



(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 I816739 B

(45)公告日：中華民國 112 (2023) 年 10 月 01 日

(21)申請案號：108101828

(22)申請日：中華民國 102 (2013) 年 11 月 06 日

(51)Int. Cl. : A61K9/08 (2006.01)

A61K38/22 (2006.01)

A61K47/68 (2017.01)

A61K47/60 (2017.01)

(30)優先權：2012/11/06 南韓

10-2012-0124725

(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：金賢煜 KIM, HYUN UK (KR)；林亨奎 LIM, HYUNG KYU (KR)；張明賢 JANG, MYUNG HYUN (KR)；金尚允 KIM, SANG YUN (KR)；裴城敏 BAE, SUNG MIN (KR)；權世昌 KWON, SE CHANG (KR)

(74)代理人：洪武雄；陳昭誠

(56)參考文獻：

KR 20120043208A

WO 2010108153A2

審查人員：簡正芳

申請專利範圍項數：23 項 圖式數：8 共 126 頁

(54)名稱

包含調酸素及免疫球蛋白片段之蛋白質接合物的液態製劑

(57)摘要

本發明係有關不含白蛋白之液態製劑，其包含長效型調酸素接合物，其中包含調酸素之衍生物、變異體、前體或片段之調酸素胜肽係連接於免疫球蛋白 Fc 區，相較於天然調酸素，可增加該長效型調酸素接合物生理活性之持續時間及長時期維持其體內穩定性；以及製備該液態製劑之方法。該液態製劑包含緩衝劑、糖醇與非離子性界面活性劑，不含人血清白蛋白及潛在有害人體之因子，因此不易遭病毒感染。此外，本發明之調酸素接合物包含連接於免疫球蛋白 Fc 區之調酸素，因此，相較於天然調酸素，具有較大之分子量、延長之生理活性、及優異之貯存穩定性。

The present invention relates to an albumin-free liquid formulation comprising a long-lasting oxyntomodulin conjugate in which an oxyntomodulin peptide comprising a derivative, variant, precursor or fragment of oxyntomodulin is linked to an immunoglobulin Fc region, which can increase the duration of physiological activity of the long-lasting oxyntomodulin conjugate and maintain the in vivo stability thereof for an extended period of time, as compared to native oxyntomodulin, as well as a method for preparing the liquid formulation. The liquid formulation comprises a buffer, a sugar alcohol and a nonionic surfactant and does not contain a human serum albumin and factors that are potentially harmful to the human body, and thus is not susceptible to viral infection. In addition, the oxyntomodulin conjugate of the invention comprises oxyntomodulin linked to an immunoglobulin Fc region, and thus has a large molecular weight, prolonged physiological activity, and excellent storage stability, compared to native oxyntomodulin.

發明摘要

【發明名稱】(中文/英文)

包含調酸素及免疫球蛋白片段之蛋白質接合物的液態製劑

LIQUID FORMULATION OF PROTEIN CONJUGATE
COMPRISING THE OXYNTOMODULIN AND AN
IMMUNOGLOBULIN FRAGMENT

【中文】

本發明係有關不含白蛋白之液態製劑，其包含長效型調酸素接合物，其中包含調酸素之衍生物、變異體、前體或片段之調酸素胜肽係連接於免疫球蛋白 Fc 區，相較於天然調酸素，可增加該長效型調酸素接合物生理活性之持續時間及長時期維持其體內穩定性；以及製備該液態製劑之方法。該液態製劑包含緩衝劑、糖醇與非離子性界面活性劑，不含人血清白蛋白及潛在有害人體之因子，因此不易遭病毒感染。此外，本發明之調酸素接合物包含連接於免疫球蛋白 Fc 區之調酸素，因此，相較於天然調酸素，具有較大之分子量、延長之生理活性、及優異之貯存穩定性。

【英文】

The present invention relates to an albumin-free liquid formulation comprising a long-lasting oxyntomodulin conjugate in which an oxyntomodulin peptide comprising a derivative, variant, precursor or fragment of oxyntomodulin is linked to an immunoglobulin Fc region, which can increase the duration of physiological activity of the long-lasting oxyntomodulin conjugate and maintain the *in vivo* stability thereof for an extended period of time, as compared to native oxyntomodulin, as well as a method for preparing the liquid formulation. The liquid formulation comprises a buffer, a sugar alcohol and a nonionic surfactant and does not contain a human serum albumin and factors that are potentially harmful to the human body, and thus is not susceptible to viral infection. In addition, the oxyntomodulin conjugate of the invention comprises oxyntomodulin linked to an immunoglobulin Fc region, and thus has a large molecular weight, prolonged physiological activity, and excellent storage stability, compared to native oxyntomodulin.

【代表圖】

【本案指定代表圖】：本案無指定代表圖。

【本代表圖之符號簡單說明】：無。

由於本案的圖為實驗的曲線圖，並非本案的代表圖。
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】：

本案無代表之化學式。

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)

包含調酸素及免疫球蛋白片段之蛋白質接合物的液態製劑

LIQUID FORMULATION OF PROTEIN CONJUGATE
COMPRISING THE OXYNTOMODULIN AND AN
IMMUNOGLOBULIN FRAGMENT

【技術領域】

【0001】 本發明係有關不含白蛋白之液態製劑，其包含長效型(long-lasting)調酸素接合物，其中包含調酸素之衍生物、變異體、前體或片段之調酸素胜肽連接於免疫球蛋白 Fc 區，相較於天然(native)調酸素，可增加該長效型調酸素接合物生理活性之持續時間及長時期維持其活體內穩定性。本發明亦有關製備該液態製劑之方法。

【先前技術】

【0002】 肥胖症被界定為可能損害健康之異常或過量脂肪蓄積之症狀，係由於能量攝取超過能量消耗之能量不平衡而產生。以往，肥胖症並非嚴重之健康問題，惟隨著經濟成長，肥胖人口隨著經濟富裕之增長而日益增加，與肥胖症相關的各種疾病人數亦越來越多。根據世界衛生組織(WHO)報告，全世界超過 15 億成年人過重，其中超過 5 億人肥胖，於 1980 與 2008 年之間，肥胖症人口增加約兩倍(World Health Organization, Fact sheet on obesity and

overweight, 2011)。不僅於高所得國家，於低所得國家，肥胖人口比例也正在增加。過重與肥胖症為血壓與膽固醇量升高之原因，並引起或導致各種疾病惡化。此外，肥胖症問題於兒童或青少年更為嚴重，提高糖尿病、心臟疾病、高血壓或高脂血症之發生率，也會導致死亡或能力喪失。

【0003】 如上述，肥胖症為全球性疾病及社會問題，惟以往一般相信肥胖症可經由個人努力予以克服，因此並未特別重視肥胖症之治療。然而，由於肥胖症係與食慾控制及能量代謝等機制相關之複雜疾病，不容易治療。因此，肥胖症之治療不僅需要病患自己努力，亦要有能處理與食慾控制及能量代謝相關之機制異常之方法。因此，業界一直致力於開發治療肥胖症之藥物。

【0004】 如此努力之結果，已開發包括利莫那班(Rimonabant, Sanofi-Aventis)、西布曲明(Sibutramine, 亞培(Abbott))、Contrave(武田(Takeda))、奧利司他(Orlistat, 羅氏(Roche))等藥物；惟該等藥物具有顯現胎兒副作用或對治療肥胖症效果不充分之缺點。據報導，給藥一年後，利莫那班(Sanofi-Aventis)顯現中樞神經系統疾患，西布曲明(Abbott)與 Contrave (Takeda)顯現心血管副作用，及奧利司他(Roche)顯現僅約 4 公斤之減重效果。因此，目前很少或幾乎沒有可安全開處方給肥胖症病患使用之肥胖症治療劑。

【0005】 近來，升糖素衍生物已備受關注。升糖素係因藥物治療、疾病、激素或酵素缺乏等，使血糖值(blood

glucose levels)開始下降時，由胰臟產生。升糖素具有刺激肝臟細胞分解貯存之肝醣成為葡萄糖，然後釋放到血液中，以提高血糖值至正常量之功能。除了提高血糖值之作用外，據報導升糖素可壓制食慾及活化脂肪細胞之激素敏感性脂酶(HSL)，促進脂質分解，從而顯現抗肥胖症效果。於升糖素衍生物中，正開發升糖素樣肽-1 (GLP-1)作為用於降低糖尿病患高血糖之治療劑，有效用於刺激胰島素之合成與分泌、抑制升糖素分泌、壓制胃排空、增強葡萄糖利用及抑制攝食量；已知從蜥蜴毒液單離之艾塞那肽-4 (exendin-4)具有與 GLP-1 約 50%之胺基酸同源性，其於糖尿病患中活化 GLP-1 受體以降低高血糖。然而，據報導，包括 GLP-1 之肥胖症治療藥物會引起例如嘔吐與噁心之副作用。

【0006】 因此，作為 GLP-1 之替代物，能與兩種胜肽(GLP-1 與升糖素)之受體結合之調酸素正受到關注。調酸素係自前升糖素(升糖素前體)製得之胜肽，由於其像 GLP-1 一樣，可抑制攝食量、促進飽足感，又像升糖素一樣，顯現解脂活性，因此為強效之抗肥胖症劑。

【0007】 基於調酸素胜肽之雙重功能，治療肥胖症藥物之開發研究已積極進行。例如，韓國專利註冊案 No.925017 揭示一種用於治療人類肥胖症之口服、非經腸、經黏膜、直腸、皮下或經皮之醫藥組成物，其包含調酸素作為活性成分。然而，據報導，包含調酸素之肥胖症治療劑，其活體內半衰期短，即使於一天投予三次之高劑量下，

對治療肥胖症亦顯現低效果。因此，業界致力於藉由修飾調酸素以增加調酸素之活體內半衰期或肥胖症治療效力。

【0008】 舉例而言，藉由以 D-絲胺酸置換調酸素位置 2 胺基酸之 L-絲胺酸，增加對二肽基肽酶-IV (DPP-IV) 之抗性，及藉由使膽固醇基團依附於 C 端而增長血液半衰期，而得到雙重促效劑調酸素(Merck)；藉由以 D-絲胺酸置換調酸素位置 2 胺基酸之 L-絲胺酸增加對 DPP-IV 之抗性、以丙胺酸置換位置 17 胺基酸之精胺酸增加對蛋白酶之抗性、以離胺酸置換位置 27 胺基酸之甲硫胺酸增加氧化穩定性、及分別以天冬胺酸、丙胺酸與絲胺酸置換位置 20 與 24 胺基酸之麩醯胺酸及位置 28 胺基酸之天冬醯胺增加脫醯胺化穩定性而得到 ZP2929 (Zealand)。該雙重促效劑調酸素(Merck)具增長之 1.7 小時活體內半衰期，雖較天然調酸素之半衰期(8 至 12 分鐘)長，惟仍為非常短之活體內半衰期，而以每公斤數毫克之極高劑量投予。因此，調酸素或其衍生物具有兩大缺點，亦即，半衰期短及醫藥效力低；由於該等缺點而必須每天以高劑量投予。為了克服該等缺點，乃研究增長調酸素之血液半衰期，同時維持其活體內活性之方法，結果開發出調酸素衍生物。此外，使用此技術，將載劑接合於該調酸素衍生物而製備非肽基聚合物，發現由於增長其血液半衰期同時維持活體內活性，因此該蛋白質接合物可顯現較佳之抗肥胖症效力(韓國專利申請案 No. 10-2012-0064110)。

【0009】 通常，蛋白質及胜肽具有非常短之半衰期，

於暴露於例如不適宜溫度、水空氣界面、高壓、物理/機械應力、有機溶劑與微生物污染等各種因素下，會進行變性例如單體聚集而沈澱、吸附於容器表面等。此變性作用不可逆，因此變性之蛋白質及胜肽喪失固有物理化學特性及生理活性效應。此外，蛋白質及胜肽不穩定且容易受例如溫度、濕度、氧、紫外線等外在因素影響而進行包括結合、聚合或氧化之物理或化學變化，導致活性大量喪失(韓國專利註冊案 No. 10-0389726)。

【0010】 再者，經吸附之蛋白質及胜肽容易藉由變性過程聚集，該變性蛋白質及胜肽投予人體時，即成為於人體中形成抗體之起因；基於此，蛋白質及胜肽必須以足夠穩定之形式投予。因此，防止蛋白質及胜肽於溶液中變性之各種方法已被研究(John Geigert, J. Parenteral Sci. Tech., 43, No5, 220-224, 1989；David Wong, Pharm. Tech. October, 34-48, 1997；Wei Wang., Int. J. Pharm., 185, 129-188, 1999；Willem Norde, Adv. Colloid Interface Sci., 25, 267-340, 1986；Michelle et al., Int. J. Pharm. 120, 179-188, 1995)。

【0011】 欲達到穩定性目標，應用冷凍乾燥於若干蛋白質及胜肽藥物。然而，使用凍乾產品時，必須再溶解於注射用水中，並不方便。此外，於冷凍乾燥情況下，由於生產程序中包括冷凍乾燥過程，因此需要大容量冷凍乾燥機或類似設備之大量投資。再者，使用噴霧乾燥機生產粉末狀蛋白質及胜肽之方法亦正被使用中，惟於此情況下，

由於收率低導致經濟效率下降，且暴露於高溫對蛋白質穩定性會有不利影響。

【0012】 為了克服此類限制，業界已進行研究，將安定劑添加於蛋白質及胜肽溶液中，以壓制蛋白質及胜肽之物理化學變化，同時即使長期貯存，仍可維持其活體內效應。人血清白蛋白，其為一種蛋白質，已被廣泛使用作為各種蛋白質藥物之安定劑，且其成果已被證實(Edward Tarelli et al., *Biologicals* (1998) 26, 331-346)。

【0013】 純化人血清白蛋白之程序包括鈍化例如黴漿菌、普利昂(prion)、細菌與病毒等生物污染物，及篩選或檢驗一或多種生物污染物或病原體。然而，病患將被暴露於未完全移除或鈍化之生物污染物中之風險總是存在。舉例而言，篩選程序包括檢驗捐贈者之血液是否含有特定病毒，惟此程序並不一定可靠。特別是，無法檢測出存在極少數捐贈者中之特定病毒。

