下，當因其它藥物或疾病或因激素或酵素缺乏結果血糖濃度降低時，由胰臟產生升糖素。升糖素發送肝臟內肝醣分解的信號，及隨後葡萄糖釋放，及扮演將血糖濃度升高至正常範圍的角色。此外，業已顯示升糖素可有效治療低血糖症。升糖素的低血糖症醫療功效係因刺激肝醣降解成葡萄糖(肝醣分解)或自肝臟流出葡萄糖增加導致從胺基酸前驅物衍生的葡萄糖產量增加(葡萄糖生合成)的結果。

【0007】 除了提高血糖濃度之功效之外，升糖素抑制食欲及活化脂肪細胞之激素敏感脂解酶來輔助脂肪分解，藉此顯示抗肥胖效果。然而，升糖素作為治療劑的用途有限，原因在於其溶解度低及其於中性 pH 沈澱。

【0008】 據此，因其於肝臟的脂肪分解活性及 β 氧化活性故，單獨使用具有改良性質的升糖素可有效地使用於重度低血糖症、非酒精性脂肪肝炎(NASH)、血脂異常等的治療。

【0009】 升糖素衍生物中之一者，升糖素樣肽-1 (GLP-1)，正在發展作為用於患有糖尿病病人治療高血糖症的治療劑。GLP-1 具有下列功能：刺激胰島素合成及分泌，抑制升糖素分泌，減慢胃排空，提高葡萄糖利用率，及抑制食物攝取。

【0010】 艾塞那肽-4(exendin-4)係從蜥蜴毒液製備，具有與 GLP-1 約 50%的胺基酸同源性，也報告可活化 GLP-1 受體，藉此改善於患有糖尿病病人的高血糖症(*J Biol Chem.* 1992 Apr 15; 267 (11): 7402-5)。然而，含有 GLP-1 的抗肥胖藥據報告顯示副作用諸如嘔吐及噁心。

【0011】 因此，作為 GLP-1 的替代方案，大量注意目光聚焦在奧辛托調節素(oxyntomodulin)，其可結合至兩種肽的受體，亦即 GLP-1 及升糖素的受體兩者。奧辛托調節素乃從升糖素前驅物(前升糖素)製備之肽，具有抑制食物攝取及提升 GLP-1 飽足感的功能，及具有升糖素樣脂解酶活性，因而提高其用於抗肥胖療法的強度。

【0012】 然而，奧辛托調節素或其衍生物具有嚴重缺點在於每日須投予過量藥物，原因在於其效果低及活體內半生期短之故。此外，當 GLP-1 活性及升糖素活性兩者皆存在於單一肽時，其活性比變成固定，因而難以使用具

有各種比例的雙重促效劑。據此，藉由調整 GLP-1 及升糖素之含量而能夠使用各種活性比的組合療法較為有效。然而，用於組合療法，要求改良升糖素的物理特性，升糖素於中性 pH 時聚積及隨著時間之經過沈澱，如此顯示溶解度不佳。

【0013】 同時，先天性高胰島素症為新生兒及兒童的重度及頑固型低血糖症最常見的起因之一。胰島素乃調節人體血糖的激素。當因食物攝取等而血糖濃度升高時，胰島素扮演降低血糖濃度的角色。然而，於先天性高胰島素症，胰島素不扮演此種角色，胰臟分泌胰島素而與血糖濃度獨立無關。結果，病人變成低血糖。

【0014】 當出現低血糖症時，無法維持腦細胞泰半利用的葡萄糖、酮、乳糖等的濃度，體內來自蛋白質及脂肪的能量供給受阻礙，結果導致腦細胞受損，及因而造成癲癇發作、學習障礙、腦性麻痺、目盲、及甚至於嚴重病例死亡。

【0015】 因胰島素過度分泌可能暫時出現低血糖症。此外，低血糖症也出現在發生胎兒窘迫的嬰兒。雖然胰島素分泌的起因未明，但於此種病例中，低血糖症可在數日至數月內改善。若血糖濃度未經良好控制，則患糖尿病母親所生嬰兒可能出現暫態性低血糖症，但若餵食情況進行良好即不再復發，低血糖症消失。另一項起因係因數種遺傳缺陷所致之頑固型高胰島素症。據報導，因遺傳缺陷所致之高胰島素症的起因包括 11p15.1 染色體上 SUR 基

因或 Kir6.2 基因突變，或 7p15-p13 染色體上葡萄糖激酶(GK) 基因突變，GK 活性增高，其增加 GK 活性，及 羧胺酸去氫酶(GDH)基因突變，其活化 GDH 及因而增加 β 胰島細胞中的 ATP 等。

【0016】 據此，即刻治療低血糖症對於預防腦部受損相當要緊。低血糖症可藉由飲用含碳水化合物之飲料治療，但於重度病例，需要葡萄糖或升糖素注射入血管內。治療目標係讓兒童使用安全裝置管理正常膳食週期。舉例言之，以一歲嬰兒為例，使用藥物允許其維持空腹歷時至少 14 小時至 15 小時，原因在於其夜間睡眠沒有飲食歷時 10 小時至 12 小時。

【0017】 使用藥物之實例可包括二氫嗪(diazoxide)、奧崔太(octreotide)、升糖素等。二氫嗪每日口服二或三次。二氫嗪藉由作用在 ATP 相依性 K^+ (KAT)通道上而抑制胰島素的分泌，如此其可有效用於 GK 高胰島素症或 GDH 高胰島素症的治療，但其通常對於由 KATP 路徑缺陷所引起的常染色體隱性高胰島素症無反應。奧崔太係藉由皮下注射投予。當投予奧崔太時，初期顯現奧崔太的效果，但偶爾經一段時間後其效果消失。升糖素促進從肝臟釋放葡萄糖且係藉由皮下注射或靜脈注射投予，已知在緊急情況當無法利用口服投藥時使用升糖素。

【0018】 其中，由於溶解度低及於中性 pH 沈澱，升糖素目前係呈凍乾配方使用，此種配方不便的原因在於使用前須先溶解於溶劑。又復，當升糖素用作為治療先天性

高胰島素症的治療劑時，由於其半生期短故需長期治療，因投藥頻繁故升糖素的用途有限。

【發明內容】

[技術問題]

【0019】 本發明之一目的係提供含有升糖素衍生物或含有其之接合物的組成物，及特別地，含有升糖素衍生物或含有其之接合物的用於預防或治療先天性高胰島素症、低血糖症、或代謝症候群之醫藥組成物。

【0020】 本發明之另一目的係提供升糖素衍生物。

【0021】 本發明之又另一目的係提供編碼升糖素衍生物的經單離之多核苷酸、含括該多核苷酸的載體、及含括該多核苷酸或該載體的經單離之細胞。

【0022】 本發明之又另一目的係提供經單離之接合物，其包括肽部分(moiety)及共價鏈結至該肽部分的可生物相容材料部分。本發明之又另一目的係提供含有升糖素衍生物或含有其之接合物的套組，及特別地，含有升糖素衍生物或含有其之接合物的用於預防或治療先天性高胰島素症、低血糖症、或代謝症候群之套組。

【0023】 本發明之又另一目的係提供用於預防或治療先天性高胰島素症之方法，其包含對有需要的個體投予升糖素衍生物或含有其之經單離之接合物或含有其之組成物。

【0024】 本發明之又另一目的係提供升糖素衍生物或含有其之經單離之接合物或含有其之組成物用於預防或

治療先天性高胰島素症之藥物的製備上之用途。

【0025】 本發明之又另一目的係提供用於預防或治療低血糖症之方法，其包含對有需要的個體投予升糖素衍生物或含有其之經單離之接合物或含有其之組成物。

【0026】 本發明之又另一目的係提供升糖素衍生物或含有其之經單離之接合物或含有其之組成物用於預防或治療低血糖症之藥物的製備上之用途。

【0027】 本發明之又另一目的係提供用於預防或治療代謝症候群之方法，其包含對有需要的個體投予升糖素衍生物或含有其之經單離之接合物或含有其之組成物。

【0028】 本發明之又另一目的係提供升糖素衍生物或含有其之經單離之接合物或含有其之組成物用於預防或治療代謝症候群之藥物(或醫藥組成物)的製備上之用途。

[技術解決方案]

【0029】 本發明之一態樣提供含有升糖素衍生物或含有其之接合物的組成物，及特別地，含有升糖素衍生物或含有其之接合物的用於預防或治療先天性高胰島素症、低血糖症、或代謝症候群之醫藥組成物。

【0030】 於特定具體例中，本發明係有關於含有包括如下通式 1 之胺基酸序列之升糖素衍生物肽的組成物，及特別地，含有包括如下通式 1 之胺基酸序列之升糖素衍生物肽的用於預防或治療先天性高胰島素症、低血糖症、或代謝症候群之醫藥組成物：

X1-X2-QGTF-X7-SD-X10-S-X12-X13-X14-X15-X16-X17-X18

-X19-X20-X21-F-X23-X24-W-L-X27-X28-X29-X30 (通式 1 ,
SEQ ID NO: 45)

其中，於通式 1 中，

X1 為組胺酸(H)、脫胺基-組胺醯基、N-二甲基-組胺醯基、 β -羥基咪唑丙醯基、4-咪唑乙醯基、 β -羧基咪唑丙醯基、色胺酸(W)、或酪胺酸(Y)，或為不存在；

X2 為 α -甲基-麩胺酸、胺基異丁酸(Aib)、D-丙胺酸、甘胺酸(G)、Sar (N-甲基甘胺酸)、絲胺酸(S)、或 D-絲胺酸；

X7 為蘇胺酸(T)、纈胺酸(V)、或半胱胺酸(C)；

X10 為酪胺酸(Y)或半胱胺酸(C)；

X12 為離胺酸(K)或半胱胺酸(C)；

X13 為酪胺酸(Y)或半胱胺酸(C)；

X14 為白胺酸(L)或半胱胺酸(C)；

X15 為天冬胺酸(D)、麩胺酸(E)、或半胱胺酸(C)；

X16 為麩胺酸(E)、天冬胺酸(D)、絲胺酸(S)、 α -甲基-麩胺酸、或半胱胺酸(C)，或為不存在；

X17 為天冬胺酸(D)、麩醯胺酸(Q)、麩胺酸(E)、離胺酸(K)、精胺酸(R)、絲胺酸(S)、半胱胺酸(C)、或纈胺酸(V)，或為不存在；

X18 為丙胺酸(A)、天冬胺酸(D)、麩胺酸(E)、精胺酸(R)、纈胺酸(V)、或半胱胺酸(C)，或為不存在；

X19 為丙胺酸(A)、精胺酸(R)、絲胺酸(S)、纈胺酸(V)、或半胱胺酸(C)，或為不存在；

X20 為離胺酸(K)、組胺酸(H)、麩醯胺酸(Q)、天冬胺

酸(D)、精胺酸(R)、 α -甲基-麩胺酸、或半胱胺酸(C)，或為不存在；

X21 為天冬胺酸(D)、麩胺酸(E)、白胺酸(L)、纈胺酸(V)、或半胱胺酸(C)，或為不存在；

X23 為異白胺酸(I)、纈胺酸(V)、或精胺酸(R)，或為不存在；

X24 為纈胺酸(V)、精胺酸(R)、丙胺酸(A)、半胱胺酸(C)、麩胺酸(E)、離胺酸(K)、麩醯胺酸(Q)、 α -甲基-麩胺酸、或白胺酸(L)，或為不存在；

X27 為異白胺酸(I)、纈胺酸(V)、丙胺酸(A)、離胺酸(K)、甲硫胺酸(M)、麩醯胺酸(Q)、或精胺酸(R)，或為不存在；

X28 為麩醯胺酸(Q)、離胺酸(K)、天冬醯胺(N)、或精胺酸(R)，或為不存在；

X29 為離胺酸(K)、丙胺酸(A)、甘胺酸(G)、或蘇胺酸(T)，或為不存在；及

X30 為半胱胺酸(C)，或為不存在；

限制條件為當通式 1 之胺基酸序列係與 SEQ ID NO: 1 相同時，其經排除。

【0031】 以下為本發明之額外特定實施例。

【0032】 特別地，如依據先前特定實施例的醫藥組成物：

於通式 1 中，

X1 為組胺酸(H)、色胺酸(W)、或酪胺酸(Y)，或為不

存在；

X2 為絲胺酸(S)或胺基異丁酸(Aib)；

X7 為蘇胺酸(T)、纈胺酸(V)、或半胱胺酸(C)；

X10 為酪胺酸(Y)或半胱胺酸(C)；

X12 為離胺酸(K)或半胱胺酸(C)；

X13 為酪胺酸(Y)或半胱胺酸(C)；

X14 為白胺酸(L)或半胱胺酸(C)；

X15 為天冬胺酸(D)或半胱胺酸(C)；

X16 為麩胺酸(E)、絲胺酸(S)、或半胱胺酸(C)；

X17 為天冬胺酸(D)、麩胺酸(E)、離胺酸(K)、精胺酸(R)、絲胺酸(S)、半胱胺酸(C)、或纈胺酸(V)；

X18 為天冬胺酸(D)、麩胺酸(E)、精胺酸(R)、或半胱胺酸(C)；

X19 為丙胺酸(A)或半胱胺酸(C)；

X20 為麩醯胺酸(Q)、天冬胺酸(D)、離胺酸(K)、或半胱胺酸(C)；

X21 為天冬胺酸(D)、麩胺酸(E)、白胺酸(L)、纈胺酸(V)、或半胱胺酸(C)；

X23 為異白胺酸(I)、纈胺酸(V)、或精胺酸(R)；

X24 為纈胺酸(V)、精胺酸(R)、丙胺酸(A)、麩胺酸(E)、離胺酸(K)、麩醯胺酸(Q)、或白胺酸(L)；

X27 為異白胺酸(I)、纈胺酸(V)、丙胺酸(A)、甲硫胺酸(M)、麩醯胺酸(Q)、或精胺酸(R)；

X28 為麩醯胺酸(Q)、離胺酸(K)、天冬醯胺(N)、或精

胺酸(R)；

X29 為蘇胺酸(T)；及

X30 為半胱胺酸(C)或為不存在。

【0033】 如依據先前特定實施例中之任一者的醫藥組成物：

於通式 1 中，

X1 為組胺酸(H)、色胺酸(W)、或酪胺酸(Y)；

X2 為絲胺酸(S)或胺基異丁酸(Aib)；

X7 為半胱胺酸(C)、蘇胺酸(T)、或纈胺酸(V)；

X10 為酪胺酸(Y)或半胱胺酸(C)；

X12 為離胺酸(K)或半胱胺酸(C)；

X13 為酪胺酸(Y)或半胱胺酸(C)；

X14 為白胺酸(L)或半胱胺酸(C)；

X15 為天冬胺酸(D)或半胱胺酸(C)；

X16 為麩胺酸(E)、絲胺酸(S)、或半胱胺酸(C)；

X17 為麩胺酸(E)、離胺酸(K)、精胺酸(R)、半胱胺酸(C)、或纈胺酸(V)；

X18 為精胺酸(R)或半胱胺酸(C)；

X19 為丙胺酸(A)或半胱胺酸(C)；

X20 為麩醯胺酸(Q)或離胺酸(K)；

X21 為天冬胺酸(D)、麩胺酸(E)、纈胺酸(V)、或半胱胺酸(C)；

X23 為纈胺酸(V)；

X24 為纈胺酸(V)或麩醯胺酸(Q)；

X27 為甲硫胺酸(M)；

X28 為天冬醯胺(N)或精胺酸(R)；

X29 為蘇胺酸(T)；及

X30 為半胱胺酸(C)或為不存在。

【0034】 如依據先前特定實施例中之任一者的醫藥組成物：

於通式 1 中，

X1 為酪胺酸(Y)；

X2 為胺基異丁酸(Aib)；

X7 為半胱胺酸(C)、蘇胺酸(T)、或纈胺酸(V)；

X10 為酪胺酸(Y)或半胱胺酸(C)；

X12 為離胺酸(K)；

X13 為酪胺酸(Y)或半胱胺酸(C)；

X14 為白胺酸(L)或半胱胺酸(C)；

X15 為天冬胺酸(D)或半胱胺酸(C)；

X16 為麩胺酸(E)、絲胺酸(S)、或半胱胺酸(C)；

X17 為離胺酸(K)、精胺酸(R)、半胱胺酸(C)、或纈胺酸(V)；

X18 為精胺酸(R)或半胱胺酸(C)；

X19 為丙胺酸(A)或半胱胺酸(C)；

X20 為麩醯胺酸(Q)或離胺酸(K)；

X21 為天冬胺酸(D)、麩胺酸(E)、或半胱胺酸(C)；

X23 為纈胺酸(V)；

X24 為麩醯胺酸(Q)；

X27 為甲硫胺酸(M)；

X28 為天冬醯胺(N)或精胺酸(R)；

X29 為蘇胺酸(T)；及

X30 為半胱胺酸(C)或為不存在。

【0035】 如依據先前特定實施例中之任一者的醫藥組成物：

於通式 1 中，

X1 為組胺酸(H)、色胺酸(W)、或酪胺酸(Y)，或為不存在；

X2 為絲胺酸(S)或胺基異丁酸(Aib)；

X7 為蘇胺酸(T)、纈胺酸(V)、或半胱胺酸(C)；

X10 為酪胺酸(Y)或半胱胺酸(C)；

X12 為離胺酸(K)或半胱胺酸(C)；

X13 為酪胺酸(Y)或半胱胺酸(C)；

X14 為白胺酸(L)或半胱胺酸(C)；

X15 為天冬胺酸(D)或半胱胺酸(C)；

X16 為麩胺酸(E)、絲胺酸(S)、或半胱胺酸(C)；

X17 為天冬胺酸(D)、麩胺酸(E)、離胺酸(K)、精胺酸(R)、絲胺酸(S)、半胱胺酸(C)、或纈胺酸(V)；

X18 為天冬胺酸(D)、麩胺酸(E)、精胺酸(R)、或半胱胺酸(C)；

X19 為丙胺酸(A)或半胱胺酸(C)；

X20 為麩醯胺酸(Q)、天冬胺酸(D)、或離胺酸(K)；

X21 為天冬胺酸(D)或麩胺酸(E)；

X23 為纈胺酸(V)；

X24 為纈胺酸(V)或麩醯胺酸(Q)；

X27 為異白胺酸(I)或甲硫胺酸(M)；

X28 為天冬醯胺(N)或精胺酸(R)；

X29 為蘇胺酸(T)；及

X30 為半胱胺酸(C)或為不存在。

【0036】 如依據先前特定實施例中之任一者的醫藥組成物：

於通式 1 中，

X1 為酪胺酸(Y)；

X2 為胺基異丁酸(Aib)；

X7 為蘇胺酸(T)；

X10 為酪胺酸(Y)；

X12 為離胺酸(K)；

X13 為酪胺酸(Y)；

X14 為白胺酸(L)；

X15 為天冬胺酸(D)或半胱胺酸(C)；

X16 為麩胺酸(E)、絲胺酸(S)、或半胱胺酸(C)；

X17 為離胺酸(K)或精胺酸(R)；

X18 為精胺酸(R)；

X19 為丙胺酸(A)；

X20 為麩醯胺酸(Q)、半胱胺酸(C)、或離胺酸(K)；

X21 為天冬胺酸(D)、半胱胺酸(C)、纈胺酸(V)、或麩胺酸(E)；

X23 為纈胺酸(V)或精胺酸(R)；

X24 為麩醯胺酸(Q)或白胺酸(L)；

X27 為甲硫胺酸(M)；

X28 為天冬醯胺(N)或精胺酸(R)；

X29 為蘇胺酸(T)；及

X30 為不存在。

【0037】 如依據先前特定實施例中之任一者的醫藥組成物，該肽含有如下通式 2 之胺基酸序列：

Y-Aib-QGTF-X7-SD-X10-S-X12-Y-L-X15-X16-X17-R-A-X20-X21-F-V-X24-W-L-M-N-T-X30 (通式 2，SEQ ID NO: 46)

其中，於通式 2 中，

X7 為蘇胺酸(T)、纈胺酸(V)、或半胱胺酸(C)；

X10 為酪胺酸(Y)或半胱胺酸(C)；

X12 為離胺酸(K)或半胱胺酸(C)；

X15 為天冬胺酸(D)或半胱胺酸(C)；

X16 為麩胺酸(E)或絲胺酸(S)；

X17 為離胺酸(K)或精胺酸(R)；

X20 為麩醯胺酸(Q)或離胺酸(K)；

X21 為天冬胺酸(D)或麩胺酸(E)；

X24 為纈胺酸(V)或麩醯胺酸(Q)；及

X30 為半胱胺酸(C)或為不存在。

【0038】 如依據先前特定實施例中之任一者的醫藥組成物，該肽具有與天然升糖素之等電點(pI)值(6.8)不同的等電點(pI)值，例如，6.5 或以下之 pI，或 7.0 或以上之

pI。

【0039】 如依據先前特定實施例中之任一者的醫藥組成物，於本發明之特定實施例中，於通式 1 或 2 中 X10 及 X14、X12 及 X16、X16 及 X20、X17 及 X21、X20 及 X24、及 X24 及 X28 之該等胺基酸對中之至少一個胺基酸對中的各個胺基酸係分別地經以能夠形成環的麩胺酸或離胺酸取代。

【0040】 如依據先前特定實施例中之任一者的醫藥組成物，於本發明之特定實施例中，於通式 1 或 2 中於 X12 及 X16 之該胺基酸對中的各個胺基酸或於 X16 及 X20 之該胺基酸對中的各個胺基酸或於 X17 及 X21 之該胺基酸對中的各個胺基酸係分別地經以能夠形成環的麩胺酸或離胺酸取代。

【0041】 如依據先前特定實施例中之任一者的醫藥組成物，於本發明之特定實施例中，於通式 1 或 2 中，一環(例如，內醯胺環)係在 X10 及 X14、X12 及 X16、X16 及 X20、X17 及 X21、X20 及 X24、及 X24 及 X28 之該等胺基酸對中之至少一個胺基酸對中的各個胺基酸間形成。

【0042】 如依據先前特定實施例中之任一者的醫藥組成物，於本發明之特定實施例中，於通式 1 或 2 中，X16 為麩胺酸，X20 為離胺酸，及 X16 及 X20 之支鏈形成內醯胺環。

【0043】 如依據先前特定實施例中之任一者的醫藥組成物，該肽之 C 端係經醯胺化或未經改性。

【0044】 如依據先前特定實施例中之任一者的醫藥組成物，該肽為能夠活化升糖素受體的天然升糖素衍生物。

【0045】 如依據先前特定實施例中之任一者的醫藥組成物，該肽包括選自由 SEQ ID NO: 2 至 44 所組成的組群中之胺基酸序列。

【0046】 如依據先前特定實施例中之任一者的醫藥組成物，該肽包括選自由 SEQ ID NO: 12、13、15、及 36 至 44 所組成的組群中之胺基酸序列。

【0047】 如依據先前特定實施例中之任一者的醫藥組成物，該肽包括 SEQ ID NO: 37 之胺基酸序列。

【0048】 如依據先前特定實施例中之任一者的醫藥組成物，該肽係呈長效接合物形式，於其中可生物相容材料部分係鏈結至肽部分，及特別係鏈結至包括通式 1 或 2 之胺基酸序列的肽部分。

【0049】 如依據先前特定實施例中之任一者的醫藥組成物，該可生物相容材料部分係選自由下列所組成的組群：聚合物、脂肪酸、膽固醇、白蛋白及其片段、白蛋白結合材料、特定胺基酸序列之重複單元之聚合物、抗體、抗體片段、FcRn 結合材料、活體內結締組織或其衍生物、核苷酸、纖維黏連蛋白、轉鐵蛋白、醣、肝素、及彈性蛋白。

【0050】 如依據先前特定實施例中之任一者的醫藥組成物，該聚合物係選自由下列所組成的組群：聚乙二醇、聚丙二醇、乙二醇-丙二醇共聚物、聚氧基乙基化多元醇、

聚乙烯醇、多醣、葡聚糖、聚乙烯基乙基醚、可生物分解聚合物、脂質聚合物、幾丁質、玻尿酸、寡核苷酸、及其組合。

【0051】 如依據先前特定實施例中之任一者的醫藥組成物，該 FcRn 結合材料為包含免疫球蛋白 Fc 區的多肽。

【0052】 如依據先前特定實施例中之任一者的醫藥組成物，該肽部分及該可生物相容材料部分係藉由連接子(linker)而鏈結。

【0053】 如依據先前特定實施例中之任一者的醫藥組成物，該連接子係選自由下列所組成的組群：肽、脂肪酸、醣、聚合物、低分子量化合物、核苷酸、及其組合。

【0054】 如依據先前特定實施例中之任一者的醫藥組成物，該聚合物係選自由下列所組成的組群：聚乙二醇、聚丙二醇、乙二醇-丙二醇共聚物、聚氧基乙基化多元醇、聚乙烯醇、多醣、葡聚糖、聚乙烯基乙基醚、可生物分解聚合物、脂質聚合物、幾丁質、玻尿酸、寡核苷酸、及其組合。

【0055】 如依據先前特定實施例中之任一者的醫藥組成物，該連接子為聚乙二醇。

【0056】 如依據先前特定實施例中之任一者的醫藥組成物，該免疫球蛋白 Fc 區係無糖基化。

【0057】 如依據先前特定實施例中之任一者的醫藥組成物，該免疫球蛋白 Fc 區係選自由下列所組成的組群：

(a) CH1 域、CH2 域、CH3 域、及 CH4 域；

(b) CH1 域及 CH2 域；

(c) CH1 域及 CH3 域；

(d) CH2 域及 CH3 域；

(e) 於 CH1 域、CH2 域、CH3 域、及 CH4 域中之一個或至少兩個域，與免疫球蛋白鉸鏈區(hinge region)或該鉸鏈區之一部分間之組合；及

(f) 該重鏈恆定區及該輕鏈可變區之各個域間的二聚體(dimer)。

【0058】 如依據先前特定實施例中之任一者的醫藥組成物，含免疫球蛋白 Fc 區的該多肽係呈二聚體形式。

【0059】 如依據先前特定實施例中之任一者的醫藥組成物，該免疫球蛋白 Fc 區為於其中能夠形成雙硫鍵的區經刪除的天然 Fc 衍生物、於其中於 N 端的該(多個)胺基酸之一部分被去除的天然 Fc 衍生物、於其中甲硫胺酸殘基被添加至該 N 端的天然 Fc 衍生物、於其中補體結合位置經刪除的天然 Fc 衍生物、或於其中抗體依賴型細胞媒介胞毒性(ADCC)位點經刪除的天然 Fc 衍生物。

【0060】 如依據先前特定實施例中之任一者的醫藥組成物，該免疫球蛋白 Fc 區係衍生自選自由 IgG、IgA、IgD、IgE、及 IgM 所組成的組群之免疫球蛋白。

【0061】 如依據先前特定實施例中之任一者的醫藥組成物，該免疫球蛋白 Fc 區為 IgG4 Fc 區。

【0062】 如依據先前特定實施例中之任一者的醫藥組成物，該免疫球蛋白 Fc 區為衍生自人類 IgG4 的無糖基

化 Fc 區。

【0063】 如依據先前特定實施例中之任一者的醫藥組成物，該連接子係鏈結至包括通式 1 或 2 之該胺基酸序列的肽之半胱胺酸殘基。

【0064】 如依據先前特定實施例中之任一者的醫藥組成物，於本發明之特定實施例中，該連接子係藉由共價鍵個別地鏈結至該肽部分及該可生物相容材料部分，該等共價鍵係當該連接子的一端與該可生物相容材料部分之胺基或硫醇基反應而該連接子的另一端與包括通式 1 或 2 之該胺基酸序列的該肽部分之胺基或硫醇基反應時分別地形成。

