



(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 I802396 B

(45)公告日：中華民國 112 (2023) 年 05 月 11 日

(21)申請案號：111117002

(22)申請日：中華民國 104 (2015) 年 09 月 14 日

(51)Int. Cl. : A61K39/395 (2006.01)

A61K47/50 (2017.01)

A61P1/16 (2006.01)

(30)優先權：2014/09/16 南韓

10-2014-0122862

(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：黃祥淵 HWANG, SANG YOUN (KR)；金眞英 KIM, JIN YOUNG (KR)；金承洙
KIM, SEUNG SU (KR)；崔仁榮 CHOI, IN YOUNG (KR)；鄭聖燁 JUNG, SUNG
YOUB (KR)；權世昌 KWON, SE CHANG (KR)

(74)代理人：洪武雄；陳昭誠

(56)參考文獻：

TW 201416087A

審查人員：簡正芳

申請專利範圍項數：13 項 圖式數：3 共 59 頁

(54)名稱

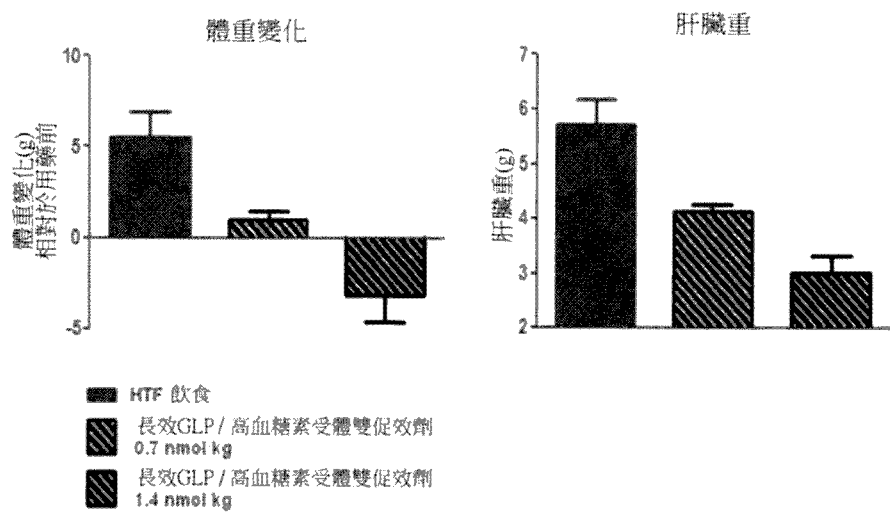
長效 GLP-1/高血糖素受體雙促效劑治療非酒精性脂肪肝疾病之用途

(57)摘要

本發明係有關用於預防或治療非酒精性脂肪肝疾病之包含長效 GLP-1/高血糖素受體雙促效劑之醫藥組成物；及用於預防或治療非酒精性脂肪肝疾病之方法，該方法包括給藥該組成物。本發明組成物不具為非酒精性脂肪肝疾病之習知治療劑副作用之增重副作用，或減少該增重副作用，及減少長效 GLP-1/高血糖素受體雙促效劑之給藥量，因此大幅增進病患之便利性。此外，本發明之長效 GLP-1/高血糖素受體雙促效劑增進體內之永續性與安定性。

The present invention relates to a pharmaceutical composition for the prevention or treatment of non-alcoholic fatty liver disease including a long-acting GLP-1/glucagon receptor dual agonist, and a method for preventing or treatment of non-alcoholic fatty liver disease including administering the composition. The composition of the present invention either has no side effect of weight gain or reduces the side effect of weight gain, which is a side-effect of conventional therapeutic agents for non-alcoholic fatty liver disease, and reduces the amount of administrations of a long-acting GLP-1/glucagon receptor dual agonist, thus greatly improving patient's convenience. In addition, the long-acting GLP-1/glucagon receptor dual agonist of the present invention improves in vivo sustainability and stability.

指定代表圖：



第1圖

發明摘要

【發明名稱】(中文/英文)

長效 GLP-1/高血糖素受體雙促效劑治療非酒精性脂肪肝疾病之用途

USE OF A LONG ACTING GLP-1/GLUCAGON
RECEPTOR DUAL AGONIST FOR THE TREATMENT OF
NON-ALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE

【中文】

本發明係有關用於預防或治療非酒精性脂肪肝疾病之包含長效 GLP-1/高血糖素受體雙促效劑之醫藥組成物；及用於預防或治療非酒精性脂肪肝疾病之方法，該方法包括給藥該組成物。本發明組成物不具為非酒精性脂肪肝疾病之習知治療劑副作用之增重副作用，或減少該增重副作用，及減少長效 GLP-1/高血糖素受體雙促效劑之給藥量，因此大幅增進病患之便利性。此外，本發明之長效 GLP-1/高血糖素受體雙促效劑增進體內之永續性與安定性。

【英文】

The present invention relates to a pharmaceutical composition for the prevention or treatment of non-alcoholic fatty liver disease including a long-acting GLP-1/glucagon receptor dual agonist, and a method for preventing or treatment of non-alcoholic fatty liver disease including administering the composition. The composition of the present invention either has no side effect of weight gain or reduces the side effect of weight gain, which is a side-effect of conventional therapeutic agents for non-alcoholic fatty liver disease, and reduces the amount of administrations of a long-acting GLP-1/glucagon receptor dual agonist, thus greatly improving patient' s convenience. In addition, the long-acting GLP-1/glucagon receptor dual agonist of the present invention improves *in vivo* sustainability and stability.

【代表圖】

【本案指定代表圖】：第（ 1 ）圖。

【本代表圖之符號簡單說明】：

無

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：

本案無化學式

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)

長效 GLP-1/高血糖素受體雙促效劑治療非酒精性脂肪肝疾病之用途

USE OF A LONG ACTING GLP-1/GLUCAGON RECEPTOR
DUAL AGONIST FOR THE TREATMENT OF
NON-ALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE

【技術領域】

【0001】 本發明係有關用於預防或治療非酒精性脂肪肝疾病之包含長效高血糖素樣肽-1(GLP-1)/高血糖素受體雙促效劑之醫藥組成物；及用於預防或治療非酒精性脂肪肝疾病之方法，該方法包括給藥該組成物。

【先前技術】

【0002】 非酒精性脂肪肝疾病(NAFLD)為一種疾病類型，其雖與飲酒量無關，惟顯現類似酒精性肝病之組織結構(histological organization)；且其係與非酒精性脂肪肝(NAFL)、非酒精性脂肪肝炎(NASH)、肝硬化、及肝細胞癌關聯之一種代謝症候群。非酒精性脂肪肝疾病之發生隨肥胖症與糖尿病族群之增加而增加。在韓國，每年之發生率已達到約 16%。

【0003】 非酒精性脂肪肝疾病已知係由例如胰島素抗性、脂質毒性與發炎反應之各種病因所引起；其中，最常見之病因為胰島素抗性。

【0004】 業界已進行許多努力，擬增進胰島素抗性以預防/治療非酒精性脂肪肝疾病。舉例而言，已積極進行噻唑烷二酮類(TZD)或二甲雙胍(其係一種胰島素增敏劑)之當前臨床試驗[參見，Hepatology (2003) 38: 1008-17；J Clin Invest (2001) 108: 1167-74]。

【0005】 然而，以 TZD 系藥物治療之情況下，有大幅增重與緩慢流體流動之缺點，因此已知此類治療不可能用於心臟病病患。除 TZD 系藥物之外，已積極進行使用例如胰妥善(Victoza)或降爾糖(Byetta)之 GLP-1 受體促效劑於非酒精性脂肪肝疾病之臨床試驗。然而，此等情況下，其體內半衰期極短，因此與其他多肽激素一樣，必須每天一次或至少兩次重複給藥。因此，存在為病患造成不便之缺點。此等頻繁給藥導致病患極大痛苦與不適。亦即，經由改善胰島素抗性之機制，單僅使用一般糖尿病治療劑作為非酒精性脂肪肝疾病之治療劑，具有例如各種副作用或病患不便利性等缺點。由於此等因素，直接使用已知可有效治療糖尿病之藥物，例如改善胰島素抗性之藥物，作為非酒精性脂肪肝疾病之治療劑時，發明所屬技術領域中已知可導致例如副作用問題等各種因素。因而，對於已知可有效治療糖尿病之藥物，例如改善胰島素抗性之藥物，是否一定可作為非酒精性脂肪肝疾病之治療劑用，尚有爭論。因此，業界仍存在開發出能治療非酒精性脂肪肝疾病，同時確保病患便利性而無副作用之藥物之需求。