【0014】 貯存期間，不同條件下，由於化學差異性，不同蛋白質可能以不同速率逐漸失活。亦即，就不同蛋白質而言，藉由安定劑延伸之貯存期限並不相同。基於此，用於提供貯存穩定性之安定劑之適當比例、濃度與種類，將視標的蛋白質之物理化學特性而定。組合使用安定劑時，由於彼此間之競爭與相互作用，可能導致與預期效果不同之不利作用。再者，由於貯存期間蛋白質之性質或濃度可能改變，所用安定劑可能顯現與預期不同之效應。因此，使溶液中之蛋白質穩定需要大量之努力與警惕。

【0015】 詳言之，調酸素與免疫球蛋白 Fc 之接合物，係由生理活性肽之調酸素連接於免疫球蛋白 Fc 區而成之接合物。由於接合物之分子量與容量必定與天然調酸素者不同，所以欲穩定蛋白質，需要獨特之組成物。

【0016】 再者，由於調酸素(即生理活性肽)及免疫球蛋白 Fc 區係具不同物理化學特性之胜肽或蛋白質，應同時被穩定。然而，如上述，貯存期間，不同條件下，由於化學差異性，不同胜肽或蛋白質可能以不同速率逐漸失活；及組合使用適於蛋白質或胜肽之安定劑時，由於彼此間之競爭與相互作用，可能導致與預期效果不同之不利作用。因此，於長效型調酸素接合物之情況下，非常難以找到同時穩定生理活性肽之調酸素及免疫球蛋白 Fc 區之組成物。

【0017】 於此情況下，本發明人等進行廣泛努力以提供可長時期貯存而不擔心病毒污染之穩定液態製劑，結果已發現包含緩衝劑、糖醇與非離子性界面活性劑，並可進一步包含例如等滲劑或胺基酸之添加劑及防腐劑之可重覆使用的安定劑，可增加長效型調酸素衍生物之穩定性，使用該安定劑可製備具成本效益且穩定之液態製劑，從而完成本發明。

【發明內容】

[欲解決之問題]

【0018】 本發明之目的在於提供長效型調酸素接合物之液態製劑，其包含藥理有效量之長效型調酸素接合物，

其中為生理活性肽之調酸素係連接於免疫球蛋白 Fc 區；與不含白蛋白之安定劑。

【0019】 本發明之另一目的在於提供製備上述液態製劑之方法。

【0020】 本發明之又另一目的在於提供預防或治療肥胖症或糖尿病之組成物，其包含含有連接於免疫球蛋白 Fc 區之生理活性肽調酸素之液態調酸素接合物製劑。

【0021】 本發明之又另一目的在於提供預防或治療肥胖症或糖尿病之方法，該方法包括投予患者上述液態製劑。

[解決方案]

【0022】 欲達上述目的，於一態樣中，本發明提供長效型調酸素接合物之液態製劑，其包含藥理有效量之長效型調酸素接合物，其中為生理活性肽之調酸素係連接於免疫球蛋白 Fc 區；與不含白蛋白之安定劑，其中該安定劑含有緩衝劑、糖醇與非離子性界面活性劑。

【0023】 本文所用之“液態製劑”一詞係指加工成為液態形式之藥物製劑，並擬包括所有供內服之液態製劑與供外用之製劑。於先前技術中，包含連接於免疫球蛋白 Fc 功能區的調酸素之適用於藥理有效量調酸素接合物之本發明液態製劑並未見報導。因此，本發明液態製劑可包含藥理有效量之包含調酸素連接於免疫球蛋白 Fc 功能區的調酸素接合物，與不含白蛋白之安定劑，其中該安定劑含有緩衝劑、糖醇與非離子性界面活性劑。此外，本發明之液

態製劑可進一步包含防腐劑。

【0024】 於本發明中，安定劑可進一步包含選自包括等滲劑、糖類、多元醇、與胺基酸之組群之一或多種成分。糖醇可為選自包括甘露糖醇、山梨糖醇與甘油之組群之一或多者，於液態製劑中之糖醇濃度可為 2 至 15% (w/v)。再者，緩衝劑可為選自包括檸檬酸鹽、乙酸鹽、組胺酸與磷酸鹽緩衝劑之組群之一或多者，及可具有範圍從 4.5 至 7.0 之 pH。等滲劑可為氯化鈉，非離子性界面活性劑可為聚山梨醇酯或泊洛沙姆(poloxamer)及可以 0.001 至 0.1% (w/v)之濃度存在。胺基酸可為甲硫胺酸。因此，本發明液態製劑可包含安定劑，其含有 pH 範圍從 4.8 至 6.0 之緩衝劑、選自包括甘露糖醇與山梨糖醇之組群之一或多種糖醇、與聚山梨醇酯 20。

【0025】 此外，本發明液態製劑可進一步包含選自包括間甲酚、酚(phenol)與苧醇之組群之一或多種防腐劑。於液態製劑中之防腐劑濃度可為 0.001 至 1% (w/v)。

【0026】 詳言之，本發明液態製劑可包含藥理有效量之長效型調酸素接合物、5 至 50 mM 組胺酸、2 至 15% (w/v)之甘露糖醇、0.01 至 1 mg/mL 之甲硫胺酸與 0.001 至 0.1% (w/v)之聚山梨醇酯 20。除了該等成分之外，液態製劑可進一步包含 0.001 至 1% (w/v)之間甲酚。

【0027】 本文所用之“安定劑”一詞係指可穩定地維持成分，例如活性成分，達一特定期間之物質。就本發明之目的而言，該術語係指能使長效型調酸素接合物被穩定

貯存之物質。例如長效型調酸素接合物之蛋白質之貯存穩定性，重要的是不僅要保證精確劑量，亦要抑制調酸素衍生物接合物之抗原性物質產生之可能。

【0028】 本發明中之安定劑較佳為包含緩衝劑、糖醇與非離子性界面活性劑，以賦予長效型調酸素接合物穩定性。此外，安定劑較佳為可進一步包含選自包括等滲劑、糖類、多元醇與胺基酸之組群之一或多種成分。

【0029】 緩衝劑具有維持液態製劑 pH 之功能，使液態製劑之 pH 不會急遽變化，俾使長效型調酸素接合物穩定。緩衝劑之實例可包括醫藥上可接受之 pH 緩衝劑，包括鹼金屬鹽(磷酸鈉、磷酸鉀、或其等之氫或二氫鹽)、檸檬酸鈉、檸檬酸、乙酸鈉、與組胺酸，或亦可使用該等緩衝劑之混合物。緩衝劑較佳為檸檬酸鹽或組胺酸緩衝劑，更佳為組胺酸緩衝劑。緩衝劑之濃度較佳為 5 至 100 mM，更佳為 5 至 50 mM。緩衝劑之 pH 較佳為 4.0 至 8.0，更佳為 4.5 至 7.0，及又更佳為 5.0 至 6.0。

【0030】 於本發明之一實施例中，係根據液態製劑之緩衝劑 pH，測定長效型調酸素接合物之穩定性。亦即於 25℃，在改變緩衝劑之 pH 下，將長效型調酸素接合物貯存 0 至 4 週後，分析接合物之殘留量；結果顯示，調酸素接合物於 pH 5.6、pH 5.8 與 pH 6.0 時較為穩定(實施例 3，表 2 至 5；實施例 7，表 18 至 21；及實施例 8，表 22 至 25)。因此，發現本發明中最穩定之緩衝劑 pH 範圍為從 5.0 至 6.0。於本發明之一實施例中，係根據液態製劑之緩衝

劑種類，測定長效型調酸素接合物之穩定性。具體而言，使調酸素接合物與 0.02%聚山梨醇酯 20、0.1 mg/mL 甲硫胺酸及 5%甘露糖醇，於 25 °C 貯存 0 至 4 週後，分析接合物之殘留量。SE-HPLC 分析結果顯示，相同 pH 下，接合物之殘留量於相同 pH 之緩衝劑間並無極大差異。IE-HPLC 或 RP-HPLC 分析結果顯示，於相同 pH 下，組胺酸最為穩定(實施例 8 與表 22 至 25)。

【0031】 糖醇具有增加長效型調酸素接合物穩定性之功能。於本發明中，糖醇可為選自包括甘露糖醇、山梨糖醇與甘油之組群之一或多者。較佳者，糖醇可為甘露糖醇。液態製劑中之糖醇濃度較佳為 1 至 20% (w/v)，更佳為 2 至 15% (w/v)。

【0032】 於本發明之一實施例中，係分析安定劑糖醇之種類對長效型調酸素接合物穩定性之影響。具體而言，於 25°C，使調酸素接合物於檸檬酸鹽緩衝液(pH 5.6)中貯存 0 至 4 週，然後利用 IE-HPLC、SE-HPLC 與 RP-HPLC 進行分析。結果，接合物於甘露糖醇或山梨糖醇存在下比於相同濃度之甘油存在下更穩定。RP-HPLC 分析結果顯示，接合物於甘露糖醇存在下比於山梨糖醇存在下稍微更穩定些(實施例 4 與表 6 至 9)。換言之，證明添加甘露糖醇或山梨糖醇顯現優異之穩定性，惟接合物於甘露糖醇存在下最穩定。

【0033】 於本發明之一實施例中，係分析安定劑糖醇之濃度對長效型調酸素接合物穩定性之影響。具體而

言，於 25℃，使調酸素接合物貯存 0 至 4 週，然後利用 IE-HPLC、SE-HPLC 與 RP-HPLC 進行分析。結果，於 2% 甘露糖醇或 15%甘露糖醇存在下，產生蛋白質沈澱，於 5% 甘露糖醇或 10%甘露糖醇存在下，接合物穩定(實施例 5，表 10 至 13；及實施例 7，表 18 至 21)。

【0034】 非離子性界面活性劑具有降低蛋白質溶液表面張力，以防止蛋白質被吸附於疏水性表面或聚集之功能。可用於本發明之非離子性界面活性劑之較佳實例包括聚山梨醇酯系之非離子性界面活性劑與泊洛沙姆系之非離子性界面活性劑，其可單獨或組合二或多種使用。於液態製劑中，使用高濃度非離子性界面活性劑並不適當。本發明液態製劑含有濃度為 0.2% (w/v)或更少，較佳為 0.001 至 0.1% (w/v)之非離子性界面活性劑。

【0035】 本發明之安定劑可含有胺基酸，例如甲硫胺酸。甲硫胺酸藉由，例如，抑制由蛋白質之氧化反應引起之雜質產生，而具有附加地穩定蛋白質之功能。

【0036】 於本發明之一實施例中，係測試安定劑非離子性界面活性劑之濃度及胺基酸之存在與否，對長效型調酸素接合物穩定性之影響。具體而言，於 25 °C，使調酸素接合物於檸檬酸鹽緩衝液(pH 5.6)與 10%甘露糖醇中貯存 0 至 4 週，然後利用 IE-HPLC、SE-HPLC 與 RP-HPLC 進行分析。結果，調酸素接合物於 0.02%聚山梨醇酯 20 與 0.1 mg/mL 甲硫胺酸存在下最穩定(實施例 6 及表 14 至 17)。

【0037】 於活體內投予溶液中之長效型調酸素接合物時，等滲劑具有維持滲透壓於適當水準之功能，同時可附加地具有進一步穩定溶液中之長效型調酸素接合物之功能。等滲劑之代表性實例包括水溶性無機鹽，例如氯化鈉、硫酸鈉；檸檬酸鈉等。等滲劑之濃度較佳為 0 至 200 mM，其含量可適當地予以控制。

【0038】 本發明之安定劑較佳為不含白蛋白。可作為蛋白質安定劑用之人血清白蛋白係以人血液製備，因此可能遭人類致病性病毒污染，而明膠或牛血清白蛋白可能引起疾病或可能於若干病患中引起過敏性反應。本發明之不含白蛋白安定劑不含例如人類或動物之血清白蛋白或純化明膠等外來蛋白質，因此不容易遭受病毒感染。

【0039】 可附加地用以增加長效型調酸素接合物貯存穩定性之糖類與多元醇中，糖類之較佳實例包括單醣例如甘露糖、葡萄糖、海藻糖與木糖，及多醣例如乳糖、麥芽糖、蔗糖、棉子糖與聚葡萄糖；多元醇之較佳實例包括聚丙二醇、低分子量聚乙二醇、甘油、低分子量聚丙二醇等。該等糖類與多元醇可單獨或組合二或多種使用。

【0040】 除了上述緩衝劑、等滲劑、糖醇、胺基酸與非離子性界面活性劑外，於不損害本發明效果之範圍內，本發明液態製劑可進一步包含此項技藝中已知之其他成分或物質。

【0041】 本發明之長效型調酸素接合物液態製劑包含藥理有效量之包含連接於免疫球蛋白 Fc 區之生理活性

肽調酸素之長效型調酸素接合物；與不含白蛋白之安定劑，其中該安定劑可含有 pH 範圍從 4.8 至 7.0 之緩衝劑、選自包括甘露糖醇與山梨糖醇之組群之一或多種糖醇、與聚山梨醇酯 20。更具體而言，安定劑可含有 pH 範圍從 5.0 至 6.0 之緩衝劑、甘露糖醇與聚山梨醇酯 20。此外，安定劑可進一步包含選自包括等滲劑、糖類、多元醇與胺基酸之組群之一或多種成分。

【0042】 含有賦予長效型調酸素接合物穩定性之高濃度長效型調酸素接合物的本發明之不含白蛋白之液態製劑，不容易遭受病毒感染，其係簡單並顯示優異之貯存穩定性，因此相較於其他安定劑或凍乾製劑，可以經濟方式提供。

【0043】 此外，由於相較於天然調酸素，本發明液態製劑包含具持久時間生理活性之長效型調酸素接合物，相較於習知調酸素製劑，可於人體內保持長時期之蛋白質活性，因此可作為有效藥物製劑之用。此外，即使為高濃度之長效型調酸素接合物，本發明液態製劑亦賦予優異之穩定性。

【0044】 本文所用之“調酸素”一詞係指由升糖素前體之前升糖素產生之胜肽。於本發明中，調酸素意欲包括天然調酸素及其前體、衍生物、片段與變異體。較佳為，調酸素具有 SEQ ID NO : 1 之胺基酸序列 (HSQGTFTSDYSKYLDSESRRAQDFVQWLMNTKRNRNNIA)