【0065】 本發明之另一態樣提供升糖素衍生物。

【0066】 於特定具體例中，本發明係有關於一種包括由 SEQ ID NO: 45 表示的通式 1 之胺基酸序列的經單離之肽。

【0067】 於另特定具體例中，本發明係有關於一種包括如下通式 2 之胺基酸序列的經單離之肽：

Y-Aib-QGTF-X7-SD-X10-S-X12-Y-L-X15-X16-X17-R-A-X20-X21-F-V-X24-W-L-M-N-T-X30 (通式 2，SEQ ID NO: 46)

其中，於通式 2 中，

X7 為蘇胺酸(T)、纈胺酸(V)、或半胱胺酸(C)；

X10 為酪胺酸(Y)或半胱胺酸(C)；

X12 為離胺酸(K)或半胱胺酸(C)；

X15 為天冬胺酸(D)或半胱胺酸(C)；

X16 為麩胺酸(E)或絲胺酸(S)；

X17 為離胺酸(K)或精胺酸(R)；

X20 為麩醯胺酸(Q)或離胺酸(K)；

X21 為天冬胺酸(D)或麩胺酸(E)；

X24 為纈胺酸(V)或麩醯胺酸(Q)；及

X30 為半胱胺酸(C)或為不存在。

【0068】 於依據先前特定實施例的經單離之肽中，對應於 SEQ ID NO: 19、33、49、及 50 之該等肽係從包含通式 2 之該胺基酸序列的該等經單離之肽中排除。

【0069】 於依據先前特定實施例中之任一者的經單離之肽中，於通式 2 中，X16 為麩胺酸，X20 為離胺酸，及 X16 與 X20 之支鏈形成內醯胺環。

【0070】 於依據先前特定實施例中之任一者的經單離之肽中，包含通式 2 之胺基酸序列的該肽之 C 端係經醯胺化或未經改性。

【0071】 於依據先前特定實施例中之任一者的經單離之肽中，該肽為能夠活化升糖素受體的升糖素衍生物。

【0072】 於依據先前特定實施例中之任一者的經單離之肽中，該肽包含選自由 SEQ ID NO: 12、13、15、及 36 至 44 所組成的組群中之胺基酸序列。

【0073】 本發明之又另一態樣提供編碼經單離之肽(特定言之，包括通式 1 或 2 之胺基酸序列之經單離之肽)的經單離之多核苷酸、含括該經單離之多核苷酸的載體、及含括該多核苷酸或該載體的經單離之細胞。

【0074】 本發明之又一態樣提供一種經單離之接合物，其包含肽部分及鏈接至該肽部分的可生物相容材料部分，其中該肽部分具有通式 1 或 2 之胺基酸序列之相同序列或包括該序列。

【0075】 於特定具體例中，本發明係有關於經單離之接合物，其包含肽部分及鏈接至該肽部分的可生物相容材料部分，其中該肽部分具有通式 1 之胺基酸序列之相同序列或包括該序列。

【0076】 於特定具體例中，本發明係有關於經單離之接合物，其包含肽部分及鏈接至該肽部分的可生物相容材料部分，其中該肽部分具有通式 2 之胺基酸序列之相同序列或包括該序列。

【0077】 於依據先前特定實施例的接合物中，該可生物相容材料部分係選自由下列所組成的組群：聚合物、脂肪酸、膽固醇、白蛋白及其片段、白蛋白結合材料、特定胺基酸序列之重複單元之聚合物、抗體、抗體片段、FcRn 結合材料、活體內結締組織或其衍生物、核苷酸、纖維黏連蛋白、轉鐵蛋白、醣、肝素、及彈性蛋白。

【0078】 於依據先前特定實施例中之任一者的接合物中，該聚合物係選自由下列所組成的組群：聚乙二醇、聚丙二醇、乙二醇-丙二醇共聚物、聚氧基乙基化多元醇、聚乙烯醇、多醣、葡聚糖、聚乙基乙基醚、可生物分解聚合物、脂質聚合物、幾丁質、玻尿酸、寡核苷酸、及其組合。

【0079】 於依據先前特定實施例中之任一者的接合物中，該 FcRn 結合材料為包含免疫球蛋白 Fc 區的多肽。

【0080】 於依據先前特定實施例中之任一者的接合物中，該肽部分及該可生物相容材料部分係藉由連接子而鏈結。

【0081】 如依據先前特定實施例中之任一者的接合物，該連接子係選自由下列所組成的組群：肽、脂肪酸、醣、聚合物、低分子量化合物、核苷酸、及其組合。

【0082】 於依據先前特定實施例中之任一者的接合物中，該連接子為選自由下列所組成的組群中之聚合物：聚乙二醇、聚丙二醇、乙二醇-丙二醇共聚物、聚氧基乙基化多元醇、聚乙烯醇、多醣、葡聚糖、聚乙烯基乙基醚、可生物分解聚合物、脂質聚合物、幾丁質、玻尿酸、寡核苷酸、及其組合。

【0083】 於依據先前特定實施例中之任一者的接合物中，該可生物相容材料部分為 FcRn 結合材料，及該可生物相容材料部分係藉由選自由肽、脂肪酸、醣、聚合物、低分子量化合物、核苷酸、及其組合所組成的組群中之連接子而鏈結至該肽部分。

【0084】 於依據先前特定實施例中之任一者的接合物中，該連接子為聚乙二醇。

【0085】 於依據先前特定實施例中之任一者的接合物中，該免疫球蛋白 Fc 區係無糖基化。

【0086】 於依據先前特定實施例中之任一者的接合

物中，該免疫球蛋白 Fc 區係選自由下列所組成的組群：(a) CH1 域、CH2 域、CH3 域、及 CH4 域；(b) CH1 域及 CH2 域；(c) CH1 域及 CH3 域；(d) CH2 域及 CH3 域；(e) 於 CH1 域、CH2 域、CH3 域、及 CH4 域中之一個或至少兩個域，與免疫球蛋白鉸鏈區或該鉸鏈區之一部分間之組合；及(f) 該重鏈恆定區及該輕鏈可變區之各個域間的二聚體。

【0087】 於依據先前特定實施例中之任一者的接合物中，包括免疫球蛋白 Fc 區的該多肽係呈二聚體形式。

【0088】 於依據先前特定實施例中之任一者的接合物中，該免疫球蛋白 Fc 區為於其中能夠形成雙硫鍵的區經刪除的天然 Fc 衍生物、於其中於 N 端的該(多個)胺基酸之一部分被去除的天然 Fc 衍生物、於其中甲硫胺酸殘基被添加至該 N 端的天然 Fc 衍生物、於其中補體結合位置經刪除的天然 Fc 衍生物、或於其中抗體依賴型細胞媒介胞毒性 (ADCC) 位點經刪除的天然 Fc 衍生物。

【0089】 於依據先前特定實施例中之任一者的接合物中，該免疫球蛋白 Fc 區係衍生自選自由 IgG、IgA、IgD、IgE、及 IgM 所組成的組群之免疫球蛋白。

【0090】 於依據先前特定實施例中之任一者的接合物中，該免疫球蛋白 Fc 區為 IgG4 Fc 區。

【0091】 於依據先前特定實施例中之任一者的接合物中，該免疫球蛋白 Fc 區為衍生自人類 IgG4 的無糖基化 Fc 區。

【0092】 於依據先前特定實施例中之任一者的接合

物中，該連接子係鏈結至該肽之半胱胺酸殘基。

【0093】 於依據先前特定實施例中之任一者的接合物中，於本發明之特定具體例中，該接合物之該連接子係藉由共價鍵個別地鏈結至該肽部分及該可生物相容材料部分，該等共價鍵係當該連接子的一端與該可生物相容材料部分之胺基或硫醇基反應而該連接子的另一端與包括通式 1 或 2 之該胺基酸序列的該肽部分之胺基或硫醇基反應時分別地形成。

【0094】 本發明之又另一態樣提供一種含有升糖素衍生物或含有其之接合物及醫藥上可接受之賦形劑用於預防或治療低血糖症之醫藥組成物。

【0095】 於特定具體例中，本發明係有關於一種用於預防或治療低血糖症之醫藥組成物，其含有經單離之肽或經單離之接合物，其包括具有與經單離之肽之相同序列或包含其之序列之肽部分，及共價鏈結至該肽部分的可生物相容材料部分。

【0096】 本發明之又另一態樣提供一種含有升糖素衍生物或含有其之接合物及醫藥上可接受之賦形劑用於預防或治療代謝症候群之醫藥組成物。

【0097】 於特定具體例中，本發明係有關於一種用於預防或治療代謝症候群之醫藥組成物，其含有經單離之肽；或經單離之接合物，其包括具有與經單離之肽之相同序列或包含其之序列之肽部分，及共價鏈結至該肽部分的一可生物相容材料部分。

【0098】 於依據先前特定實施例中之任一者的醫藥組成物中，該醫藥組成物進一步含有具有用於代謝症候群之醫療活性的至少一個化合物或材料。

【0099】 於依據先前特定實施例中之任一者的醫藥組成物中，具有用於代謝症候群之醫療活性的該化合物或材料係選自由下列所組成的組群：促胰島素肽、升糖素樣肽-1 (GLP-1)受體促效劑、瘦素受體促效劑、二肽基肽酶-IV (DPP-IV)抑制劑、Y5 受體拮抗劑、黑色素聚集激素(MCH)受體拮抗劑、Y2/4 受體促效劑、黑皮質素(melanocortin) 3/4 (MC 3/4)受體促效劑、胃/胰脂解酶抑制劑、5-羥基色胺受體 2C (5HT2c, G-蛋白偶合)之促效劑、 β 3A 受體促效劑、胰澱粉素受體促效劑、飢餓激素(ghrelin)拮抗劑、飢餓激素受體拮抗劑、過氧化物酶體增殖子活化受體 α (PPAR α) 促效劑、過氧化物酶體增殖子活化受體 δ (PPAR δ)促效劑、法尼醇(Farnesoid) X 受體(FXR)促效劑、乙醯基-CoA 羧基酶抑制劑、肽 YY、膽囊收縮素(CCK)、仙寧(xenin)、胰升糖素樣肽(glicentin)、肥胖抑制素(obestatin)、胰泌素(secretin)、食欲控制素(nesfatin)、胰島素、及葡萄糖依賴型促胰島素肽(GIP)。

【0100】 於依據先前特定實施例中之任一者的醫藥組成物中，促胰島素肽係選自由下列所組成的組群：GLP-1、艾塞那肽-3、艾塞那肽-4、其促效劑、其衍生物、其片段、其變體、及其組合。

【0101】 於依據先前特定實施例中之任一者的醫藥

組成物中，促胰島素肽為促胰島素肽衍生物於其中該促胰島素肽之 N 端組胺酸係經以選自由下列所組成的組群中之一者取代：脫胺基-組胺醯基、N-二甲基-組胺醯基、 β -羥基咪唑丙醯基、4-咪唑乙醯基、及 β -羧基咪唑丙醯基。

【0102】 於依據先前特定實施例中之任一者的醫藥組成物中，促胰島素肽係選自由下列所組成的組群：天然艾塞那肽-4；其中艾塞那肽-4 之 N 端胺基經刪除的艾塞那肽-4 衍生物；其中艾塞那肽-4 之 N 端胺基經以羥基取代的艾塞那肽-4 衍生物；其中艾塞那肽-4 之 N 端胺基經以二甲基改性的艾塞那肽-4 衍生物；其中艾塞那肽-4 之第 1 胺基酸組胺酸的 α 碳經刪除的艾塞那肽-4 衍生物；其中艾塞那肽-4 之第 12 胺基酸離胺酸經以絲胺酸取代的艾塞那肽-4 衍生物；及其中艾塞那肽-4 之第 12 胺基酸離胺酸經以精胺酸取代的艾塞那肽-4 衍生物。

【0103】 於依據先前特定實施例中之任一者的醫藥組成物中，促胰島素肽係呈長效接合物形式，其包含有與促胰島素肽之胺基酸序列的相同胺基酸序列之肽部分，及共價鏈結至該肽部分的可生物相容材料部分。

【0104】 於依據先前特定實施例中之任一者的醫藥組成物中，該可生物相容材料部分係選自由下列所組成的組群：聚合物、脂肪酸、膽固醇、白蛋白及其片段、白蛋白結合材料、特定胺基酸序列之重複單元之聚合物、抗體、抗體片段、FcRn 結合材料、活體內結締組織或其衍生物、核苷酸、纖維黏連蛋白、轉鐵蛋白、醣、肝素、及彈性蛋

白。

【0105】 於依據先前特定實施例中之任一者的醫藥組成物中，該聚合物係選自由下列所組成的組群：聚乙二醇、聚丙二醇、乙二醇-丙二醇共聚物、聚氧基乙基化多元醇、聚乙烯醇、多醣、葡聚糖、聚乙基乙基醚、可生物分解聚合物、脂質聚合物、幾丁質、玻尿酸、寡核苷酸、及其組合。

【0106】 於依據先前特定實施例中之任一者的醫藥組成物中，該 FcRn 結合材料為包含免疫球蛋白 Fc 區的多肽。

【0107】 於依據先前特定實施例中之任一者的醫藥組成物中，包括促胰島素肽之胺基酸序列的該肽部分係藉由連接子而鏈結到該可生物相容材料部分。

【0108】 於依據先前特定實施例中之任一者的醫藥組成物中，該連接子係選自由下列所組成的組群：肽、脂肪酸、醣、聚合物、低分子量化合物、核苷酸、及其組合。

【0109】 於依據先前特定實施例中之任一者的醫藥組成物中，該連接子為選自由下列所組成的組群中之聚合物：聚乙二醇、聚丙二醇、乙二醇-丙二醇共聚物、聚氧基乙基化多元醇、聚乙烯醇、多醣、葡聚糖、聚乙基乙基醚、可生物分解聚合物、脂質聚合物、幾丁質、玻尿酸、寡核苷酸、及其組合。

【0110】 於依據先前特定實施例中之任一者的醫藥組成物中，該代謝症候群係選自由下列所組成的組群：葡

葡萄糖耐性缺陷、高膽固醇血症、血脂異常、肥胖、糖尿病、高血壓、非酒精性脂肪肝炎(NASH)、因血脂異常引發的動脈粥狀硬化、動脈粥狀硬化、動脈硬化、冠心病、中風等。

【0111】 於依據先前特定實施例中之任一者的醫藥組成物中，促胰島素肽係藉由選自由下列所組成的組群中之連接子而鏈結至可生物相容材料部分：聚乙二醇、聚丙二醇、乙二醇-丙二醇共聚物、聚氧基乙基化多元醇、聚乙烯醇、多醣、葡聚糖、聚乙烯基乙基醚、可生物分解聚合物諸如聚乳酸(PLA)及聚乳酸乙醇酸(PLGA)、脂質聚合物、幾丁質、玻尿酸、脂肪酸、聚合物、低分子量化合物、核苷酸、及其組合。

【0112】 於依據先前特定實施例中之任一者的醫藥組成物中，該可生物相容材料部分為 FcRn 結合材料，及包括該促胰島素肽之胺基酸序列的該肽部分係藉由肽連接子或選自由下列所組成的組群之非肽連接子而鏈結至可生物相容材料部分：聚乙二醇、聚丙二醇、乙二醇-丙二醇共聚物、聚氧基乙基化多元醇、聚乙烯醇、多醣、葡聚糖、聚乙烯基乙基醚、可生物分解聚合物諸如聚乳酸(PLA)及聚乳酸乙醇酸(PLGA)、脂質聚合物、幾丁質、玻尿酸、寡核苷酸、及其組合。

【0113】 於依據先前特定實施例中之任一者的醫藥組成物中，該組成物可包括下列兩者：(i)接合物，其包含 SEQ ID NO: 37 之該胺基酸序列的該肽部分，及共價鏈結至該肽部分的可生物相容材料部分；及(ii)接合物，其包

含咪唑-乙醯基艾塞那肽-4 部分(其中艾塞那肽-4 之第一胺基酸(亦即組胺酸)的 α 碳係被刪除)，及共價鏈結至該咪唑-乙醯基艾塞那肽-4 部分的可生物相容材料部分。

【0114】 於依據先前特定實施例中之任一者的醫藥組成物中，包括 SEQ ID NO: 37 之該胺基酸序列的該肽部分及咪唑-乙醯基艾塞那肽-4 部分分別地藉由連接子而鏈結至其個別的可生物相容材料部分。

【0115】 於依據先前特定實施例中之任一者的醫藥組成物中，該 FcRn 結合材料為包括免疫球蛋白 Fc 區的多肽。

【0116】 本發明之又另一態樣提供一種用於預防或治療先天性高胰島素症之方法，其包含對有需要的個體投予升糖素衍生物或含有其之接合物或含有其之組成物。

【0117】 本發明之又另一態樣提供升糖素衍生物或含有其之接合物或含有其之組成物於先天性高胰島素症之預防或治療用藥物之製備之用途。

【0118】 本發明之又另一態樣提供一種用於預防或治療低血糖症之方法，其包含對有需要的個體投予升糖素衍生物或含有其之接合物或含有其之組成物。

【0119】 本發明之又另一態樣提供升糖素衍生物或含有其之接合物或含有其之組成物於低血糖症之預防或治療用藥物之製備之用途。

【0120】 本發明之又另一態樣提供一種用於預防或治療代謝症候群之方法，其包含對有需要的個體投予升糖

素衍生物或含有其之接合物或含有其之組成物。

【0121】 於特定具體例中，該方法進一步包括投予具有用於代謝症候群之醫療活性的至少一個化合物或材料。

【0122】 於依據先前特定實施例中之任一者的方法中，升糖素衍生物或含有其之接合物及具有用於代謝症候群之醫療活性的化合物或材料係同時、個別、或循序投予。

【0123】 本發明之又另一態樣提供升糖素衍生物或含有其之接合物或含有其之組成物於代謝症候群之預防或治療用藥物(或醫藥組成物)之製備之用途。

[發明之優異效果]

【0124】 比起天然升糖素之物理性質，本發明之升糖素衍生物具有改良之物理性質，及可有效地使用於代謝症候群，諸如肥胖、糖尿病、及非酒精性脂肪肝炎(NASH)、及先天性高胰島素症的預防與治療。

【圖式簡單說明】

【0125】

第 1 圖顯示例示肥胖動物模型(大鼠)的體重變化之線圖，該大鼠藉由高脂膳食做準備，以 3 日間隔以經調整之劑量投予該大鼠歷時 15 日，於單獨投予或組合投予長效促胰島素肽接合物(定名為長效艾塞那肽-4 衍生物)及長效升糖素衍生物接合物(定名為 SEQ ID NO: 12 之長效衍生物)期間。

第 2 圖顯示例示肥胖動物模型(大鼠)的腸系膜脂肪量

之結果，該大鼠藉由高脂膳食做準備，以經調整之劑量投予該大鼠歷時 15 日，於單獨投予或組合投予長效促胰島素肽接合物(定名為長效艾塞那肽-4 衍生物)及長效升糖素衍生物接合物(定名為 SEQ ID NO: 12 之長效衍生物)後測量(* $p < 0.05$ 與載媒劑組作比較，** $p < 0.01$ 相較於單因子變異數分析)。

第 3 圖顯示例示肥胖動物模型(大鼠)的肝臟重量之差之結果，該大鼠藉由高脂膳食做準備，以經調整之劑量投予該大鼠歷時 15 日，於單獨投予或組合投予長效促胰島素肽接合物(定名為長效艾塞那肽-4 衍生物)及長效升糖素衍生物接合物(定名為 SEQ ID NO: 12 之長效衍生物)後測量(*** $p < 0.01$ ，*** $p < 0.001$ 與載媒劑組作比較相較於單因子變異數分析)。

第 4 圖顯示例示肥胖動物模型(小鼠)的體重(BW)之變化之線圖，該小鼠藉由高脂膳食做準備，以經調整之劑量投予該小鼠歷時 22 日，於單獨投予或組合投予長效促胰島素肽接合物(定名為長效艾塞那肽-4 衍生物)及長效升糖素衍生物接合物(定名為 SEQ ID NO: 20 之長效衍生物)後。

第 5 圖顯示例示肥胖動物模型(小鼠)的膽固醇含量之變化之結果，該小鼠藉由高脂膳食做準備，以經調整之劑量投予該小鼠歷時 22 日，於單獨投予或組合投予長效促胰島素肽接合物(定名為長效艾塞那肽-4 衍生物)及長效升糖素衍生物接合物(定名為 SEQ ID NO: 20 之長效衍生物)後。

第 6 圖顯示例示肥胖動物模型(小鼠)的體重變化、血

中膽固醇含量、脂肪重量、及葡萄糖耐性缺陷之結果，該小鼠藉由高脂膳食做準備，以經調整之劑量投予該小鼠歷時 28 日，於單獨投予利拉魯肽(liraglutide)(諾華(Novo Nordisk))及長效促胰島素肽接合物(定名為長效艾塞那肽-4 衍生物)，或組合投予長效促胰島素肽接合物(定名為長效艾塞那肽-4 衍生物)及長效升糖素衍生物接合物(定名為 SEQ ID NO: 37 之長效衍生物)後。顯示與載媒劑組(投予賦形劑)比較的效果。

第 7 圖顯示例示於急性低血糖症動物模型(大鼠)中根據投予 SEQ ID NO: 37 之升糖素衍生物之長效接合物改善低血糖症的效果之結果。

第 8 圖顯示例示於慢性低血糖症動物模型(大鼠)中根據投予 SEQ ID NO: 37 之升糖素衍生物之長效接合物改善低血糖症的效果之結果。

【實施方式】

【0126】 本發明之特定細節可解釋如下。特別地，於本發明中揭示之解釋及具體實施例分別地可應用至其它解釋及實施例。換言之，於本發明中揭示之各種元素的全部組合皆屬於本發明之範疇。此外，本發明之範疇不應受如下於本文中描述的特定實施方式所限。

【0127】 此外，本領域具有通常知識者只使用習知實驗將能瞭解或確證本案中描述的本發明之特定態樣之許多相當態樣。又復，也預期此等相當態樣係含括於本發明中。

【0128】 本發明之全文揭示中，不僅使用天然存在的胺基酸的 1-字母代碼及 3-字母代碼，也使用通常用於其它胺基酸的 3-字母代碼，諸如 α -胺基異丁酸(Aib)、N-甲基甘胺酸(Sar)。此外，於本揭示中以縮寫述及的胺基酸係根據 IUPAC-IUB 命名描述。

丙胺酸 A	精胺酸 R
天冬醯胺 N	天冬胺酸 D
半胱胺酸 C	麩胺酸 E
麩醯胺酸 Q	甘胺酸 G
組胺酸 H	異白胺酸 I
白胺酸 L	離胺酸 K
甲硫胺酸 M	苯基丙胺酸 F
脯胺酸 P	絲胺酸 S
蘇胺酸 T	色胺酸 W
酪胺酸 Y	纈胺酸 V

【0129】 本發明之一態樣提供含有升糖素衍生物或含有其之接合物的組成物，及特別地，含有升糖素衍生物或含有其之接合物的用於預防或治療先天性高胰島素症、低血糖症、或代謝症候群之醫藥組成物。

【0130】 依據本發明之升糖素衍生物包括比較天然升糖素具有至少一個胺基酸序列差異的肽，於其中天然升糖素之序列係藉由改性天然升糖素加以改性的肽，及可活化天然升糖素樣升糖素受體的天然升糖素模擬物。

【0131】 此種升糖素衍生物可以是相對於天然升糖

素藉由具有變更的 pI 而具有改良之物理性質者。另外，升糖素衍生物可以是具有改良溶解度同時具有活化升糖素受體之活性者，但非受此所限。

【0132】 此外，升糖素衍生物可以是非天然出現升糖素。

【0133】 特別地，天然升糖素可具有如下胺基酸序列：

His-Ser-Gln-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Tyr-Ser-Lys-Tyr-Leu-Asp-Ser-Arg-Arg-Ala-Gln-Asp-Phe-Val-Gln-Trp-Leu-Met-Asn-Thr (SEQ ID NO: 1)

【0134】 如於本文中使用的，術語「等電點」或「pI」係指分子諸如多肽或肽不具有淨電荷(0)的該 pH 值。以具有各種帶電官能基的多肽為例，在 pH 值與 pI 值相同的一點，總多肽之淨電荷為「0」。於高於該 pI 的 pH，多肽之淨電荷將為負；而於低於該 pI 的 pH，多肽之淨電荷將為正。

【0135】 藉由等電電泳可在由聚丙烯醯胺、澱粉、或瓊脂組成的固定化 pH 梯度凝膠上測定 pI 值，或例如，可於 ExPASy 伺服器使用 pI/MW 工具 (http://expasy.org/tools/pi_tool.html; Gasteiger *et al.*, 2003) 而從胺基酸序列估計 pI 值。

【0136】 如於本文中使用的，術語「變更 pI」係指因天然升糖素之部分胺基酸序列以具有負電荷或正電荷，亦即，減少的或增加的 pI 值之胺基酸殘基取代所致之與天然

升糖素之 pI 不同的 pI。具有此種變更 pI 的肽可具有改良溶解度同時具有活化升糖素受體之活性，但非特別受此所限。

【0137】 更明確言之，升糖素衍生物可具有變更的 pI 值，而非天然升糖素的 pI 值(6.8)，及甚至更特別地，小於 6.8，更特別地 6.7 或以下，更特別地 6.5 或以下之 pI 值，及此外，超過 6.8，7 或以上，更特別地 7.5 或以上之 pI 值，但非受此所限，及與天然升糖素之 pI 值不同的任何 pI 值將屬於本發明之範圍。特別地，當 pI 值係與天然升糖素之 pI 值不同及因而比較天然升糖素之溶解度，於中性 pH 顯示改良溶解度，如此顯示低聚積程度時，特別地將屬於本發明之範圍。

【0138】 更明確言之，升糖素衍生物可具有 4 至 6.5 及/或 7 至 9.5，特別 7.5 至 9.5，及更特別 8.0 至 9.3 之 pI 值，但 pI 值並非受此所限。於此種情況下，因比較天然升糖素之 pI 值更低的或更高的 pI 值所致，可顯示比較天然升糖素於中性 pH 之改良溶解度及高安定性，但非特別受此所限。

【0139】 特別地，天然升糖素之衍生物可於天然升糖素之部分胺基酸藉由取代、添加、刪除、及改性中之任一種方法或其組合加以改性。

【0140】 藉由前述方法之組合製備的升糖素衍生物之實例包括下述肽，該肽比較天然升糖素差異在於胺基酸序列的至少一個胺基酸殘基及於其中 N 端胺基酸殘基係經

去胺基化，具有活化升糖素受體之功能，但並非受此所限，但天然升糖素衍生物可藉由衍生物之各種製備方法的組合製備。

【0141】 此外，用於製備天然升糖素衍生物的此種改性可包括使用 L 型或 D 型胺基酸及/或非天然型胺基酸的全部改性；及/或天然序列之改性，舉例言之，官能基之改性、分子內共價鍵結(例如，支鏈間之環形成)、甲基化、醯基化、泛素化、磷酸化、胺基己烷化、生物素化等。此外，改性也可包括取代入非天然化合物。

【0142】 此外，改性也可包括其中一或多個胺基酸添加至天然升糖素的胺基端及/或羧基端的全部改性。

【0143】 於胺基酸之取代或添加期間，不僅可使用人類蛋白質中常見的 20 種胺基酸，也可使用非典型或非天然出現胺基酸。非典型胺基酸之商業來源可包括西格瑪亞利胥(Sigma-Aldrich)、肯派公司(ChemPep Inc.)、及吉酶製藥(Genzyme Pharmaceuticals)。含括此等胺基酸及典型肽序列的該等肽類可經合成及購自供應商，例如，美國肽公司(American Peptide Company)、貝肯(Bachem)(美國)、或艾金(Anygen)(韓國)。