【0006】 就此而論，本發明人等已進行許多努力，

以開發於無例如增重之副作用且增加半衰期之同時，亦使病患順從性最大化之用於預防或治療非酒精性脂肪肝疾病之藥物。結果，本發明人等已發現，連接於Fc片段之長效GLP-1/高血糖素受體雙促效劑之體內半衰期大幅增進，亦具減重之有效結果，及進一步降低肝臟三酸甘油酯與血膽固醇。基於此等發現而完成本發明。

【發明內容】

[技術問題]

【0007】 本發明之目的在於提供用於預防或治療非酒精性脂肪肝疾病之醫藥組成物，其包含長效高血糖素樣肽-1 (GLP-1)/高血糖素受體雙促效劑。

【0008】 本發明之另一目的在於提供用於預防或治療非酒精性脂肪肝疾病之方法，該方法包括給藥該組成物至疑似或具有非酒精性肝病之對象。

[技術解決方案]

【0009】 為了達成該等目的，本發明之一態樣乃提供用於預防或治療非酒精性脂肪肝疾病之醫藥組成物，其包含長效高血糖素樣肽-1(GLP-1)/高血糖素受體雙促效劑。

【0010】 該長效GLP-1/高血糖素受體雙促效劑可為呈共軛形式之長效GLP-1/高血糖素受體雙促效劑，其中，能增加該雙促效劑活性持續時間之生物相容性物質或載劑係經由共價鍵或連接子連接於該促效劑。

【0011】 於以TZD系藥物(其為改善胰島素抗性機制之用於增進胰島素反應之藥物，且為非酒精性脂肪肝疾病之

習知治療劑)治療之情況下，由於例如大幅增重與緩慢流體流動等副作用，具有不可能施用於心臟病病患以治療之缺點。於例如胜肽激素等蛋白質藥物之情況下，則具有體內半衰期短因此需要重複給藥之缺點。本發明人等已發現，長效 GLP-1/高血糖素受體雙促效劑在非酒精性肝病之各種動物模式中，不具增重之副作用或減少增重之副作用；該長效 GLP-1/高血糖素受體雙促效劑可呈於血液中明顯增加永續性之形式治療非酒精性脂肪肝疾病。因此，本發明已完成，而提供使用長效 GLP-1/高血糖素受體雙促效劑預防或治療非酒精性脂肪肝疾病之用途。

【0012】 本發明組成物之特徵在於不具增重之副作用或減少增重之副作用。

【0013】 再者，本發明之組成物可藉由執行至少一項下述功能以預防或治療非酒精性脂肪肝疾病：(a)降低為纖維化標記之膠原蛋白-1a 之表現或活性；(b)降低為促發炎標記之腫瘤壞死因子- α (TNF- α)之表現或活性；(c)降低脂質生成標記之固醇調節元件結合蛋白-1c(SREBP-1c)之表現或活性；(d)降低肝臟三酸甘油酯；及(e)降低血膽固醇。

【0014】 於本發明之一具體實例中，係給藥本發明之長效 GLP-1/高血糖素受體雙促效劑至非酒精性脂肪肝疾病之各種動物模式。結果證實，相較於未處理組，體重與肝臟重顯著降低(第 1 圖)，且不具如使用習知治療劑之例如增重之副作用。再者，已證實，相較於未處理組，膠原蛋白-1a、TNF- α 、SREBP-1c 之表現顯著降低，因而預防纖

維化(亦即肝纖維變性)、抑制發炎、及抑制脂肪蓄積抑制(第 2 圖)。因此證實，本發明之長效 GLP-1/高血糖素受體雙促效劑可用作為預防與治療各種非酒精性肝病之藥物。此外證實，相較於未處理組，肝臟三酸甘油酯與血膽固醇顯著減少，並顯著減少至正常動物值(第 3 圖)。因此證實，本發明之長效 GLP-1/高血糖素受體雙促效劑可用作為預防與治療各種非酒精性肝病之優異藥物。

【0015】 本文所用之"GLP-1/高血糖素受體雙促效劑"一詞可與"GLP-1/高血糖素雙促效劑"互換使用。GLP-1/高血糖素受體雙促效劑包括具有 GLP-1/高血糖素雙活性之所有胜肽，或其片段、前驅物、衍生物或變異體，如調酸素、原態 GLP-1/高血糖素受體雙促效劑、以及可同時活化 GLP-1 與高血糖素受體之物質，惟不受此限。於本發明中，GLP-1/高血糖素受體促效劑可為應用長效技術克服短半衰期之受體雙雙促效劑(receptor dual-dual agonist)，較佳為，可一週給藥一次之長效受體雙促效劑，惟不受此限。根據本發明之 GLP-1/高血糖素受體雙促效劑之部分具體實例可包括，舉例而言，如韓國專利申請公告案第 10-2012-0137271 與 10-2012-0139579 號中敘述之 GLP-1/高血糖素受體雙促效劑、其衍生物、與其長效型，其全部內容以參考方式併入本文。

【0016】 於本發明之一具體實例中，長效 GLP-1/高血糖素受體雙促效劑可呈共軛體形式，其中，生物相容性物質或載劑係經由共價鍵或連接子連接於促效劑。於另一

具體實例中，此類長效型可呈其中生物相容性物質或載劑可利用已知基因重組技術，經由共價鍵直接連接於 GLP-1/高血糖素受體雙促效劑之形式。相較於其中 GLP-1/高血糖素受體雙促效劑序列為非長效型惟其他方面相同之形式，所述 GLP-1/高血糖素受體雙促效劑之長效型可增進半衰期或生體可用率(bioavailability)。根據本發明之一具體實例，可使用其中免疫球蛋白 Fc 區經由非肽聚合物連接子，較佳為 PEG，連接於 GLP-1/高血糖素受體雙促效劑之第 30 個胺基酸之組成物作為長效 GLP-1/高血糖素受體雙促效劑之一實例，惟不受此限。

【0017】 本文所用之"生物相容性物質"或"載劑"一詞係指於該生物相容性物質及該載劑共價或非共價、直接或間接連接於本發明 GLP-1/高血糖素受體雙促效劑形成共軛體時，可增加該 GLP-1/高血糖素受體雙促效劑活性持續時間之物質。舉例而言，於形成共軛體時，可增加 GLP-1/高血糖素受體雙促效劑體內半衰期之物質可為根據本發明之生物相容性物質或載劑。可用以增加半衰期之生物相容性物質或載劑之類型呈多樣化，其實例可包括聚乙二醇、脂肪酸、膽固醇、白蛋白與其片段、白蛋白結合物質、特定胺基酸序列重複單元之聚合物、抗體、抗體片段、Fc 新生兒受體(FcRn)結合物質、體內結締組織、核苷酸、纖維結合素、運鐵蛋白、醣、聚合物等。當然，該等載劑或生物相容性物質可組合其至少兩種使用。生物相容性物質或載劑包括經由共價或非共價鍵延長體內半衰期之生物相容

性物質。

【0018】 於本發明中，連接生物相容性物質或載劑至 GLP-1/高血糖素受體雙促效劑之方法包括基因重組方法及使用聚合物或小分子化學品之活體外鍵結，惟不受此限。FcRn 結合物質可為免疫球蛋白 Fc 區；舉例而言，於使用聚乙二醇作為載劑時，可包括 Ambrx Inc.之 Recode 技術，其可連接聚乙二醇至特定位置。該等方法可包括 Neose 公司之醣聚乙二醇化技術，其可特定地連接於經醣基化之基團。再者，該等方法可包括其中聚乙二醇被移除之可釋 PEG 技術，惟不受此限。該等方法亦可包括可使用 PEG 增加生體可用率之技術。此外，亦可包括例如聚乙二醇、聚丙二醇、乙二醇丙二醇共聚物、聚氧乙基化多元醇、聚烯醇、多醣、葡聚糖、聚乙烯乙醚、生物可降解聚合物、脂質聚合物、幾丁質、或玻尿酸等聚合物。