。

【0045】 本文所用之“調酸素衍生物”一詞意欲包括於調酸素胺基酸序列中由胺基酸之加成、缺失或置換而獲得，且相較於天然調酸素，可活化更高量升糖素與 GLP-1 受體之胜肽、胜肽衍生物或胜肽模擬物。於本發明中，調酸素衍生物可具有 SEQ ID NOS：2 至 34 之任一胺基酸序列；較佳為，調酸素衍生物可具有 SEQ ID NO：23 或 25 之胺基酸序列；更佳為，其可具有 SEQ ID NO：25 之胺基酸序列。

【0046】 本文所用之“調酸素片段”一詞係指具有天然調酸素之胺基或羧基端之一或多個胺基酸之片段，其中所加入之胺基酸亦可為非天然存在之胺基酸(例如，D 型胺基酸)。此調酸素片段具有於活體內調節血糖值之功能。

【0047】 本文所用之“調酸素變異體”一詞係指有一或多個胺基酸殘基與天然調酸素之胺基酸序列不同，且持有活化 GLP-1 受體與升糖素受體功能之胜肽。調酸素變異體可利用將天然調酸素胺基酸序列中若干胺基酸加以置換、加成、缺失、修飾、或其組合之任一者予以製備。

【0048】 製備調酸素變異體、衍生物與片段之方法可單獨或組合使用。例如，本發明亦包括具有一或多個胺基酸與天然調酸素不同且 N 端胺基酸殘基去胺基化，並具有活化 GLP-1 受體與升糖素受體二者之功能之胜肽。

【0049】 本文中提及之胺基酸係根據 IUPAC-IUB 之命名規則縮寫如下：

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 ;
麩胺醯胺	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 。

【0050】 於本發明中，調酸素衍生物涵蓋利用 SEQ ID NO： 1 胺基酸序列中胺基酸之置換、加成、缺失或轉譯後修飾(例如，甲基化、醯化、泛蛋白化、或分子內共價鍵結)製備之可活化升糖素與 GLP-1 二者之受體之任何胜肽。關於胺基酸之置換或加成，不僅可使用人類蛋白質中常見之 20 種胺基酸，亦可使用非典型或非天然存在之胺基酸。非典型胺基酸之商業來源包括 Sigma-Aldrich、ChemPep Inc.、與 Genzyme Pharmaceuticals。包含該等胺基酸之胜肽及非典型胜肽之序列可合成及購自例如 American Peptide Company 或 Bachem (USA)或 Anygen (Korea)等商業供應商。

【0051】 於本發明之特定具體實例中，本發明之調酸素衍生物為包含下式 1 胺基酸序列之新穎胜肽：

式 1

R1-X1-X2-GTFTSD-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10-X11-
X12-X13-X14-X15-X16-X17-X18-X19-X20-X21-X22-X23-
X24-R2 (SEQ ID NO : 50)

其中

R1 為組胺酸、去胺基組胺醯基、二甲基組胺醯基(N-二甲基-組胺醯基)、 β -羥基咪唑基丙醯基、4-咪唑基乙醯基、 β -羧基咪唑基丙醯基或酪胺酸；

X1 為 Aib (胺基異丁酸)、d-丙胺酸、甘胺酸、Sar (N-甲基甘胺酸)、絲胺酸或 d-絲胺酸；

X2 為麩胺酸或麩胺醯胺；

X3 為白胺酸或酪胺酸；

X4 為絲胺酸或丙胺酸；

X5 為離胺酸或精胺酸；

X6 為麩胺醯胺或酪胺酸；

X7 為白胺酸或甲硫胺酸；

X8 為天冬胺酸或麩胺酸；

X9 為麩胺酸、絲胺酸或 α -甲基-麩胺酸或缺失；

X10 為麩胺醯胺、麩胺酸、離胺酸、精胺酸或絲胺酸或缺失；

X11 為丙胺酸、精胺酸或纈胺酸或缺失；

X12 為丙胺酸、精胺酸、絲胺酸或纈胺酸或缺失；

X13 為離胺酸、麩胺醯胺、精胺酸或 α -甲基-麩胺酸或缺失；

X14 為天冬胺酸、麩胺酸或白胺酸或缺失；

X15 為苯丙胺酸或缺失；

X16 為異白胺酸或纈胺酸或缺失；

X17 為丙胺酸、半胱胺酸、麩胺酸、離胺酸、麩胺醯胺或 α -甲基-麩胺酸或缺失；

X18 為色胺酸或缺失；

X19 為丙胺酸、異白胺酸、白胺酸、絲胺酸或纈胺酸或缺失；

X20 為丙胺酸、離胺酸、甲硫胺酸、麩胺醯胺或精胺酸或缺失；

X21 為天冬醯胺或缺失；

X22 為丙胺酸、甘胺酸或蘇胺酸或缺失；

X23 為半胱胺酸或離胺酸或缺失；

X24 為具有包括丙胺酸、甘胺酸與絲胺酸的組合之 2 至 10 個胺基酸之胜肽或缺失；及

R2 為 KRNRNNIA (SEQ ID NO: 35)、GPSSGAPPPS (SEQ ID NO: 36)、GPSSGAPPPSK (SEQ ID NO: 37)、

HSQGTFTSDYSKYLD (SEQ ID NO: 38)、

HSQGTFTSDYSRYLDK (SEQ ID NO: 39)、

HGEGTFTSDLSKQMEEEAVK (SEQ ID NO: 40) 或缺失 (例外情況為其中式 1 之胺基酸序列與 SEQ ID NO: 1 完全相同)。

【0052】 為了增加野生型調酸素對升糖素受體與 GLP-1 受體之活性，本發明之調酸素衍生物可為 SEQ ID NO: 1 胺基酸序列位置 1 之組胺酸以 α 碳缺失而得到之 4-

咪唑基乙醯基、N 端胺基缺失得到之去胺基-組胺醯基、以兩個甲基修飾 N 端胺基得到之二甲基-組胺醯基(N-二甲基-組胺醯基)、以羥基置換 N 端胺基得到之 β -羥基咪唑基丙醯基、或以羧基置換 N 端胺基得到之 β -羧基咪唑基丙醯基加以置換。此外，GLP-1 受體結合區可以增強疏水性及離子性鍵結或其組合之胺基酸置換。再者，調酸素序列之一部分可以 GLP-1 或艾塞那肽-4 之胺基酸序列置換，以增加 GLP-1 受體之活性。

【0053】 此外，調酸素序列之一部分可以增強 α 螺旋之序列置換。較佳為，於式 1 胺基酸序列位置 10、14、16、20、24 與 28 之胺基酸可以已知可穩定 α 螺旋之由 Tyr(4-Me)、Phe、Phe(4-Me)、Phe(4-Cl)、Phe(4-CN)、Phe(4-NO₂)、Phe(4-NH₂)、Phg、Pal、Nal、Ala(2-噻吩基)與 Ala(苯并噻吩基)構成之胺基酸或胺基酸衍生物置換；擬被嵌入之穩定 α 螺旋之胺基酸或胺基酸衍生物之種類與數量不受限制。較佳為，於胺基酸序列位置 10 與 14、12 與 16、16 與 20、20 與 24、及 24 與 28 之胺基酸亦可以麩胺酸或離胺酸置換，以形成環；擬被嵌入之環數量不受限制。最佳為，調酸素衍生物可具有選自下式 2 至 6 中之胺基酸序列。

【0054】 於特定具體實例中，本發明之調酸素衍生物為包括以艾塞那肽或 GLP-1 之胺基酸序列置換調酸素胺基酸序列得到之具下式 2 胺基酸序列之新穎胜肽：

式 2

R1-A-R3 (SEQ ID NO : 51)

於另一特定具體實例中，本發明之調酸素衍生物為包括具下式 3 胺基酸序列之新穎胜肽，其係利用經由適當之胺基酸連接子連接調酸素胺基酸序列之一部分與艾塞那肽或 GLP-1 胺基酸序列之一部分而製備：

式 3

R1-B-C-R4 (SEQ ID NO : 52)

於又另一特定具體實例中，本發明之調酸素衍生物為包括下式 4 胺基酸序列之新穎胜肽，其中調酸素胺基酸序列之一部分以增強與 GLP-1 受體之疏水性結合之胺基酸置換；例如，其為位置 26 之 Leu 以可增加疏水性之胺基酸 Ile 或 Val 置換之胜肽。

式 4

R1-SQGTFTSDYSKYLD-D1-D2-D3-D4-D5-LFVQW-D
6-D7-N-D8-R3 (SEQ ID NO : 53)

於又另一特定具體實例中，本發明之調酸素衍生物為包括下式 5 胺基酸序列之新穎胜肽，其中天然調酸素胺基酸序列之一部分係缺失、加成、或以其他胺基酸置換，俾使增加天然調酸素活化 GLP-1 受體與升糖素受體之能力：

式 5

R1-E1-QGTFTSDYSKYLD-E2-E3-RA-E4-E5-FV-E6-
WLMNT-E7-R5 (SEQ ID NO : 54)

於式 2 至 5 中，R1 如式 1 中所述；

A 係選自包括

SQGTFTSDYSKYLDERRAQDFVQWLMNT (SEQ ID NO: 41)、
 SQGTFTSDYSKYLDDEEAVRLFIEWLMNT (SEQ ID NO: 42)、
 SQGTFTSDYSKYLDERRAQDFVAWLKNT (SEQ ID NO: 43)、
 GQGTFTSDYSRYLEEEAVRLFIEWLKNG (SEQ ID NO: 44)、
 GQGTFTSDYSRQMEEEEAVRLFIEWLKNG (SEQ ID NO: 45)、
 GEGTFTSDLSRQMEEEEAVRLFIEWAA (SEQ ID NO: 46)、
 與 SQGTFTSDYSRQMEEEEAVRLFIEWLMNG (SEQ ID NO: 47)所成之組群；

B 係選自包括

SQGTFTSDYSKYLDERRAQDFVQWLMNT (SEQ ID NO: 41)、
 SQGTFTSDYSKYLDDEEAVRLFIEWLMNT (SEQ ID NO: 42)、
 SQGTFTSDYSKYLDERRAQDFVAWLKNT (SEQ ID NO: 43)、
 GQGTFTSDYSRYLEEEAVRLFIEWLKNG (SEQ ID NO: 44)、
 GQGTFTSDYSRQMEEEEAVRLFIEWLKNG (SEQ ID NO: 45)、
 GEGTFTSDLSRQMEEEEAVRLFIEWAA (SEQ ID NO: 46)、
 SQGTFTSDYSRQMEEEEAVRLFIEWLMNG (SEQ ID NO: 47)、
 GEGTFTSDLSRQMEEEEAVRLFIEW (SEQ ID NO: 48)、與
 SQGTFTSDYSRYLD (SEQ ID NO: 49)所成之組群；

C 為具有包括丙胺酸、甘胺酸與絲胺酸的組合之 2 至 10 個胺基酸之胜肽；

D1 為絲胺酸、麩胺酸或精胺酸；

D2 為精胺酸、麩胺酸或絲胺酸；

D3 為精胺酸、丙胺酸或纈胺酸；

D4 為精胺酸、纈胺酸或絲胺酸；

D5 為麩胺醯胺、精胺酸或離胺酸；

D6 為異白胺酸、纈胺酸或絲胺酸；

D7 為甲硫胺酸、精胺酸或麩胺醯胺；

D8 為蘇胺酸、甘胺酸或丙胺酸；

E1 為絲胺酸、Aib、Sar、d-丙胺酸或 d-絲胺酸；

E2 為絲胺酸或麩胺酸；

E3 為精胺酸或離胺酸；

E4 為麩胺醯胺或離胺酸；

E5 為天冬胺酸或麩胺酸；

E6 為麩胺醯胺、半胱胺酸或離胺酸；

E7 為半胱胺酸或離胺酸或缺失；

R3 為 KRNRNNIA (SEQ ID NO : 35)、GPSSGAPPPS (SEQ ID NO : 36)或 GPSSGAPPPSK (SEQ ID NO : 37)；

R4 為 HSQGTFTSDYSKYLD(SEQ ID NO : 38)、
HSQGTFTSDYSRYLDK(SEQ ID NO : 39)或
HGEGTFTSDLSKQMEEAVK (SEQ ID NO : 40)；及

R5 為 KRNRNNIA (SEQ ID NO : 35)、GPSSGAPPPS (SEQ ID NO : 36)或 GPSSGAPPPSK (SEQ ID NO : 37)或缺失(其中式 2 至 5 之胺基酸序列與 SEQ ID NO : 1 完全相同者除外)。

【0055】 較佳為，本發明之調酸素衍生物可為具下式 6 之新穎胜肽：

式 6

R1-X1-X2-GTFTSD-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10-X1

1-X12-X13-X14-X15-X16-X17-X18-X19-X20-X21-X22-X23-X24-R2 (SEQ ID NO : 55)

其中 R1 為組胺酸、去胺基組胺醯基、4-咪唑基乙醯基或酪胺酸；

X1 為 Aib (胺基異丁酸)、甘胺酸或絲胺酸；

X2 為麩胺酸或麩胺醯胺；

X3 為白胺酸或酪胺酸；

X4 為絲胺酸或丙胺酸；

X5 為離胺酸或精胺酸；

X6 為麩胺醯胺或酪胺酸；

X7 為白胺酸或甲硫胺酸；

X8 為天冬胺酸或麩胺酸；

X9 為麩胺酸或 α -甲基麩胺酸或缺失；

X10 為麩胺醯胺、麩胺酸、離胺酸或精胺酸或缺失；

X11 為丙胺酸或精胺酸或缺失；

X12 為丙胺酸或纈胺酸或缺失；

X13 為離胺酸、麩胺醯胺、精胺酸或 α -甲基麩胺酸或缺失；

X14 為天冬胺酸、麩胺酸或白胺酸或缺失；

X15 為苯丙胺酸或缺失；

X16 為異白胺酸或纈胺酸或缺失；

X17 為丙胺酸、半胱胺酸、麩胺酸、麩胺醯胺或 α -甲基麩胺酸或缺失；

X18 為色胺酸或缺失；

X19 為丙胺酸、異白胺酸、白胺酸或纈胺酸或缺失；

X20 為丙胺酸、離胺酸、甲硫胺酸或精胺酸或缺失；

X21 為天冬醯胺或缺失；

X22 為蘇胺酸或缺失；

X23 為半胱胺酸、離胺酸或缺失；

X24 為具有 2 至 10 個包括甘胺酸之胺基酸之胜肽或缺失；
及

R2 為 KRNRRNNIA (SEQ ID NO: 35)、GPSSGAPPPS (SEQ ID NO: 36)、GPSSGAPPPSK (SEQ ID NO: 37)、

HSQGTFTSDYSKYLD (SEQ ID NO: 38)、

HSQGTFTSDYSRYLDK (SEQ ID NO: 39)或

HGEGTFTSDLSKQMEEEA VK (SEQ ID NO: 40)或缺失(其中式 6 之胺基酸序列與 SEQ ID NO: 1 完全相同者除外)。

【0056】 更佳為，本發明之調酸素衍生物可選自包括 SEQ ID NOs: 2 至 34 之胜肽組群。又更佳為，本發明之調酸素衍生物可為實施例 1 之表 1 中敘述之調酸素衍生物。