【0144】 胺基酸衍生物也可以類似方式獲得，舉例言之，可使用 4-咪唑乙酸等。

【0145】 因升糖素具有約 7 之 pH，故其不可溶於具有生理 pH (pH 4 至 8)的溶液中且傾向於中性 pH 沈澱。於具有 3 或以下之 pH 的水性溶液中，升糖素在初始階段溶

解但在一小時以內藉由形成凝膠而沈澱。因凝膠化升糖素主要由 β -片狀原纖維組成，故透過注射針頭或靜脈注射投予如此沈澱之升糖素將阻斷血管，及因而不適合用作為注射劑。為了延遲沈澱過程，常使用酸性(pH 2 至 4)配方，及藉此升糖素可歷時短時間維持於相對非聚積狀態。然而，因升糖素在低 pH 極其快速形成原纖維，故此等酸性配方必須在製備時注射。

【0146】 就此面向而言，本發明人藉由透過具有負電荷及正電荷之胺基酸殘基的取代改性天然升糖素之 pI，已經發展出具有延長作用側寫的升糖素衍生物。藉由比較天然升糖素具有變更 pI，本發明之升糖素衍生物之特徵在於比較天然升糖素，具有於中性 pH 之改良溶解度及/或高安定性。

【0147】 於本發明之特定具體例中，升糖素衍生物可以是包括如下通式 1 之胺基酸序列的肽：

X1-X2-QGTF-X7-SD-X10-S-X12-X13-X14-X15-X16-X17-X18-X19-X20-X21-F-X23-X24-W-L-X27-X28-X29-X30 (通式 1，SEQ ID NO: 45)

於上式中，

X1 為組胺酸、脫胺基-組胺醯基、N-二甲基-組胺醯基、 β -羥基咪唑丙醯基、4-咪唑乙醯基、 β -羧基咪唑丙醯基、色胺酸、或酪胺酸，或為不存在；

X2 為 α -甲基-麩胺酸、胺基異丁酸(Aib)、D-丙胺酸、甘胺酸、Sar(N-甲基甘胺酸)、絲胺酸、或 D-絲胺酸；

X7 為蘇胺酸、纈胺酸、或半胱胺酸；

X10 為酪胺酸或半胱胺酸；

X12 為離胺酸或半胱胺酸；

X13 為酪胺酸或半胱胺酸；

X14 為白胺酸或半胱胺酸；

X15 為天冬胺酸、麩胺酸、或半胱胺酸；

X16 為麩胺酸、天冬胺酸、絲胺酸、 α -甲基-麩胺酸、或半胱胺酸，或為不存在；

X17 為天冬胺酸、麩胺醯胺、麩胺酸、離胺酸、精胺酸、絲胺酸、半胱胺酸、或纈胺酸，或為不存在；

X18 為丙胺酸、天冬胺酸、麩胺酸、精胺酸、纈胺酸、或半胱胺酸，或為不存在；

X19 為丙胺酸、精胺酸、絲胺酸、纈胺酸、或半胱胺酸，或為不存在；

X20 為離胺酸、組胺酸、麩胺醯胺、天冬胺酸、精胺酸、 α -甲基-麩胺酸、或半胱胺酸，或為不存在；

X21 為天冬胺酸、麩胺酸、白胺酸、纈胺酸、或半胱胺酸，或為不存在；

X23 為異白胺酸、纈胺酸、或精胺酸，或為不存在；

X24 為纈胺酸、精胺酸、丙胺酸、半胱胺酸、麩胺酸、離胺酸、麩胺醯胺、 α -甲基-麩胺酸、或白胺酸，或為不存在；

X27 為異白胺酸、纈胺酸、丙胺酸、離胺酸、甲硫胺酸、麩胺醯胺、或精胺酸，或為不存在；

X28 為麩胺醯胺、離胺酸、天冬醯胺、或精胺酸，或為不存在；

X29 為離胺酸、丙胺酸、甘胺酸、或蘇胺酸，或為不存在；及

X30 為半胱胺酸，或為不存在；

限制條件為當通式 1 之胺基酸序列係與 SEQ ID NO: 1 相同時，其經排除。

【0148】 更特別地，

於通式 1 中，

X1 為組胺酸、色胺酸、或酪胺酸，或為不存在；

X2 為絲胺酸或胺基異丁酸(Aib)；

X7 為蘇胺酸、纈胺酸、或半胱胺酸；

X10 為酪胺酸或半胱胺酸；

X12 為離胺酸或半胱胺酸；

X13 為酪胺酸或半胱胺酸；

X14 為白胺酸或半胱胺酸；

X15 為天冬胺酸或半胱胺酸；

X16 為麩胺酸、絲胺酸、或半胱胺酸；

X17 為天冬胺酸、麩胺酸、離胺酸、精胺酸、絲胺酸、半胱胺酸、或纈胺酸；

X18 為天冬胺酸、麩胺酸、精胺酸、或半胱胺酸；

X19 為丙胺酸或半胱胺酸；

X20 為麩胺醯胺、天冬胺酸、離胺酸、或半胱胺酸；

X21 為天冬胺酸、麩胺酸、白胺酸、纈胺酸、或半胱

胺酸；

X23 為異白胺酸、纈胺酸、或精胺酸；

X24 為纈胺酸、精胺酸、丙胺酸、麩胺酸、離胺酸、麩胺醯胺、或白胺酸；

X27 為異白胺酸、纈胺酸、丙胺酸、甲硫胺酸、麩胺醯胺、或精胺酸；

X28 為麩胺醯胺、離胺酸、天冬醯胺、或精胺酸；

X29 為蘇胺酸；及

但限制條件為當通式 1 之胺基酸序列係與 SEQ ID NO: 1 相同時，其經排除。

【0149】 舉例言之，肽可以是包括選自由 SEQ ID NO: 2 至 44 所組成的組群中之胺基酸序列者，及更明確言之，(基本上)由選自由 SEQ ID NO: 2 至 44 所組成的組群中之胺基酸序列者，但並非受此所限。

【0150】 此外，雖然於本發明中描述為「由特定 SEQ ID NO 組成的肽」，但此種表示法並不排除如下可能出現的肽之突變：藉由對應 SEQ ID NO 之胺基酸序列無意義的添加上游或下游序列，或其中天然出現的突變，或其中之無聲突變，只要帶有此種突變的肽具有與由對應 SEQ ID NO 之胺基酸序列組成的肽相同的活性或相應的活性即可。即便當存在有序列添加或突變時，其顯然係屬本發明之範圍。

【0151】 前文描述者也可應用至本發明之其它特定實施例或態樣，但並非受此所限。

【0152】 特別地，於如上通式 1 中，

X1 可為組胺酸、色胺酸、或酪胺酸；

X2 可為絲胺酸或胺基異丁酸(Aib)；

X7 可為半胱胺酸、蘇胺酸、或纈胺酸；

X10 可為酪胺酸或半胱胺酸；

X12 可為離胺酸或半胱胺酸；

X13 可為酪胺酸或半胱胺酸；

X14 可為白胺酸或半胱胺酸；

X15 可為天冬胺酸或半胱胺酸；

X16 可為麩胺酸、絲胺酸、或半胱胺酸；

X17 可為麩胺酸、離胺酸、精胺酸、半胱胺酸、或纈胺酸；

X18 可為精胺酸或半胱胺酸；

X19 可為丙胺酸或半胱胺酸；

X20 可為麩胺或離胺酸；

X21 可為天冬胺酸、麩胺酸、纈胺酸、或半胱胺酸；

X23 可為纈胺酸；

X24 可為纈胺酸或麩醯胺酸；

X27 可為甲硫胺酸；

X28 可為天冬醯胺或精胺酸；

X29 可為蘇胺酸；及

X30 可為半胱胺酸或為不存在。

【0153】 舉例言之，該肽可以是包括選自由 SEQ ID NO: 3、11 至 17、19 至 27、29、31、33、及 35 至 44 所組成的組群之胺基酸序列，及特定言之，(基本上)係由選自

由 SEQ ID NO: 3、11 至 17、19 至 27、29、31、33、及 35 至 44 所組成的組群之胺基酸序列所組成者，但非受此所限。

【0154】 特定言之，於如上通式 1 中，

X1 可為酪胺酸；

X2 可為胺基異丁酸(Aib)；

X7 可為半胱胺酸、蘇胺酸、或纈胺酸；

X10 可為酪胺酸或半胱胺酸；

X12 可為離胺酸；

X13 可為酪胺酸或半胱胺酸；

X14 可為白胺酸或半胱胺酸；

X15 可為天冬胺酸或半胱胺酸；

X16 可為麩胺酸、絲胺酸、或半胱胺酸；

X17 可為離胺酸、精胺酸、半胱胺酸、或纈胺酸；

X18 可為精胺酸或半胱胺酸；

X19 可為丙胺酸或半胱胺酸；

X20 可為麩胺或離胺酸；

X21 可為天冬胺酸、麩胺酸、或半胱胺酸；

X23 可為纈胺酸；

X24 可為麩醯胺酸；

X27 可為甲硫胺酸；

X28 可為天冬醯胺或精胺酸；

X29 可為蘇胺酸；及

X30 可為半胱胺酸或為不存在，

但限制條件為當通式 1 之胺基酸序列係與 SEQ ID NO: 1 相同時，其經排除。

【0155】 舉例言之，該肽可以是包括選自由 SEQ ID NO: 12、14、17、19 至 25、27、29、33、35 至 38、40 至 42、及 44 所組成的組群之胺基酸序列，及特定言之，(基本上)係由選自由 SEQ ID NO: 12、14、17、19 至 25、27、29、33、35 至 38、40 至 42、及 44 所組成的組群之胺基酸序列所組成者，但非受此所限。

【0156】 特定言之，於如上通式 1 中，

X1 可為組胺酸、色胺酸、或酪胺酸，或為不存在；

X2 可為絲胺酸或胺基異丁酸(Aib)；

X7 可為蘇胺酸、纈胺酸、或半胱胺酸；

X10 可為酪胺酸或半胱胺酸；

X12 可為離胺酸或半胱胺酸；

X13 可為酪胺酸或半胱胺酸；

X14 可為白胺酸或半胱胺酸；

X15 可為天冬胺酸或半胱胺酸；

X16 可為麩胺酸、絲胺酸、或半胱胺酸；

X17 可為天冬胺酸、麩胺酸、離胺酸、精胺酸、絲胺酸、半胱胺酸、或纈胺酸；

X18 可為天冬胺酸、麩胺酸、精胺酸、或半胱胺酸；

X19 可為丙胺酸或半胱胺酸；

X20 可為麩胺醯胺、天冬胺酸、或離胺酸；

X21 可為天冬胺酸或麩胺酸；

X23 可為纈胺酸；

X24 可為纈胺酸或麩醯胺酸；

X27 可為異白胺酸或甲硫胺酸；

X28 可為天冬醯胺或精胺酸；

X29 可為蘇胺酸；及

X30 可為半胱胺酸或為不存在，

但限制條件為當通式 1 之胺基酸序列係與 SEQ ID NO: 1 相同時，其經排除。

【0157】 舉例言之，該肽可以是包括選自由 SEQ ID NO: 2 至 13、15、17、20 至 24、26 至 30、及 32 至 44 所組成的組群之胺基酸序列，及特定言之，(基本上)係由選自由 SEQ ID NO: 2 至 13、15、17、20 至 24、26 至 30、及 32 至 44 所組成的組群之胺基酸序列所組成者，但非受此所限。

【0158】 特定言之，於如上通式 1 中，

X1 可為酪胺酸；

X2 可為胺基異丁酸(Aib)；

X7 可為蘇胺酸；

X10 可為酪胺酸；

X12 可為離胺酸；

X13 可為酪胺酸；

X14 可為白胺酸；

X15 可為天冬胺酸或半胱胺酸；

X16 可為麩胺酸、絲胺酸、或半胱胺酸；

X17 可為離胺酸或精胺酸；

X18 可為精胺酸；

X19 可為丙胺酸；

X20 可為麩胺醯胺、半胱胺酸、或離胺酸；

X21 可為天冬胺酸、半胱胺酸、纈胺酸、或麩胺酸；

X23 可為纈胺酸或精胺酸；

X24 可為麩胺或白胺酸；

X27 可為甲硫胺酸；

X28 可為天冬醯胺或精胺酸；

X29 可為蘇胺酸；及

X30 可為不存在。

【0159】 舉例言之，該肽可以是包括選自由 SEQ ID NO: 14、16、18、19、25、及 31 所組成的組群之胺基酸序列，及特定言之，(基本上)係由選自由 SEQ ID NO: 14、16、18、19、25、及 31 所組成的組群之胺基酸序列所組成者，但非受此所限。

【0160】 更特定言之，該肽可以是包括如下通式 2 之胺基酸序列的肽：

Y-Aib-QGTF-X7-SD-X10-S-X12-Y-L-X15-X16-X17-R-A-X20-X21-F-V-X24-W-L-M-N-T-X30 (通式 2，SEQ ID NO: 46)

於通式 2 中，

X7 可為蘇胺酸、纈胺酸、或半胱胺酸；

X10 可為酪胺酸或半胱胺酸；

X12 可為離胺酸或半胱胺酸；

- X15 可為天冬胺酸或半胱胺酸；
- X16 可為麩胺酸或絲胺酸；
- X17 可為離胺酸或精胺酸；
- X20 可為麩胺或離胺酸；
- X21 可為天冬胺酸或麩胺酸；
- X24 可為纈胺酸或麩醯胺酸；及
- X30 可為半胱胺酸或可為不存在。

【0161】 舉例言之，該肽可以是包括選自由 SEQ ID NO: 12、13、15、及 36 至 44 所組成的組群之胺基酸序列，及特定言之，(基本上)係由選自由 SEQ ID NO: 12、13、15、及 36 至 44 所組成的組群之胺基酸序列所組成者，但非受此所限。更特定言之，該肽可以是包括 SEQ ID NO: 12、SEQ ID NO: 20、或 SEQ ID NO: 37 之胺基酸序列，或(基本上)係由相應胺基酸序列所組成者，但非受此所限。

- 【0162】 特定言之，於通式 2 中，
- X7 可為蘇胺酸、纈胺酸、或半胱胺酸；
 - X10 可為酪胺酸或半胱胺酸；
 - X12 可為離胺酸；
 - X15 可為天冬胺酸；
 - X16 可為麩胺酸或絲胺酸；
 - X17 可為離胺酸或精胺酸；
 - X20 可為麩胺或離胺酸；
 - X21 可為天冬胺酸或麩胺酸；
 - X24 可為麩醯胺酸；及

X30 可為半胱胺酸或可為不存在，但非特別受此所限。

【0163】 舉例言之，該肽可以是包括選自由 SEQ ID NO: 12、36 至 38、40 至 42、及 44 所組成的組群之胺基酸序列，及特定言之，(基本上)係由選自由 SEQ ID NO: 12、36 至 38、40 至 42、及 44 所組成的組群之胺基酸序列所組成者，但非受此所限。

【0164】 然而，於已單離之肽中，對應 SEQ ID NO: 2 至 11、14、16 至 35、49、及 50 之該等肽，及特定言之，對應 SEQ ID NO: 19、33、49、及 50 之該等肽可從所請求之範圍排除，但非特別受此所限，及除非另行載明，否則申請專利範圍中描述的全部肽類須屬於本發明之範圍。

【0165】 上述升糖素衍生物可包括分子內橋(例如，共價交聯或非共價交聯)，及特定言之，可呈含括一環的形式。舉例言之，升糖素衍生物可呈其中一環係形成於升糖素衍生物的第 16 個胺基酸與第 20 個胺基酸間之形式，但非特別受此所限。

【0166】 環之非限制性實例可包括內醯胺交聯(或內醯胺環)。

【0167】 此外，升糖素衍生物包括經改性而含括能夠在期望位置形成環的胺基酸因而含括環的全部者。

【0168】 該環可形成於升糖素衍生物內部的胺基酸之支鏈間(例如，呈在離胺酸之支鏈與麩胺酸之支鏈間環形成之形式)，但非特別受此所限。

【0169】 舉例言之，包括通式 1 或 2 之胺基酸序列的

肽可以是於其中於通式 1 或 2 中 X10 及 X14、X12 及 X16、X16 及 X20、X17 及 X21、X20 及 X24、及 X24 及 X28 之該等胺基酸對中各個胺基酸對中的各個胺基酸可分別地經以麩胺酸或離胺酸取代者，但非受此所限。於 X_n (n 為整數) 中， n 係指該胺基酸距所提供之胺基酸序列的 N 端之位置。

【0170】 此外，包括通式 1 或 2 之胺基酸序列的該肽可以是於其中於 X12 及 X16 之各個胺基酸對或 X16 及 X20 之該胺基酸對或 X17 及 X21 之胺基酸對中之各個胺基酸係分別地經以能夠形成環的麩胺酸或離胺酸取代者。

【0171】 此外，於通式 1 或 2 中，該肽可以是於其中一環(例如，內醯胺環)係在 X10 及 X14、X12 及 X16、X16 及 X20、X17 及 X21、X20 及 X24、及 X24 及 X28 之該等胺基酸對中之各個胺基酸對中的各個胺基酸間形成者，但非受此所限。

【0172】 此外，於通式 1 或 2 中，X16 可為麩胺酸，X20 可為離胺酸，及 X16 及 X20 之支鏈可形成內醯胺環，但非受此所限。

【0173】 此外，依據本發明之肽可以呈其中 N 端及/或 C 端係未經改性的形式，然而，該等肽之變異體於其中胺基端及/或羧基端等係經化學改性或由有機基保護者，或添加至肽之末端用於其保護免於活體內被蛋白酶作用同時提高其穩定性的胺基酸，也可含括於本發明之肽之範圍內。以於其中 C 端係未經改性為例，依據本發明之肽之末端可具有羧基，但非特別受此所限。

【0174】 特別地，以化學合成肽為例，其 N-及 C-端係帶電荷及因而該肽的 N-及 C-端可經乙醯化及/或經醯胺化，但該肽非特別受此所限。

【0175】 除非於本發明中另行載明，否則於詳細說明部分或申請專利範圍中就依據本發明之「肽」或「接合物」(於其中此種肽係共價鏈結至可生物相容材料)的描述適用於下述形式，該等形式不僅包括對應肽或接合物，同時也包括對應肽或接合物之鹽(例如，其醫藥上可接受之鹽)、或其溶劑合物。據此，即便於本發明中描述「肽」或「接合物」的情況，該描述也可同等適用於其特定鹽、其特定溶劑合物、及其特定鹽之特定溶劑合物。此等鹽類例如可呈其中使用任何醫藥上可接受之鹽之形式。鹽的種類並無特殊限制。然而，鹽較佳地為對個體例如，哺乳動物為安全而有效者，但非特別受此所限。

【0176】 術語「醫藥上可接受」係指可有效地預期使用於藥理醫學決策範疇內而不會誘生過度毒性、刺激性、過敏反應等的材料。

【0177】 如於本文中使用的，術語「醫藥上可接受之鹽」係指衍生自醫藥上可接受之無機鹽、有機鹽、或鹼之鹽。合宜鹽類的實例可包括氫氯酸、氫溴酸、硫酸、硝酸、過氯酸、反丁烯二酸、順丁烯二酸、磷酸、乙醇酸、乳酸、水楊酸、丁二酸、甲苯-對-磺酸、酒石酸、乙酸、檸檬酸、甲烷磺酸、甲酸、苯甲酸、丙二酸、萘-2-磺酸、苯磺酸等。衍生自合宜鹼之鹽類的實例可包括鹼金屬諸如鈉、鉀等；

鹼土金屬諸如鎂；鋁等。

【0178】 此外，如於本文中使用的術語「溶劑合物」係指由依據本發明之肽、接合物、或其鹽與溶劑分子間形成的複合物。

【0179】 此外，本發明之肽根據其長度可藉由本領域眾所周知之方法合成，例如藉由自動肽合成儀合成，及可藉由遺傳工程技術生產。

【0180】 特定言之，本發明之肽可藉由標準合成法、重組表現系統、或業界已知之任何其它方法製備。據此，本發明之升糖素衍生物可藉由各種方法合成包括，例如，下述方法：

(a)藉由固相法或液相法逐步組裝或藉由片段組裝合成肽，隨後為肽終產物之單離與純化之方法；或

(b)於宿主細胞內表現編碼肽之核酸構成體及從宿主細胞培養中回收表現產物之方法；或

(c)進行編碼肽之核酸構成體的試管內無細胞表現及從其中回收表現產物之方法；或

【0181】 藉由方法(a)、(b)、及(c)之任何組合獲得肽片段，藉由鏈接該等肽片段獲得肽，及然後回收肽之方法。

【0182】 於更特定實例中，期望的升糖素衍生物可藉由基因操縱產生，其包括製備編碼融合蛋白質之融合基因(包括融合對偶及升糖素衍生物)，將所得產物轉形入宿主細胞內，以融合蛋白質之形式表現，使用蛋白酶或能夠裂解蛋白質之化合物而從該融合蛋白質裂解升糖素衍生物

隨後進行單離。為了達成此項目的，舉例言之，編碼可藉由蛋白酶(諸如因子 Xa 或腸激酶)裂解的 DNA 序列之胺基酸殘基、CNBr、或化合物諸如羥基胺，可插入在融合對偶與編碼升糖素衍生物之多核苷酸間。

【0183】 於更特定具體實施例中，升糖素衍生物例如，包括通式 1 或 2 之胺基酸序列的肽，可呈長效接合物形式，於其中能夠增加該肽之活體內半生期的可生物相容材料部分係鏈結至該肽，但非受此所限。可生物相容材料部分可與載劑互換使用。

【0184】 特定言之，接合物包括肽部分及共價鏈結至肽部分的可生物相容材料部分，及肽部分可以是與通式 1 或 2 之胺基酸序列相同的序列，或包括其之序列。

【0185】 如於本文中使用的，術語「長效接合物」，呈其中可生物相容材料部分或載劑係鏈結至生理上活性材料(例如，升糖素衍生物、促胰島素肽等)之形式，係指比起可生物相容材料部分或載劑未鏈結至其上的生理上活性材料具有提升的有效時間(例如，活體內半生期延長)的接合物。於長效接合物中，可生物相容材料部分或載劑可以是共價鏈結至生理上活性材料者，但非特別受此所限。

【0186】 於本發明之特定具體實施例中，比較載劑未鏈結其上的天然升糖素或其升糖素衍生物，如上升糖素衍生物之接合物的有效時間可延長。

【0187】 如於本文中使用的，術語「可生物相容材料部分」係指可鏈結至生理上活性材料(例如，升糖素衍生

物、促胰島素肽等)及藉此比較可生物相容材料部分或載劑未鏈結其上的生理上活性材料提升有效期之功效的材料。可生物相容材料部分可以是共價鏈結至生理上活性材料者，但非特別受此所限。

【0188】 可生物相容材料部分之實例可包括聚合物、脂肪酸、膽固醇、白蛋白及其片段、白蛋白結合材料、特定胺基酸序列之重複單元之聚合物、抗體、抗體片段、FcRn 結合材料、活體內結締組織或其衍生物、核苷酸、纖維黏連蛋白、轉鐵蛋白、醣、肝素、及彈性蛋白，但非受此所限。

【0189】 聚合物之實例可選自由下列所組成的組群：聚乙二醇、聚丙二醇、乙二醇-丙二醇共聚物、聚氧基乙基化多元醇、聚乙烯醇、多醣、葡聚糖、聚乙烯基乙基醚、可生物分解聚合物、脂質聚合物、幾丁質、玻尿酸、寡核苷酸、及其組合，但非特別受此所限。

【0190】 聚乙二醇為通用術語，包括乙二醇均聚物、PEG 共聚物、及經單甲基取代之 PEG 聚合物(mPEG)之全部形式，但非特別受此所限。

【0191】 此外，可生物相容材料部分可包括聚胺基酸諸如聚離胺酸、聚天冬胺酸、及聚麩胺酸，但非受此所限。

【0192】 此外，脂肪酸可以是於活體內對白蛋白具有結合親和力者，但非特別受此所限。

【0193】 於更特定具體實施例中，FcRn 結合材料可

以是免疫球蛋白 Fc 區，及更特別地 IgG Fc 區，但非特別受此所限。

【0194】 於本發明之肽內部的至少一個胺基酸支鏈可附接至可生物相容材料部分以便增加活體內溶解度及/或半生期，及/或提高其生物利用率。此等改性可減低治療性蛋白質及肽之廓清率。

【0195】 可生物相容材料部分可以是可溶性(親兩性或親水性)及/或無毒性及/或醫藥上可接受性。

【0196】 本領域具有通常知識者已知下述事實，如此經改性之升糖素衍生物可具有比較天然升糖素更優異的療效。據此，如前文描述之升糖素衍生物變異體也屬於本發明之範疇。

【0197】 可生物相容材料部分可直接地附接到升糖素衍生物或藉由連接子鏈結其上。當可生物相容材料部分係直接地或透過連接子鏈結到升糖素衍生物時，該鏈聯可以是共價鍵。

【0198】 特定言之，連接子可以是肽連接子或非肽連接子。

【0199】 當連接子是肽連接子時，其可包括一或多個胺基酸，例如，1 至 1000 個胺基酸，但非特別受此所限。於本發明中，可使用各種已知之肽連接子(例如，含括[GS]_x連接子、[GGGS]_x連接子、及[GGGGS]_x連接子等，其中 x 為至少 1 的自然數)，但肽連接子非受此所限。

【0200】 如於本文中使用的，「非肽連接子」包括其中

至少鏈結兩個重複單元的可生物相容聚合物。重複單元係藉由任何共價鍵而非肽鍵彼此鏈結。非肽連接子可以是構成本發明之長效接合物的一部分之構成體。

【0201】 如於本文中使用，術語「非肽連接子」可與「非肽聚合物」互換使用。

【0202】 於特定具體實施例中，可生物相容材料部分及肽可藉由非肽連接子共價鏈結，該非肽連接子包括反應性基團，其可分別地鏈接至在其兩端的可生物相容材料部分(特定言之，免疫球蛋白 Fc 區)及肽。

【0203】 特定言之，非肽連接子可以是選自由下列所組成的組群中之一者：脂肪酸、醣、聚合物、低分子量化合物、核苷酸、及其組合。

【0204】 雖然並無特殊限制，但欲於本發明使用之非肽連接子的分子量可於大於 0 kDa 至約 100 kDa 或以下之範圍，特別地，約 1 kDa 至約 100 kDa，及更特別地，約 1 kDa 至約 20 kDa，但非受此所限。

【0205】 雖然並無特殊限制，但非肽連接子可以是選自由下列所組成的組群中之一者：聚乙二醇、聚丙二醇、乙二醇-丙二醇共聚物、聚氧基乙基化多元醇、聚乙烯醇、多醣、葡聚糖、聚乙烯基乙基醚、可生物分解聚合物諸如聚乳酸(PLA)及聚乳酸乙醇酸(PLGA)、脂質聚合物、幾丁質、玻尿酸、脂肪酸、聚合物、低分子量化合物、核苷酸、及其組合。

【0206】 於更特定具體實施例中，非肽連接子可以

是聚乙二醇，但非受此所限。此外，業界已知之衍生物及於業界的技術水平可容易製備的衍生物屬於本發明之範圍。

【0207】 欲於本發明使用的非肽連接子可以是對活體內蛋白酶具有抗性的任何聚合物，但非限制性。非肽連接子的分子量可於大於 0 kDa 至約 100 kDa 或以下之範圍，特別地，約 1 kDa 至約 100 kDa，及更特別地，約 1 kDa 至約 20 kDa，但非受此所限。此外，其係鏈結至包括免疫球蛋白 Fc 區的多肽之本發明之非肽連接子不僅可包括單種聚合物也可包括不同種聚合物之組合。

【0208】 如於本文中使用的術語「約」係指包括 ± 0.5 、 ± 0.4 、 ± 0.3 、 ± 0.2 、 ± 0.1 等中之全部的範圍，及其包括相當於緊接在術語「高於」後方之值或在相似範圍內之值的全部值。