【0019】 於使用白蛋白作為載劑時，該等方法可包括其中可將白蛋白或白蛋白片段直接共價連接於 GLP-1/高血糖素受體雙促效劑之胜肽，以增加體內安定性之技術。即使不直接連接白蛋白，亦可包括使例如白蛋白專一性結合抗體或抗體片段等白蛋白結合物質結合於該胜肽以結合白蛋白之技術；及使對白蛋白具結合親和力之特定胜肽/蛋白質結合於該等胜肽之技術。此外，該等方法可包括使對白蛋白具結合親和力之脂肪酸等結合於該等胜肽之技術，惟不受此限。使用白蛋白之可增加體內安定性之任何技術或結合方法均可涵蓋於本文中。

【0020】 經由使用抗體或抗體片段作為載劑結合於該胜肽以增加體內半衰期之技術，亦可涵蓋於本發明中。可使用具 FcRn 結合部位之抗體或抗體片段，亦可使用不含 FcRn 結合部位(例如 Fab)之任何抗體片段。本文中可包含 CovX 公司之使用催化抗體之 CovX 體(CovX-body)技術，使用 Fc 片段增加體內半衰期之該技術亦可涵蓋於本發明中。於使用 Fc 片段時，結合 Fc 片段與該胜肽之連接子及其結合方法可包括肽鍵或聚乙二醇等，惟不受此限且任何化學結合方法均可用。此外，本發明 GLP-1/高血糖素受體促效劑雙促效劑之結合比率可為 1:1 或 1:2，惟不受此限，及可包含可增加體內半衰期之任何比率而無限制。

【0021】 再者，用以增加體內半衰期之載劑可為非肽基物質，例如多醣或脂肪酸。

【0022】 結合用以增加體內半衰期之載劑之連接子可包括胜肽、聚乙二醇類、脂肪酸、糖、聚合物、小分子化合物、核苷酸、與其組合，及可為任何化學鍵例如非共價化學鍵、共價化學鍵等而無限制。

【0023】 可增加生體可用率或持續維持活性之調配物可包括使用 PLGA、玻尿酸、幾丁聚醣等，經由微粒子、奈米粒子等之持續釋放調配物。

【0024】 再者，可增加生體可用率或持續維持活性之不同態樣之調配物可為例如植入物、吸入物、經鼻調配物或貼片之調配物。

【0025】 於本發明之一例示具體實例中，GLP-1/高血

糖素受體雙促效劑之實例可包括原態 GLP-1/高血糖素受體雙促效劑，例如調酸素與其衍生物，亦可包括其長效調配物等

【0026】 本文所用之"調酸素"一詞意指衍生自高血糖素前驅物、前高血糖素之胜肽，及包括原態調酸素、其前驅物、衍生物、片段、及其變異體。較佳為，其可具有 SEQ ID NO. 1 之胺基酸序列 (HSQGTFTSDYSKYLDSRRAQDFVQWLMNTRNRNNIA)。

【0027】 "調酸素變異體"一詞係指具有與原態調酸素之胺基酸序列不同之一或多個胺基酸序列之胜肽，及意指保留活化 GLP-1 與高血糖素受體功能之胜肽，其可利用於原態調酸素之部分胺基酸序列進行置換、加成、刪除、與修飾或其組合之任一者，予以製備。

【0028】 "調酸素衍生物"一詞係包括利用調酸素胺基酸之加成、刪除或置換，俾使相較於原態調酸素，可活化高量 GLP-1 受體與高血糖素受體二者所製備之胜肽、胜肽衍生物或胜肽模擬物。較佳為，該調酸素衍生物具有 SEQ ID No. 25 之胺基酸序列，及更佳為，其第 16 個與第 20 個胺基酸形成環。

【0029】 "調酸素片段"一詞意指於原態調酸素之 N 端或 C 端有一或多個胺基酸加入或刪除之片段，其中可加入非天然存在之胺基酸(例如，D 型胺基酸)，及具有活化 GLP-1 受體與高血糖素受體二者之功能。

【0030】 調酸素之變異體、衍生物、與片段之各個

製法可單獨或組合使用。舉例而言，本發明包含具有一或多個與原態胜肽不同之胺基酸及 N 端胺基酸殘基去胺化，且具有活化 GLP-1 受體與高血糖素受體二者之功能之胜肽。

【0031】 本發明調酸素變異體、衍生物、與片段之 C 端可經醯胺化。

【0032】 可於本發明中使用之載劑物質可選自由抗體、免疫球蛋白 Fc 區、白蛋白、脂肪酸、碳水化合物、具有胜肽重複單元之聚合物、運鐵蛋白、與 PEG 之群組；較佳為免疫球蛋白 Fc 區。於本發明之一例示具體實例中，該長效 GLP-1/高血糖素受體雙促效劑係經由作為連接子之非肽基聚合物連接於載劑。於又一個例示具體實例中，連接於非肽基聚合物之載劑為免疫球蛋白 Fc 片段。

【0033】 於本發明中，該長效 GLP-1/高血糖素受體雙促效劑係呈其中 GLP-1/高血糖素受體雙促效劑各自連接於免疫球蛋白 Fc 區之形式，並顯現永續性與安全性。免疫球蛋白 Fc 區與 GLP-1/高血糖素受體雙促效劑之結合，可為無連接子之框架內融合，或可使用非肽基聚合物連接子連接。於本發明中，免疫球蛋白 Fc 可與免疫球蛋白片段互換使用。

【0034】 本文所用之"非肽基聚合物"一詞係指包含經由肽鍵以外之任何共價鍵彼此連接之至少兩個重複單元之生物相容性聚合物。於本發明中，非肽基聚合物可與非肽基連接子互換使用。

【0035】 可於本發明中使用之非肽基聚合物可選自由例如聚乙二醇、聚丙二醇、乙二醇丙二醇共聚物、聚氧乙基化多元醇、聚乙烯醇、多醣、葡聚糖、聚乙烯乙醚、聚乳酸(PLA)或聚乳酸-乙醇酸(PLGA)之生物可降解聚合物、脂質聚合物、幾丁質、玻尿酸、及其組合之群組，較佳為，該生物可降解聚合物係聚乙二醇。此外，發明所屬技術領域中已知之其衍生物及利用發明所屬技術領域中已知方法易於製備之衍生物可涵蓋於本發明範圍之內。

【0036】 於利用習知框架內融合方法製得之融合蛋白質中所使用之胜肽連接子具有容易被體內蛋白酶切割之缺點，因此無法如預期得到經由載劑增加活性藥物血清半衰期之充分功效。然而，於本發明中，可使用對蛋白酶具抗性之聚合物，以維持與載劑同樣之胜肽血清半衰期。因此，可使用任何非肽基聚合物而不受限制，只要其具有所述功能即可，亦即，對體內蛋白酶具抗性之聚合物。該非肽基聚合物具有 1 至 100 kDa，較佳為 1 至 20 kDa 範圍內之分子量。再者，連接於免疫球蛋白 Fc 區之本發明非肽基聚合物，可為一種聚合物或不同類型聚合物之組合。

【0037】 於本發明中使用之非肽基聚合物具有能結合於免疫球蛋白 Fc 區與蛋白質藥物之反應性基團。於非肽基聚合物兩端之該反應性基團較佳為選自由反應性醛基、丙醛、丁醛基、順丁烯二醯亞胺基、與琥珀醯亞胺衍生物所組成之群組。該琥珀醯亞胺衍生物可為丙酸琥珀醯亞胺酯、羥基琥珀醯亞胺基、琥珀醯亞胺基羧甲基、或碳酸琥

珀醯亞胺酯。特別是，當該非肽基聚合物於其兩端具有反應性醛基之反應性基團時，可有效最小化非專一性反應，及連接生理活性多肽與免疫球蛋白於該非肽基聚合物之兩端。利用還原性烷化經由醛鍵所製備之最終產物比經由醯胺鍵連接者更加安定。該醛反應性基團可選擇性地於低 pH 結合至 N 端，及於高 pH，例如 pH 9.0，結合至離胺酸殘基以形成共價鍵。該非肽基聚合物兩端之反應性基團可相同或彼此不同。舉例而言，該非肽基聚合物可於一端具有順丁烯二醯亞胺基，而另一端為醛基、丙醛基、或丁醛基。於使用兩端具有反應性羥基之聚乙二醇作為非肽基聚合物時，可經由已知化學反應將羥基活化成各種反應性基團，或可使用市售可得之具經修飾之反應性基團之聚乙二醇，以製備本發明之長效 GLP-1/高血糖素受體雙促效劑共軛體。