【0057】 調酸素具有 GLP-1 與升糖素兩種胜肽之活性。GLP-1 具有利用胰島素分泌而降低血糖值之作用，惟升糖素具有增加血糖值之作用。再者，GLP-1 抑制攝食量及壓抑胃排空，升糖素具有利用促進脂質分解及增加能量代謝而降低體重之作用。因此，GLP-1 與升糖素具有不同之生物作用。從而，於該二胜肽呈接合物存在之情況下，若二胜肽任一者之作用大於另一者，則會發生有害作用。舉例而言，若升糖素之作用大於 GLP-1，則血糖值會上升；

若 GLP-1 之作用大於升糖素，則會發生例如噁心與嘔吐之副作用。此外，此二胜肽之作用可視二胜肽活性之比例而改變。因此，調酸素衍生物及其接合物並不僅侷限於具有增加活性之衍生物。

【0058】 本文所用之“調酸素接合物”一詞係指包含調酸素與另一成分之接合物。另一成分可為具有包括增長調酸素之血液半衰期或延緩調酸素釋放至腎臟等有利功能之任何物質。本發明之接合物可共價結合於調酸素或形成微球以增加調酸素之血清穩定性，或延緩調酸素釋放至腎臟，或改變調酸素對其受體之結合活性。可形成包含調酸素之接合物之載劑可選自包括白蛋白、運鐵蛋白、抗體、抗體片段、彈性蛋白、肝素、多醣例如幾丁質、纖維結合素(fibronectin)等之組群，其可結合於調酸素以增加調酸素之血清穩定性。較佳為，該載劑係免疫球蛋白 Fc 區。

【0059】 可用於本發明之免疫球蛋白 Fc 可為人類免疫球蛋白 Fc、具有其類似物序列之免疫球蛋白 Fc、或衍生自包括母牛、山羊、豬、小鼠、兔、倉鼠、大鼠與天竺鼠之動物之免疫球蛋白 Fc。再者，免疫球蛋白 Fc 區可衍生自 IgG、IgA、IgD、IgE、IgM、或其組合或雜合體(hybrid)。另外，本發明免疫球蛋白 Fc 區之各功能區可為源自選自包括 IgG、IgA、IgD、IgE、與 IgM 之組群之不同免疫球蛋白功能區之雜合體。替代地，免疫球蛋白 Fc 區為由相同來源功能區組成之單鏈免疫球蛋白所組成之二聚體或多聚體。較佳為，免疫球蛋白 Fc 區係衍生自人血液中含有最多

之 IgG 或 IgM 者。最佳為，免疫球蛋白 Fc 係衍生自已知可增長配體-結合蛋白質半衰期之 IgG。免疫球蛋白 Fc 可利用以特定蛋白酶處理天然 IgG 或使用重組技術由轉形細胞製備；較佳為，於大腸桿菌中製備之重組人類免疫球蛋白 Fc。

【0060】 同時，IgG 亦可次分類為 IgG1、IgG2、IgG3 與 IgG4，於本發明中，亦可能為該等亞型之組合或雜合體。較佳為，IgG 為 IgG2 與 IgG4 亞型；最佳為，其係實質上缺少例如補體依賴性細胞毒性(CDC)等效應物功能之 IgG4 之 Fc 區。換言之，於本發明中作為藥物載劑用之最佳免疫球蛋白 Fc 區係衍生自人類 IgG4 之非醣基化 Fc 區。衍生自人類之 Fc 區比衍生自非人類之 Fc 區更佳，後者於人體中可能作為抗原而引起不良之免疫反應，例如產生對抗該抗原之新抗體。

【0061】 於本發明中，調酸素接合物可使用非肽基聚合物或基因重組技術製備。較佳為，接合物可藉由非肽基聚合物連接調酸素於免疫球蛋白 Fc 區予以製備。

【0062】 非肽基聚合物可連接於各調酸素與免疫球蛋白 Fc 區。非肽基聚合物之各末端分別可連接於免疫球蛋白 Fc 區及調酸素衍生物之胺或硫醇基。

【0063】 本文所用之“調酸素接合物”一詞係指相較於天然調酸素，具有增加之長效作用者。長效型接合物之實例包括，惟不限於，天然調酸素胺基酸序列中之胺基酸經修飾、置換、加成或缺失所產生之調酸素衍生物連接於

例如聚乙二醇(PEG)之生物可降解聚合物之接合物；具有例如白蛋白或免疫球蛋白之優異長效型性質之蛋白質連接於調酸素之接合物；具有活體內結合白蛋白能力之脂肪酸連接於調酸素之接合物；或調酸素被封裝於生物可降解之奈米粒子之接合物。

【0064】 本文所用之“非肽基聚合物”一詞係指包括兩個或多個藉由代替胜肽鍵之任何共價鍵彼此連接之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。

【0065】 用於利用習知框架內融合法獲得之融合蛋白質之胜肽連接子具有於活體內容易被蛋白酶切割之缺點，因此無法得到利用載劑增長活性藥物血清半衰期之期望作用。然而，於本發明中，類似於載劑，可使用對蛋白酶具抗性之聚合物維持胜肽之血清半衰期。因此，於本發明中，可不受限制地使用任何非肽基聚合物，只要其為具上述功能之聚合物，亦即於活體內對蛋白酶具抗性之聚合物即可。該非肽基聚合物具有介於 1 至 100 kDa 範圍內，較佳為 1 至 20 kDa 之分子量。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聚合物之組合物。

【0066】 用於本發明中之非肽基聚合物可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反應性基團較佳為選自包括反應性醛基、丙醛基、丁醛基、順丁烯二醯亞胺基與琥珀醯亞胺衍生物

之組群。

【0067】 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。詳言之，當非肽基聚合物於其兩端具有反應性醛基時，非特異性反應可被最小化，生理活性多肽與免疫球蛋白可分別有效地結合於該非肽基聚合物兩端。利用還原性烷基化，以醛鍵結產生之最終產物比經由醯胺鍵結連接者更為穩定。醛反應性基團於低 pH 選擇性地結合於 N 端；於例如 pH 9.0 之高 pH 下，可與離胺酸殘基形成共價鍵。

【0068】 非肽基聚合物兩端之反應性基團可相同或不同。例如，非肽基聚合物可於一端持有順丁烯二醯亞胺基，於另一端持有醛基、丙醛基或丁醛基。使用兩端皆具反應性羥基之聚乙二醇作為非肽基聚合物時，羥基可利用已知化學反應活化成為各種反應性基團，或可使用具有市售可得經修飾之反應性基團之聚乙二醇，以製備本發明之長效型接合物。

【0069】 本發明之接合物可為其中非肽基聚合物之各端分別連接於免疫球蛋白 Fc 區與調酸素衍生物之胺或硫醇基者。

【0070】 同時，於本發明中，非肽基聚合物之兩端包含可與免疫球蛋白 Fc 區及蛋白質藥物結合之反應性基團。反應性基團之實例包括，惟不限於，醛基、丙醛基或丁醛基、順丁烯二醯亞胺基、琥珀醯亞胺衍生物(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)等。

【0071】 於非肽基聚合物連接子兩端之反應性基團可相同或不同。例如，非肽基聚合物可於一端具有順丁烯二醯亞胺基，於另一端具有醛基、丙醛基或丁醛基。舉例而言，當非肽基聚合物於一端具有反應性醛基，及於另一端具有反應性順丁烯二醯亞胺基時，非特異性反應可被最小化，生理活性多肽與免疫球蛋白可有效地結合於非肽基聚合物之兩端。可用於本發明之非肽基聚合物可選自包括聚乙二醇、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、多醣類、聚葡萄糖、聚乙烯乙醚、例如 PLA (聚(乳酸))與 PLGA (聚乳酸-乙醇酸)之生物可降解聚合物、脂質聚合物、幾丁質類、玻尿酸、及其組合之組群。較佳為，非肽基聚合物為聚乙二醇。此外，此項技藝中已知之其衍生物及可容易地利用此項技藝中已知方法製備之衍生物均包含於本發明範圍之內。

【0072】 於本發明之實施例中，藉由使用僅包含丙醛基或包含順丁烯二醯亞胺基與醛基二者之非肽基聚合物 PEG，經由共價鍵結將調酸素或其衍生物連接於免疫球蛋白 Fc 區而合成接合物。

【0073】 相較於天然調酸素，本發明之接合物具有優異之 GLP-1 受體與升糖素受體活性。又，其結合於 Fc 區而增長其活體內血液半衰期，以於活體內長時期維持其活性。

【0074】 本文所用之“防腐劑”一詞係指用以預防由微生物污染引起之異常反應或分解之物質。本發明之液態製劑可進一步包含防腐劑。防腐劑通常用於最可能遭微生物污染之多劑量製劑中，惟不受此限，亦可用於凍乾製劑或單劑量製劑中，以防止微生物污染。本發明之液態製劑可包含選自間甲酚、苯酚與苕醇之一或多種防腐劑。於液態製劑中，防腐劑之濃度可為 0.001 至 1% (w/v)。具體而言，包含於本發明液態製劑中之防腐劑較佳為間甲酚。本發明液態製劑可為多劑量製劑。

【0075】 於另一態樣中，本發明提供製備長效型調酸素接合物液態製劑之方法。

【0076】 具體而言，於本發明之一具體實例中，製備該液態製劑之方法可包含以下步驟：a) 製備長效型調酸素接合物，及 b) 使已製備之長效型調酸素接合物與含有緩衝劑、糖醇與非離子性界面活性劑之安定劑混合。

【0077】 於本發明之另一具體實例中，製備該液態製劑之方法可包含以下步驟：a) 製備長效型調酸素接合物，及 b) 使已製備之長效型調酸素接合物與含有緩衝劑、糖醇、非離子性界面活性劑及防腐劑之安定劑混合。

【0078】 較佳為，步驟 b)之安定劑可進一步包含選自包括等滲劑、糖類、多元醇與胺基酸之組群之一或多者。

【0079】 於又另一態樣中，本發明提供包含上述液態製劑之用於預防或治療肥胖症或糖尿病之醫藥組成物。

【0080】 本文所用之“預防”一詞係指可抑制或延緩

形成標的疾病之所有作用。本文所用之“預防”一詞意指投予本發明接合物以抑制或延緩形成例如異常血糖值或異常胰島素分泌之糖尿病症狀，或例如體重或體脂肪增加之肥胖症狀。

【0081】 本文所用之“治療”一詞係指減輕、改善或緩和形成疾病病徵之所有作用。本文所用之“治療”一詞意指投予本發明接合物以減輕、改善或緩和上述糖尿病症狀或肥胖症狀，使血糖值與胰島素分泌正常化及減少體重或體脂肪。

【0082】 本文所用之“肥胖症”一詞係指體脂肪過量。身體質量指數(= 體重(kg)除以身高(m)平方]為 25 或 25 以上時界定為肥胖症。肥胖症通常由能量攝取超過能量消耗之能量不平衡所產生。肥胖症為代謝性疾病，其影響整個身體，極可能導致糖尿病與高脂血症。此外，肥胖症與性功能障礙、關節炎、與增加心血管疾病形成之風險相關，於若干情況下，亦與癌症之形成相關。

【0083】 本文所用之“糖尿病”一詞係指胰島素分泌不足或無法達成正常功能之一種代謝性疾病。糖尿病之特徵在於血糖值升高，及導致各種健康問題。於糖尿病之情況下，葡萄糖與尿液一起排出。

【0084】 本發明之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”一詞意指足以展現治療效果且不引起副作用之量。本發明醫藥組成物活性成分之劑量可由熟習此項技藝人士依據

疾病類型，病患年齡、體重、健康狀況、性別、與藥物敏感性、給藥途徑、給藥方式、給藥頻率、治療持續時間、與本發明組成物組合或同時使用之藥物、及醫學領域中已知之其他因素而容易地決定。

【0085】 於又另一態樣中，本發明提供預防或治療肥胖症或糖尿病之方法，該方法包括投予患者液態製劑。

【0086】 於本文中，液態製劑、肥胖症與糖尿病均如上文所述。

【0087】 本文所用之“患者”一詞係指被懷疑可能具有肥胖症或糖尿病之對象。具體而言，該術語意欲包括人類、大鼠與家畜之哺乳動物，其具有或瀕臨形成上述疾病之風險者。此外，患者可為可利用本發明液態製劑衍生物治療之任何病患。

【0088】 本發明之治療方法可包括投予醫藥上有效量之包含液態製劑之醫藥組成物。組成物之每日總劑量可由醫師憑藉適當醫學判斷予以決定，組成物可一次或分數次投予。然而，鑑於本發明之目的，用於任何特定病患之組成物之特定有效治療劑量，可視醫學領域中悉知之各種因素而改變，包括欲達成回應之種類與程度、根據具體組成物是否與其他製劑一起使用、病患年齡、體重、健康狀況、性別與飲食，給藥時間與途徑、組成物之分泌速率、治療持續時間，與本發明組成物組合或同時使用之其它藥物，及醫學領域中已知之其他因素。

[有利之功效]