【0209】 特定言之，連接子可以是藉由共價鍵分別地鏈結至肽部分及可生物相容材料部分者，其係當連接子的一端與可生物相容材料部分之胺基或硫醇基反應而連接子的另一端與肽部分(亦即，含括通式 1 或 2 之胺基酸序列的肽部分)之胺基或硫醇基反應時分別地形成。

【0210】 於特定具體實施例中，非肽連接子的一端可鏈結至免疫球蛋白 Fc 區之胺基或硫醇基，而非肽連接子的另一端可鏈結至升糖素衍生物之胺基或硫醇基。特定言之，非肽聚合物可在其兩端分別地包括反應基，反應基可鏈結至可生物相容材料部分，特別免疫球蛋白 Fc 區，及升

糖素衍生物；舉例言之，經由與升糖素衍生物之 N 端或離胺酸之胺基、或升糖素衍生物之半胱胺酸之硫醇基、可生物相容材料之 N 端或離胺酸之胺基、或可生物相容材料(例如，免疫球蛋白 Fc 區)之半胱胺酸之硫醇基反應，反應基可分別地形成欲鏈結至可生物相容材料及升糖素衍生物的共價鍵，但非受此所限。

【0211】 此外，可鏈結至可生物相容材料部分特別免疫球蛋白 Fc 區及升糖素衍生物的非肽聚合物之反應性端基可選自由醛基、順丁烯二醯亞胺基、及琥珀醯亞胺基衍生物所組成的組群，但非受此所限。

【0212】 於前文描述中，醛基之實例可包括丙醛基或丁醛基，但非受此所限。

【0213】 於前文中，作為琥珀醯亞胺衍生物，可使用戊酸琥珀醯亞胺基酯、甲基丁酸琥珀醯亞胺基酯、甲基丙酸琥珀醯亞胺基酯、丁酸琥珀醯亞胺基酯、丙酸琥珀醯亞胺基酯、N-羥基琥珀醯亞胺、羥基琥珀醯亞胺基、羧甲基琥珀醯亞胺基、或碳酸琥珀醯亞胺基酯，但非受此所限。

【0214】 此外，透過醛鍵結藉由還原胺化所產生的終產物係比藉由醯胺鍵鏈結者更穩定。於低 pH 條件醛反應基與 N 端選擇性反應，而於高 pH，例如 pH 9.0，與離胺酸殘基可形成共價鍵。

【0215】 在非肽連接子之兩端的反應基可彼此相同或相異，舉例言之，順丁烯二醯亞胺反應基可設在一端，及醛基、丙醛基、或丁醛基可設在另一端。然而，若免疫

球蛋白 Fc 區及升糖素衍生物可接合於非肽連接子的各端，則非特別受此所限。

【0216】 舉例言之，非肽聚合物可於一端具有順丁烯二醯亞胺基，及於另一端具有醛基、丙醛基、或丁醛基。

【0217】 當在其兩端具有反應性羥基的聚乙二醇使用作為非肽聚合物時，羥基可藉由已知化學反應活化成各種反應基，或具有商業上可得改性反應基之聚乙二醇可被使用來製備本發明之長效蛋白質接合物。

【0218】 於特定具體實施例中，非肽聚合物可以是可鏈結至升糖素衍生物之半胱胺酸殘基，及更特別地鏈結至半胱胺酸之-SH 基者，但非受此所限。特別地，非肽聚合物可以是聚乙二醇，但非特別受此所限，及先前描述的其它種非肽聚合物也可含括於其中。

【0219】 於特定具體實施例中，接合物可以是於其中包括 SEQ ID NO: 12、SEQ ID NO: 20、或 SEQ ID NO: 37 之該胺基酸序列之肽藉由非肽聚合物鏈結至免疫球蛋白 Fc 區者，及特別地，非肽聚合物可以是鏈結至位在 SEQ ID NO: 12 之該胺基酸序列之第 30 個的半胱胺酸殘基、位在 SEQ ID NO: 20 之該胺基酸序列之第 17 個的半胱胺酸殘基、或位在 SEQ ID NO: 37 之該胺基酸序列之第 30 的半胱胺酸殘基者，但非受此所限。特別地，非肽聚合物可以是聚乙二醇，但非特別受此所限，及先前描述的其它種非肽聚合物也可含括於其中。

【0220】 當使用順丁烯二醯亞胺-PEG-醛時，順丁烯

二醯亞胺基可藉由硫醚鍵而鏈結至升糖素衍生物之-SH基，及醛基可藉由還原胺化而鏈結至升糖素衍生物之-NH₂，但非受此所限及以上只是個具體實施例。

【0221】 此外，於如上接合物中，非肽聚合物之反應基可以是鏈結至位在免疫球蛋白 Fc 區之 N 端的 NH₂ 者，但此僅為例示性具體實施例。

【0222】 於本發明中，「免疫球蛋白 Fc 區」係指含括重鏈恆定區 2(CH₂)及/或重鏈恆定區 3(CH₃)的一區，不包括免疫球蛋白的重鏈可變區及輕鏈可變區。免疫球蛋白 Fc 區可以是構成本發明之蛋白質接合物的一部分之構成體。

【0223】 免疫球蛋白 Fc 區可包括於重鏈恆定區中之鉸鏈區，但非受此所限。此外，本發明之免疫球蛋白 Fc 區可以是延長 Fc 區含括重鏈恆定區 1 (CH₁)及/或輕鏈恆定區 1 (CL₁)的部分或全部，不包括免疫球蛋白的重鏈可變區及輕鏈可變區，只要免疫球蛋白 Fc 區具有與天然類型實質上相同的或改良的功效即可。此外，本發明之免疫球蛋白 Fc 區可以是於其中對應 CH₂ 及/或 CH₃ 的胺基酸序列之相當長部分經去除的一區。

【0224】 舉例言之，本發明之免疫球蛋白 Fc 區可以是 1) CH₁ 域、CH₂ 域、CH₃ 域、及 CH₄ 域；2) CH₁ 域及 CH₂ 域；3) CH₁ 域及 CH₃ 域；4) CH₂ 域及 CH₃ 域；5) 於 CH₁ 域、CH₂ 域、CH₃ 域、及 CH₄ 域中之一個或至少兩個域，與免疫球蛋白鉸鏈區或該鉸鏈區之一部分間之組合；及 6) 該重鏈恆定區及該輕鏈可變區之各個域間的二聚體，

但非受此所限。

【0225】 此外，於特定具體實施例中，免疫球蛋白 Fc 區可呈二聚體形式，及升糖素衍生物之一個分子可共價鏈結至呈二聚體形式的 Fc 區，及特別地，免疫球蛋白 Fc 及升糖素衍生物可藉由非肽聚合物互聯。又復，兩分子的升糖素衍生物可能以對稱方式接合至呈二聚體形式的單一 Fc 區。特別地，免疫球蛋白 Fc 及升糖素衍生物或促胰島素肽可藉由非肽連接子互聯，但非受限於前述具體實施例。

【0226】 此外，本發明之免疫球蛋白 Fc 區不只包括天然胺基酸序列，同時也包括其序列衍生物。胺基酸序列衍生物係指因刪除、插入、非保留取代或保留取代、或其組合而具有至少一個胺基酸殘基差異的胺基酸序列。

【0227】 舉例言之，於免疫球蛋白 Fc 之結合中已知之在位置 214 至 238、297 至 299、318 至 322、或 327 至 331 的胺基酸殘基可使用作為合宜改性位點。

【0228】 此外，其它各種衍生物為可能，包括具有能夠形成雙硫鍵的區刪除，或在天然 Fc 的 N 端之若干胺基酸殘基刪除，或在天然 Fc 的 N 端之甲硫胺酸殘基添加者。又，為了去除效應物功能，刪除可出現在補體結合位點，諸如 C1q 結合位點及抗體依賴型細胞媒介胞毒性(ADCC)位點。製備此等免疫球蛋白 Fc 區之序列衍生物的技術係揭示於國際專利公告案號 WO 97/34631、WO 96/32478 等。

【0229】 通常不會變更蛋白質或肽之活性的於蛋白質及肽中之胺基酸交換為業界已知(H. Neurath, R. L. Hill,

The Proteins, Academic Press, New York, 1979)。最常出現的交換為雙向的 Ala/Ser、Val/Ile、Asp/Glu、Thr/Ser、Ala/Gly、Ala/Thr、Ser/Asn、Ala/Val、Ser/Gly、Thy/Phe、Ala/Pro、Lys/Arg、Asp/Asn、Leu/Ile、Leu/Val、Ala/Glu、及 Asp/Gly。此外，若有所需，Fc 區可藉由磷酸化、硫酸化、丙烯醯化、糖基化、甲基化、法尼基化、乙醯化、醯胺化等加以改性。

【0230】 前述 Fc 衍生物顯示與本發明之 Fc 區相同的生物活性，且具有對熱、pH 等之改良結構安定性。

【0231】 又，免疫球蛋白 Fc 區可以是得自從人類或動物諸如牛、羊、豬、小鼠、兔、倉鼠、大鼠、天竺鼠等活體內單離的天然形式，或者可以是得自轉形動物細胞或微生物的重組體或其衍生物。本文中，藉由從活人體或動物體單離全免疫球蛋白及使用蛋白酶處理經單離的免疫球蛋白，Fc 區可得自天然免疫球蛋白。當全免疫球蛋白使用木瓜蛋白酶處理時，裂解成 Fab 區及 Fc 區；而當全免疫球蛋白使用胃蛋白酶處理時，裂解成 pF'c 片段及 F(ab)₂ 片段。Fc 或 pF'c 可使用尺寸排除層析術等單離。於更特定具體實施例中，人類衍生 Fc 區為得自微生物的重組免疫球蛋白 Fc 區。

【0232】 此外，免疫球蛋白 Fc 區可具有天然聚糖，比較自然類型增加的或減少的聚糖，或呈去糖基化形式。免疫球蛋白 Fc 之聚糖的增加、減少、或去除可藉由習知方法達成，諸如化學方法、酶學方法、及使用微生物的遺傳工程方法。自 Fc 區去除聚糖所得的免疫球蛋白 Fc 區顯示

對 C1q 部分的結合親和力顯示減低，及抗體依賴型胞毒性或補體依賴型胞毒性的減低或喪失，及如此於活體內不會誘生不必要的免疫反應。就此面向而言，於去糖基化的或無糖基化的免疫球蛋白 Fc 區中之免疫球蛋白 Fc 區可能是滿足本發明之原始目的作為藥物載劑的更合宜形式。

【0233】 如於本文中使用的，術語「去糖基化」係指藉由酶催化作用自 Fc 區去除糖部分，及術語「無糖基化」係指於原核生物，更明確言之，大腸桿菌(*E. coli*)產生的未經糖基化的 Fc 區。

【0234】 同時，免疫球蛋白 Fc 區可衍生自人類或其它動物包括牛、羊、豬、小鼠、兔、倉鼠、大鼠、及天竺鼠。於更特定具體實施例中，其係衍生自人類。

【0235】 此外，免疫球蛋白(Ig) Fc 區可衍生自 IgG、IgA、IgD、IgE、IgM、或其組合或混成體。於更特定具體實施例中，其係衍生自 IgG 或 IgM，其屬於人血中最豐富的蛋白質，及於又更特定實施例中，其係衍生自 IgG，其已知可提升配位體結合蛋白質的半生期。於一又甚至更特定具體實施例中，免疫球蛋白 Fc 區為 IgG4 Fc 區，及於最特定具體實施例中，IgG4 Fc 區為衍生自人類 IgG4 的無糖基化 Fc 區，但非受此所限。

【0236】 特別地，如於本文中使用的，術語「組合」表示編碼相同來源的單鏈免疫球蛋白 Fc 區之多肽鏈結至不同來源的單鏈多肽而形成二聚體或多元體。換言之，二聚體或多元體可從選自由 IgG Fc、IgA Fc、IgM Fc、IgD Fc、

及 IgE Fc 片段所組成的組群中之二或多個片段形成。

【0237】 本發明之組成物可使用來預防或治療先天性高胰島素症、低血糖症、或代謝症候群。

【0238】 如於本文中使用的，術語「預防」係指藉由投予升糖素衍生物、含有其之接合物、或組成物而抑制或延遲目標疾病(例如，先天性高胰島素症、低血糖症、或代謝症候群)的出現相關聯的全部種類之動作，術語「治療」係指藉由投予升糖素衍生物、含有其之接合物、或組成物而目標疾病(例如，先天性高胰島素症、低血糖症、或代謝症候群)的症狀改善或優異改變相關聯的全部種類之動作。

【0239】 如於本文中使用的，術語「投予」係指藉由適當方式將一特定物質導入病人體內。組成物可藉由使得組成物能於活體內遞送至目標組織的通途徑投予，例如，腹內、靜脈、肌肉、皮下、皮內、口服、局部、鼻內、肺內、及直腸內投予，但非特別受此所限。

【0240】 如於本文中使用的，術語「低血糖症」係指血糖濃度低於正常人的血糖濃度之健康狀態，及通常，係指血中葡萄糖濃度為 50 毫克/分升(mg/dL)或以下之狀態，但非特別受此所限。低血糖症常見於口服降血糖劑或使用胰島素病人飲食少於平常或從事活動或運動多於平常時所引發。此外，低血糖症可因飲酒、使用葡萄糖濃度降低藥物、重度身體疾病、激素缺乏諸如腎上腺皮質激素及升糖素缺乏、製造胰島素的胰臟腫瘤、胰島素自體免疫病、胃切除術病人、碳水化合物代謝障礙之先天缺陷等所起。

【0241】 於本發明中，低血糖症包括急性及慢性低血糖症兩者。

【0242】 低血糖症的症狀包括虛弱無力、顫抖、皮膚蒼白、冷汗、眩暈、興奮激動、焦慮不安、心悸、空腹、頭痛、倦怠等。於頑固型低血糖症案例，可能導致抽搐痙攣或癲癇發作，而可能引發休克及因而昏倒。

【0243】 更明確言之，低血糖症可因遺傳缺陷所致的頑固型高胰島素症引發。因遺傳缺陷所致之高胰島素症的已知起因實例可包括位在染色體 11p15.1 上的 SUR 基因或 Kir6.2 基因突變，或因位在染色體 7p15-p13 上的葡萄糖激酶(GK)基因突變所致之 GK 活性增加，因麩胺酸去氫酶(GDH)基因上突變所致胰島細胞中之 ATP 增加等。

【0244】 同時，先天性高胰島素症為新生兒及兒童的重度及頑固型低血糖症的主因之一。先天性高胰島素症可因低出生體重嬰兒或糖尿病母親所生嬰兒等的胰島素分泌暫時增高或基因突變所致之胰細胞功能異常所引起。已知升糖素可使用於治療先天性高胰島素症。

【0245】 此外，升糖素衍生物或含有其之接合物可使用來預防或治療低血糖症。

【0246】 此外，本發明之升糖素衍生物或含有其之接合物可使用作為藥物不僅用於預防體重增加，促進體重降低，減少過重，及治療肥胖包括病態肥胖(例如，藉由控制食欲、攝食、食物攝取、熱量攝取、及/或能量消耗)，同時也用於治療肥胖相關發炎、肥胖相關膽囊病、及肥胖

誘發睡眠呼吸中止症，但非受此所限，且可使用於治療其相關聯的疾病或健康情況。本發明之升糖素衍生物或含有其之接合物也可使用於治療肥胖以外之代謝症候群，亦即，肥胖相關疾病諸如葡萄糖耐性缺陷、高膽固醇血症、血脂異常、肥胖、糖尿病、高血壓、非酒精性脂肪肝炎(NASH)、因血脂異常引發的動脈粥狀硬化、動脈粥狀硬化、動脈硬化、冠心病、中風等。然而，依據本發明之肽的影響可全部地或部分地由前述體重相關效果媒介或可與其獨立無關。

【0247】 如於本文中使用的，術語「代謝症候群」係指因慢性代謝障礙單獨發生或組合發生所致出現各種疾病的症狀。特別地，屬於代謝症候群之疾病實例可包括葡萄糖耐性缺陷、高膽固醇血症、血脂異常、肥胖、糖尿病、高血壓、非酒精性脂肪肝炎(NASH)、因血脂異常引發的動脈粥狀硬化、動脈粥狀硬化、動脈硬化、冠心病、中風等，但非受此所限。

【0248】 如於本文中使用的，術語「肥胖」係指體脂過度堆積的醫療病況，當一個人的身體質量指數(BMI；身體質量(千克)除以身高的平方(米)之值)為25或以上時通常界定為肥胖。肥胖最常見係因長時間食物攝取比較能量消耗為過量的能量不平衡所引起。肥胖乃影響整個身體的代謝疾病，增加發生糖尿病及高脂血症的機率，提高性功能異常、關節炎、及心血管病之發生率風險，及某些病例與癌症的發生有關。

【0249】 依據本發明之升糖素衍生物具有變更的 pI，及因而比較天然升糖素顯示於中性 pH 條件具有改良之溶解度及較高安定性。此外，依據本發明之升糖素衍生物可顯示於升糖素受體上的活性，及如此可有效地用於預防或治療目標疾病，包括低血糖症、代謝症候群、及先天性高胰島素症。

【0250】 本發明之醫藥組成物可含有醫藥上可接受之載劑、賦形劑、或稀釋劑。如於本文中使用的術語「醫藥上可接受性」係指具有足量而顯示療效且不會引發副作用的性質，及由本領域具有通常知識者基於醫藥領域眾所周知之因素可容易地決定，該等因素諸如疾病種類、病人年齡、體重、健康狀態、性別、病人之藥物敏感度、投予途徑、投予方法、投予頻率、治療時間、欲混合或同時組合投予的藥物等。

【0251】 含有本發明之肽或含有其之接合物的本發明之醫藥組成物可進一步含有醫藥上可接受之載劑。醫藥上可接受之載劑可包括：用於口服投藥，黏結劑、滑動劑、崩散劑、增溶劑、分散劑、安定劑、懸浮劑、著色劑、矯味劑等；用於注射，緩衝劑、保藏劑、止痛劑、增溶劑、等張劑、安定劑等，其可組合使用；及用於局部投藥，基劑、賦形劑、潤滑劑、保藏劑等，但非受此所限。

【0252】 依據本發明之組成物的配方類型可藉由與如前述之醫藥上可接受之載劑組合而各異地製備。舉例言之，用於口服投藥，組成物可配方成錠劑、片劑、膠囊劑、

酏劑、懸浮液劑、糖漿劑、薄片劑等。用於注射，組成物可配方成單劑安瓿或多劑容器。組成物也可配方成溶液劑、懸浮液劑、錠劑、膠囊劑、及持續釋放配方。

【0253】 同時，適當載劑、賦形劑、及稀釋劑之實例可包括乳糖、右旋糖、蔗糖、山梨糖醇、甘露糖醇、木糖醇、赤絲糖醇、麥芽糖醇、澱粉、金合歡膠、褐藻酸鹽、明膠、磷酸鈣、矽酸鈣、纖維素、甲基纖維素、微晶纖維素、聚乙烷基吡咯啉酮、水、羥基苯甲酸甲酯、羥基苯甲酸丙酯、滑石、硬脂酸鎂、礦油等。此外，組成物可進一步含有填充劑、抗凝血劑、潤滑劑、濕潤劑、矯味劑、保藏劑等。

【0254】 此外，本發明之醫藥組成物可製備成選自由下列所組成的組群之任何配方類型：錠劑、丸劑、散劑、粒劑、膠囊劑、懸浮液劑、內服用之液體藥物、乳液劑、糖漿劑、無菌注射溶液劑、非水性溶劑、凍乾配方、及栓劑。

【0255】 此外，組成物可配方成適合病人體的單一劑型，及特定言之，配方成欲藉由口服或非經腸道途徑投予的根據製藥領域典型使用方法用於肽藥物有用的製劑，該非經腸道途徑諸如藉由皮膚、靜脈、肌肉、動脈內、髓內、鞘內、室內、經肺、穿皮、皮下、腹內、鼻內、胃內、局部、舌下、經陰道、或經直腸，但非受此所限。

【0256】 此外，肽或接合物可藉由摻混各種醫藥上可接受之載劑諸如生理食鹽水或有機溶劑使用。為了提高安定性或吸收性，可使用碳水化合物諸如葡萄糖、蔗糖、

或葡聚糖；抗氧化劑諸如抗壞血酸或麩胱甘肽；螯合劑；低分子量蛋白質；或其它安定劑。

【0257】 本發明之醫藥組成物的投藥劑量及頻率係由活性成分之類別連同各項因素決定，諸如欲治療的疾病、投予途徑、病人年齡、性別、及體重、疾病嚴重程度。

【0258】 雖然並非特別受此所限，但本發明之醫藥組成物可含有 0.01%(W/V)至 99%(W/V)含量之前述成分(活性成分)。

【0259】 本發明之組成物之總有效劑量可以單劑投予病人，或根據分次治療計畫分成多劑長時間投予。於本發明之醫藥組成物中，活性成分之含量可依疾病嚴重程度而異。特定言之，本發明之肽或接合物的較佳總每日劑量可以是每 1 千克病人體重約 0.0001 微克至 500 毫克。然而，除了醫藥組成物之投予途徑及治療頻率之外，肽或接合物之有效劑量係考慮各項因素決定，包括病人年齡、體重、健康狀況、性別、疾病嚴重程度、膳食、及排泄速率。就此面向而言，本領域具有通常知識者容易決定適合本發明之醫藥組成物之特定用途的有效劑量。依據本發明之醫藥組成物並非特別受限配方及投予途徑及投予模式，只要其顯示本發明之效果即可。

【0260】 本發明之醫藥組成物可顯示優異的活體內有效時間及效價，及如此比較其它醫藥組成物，投藥次數及頻率可顯著地減少，但非特別受此所限。

【0261】 特別地，因本發明之醫藥組成物含有與天

然升糖素之 pI 不同的變更 pI 之升糖素衍生物作為活性成分，故其顯示根據給定溶液之 pH 具有改良溶解度及/或高安定性，及因此本發明之醫藥組成物可有效地使用於治療目標疾病包括先天性高胰島素症、低血糖症、或代謝症候群的穩定升糖素配方之製備。

【0262】 有關用於預防或治療代謝症候群之醫藥組成物，或用於預防或治療代謝症候群之療法，醫藥組成物可進一步含有具有有關代謝症候群之醫療活性的化合物或材料，及療法可進一步包括如上化合物或材料之使用。

【0263】 欲含括於組合投藥或本發明之組成物的具有用於代謝症候群之醫療活性的化合物或材料之實例可包括促胰島素肽、升糖素樣肽-1(GLP-1)受體促效劑、瘦素受體促效劑、二肽基肽酶-IV(DPP-IV)抑制劑、Y5 受體拮抗劑、黑色素聚集激素(MCH)受體拮抗劑、Y2/4 受體促效劑、黑皮質素(melanocortin) 3/4(MC 3/4)受體促效劑、胃/胰脂解酶抑制劑、5-羥基色胺受體 2C(5HT2C)之促效劑、 β 3A 受體促效劑、胰澱粉素受體促效劑、飢餓激素(ghrelin)拮抗劑、飢餓激素受體拮抗劑、過氧化物酶體增殖子活化受體 α (PPAR α) 促效劑、過氧化物酶體增殖子活化受體 δ (PPAR δ) 促效劑、法尼醇(Farnesoid) X 受體(FXR)促效劑、乙醯基-CoA 羧基酶抑制劑、肽 YY、膽囊收縮素(CCK)、仙寧(xenin)、胰升糖素樣肽(glicentin)、肥胖抑制素(obestatin)、胰泌素(secretin)、食欲控制素(nesfatin)、胰島素、及葡萄糖依賴型促胰島素肽(GIP)，但非受此所限。此

外，全部有效用於肥胖治療之藥物及可抑制肝發炎及纖維化之藥物皆可含括在內。

【0264】 特定言之，促胰島素肽可選自由下列所組成的組群：GLP-1、艾塞那肽-3、艾塞那肽-4、其促效劑、其衍生物、其片段、其變體、及其組合。

【0265】 更特定言之，促胰島素肽可以是促胰島素肽衍生物於其中該促胰島素肽之 N 端組胺酸係經以選自由下列所組成的組群中之一者取代：脫胺基-組胺醯基、N-二甲基-組胺醯基、 β -羥基咪唑丙醯基、4-咪唑乙醯基、及 β -羧基咪唑丙醯基，但不限於此。特別地，促胰島素肽可以是 GLP-1、艾塞那肽-3、艾塞那肽-4。

【0266】 又更特定言之，促胰島素肽可選自由下列所組成的組群：天然艾塞那肽-4；其中艾塞那肽-4 之 N 端胺基經刪除的艾塞那肽-4 衍生物；其中艾塞那肽-4 之 N 端胺基經以羥基取代的艾塞那肽-4 衍生物；其中艾塞那肽-4 之 N 端胺基經以二甲基改性的艾塞那肽-4 衍生物；其中艾塞那肽-4 之第 1 個胺基酸組胺酸的 α 碳經刪除的艾塞那肽-4 衍生物；其中艾塞那肽-4 之第 12 胺基酸離胺酸經以絲胺酸取代的艾塞那肽-4 衍生物；及其中艾塞那肽-4 之第 12 個胺基酸離胺酸經以精胺酸取代的艾塞那肽-4 衍生物，但非受此所限。

【0267】 同時，作為促胰島素肽或其長效接合物之實例，美國專利申請公告案第 2010-0105877 號之全體揭示係爰引於本發明融入本說明書之揭示，但非受此所限。

【0268】 此外，促胰島素肽可呈接合物形式，其包括一肽部分，其包括前述促胰島素肽之胺基酸序列，及鏈結至該肽部分的可生物相容材料部分，但非受此所限。特定言之，包括促胰島素肽之胺基酸序列的肽部分其特徵在於其係呈藉由連接子共價鏈結至可生物相容材料部分的接合物形式，但非特別受此所限。促胰島素肽之接合物可以是長效接合物，及有關長效型的定義係與如上解釋者相同。

【0269】 針對有關接合物之全部特徵，特別可生物相容材料部分(免疫球蛋白 Fc)及連接子(例如，非肽聚合物)，前文描述者全部皆適用。舉例言之，連接子可以是藉由共價鍵分別地鏈結至肽部分及可生物相容材料部分者，該等共價鍵其係當連接子的一端與可生物相容材料部分之胺基或硫醇基反應而連接子的另一端與肽部分之胺基或硫醇基反應時分別地形成。

【0270】 於特定具體例中，非肽連接子的一端可與免疫球蛋白 Fc 區之胺基或硫醇基反應，而連接子的另一端可與促胰島素肽之胺基或硫醇基反應及藉此分別地形成共價鍵。

【0271】 於更特定具體實施例中，用於預防或治療前述代謝症候群之組成物或療法可以是含有或使用如下通式 2 之胺基酸序列的該肽或共價鏈結至該肽的可生物相容材料部分之該接合物之組成物或療法，但非特別受此所限。
Y-Aib-QGTF-X7-SD-X10-S-X12-Y-L-X15-X16-X17-R-A-X20-X21-F-V-X24-W-L-M-N-T-X30 (通式 2，SEQ ID NO: 46)

【0272】 於通式 2 中，

X7 為蘇胺酸、纈胺酸、或半胱胺酸；

X10 為酪胺酸或半胱胺酸；

X12 為離胺酸或半胱胺酸；

X15 為天冬胺酸或半胱胺酸；

X16 為麩胺酸或絲胺酸；

X17 為離胺酸或精胺酸；

X20 為麩胺或離胺酸；

X21 為天冬胺酸或麩胺酸；

X24 為纈胺酸或麩醯胺酸；及

X30 為半胱胺酸或為不存在。

【0273】 依據先前特定具體實施例之肽，當通式 2 之胺基酸序列係與 SEQ ID NO: 19、33、49、及 50 中之任一者相同時，該等肽之全部或部分可不包括在內。