【0038】 此外，就共軛體之製備、純化、與產率而論，免疫球蛋白 Fc 區是有利的，因為不僅相較於整個分子，其分子量相對地小，而且由於各抗體之胺基酸序列不同，因此顯現高度非均一性之 Fab 部分被移除，故物質之均一性亦大幅增加及於血液中誘發抗原性之可能性下降。

【0039】 本文所用之"免疫球蛋白 Fc 區"一詞係指除免疫球蛋白之重與輕鏈變異區、重鏈恆定區 1 (CH1)、及輕鏈恆定區 1 (CL1)以外之免疫球蛋白之重鏈恆定區 2 (CH2)與重鏈恆定區 3 (CH3)。其可進一步包括於重鏈恆定區之絞鏈區。又，本發明之免疫球蛋白 Fc 區可含部分或全部之

Fc 區，其包括除免疫球蛋白之重與輕鏈變異區外之重鏈恆定區 1 (CH1)及/或輕鏈恆定區 1 (CL1)，只要其具有實質上與原態蛋白質等同或較佳之功效即可。再者，該免疫球蛋白 Fc 區可為對應於 CH2 及/或 CH3 之具有相對長部分胺基酸序列缺失之片段。亦即，本發明之免疫球蛋白 Fc 區可包含 1) CH1 功能域、CH2 功能域、CH3 功能域、與 CH4 功能域；2) CH1 功能域與 CH2 功能域；3) CH1 功能域與 CH3 功能域；4) CH2 功能域與 CH3 功能域；5)一或多個功能域與免疫球蛋白絞鏈區(或部分絞鏈區)之組合；及 6)重鏈恆定區與輕鏈恆定區各功能域之二聚體。

【0040】 再者，本發明之免疫球蛋白 Fc 區包含原態胺基酸序列以及其序列衍生物(突變體)。胺基酸序列衍生物具有由於原態胺基酸序列一或多個胺基酸殘基之缺失、嵌入、非保守性或保守性置換、或其組合之不同序列。舉例而言，於 IgG Fc 中，已知 214 至 238、297 至 299、318 至 322、或 327 至 331 位置之胺基酸殘基於結合中很重要，可作為用於修飾之適當標靶用。

【0041】 再者，可能有各種衍生物，包括其中能形成雙硫鍵之區域被刪除者、於原態 Fc N 端之特定胺基酸殘基被消除者、添加甲硫胺酸殘基至原態 Fc 之 N 端者等。再者，為了移除效應物功能，可刪除補體結合部位，例如 C1q 結合部位，及抗體依賴性細胞媒介之細胞毒性(ADCC)部位。製備此等免疫球蛋白 Fc 區序列衍生物之技術揭示於國際專利公告案第：WO 97/34631、WO 96/32478 號等。於

蛋白質與胜肽中，完全不改變該等分子活性之胺基酸交換為發明所屬技術領域中所已知(H. Neurath, R. L. Hill, The Proteins, Academic Press, New York, 1979)。最普遍發生之交換為雙向之 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、與 Asp/Gly。此外，需要時，則 Fc 區可經由磷酸化、硫酸化、丙烯酸化、醯基化、甲基化、蛋白質脂化、乙醯化、醯胺化等予以修飾。

【0042】 該 Fc 衍生物為具有與本發明 Fc 區完全相同生物活性之衍生物，其具有增進之 Fc 區結構安定性，例如對抗熱、pH 等。

【0043】 再者，彼等 Fc 區可能得自單離自人類及包括乳牛、山羊、豬、小鼠、兔、倉鼠、大鼠、天竺鼠等其他動物之原態形式，或可為得自轉形動物細胞或微生物之其重組體或衍生物。於此，彼等可能得自經由從人類或動物生物體單離整個免疫球蛋白，然後以蛋白酶予以處理之原態形式。以木瓜酶處理時，木瓜酶分解原態免疫球蛋白成為 Fab 與 Fc 區；以胃蛋白酶處理時，原態免疫球蛋白被切割為 pF'c 與 F(ab)₂。Fc 或 pF'c 可利用粒徑排阻層析法等予以單離。較佳為，人類衍生之 Fc 區係得自微生物之重組免疫球蛋白 Fc 區。

【0044】 此外，該免疫球蛋白 Fc 區可呈具有原態糖鏈、或相較於原態形式增加或減少糖鏈之形式，或可呈去

醣基化形式。該免疫球蛋白 Fc 糖鏈之增加、減少、或移除可利用發明所屬技術領域中常見之方法，例如化學法、酵素法及使用微生物之遺傳工程法達成。從 Fc 區移除糖鏈導致對 C1q 部分之結合親和力顯著下降，及抗體依賴性細胞媒介之細胞毒性或補體依賴性細胞毒性之下降或喪失，從而不誘發活體內不必要之免疫反應。就此而論，呈去醣基化或無醣基化形式之免疫球蛋白 Fc 區可能更適合作為藥物載劑而用於本發明目的。

【0045】 本文所用之"去醣基化"一詞係指從 Fc 區酵索性移除糖基團；"無醣基化"一詞係指原核生物(較佳為大腸桿菌)中產生之 Fc 區，其未被醣基化。

【0046】 同時，該免疫球蛋白 Fc 區可衍生自人類或包括乳牛、山羊、豬、小鼠、兔、倉鼠、大鼠、天竺鼠等其他動物，較佳為得自人類。

【0047】 又，該免疫球蛋白 Fc 區可為衍生自 IgG、IgA、IgD、IgE 與 IgM、其組合物、或其雜合體之 Fc 區；較佳為，其係衍生自人類血液中最大量之 IgG 或 IgM；最佳為得自己知可增強配體結合蛋白質半衰期之 IgG，惟不受此限。

【0048】 本文所用之"組合物"一詞係指編碼相同來源單鏈免疫球蛋白 Fc 區之多肽連接於不同來源之單鏈多肽，而形成二聚體或多聚體。亦即，二聚體或多聚體可由選自由 IgG Fc、IgA Fc、IgM Fc、IgD Fc、與 IgE Fc 片段所組成之群組之兩個或兩個以上片段形成。

【0049】 本文所用之"雜合體"一詞係指對應於不同來源之至少兩個 Fc 片段之序列存在於單鏈免疫球蛋白 Fc 區中。於本發明中，可能有各種類型之雜合體。亦即，該雜合體可能係由選自由 IgG Fc、IgM Fc、IgA Fc、IgE Fc 與 IgD Fc 之 CH1、CH2、CH3 與 CH4 之群組之 1 至 4 個功能域構成，及可包含絞鏈區。

【0050】 另一方面，IgG 亦可分類為 IgG1、IgG2、IgG3、與 IgG4 亞型，且於本發明中，其組合或雜交亦可能；較佳為 IgG2 與 IgG4 亞型；最佳為實質上不具例如補體依賴性細胞毒性(CDC)效應物功能之 IgG4 之 Fc 區。

【0051】 亦即，用於本發明藥物載劑之免疫球蛋白 Fc 區可為，例如，人類 IgG4 衍生之無醣基化 Fc 區，惟不受此限。人類衍生之 Fc 區優於非人類衍生之 Fc 區，後者會引起不為所欲之免疫反應，例如，於人體內會具抗原作用而產生新抗體。

【0052】 製備本發明長效 GLP-1/高血糖素受體雙促效劑之方法並無特別限制。舉例而言，製備方法之細節及其功效見述於，例如，韓國專利申請公告案第 10-2012-0139579 號中。

【0053】 使用長效 GLP-1/高血糖素受體雙促效劑具有巨大優點在於，由於增加血液半衰期與體內永續性，需要每日給藥的慢性病患之給藥次數可顯著減少，從而增進病患之生活品質。因此，於非酒精性脂肪肝疾病之治療上非常有幫助。

【0054】 本文所用之"非酒精性脂肝疾病"一詞係指無飲酒經歷或其發生與飲酒無關之脂肝病例。脂肝係指相較於正常量之三酸甘油酯，肝細胞中之三酸甘油酯異常蓄積之現象。正常肝臟約 5%係由脂肪組織構成，且脂肪主要成分為三酸甘油酯、脂肪酸、磷脂質、膽固醇、與膽固醇酯。然而，一旦發生脂肝，大部分成分被三酸甘油酯替換。若三酸甘油酯量超過肝臟重量之 5%，則被診斷為脂肝。脂肝是由肝細胞中之脂質代謝失調或運送過多脂肪過程中之缺陷引起，且主要係由肝臟中之脂質代謝失調導致。脂肝中蓄積之大部分脂肪可能係三酸甘油酯。非酒精性脂肝疾病包括非酒精性脂肪肝、非酒精性脂肪肝炎、肝硬化、肝癌等，惟欲以本發明組成物預防或治療之脂肝疾病不在此限。