【0089】 包含長效型調酸素接合物之本發明液態製劑含有緩衝劑、糖醇與非離子性界面活性劑，不含人血清白蛋白及潛在有害人體之因子，因此不易遭病毒感染。此外，本發明之調酸素接合物包含連接於免疫球蛋白 Fc 區之調酸素，因此，相較於天然調酸素，具有很大之分子量、延長之生理活性、及優異之貯存穩定性。

【圖式簡單說明】

【0090】

第 1a 圖係顯示通過 SOURCE S 純化管柱純化單聚乙二醇化之調酸素衍生物(SEQ ID NO: 25)所得結果之曲線圖。

第 1b 圖係顯示通過 SOURCE 15Q 純化管柱純化單聚乙二醇化之調酸素衍生物(SEQ ID NO: 25)與免疫球蛋白 Fc 之接合物所得結果之曲線圖。

第 1c 圖係顯示通過 SOURCE ISO 純化管柱純化單聚乙二醇化之調酸素衍生物(SEQ ID NO: 25)與免疫球蛋白 Fc 之接合物所得結果之曲線圖。

第 2a 圖係顯示實施例 3 中，於 25℃ 貯存 0 至 2 週後，利用 IE-HPLC，根據 pH 評估長效型調酸素接合物之穩定性所得結果之圖形示意圖。第 2a 圖中之各圖形表示該長效型調酸素接合物相對於起始值之保留百分比。

第 2b 圖係顯示實施例 3 中，於 25℃ 貯存 0 至 2 週後，利用 SE-HPLC，根據 pH 評估長效型調酸素接合物之穩定性所得結果之圖形示意圖。第 2b 圖中之各圖形表示該長效

型調酸素接合物相對於起始值之保留百分比。

第 2c 圖係顯示實施例 3 中，於 25℃ 貯存 0 至 2 週後，利用 RP-HPLC，根據 pH 評估長效型調酸素接合物之穩定性所得結果之圖形示意圖。第 2c 圖中之各圖形表示該長效型調酸素接合物相對於起始值之保留百分比。

第 3a 圖係顯示實施例 4 中，於 25℃ 貯存 0 至 4 週後，利用 IE-HPLC，根據糖醇種類及等滲劑存在與否評估長效型調酸素接合物之穩定性所得結果之圖形示意圖。第 3a 圖中之各圖形表示該長效型調酸素接合物相對於起始值之保留百分比。

第 3b 圖係顯示實施例 4 中，於 25℃ 貯存 0 至 4 週後，利用 SE-HPLC，根據糖醇種類及等滲劑存在與否評估長效型調酸素接合物之穩定性所得結果之圖形示意圖。第 3b 圖中之各圖形表示該長效型調酸素接合物相對於起始值之保留百分比。

第 3c 圖係顯示實施例 4 中，於 25℃ 貯存 0 至 4 週後，利用 RP-HPLC，根據糖醇種類及等滲劑存在與否評估長效型調酸素接合物之穩定性所得結果之圖形示意圖。第 3c 圖中之各圖形表示該長效型調酸素接合物相對於起始值之保留百分比。

第 4a 圖係顯示實施例 5 中，於 25℃ 貯存 0 至 4 週後，利用 IE-HPLC，根據糖醇濃度評估長效型調酸素接合物之穩定性所得結果之圖形示意圖。第 4a 圖中之各圖形表示該長效型調酸素接合物相對於起始值之保留百分比。

第 4b 圖係顯示實施例 5 中，於 25℃ 貯存 0 至 4 週後，利用 SE-HPLC，根據糖醇濃度評估長效型調酸素接合物之穩定性所得結果之圖形示意圖。第 4b 圖中之各圖形表示該長效型調酸素接合物相對於起始值之保留百分比。

第 4c 圖係顯示實施例 5 中，於 25℃ 貯存 0 至 4 週後，利用 RP-HPLC，根據糖醇濃度評估長效型調酸素接合物之穩定性所得結果之圖形示意圖。第 4c 圖中之各圖形表示該長效型調酸素接合物相對於起始值之保留百分比。

第 5a 圖係顯示實施例 6 中，於 25℃ 貯存 0 至 4 週後，利用 IE-HPLC，根據界面活性劑濃度及胺基酸存在與否評估長效型調酸素接合物之穩定性所得結果之圖形示意圖。第 5a 圖中之各圖形表示該長效型調酸素接合物相對於起始值之保留百分比。

第 5b 圖係顯示實施例 6 中，於 25℃ 貯存 0 至 4 週後，利用 SE-HPLC，根據界面活性劑濃度及胺基酸存在與否評估長效型調酸素接合物之穩定性所得結果之圖形示意圖。第 5b 圖中之各圖形表示該長效型調酸素接合物相對於起始值之保留百分比。

第 5c 圖係顯示實施例 6 中，於 25℃ 貯存 0 至 4 週後，利用 RP-HPLC，根據界面活性劑濃度及胺基酸存在與否評估長效型調酸素接合物之穩定性所得結果之圖形示意圖。第 5c 圖中之各圖形表示該長效型調酸素接合物相對於起始值之保留百分比。

第 6a 圖係顯示實施例 7 中，於 25℃ 貯存 0 至 4 週後，

利用 IE-HPLC，根據 pH 與糖醇濃度評估長效型調酸素接合物之穩定性所得結果之圖形示意圖。第 6a 圖中之各圖形表示該長效型調酸素接合物相對於起始值之保留百分比。

第 6b 圖係顯示實施例 7 中，於 25℃ 貯存 0 至 4 週後，利用 SE-HPLC，根據 pH 與糖醇濃度評估長效型調酸素接合物之穩定性所得結果之圖形示意圖。第 6b 圖中之各圖形表示該長效型調酸素接合物相對於起始值之保留百分比。

第 6c 圖係顯示實施例 7 中，於 25℃ 貯存 0 至 4 週後，利用 RP-HPLC，根據 pH 與糖醇濃度評估長效型調酸素接合物之穩定性所得結果之圖形示意圖。第 6c 圖中之各圖形表示該長效型調酸素接合物相對於起始值之保留百分比。

第 7a 圖係顯示實施例 8 中，於 25℃ 貯存 0 至 4 週後，利用 IE-HPLC，根據 pH 與緩衝劑種類評估長效型調酸素接合物之穩定性所得結果之圖形示意圖。第 7a 圖中之各圖形表示該長效型調酸素接合物相對於起始值之保留百分比。

第 7b 圖係顯示實施例 8 中，於 25℃ 貯存 0 至 4 週後，利用 SE-HPLC，根據 pH 與緩衝劑種類評估長效型調酸素接合物之穩定性所得結果之圖形示意圖。第 7b 圖中之各圖形表示該長效型調酸素接合物相對於起始值之保留百分比。

第 7c 圖係顯示實施例 8 中，於 25℃ 貯存 0 至 4 週後，利用 RP-HPLC，根據 pH 與緩衝劑種類評估長效型調酸素接合物之穩定性所得結果之圖形示意圖。第 7c 圖中之各圖

形表示該長效型調酸素接合物相對於起始值之保留百分比。

第 8a 圖係顯示實施例 9 中，於 25℃ 貯存 0 至 4 週後，利用 IE-HPLC，根據防腐劑存在與否及長效型調酸素濃度評估長效型調酸素接合物之穩定性所得結果之圖形示意圖。第 8a 圖中之各圖形表示該長效型調酸素接合物相對於起始值之保留百分比。

第 8b 圖係顯示實施例 9 中，於 25℃ 貯存 0 至 4 週後，利用 SE-HPLC，根據防腐劑存在與否及長效型調酸素接合物濃度評估長效型調酸素接合物之穩定性所得結果之圖形示意圖。第 8b 圖中之各圖形表示該長效型調酸素接合物相對於起始值之保留百分比。

第 8c 圖係顯示實施例 9 中，於 25℃ 貯存 0 至 4 週後，利用 RP-HPLC，根據防腐劑存在與否及長效型調酸素接合物濃度評估長效型調酸素接合物之穩定性所得結果之圖形示意圖。第 8c 圖中之各圖形表示該長效型調酸素接合物相對於起始值之保留百分比。

【實施方式】

【0091】 下文中，將參照實施例更詳細說明本發明；然而，欲被瞭解的是該等實施例僅供說明用途，而不擬對本發明範圍構成侷限。

【0092】 實施例 1：調酸素與調酸素衍生物之合成
為了測定調酸素與調酸素衍生物於本發明液態製劑中之穩定性，乃合成具下文表 1 所示胺基酸序列之調酸素衍

生物。

[表 1]

調酸素與調酸素衍生物

SEQ ID NO	序列	
SEQ ID NO : 1	HSQGTFTSDYSKYLDSTRRAQDFVQWLMNTRNRNNIA	註記
SEQ ID NO : 2	CA-SQGTFTSDYSKYLDDEEAVRLFIEWLMNTRNRNNIA	
SEQ ID NO : 3	CA-SQGTFTSDYSKYLDERRAQDFVAWLKNTGPSSGAPPPS	
SEQ ID NO : 4	CA-GQGTFTSDYSRYLEEEAVRLFIEWLKNGGPSSGAPPPS	
SEQ ID NO : 5	CA-GQGTFTSDYSRQMEEEAVRLFIEWLKNGGPSSGAPPPS	
SEQ ID NO : 6	CA-GEGTFTSDLSRQMEEEAVRLFIEWAAHSQGTFTSDYSKYLD	
SEQ ID NO : 7	CA-SQGTFTSDYSRYLDEEAVRLFIEWLMNTK	
SEQ ID NO : 8	CA-SQGTFTSDLSRQLEEEAVRLFIEWLMNK	
SEQ ID NO : 9	CA-GQGTFTSDYSRYLDEEAVXLFIEWLMNTRNRNNIA	
SEQ ID NO : 10	CA-SQGTFTSDYSRQMEEEAVRLFIEWLMNGGPSSGAPPPSK	
SEQ ID NO : 11	CA-GEGTFTSDLSRQMEEEAVRLFIEWAAHSQGTFTSDYSRYLDK	
SEQ ID NO : 12	CA-SQGTFTSDYSRYLDGGGHGEGTFTSDLSKQMEEEAVK	
SEQ ID NO : 13	CA-SQGTFTSDYSRYLDXEAVXLFIEWLMNTK	
SEQ ID NO : 14	CA-GQGTFTSDYSRYLDEEAVXLFIXWLMNTRNRNNIA	
SEQ ID NO : 15	CA-GQGTFTSDYSRYLDEEAVRLFIXWLMNTRNRNNIA	
SEQ ID NO : 16	CA-SQGTFTSDLSRQLEGGGHSQGTFTSDLSRQLEK	
SEQ ID NO : 17	CA-SQGTFTSDYSRYLDEEAVRLFIEWIRNTRNRNNIA	
SEQ ID NO : 18	CA-SQGTFTSDYSRYLDEEAVRLFIEWIRNGGPSSGAPPPSK	
SEQ ID NO : 19	CA-SQGTFTSDYSRYLDEEAVKLFIEWIRNTRNRNNIA	環形成
SEQ ID NO : 20	CA-SQGTFTSDYSRYLDEEAVKLFIEWIRNGGPSSGAPPPSK	環形成
SEQ ID NO : 21	CA-SQGTFTSDYSRQLEEEAVRLFIEWVRNTRNRNNIA	
SEQ ID NO : 22	DA-SQGTFTSDYSKYLDEKRAKEFVQWLMNTK	環形成
SEQ ID NO : 23	HAibQGTFTSDYSKYLDEKRAKEFVCWLMNT	
SEQ ID NO : 24	HAibQGTFTSDY SKYLDEKRAK EFVQWLMNTC	
SEQ ID NO : 25	HAibQGTFTSDYSKYLDEKRAKEFVQWLMNTC	環形成
SEQ ID NO : 26	HAibQGTFTSDYSKYLDEKRAKEFVQWLMNTC	環形成
SEQ ID NO : 27	HAibQGTFTSDYSKYLDEQAAKEFICWLMNT	環形成
SEQ ID NO : 28	HAibQGTFTSDY SKYLDEKRAK EFVQWLMNT	
SEQ ID NO : 29	H(d)SQGTFTSDYSKYLDSTRRAQDFVQWLMNTRNRNNIA	
SEQ ID NO : 30	CA-SQGTFTSDYSKYLDSTRRAQDFVQWLMNTRNRNNIA	
SEQ ID NO : 31	CA-(d)SQGTFTSDYSKYLDSTRRAQDFVQWLMNTRNRNNIA	
SEQ ID NO : 32	CA-AibQGTFTSDYSKYLDEKRAKEFVQWLMNTC	環形成
SEQ ID NO : 33	HAibQGTFTSDYAKYLDEKRAKEFVQWLMNTC	環形成
SEQ ID NO : 34	YAibQGTFTSDYSKYLDEKRAKEFVQWLMNTC	環形成

於上文表 1 中，SEQ ID NO：19、20、22、25、26、27、32、33 及 34 以粗體字母表示之胺基酸殘基意指一起形成環，以 X 表示之胺基酸殘基意指非天然胺基酸之 α -甲基-麩胺酸。此外，CA 表示 4-咪唑基乙醯基，DA 表示去胺基-組胺醯基，及(d)S 表示 d-絲胺酸。

【0093】 實施例 2：包含調酸素衍生物(SEQ ID NO：25)與免疫球蛋白 Fc (調酸素衍生物(SEQ ID NO：25)連接於免疫球蛋白 Fc 區)之接合物之製備

首先，為了使調酸素衍生物(SEQ ID NO：25)胺基酸位置 30 之半胱胺酸殘基聚乙二醇 MAL-10K-ALD PEG 化，使調酸素衍生物(SEQ ID NO：25)與 MAL-10K-ALD PEG 以 1：3 之莫耳比及 3 mg/ml 之蛋白質濃度，於室溫相互反應 3 小時。於此，反應係於 1M 胍存在下，在 50 mM Tris 緩衝液(pH 8.0)中進行。反應完成後，將反應液施加於 SOURCE S 管柱，以純化於半胱胺酸單聚乙二醇化之調酸素衍生物(管柱：SOURCE S，流速：2.0 ml/min，梯度：A 0 → 100% 50 分鐘 B (A：20 mM 檸檬酸鈉，pH 3.0 + 45% 乙醇，B：A + 1M KCl)) (第 1a 圖)。第 1a 圖係顯示通過 SOURCE S 純化管柱純化單聚乙二醇化之調酸素衍生物(SEQ ID NO：25)所得結果之曲線圖。