【0274】 更特定言之，組成物可包括兩者(i)接合物，其包含 SEQ ID NO: 37 之該胺基酸序列的該肽部分，及共價鏈結至該肽部分的可生物相容材料部分；及(ii)接合物，其包括咪唑-乙醯基艾塞那肽-4 部分其中艾塞那肽-4 之第 1 胺基酸(亦即，組胺酸)的 α 碳係被刪除，及共價鏈結至該咪唑-乙醯基艾塞那肽-4 部分的可生物相容材料部分。又更特定言之，含 SEQ ID NO: 37 之該胺基酸序列的該肽部分及咪唑-乙醯基艾塞那肽-4 部分可藉由連接子鏈結至其個別的可生物相容材料部分，但非特別受此所限。

【0275】 具有有關代謝症候群之醫療活性的化合物

或材料，特別其中促胰島素肽係鏈結至可生物相容材料部分的接合物的投予劑量可以是每 1 千克病人體重約 0.0001 微克至約 500 毫克之範圍，但非特別受此所限。

【0276】 此外，本發明之醫藥組成物可以 0.01%(W/V) 至 99%(W/V)之量含有如上用於組合投藥之材料，換言之，具有有關代謝症候群之醫療活性的化合物或材料及升糖素衍生物或含有其之接合物(或如上用於組合投藥之材料的各個成分)。

【0277】 同時，於一態樣中，具有有關代謝症候群之醫療活性的化合物或材料及升糖素衍生物或含有其之接合物，其中可生物相容材料部分係鏈結至促胰島素肽之接合物(例如，促胰島素肽-PEG-IgFc 接合物)及其中可生物相容材料部分係鏈結至升糖素衍生物之接合物可以 1:0.01 至 1:50 之莫耳比使用，但非特別受此所限。

【0278】 於另一態樣中，本發明提供包括升糖素衍生物或含有其之接合物之套組，及特定言之，包括升糖素衍生物或含有其之接合物用於預防或治療先天性高胰島素症、低血糖症、或代謝症候群之套組。

【0279】 升糖素衍生物、或含有其之接合物、先天性高胰島素症、低血糖症、代謝症候群、預防、或治療係同前文解釋。可進一步含括於本發明之套組的成分種類可包括如上解釋可含括於組成物中之全部成分種類。

【0280】 特別地，當套組為用於預防或治療代謝症候群之套組時，(i)升糖素衍生物，特定言之，包括通式 1

或 2 之胺基酸序列之肽，或含有其之接合物，及(ii)促胰島素肽，特別 GLP-1、艾塞那肽-3、艾塞那肽-4、或其衍生物，或含有其之接合物兩者，但非特別受此所限。

【0281】 於另一態樣中，本發明提供一種升糖素衍生物。

【0282】 升糖素衍生物係與前文解釋者相同。

【0283】 更特定言之，衍生物之特徵在於其為包括前述由 SEQ ID NO: 45 表示之通式 1 之胺基酸序列的經單離之肽。對於有關包括通式 1 之胺基酸序列的經單離之肽的解釋及組合，如上描述之全部皆適用。

【0284】 衍生物之特徵在於其為包括如下通式 2 之胺基酸序列的經單離之肽。

Y-Aib-QGTF-X7-SD-X10-S-X12-Y-L-X15-X16-X17-R-A-X20-X21-F-V-X24-W-L-M-N-T-X30 (通式 2，SEQ ID NO: 46)

【0285】 於通式 2 中，

X7 為蘇胺酸、纈胺酸、或半胱胺酸；

X10 為酪胺酸或半胱胺酸；

X12 為離胺酸或半胱胺酸；

X15 為天冬胺酸或半胱胺酸；

X16 為麩胺酸或絲胺酸；

X17 為離胺酸或精胺酸；

X20 為麩胺或離胺酸；

X21 為天冬胺酸或麩胺酸；

X24 為纈胺酸或麩醯胺酸；及

X30 為半胱胺酸或為不存在。

【0286】 當通式 2 之胺基酸序列係與 SEQ ID NO: 19、33、49、及 50 中之任一者相同時，其可不包括在內。

【0287】 更明確言之，於包括通式 2 之胺基酸序列之肽中，X16 可為麩胺酸，X20 可為離胺酸，及 X16 及 X20 之支鏈可形成內醯胺環，但非受此所限。

【0288】 此外，包括通式 2 之胺基酸序列之肽的 C 端可經醯胺化或未經改性，但非受此所限。

【0289】 此外，肽可以是能夠活化升糖素受體的升糖素衍生物，但非受此所限。

【0290】 更明確言之，肽可包括選自由 SEQ ID NO: 12、13、15、及 36 至 44 所組成的組群的胺基酸序列，但非受此所限。

【0291】 於又另一態樣中，本發明提供編碼升糖素衍生物的經單離之多核苷酸、含括該經單離之多核苷酸的載體、及含括該多核苷酸或該載體的經單離之細胞。

【0292】 升糖素衍生物係與如上解釋者相同。

【0293】 特定言之，衍生物可以是包括由如上描述之 SEQ ID NO: 45 表示之通式 1 之胺基酸序列的經單離之肽。對於有關包括通式 1 之胺基酸序列的經單離之肽的解釋及組合，如上描述之全部皆適用。此外，特定言之，衍生物可以是包括由如上描述之 SEQ ID NO: 46 表示之通式 2 之胺基酸序列的經單離之肽。對於有關包括通式 2 之胺基酸序列的經單離之肽的解釋及組合，如上描述之全部皆適

用。

【0294】 如於本文中使用的，術語「同源性」指示與野生型胺基酸序列或野生型核苷酸序列的序列相似度，及同源性比較可以肉眼或使用市售比較程式完成。使用市售電腦程式，二或多個序列間之同源性可表示為百分比(%)，及相鄰序列間之同源性(%)可經計算。

【0295】 如於本文中使用的，術語「重組載體」係指DNA 構成體包括編碼目標肽例如升糖素衍生物之多核苷酸序列，其係可操作式鏈結至適當調節序列以使得目標肽(例如升糖素衍生物)能於宿主細胞內表現。

【0296】 調節序列包括能起始轉錄的啟動基因，用於轉錄之調節的任何操縱基因序列，編碼適當 mRNA 核糖體結合域的序列，及調節轉錄與轉譯之終結的序列。在轉形入合宜宿主細胞內之後，重組載體可與宿主基因體獨立無關地複製或發揮功能，或可整合入宿主基因體本身內。

【0297】 於本發明中使用的重組載體可無特殊限制，只要載體於宿主細胞內可複製即可，及其可使用業界已知之任何載體構築。習用載體之實例可包括天然或重組質體、黏端質體、病毒、及噬菌體。欲於本發明中使用的載體可以是業界已知之任何表現載體。

【0298】 重組載體係使用於宿主細胞的轉形用以製造本發明之升糖素衍生物。此外，作為本發明之一部分，此等轉形細胞可使用於核酸片段及載體之擴增，或者可以是使用於本發明之升糖素衍生物的重組製造的培養細胞或

細胞株。

【0299】 如於本文中使用，術語「轉形」係指將含括編碼目標蛋白質之多核苷酸的重組載體導入宿主細胞內的程序，藉此使得由該多核苷酸編碼之蛋白質於宿主細胞內表現。至於轉形多核苷酸，其是否插入宿主細胞的染色體內且位在其上或位在染色體外部並不重要，只要即可於宿主細胞內表現即可，及兩種情況皆含括在內。

【0300】 此外，多核苷酸包括編碼目標蛋白質的DNA及RNA。多核苷酸可以任何形式插入，只要其可導入宿主細胞內且於其中表現即可。舉例言之，多核苷酸可以表現卡匣形式導入宿主細胞內，該表現卡匣為包括自行表現需要的全部主要元體之基因構成體。習知地，該表現卡匣可包括操作式鏈結至多核苷酸的啟動基因、轉錄終結信號、核糖體結合域、及轉譯終結信號。該表現卡匣可呈能夠自行複製的表現載體形式。此外，多核苷酸可就此導入宿主細胞內及操作式鏈結至其於宿主細胞內表現所必要的序列，但非受此所限。

【0301】 此外，如於本文中使用，術語「操作式鏈結」係指啟動基因序列(其起始與媒介編碼本發明之目標肽的多核苷酸之轉錄)與如上基因序列間之功能連結。

【0302】 欲於本發明使用的適當宿主可無特殊限制，只要其能表現本發明之多核苷酸即可。適當宿主之實例可包括屬於埃希氏菌(*Escherichia*)屬的細菌諸如大腸桿菌；屬於芽胞桿菌(*Bacillus*)屬的細菌諸如枯草桿菌

(*Bacillus subtilis*)；屬於假單胞桿菌(*Pseudomonas*)屬的細菌諸如惡臭假單胞桿菌(*Pseudomonas*)；酵母菌諸如畢赤酵母(*Pichia pastoris*)、啤酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)、及粟酒裂殖酵母(*Schizosaccharomyces pombe*)；昆蟲細胞諸如草地夜蛾(*Spodoptera frugiperda* (Sf9))；及動物細胞諸如CHO、COS、及BSC。

【0303】 於又另一態樣中，本發明提供經單離之接合物，於其中升糖素衍生物係鏈結至能夠延長升糖素衍生物的活體內半生期之可生物相容材料部分。接合物可以是長效接合物。

【0304】 特定言之，本發明提供包括肽部分及可生物相容材料部分的經單離之接合物，且該肽部分為與通式1或2之相同序列，或包括其之序列。

【0305】 有關升糖素衍生物、通式1或2之胺基酸序列、可生物相容材料、及接合物之構成，前文描述者全部皆適用。

【0306】 特定言之，衍生物可以是包括前述由SEQ ID NO: 45表示的通式1之胺基酸序列的經單離之肽。對於有關包括通式1之胺基酸序列的經單離之肽的特徵及組合，前文描述者全部皆適用。

【0307】 此外，特定言之，衍生物可以是包括前述由SEQ ID NO: 46表示的通式2之胺基酸序列的經單離之肽。對於有關包括通式2之胺基酸序列的經單離之肽的特徵及組合，前文描述者全部皆適用。

【0308】 特定言之，可生物相容材料部分可選自由下列所組成的組群：聚合物、脂肪酸、膽固醇、白蛋白及其片段、白蛋白結合材料、特定胺基酸序列之重複單元之聚合物、抗體、抗體片段、FcRn 結合材料、活體內結締組織或其衍生物、核苷酸、纖維黏連蛋白、轉鐵蛋白、醣、肝素、及彈性蛋白，但非受此所限。特別地，聚合物可選自由下列所組成的組群：聚乙二醇、聚丙二醇、乙二醇-丙二醇共聚物、聚氧基乙基化多元醇、聚乙烯醇、多醣、葡聚糖、聚乙烯基乙基醚、可生物分解聚合物、脂質聚合物、幾丁質、玻尿酸、寡核苷酸、及其組合，但非特別受此所限。

【0309】 更明確言之，FcRn 結合材料可以是包括免疫球蛋白 Fc 區的多肽，但非特別受此所限。有關免疫球蛋白 Fc 區之相同解釋也適用於此一態樣。

【0310】 經單離之接合物可以是於其中升糖素衍生物部分，尤其包括升糖素衍生物肽之胺基酸序列的肽部分，及可生物相容材料部分係藉由連接子而彼此鏈結者。有關連接子之相同解釋也適用於此態樣。

【0311】 此外，升糖素衍生物部分，尤其包括升糖素衍生物肽之胺基酸序列的肽部分，可藉由選自由下列所組成的組群中之連接子而鏈結至可生物相容材料部分：聚乙二醇、聚丙二醇、乙二醇-丙二醇共聚物、聚氧基乙基化多元醇、聚乙烯醇、多醣、葡聚糖、聚乙烯基乙基醚、可生物分解聚合物諸如聚乳酸(PLA)及聚乳酸乙醇酸(PLGA)、

脂質聚合物、幾丁質、玻尿酸、脂肪酸、聚合物、低分子量化合物、核苷酸、及其組合，但非受此所限。

【0312】 此外，可生物相容材料部分可以是 FcRn 結合材料，及經單離之肽可藉由肽連接子或選自由下列所組成的組群之非肽連接子而鏈結至可生物相容材料部分：聚乙二醇、聚丙二醇、乙二醇-丙二醇共聚物、聚氧基乙基化多元醇、聚乙烯醇、多醣、葡聚糖、聚乙烯基乙基醚、可生物分解聚合物諸如聚乳酸 (PLA) 及聚乳酸乙醇酸 (PLGA)、脂質聚合物、幾丁質、玻尿酸、寡核苷酸、及其組合，但非受此所限。

【0313】 特別地，FcRn 結合材料可以是包括免疫球蛋白 Fc 區之多肽，及連接子特別可以是聚乙二醇，但非受此所限。

【0314】 此外，連接子可以是鏈結至升糖素衍生物之半胱胺酸殘基者，但非特別受此所限。

【0315】 此外，連接子可以是分別地藉由共價鍵而鏈結至升糖素衍生物及可生物相容材料部分者，該等共價鍵係當該連接子的一端與該可生物相容材料部分之胺基或硫醇基反應而該連接子的另一端與該肽部分之胺基或硫醇基反應時分別地形成，但非特別受此所限。

【0316】 於又另一個態樣中，本發明提供一種預防或治療先天性高胰島素症、低血糖症、或代謝症候群之方法，包括對個體投予升糖素衍生物、含有其之接合物、或含有其之組成物。

【0317】 升糖素衍生物、含有其之接合物、含有其之組成物、先天性高胰島素症、低血糖症、代謝症候群、預防、及治療係同前文解釋。

【0318】 於本發明中，術語「個體」係指疑似患有先天性高胰島素症、低血糖症、或代謝症候群者，其表示患有先天性高胰島素症、低血糖症、或代謝症候群或帶有先天性高胰島素症、低血糖症、或代謝症候群之風險的哺乳動物包括人類、小鼠、及牲畜。然而欲使用本發明之升糖素衍生物或含有其之組合物處理的任何個體皆係含括在內而非限制性。又，疑似患有先天性高胰島素症、低血糖症、或代謝症候群的個體可藉由投予含有本發明之升糖素衍生物的醫藥組成物有效地處理。先天性高胰島素症、低血糖症、及肥胖係同前文解釋。

【0319】 本發明之方法可包括以醫藥上有效量投予含肽之醫藥組成物。總每日劑量須由醫師在適當醫療判定以內決定，及每日投予一次或以平分劑量每日投予數次。至於本發明之目的，針對任何特定病人的特定治療有效劑量較佳地可差異地施用，取決於醫療業界眾所周知的各項因素，包括欲達成的反應種類及程度、含括偶爾與其一起使用的其它作用劑與否的特定組成物、病人年齡、體重、一般健康狀況、性別及膳食、投予時間及途徑、組成物之分泌速率、治療時間、與本發明之組成物組合使用或併同使用的其它藥物、及醫療業界眾所周知的類似因素。

【0320】 同時，預防或治療代謝症候群之方法可以

是使用組合投藥的療法，其進一步含有具有有關代謝症候群的醫療活性之至少一種化合物或材料，但該方法並非特別受此所限。

【0321】 如於本文中使用，術語「組合投予」須瞭解為係指同時、個別、或循序投予。當投予為循序或個別投予時，投予二次成分的時間間隔須為不會喪失組合投予的優異功效的時間間隔。

【0322】 於又另一態樣中，本發明提供升糖素衍生物或經單離之接合物或組成物用於預防或治療先天性高胰島素症、低血糖症、或代謝症候群之藥物(或醫藥組成物)的製備上之用途。

【0323】 升糖素衍生物、經單離之接合物、組成物、先天性高胰島素症、低血糖症、及代謝症候群係同前文解釋。

【0324】 後文中，將參考下列實例及實驗例以進一步細節描述本發明。然而，下列實例及實驗例係僅供例示性目的，及本發明之範疇絕不應受此所限。

【0325】

實施例 1：顯示對升糖素之 cAMP 反應的細胞株的製造

PCR 之進行方式係使用於人類升糖素受體基因之 cDNA (美國奧里金技術公司(OriGene Technologies, Inc.))中對應開放讀碼框(ORF)的一區作樣板，連同如下正向引子及反向引子(分別為 SEQ ID NO: 47 及 48)進行，其包括 *EcoRI* 及 *XhoI* 限剪位點中之各者。

【0326】 特別地，PCR 係在下列條件下共進行 30 週期：於 95°C 變性歷時 60 秒，於 55°C 退火歷時 60 秒，及於 68°C 聚合歷時 30 秒。已擴增之 PCR 產物接受 1.0%瓊脂糖凝膠電泳，及藉由洗提獲得 450 bp 帶。

正向引子(SEQ ID NO: 47):

5' -CAGCGACACCGACCGTCCCCCGTACTTAAGGCC-3'

反向引子(SEQ ID NO: 48):

5' -CTAACCGACTCTCGGGGAAGACTGAGCTCGCC-3'

【0327】 PCR 產物選殖入已知動物細胞表現載體 x0GC/dhfr 以製備重組載體 x0GC/GCGR。

【0328】 於 DMEM/F12 (含 10% FBS)培養基中培養的 CHO DG44 細胞株使用脂染胺®(Lipofectamine®)以重組載體 x0GC/GCGR 轉染，及於含 G418(1 毫克/毫升(mg/mL))及胺甲喋呤(methotraxate) (10 nM)之選擇培養基中培養。藉由限制稀釋技術自其中選擇單一選殖株細胞株，及最終從其中選出以濃度相依性方式顯示對升糖素之優異 cAMP 反應的細胞株。

【0329】

實施例 2：升糖素衍生物之合成

為了製備具有改良物理性質的升糖素衍生物，SEQ ID NO: 1 之天然升糖素的胺基酸序列以具有正電荷及負電荷的胺基酸殘基取代，及藉此合成升糖素衍生物，如下表 1 中顯示。下述相對試管內活性係藉由實施例 4 中描述之方法測量。

[表 1]天然升糖素與升糖素衍生物之胺基酸序列

SEQ ID NO	肽序列	環形成	pI	試管內活性(對 SEQ ID NO: 1 的相對活 性，%)
SEQ ID NO: 1	HSQGTFTSDYSKYLD S RRA QDFVQWLMNT	-	6.8	100
SEQ ID NO: 2	HSQGTFTSDYSKYLD C DRRA QDFVQWLMNT	-	4.56	0.6
SEQ ID NO: 3	HSQGTFTSDYSKYLD C ERA QDFVQWLMNT	-	4.66	6.1
SEQ ID NO: 4	HSQGTFTSDYSKYLD S CDA QDFVQWLMNT	-	4.13	< 0.1
SEQ ID NO: 5	HSQGTFTSDYSKYLD S CEA QDFVQWLMNT	-	4.22	0.3
SEQ ID NO: 6	HSQGTFTSDYSKYLD S CEA DDFVQWLMNT	-	4.03	< 0.1
SEQ ID NO: 7	YSQGTFTSDYSKYLD S CEA DDFVQWLMNT	-	3.71	< 0.1
SEQ ID NO: 8	YXQGTFTSDYSKYLD S CDA QDFVQWLINT	-	3.77	< 0.1
SEQ ID NO: 9	YXQGTFTSDYSKYLD S CDA QDFVVWLINT	-	3.77	< 0.1
SEQ ID NO: 10	YXQGTFTSDYSKYLD S CDA DDFVVWLINT	-	3.66	< 0.1
SEQ ID NO: 11	YXQGTFTSDYSKYLD E KCA KEFVQWLMNT	-	4.78	4.6
SEQ ID	YXQGTFTSDYSKYLD E KRA	環形成	6.20	56.3

NO: 12	<u>K</u> EFVQWLMNTC			
SEQ ID NO: 13	YXQGTFTSDYSCYLD <u>S</u> RRA QDFVQWLMNT	-	4.43	5.2
SEQ ID NO: 14	YXQGTFTSDY <u>S</u> KYLDCKRA KEFVQWLMNT	-	8.12	18.1
SEQ ID NO: 15	YXQGTFTSDY <u>S</u> KYLCEKRA QDFV <u>V</u> WLMNT	-	6.11	1.1
SEQ ID NO: 16	YXQGTFTSDY <u>S</u> KYLDCRRA QVFVQWLMRT	-	9.11	4.2
SEQ ID NO: 17	YXQGTFTSDY <u>S</u> KYLDCVRA QDFVQWLMRT	-	6.03	23.2
SEQ ID NO: 18	YXQGTFTSDY <u>S</u> KYLD <u>S</u> RRA CDFRLWLMNT	-	8.15	< 0.1
SEQ ID NO: 19	YXQGTFTSDY <u>S</u> KYL <u>C</u> EKRA <u>K</u> EFVQWLMNT	環形成	8.12	12.1
SEQ ID NO: 20	YXQGTFTSDY <u>S</u> KYL <u>D</u> ECRA <u>K</u> EFVQWLMNT	環形成	4.78	299.7
SEQ ID NO: 21	YXQGTFTSDY <u>S</u> KYL <u>D</u> EKCA <u>K</u> EFVQWLMNT	環形成	4.78	57.8
SEQ ID NO: 22	YXQGTFTSDY <u>S</u> KYL <u>D</u> EKRC <u>K</u> EFVQWLMNT	環形成	6.20	147.8
SEQ ID NO: 23	YXQGTFTSDY <u>S</u> KYCD <u>E</u> KRA <u>K</u> EFVQWLMNT	環形成	6.20	76.8
SEQ ID NO: 24	YXQGTFTSDY <u>S</u> KCL <u>D</u> EKRA <u>K</u> EFVQWLMNT	環形成	6.21	58.0
SEQ ID NO: 25	YXQGTFTSDY <u>S</u> KYL <u>D</u> EKRA <u>K</u> CFVQWLMNT	環形成	8.12	46.9

SEQ ID NO: 26	WXQGTFTSDYSKYLD <u>E</u> CRA <u>K</u> DFVQWLMNT	環形成	4.68	1.0
SEQ ID NO: 27	YXQGTFFVSDYSKYLD <u>E</u> CRA <u>K</u> DFVQWLMNT	環形成	4.68	93.6
SEQ ID NO: 28	WXQGTFFVSDYSKYLD <u>E</u> CR A <u>K</u> DFVQWLMNT	環形成	4.68	< 0.1
SEQ ID NO: 29	YXQGTFTSDYSKCLD <u>E</u> ERRA <u>K</u> DFVQWLMNT	環形成	6.15	61.3
SEQ ID NO: 30	WXQGTFTSDYSKCLD <u>E</u> ERRA <u>K</u> DFVQWLMNT	環形成	4.44	0.3
SEQ ID NO: 31	YXQGTFTSDYSKYLD <u>C</u> <u>K</u> RA <u>K</u> <u>E</u> FFVQWLMNT	環形成	8.12	6.3
SEQ ID NO: 32	-SQGTFTSDYSKYLD <u>E</u> CRA <u>K</u> EFVQWLMNT	環形成	4.78	0.7
SEQ ID NO: 33	YXQGTFTSDYSKYLD <u>S</u> RRR QDFVQWLMNT	-	6.04	108.2
SEQ ID NO: 34	WXQGTFTSDYSKYCD <u>E</u> RR A <u>K</u> <u>E</u> FFVQWLMNT	環形成	6.21	0.2
SEQ ID NO: 35	YXQGTFTSDYSKYCD <u>E</u> ERRA <u>K</u> <u>E</u> FFVQWLMNT	環形成	6.2	17.7
SEQ ID NO: 36	YXQGTFTSDCSKYLD <u>E</u> ERRA <u>K</u> <u>E</u> FFVQWLMNT	環形成	6.21	9.9
SEQ ID NO: 37	YXQGTFTSDYSKYLD <u>E</u> ERRA <u>K</u> <u>E</u> FFVQWLMNTC	環形成	6.21	225.5
SEQ ID NO: 38	YXQGTFCSDYSKYLD <u>E</u> ERRA <u>K</u> <u>E</u> FFVQWLMNT	環形成	6.15	167.3
SEQ ID	YXQGTFFVSDCSKYLD <u>E</u> ERRA	環形成	6.15	3.7

NO: 39	<u>K</u> DFVQWLMNT			
SEQ ID NO: 40	YXQGTFVSDYSKYLD <u>E</u> RRR <u>K</u> DFVQWLMNTC	環形成	6.15	40.8
SEQ ID NO: 41	YXQGTFCSDDYSKYLD <u>E</u> RRR <u>K</u> DFVQWLMNT	環形成	6.03	45.2
SEQ ID NO: 42	YXQGTFCSDDYSKYLDSRRA QDFVQWLMNT	-	6.03	37.9
SEQ ID NO: 43	YXQGTFTSDCSKYLDSRRA QDFVQWLMNT	-	6.03	1.6
SEQ ID NO: 44	YXQGTFTSDYSKYLDSRRA QDFVQWLMNTC	-	6.21	75.4

【0330】 於表 1 中描述的胺基酸序列中，由 X 表示之胺基酸表示非天然胺基酸亦即胺基異丁酸(Aib)，下方畫線的胺基酸殘基表示對應胺基酸之支鏈間之內醯胺環形成，及胺基酸序列中之「-」指示於對應位置上不存在有胺基酸殘基。此外，於有關環形成欄中，「-」指示於對應序列中無環形成。

【0331】

實施例 3：升糖素衍生物之 pI 之量測

為了測量於實施例 2 中合成的升糖素衍生物之改良物理性質，pI 值係於 ExPASy 伺服器內使用 pI/Mw 工具 (http://expasy.org/tools/pi_tool.html; Gasteiger *et al.*, 2003) 基於胺基酸序列計算。

【0332】 如於上表 1 中顯示，雖然 SEQ ID NO: 1 的

天然升糖素具有 6.8 之 pI，但依據本發明之若干升糖素衍生物顯示於約 4 至約 6 之範圍中之 pI 值。因依據本發明之升糖素衍生物具有低於或高於天然升糖素之 pI 值的 pI 值，故比較天然升糖素，其能顯示於中性 pH 條件之改良之溶解度及較高安定性。

【0333】 據此，當依據本發明之升糖素衍生物使用作為治療目標疾病諸如先天性高胰島素症、低血糖症等的治療劑時，其可改善病人的順從性，及也適合用來與其它抗肥胖劑或抗糖尿病劑組合投藥，及因此本發明之升糖素衍生物可有效地用作為用於治療低血糖症及代謝症候群包括肥胖、糖尿病、非酒精性脂肪肝炎(NASH)、血脂異常、及冠心病的治療劑。

【0334】

實施例 4：升糖素衍生物之 cAMP 活性之量測

實施例 2 中合成的升糖素衍生物之活性係於帶有實例 1 中產生的人類升糖素受體之細胞株中量測。特定言之，經轉染的細胞株每週次培養 3 至 4 次，以 6×10^3 細胞株/孔之量平分液分至 384 孔孔板中，及培養 24 小時。天然升糖素及升糖素衍生物懸浮於漢克氏平衡鹽溶液(HBSS)緩衝液內，緩衝液內含有 0.5 mM 3-異丁基-1-甲基黃嘌呤(IBMx)、0.1%牛血清白蛋白(BSA)、及 5 mM 4-(2-羥基乙基)-1-哌吡乙烷磺酸(HEPES)與培養細胞，濃度分別為 200 nM 及 1600 nM，連續接受 4 倍稀釋 10 次，施加至 cAMP 分析試驗套組(刺絡針(LANCE)cAMP 384 套組，柏金艾瑪(PerkinElmer))，

及添加至培養細胞，及測量其螢光值。當量測時，最高螢光值設定於 100%，及然後基於此計算升糖素衍生物的 EC_{50} 值且分別地與天然升糖素之值作比較。結果顯示於下表 1。