【0055】 本文所用之"預防"一詞係指經由本發明組成物之給藥而預防或延緩非酒精性脂肝疾病之所有作用；"治療"係指減輕或正面改變非酒精性脂肝疾病症狀之所有作用。非酒精性脂肝疾病之治療可應用於可能經歷非酒精性脂肝疾病之任何哺乳動物，其實例不僅包括人類與靈長類動物類，亦包括，惟不限於，牛例如乳牛、豬、綿羊、馬、狗與貓；但較佳為人類。

【0056】 本文所用之"給藥"一詞係指利用適當方法引入預決定物質之量至病患。本發明之組成物可經由常見之任何途徑給藥，只要能到達期望之組織即可。舉例而言，其可為腹膜內、靜脈內、肌內、皮下、皮內、口服、局部、

鼻內、肺內、或直腸內給藥，惟不受此限。然而，由於口服給藥時，胜肽會被分解，因此應將口服給藥組成物之活性成分被覆(coat)或調配，以保護預防於胃中降解。較佳為，該組成物可呈注射劑形式給藥。此外，長效調配物可利用可將活性物質運送至標靶細胞之任何裝置給藥。

【0057】 本發明醫藥組成物之給藥劑量與頻率係根據活性成分類型，以及例如欲治療之疾病、給藥途徑、病患年齡、性別、與體重、及疾病嚴重性各種因素予以決定。

【0058】 本發明醫藥組成物可進一步包含醫藥上可接受之載劑、賦形劑、或稀釋劑。本文所用之"醫藥上可接受之載劑"一詞係指不刺激生物體及不抑制所投予化合物之生物活性或特性之載劑或稀釋劑。就口服給藥而言，載劑可包括黏合劑、潤滑劑、崩解劑、賦形劑、助溶劑、分散劑、安定劑、懸浮劑、著色劑、與調味劑。就注射用製劑而言，載劑可包括緩衝劑、保藏劑、止痛劑、助溶劑、等滲劑、安定劑等。就局部給藥製劑而言，載劑可包括基劑、賦形劑、潤滑劑、保藏劑等。

【0059】 本發明組成物可與前面述及之醫藥上可接受之載劑組合，調配為各種劑型。例如，就口服給藥而言，醫藥組成物可調配為錠劑、片劑、膠囊、酏劑、懸浮劑、糖漿或薄片。就注射用製劑而言，醫藥組成物可於安瓿中調配為單一劑型或多劑量容器。醫藥組成物亦可調配為溶液、懸浮劑、錠劑、丸劑、膠囊與長效製劑。

【0060】 另一方面，適用於醫藥調配物之載劑、賦

形劑、與稀釋劑之實例，包括乳糖、葡萄糖、蔗糖、山梨糖醇、甘露糖醇、木糖醇、赤藻糖醇、麥芽糖醇、澱粉、阿拉伯膠、褐藻酸、明膠、磷酸鈣、矽酸鈣、纖維素、甲基纖維素、微晶型纖維素、聚乙烯吡咯烷酮、水、羥苯甲酸甲酯、羥苯甲酸丙酯、滑石、硬脂酸鎂與礦物油。此外，醫藥調配物可進一步包含填充劑、抗凝聚劑、潤滑劑、潤濕劑、食用香料、與防腐劑。

【0061】 於另一態樣中，本發明提供用於預防或治療非酒精性肝病之方法，該方法包括給藥包含長效 GLP-1/高血糖素受體雙促效劑之組成物至處於高風險或罹患非酒精性肝病之不包括人類之對象之步驟。

【0062】 該組成物與非酒精性脂肝疾病之說明與上文相同。

[有利之功效]

【0063】 根據本發明之長效 GLP-1/高血糖素受體雙促效劑可經由擴大既有直至新穎之適用於非酒精性脂肝疾病之藥物種類而擴大病患之選擇；及經由顯著增加血液半衰期，增加病患之便利性。再者，本發明經由減少例如增重之副作用，提供可無危險地施用於罹患非酒精性脂肝疾病以外疾病之病患之新穎選擇。

【圖式簡單說明】

【0064】

第 1 圖係顯示含高脂、果糖與膽固醇之高反式脂肪飼料攝食量 ob/ob 小鼠模式中，長效 GLP-1/高血糖素受體雙

促效劑對於體重與肝臟重變化之圖形。

第 2 圖係顯示含高脂、果糖與膽固醇之高反式脂肪飼料攝食量 ob/ob 小鼠模式中，長效 GLP-1/高血糖素受體雙促效劑對於膠原蛋白-1a、TNF- α 、SREBP-1c 等之 mRNA 測量結果之圖形。

第 3 圖係顯示高反式脂肪飼料攝食 DIO 小鼠模式中，長效 GLP-1/高血糖素受體雙促效劑對於肝臟三酸甘油酯與血清膽固醇含量減少之圖形。

[最佳模式]

【0065】 下文中，將經由實施例更具細節地說明本發明。該等實施例僅擬說明本發明，本發明之範圍不被解釋為受限於該等實施例。

【實施方式】

【0066】

實施例 1

調酸素衍生物之合成

於實施例中，合成具下述胺基酸序列之調酸素衍生物(表 1)。

[表 1]

調酸素與調酸素衍生物

SEQ ID NO.	胺基酸序列
SEQ ID NO. 1	HSQGTFTSDYSKYLD SR RAQDFVQWLMNTKRNRRNNIA
SEQ ID NO. 2	CA-SQGTFTSDYSKYLD EE AVRLFIEWLMNTKRNRRNNIA
SEQ ID NO. 3	CA-SQGTFTSDYSKYLD ERR AQDFVAWLKNTGPSSGAPPPS
SEQ ID NO. 4	CA-GQGTFTSDYSRYL EEEE AVRLFIEWLKNGGPSSGAPPPS
SEQ ID NO. 5	CA-GQGTFTSDYSRQM EEEE AVRLFIEWLKNGGPSSGAPPPS
SEQ ID NO. 6	CA-GEGTFTSDLSRQM EEEE AVRLFIEWAAHSQGTFTSDYSKYLD
SEQ ID NO. 7	CA-SQGTFTSDYSRYLD EE AVRLFIEWLMNTK
SEQ ID NO. 8	CA-SQGTFTSDLSRQLE EE AVRLFIEWLMNK
SEQ ID NO. 9	CA-GQGTFTSDYSRYLD EE AVXLFIEWLMNTKRNRRNNIA
SEQ ID NO. 10	CA-SQGTFTSDYSRQM EEEE AVRLFIEWLMNGGPSSGAPPPSK
SEQ ID NO. 11	CA-GEGTFTSDLSRQM EEEE AVRLFIEWAAHSQGTFTSDYSRYLDK
SEQ ID NO. 12	CA-SQGTFTSDYSRYLDGGGHGEGTFTSDLSKQM EEEE AVK
SEQ ID NO. 13	CA-SQGTFTSDYSRYLDX E AVXLFIEWLMNTK
SEQ ID NO. 14	CA-GQGTFTSDYSRYLD EE AVXLFIXWLMNTKRNRRNNIA
SEQ ID NO. 15	CA-GQGTFTSDYSRYLD EE AVRLFIXWLMNTKRNRRNNIA
SEQ ID NO. 16	CA-SQGTFTSDLSRQLEGGCHSQGTFTSDLSRQLEK
SEQ ID NO. 17	CA-SQGTFTSDYSRYLD EE AVRLFIEWIRNTKRNRRNNIA
SEQ ID NO. 18	CA-SQGTFTSDYSRYLD EE AVRLFIEWIRNGGPSSGAPPPSK
SEQ ID NO. 19	CA-SQGTFTSDYSRYLD EE AVKLFIEWIRNTKRNRRNNIA
SEQ ID NO. 20	CA-SQGTFTSDYSRYLD EE AVKLFIEWIRNGGPSSGAPPPSK