然後，使純化之單聚乙二醇化之調酸素衍生物(SEQ ID NO：25)與免疫球蛋白 Fc 以 1：5 之莫耳比及 20 mg/ml 之蛋白質濃度，於 4℃ 相互反應 16 小時。反應於 20 mM SCB 還原劑存在下，在 100mM 磷酸鉀緩衝液(pH 6.0)中進行。反應完成後，將反應液施加於 SOURCE 15Q 純化管柱(管

柱：SOURCE 15Q，流速：2.0 mL/min，梯度：A 0 → 4% 1 分鐘 B → 20% 80 分鐘 B (A：20mM Tris-HCl，pH 7.5，B：A + 1M NaCl))(第 1b 圖)與 SOURCE ISO 純化管柱(管柱：SOURCE ISO，流速：2.0 mL/min，梯度：B 0 → 100% 100 分鐘 A (A：20mM Tris-HCl，pH 7.5，B：A + 1.1M AS))(第 1c 圖)，以純化包含調酸素衍生物(SEQ ID NO：25)與免疫球蛋白 Fc 之接合物。第 1b 圖係顯示通過 SOURCE 15Q 純化管柱純化包含調酸素衍生物(SEQ ID NO：25)與免疫球蛋白 Fc 之接合物所得結果之曲線圖，第 1c 圖係顯示通過 SOURCE ISO 純化管柱純化包含調酸素衍生物(SEQ ID NO：25)與免疫球蛋白 Fc 之接合物所得結果之曲線圖。

開發如上述製備之調酸素接合物，以增長調酸素之血液半衰期；其包含以特定部位(site-specific)方式互相共價連接之免疫球蛋白 Fc 區、非肽基聚合物與調酸素，具有顯著增長之血液半衰期。

【0094】 實施例 3：根據 pH 評估長效型調酸素接合物之穩定性

【0095】 為了評估長效型調酸素接合物(於實施例 2 中製備)於液態製劑中之穩定性，乃於 25°C，使長效型調酸素接合物於表 2 所示組成中貯存 0 至 2 週，然後利用離子交換-高效液相層析法(IE-HPLC)、粒徑排阻-高效液相層析法(SE-HPLC)與逆相-高效液相層析法(RP-HPLC)進行分析。關於調酸素接合物之貯存，係使用檸檬酸鹽緩衝液作為緩衝劑，甘露糖醇作為糖醇，及聚山梨醇酯 20 作為非

離子性界面活性劑。於下文表 3、4 與 5 中，IE-HPLC (%)、SE-HPLC (%)與 RP-HPLC (%)表示面積%/起始面積%，其表示長效型調酸素接合物相對於起始值之保留百分比。表 3 顯示長效型調酸素接合物於貯存後之 IE-HPLC 面積(%），表 4 顯示長效型調酸素接合物於貯存後之 SE-HPLC 面積(%），及表 5 顯示長效型調酸素接合物於貯存後之 RP-HPLC 面積(%)。

[表 2]

	pH	緩衝劑	等滲劑	糖醇	界面活性劑	其他	長效型 調酸素 接合物
#1	4.8	20mM 檸檬酸鈉	—	10%甘露糖醇	0.005% 聚山梨醇酯 20	0.1mg/mL 甲硫胺酸	10mg/mL
#2	5.2	20mM 檸檬酸鈉	—	10%甘露糖醇	0.005% 聚山梨醇酯 20	0.1mg/mL 甲硫胺酸	10mg/mL
#3	5.6	20mM 檸檬酸鈉	—	10%甘露糖醇	0.005% 聚山梨醇酯 20	0.1mg/mL 甲硫胺酸	10mg/mL
#4	6.0	20mM 檸檬酸鈉	—	10%甘露糖醇	0.005% 聚山梨醇酯 20	0.1mg/mL 甲硫胺酸	10mg/mL
#5	6.4	20mM 檸檬酸鈉	—	10%甘露糖醇	0.005% 聚山梨醇酯 20	0.1mg/mL 甲硫胺酸	10mg/mL

[表 3]

	IE-HPLC (%)				
	#1	#2	#3	#4	#5
0 週	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
2 週	97.6	97.2	96.8	94.0	85.2

[表 4]

	SE-HPLC (%)				
	#1	#2	#3	#4	#5
0 週	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
2 週	99.7	99.8	99.8	99.3	99.4

[表 5]

	RP-HPLC (%)				
	#1	#2	#3	#4	#5
0 週	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
2 週	83.0	84.4	86.7	65.5	74.0

從上文表 3 之 IE-HPLC (%)結果可看出，調酸素接合物於較低 pH 較穩定。表 4 之 SE-HPLC 結果中，調酸素接合物於 pH 5.2 最穩定，表 5 之 RP-HPLC 結果中，調酸素接合物於 pH 5.6 最穩定。雖然於各分析方法間，不同 pH 之穩定性有差異，惟於 RP-HPLC 分析方法中，不同 pH 間之保留百分比差異最大。由以上結果顯示調酸素接合物於

pH 5.6 最穩定。

【0096】 實施例 4：根據糖醇種類及等滲劑存在與否
評估長效型調酸素接合物之穩定性

本發明人等針對安定劑糖醇之種類與等滲劑氯化鈉存在與否對長效型調酸素接合物穩定性之影響進行檢測。具體而言，使用實施例 3 選定之檸檬酸鹽緩衝液(pH 5.6)，25 °C 下，使長效型調酸素接合物於下文表 6 所示組成中貯存 0 至 4 週，然後利用 IE-HPLC、SE-HPLC 與 RP-HPLC 進行分析。於下文表 7、8 與 9 中，IE-HPLC (%)、SE-HPLC (%)與 RP-HPLC (%)意指面積%/起始面積%，表示長效型調酸素接合物相對於起始值之保留百分比。表 7 顯示長效型調酸素接合物於貯存後之 IE-HPLC 面積(%)，表 8 顯示長效型調酸素接合物於貯存後之 SE-HPLC 面積(%)，及表 9 顯示長效型調酸素接合物於貯存後之 RP-HPLC 面積(%)。

[表 6]

	pH	緩衝劑	等滲劑	糖醇	界面活性劑	其他	長效型 調酸素 接合物
#1	5.6	20mM 檸檬酸鈉	—	10%甘露糖醇	0.005% 聚山梨醇酯 20	—	10mg/mL
#2	5.6	20mM 檸檬酸鈉	—	10%山梨糖醇	0.005% 聚山梨醇酯 20	—	10mg/mL
#3	5.6	20mM 檸檬酸鈉	—	10%甘油	0.005% 聚山梨醇酯 20	—	10mg/mL
#4	5.6	20mM 檸檬酸鈉	150mM NaCl	10%甘露糖醇	0.005% 聚山梨醇酯 20	—	10mg/mL

[表 7]

	IE-HPLC (%)			
	#1	#2	#3	#4
0 週	100.0	100.0	100.0	100.0
1 週	98.8	98.8	88.3	98.3
2 週	97.2	96.9	79.0	95.0
3 週	94.4	94.5	63.0	93.8
4 週	91.6	91.8	55.8	91.6

[表 8]

	SE-HPLC (%)			
	#1	#2	#3	#4
0 週	100.0	100.0	100.0	100.0
1 週	99.9	100.0	92.0	100.0
2 週	99.7	99.8	84.7	99.9
3 週	99.2	99.4	79.2	99.5
4 週	98.4	98.6	76.0	98.8

[表 9]

	RP-HPLC (%)			
	#1	#2	#3	#4
0 週	100.0	100.0	100.0	100.0
1 週	98.9	98.7	90.0	98.4
2 週	96.0	95.6	80.6	95.0
3 週	94.0	93.6	75.2	92.9
4 週	92.6	91.1	70.0	90.1

從上文表 6 至 9 中可看出，相同濃度下，長效型調酸素接合物於甘露糖醇或山梨糖醇中比於甘油中更穩定。RP-HPLC 之結果表示，長效型調酸素接合物於甘露糖醇中比於山梨糖醇中稍許穩定些。此外，於等滲劑氯化鈉存在與否之間，長效型調酸素接合物之穩定性無顯著差異。

【0097】 實施例 5：根據糖醇濃度評估長效型調酸素接合物之穩定性

本發明人等針對安定劑糖醇之濃度對長效型調酸素接合物穩定性之影響進行檢測。具體而言，使用上述實施例中選定之檸檬酸鹽緩衝液(pH5.6)與甘露糖醇，25℃下，使長效型調酸素接合物於下文表 10 所示組成中貯存 0 至 4 週，然後利用 IE-HPLC、SE-HPLC 與 RP-HPLC 進行分析。於下文表 11、12 與 13 中，IE-HPLC (%)、SE-HPLC (%) 與 RP-HPLC (%)意指面積%/起始面積%，表示長效型調酸素接合物相對於起始值之保留百分比。表 11 顯示長效型調

酸素接合物於貯存後之 IE-HPLC 面積(%), 表 12 顯示長效型調酸素接合物於貯存後之 SE-HPLC 面積(%), 及表 13 顯示長效型調酸素接合物於貯存後之 RP-HPLC 面積(%)。

[表 10]

	pH	緩衝劑	等滲劑	糖醇	界面活性劑	其他	長效型 調酸素 接合物
#1	5.6	20mM 檸檬酸鈉	—	2%甘露糖醇	0.005% 聚山梨醇酯 20	—	10mg/mL
#2	5.6	20mM 檸檬酸鈉	—	5%甘露糖醇	0.005% 聚山梨醇酯 20	—	10mg/mL
#3	5.6	20mM 檸檬酸鈉	—	10%甘露糖醇	0.005% 聚山梨醇酯 20	—	10mg/mL
#4	5.6	20mM 檸檬酸鈉	—	15%甘露糖醇	0.005% 聚山梨醇酯 20	—	10mg/mL

[表 11]

	IE-HPLC (%)			
	#1	#2	#3	#4
0 週	100.0	100.0	100.0	100.0
1 週	79.7	98.7	98.8	79.0
2 週	57.6	97.6	97.9	61.0
3 週	39.8	97.1	97.2	49.2
4 週	34.9	95.5	95.5	43.4

[表 12]

	SE-HPLC (%)			
	#1	#2	#3	#4
0 週	100.0	100.0	100.0	100.0
1 週	97.3	99.4	100.0	99.5
2 週	89.0	99.4	99.8	95.4
3 週	79.4	99.3	99.4	90.5
4 週	74.7	98.4	99.1	83.5

[表 13]

	RP-HPLC (%)			
	#1	#2	#3	#4
0 週	100.0	100.0	100.0	100.0
1 週	89.8	93.2	98.2	95.2
2 週	80.3	85.3	94.7	90.9
3 週	71.9	78.5	91.1	84.1
4 週	66.0	71.0	89.1	76.5

從表 10 至 13 中可看出，於 5%甘露糖醇或 10%甘露糖醇存在下，長效型調酸素接合物穩定。然而，於 2%甘露糖醇或 15%甘露糖醇存在下，則形成蛋白質沈澱。IE-HPLC 或 SE-HPLC 結果表示，於 10%甘露糖醇與 5%甘露糖醇間，長效型調酸素接合物之穩定性相似。RP-HPLC 結果表示，長效型調酸素接合物於 10%甘露糖醇中比於 5%

甘露糖醇中更穩定。

【0098】 實施例 6：根據界面活性劑濃度及胺基酸存在與否評估長效型調酸素接合物之穩定性

本發明人等針對界面活性劑安定劑之濃度及胺基酸存在與否對長效型調酸素接合物穩定性之影響進行檢測。使用上述實施例中選定之檸檬酸鹽緩衝液(pH5.6)與 10%甘露糖醇，25 °C 下，使長效型調酸素接合物於下文表 14 所示組成中貯存 0 至 4 週，然後利用 IE-HPLC、SE-HPLC 與 RP-HPLC 進行分析。於下文表 15、16 與 17 中，IE-HPLC (%)、SE-HPLC (%)與 RP-HPLC (%)意指面積%/起始面積%，表示長效型調酸素接合物相對於起始值之保留百分比。表 15 顯示長效型調酸素接合物於貯存後之 IE-HPLC 面積(%），表 16 顯示長效型調酸素接合物於貯存後之 SE-HPLC 面積(%），及表 17 顯示長效型調酸素接合物於貯存後之 RP-HPLC 面積(%）。

[表 14]

	pH	緩衝劑	等滲劑	糖醇	界面活性劑	其他	長效型 調酸素 接合物
#1	5.6	20mM 檸檬酸鈉	—	10%甘露糖 醇	0.005% 聚山梨醇酯 20	—	10mg/mL
#2	5.6	20mM 檸檬酸鈉	—	10%甘露糖 醇	0.02% 聚山梨醇酯 20	—	10mg/mL
#3	5.6	20mM 檸檬酸鈉	—	10%甘露糖 醇	0.05% 聚山梨醇酯 20	—	10mg/mL
#4	5.6	20mM 檸檬酸鈉	—	10%甘露糖 醇	0.02% 聚山梨醇酯 20	0.1mg/ml 甲硫胺酸	10mg/mL

[表 15]

	IE-HPLC (%)			
	#1	#2	#3	#4
0 週	100.0	100.0	100.0	100.0
1 週	96.0	96.5	96.4	96.2
2 週	95.1	94.7	95.1	95.3
3 週	92.7	92.0	92.2	92.7
4 週	89.7	89.1	89.2	89.7

[表 16]

	SE-HPLC (%)			
	#1	#2	#3	#4
0 週	100.0	100.0	100.0	100.0
1 週	99.4	99.7	99.7	99.6
2 週	99.3	99.5	99.2	99.3
3 週	98.3	98.1	98.3	99.1
4 週	97.3	97.1	97.3	97.9

[表 17]

	RP-HPLC (%)			
	#1	#2	#3	#4
0 週	100.0	100.0	100.0	100.0
1 週	97.3	97.8	98.1	97.4
2 週	79.2	79.2	77.5	79.7
3 週	71.5	71.6	69.5	73.3
4 週	65.1	65.0	65.0	67.8