【0335】

實施例 5：包括升糖素衍生物及免疫球蛋白 Fc 之接合物 (SEQ ID NO: 12 或 20-免疫球蛋白 Fc 區接合物)之製備

為了於兩端分別地具有順丁烯二醯亞胺基及醛基的 10 kDa PEG(命名為「順丁烯二醯亞胺-PEG-醛」，10 kDa，NOF，日本)之 PEG 化至升糖素衍生物 (SEQ ID NO: 12 或 20) 的半胱胺酸殘基，升糖素衍生物及順丁烯二醯亞胺-PEG-醛於低溫於 3 毫克/毫升至 10 毫克/毫升之蛋白質濃度以 1:1 至 5 之莫耳比反應，歷時 1 至 3 小時。特別地，反應係於其中添加 20%至 60%異丙醇的環境中進行。當反應完成時，反應物施加至 SP 瓊脂糖凝膠(sepharose) HP (GE 醫療 (GE healthcare)，美國)，以純化於半胱胺酸上經單 PEG 化 (mono-pegylated)的升糖素衍生物。

【0336】 然後，已純化之單 PEG 化的升糖素衍生物與免疫球蛋白 Fc 於 4°C 至 8°C 於 10 毫克/毫升至 50 毫克/毫升之蛋白質濃度以 1:2 至 10 之莫耳比反應，歷時 12 小時至 18 小時。反應係於其中氰基硼氫化鈉 ($NaCNBH_3$)及 10%至 20%異丙醇添加至 100 mM 磷酸鈣緩衝液 (pH 6.0)的環境中進行。當反應完成時，反應物施加至丁基瓊脂糖凝膠 FF 純化管柱 (GE 醫療 (GE Healthcare)，美國)及索爾斯 (Source) ISO 純化管柱 (GE 醫療 (GE Healthcare)，美國)以純

化包括升糖素衍生物及免疫球蛋白 Fc 的接合物。

【0337】 製備之後，藉由反相層析術、尺寸排除層析術、及離子交換層析術分析之純度顯示為 95%或以上。

【0338】 特別地，於其中 SEQ ID NO: 12 之升糖素衍生物與免疫球蛋白 Fc 係藉由 PEG 鏈結的接合物命名為「包括 SEQ ID NO: 12 之升糖素衍生物及免疫球蛋白 Fc 的接合物」、「SEQ ID NO: 12 之長效接合物」、或「SEQ ID NO: 12 之長效衍生物」，及此等術語於本發明中可互換使用。

【0339】 特別地，於其中 SEQ ID NO: 20 之升糖素衍生物與免疫球蛋白 Fc 係藉由 PEG 鏈結的接合物命名為「包括 SEQ ID NO: 20 升糖素衍生物及免疫球蛋白 Fc 的接合物」、「SEQ ID NO: 20 之長效接合物」、或「SEQ ID NO: 20 之長效衍生物」，及此等術語於本發明中可互換使用。

【0340】

實施例 6：包括艾塞那肽-4 衍生物及免疫球蛋白 Fc 之接合物之製備

在兩端具有丙醛基的 3.4kDa PEG，亦即 3.4k PropionALD(2)PEG，與 CA 艾塞那肽-4 的 Lys 使用咪唑-乙醯基艾塞那肽-4 反應，於其中 N 端組胺酸之 α 碳經刪除 (CA 艾塞那肽-4，AP，美國)，及在相當具有反應性的且與 N 端異構物明顯地區別的兩個 Lys 峰間之最後部分 (Lys27) 的異構物峰分開。隨後地，使用 PEG 化肽異構物進行偶合。

【0341】 藉由於 4°C 於 60 毫克/毫升之總蛋白質濃度以 1:8 之莫耳比，前述 PEG 化咪唑-乙醯基艾塞那肽-4 肽與

免疫球蛋白 Fc 反應歷時 20 小時進行偶合。反應物為 100 mM K-P (pH 6.0)及加入 20 mM SCB 還原劑。偶合反應物藉由藉由兩根純化管柱純化。首先，未涉及偶合反應的大量免疫球蛋白 Fc 使用索爾斯 Q(XK-16mL，阿默山生科 (Amersham Biosciences))去除。當使用 1 M NaCl 於 20 mM Tris(pH 7.5)施加鹽梯度時結果導致免疫球蛋白 Fc 的即刻洗提，其具有相對弱的結合親和力，即刻地隨後接著艾塞那肽-4-免疫球蛋白 Fc 的洗提。免疫球蛋白 Fc 藉由一次純化去除到某個程度，然而，藉由離子交換管柱未能達成完全單離，因免疫球蛋白 Fc 與艾塞那肽-4-免疫球蛋白 Fc 間之結合親和力的差異小之故。據此，使用兩種不同材料的斥水性進行二次純化。藉由一次純化的樣本使用 20 mM Tris(pH 7.5)及 1.5M 硫酸銨結合至索爾斯 ISO(HR16mL，阿默山生科)，及然後洗提同時逐漸地減低硫酸銨之濃度。結果，對 HIC 管柱具有弱結合親和力的免疫球蛋白 Fc 先洗提出，隨後接著具有強結合親和力的艾塞那肽-4-免疫球蛋白 Fc 樣本洗提至後部。因斥水性的差異大之故，比起離子交換管柱更容易進行單離。

管柱：索爾斯 Q (XK 16mL，阿默山生科)

流速：2.0 毫升/分鐘

梯度：A 0→25% 70 分鐘 B (A: 20 mM Tris，pH 7.5，B: A+ 1 M NaCl)

管柱：索爾斯 ISO (HR 16mL，阿默山生科)

流速：7.0 毫升/分鐘

梯度：B 100→0% 60 分鐘 B [A: 20 mM Tris (pH 7.5), B: A+ 1.5 硫酸銨((NH₄)₂SO₄)]

【0342】 如此製備的接合物(其中艾塞那肽-4 衍生物與免疫球蛋白 Fc 區係藉由 PEG 鏈結者)命名為「長效艾塞那肽-4 衍生物」。又，於本發明中此術語可與「長效艾塞那肽衍生物」互換使用。

【0343】

實施例 7：含括升糖素衍生物及免疫球蛋白 Fc 之接合物 (SEQ ID NO: 37-免疫球蛋白 Fc 區接合物)之製備

為了將在兩端分別地具有順丁烯二醯亞胺基及醛基的 10 kDa PEG(命名為「順丁烯二醯亞胺-PEG-醛」, 10 kDa, NOF, 日本)PEG 化至升糖素衍生物 (SEQ ID NO: 37)的半胱胺酸殘基，升糖素衍生物及順丁烯二醯亞胺-PEG-醛於低溫於 3 毫克/毫升至 10 毫克/毫升之蛋白質濃度以 1:1 至 5 之莫耳比反應歷時 1 至 3 小時。特別地，反應係於其中添加 20%至 60%異丙醇的環境中進行。當反應完成時，反應物施加至 SP 瓊脂糖凝膠 HP (GE 醫療(GE Healthcare), 美國)以純化於半胱胺酸上經單 PEG 化的升糖素衍生物。

【0344】 然後，已純化之單 PEG 化的升糖素衍生物與免疫球蛋白 Fc 於 4°C 至 8°C 於 10 毫克/毫升至 50 毫克/毫升之蛋白質濃度以 1:2 至 10 之莫耳比反應歷時 12 小時至 18 小時。反應係於其中作為還原劑的 10 mM 至 50 mM 氰基硼氫化鈉(NaCNBH₃)及 10%至 20%異丙醇添加至 100 mM 磷酸鈣緩衝液(pH 6.0)的環境中進行。當反應完成時，

反應物施加至丁基瓊脂糖凝膠 FF 純化管柱(GE 醫療(GE Healthcare)，美國)及索爾斯 ISO 純化管柱(GE 醫療(GE Healthcare)，美國)以純化含括升糖素衍生物及免疫球蛋白 Fc 的接合物。

【0345】 製備之後，藉由反相層析術、尺寸排除層析術、及離子交換層析術分析之純度顯示為 95%或以上。

【0346】 特別地，於其中 SEQ ID NO: 37 之升糖素衍生物與免疫球蛋白 Fc 係藉由 PEG 鏈結的接合物命名為「含括 SEQ ID NO: 37 之升糖素衍生物及免疫球蛋白 Fc 的接合物」、「SEQ ID NO: 37 之長效接合物」、或「SEQ ID NO: 37 之長效衍生物」，及此等術語於本發明中可互換使用。

【0347】

實驗例 1：於患有高脂膳食誘發肥胖之大鼠體重減輕之效果

於此實驗中，使用廣用作為肥胖動物研究模型的高脂膳食誘發肥胖之大鼠。更明確言之，高脂膳食誘發肥胖之齧齒類乃使用於臨床前期評估肥胖治療劑之減輕體重效果最常用的動物模型，及該模型係如下述誘發。當正常大鼠或小鼠被餵飼含 60%脂肪之飼料歷時 4 週(大鼠)或 6 週(小鼠)時，大鼠體重顯示比較其餵飼前之體重，體重增加達約 600 克及小鼠顯示體重增加達約 55 克，及血脂含量也增高，因而顯示如同人類的肥胖狀態。此實驗例中使用的大鼠體重在投予前約為 600 克。實驗期間大鼠係分別地圈養及自由地飲用水。6 PM 至 6 AM 間未提供照明。

【0348】 餵飼高脂膳食的試驗組包括：第 1 組，使用不含長效升糖素的賦形劑(投予：2 毫升/千克；每 3 日注射一次)-載媒劑；第 2 組，實施例 6 之長效艾塞那肽衍生物於 3.3 奈莫耳/千克(nmol/kg)(每 3 日注射一次)；第 3 組，SEQ ID NO: 12 之長效衍生物於 1.6 nmol/kg(每 3 日注射一次)；第 4 組，SEQ ID NO: 12 之長效衍生物於 3.3 nmol/kg(每 3 日注射一次)；第 5 組，SEQ ID NO: 12 之長效衍生物於 6.6 nmol/kg(每 3 日注射一次)；第 6 組，實施例 6 之長效艾塞那肽衍生物於 3.3 nmol/kg+ SEQ ID NO: 12 之長效衍生物於 1.6 nmol/kg(分別地，每 3 日注射一次)；第 7 組，實施例 6 之長效艾塞那肽衍生物於 3.3 nmol/kg+SEQ ID NO: 12 之長效衍生物於 3.3 nmol/kg(分別地，每 3 日注射一次)；第 8 組，實施例 6 之長效艾塞那肽衍生物於 3.3 nmol/kg+SEQ ID NO: 12 之長效衍生物於 6.6 nmol/kg (分別地，每 3 日注射一次)；第 9 組，與第 4 組的成對餵飼；及第 10 組，與第 7 組的成對餵飼。

【0349】 實驗於第 15 日結束，及各組大鼠的體重變化係於實驗進行期間以 3 日間隔測量。當實驗結束時，藉由屍體剖檢測量腸系膜脂肪量及肝臟重量。進行統計分析以藉由單因子變異數分析比較賦形劑組(載媒劑)與試驗組。

【0350】 至於體重變化之測量結果，如於第 1 圖中驗證，單獨投予長效艾塞那肽衍生物或單獨投予長效 SEQ ID NO: 12 衍生物的該等組，比起投予前，顯示體重減少達-8%

及-7%至-22%；而使用長效艾塞那肽衍生物與長效 SEQ ID NO: 12 衍生物組合投予的該等組，體重減輕功效從-22%進一步改良到-35%。

【0351】 此外，當單獨投予長效 SEQ ID NO: 12 衍生物的該組及投予長效艾塞那肽衍生物或長效 SEQ ID NO: 12 衍生物的組合的該組分別地與其成對餵飼組的體重減輕功效作比較時，分別顯示約-11%及約-17%之差，如此確證當單獨投予升糖素衍生物或組合投予升糖素衍生物時，藉由膳食攝取以外的作用顯示了體重減輕功效。

【0352】 亦即，確證除了食欲減退效果之外，本發明之長效升糖素衍生物在體重減輕上能扮演額外角色。

【0353】 此外，如於第 2 圖及第 3 圖中可證實，由腸系膜脂肪量及肝臟重量之測量結果，比較投予賦形劑該組，長效艾塞那肽衍生物與長效 SEQ ID NO: 12 衍生物之組合投予顯示體脂的顯著減少，及肝臟重量也減少。特別地，肝臟重量的增/減通常係因肝臟中存在的脂肪之增/減所起，肝臟重量的減少的如上效果顯示減少肝臟脂肪的效果。據此，肝臟脂肪的減少可測量作為代謝症候群(諸如肥胖、糖尿病、非酒精性脂肪肝炎)之療效的測量方法。

【0354】

實驗例 2：患高脂膳食誘發肥胖之小鼠的體重減輕效果

於此實驗中，使用高脂膳食誘發肥胖之小鼠，其廣用作為肥胖動物研究模型。投予前小鼠體重為約 55 克。實驗期間，小鼠圈養成每組 7 隻小鼠及自由飲用水。6 PM 至 6

AM 間不提供照明。

【0355】 餵飼高脂膳食的試驗組包括：第 1 組，使用不含長效升糖素的賦形劑(投予：5 毫升/千克；每 2 日注射一次)-載媒劑；第 2 組，實例 6 之長效艾塞那肽衍生物於 4.3 nmol/kg (每 2 日注射一次)；第 3 組，SEQ ID NO: 20 之長效衍生物於 4.4 nmol/kg(每 2 日注射一次)；第 4 組，SEQ ID NO: 20 之長效衍生物於 8.8 nmol/kg(每 2 日注射一次)；第 5 組，實例 6 之長效艾塞那肽衍生物於 4.3 nmol/kg+ SEQ ID NO: 20 之長效衍生物於 4.4 nmol/kg(每 2 日注射一次)；第 6 組，實例 6 之長效艾塞那肽衍生物於 2.1 nmol/kg+SEQ ID NO: 20 之長效衍生物於 6.6 nmol/kg(每 2 日注射一次)；及第 7 組，實例 6 之長效艾塞那肽衍生物於 0.8 nmol/kg+SEQ ID NO: 20 之長效衍生物於 8.0 nmol/kg(每 2 日注射一次)。

【0356】 實驗於第 22 日結束，及各組小鼠的體重變化係於實驗進行期間以 2 日間隔測量。當實驗結束時，藉由屍體剖檢測量小鼠肝臟重量。

【0357】 至於體重變化之測量結果，如於第 4 圖中驗證，單獨投予長效 SEQ ID NO: 20 衍生物的該等組(8.8 nmol/kg，每 2 日注射一次)，比起投予前，顯示體重減少分別地達 -25% 及 -29%。此外，當組合長效艾塞那肽衍生物時體重減輕效果顯示進一步增加。也證實長效艾塞那肽衍生物與長效 SEQ ID NO: 20 衍生物以 1:1、1:3、及 1:10 之組合投予，進一步增加體重減輕效果達 -50% 或以上。此

外，根據長效艾塞那肽衍生物與長效 SEQ ID NO: 20 衍生物間之比的體重減輕效果並不顯著，然而，食欲減退效果變高，連同長效艾塞那肽衍生物的百分比增加，如此證實本發明之升糖素長效衍生物，除了食欲減退效果之外，扮演體重減輕的額外角色。

【0358】 此外，如於第 5 圖中驗證，由於血中之總膽固醇濃度測量結果，投予長效艾塞那肽衍生物 (4.4 nmol/kg，每 2 日注射一次) 及 SEQ ID NO: 20 之長效衍生物 (8.8 nmol/kg，每 2 日注射一次) 的各組顯示膽固醇濃度分別減少 -35% 及 -71%。從前文說明，證實本發明之升糖素長效衍生物，除了食欲減退效果之外，扮演減少血中膽固醇的額外角色。進行統計分析以藉由單因子變異數分析比較賦形劑組(載媒劑)與試驗組。

【0359】

實驗例 3：患高脂膳食誘發肥胖之小鼠組合投予長效艾塞那肽衍生物及 SEQ ID NO: 37 之長效接合物的效果

於此實驗中，使用高脂膳食誘發肥胖之小鼠，其廣用作為肥胖動物研究模型。投予前小鼠體重為約 55 克。實驗期間，小鼠圈養成每組 7 隻小鼠及自由飲用水。6 PM 至 6 AM 間不提供照明。

【0360】 餵飼高脂膳食的試驗組包括：第 1 組，使用不含長效升糖素的賦形劑(投予：5 毫升/千克；每 2 日注射一次)-載媒劑；第 2 組，利拉魯肽(liraglutide)(諾華(Novo Nordisk))於 50 nmol/kg(每 2 日注射一次)；第 3 組，實施例

6 之長效艾塞那肽衍生物於 4.3 nmol/kg(每 2 日注射一次); 及第 4 組, 實施例 6 之長效艾塞那肽衍生物於 4.3 nmol/kg (每 2 日注射一次)+SEQ ID NO: 37 之長效衍生物於 2.2 nmol/kg (每 2 日注射一次)。

【0361】 實驗於第 28 日結束, 及測量腹腔內葡萄糖耐受性試驗(IPGTT)。各組小鼠的體重變化係於實驗進行期間以 2 日間隔測量。當實驗結束時, 藉由屍體剖檢測量血中膽固醇濃度及小鼠肝臟重量。

【0362】 如於第 6 圖中確證, 至於體重變化之測量結果, 投予利拉魯肽(諾華)於 50 nmol/kg (每日注射二次)或單獨投予實施例 6 之長效艾塞那肽衍生物於 4.3 nmol/kg (每 2 日注射一次)分別顯示比較載媒劑組的體重減輕達 -22% 及 -32%, 及接受長效艾塞那肽衍生物於 4.3 nmol/kg (每 2 日注射一次)+SEQ ID NO: 37 之長效衍生物於 2.2 nmol/kg (每 2 日注射一次)組合投予該組顯示比較載媒劑組的體重進一步減輕達 -32% 至 -62%。

【0363】 接受長效艾塞那肽衍生物於 4.3 nmol/kg (每 2 日注射一次)+SEQ ID NO: 37 之長效衍生物於 2.2 nmol/kg (每 2 日注射一次)組合投予該組, 比較單獨投予長效艾塞那肽衍生物於 4.3 nmol/kg (每 2 日注射一次)該組, 脂肪重量減少效果也進一步提高達 -62% 至 -88%。

【0364】 此外, 如於第 6 圖中確證, 至於血中總膽固醇濃度變化之測量結果, 投予利拉魯肽(諾華)於 50 nmol/kg (每日注射二次)或單獨投予長效艾塞那肽衍生物於 4.3

nmol/kg (每 2 日注射一次)分別顯示比較載媒劑組的膽固醇濃度減低達 -40%及 -49%，及接受長效艾塞那肽衍生物於 4.3 nmol/kg (每 2 日注射一次)+SEQ ID NO: 37 之長效衍生物於 2.2 nmol/kg (每 2 日注射一次)組合投予該組顯示比較載媒劑組的膽固醇濃度進一步減低達 -49%至 -70%。

【0365】 如於第 6 圖中顯示，至於腹腔內葡萄糖耐受性試驗(IPGTT)之測量結果，單獨投予長效艾塞那肽衍生物於 4.3 nmol/kg (每 2 日注射一次)該組及接受長效艾塞那肽衍生物於 4.3 nmol/kg (每 2 日注射一次)+SEQ ID NO: 37 之長效衍生物於 2.2 nmol/kg (每 2 日注射一次)組合投予該組，分別地顯示 -61%及 -67%的類似效果。

【0366】 從如上結果確證，長效艾塞那肽衍生物於 4.3 nmol/kg (每 2 日注射一次)+SEQ ID NO: 37 之長效衍生物於 2.2 nmol/kg (每 2 日注射一次)組合投予，比較其個別投予，有關血中葡萄糖濃度的調節而言顯示類似效果，而有關體重減輕效果及血中膽固醇濃度減低效果而言顯示更優異功效。

【0367】

實驗例 4：SEQ ID NO: 37 之長效接合物改善急性低血糖症的功效

SD 大鼠空腹 4 小時及皮下注射胰島素(0.65 單位/千克)誘發低血糖症。注射後 45 分鐘，證實患低血糖症的大鼠皮下注射賦形劑(2 毫升/千克；單次注射，載媒劑)，靜脈注射 SEQ ID NO: 37 之長效接合物(分別地於 5.16 nmol/kg、

10.31 nmol/kg、及 20.63 nmol/kg 濃度)，及皮下注射天然升糖素(60 nmol/kg)，及測量血糖濃度變化。

【0368】 結果，如於第 7 圖中顯示，證實在全部投予劑量 SEQ ID NO: 37 之長效接合物改善 SD 大鼠由胰島素誘發的低血糖症。由此結果證實 SEQ ID NO: 37 之長效接合物用於低血糖症相關疾病具有醫療功效。

【0369】

實驗例 5：SEQ ID NO: 37 之長效接合物改善慢性低血糖症的功效

SEQ ID NO: 37 之長效接合物作為先天性高胰島素症的治療劑之效果評估係於嵌入胰島素泵浦的齧齒類進行。先天性高胰島素症疾病模型係藉由將胰島素泵浦透過手術嵌入齧齒類(大鼠或小鼠)誘發。因胰島素連續地從嵌入齧齒類體內的泵浦分泌，故誘發頑固型低血糖症，因而此模型乃與人類先天性高胰島素症相似的狀態。

【0370】 特定言之，SD 大鼠接受皮下嵌入充填有胰島素的滲透壓泵浦的手術。SD 大鼠之血糖濃度測量歷時一週，顯示頑固型低血糖症的該等大鼠經選出，及以 3 日間隔(Q3D)皮下注射賦形劑(載媒劑)及 SEQ ID NO: 37 之長效接合物(於 3 nmol/kg 或 6 nmol/kg 之濃度)，及測量血糖濃度變化歷時 2 週，及計算血中葡萄糖曲線下方面積(AUC_{BG})。

【0371】 曲線下方面積(AUC)係指藥物長期投予期間用於量化血糖濃度變化的通用方法。結果，確證投予 SEQ ID NO: 37 之長效接合物的 SD 大鼠於全部投予劑量，比較

投予不含長效升糖素的賦形劑(2 mL/kg; 每 3 日一次, 載媒劑)的該等大鼠(其乃患有慢性低血糖症的大鼠)顯示血糖濃度顯著地增高, 如於第 8 圖中顯示(**p<0.01, ***p<0.001 相較於慢性低血糖症大鼠, 賦形劑, 藉由單因子變異數分析)。由該等結果, 證實 SEQ ID NO: 37 之長效接合物用於出現在患有先天性高胰島素症病人體的慢性低血糖症具有醫療效果。

【0372】 本領域具有通常知識者將瞭解不背離其精神或主要特性, 本發明可以其它特定形式具體實施。就全部面向而言所述實施例僅視為例示性而非限制性。因此, 本發明之範疇係由隨附之申請專利範圍而非由前文詳細說明部分表示。落入申請專利範圍之意義及相當範圍以內的全部改變皆係含蓋於本發明之範圍內。

【符號說明】

無。

【序列表】

- <110> 韓美藥品股份有限公司(HANMI PHARM. CO., LTD.)
- <120> 升糖素衍生物、其接合物、及包含其之組成物、及其醫療用途
- <130> OPA17115
- <150> KR 10-2016-0081995
<151> 2016-06-29
- <150> KR 10-2016-0182982
<151> 2016-12-29
- <150> KR 10-2017-0069217
<151> 2017-06-02
- <160> 50
- <170> KoPatentIn 3.0
- <210> 1
<211> 29
<212> PRT
<213> 智人
- <400> 1
His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Ser
1 5 10 15
Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr
20 25
- <210> 2
<211> 29
<212> PRT
<213> 人工序列
- <220>
<223> 升糖素衍生物
- <400> 2
His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Cys
1 5 10 15
Asp Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr
20 25
- <210> 3
<211> 29
<212> PRT
<213> 人工序列
- <220>
<223> 升糖素衍生物
- <400> 3
His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Cys
1 5 10 15
Glu Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr
20 25
- <210> 4

<211> 29
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 升糖素衍生物

<400> 4
His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Ser
1 5 10 15
Cys Asp Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr
20 25

<210> 5
<211> 29
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 升糖素衍生物

<400> 5
His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Ser
1 5 10 15
Cys Glu Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr
20 25

<210> 6
<211> 29
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 升糖素衍生物

<400> 6
His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Ser
1 5 10 15
Cys Glu Ala Asp Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr
20 25

<210> 7
<211> 29
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 升糖素衍生物

<400> 7
Tyr Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Ser
1 5 10 15
Cys Glu Ala Asp Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr
20 25

<210> 8

<211> 29
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 升糖素衍生物

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)
<223> Xaa 為胺基異丁酸(Aib)

<400> 8
Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Ser
1 5 10 15

Cys Asp Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Ile Asn Thr
20 25

<210> 9
<211> 29
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 升糖素衍生物

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)
<223> Xaa 為胺基異丁酸(Aib)

<400> 9
Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Ser
1 5 10 15

Cys Asp Ala Gln Asp Phe Val Val Trp Leu Ile Asn Thr
20 25

<210> 10
<211> 29
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 升糖素衍生物

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)
<223> Xaa 為胺基異丁酸(Aib)

<400> 10
Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Ser
1 5 10 15

Cys Asp Ala Asp Asp Phe Val Val Trp Leu Ile Asn Thr
20 25

<210> 11
<211> 29
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 升糖素衍生物

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)
<223> Xaa 為胺基異丁酸(Aib)

<400> 11
Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu
1 5 10 15
Lys Cys Ala Lys Glu Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr
20 25

<210> 12
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 升糖素衍生物

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)
<223> Xaa 為胺基異丁酸(Aib)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (16)..(20)
<223> 位置 16 和 20 之胺基酸形成環

<400> 12
Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu
1 5 10 15
Lys Arg Ala Lys Glu Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr Cys
20 25 30

<210> 13
<211> 29
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 升糖素衍生物

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)
<223> Xaa 為胺基異丁酸(Aib)

<400> 13
97733

Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Cys Tyr Leu Asp Ser
1 5 10 15

Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr
20 25

<210> 14
<211> 29
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 升糖素衍生物

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)
<223> Xaa 為胺基異丁酸(Aib)

<400> 14
Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Cys
1 5 10 15

Lys Arg Ala Lys Glu Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr
20 25

<210> 15
<211> 29
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 升糖素衍生物

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)
<223> Xaa 為胺基異丁酸(Aib)

<400> 15
Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Cys Glu
1 5 10 15

Lys Arg Ala Gln Asp Phe Val Val Trp Leu Met Asn Thr
20 25

<210> 16
<211> 29
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 升糖素衍生物

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)
<223> Xaa 為胺基異丁酸(Aib)

<400> 16
Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Cys
1 5 10 15
Arg Arg Ala Gln Val Phe Val Gln Trp Leu Met Arg Thr
20 25

<210> 17
<211> 29
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 升糖素衍生物

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)
<223> Xaa 為胺基異丁酸(Aib)

<400> 17
Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Cys
1 5 10 15
Val Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Arg Thr
20 25

<210> 18
<211> 29
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 升糖素衍生物

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)
<223> Xaa 為胺基異丁酸(Aib)

<400> 18
Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Ser
1 5 10 15
Arg Arg Ala Cys Asp Phe Arg Leu Trp Leu Met Asn Thr
20 25

<210> 19
<211> 29
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 升糖素衍生物

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)
<223> Xaa 為胺基異丁酸(Aib)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (16)..(20)
<223> 位置 16 和 20 之胺基酸形成環

<400> 19
Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Cys Glu
1 5 10 15

Lys Arg Ala Lys Glu Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr
20 25

<210> 20
<211> 29
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 升糖素衍生物

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)
<223> Xaa 為胺基異丁酸(Aib)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (16)..(20)
<223> 位置 16 和 20 之胺基酸形成環

<400> 20
Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu
1 5 10 15

Cys Arg Ala Lys Glu Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr
20 25

<210> 21
<211> 29
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 升糖素衍生物

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)
<223> Xaa 為胺基異丁酸(Aib)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (16)..(20)
<223> 位置 16 和 20 之胺基酸形成環

<400> 21
Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu
1 5 10 15

Lys Cys Ala Lys Glu Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr
20 25

<210> 22
<211> 29
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 升糖素衍生物

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)
<223> Xaa 為胺基異丁酸(Aib)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (16)..(20)
<223> 位置 16 和 20 之胺基酸形成環