SEQ ID NO. 21	CA-SQGTFTSDYSRQLEEEAVRLFIEWVRNTKRNRRNNIA
SEQ ID NO. 22	DA-SQGTFTSDYSKYLDEKRAKEFVQWLMNTK
SEQ ID NO. 23	HAibQGTFTSDYSKYLDEKRAKEFVCWLMNT
SEQ ID NO. 24	HAibQGTFTSDYSKYLDEKRAKEFVQWLMNTC
SEQ ID NO. 25	HAibQGTFTSDYSKYLDEKRAKEFVQWLMNTC
SEQ ID NO. 26	HAibQGTFTSDYSKYLDEKRAKEFVQWLMNTC
SEQ ID NO. 27	HAibQGTFTSDYSKYLDEQAAKEFICWLMNT
SEQ ID NO. 28	HAibQGTFTSDYSKYLDEKRAKEFVQWLMNT
SEQ ID NO. 29	H(d)SQGTFTSDYSKYLD SRRAQDFVQWLMNT KRNRRNNIA
SEQ ID NO. 30	CA-SQGTFTSDYSKYLD SRRAQDFVQWLMNT KRNRRNNIA
SEQ ID NO. 31	CA-(d)SQGTFTSDYSKYLD SRRAQDFVQWLMNT KRNRRNNIA
SEQ ID NO. 32	CA-AibQGTFTSDYSKYLDEKRAKEFVQWLMNTC
SEQ ID NO. 33	HAibQGTFTSDYAKYLDEKRAKEFVQWLMNTC
SEQ ID NO. 34	YAibQGTFTSDYSKYLDEKRAKEFVQWLMNTC

【0067】 表 1 中，呈粗體與劃底線之胺基酸代表形成環，以 X 代表之胺基酸意指非原態胺基酸， α -甲基麩胺酸。此外，CA 代表 4-咪唑乙醯基，DA 代表去胺基組胺醯基，Aib 代表胺基異丁酸，及 d(S)代表 d-絲胺酸。

【0068】 下文中，製備代表性長效 GLP-1/高血糖素受體雙促效劑，亦即，經由非肽基聚合物，PEG(聚乙二醇)，連接 Fc 至 GLP-1/高血糖素受體雙促效劑第 30 個胺基酸之長效 GLP-1/高血糖素受體雙促效劑，並於下文實施例 2 至 3 中使用。

【0069】

實施例 2

於含高脂、果糖與膽固醇之高反式脂肪飼料攝食 ob/ob

小鼠模式中，長效 GLP-1/高血糖素受體雙促效劑對非酒精性脂肝疾病功效之確認

【0070】 為了確認長效 GLP-1/高血糖素受體雙促效劑對非酒精性脂肝疾病之功效，乃採取含高脂(40%千卡)、果糖(22%)與膽固醇(2%)之高反式脂肪飲食(HTF 飲食)投予 ob/ob 小鼠模式 8 週，以製備非酒精性脂肝疾病之動物模式。然後，以 0.7 與 1.4 nmol/kg 之長效 GLP-1/高血糖素受體雙促效劑皮下投予小鼠，每兩天一次(Q2D)，重複給藥 4 週。於 4 週測試期間，與載劑處理組比較動物之重量。完成 4 週測試後，測量肝臟重量並進行比較。再者，完成 4 週測試後，針對纖維化標記之膠原蛋白-1a、促發炎標記 TNF- α 、與脂質生成標記 SREBP-1c 之諸 mRNA 進行確認。

【0071】 結果，給藥 4 週後之體重與肝臟重測量顯示，相較於載劑處理組，於長效 GLP-1/高血糖素受體雙促效劑中，重量顯著減少(第 1 圖)。此等結果暗示，本發明之長效 GLP-1/高血糖素受體雙促效劑可抑制發生於非酒精性脂肝疾病動物模式中之增重，及可減少習知藥物之副作用，改善胰島素抗性。

【0072】 再者，膠原蛋白-1a、TNF- α 、SREBP-1c 之 mRNA 之比較顯示，於長效 GLP-1/高血糖素受體雙促效劑處理組中，彼等 mRNA 顯著減少(第 2 圖)。此結果暗示，本發明之長效 GLP-1/高血糖素受體雙促效劑減少非酒精性脂肝疾病動物模式中之纖維化、促發炎等，並抑制脂肪生成，因而對非酒精性脂肝疾病之預防與治療具效力。

【0073】

實施例 3

於高反式脂肪飼料攝食 DI0 小鼠模式中，長效 GLP-1/高血糖素受體雙促效劑對非酒精性脂肪肝疾病功效之確認

【0074】 為了確認長效 GLP-1/高血糖素受體雙促效劑對非酒精性脂肪肝疾病之功效，乃投予正常小鼠模式 (C57BL/6) 60%高反式脂肪飲食 12 週，以製備非酒精性脂肪肝疾病之動物模式。然後，以 3nmol/kg 之長效 GLP-1/高血糖素受體雙促效劑皮下投予小鼠，每週一次(QW)，重複給藥 4 週。完成 4 週測試後，測量肝臟三酸甘油酯(肝臟 TG)與血清膽固醇。

【0075】 結果，給藥 4 週後之肝臟三酸甘油酯與血清膽固醇測量顯示，於給藥長效 GLP-1/高血糖素受體雙促效劑之情形下，相較於載劑處理組，彼等顯著減少；亦顯示彼等顯著減少至接受飼料飲食(chow diet)之正常動物值(第 3 圖)。此等結果暗示，於非酒精性脂肪肝疾病之動物模式中，本發明之長效 GLP-1/高血糖素受體雙促效劑可減少肝臟三酸甘油酯與血清膽固醇至正常動物值，因而對非酒精性脂肪肝疾病之預防與治療具效力。

【0076】 從以上說明，熟習發明所屬技術領域人士將察知，本發明可於不改變技術精神或必要特徵下，以其他特定形式具體化。就此而論，上文敘述之具體實例應被理解為係就各方面之說明而非限制。本發明之範疇應被解釋為係隨附專利申請之含義與範圍而非詳細說明，而且衍

生自對等觀念之所有變化或變異亦隸屬本發明範疇之內。

【符號說明】

無。

【序列表】

<110>韓美藥品股份有限公司

<120>長效 GLP-1/高血糖素受體雙促效劑治療非酒精性脂肪肝疾病之用途

<140> 104130263

<141> 2015-09-14

<150> PCT/KR2015/009753

<151> 2015-09-16

<150> KR 10-2014-0122862

<151> 2014-09-16

<160> 34

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 37

<212> PRT

<213>智人

<220>

<223> 調酸素

<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 Lys Arg Asn
20 25 30

Arg Asn Asn Ile Ala
35

<210> 2
<211> 37
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列敘述：合成之
調酸素衍生物

<220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
<223> 4-咪唑基乙醯基

<400> 2
Xaa Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Met Asn Thr Lys Arg Asn
20 25 30

Arg Asn Asn Ile Ala
35

<210> 3
<211> 39
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列敘述：合成之
調酸素衍生物

<220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
<223> 4-咪唑基乙醯基

<400> 3
Xaa Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu
1 5 10 15

Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Ala Trp Leu Lys Asn Thr Gly Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser
35

<210> 4
<211> 39
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列敘述：合成之
調酸素衍生物

<220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
<223> 4-咪唑基乙醯基

<400> 4
Xaa Gly Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Arg Tyr Leu Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser
35

<210> 5
<211> 39
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列敘述：合成之
調酸素衍生物

<220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
<223> 4-咪唑基乙醯基

<400> 5
Xaa Gly Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Arg Gln Met Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser

<210> 6
<211> 42
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列敘述：合成之
調酸素衍生物

<220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
<223> 4-咪唑基乙醯基

<400> 6
Xaa Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Arg Gln Met Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Ala Ala His Ser Gln Gly Thr
20 25 30

Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp
35 40

<210> 7
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列敘述：合成之

調酸素衍生物

<220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
<223> 4-咪唑基乙醯基

<400> 7
Xaa Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Arg Tyr Leu Asp Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Met Asn Thr Lys
20 25 30

<210> 8
<211> 29
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列敘述：合成之
調酸素衍生物

<220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
<223> 4-咪唑基乙醯基

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

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Met Asn Lys

20 25

<210> 9
<211> 37
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列敘述：合成之
調酸素衍生物