從表 14 至 17 中可看出，長效型調酸素接合物於含 0.02%聚山梨醇酯 20 及 0.1 mg/mL 甲硫胺酸之組成物中最穩定。

【0099】 實施例 7：根據 pH 與糖醇濃度評估長效型調酸素接合物之穩定性

本發明人等針對 pH 與安定劑糖醇濃度對長效型調酸

素接合物穩定性之影響進行檢測。具體而言，使用上述實施例中選定之 0.02% 聚山梨醇酯 20 與 0.1 mg/mL 甲硫胺酸，25°C 下，使長效型調酸素接合物於下文表 18 所示組成中貯存 0 至 4 週，然後利用 IE-HPLC、SE-HPLC 與 RP-HPLC 進行分析。於下文表 15、16 與 17 中，IE-HPLC (%)、SE-HPLC (%) 與 RP-HPLC (%) 意指面積%/起始面積%，表示長效型調酸素接合物相對於起始值之保留百分比。表 19 顯示長效型調酸素接合物於貯存後之 IE-HPLC 面積(%), 表 20 顯示長效型調酸素接合物於貯存後之 SE-HPLC 面積(%), 及表 21 顯示長效型調酸素接合物於貯存後之 RP-HPLC 面積(%)。

[表 18]

	pH	緩衝劑	等滲劑	糖醇	界面活性劑	其他	長效型 調酸素 接合物
#1	5.2	20mM 檸檬酸鈉	—	5%甘露糖醇	0.02% 聚山梨醇酯 20	0.1mg/ml 甲硫胺酸	10mg/mL
#2	5.2	20mM 檸檬酸鈉	—	10%甘露糖醇	0.02% 聚山梨醇酯 20	0.1mg/ml 甲硫胺酸	10mg/mL
#3	5.2	20mM 檸檬酸鈉	—	15%甘露糖醇	0.02% 聚山梨醇酯 20	0.1mg/ml 甲硫胺酸	10mg/mL
#4	5.6	20mM 檸檬酸鈉	—	5%甘露糖醇	0.02% 聚山梨醇酯 20	0.1mg/ml 甲硫胺酸	10mg/mL
#5	5.6	20mM 檸檬酸鈉	—	10%甘露糖醇	0.02% 聚山梨醇酯 20	0.1mg/ml 甲硫胺酸	10mg/mL
#6	5.6	20mM 檸檬酸鈉	—	15%甘露糖醇	0.02% 聚山梨醇酯 20	0.1mg/ml 甲硫胺酸	10mg/mL
#7	6.0	20mM 檸檬酸鈉	—	5%甘露糖醇	0.02% 聚山梨醇酯 20	0.1mg/ml 甲硫胺酸	10mg/mL
#8	6.0	20mM 檸檬酸鈉	—	10%甘露糖醇	0.02% 聚山梨醇酯 20	0.1mg/ml 甲硫胺酸	10mg/mL
#9	6.0	20mM 檸檬酸鈉	—	15%甘露糖醇	0.02% 聚山梨醇酯 20	0.1mg/ml 甲硫胺酸	10mg/mL

[表 19]

	IE-HPLC (%)								
	#1	#2	#3	#4	#5	#6	#7	#8	#9
0 週	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
1 週	99.4	99.6	97.1	97.2	97.6	98.0	90.6	92.9	93.4
2 週	97.5	97.8	90.5	93.8	94.1	93.2	81.5	83.6	85.6
3 週	93.0	93.6	82.6	86.0	86.9	87.1	71.2	74.6	77.0
4 週	90.0	90.5	71.1	85.0	85.6	85.7	62.7	66.3	68.9

[表 20]

	SE-HPLC (%)								
	#1	#2	#3	#4	#5	#6	#7	#8	#9
0 週	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
1 週	98.8	99.5	98.8	99.5	99.3	98.5	99.6	100.0	100.7
2 週	98.8	99.1	91.1	98.4	97.1	96.9	97.3	98.3	97.9
3 週	97.7	98.3	96.4	98.1	98.4	98.2	98.1	99.1	100.8
4 週	98.0	98.5	94.9	97.9	98.3	98.3	97.6	98.2	99.0

[表 21]

	RP-HPLC (%)								
	#1	#2	#3	#4	#5	#6	#7	#8	#9
0 週	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
1 週	78.2	78.2	42.1	88.2	90.7	89.4	99.9	99.1	100.7
2 週	60.7	58.6	—	80.4	80.2	80.6	96.8	93.4	92.0
3 週	47.5	41.9	—	79.4	77.3	69.8	97.6	92.8	93.6
4 週	34.8	28.0	—	72.8	65.0	62.6	96.9	91.1	88.9

從上述諸表中可看出，IE-HPLC 結果顯示，長效型調酸素接合物之穩定性依 pH 5.2、pH 5.6 及 pH 6.0 順序遞減；RP-HPLC 結果顯示，長效型調酸素接合物之穩定性依 pH 6.0、pH 5.6 及 pH 5.2 順序遞減；SE-HPLC 結果顯示，長效型調酸素接合物之穩定性於 pH 5.2、pH 5.6 與 pH 6.0 間無顯著差異。換言之，IE-HPLC、RP-HPLC 與 SE-HPLC 結果顯示，長效型調酸素接合物於 pH 5.6 很穩定。

同時，IE-HPLC 與 SE-HPLC 結果顯示，長效型調酸素接合物於 pH 5.6 時，甘露糖醇濃度間無顯著差異。然而，於 RP-HPLC 結果中，長效型調酸素接合物於 pH 5.6 時，於 5%甘露糖醇中比於 10%或 15%甘露糖醇中更穩定。

【0100】 實施例 8：根據 pH 與緩衝劑種類評估長效型調酸素接合物之穩定性

本發明人等針對 pH 與安定劑緩衝劑之種類對長效型調酸素接合物穩定性之影響進行檢測。具體而言，使用上述實施例中選定之 0.02%聚山梨醇酯 20、0.1 mg/mL 甲硫酸與 5%甘露糖醇，25℃ 下，使長效型調酸素接合物於下文表 22 所示組成中貯存 0 至 4 週，然後利用 IE-HPLC、SE-HPLC 與 RP-HPLC 進行分析。於下文表 23、24 與 25 中，IE-HPLC (%)、SE-HPLC (%)與 RP-HPLC (%)意指面積%/起始面積%，表示長效型調酸素接合物相對於起始值之保留百分比。表 23 顯示長效型調酸素接合物於貯存後之 IE-HPLC 面積(%), 表 24 顯示長效型調酸素接合物於貯存後之 SE-HPLC 面積(%), 及表 25 顯示長效型調酸素接合物

於貯存後之 RP-HPLC 面積(%)。

[表 22]

	pH	緩衝劑	等滲劑	糖醇	界面活性劑	其他	長效型 調酸素 接合物
#1	5.6	20mM 檸檬酸鈉	—	5%甘露糖醇	0.02% 聚山梨醇酯 20	0.1mg/ml 甲硫胺酸	10mg/mL
#2	5.8	20mM 檸檬酸鈉	—	5%甘露糖醇	0.02% 聚山梨醇酯 20	0.1mg/ml 甲硫胺酸	10mg/mL
#3	5.8	20mM 乙酸鈉	—	5%甘露糖醇	0.02% 聚山梨醇酯 20	0.1mg/ml 甲硫胺酸	10mg/mL
#4	5.8	10mM 組胺酸	—	5%甘露糖醇	0.02% 聚山梨醇酯 20	0.1mg/ml 甲硫胺酸	10mg/mL
#5	5.8	10mM 磷酸鈉	—	5%甘露糖醇	0.02% 聚山梨醇酯 20	0.1mg/ml 甲硫胺酸	

[表 23]

	IE-HPLC (%)				
	#1	#2	#3	#4	#5
0 週	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
1 週	97.6	96.8	96.5	97.2	96.1
2 週	93.9	91.4	90.6	92.6	89.6
3 週	90.4	88.1	86.9	89.2	84.4
4 週	90.1	87.0	84.8	87.4	81.7

[表 24]

	SE-HPLC (%)				
	#1	#2	#3	#4	#5
0 週	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
1 週	99.4	99.8	99.8	99.7	99.7
2 週	100.5	100.2	100.0	100.0	99.3
3 週	100.4	100.2	99.1	99.6	98.2
4 週	100.1	99.2	99.0	98.8	97.7

[表 25]

	RP-HPLC (%)				
	#1	#2	#3	#4	#5
0 週	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
1 週	99.1	97.2	99.4	99.5	99.0
2 週	97.6	97.7	99.4	99.8	99.3
3 週	96.1	98.7	97.2	98.9	97.4
4 週	98.0	96.6	97.6	98.3	98.1

從表 23 至 25 中可看出，SE-HPLC 或 RP-HPLC 結果顯示，長效型調酸素接合物之穩定性於 pH 5.6 與 pH 5.8 間無顯著差異。IE-HPLC 結果顯示，長效型調酸素接合物於 pH 5.6 比於 pH 5.8 中更穩定。SE-HPLC 結果顯示，長效型調酸素接合物之穩定性於相同 pH 之緩衝劑間無顯著差異。此外，IE-HPLC 或 RP-HPLC 結果顯示，長效型調酸

素接合物於相同 pH 之組胺酸中最穩定。

【0101】 實施例 9：評估防腐劑存在與否及長效型調酸素接合物濃度對長效型調酸素接合物穩定性之影響

本發明人等針對安定劑防腐劑存在與否與長效型調酸素接合物濃度對長效型調酸素接合物穩定性之影響進行檢測。具體而言，使用上述實施例中選定之組胺酸緩衝液(pH 5.6)、0.02%聚山梨醇酯 20、0.1mg/mL 甲硫胺酸與 5%甘露糖醇，25℃ 下，使長效型調酸素接合物於下文表 26 所示組成中貯存 0 至 4 週，然後利用 IE-HPLC、SE-HPLC 與 RP-HPLC 進行分析。於下文表 27、28 與 29 中，IE-HPLC (%)、SE-HPLC (%)與 RP-HPLC (%)意指面積%/起始面積%，表示長效型調酸素接合物相對於起始值之保留百分比。表 27 顯示長效型調酸素接合物於貯存後之 IE-HPLC 面積(%), 表 28 顯示長效型調酸素接合物於貯存後之 SE-HPLC 面積(%), 及表 29 顯示長效型調酸素接合物於貯存後之 RP-HPLC 面積(%)。

[表 26]

	pH	緩衝劑	等滲劑	糖醇	界面活性劑	其他	長效型 調酸素 接合物
#1	5.6	10mM 組胺酸	—	5%甘露糖醇	0.02% 聚山梨醇酯 20	0.1mg/ml 甲硫胺酸	10mg/mL
#2	5.6	10mM 組胺酸	—	5%甘露糖醇	0.02% 聚山梨醇酯 20	0.1mg/ml 甲硫胺酸 0.27%間甲酚	10mg/mL
#3	5.6	10mM 組胺酸	—	5%甘露糖醇	0.02% 聚山梨醇酯 20	0.1mg/ml 甲硫胺酸	40mg/mL
#4	5.6	10mM 組胺酸	—	5%甘露糖醇	0.02% 聚山梨醇酯 20	0.1mg/ml 甲硫胺酸 0.27%間甲酚	40mg/mL

[表 27]

	IE-HPLC (%)			
	#1	#2	#3	#4
0 週	100.0	100.0	100.0	100.0
1 週	97.9	98.2	97.7	97.1
2 週	95.3	95.7	95.1	94.3
3 週	93.6	92.9	93.4	91.8
4 週	91.3	90.4	90.2	88.4

[表 28]

	SE-HPLC (%)			
	#1	#2	#3	#4
0 週	100.0	100.0	100.0	100.0
1 週	99.7	99.6	99.5	99.4
2 週	99.3	99.1	99.0	97.9
3 週	99.1	98.9	98.7	97.0
4 週	98.8	98.0	98.0	95.4

[表 29]

	RP-HPLC (%)			
	#1	#2	#3	#4
0 週	100.0	100.0	100.0	100.0
1 週	100.1	100.0	99.8	99.7
2 週	99.4	99.5	99.2	99.1
3 週	98.3	98.3	98.8	98.5
4 週	98.8	97.9	97.7	97.4

於表 26 至 29 中可看出，IE-HPLC、SE-HPLC 或 RP-HPLC 結果顯示，即使於防腐劑存在下，長效型調酸素接合物之穩定性也不改變，且未根據其本身濃度而有所差異。

【0102】 本發明較佳具體實例雖已為說明用途而敘

述，惟熟習此項技藝者理解，於不偏離如隨附申請專利揭示之本發明範圍與精神下，各種修飾、加成與置換均屬可能。

【符號說明】

無。

【序列表】

- <110> 韓美藥品股份有限公司(HANMI PHARM. CO., LTD.)
- <120> 包含調酸素及免疫球蛋白片段之蛋白質接合物的液態製劑
- <130> OPA13128-TW-D1D1
- <140> 108101828
- <141> 2013-11-06
- <150> KR 10-2012-0124725
- <151> 2012-11-06
- <160> 55
- <170> PatentIn version 3.5
- <210> 1
- <211> 37
- <212> PRT
- <213> 智人
- <220>
- <221> MISC_FEATURE
- <222> (1)..(37)
- <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
調酸素衍生物多肽結構
- <220>
- <221> 變體
- <222> (1)..(1)

<223> Xaa = 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
調酸素衍生物多肽結構

<220>

<221> 變體

<222> (1)..(1)

<223> Xaa = 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
調酸素衍生物多肽結構

<220>

<221> 變體

<222> (1)..(1)

<223> Xaa = 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
調酸素衍生物多肽結構

<220>
<221> 變體
<222> (1)..(1)
<223> Xaa = 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
35

<210> 6
<211> 42
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列敘述:合成之
調酸素衍生物多肽結構

<220>
<221> 變體

<222> (1)..(1)
<223> Xaa = 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
調酸素衍生物多肽結構

<220>
<221> 變體
<222> (1)..(1)
<223> Xaa = 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
調酸素衍生物胜肽結構

<220>
<221> 變體

<222> (1)..(1)
<223> Xaa = 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
調酸素衍生物多肽結構

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

<220>
<221> 變體
<222> (20)..(20)
<223> Xaa = 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
調酸素衍生物多肽結構