<400> 22
Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu
1 5 10 15

Lys Arg Cys Lys Glu Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr
20 25

<210> 23
<211> 29
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 升糖素衍生物

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)
<223> Xaa 為胺基異丁酸(Aib)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (16)..(20)
<223> 位置 16 和 20 之胺基酸形成環

<400> 23
Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Cys Asp Glu
1 5 10 15

Lys Arg Ala Lys Glu Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr
20 25

<210> 24
<211> 29
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 升糖素衍生物

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)
<223> Xaa 為胺基異丁酸(Aib)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (16)..(20)
<223> 位置 16 和 20 之胺基酸形成環

<400> 24
Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Cys Leu Asp Glu
1 5 10 15
Lys Arg Ala Lys Glu Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr
20 25

<210> 25
<211> 29
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 升糖素衍生物

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)
<223> Xaa 為胺基異丁酸(Aib)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (16)..(20)
<223> 位置 16 和 20 之胺基酸形成環

<400> 25
Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu
1 5 10 15
Lys Arg Ala Lys Cys Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr
20 25

<210> 26
<211> 29
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 升糖素衍生物

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)
<223> Xaa 為胺基異丁酸(Aib)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (16)..(20)
<223> 位置 16 和 20 之胺基酸形成環

<400> 26
Trp Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu
1 5 10 15

Cys Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr
20 25

<210> 27
<211> 29
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 升糖素衍生物

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)
<223> Xaa 為胺基異丁酸(Aib)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (16)..(20)
<223> 位置 16 和 20 之胺基酸形成環

<400> 27
Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Val Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu
1 5 10 15

Cys Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr
20 25

<210> 28
<211> 29
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 升糖素衍生物

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)
<223> Xaa 為胺基異丁酸(Aib)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (16)..(20)
<223> 位置 16 和 20 之胺基酸形成環

<400> 28
Trp Xaa Gln Gly Thr Phe Val Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu
1 5 10 15

Cys Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr
20 25

- <210> 29
- <211> 29
- <212> PRT
- <213> 人工序列

- <220>
- <223> 升糖素衍生物

- <220>
- <221> MISC_FEATURE
- <222> (2)
- <223> Xaa 為胺基異丁酸(Aib)

- <220>
- <221> MISC_FEATURE
- <222> (16)..(20)
- <223> 位置 16 和 20 之胺基酸形成環

<400> 29
Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Cys Leu Asp Glu
1 5 10 15

Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr
20 25

- <210> 30
- <211> 29
- <212> PRT
- <213> 人工序列

- <220>
- <223> 升糖素衍生物

- <220>
- <221> MISC_FEATURE
- <222> (2)
- <223> Xaa 為胺基異丁酸(Aib)

- <220>
- <221> MISC_FEATURE
- <222> (16)..(20)
- <223> 位置 16 和 20 之胺基酸形成環

<400> 30
Trp Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Cys Leu Asp Glu
1 5 10 15

Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr
20 25

- <210> 31
- <211> 29
- <212> PRT
- <213> 人工序列

- <220>
- 97733

<223> 升糖素衍生物

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)
<223> Xaa 為胺基異丁酸(Aib)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (17)..(21)
<223> 位置 17 和 21 之胺基酸形成環

<400> 31
Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Cys
1 5 10 15

Lys Arg Ala Lys Glu Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr
20 25

<210> 32
<211> 28
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 升糖素衍生物

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (15)..(19)
<223> 位置 15 和 19 之胺基酸形成環

<400> 32
Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu Cys
1 5 10 15

Arg Ala Lys Glu Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr
20 25

<210> 33
<211> 29
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 升糖素衍生物

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)
<223> Xaa 為胺基異丁酸(Aib)

<400> 33
Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Ser
1 5 10 15

Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr
20 25

<210> 34
<211> 29
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 升糖素衍生物

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)
<223> Xaa 為胺基異丁酸(Aib)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (16)..(20)
<223> 位置 16 和 20 之胺基酸形成環

<400> 34
Trp Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Cys Asp Glu
1 5 10 15
Arg Arg Ala Lys Glu Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr
20 25

<210> 35
<211> 29
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 升糖素衍生物

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)
<223> Xaa 為胺基異丁酸(Aib)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (16)..(20)
<223> 位置 16 和 20 之胺基酸形成環

<400> 35
Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Cys Asp Glu
1 5 10 15
Arg Arg Ala Lys Glu Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr
20 25

<210> 36
<211> 29
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 升糖素衍生物

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)
<223> Xaa 為胺基異丁酸(Aib)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (16)..(20)
<223> 位置 16 和 20 之胺基酸形成環

<400> 36
Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Cys Ser Lys Tyr Leu Asp Glu
1 5 10 15
Arg Arg Ala Lys Glu Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr
20 25

<210> 37
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 升糖素衍生物

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)
<223> Xaa 為胺基異丁酸(Aib)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (16)..(20)
<223> 位置 16 和 20 之胺基酸形成環

<400> 37
Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu
1 5 10 15
Arg Arg Ala Lys Glu Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr Cys
20 25 30

<210> 38
<211> 29
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 升糖素衍生物

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)
<223> Xaa 為胺基異丁酸(Aib)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (16)..(20)
<223> 位置 16 和 20 之胺基酸形成環

<400> 38
Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Cys Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu
1 5 10 15
Arg Arg Ala Lys Glu Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr
20 25

<210> 39
<211> 29
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 升糖素衍生物

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)
<223> Xaa 為胺基異丁酸(Aib)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (16)..(20)
<223> 位置 16 和 20 之胺基酸形成環

<400> 39
Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Val Ser Asp Cys Ser Lys Tyr Leu Asp Glu
1 5 10 15
Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr
20 25

<210> 40
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 升糖素衍生物

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)
<223> Xaa 為胺基異丁酸(Aib)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (16)..(20)
<223> 位置 16 和 20 之胺基酸形成環

<400> 40
Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Val Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu
1 5 10 15
Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr Cys
20 25 30

<210> 41
<211> 29
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 升糖素衍生物

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)
<223> Xaa 為胺基異丁酸(Aib)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (16)..(20)
<223> 位置 16 和 20 之胺基酸形成環

<400> 41
Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Cys Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu
1 5 10 15
Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr
20 25

<210> 42
<211> 29
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 升糖素衍生物

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)
<223> Xaa 為胺基異丁酸(Aib)

<400> 42
Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Cys Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Ser
1 5 10 15
Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr
20 25

<210> 43
<211> 29
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 升糖素衍生物

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)
<223> Xaa 為胺基異丁酸(Aib)

<400> 43
97733

Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Cys Ser Lys Tyr Leu Asp Ser
1 5 10 15

Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr
20 25

<210> 44
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 升糖素衍生物

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)
<223> Xaa 為胺基異丁酸(Aib)

<400> 44
Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Ser
1 5 10 15

Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr Cys
20 25 30

<210> 45
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 升糖素衍生物

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)
<223> Xaa 為組胺酸、脫胺基-組胺醯基、N-二甲基-組胺醯基、 β -羥基咪唑丙醯基、4-咪唑乙醯基、 β -羧基咪唑丙醯基、色胺酸、或酪胺酸，或為不存在

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)
<223> Xaa 為 α -甲基-麩胺酸、胺基異丁酸(Aib)、D-丙胺酸、甘胺酸、Sar(N-甲基甘胺酸)、絲胺酸、或 D-絲胺酸

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (7)
<223> Xaa 為蘇胺酸、纈胺酸或半胱胺酸

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (10)
<223> Xaa 為酪胺酸或半胱胺酸

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (12)

- <223> Xaa 為離胺酸或半胱胺酸

- <220>
- <221> MISC_FEATURE
- <222> (13)
- <223> Xaa 為酪胺酸或半胱胺酸

- <220>
- <221> MISC_FEATURE
- <222> (14)
- <223> Xaa 為白胺酸或半胱胺酸

- <220>
- <221> MISC_FEATURE
- <222> (15)
- <223> Xaa 為天冬胺酸、麩胺酸或半胱胺酸

- <220>
- <221> MISC_FEATURE
- <222> (16)
- <223> Xaa 為麩胺酸、天冬胺酸、絲胺酸、 α -甲基-麩胺酸、或半胱胺酸，或為不存在；

- <220>
- <221> MISC_FEATURE
- <222> (17)
- <223> Xaa 為天冬胺酸、麩胺醯胺、麩胺酸、離胺酸、精胺酸、絲胺酸、半胱胺酸、或纈胺酸，或為不存在

- <220>
- <221> MISC_FEATURE
- <222> (18)
- <223> Xaa 為丙胺酸、天冬胺酸、麩胺酸、精胺酸、纈胺酸、或半胱胺酸，或為不存在

- <220>
- <221> MISC_FEATURE
- <222> (19)
- <223> Xaa 為丙胺酸、精胺酸、絲胺酸、纈胺酸、或半胱胺酸，或為不存在

- <220>
- <221> MISC_FEATURE
- <222> (20)
- <223> Xaa 為離胺酸、組胺酸、麩胺醯胺、天冬胺酸、離胺酸、精胺酸、 α -甲基-麩胺酸、或半胱胺酸，或為不存在

- <220>
- <221> MISC_FEATURE
- <222> (21)
- <223> Xaa 為天冬胺酸、麩胺酸、白胺酸、纈胺酸、半胱胺酸，或為不存在

- <220>
- <221> MISC_FEATURE
- <222> (23)
- <223> Xaa 為異白胺酸、纈胺酸或精胺酸，或為不存在
- <220>
- <221> MISC_FEATURE

<222> (24)
 <223> Xaa 為纈胺酸、精胺酸、丙胺酸、半胱胺酸、麩胺酸、離胺酸、
 麩醯胺酸、 α -甲基-麩胺酸或白胺酸，或為不存在；

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (27)
 <223> Xaa 為異白胺酸、纈胺酸、丙胺酸、離胺酸、甲硫胺酸、天冬醯胺或
 精胺酸，或為不存在

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (28)
 <223> Xaa 為麩醯胺酸、離胺酸、天冬醯胺或精胺酸，或為不存在

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (29)
 <223> Xaa 為離胺酸、丙胺酸、甘胺酸、蘇胺酸，或為不存在

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (30)
 <223> Xaa 為半胱胺酸，或為不存在

<400> 45
 Xaa Xaa Gln Gly Thr Phe Xaa Ser Asp Xaa Ser Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 1 5 10 15

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Phe Xaa Xaa Trp Leu Xaa Xaa Xaa Xaa
 20 25 30

<210> 46
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 升糖素衍生物

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (2)
 <223> Xaa 為胺基異丁酸(Aib)

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (7)
 <223> Xaa 為蘇胺酸、纈胺酸或半胱胺酸

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (10)
 <223> Xaa 為酪胺酸或半胱胺酸

<220>
 <221> MISC_FEATURE

<222> (12)
<223> Xaa 為離胺酸或半胱胺酸

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (15)
<223> Xaa 為天冬胺酸或半胱胺酸

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (16)
<223> Xaa 為麩胺酸或絲胺酸
<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (17)
<223> Xaa 為離胺酸或精胺酸

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (20)
<223> Xaa 為麩醯胺酸或離胺酸

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (21)
<223> Xaa 為天冬胺酸或麩胺酸

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (24)
<223> Xaa 為纈胺酸或麩醯胺酸

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (30)
<223> Xaa 為半胱胺酸，或為不存在

<400> 46
Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Xaa Ser Asp Xaa Ser Xaa Tyr Leu Xaa Xaa
1 5 10 15
Xaa Arg Ala Xaa Xaa Phe Val Xaa Trp Leu Met Asn Thr Xaa
20 25 30

<210> 47
<211> 34
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 正向引子

<400> 47
cagcgacacc gaccgtcccc ccgtacttaa ggcc

<210> 48
<211> 32
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 反向引子

<400> 48
ctaaccgact ctcggggaag actgagctcg cc 32

<210> 49
<211> 29
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 升糖素衍生物

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)
<223> Xaa 為胺基異丁酸

<400> 49
Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Cys Tyr Leu Asp Glu
1 5 10 15
Lys Arg Ala Lys Glu Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr
20 25

<210> 50
<211> 29
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 升糖素衍生物

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)
<223> Xaa 為胺基異丁酸

<400> 50
Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Cys Glu
1 5 10 15
Lys Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr
20 25

申請專利範圍

1. 一種醫藥組成物於製備預防或治療先天性高胰島素症之藥物的用途，其中，該醫藥組成物包含如下通式 1 之胺基酸序列的肽：

X1-X2-QGTF-X7-SD-X10-S-X12-X13-X14-X15-X16-X17-
X18-X19-X20-X21-F-X23-X24-W-L-X27-X28-X29-X30

(通式 1，SEQ ID NO: 45)

其中，於通式 1 中，

X1 為酪胺酸(Y)；

X2 為 α -甲基-麩胺酸、胺基異丁酸(Aib)、D-丙胺酸、甘胺酸(G)、Sar(N-甲基甘胺酸)、絲胺酸(S)、或 D-絲胺酸；

X7 為蘇胺酸(T)、纈胺酸(V)、或半胱胺酸(C)；

X10 為酪胺酸(Y)或半胱胺酸(C)；

X12 為離胺酸(K)或半胱胺酸(C)；

X13 為酪胺酸(Y)或半胱胺酸(C)；

X14 為白胺酸(L)或半胱胺酸(C)；

X15 為天冬胺酸(D)、麩胺酸(E)、或半胱胺酸(C)；

X16 為麩胺酸(E)、天冬胺酸(D)、絲胺酸(S)、 α -甲基-麩胺酸、或半胱胺酸(C)，或為不存在；

X17 為天冬胺酸(D)、麩醯胺酸(Q)、麩胺酸(E)、離胺酸(K)、精胺酸(R)、絲胺酸(S)、半胱胺酸(C)、或纈胺酸(V)，或為不存在；

X18 為丙胺酸(A)、天冬胺酸(D)、麩胺酸(E)、精胺

酸(R)、纈胺酸(V)、或半胱胺酸(C)，或為不存在；

X19 為丙胺酸(A)、精胺酸(R)、絲胺酸(S)、纈胺酸(V)、或半胱胺酸(C)，或為不存在；

X20 為離胺酸(K)、組胺酸(H)、麩醯胺酸(Q)、天冬胺酸(D)、精胺酸(R)、 α -甲基-麩胺酸、或半胱胺酸(C)，或為不存在；

X21 為天冬胺酸(D)、麩胺酸(E)、白胺酸(L)、纈胺酸(V)、或半胱胺酸(C)，或為不存在；

X23 為異白胺酸(I)、纈胺酸(V)、或精胺酸(R)，或為不存在；

X24 為纈胺酸(V)、精胺酸(R)、丙胺酸(A)、半胱胺酸(C)、麩胺酸(E)、離胺酸(K)、麩醯胺酸(Q)、 α -甲基-麩胺酸、或白胺酸(L)，或為不存在；

X27 為異白胺酸(I)、纈胺酸(V)、丙胺酸(A)、離胺酸(K)、甲硫胺酸(M)、麩醯胺酸(Q)、或精胺酸(R)，或為不存在；

X28 為麩醯胺酸(Q)、離胺酸(K)、天冬醯胺(N)、或精胺酸(R)，或為不存在；

X29 為蘇胺酸(T)；及

X30 為半胱胺酸(C)，或為不存在；

限制條件為當通式 1 之胺基酸序列係與 SEQ ID NO: 1 或 SEQ ID NO: 12 相同時，其經排除。

2. 如申請專利範圍第 1 項所述之用途，

其中，於通式 1 中，

- X1 為酪胺酸(Y)；
- X2 為絲胺酸(S)或胺基異丁酸(Aib)；
- X7 為蘇胺酸(T)、纈胺酸(V)、或半胱胺酸(C)；
- X10 為酪胺酸(Y)或半胱胺酸(C)；
- X12 為離胺酸(K)或半胱胺酸(C)；
- X13 為酪胺酸(Y)或半胱胺酸(C)；
- X14 為白胺酸(L)或半胱胺酸(C)；
- X15 為天冬胺酸(D)或半胱胺酸(C)；
- X16 為麩胺酸(E)、絲胺酸(S)、或半胱胺酸(C)；
- X17 為天冬胺酸(D)、麩胺酸(E)、離胺酸(K)、精胺酸(R)、絲胺酸(S)、半胱胺酸(C)、或纈胺酸(V)；
- X18 為天冬胺酸(D)、麩胺酸(E)、精胺酸(R)、或半胱胺酸(C)；
- X19 為丙胺酸(A)或半胱胺酸(C)；
- X20 為麩醯胺酸(Q)、天冬胺酸(D)、離胺酸(K)、或半胱胺酸(C)；
- X21 為天冬胺酸(D)、麩胺酸(E)、白胺酸(L)、纈胺酸(V)、或半胱胺酸(C)；
- X23 為異白胺酸(I)、纈胺酸(V)、或精胺酸(R)；
- X24 為纈胺酸(V)、精胺酸(R)、丙胺酸(A)、麩胺酸(E)、離胺酸(K)、麩醯胺酸(Q)、或白胺酸(L)；
- X27 為異白胺酸(I)、纈胺酸(V)、丙胺酸(A)、甲硫胺酸(M)、麩醯胺酸(Q)、或精胺酸(R)；
- X28 為麩醯胺酸(Q)、離胺酸(K)、天冬醯胺(N)、

或精胺酸(R)；

X29 為蘇胺酸(T)；及

X30 為半胱胺酸(C)或為不存在。

3. 如申請專利範圍第 1 項所述之用途，

其中，於通式 1 中，

X1 為酪胺酸(Y)；

X2 為絲胺酸(S)或胺基異丁酸(Aib)；

X7 為半胱胺酸(C)、蘇胺酸(T)、或纈胺酸(V)；

X10 為酪胺酸(Y)或半胱胺酸(C)；

X12 為離胺酸(K)或半胱胺酸(C)；

X13 為酪胺酸(Y)或半胱胺酸(C)；

X14 為白胺酸(L)或半胱胺酸(C)；

X15 為天冬胺酸(D)或半胱胺酸(C)；

X16 為麩胺酸(E)、絲胺酸(S)、或半胱胺酸(C)；

X17 為麩胺酸(E)、離胺酸(K)、精胺酸(R)、半胱胺酸(C)、或纈胺酸(V)；

X18 為精胺酸(R)或半胱胺酸(C)；

X19 為丙胺酸(A)或半胱胺酸(C)；

X20 為麩醯胺酸(Q)或離胺酸(K)；

X21 為天冬胺酸(D)、麩胺酸(E)、纈胺酸(V)、或半胱胺酸(C)；

X23 為纈胺酸(V)；

X24 為纈胺酸(V)或麩醯胺酸(Q)；

X27 為甲硫胺酸(M)；

X28 為天冬醯胺(N)或精胺酸(R)；

X29 為蘇胺酸(T)；及

X30 為半胱胺酸(C)或為不存在。

4. 如申請專利範圍第 1 項所述之用途，

其中，於通式 1 中，

X1 為酪胺酸(Y)；

X2 為胺基異丁酸(Aib)；

X7 為半胱胺酸(C)、蘇胺酸(T)、或纈胺酸(V)；

X10 為酪胺酸(Y)或半胱胺酸(C)；

X12 為離胺酸(K)；

X13 為酪胺酸(Y)或半胱胺酸(C)；

X14 為白胺酸(L)或半胱胺酸(C)；

X15 為天冬胺酸(D)或半胱胺酸(C)；

X16 為麩胺酸(E)、絲胺酸(S)、或半胱胺酸(C)；

X17 為離胺酸(K)、精胺酸(R)、半胱胺酸(C)、或纈
胺酸(V)；

X18 為精胺酸(R)或半胱胺酸(C)；

X19 為丙胺酸(A)或半胱胺酸(C)；

X20 為麩醯胺酸(Q)或離胺酸(K)；

X21 為天冬胺酸(D)、麩胺酸(E)、或半胱胺酸(C)；

X23 為纈胺酸(V)；

X24 為麩醯胺酸(Q)；

X27 為甲硫胺酸(M)；

X28 為天冬醯胺(N)或精胺酸(R)；

X29 為蘇胺酸(T)；及

X30 為半胱胺酸(C)或為不存在。

5. 如申請專利範圍第 1 項所述之用途，

其中，於通式 1 中，

X1 為酪胺酸(Y)；

X2 為絲胺酸(S)或胺基異丁酸(Aib)；

X7 為蘇胺酸(T)、纈胺酸(V)、或半胱胺酸(C)；

X10 為酪胺酸(Y)或半胱胺酸(C)；

X12 為離胺酸(K)或半胱胺酸(C)；

X13 為酪胺酸(Y)或半胱胺酸(C)；

X14 為白胺酸(L)或半胱胺酸(C)；

X15 為天冬胺酸(D)或半胱胺酸(C)；

X16 為麩胺酸(E)、絲胺酸(S)、或半胱胺酸(C)；

X17 為天冬胺酸(D)、麩胺酸(E)、離胺酸(K)、精胺酸(R)、絲胺酸(S)、半胱胺酸(C)、或纈胺酸(V)；

X18 為天冬胺酸(D)、麩胺酸(E)、精胺酸(R)、或半胱胺酸(C)；

X19 為丙胺酸(A)或半胱胺酸(C)；

X20 為麩醯胺酸(Q)、天冬胺酸(D)、或離胺酸(K)；

X21 為天冬胺酸(D)或麩胺酸(E)；

X23 為纈胺酸(V)；

X24 為纈胺酸(V)或麩醯胺酸(Q)；

X27 為異白胺酸(I)或甲硫胺酸(M)；

X28 為天冬醯胺(N)或精胺酸(R)；

X29 為蘇胺酸(T)；及

X30 為半胱胺酸(C)或為不存在。

6. 如申請專利範圍第 1 項所述之用途，

其中，於通式 1 中，

X1 為酪胺酸(Y)；

X2 為胺基異丁酸(Aib)；

X7 為蘇胺酸(T)；

X10 為酪胺酸(Y)；

X12 為離胺酸(K)；

X13 為酪胺酸(Y)；

X14 為白胺酸(L)；

X15 為天冬胺酸(D)或半胱胺酸(C)；

X16 為麩胺酸(E)、絲胺酸(S)、或半胱胺酸(C)；

X17 為離胺酸(K)或精胺酸(R)；

X18 為精胺酸(R)；

X19 為丙胺酸(A)；

X20 為麩醯胺酸(Q)、半胱胺酸(C)、或離胺酸(K)；

X21 為天冬胺酸(D)、半胱胺酸(C)、纈胺酸(V)、
或麩胺酸(E)；

X23 為纈胺酸(V)或精胺酸(R)；

X24 為麩醯胺酸(Q)或白胺酸(L)；

X27 為甲硫胺酸(M)；

X28 為天冬醯胺(N)或精胺酸(R)；

X29 為蘇胺酸(T)；及

X30 為不存在。

7. 如申請專利範圍第 1 項所述之用途，其中該肽包含如下通式 2 之胺基酸序列：

Y-Aib-QGTF-X7-SD-X10-S-X12-Y-L-X15-X16-X17-R-A-X20-X21-F-V-X24-W-L-M-N-T-X30 (通式 2，SEQ ID NO: 46)

其中，於通式 2 中，

X7 為蘇胺酸(T)、纈胺酸(V)、或半胱胺酸(C)；

X10 為酪胺酸(Y)或半胱胺酸(C)；

X12 為離胺酸(K)或半胱胺酸(C)；

X15 為天冬胺酸(D)或半胱胺酸(C)；

X16 為麩胺酸(E)或絲胺酸(S)；

X17 為離胺酸(K)或精胺酸(R)；

X20 為麩醯胺酸(Q)或離胺酸(K)；

X21 為天冬胺酸(D)或麩胺酸(E)；

X24 為纈胺酸(V)或麩醯胺酸(Q)；及

X30 為半胱胺酸(C)或為不存在。

8. 如申請專利範圍第 1 項所述之用途，其中該肽具有與天然升糖素之等電點(pI)值(6.8)不同的等電點(pI)值。

9. 如申請專利範圍第 1 項所述之用途，其中於通式 1 中 X10 及 X14、X12 及 X16、X16 及 X20、X17 及 X21、X20 及 X24、及 X24 及 X28 之該等胺基酸對中之至少一個胺基酸對中的各個胺基酸係分別地經以能夠形成環的麩胺酸或離胺酸取代。

10. 如申請專利範圍第 9 項所述之用途，其中於 X12 及 X16 之該胺基酸對中的各個胺基酸或於 X16 及 X20 之該胺基酸對中的各個胺基酸或於 X17 及 X21 之該胺基酸對中的各個胺基酸係分別地經以能夠形成環的麩胺酸或離胺酸取代。
11. 如申請專利範圍第 1 項所述之用途，其中於 X10 及 X14、X12 及 X16、X16 及 X20、X17 及 X21、X20 及 X24、及 X24 及 X28 之該等胺基酸對中之至少一個胺基酸對中的各個胺基酸間形成環。
12. 如申請專利範圍第 1 項所述之用途，其中該肽之 C 端係經醯胺化。
13. 如申請專利範圍第 1 項所述之用途，其中該肽之該 C 端係未經改性。
14. 如申請專利範圍第 1 項所述之用途，其中該肽為能夠活化升糖素受體的天然升糖素衍生物。
15. 如申請專利範圍第 1 項所述之用途，其中該肽包含選自由 SEQ ID NO: 2 至 11 及 13 至 44 所組成的組群中之胺基酸序列。
16. 如申請專利範圍第 7 項所述之用途，其中該肽包含選自由 SEQ ID NO: 13、15、及 36 至 44 所組成的組群中之胺基酸序列。
17. 如申請專利範圍第 1 項所述之用途，其中該肽包含 SEQ ID NO: 37 之胺基酸序列。
18. 如申請專利範圍第 1 至 17 項中任一項所述之用途，其

中該肽係呈長效接合物形式，於其中可生物相容材料部分係鏈結至包含通式 1 之胺基酸序列的肽部分。

19. 如申請專利範圍第 18 項所述之用途，其中該可生物相容材料部分係選自由下列所組成的組群：聚合物、脂肪酸、膽固醇、白蛋白及其片段、白蛋白結合材料、特定胺基酸序列之重複單元之聚合物、抗體、抗體片段、FcRn 結合材料、活體內結締組織或其衍生物、核苷酸、纖維黏連蛋白、轉鐵蛋白、醣、肝素、及彈性蛋白。
20. 如申請專利範圍第 19 項所述之用途，其中該聚合物係選自由下列所組成的組群：聚乙二醇、聚丙二醇、乙二醇-丙二醇共聚物、聚氧基乙基化多元醇、聚乙烯醇、多醣、葡聚糖、聚乙烯基乙基醚、可生物分解聚合物、脂質聚合物、幾丁質、玻尿酸、寡核苷酸、及其組合。
21. 如申請專利範圍第 19 項所述之用途，其中該 FcRn 結合材料為包含免疫球蛋白 Fc 區的多肽。
22. 如申請專利範圍第 18 項所述之用途，其中該肽部分及該可生物相容材料部分係藉由連接子而彼此鏈結。
23. 如申請專利範圍第 22 項所述之用途，其中該連接子係選自由下列所組成的組群：肽、脂肪酸、醣、聚合物、低分子量化合物、核苷酸、及其組合。
24. 如申請專利範圍第 23 項所述之用途，其中該聚合物係選自由下列所組成的組群：聚乙二醇、聚丙二醇、乙二醇-丙二醇共聚物、聚氧基乙基化多元醇、聚乙烯醇、多醣、葡聚糖、聚乙烯基乙基醚、可生物分解聚合物、