<220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
<223> 4-咪唑基乙醯基

<220>
<221> MOD_RES
<222> (20)..(20)
<223> α -甲基-麩胺酸

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

Glu Ala Val Xaa Leu Phe Ile Glu Trp Leu Met Asn Thr Lys Arg Asn
20 25 30

Arg Asn Asn Ile Ala
35

<210> 10
<211> 40

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列敘述：合成之
調酸素衍生物

<220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
<223> 4-咪唑基乙醯基

<400> 10
Xaa Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Arg Gln Met Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Met Asn Gly Gly Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Lys
35 40

<210> 11
<211> 43
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列敘述：合成之
調酸素衍生物

<220>
<221> MOD_RES

$\langle 222 \rangle \quad (1) \dots (1)$

<223> 4-咪唑基乙酯基

<400> 11

Xaa Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Arg Gln Met Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Ala Ala His Ser Gln Gly Thr
20 25 30

Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Arg Tyr Leu Asp Lys
35 40

<210> 12

<211> 38

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列敘述：合成之
調酸素衍生物

 $\langle 220 \rangle$

<221> MOD_RES

 $\langle 222 \rangle \quad (1) \dots (1)$

<223> 4-咪唑基乙醯基

<400> 12

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

Gly Gly His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met
20 25 30

Glu Glu Glu Ala Val Lys
35

<210> 13
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列敘述：合成之
調酸素衍生物

<220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
<223> 4-咪唑基乙醯基

<220>
<221> MOD_RES
<222> (16)..(16)
<223> α -甲基-麩胺酸

<220>
<221> MOD_RES
<222> (20)..(20)
<223> α -甲基-麩胺酸

<400> 13
Xaa Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Arg Tyr Leu Asp Xaa
1 5 10 15

Glu Ala Val Xaa Leu Phe Ile Glu Trp Leu Met Asn Thr Lys
20 25 30

<210> 14

<211> 37

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列敘述：合成之
調酸素衍生物

 $\langle 220 \rangle$

<221> MOD_RES

 $\langle 222 \rangle \quad (1) \dots (1)$

<223> 4-咪唑基乙醯基

 $\langle 220 \rangle$

<221> MOD_RES

 $\langle 222 \rangle \quad (20) \dots (20)$

<223> α - 甲基 - 麩胺酸

 $\langle 220 \rangle$

<221> MOD_RES

$$\langle 222 \rangle \quad (24) \dots (24)$$

<223> α -甲基-麩胺酸

<400> 14

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

Glu Ala Val Xaa Leu Phe Ile Xaa Trp Leu Met Asn Thr Lys Arg Asn
20 25 30

Arg Asn Asn Ile Ala
35

<210> 15
<211> 37
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列敘述：合成之
調酸素衍生物

<220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
<223> 4-咪唑基乙醯基

<220>
<221> MOD_RES
<222> (24)..(24)
<223> α -甲基-麩胺酸

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

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Xaa Trp Leu Met Asn Thr Lys Arg Asn
20 25 30

Arg Asn Asn Ile Ala
35

<210> 16
<211> 34
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列敘述：合成之
調酸素衍生物

<220>

<221> MOD_RES

<222> (1)..(1)

<223> 4-咪唑基乙醯基

<400> 16

Xaa	Ser	Gln	Gly	Thr	Phe	Thr	Ser	Asp	Leu	Ser	Arg	Gln	Leu	Glu	Gly
1				5					10					15	

Gly	Gly	His	Ser	Gln	Gly	Thr	Phe	Thr	Ser	Asp	Leu	Ser	Arg	Gln	Leu
			20					25					30		

Glu Lys

<210> 17

<211> 37

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列敘述：合成之
調酸素衍生物

<220>

<221> MOD_RES

<222> (1)..(1)

<223> 4-咪唑基乙醯基

<400> 17

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

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Ile Arg Asn Thr Lys Arg Asn
20 25 30

Arg Asn Asn Ile Ala
35

<210> 18

<211> 40

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列敘述：合成之
調酸素衍生物

<220>

<221> MOD_RES

<222> (1)..(1)

<223> 4-咪唑基乙醯基

<400> 18

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

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Ile Arg Asn Gly Gly Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Lys
35 40

<210> 19
<211> 37
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列敘述：合成之
調酸素衍生物

<220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
<223> 4-咪唑基乙醯基

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (16)..(20)
<223> 殘基之間的環形成

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

Glu Ala Val Lys Leu Phe Ile Glu Trp Ile Arg Asn Thr Lys Arg Asn
20 25 30

Arg Asn Asn Ile Ala
35

<210> 20
<211> 40
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列敘述：合成之
調酸素衍生物

<220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
<223> 4-咪唑基乙醯基

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (16)..(20)
<223> 殘基之間的環形成

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

Glu Ala Val Lys Leu Phe Ile Glu Trp Ile Arg Asn Gly Gly Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Lys
35 40

<210> 21
<211> 37
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列敘述：合成之
調酸素衍生物

<220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
<223> 4-咪唑基乙醯基

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

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Val Arg Asn Thr Lys Arg Asn
20 25 30

Arg Asn Asn Ile Ala
35

<210> 22
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列敘述：合成之
調酸素衍生物

<220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
<223> 去胺基組胺醯基

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (16)..(20)
<223> 殘基之間的環形成

<400> 22
Xaa Ser 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 Lys
20 25 30

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

<220>
<223> 人工序列敘述：合成之
調酸素衍生物

<220>
<221> MOD_RES
<222> (2)..(2)
<223> 胺基異丁酸

<400> 23
His 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 Cys Trp Leu Met Asn Thr
20 25

<210> 24
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列敘述：合成之
調酸素衍生物

<220>
<221> MOD_RES
<222> (2)..(2)
<223> 胺基異丁酸

<400> 24
His 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> 25
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列敘述：合成之
調酸素衍生物

<220>
<221> MOD_RES
<222> (2)..(2)
<223> 胺基異丁酸

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (16)..(20)
<223> 殘基之間的環形成

<400> 25
His 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> 26
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列敘述：合成之
調酸素衍生物

<220>
<221> MOD_RES
<222> (2)..(2)
<223> 胺基異丁酸

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (12)..(16)
<223> 殘基之間的環形成

<400> 26
His 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> 27
<211> 29
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列敘述：合成之
調酸素衍生物

<220>
<221> MOD_RES
<222> (2)..(2)
<223> 胺基異丁酸

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (16)..(20)
<223> 殘基之間的環形成

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

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

<210> 28
<211> 29
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列敘述：合成之
調酸素衍生物

<220>

<221> MOD_RES

<222> (2)..(2)

<223> 胺基異丁酸

<400> 28

His	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
			20					25				

<210> 29

<211> 37

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列敘述：合成之
調酸素衍生物

<220>

<221> MOD_RES

<222> (2)..(2)

<223> D-Ser

<400> 29

His	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 Lys Arg Asn
20 25 30

Arg Asn Asn Ile Ala
35

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

<220>
<223> 人工序列敘述：合成之
調酸素衍生物

<220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
<223> 4-咪唑基乙醯基

<400> 30

Xaa 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 Lys Arg Asn
20 25 30

Arg Asn Asn Ile Ala
35

<210> 31
<211> 37
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列敘述：合成之
調酸素衍生物

<220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
<223> 4-咪唑基乙醯基

<220>
<221> MOD_RES
<222> (2)..(2)
<223> D-Ser

<400> 31
Xaa 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 Lys Arg Asn
20 25 30

Arg Asn Asn Ile Ala
35

<210> 32
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列敘述：合成之
調酸素衍生物

<220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
<223> 4-咪唑基乙醯基

<220>
<221> MOD_RES
<222> (2)..(2)
<223> 胺基異丁酸

<400> 32
Xaa 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> 33
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列敘述：合成之
調酸素衍生物

<220>
<221> MOD_RES
<222> (2)..(2)

<223> 胺基異丁酸

<400> 33

His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ala 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> 34

<211> 30

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列敘述：合成之
調酸素衍生物

<220>

<221> MOD_RES

<222> (2)..(2)

<223> 胺基異丁酸

<400> 34

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

申請專利範圍

1. 一種醫藥組成物於製備用於預防或治療非酒精性脂肪肝疾病之藥劑之用途，該醫藥組成物包含長效高血糖素樣肽-1 (GLP-1)/高血糖素受體雙促效劑共軛體，

其中，該長效高血糖素樣肽-1 (GLP-1)/高血糖素受體雙促效劑共軛體包含：

長效高血糖素樣肽-1 (GLP-1)/高血糖素受體雙促效劑，其包含 SEQ ID NO：27 或 28 所示之胺基酸序列；

免疫球蛋白 Fc 區；以及

非肽基聚合物，其中，該非肽基聚合物共價連接於該長效高血糖素樣肽-1 (GLP-1)/高血糖素受體雙促效劑和該免疫球蛋白 Fc 區，

其中，該非酒精性脂肪肝疾病選自由非酒精性脂肪肝炎、肝硬化及肝癌所組成之群組；以及

其中，該組成物執行至少一項下述特徵：

a) 降低為纖維化標記之膠原蛋白-1a 的表現或活性；以及

b) 降低腫瘤壞死因子- α (TNF- α)之表現或活性，其為促發炎標記。

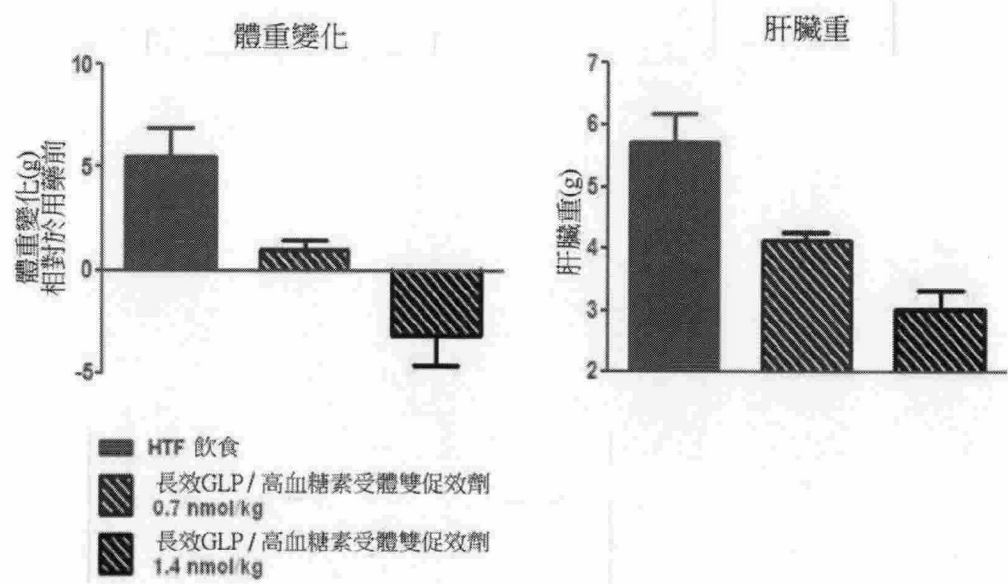
2. 如申請專利範圍第 1 項所述之用途，其中，該組成物之特徵在於不具增重之副作用或減少增重之副作用。
3. 如申請專利範圍第 1 項所述之用途，其中該組成物進一步執行至少一項下述特徵：

- c) 降低為脂質生成標記之固醇調節元件結合蛋白-1c(SREBP-1c)之表現或活性；
 - d) 降低肝臟三酸甘油酯；及
 - e) 降低血膽固醇。
4. 如申請專利範圍第 1 項所述之用途，其中，該長效高血糖素樣肽-1(GLP-1)/高血糖素受體雙促效劑同時活化 GLP-1 受體與高血糖素受體。
 5. 如申請專利範圍第 1 項所述之用途，其中，該非肽基聚合物係選自由聚乙二醇、聚丙二醇、乙二醇-丙二醇共聚物、聚氧乙基化多元醇、聚乙烯醇、多醣、葡聚糖、聚乙烯乙醚、生物可降解聚合物、脂質聚合物、幾丁質、玻尿酸、及其組合所組成之群組。
 6. 如申請專利範圍第 5 項所述之用途，其中，該免疫球蛋白 Fc 區係無醮基化。
 7. 如申請專利範圍第 6 項所述之用途，其中，該免疫球蛋白 Fc 區包含選自由 CH1、CH2、CH3、與 CH4 功能域所組成之群組之一至四個功能域。
 8. 如申請專利範圍第 7 項所述之用途，其中，該免疫球蛋白 Fc 區進一步包含絞鏈區。
 9. 如申請專利範圍第 5 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、與 IgM 所組成之群組之免疫球蛋白之 Fc 區。
 10. 如申請專利範圍第 9 項所述之用途，其中，該免疫球蛋白

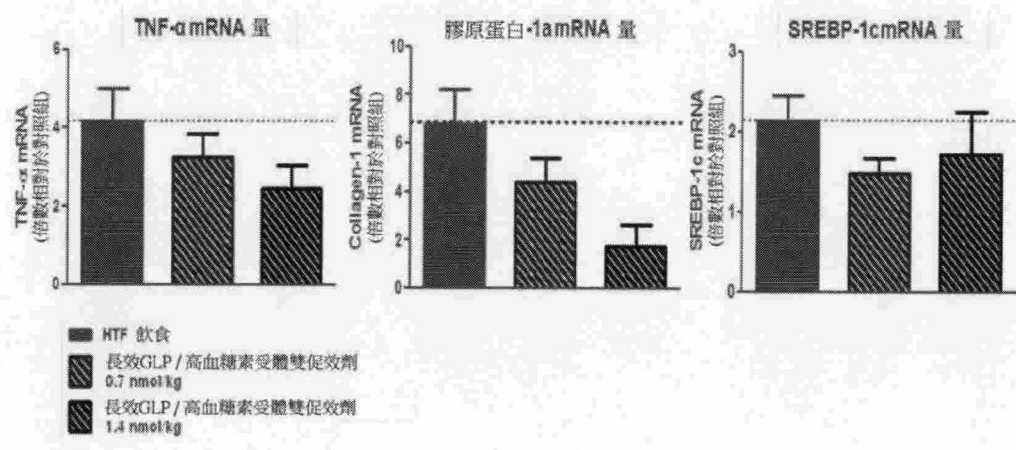
白 Fc 區上之各功能域為具有選自由 IgG、IgA、IgD、IgE、與 IgM 所組成之群組之不同來源之功能域之雜合體。

11. 如申請專利範圍第 9 項所述之用途，其中，該免疫球蛋白 Fc 區係由單鏈免疫球蛋白所組成之二聚體或聚合物，該單鏈免疫球蛋白係由具有相同來源之功能域所組成。
12. 如申請專利範圍第 1 項所述之用途，其中，該組成物進一步包含醫藥上可接受之載劑。
13. 如申請專利範圍第 1 項所述之用途，其中，該非肽基聚合物為 PEG。

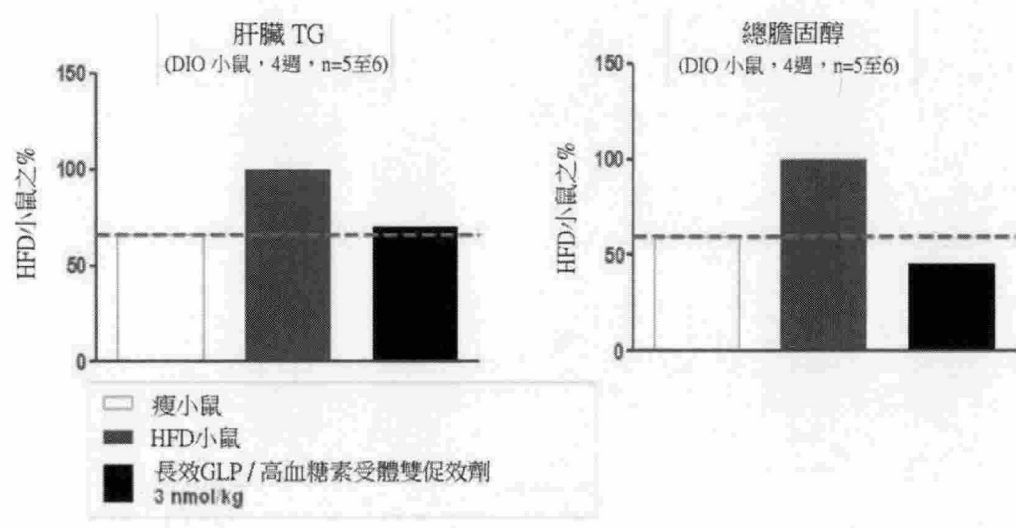
圖式



第1圖



第2圖



第3圖