脂質聚合物、幾丁質、玻尿酸、寡核苷酸、及其組合。

25. 如申請專利範圍第 22 項所述之用途，其中該連接子為聚乙二醇。

26. 如申請專利範圍第 21 項所述之用途，其中該免疫球蛋白 Fc 區係無糖基化。

27. 如申請專利範圍第 21 項所述之用途，其中該免疫球蛋白 Fc 區係選自由下列所組成的組群：

(a) CH1 域、CH2 域、CH3 域、及 CH4 域；

(b) CH1 域及 CH2 域；

(c) CH1 域及 CH3 域；

(d) CH2 域及 CH3 域；

(e) 於 CH1 域、CH2 域、CH3 域、及 CH4 域中之一個或至少兩個域，與免疫球蛋白鉸鏈區或該鉸鏈區之一部分間之組合；及

(f) 重鏈恆定區及輕鏈可變區之各個域間的二聚體。

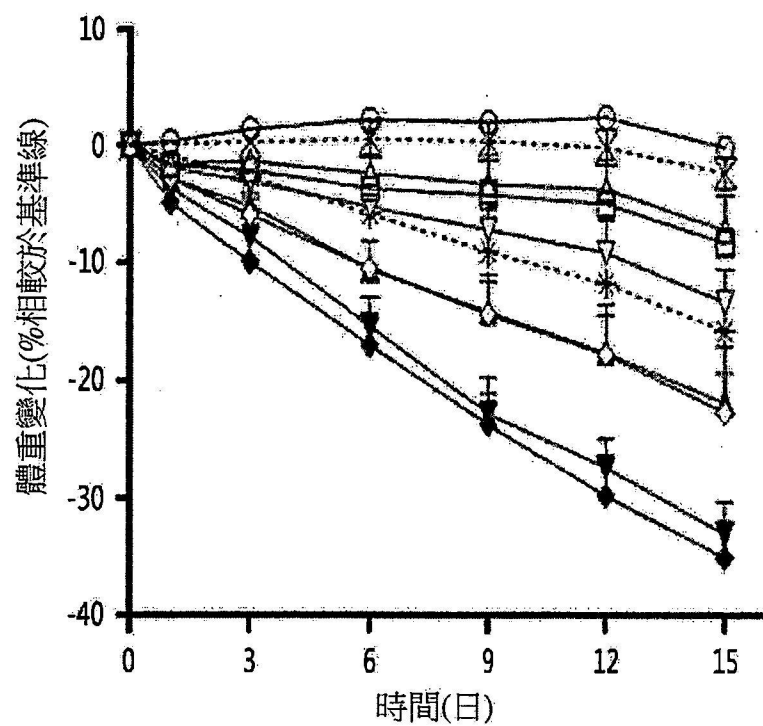
28. 如申請專利範圍第 21 項所述之用途，其中該包含免疫球蛋白 Fc 區的多肽係呈二聚體形式。

29. 如申請專利範圍第 21 項所述之用途，其中該免疫球蛋白 Fc 區為於其中能夠形成雙硫鍵的區經刪除的天然 Fc 衍生物、於其中於 N 端的該(多個)胺基酸之一部分被去除的天然 Fc 衍生物、於其中甲硫胺酸殘基被添加至 N 端的天然 Fc 衍生物、於其中補體結合位置經刪除的天然 Fc 衍生物、或於其中抗體依賴型細胞媒介胞毒性

(ADCC)位點經刪除的天然 Fc 衍生物。

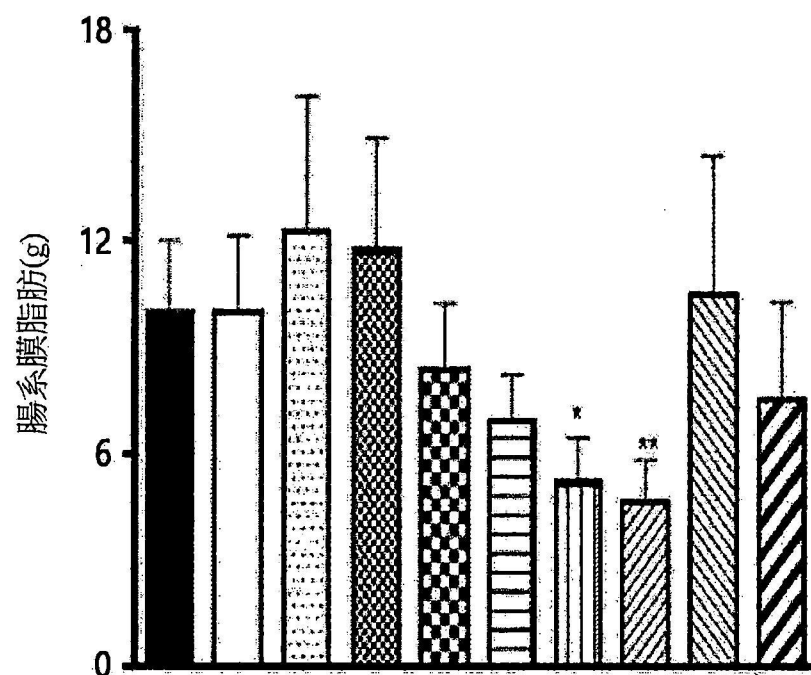
30. 如申請專利範圍第 21 項所述之用途，其中該免疫球蛋白 Fc 區係衍生自選自由 IgG、IgA、IgD、IgE、及 IgM 所組成的組群之免疫球蛋白。
31. 如申請專利範圍第 30 項所述之用途，其中該免疫球蛋白 Fc 區為 IgG4 Fc 區。
32. 如申請專利範圍第 21 項所述之用途，其中該免疫球蛋白 Fc 區為衍生自人類 IgG4 的無糖基化 Fc 區。
33. 如申請專利範圍第 22 項所述之用途，其中該連接子係鏈結至包含該通式 1 之胺基酸序列的肽之半胱胺酸殘基。
34. 如申請專利範圍第 22 項所述之用途，其中該連接子係藉由共價鍵個別地鏈結至該肽部分及該可生物相容材料部分，該等共價鍵係當該連接子的一端與該可生物相容材料部分之胺基或硫醇基反應而該連接子的另一端與包括通式 1 之該胺基酸序列的該肽部分之胺基或硫醇基反應時分別地形成。

圖式



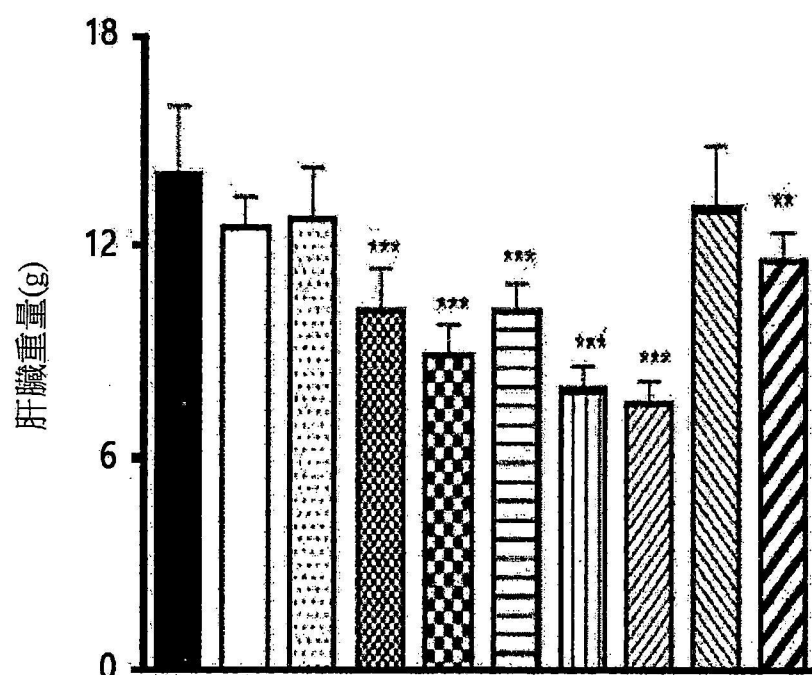
- 賦形劑
- 長效艾塞那肽-4衍生物(3.3 nmol/kg)
- △ SEQ ID NO: 12之長效衍生物(1.6 nmol/kg)
- ▽ SEQ ID NO: 12之長效衍生物(3.3 nmol/kg)
- ◇ SEQ ID NO: 12之長效衍生物(6.6 nmol/kg)
- ▲ 長效艾塞那肽-4衍生物(3.3 nmol/kg)+SEQ ID NO: 12之長效衍生物(1.6 nmol/kg)
- ▼ 長效艾塞那肽-4衍生物(3.3 nmol/kg)+SEQ ID NO: 12之長效衍生物(3.3 nmol/kg)
- ◆ 長效艾塞那肽-4衍生物(3.3 nmol/kg)+SEQ ID NO: 12之長效衍生物(6.6 nmol/kg)
- ※ 成對餵飼(帶有SEQ ID NO: 12之長效衍生物(3.3 nmol/kg)投予組)
- ✱ 成對餵飼(帶有長效艾塞那肽-4衍生物(3.3 nmol/kg)及SEQ ID NO: 12之長效衍生物(3.3 nmol/kg)投予組)

第1圖



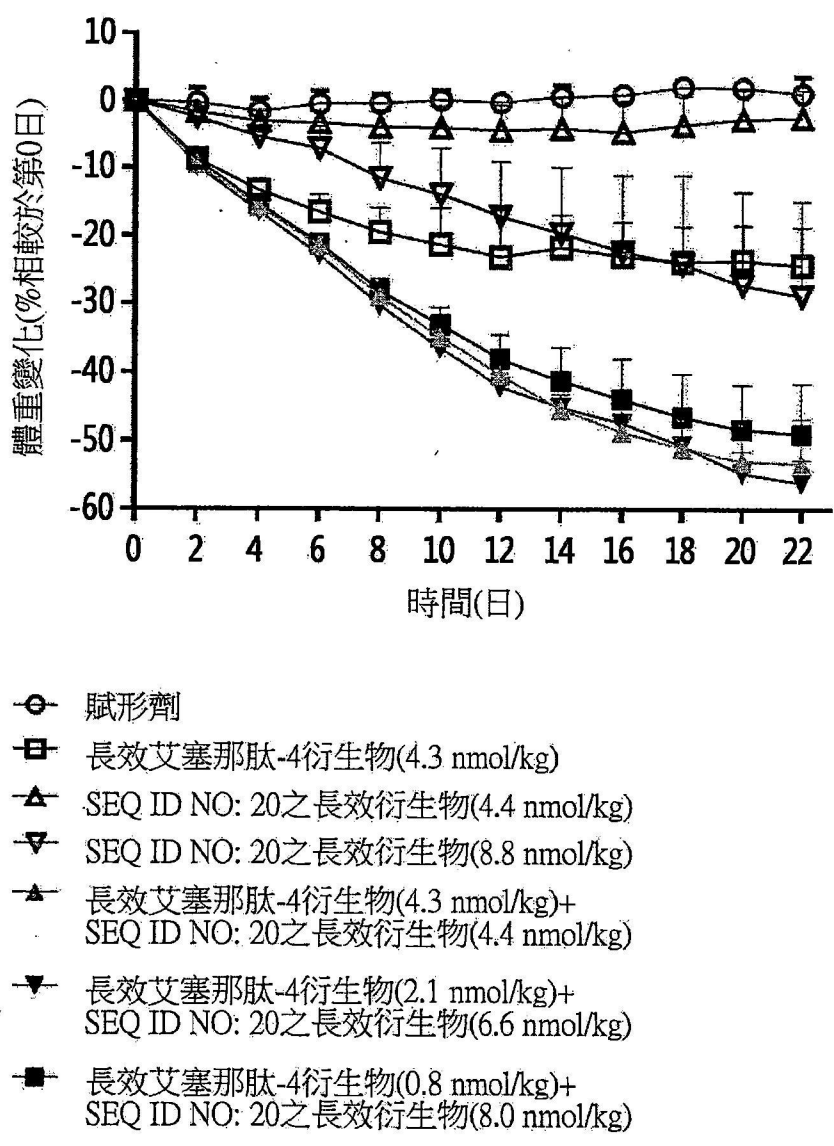
- 賦形劑
- 長效艾塞那肽-4衍生物(3.3 nmol/kg)
- ▨ SEQ ID NO: 12之長效衍生物(1.6 nmol/kg)
- ▩ SEQ ID NO: 12之長效衍生物(3.3 nmol/kg)
- ▧ SEQ ID NO: 12之長效衍生物(6.6 nmol/kg)
- ▦ 長效艾塞那肽-4衍生物(3.3 nmol/kg)+SEQ ID NO: 12之長效衍生物(1.6 nmol/kg)
- ▥ 長效艾塞那肽-4衍生物(3.3 nmol/kg)+SEQ ID NO: 12之長效衍生物(3.3 nmol/kg)
- ▤ 長效艾塞那肽-4衍生物(3.3 nmol/kg)+SEQ ID NO: 12之長效衍生物(6.6 nmol/kg)
- ▣ 成對餵飼(帶有SEQ ID NO: 12之長效衍生物(3.3 nmol/kg)投予組)
- ▢ 成對餵飼(帶有長效艾塞那肽-4衍生物(3.3 nmol/kg)及SEQ ID NO: 12之長效衍生物(3.3 nmol/kg)投予組)

第2圖

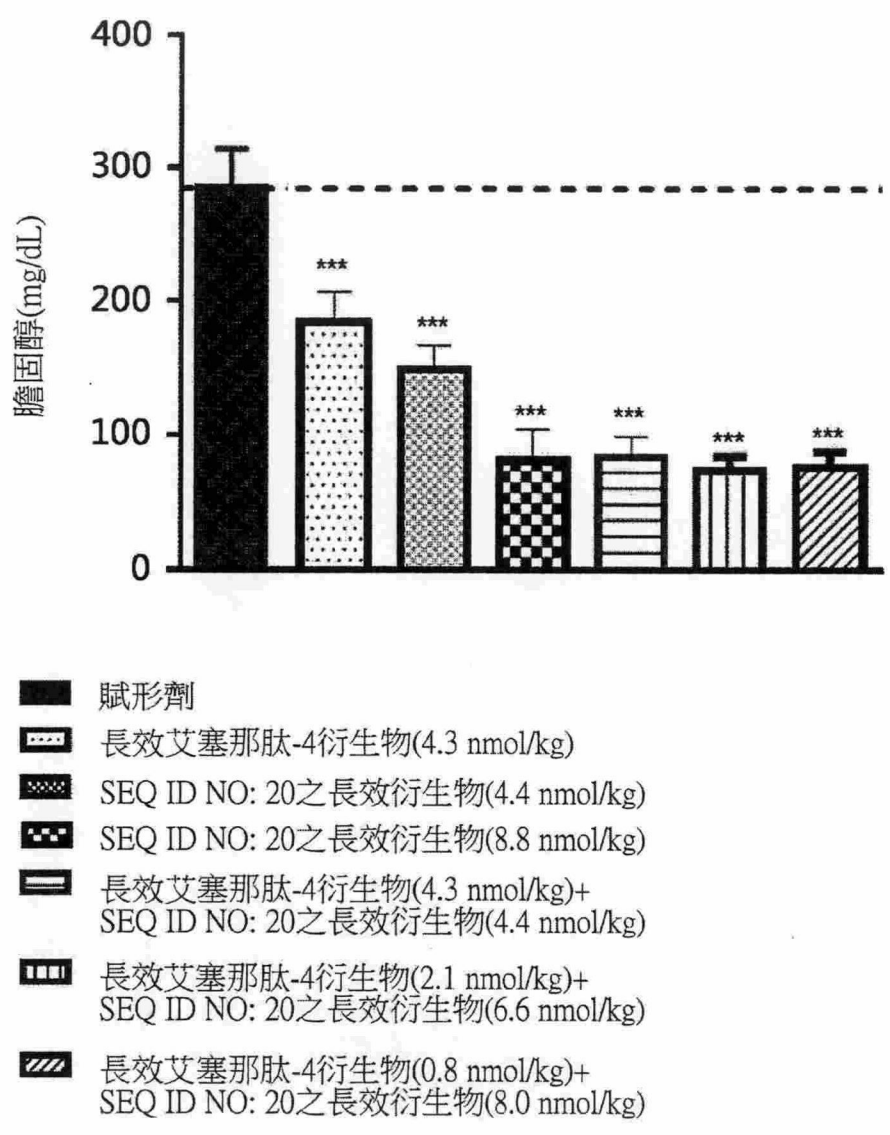


- 賦形劑
- 長效艾塞那肽-4衍生物(3.3 nmol/kg)
- ▤ SEQ ID NO: 12之長效衍生物(1.6 nmol/kg)
- ▥ SEQ ID NO: 12之長效衍生物(3.3 nmol/kg)
- ▦ SEQ ID NO: 12之長效衍生物(6.6 nmol/kg)
- ▧ 長效艾塞那肽-4衍生物(3.3 nmol/kg)+SEQ ID NO: 12之長效衍生物(1.6 nmol/kg)
- ▨ 長效艾塞那肽-4衍生物(3.3 nmol/kg)+SEQ ID NO: 12之長效衍生物(3.3 nmol/kg)
- ▩ 長效艾塞那肽-4衍生物(3.3 nmol/kg)+SEQ ID NO: 12之長效衍生物(6.6 nmol/kg)
- 成對餵飼(帶有SEQ ID NO: 12之長效衍生物(3.3 nmol/kg)投予組)
- 成對餵飼(帶有長效艾塞那肽-4衍生物(3.3 nmol/kg)及SEQ ID NO: 12之長效衍生物(3.3 nmol/kg)投予組)

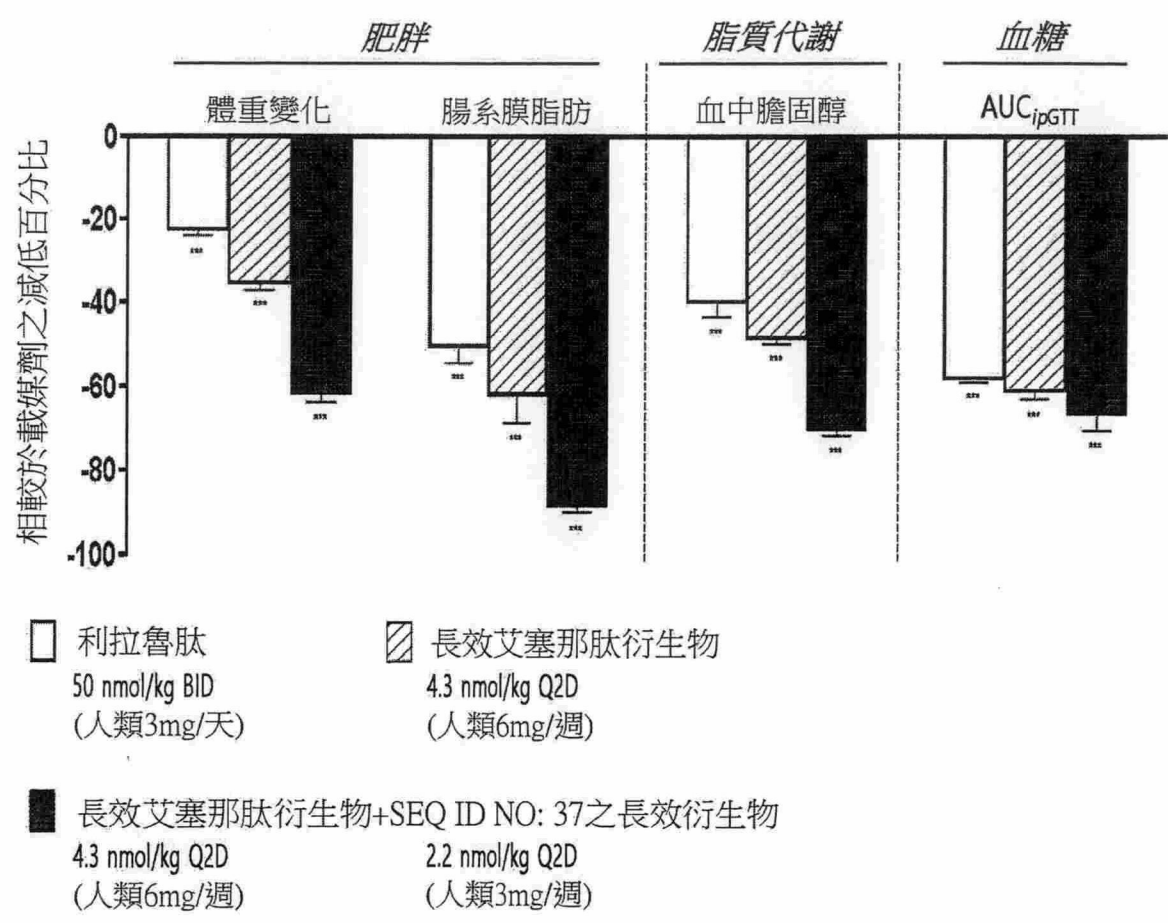
第3圖



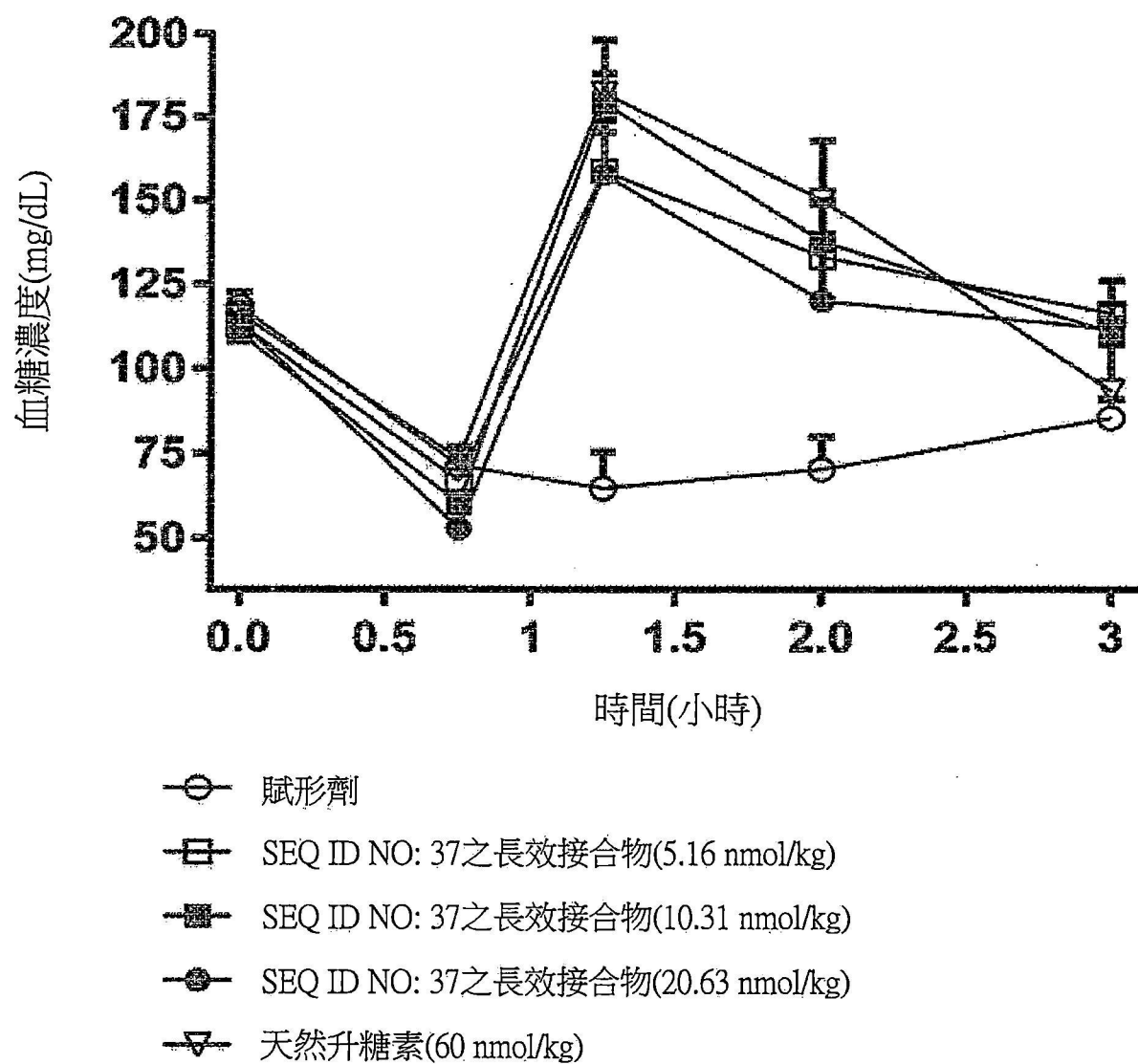
第4圖



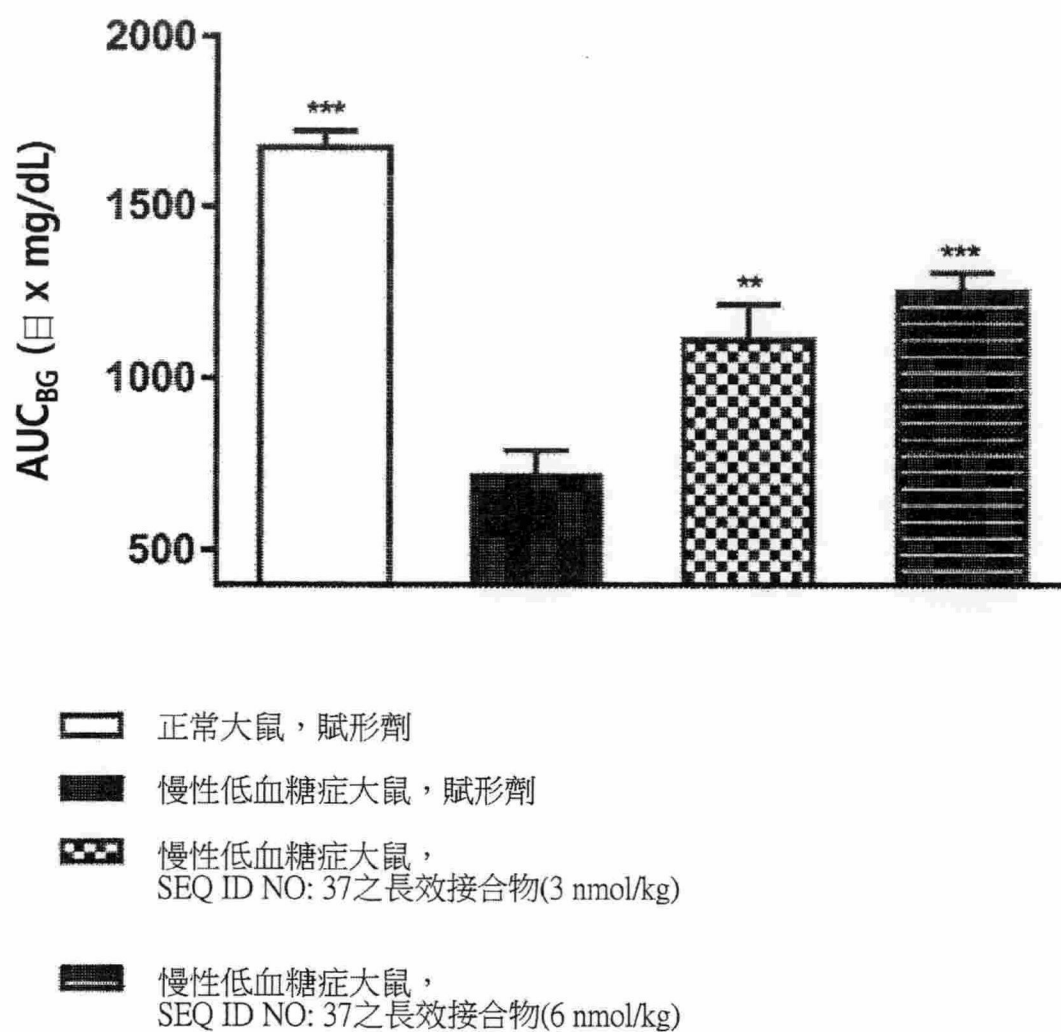
第5圖



第6圖



第7圖



第8圖