<220>

<221> 變體
<222> (1)..(1)
<223> Xaa = 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
調酸素衍生物多肽結構

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

<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

<220>
<223> 人工序列敘述:合成之
調酸素衍生物多肽結構

<220>
<221> 變體
<222> (1)..(1)
<223> Xaa = 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
調酸素衍生物多肽結構

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

<220>
<221> 變體
<222> (16)..(16)
<223> Xaa = α -甲基-麩胺酸

<220>
<221> 變體
<222> (20)..(20)
<223> Xaa = 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

<220>
<223> 人工序列敘述：合成之
調酸素衍生物多肽結構

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

<220>
<221> 變體
<222> (20)..(20)
<223> Xaa = α -甲基-麩胺酸

<220>
<221> 變體
<222> (24)..(24)
<223> Xaa = 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 ValXaa 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
調酸素衍生物多肽結構

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

<220>
<221> 變體
<222> (24)..(24)

<223> Xaa = 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
調酸素衍生物多肽結構

<220>

<221> 變體

<222> (1)..(1)

<223> Xaa = 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
調酸素衍生物多肽結構

<220>

<221> 變體

<222> (1)..(1)
<223> Xaa = 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
調酸素衍生物多肽結構

<220>
<221> 變體
<222> (1)..(1)
<223> Xaa = 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
調酸素衍生物多肽結構

<220>

<221> 變體
<222> (1)..(1)
<223> Xaa = 4-咪唑基乙醯基

<220>
<221> 變體
<222> (16)..(20)
<223> 位置 16 及位置 20 的胺基酸形成環

<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
調酸素衍生物多肽結構

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

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

<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
調酸素衍生物多肽結構

<220>
<221> 變體
<222> (1)..(1)
<223> Xaa = 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
調酸素衍生物多肽結構

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

<220>
<221> 變體
<222> (16)..(20)
<223> 位置 16 及位置 20 的胺基酸形成環

<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
調酸素衍生物胜肽結構

<220>
<221> 變體
<222> (2)..(2)
<223> Xaa = 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
調酸素衍生物多肽結構

<220>
<221> 變體
<222> (2)..(2)
<223> Xaa = 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
調酸素衍生物多肽結構

<220>
<221> 變體
<222> (2)..(2)
<223> Xaa = 胺基異丁酸

<220>
<221> 變體
<222> (16)..(20)
<223> 位置 16 及位置 20 的胺基酸形成環

<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
調酸素衍生物多肽結構

<220>
<221> 變體
<222> (2)..(2)
<223> Xaa = 胺基異丁酸

<220>
<221> 變體
<222> (12)..(16)
<223> 位置 16 及位置 20 的胺基酸形成環

<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
調酸素衍生物胜肽結構

<220>
<221> 變體
<222> (2)..(2)
<223> Xaa = 胺基異丁酸

<220>
<221> 變體
<222> (16)..(20)
<223> 位置 16 及位置 20 的胺基酸形成環

<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
調酸素衍生物胜肽結構

<220>
<221> 變體
<222> (2)..(2)
<223> Xaa = 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
調酸素衍生物多肽結構

<220>

<221> 變體

<222> (2)..(2)

<223> Xaa = 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
調酸素衍生物多肽結構

<220>

<221> 變體

<222> (1)..(1)

<223> Xaa = 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
調酸素衍生物多肽結構

<220>

<221> 變體

<222> (1)..(1)

<223> Xaa = 4-咪唑基乙醯基

<220>

<221> 變體

<222> (2)..(2)

<223> Xaa = 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
多肽調酸素衍生物

<220>

<221> 變體

<222> (1)..(1)

<223> Xaa = 4-咪唑基乙醯基

<220>

<221> 變體

<222> (2)..(2)

<223> Xaa = 胺基異丁酸

<220>

<221> 變體

<222> (16)..(20)

<223> 位置 16 及位置 20 的胺基酸形成環

<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
多肽調酸素衍生物

<220>
<221> 變體
<222> (2)..(2)
<223> Xaa = 胺基異丁酸

<220>
<221> 變體
<222> (16)..(20)
<223> 位置 16 及位置 20 的胺基酸形成環

<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
多肽調酸素衍生物

<220>
<221> 變體
<222> (2)..(2)
<223> Xaa = 胺基異丁酸

<220>
<221> 變體

<222> (16)..(20)
<223> 位置 16 及位置 20 的胺基酸形成環

<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

<210> 35
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列敘述:合成之
基團 R2 之胜肽結構

<400> 35
Lys Arg Asn Arg Asn Asn Ile Ala
1 5

<210> 36
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列敘述:合成之
基團 R2 之胜肽結構

<400> 36
Gly Pro Ser Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser
1 5 10

<210> 37
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列敘述:合成之
基團 R2 之胜肽結構

<400> 37
Gly Pro Ser Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Lys
1 5 10

<210> 38

<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列敘述:合成之
基團 R2 之胜肽結構

<400> 38
His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp
1 5 10 15

<210> 39
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列敘述:合成之
基團 R2 之胜肽結構

<400> 39
His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Arg Tyr Leu Asp Lys
1 5 10 15

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

<220>
<223> 人工序列敘述:合成之
基團 R2 之胜肽結構

<400> 40
His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Lys
20

<210> 41
<211> 28
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列敘述:合成之
基團 A 或 B 之胜肽結構

<400> 41

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

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

<210> 42
<211> 28
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列敘述:合成之
基團 A 或 B 之胜肽結構

<400> 42
Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu Glu
1 5 10 15

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

<210> 43
<211> 28
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列敘述:合成之
基團 A 或 B 之胜肽結構

<400> 43
Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu Arg
1 5 10 15

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

<210> 44
<211> 28
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列敘述:合成之
基團 A 或 B 之胜肽結構

<400> 44
Gly Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Arg Tyr Leu Glu Glu Glu

15

15

15

15

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

<210> 45
<211> 28
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列敘述:合成之
基團 A 或 B 之胜肽結構

<400> 45
Gly Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Arg Gln Met Glu Glu Glu
1 5 10 15

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

<210> 46
<211> 26
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列敘述:合成之
基團 A 或 B 之胜肽結構

<400> 46
Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Arg Gln Met Glu Glu Glu
1 5 10 15

Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Ala Ala
20 25

<210> 47
<211> 28
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列敘述:合成之
基團 A 或 B 之胜肽結構

<400> 47
Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Arg Gln Met Glu Glu Glu
1 5 10 15

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

<210> 48
<211> 24
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列敘述：合成之
基團 B 之胜肽結構

<400> 48
Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Arg Gln Met Glu Glu Glu
1 5 10 15

Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp
20

<210> 49
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列敘述：合成之
基團 B 之胜肽結構

<400> 49
Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Arg Tyr Leu Asp
1 5 10

<210> 50
<211> 60
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列敘述：合成之
多肽

<220>
<221> 變體
<222> (1)..(1)
<223> 組胺酸，去胺基組胺醯基，二甲基-組胺醯基(N-二甲基-
組胺醯基)，β-羥基咪唑基丙醯基，4-咪唑基乙醯基，
β-羧基咪唑基丙醯基或酪胺酸

<220>

- <221> 變體
<222> (2)..(2)
<223> Aib (胺基異丁酸), d-丙胺酸, 甘胺酸,
Sar (N-甲基甘胺酸), 絲胺酸或 d-絲胺酸
- <220>
<221> 變體
<222> (3)..(3)
<223> 麩胺酸或麩胺醯胺
- <220>
<221> 變體
<222> (10)..(10)
<223> 白胺酸或酪胺酸
- <220>
<221> 變體
<222> (11)..(11)
<223> 絲胺酸或丙胺酸
- <220>
<221> 變體
<222> (12)..(12)
<223> 賴胺酸或精胺酸
- <220>
<221> 變體
<222> (13)..(13)
<223> 麩胺醯胺或酪胺酸
- <220>
<221> 變體
<222> (14)..(14)
<223> 白胺酸或甲硫胺酸
- <220>
<221> 變體
<222> (15)..(15)
<223> 天冬胺酸或麩胺酸
- <220>
<221> 變體
<222> (16)..(16)
<223> 麩胺酸, 絲胺酸, α -甲基-麩胺酸
或缺失
- <220>
<221> 變體
<222> (17)..(17)
<223> 麩胺醯胺, 麩胺酸, 賴胺酸, 精胺酸, 絲胺酸
或缺失
- <220>
<221> 變體

- <222> (18)..(18)
<223> 丙胺酸，精胺酸，纈胺酸或缺失
- <220>
<221> 變體
<222> (19)..(19)
<223> 丙胺酸，精胺酸，絲胺酸，纈胺酸或缺失
- <220>
<221> 變體
<222> (20)..(20)
<223> 賴胺酸，麩胺醯胺，精胺酸， α -甲基-麩胺酸或缺失
- <220>
<221> 變體
<222> (21)..(21)
<223> 天冬胺酸，麩胺酸，白胺酸或缺失
- <220>
<221> 變體
<222> (22)..(22)
<223> 可存在或缺失
- <220>
<221> 變體
<222> (23)..(23)
<223> 異白胺酸，纈胺酸或缺失
- <220>
<221> 變體
<222> (24)..(24)
<223> 丙胺酸，半胱胺酸，麩胺酸，賴胺酸，麩胺醯胺， α -甲基-麩胺酸或缺失
- <220>
<221> 變體
<222> (25)..(25)
<223> 可存在或缺失
- <220>
<221> 變體
<222> (26)..(26)
<223> 丙胺酸，異白胺酸，白胺酸，絲胺酸，纈胺酸或缺失
- <220>
<221> 變體
<222> (27)..(27)
<223> 丙胺酸，賴胺酸，甲硫胺酸，麩胺醯胺，精胺酸或缺失
- <220>
<221> 變體
<222> (28)..(28)

- <223> 可存在或缺失
- <220>
- <221> 變體
- <222> (29)..(29)
- <223> 丙胺酸, 甘胺酸, 蘇胺酸或缺失
- <220>
- <221> 變體
- <222> (30)..(30)
- <223> 半胱胺酸, 賴胺酸或缺失
- <220>
- <221> 變體
- <222> (31)..(40)
- <223> 丙胺酸, 甘胺酸, 絲胺酸或缺失
- <220>
- <221> 變體
- <222> (31)..(40)
- <223> 此區域可包括 2 至 10 個胺基酸, 其中一些位置可為缺失
- <220>
- <221> 變體
- <222> (41)..(60)
- <223> 此區域可包括 8 至 20 個胺基酸, 包含
"KRRNRNNIA" 或 "GPSSGAPPPS" 或 "GPSSGAPPPSK" 或
"HSQGTFTSDYSKYLD"
或 "HSQGTFTSDYSRYLDK" 或 "HGEFTFTSDLSKQMEEAAVK," 其中一些或全部位置可為缺失
- <220>
- <223> 詳細敘述參閱所提之說明書中關於取代和較佳實施例
- <400> 50
Xaa Xaa Xaa Gly Thr Phe Thr Ser Asp Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5 10 15

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Phe Xaa Xaa Trp Xaa Xaa Asn Xaa Xaa Xaa Xaa
20 25 30

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
35 40 45

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
50 55 60
- <210> 51
- <211> 40
- <212> PRT

- <213> 人工序列
- <220>
- <223> 人工序列敘述：合成之多肽
- <220>
- <221> 變體
- <222> (1)..(1)
- <223> 組胺酸，去胺基組胺醯基，二甲基-組胺醯基(N-二甲基-組胺醯基)，β-羥基咪唑基丙醯基，4-咪唑基乙醯基，β-羧基咪唑基丙醯基或酪胺酸
- <220>
- <221> 變體
- <222> (2)..(29)
- <223> 此區域可包括 26 至 28 個胺基酸，包含
"SQGTFTSDYSKYLSRRAQDFVQWLMNT" 或
"SQGTFTSDYSKYLDDEEAVRLFIEWLMNT"
或 "SQGTFTSDYSKYLDERRAQDFVAWLKNT" 或
"GGGTFTSDYSRYLEEEAVRLFIEWLKNG" 或
"GGGTFTSDYSRQMEEEAVRLFIEWLKNG"
- <220>
- <221> 變體
- <222> (2)..(29)
- <223> 承上；或 "GEGTFTSDLSRQMEEEAVRLFIEWAA" 或
"SQGTFTSDYSRQMEEEAVRLFIEWLMNG," 其中一些位置
可為缺失
- <220>
- <221> 變體
- <222> (30)..(40)
- <223> 此區域可包括 8 至 11 個胺基酸，包含
"KRNRNNIA" 或 "GPSSGAPPPS" 或 "GPSSGAPPPSK," 其中一些
位置可為缺失
- <220>
- <223> 詳細敘述參閱所提之說明書中
關於取代和較佳實施例
- <400> 51
- Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

1 5 10 15
- Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

20 25 30
- Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

35 40
- <210> 52
- <211> 59

- <212> PRT
<213> 人工序列
- <220>
<223> 人工序列敘述：合成之多肽
- <220>
<221> 變體
<222> (1)..(1)
<223> 組胺酸，去胺基組胺醯基，二甲基-組胺醯基(N-二甲基-組胺醯基)，β-羥基咪唑基丙醯基，4-咪唑基乙醯基，β-羧基咪唑基丙醯基或酪胺酸
- <220>
<221> 變體
<222> (2)..(29)
<223> 此區域可包括 14 至 28 個胺基酸，包含
"SQGTFTSDYSKYLSRRAQDFVQWLMNT" 或
"SQGTFTSDYSKYLDDEEAVRLFIEWLMNT"
或 "SQGTFTSDYSKYLDERRAQDFVAWLKNT" 或
"GQGTFTSDYSRYLEEEAVRLFIEWLKNG" 或
"GQGTFTSDYSRQMEEEAVRLFIEWLKNG"
- <220>
<221> 變體
<222> (2)..(29)
<223> 承上；或 "GEGTFTSDLSRQMEEEAVRLFIEWAA" 或
"SQGTFTSDYSRQMEEEAVRLFIEWLMNG" 或 "GEGTFTSDLSRQMEEEAVRLFIEW"
或 "SQGTFTSDYSRYLD," 其中一些位置可為缺失
- <220>
<221> 變體
<222> (30)..(39)
<223> 丙胺酸，甘胺酸，絲胺酸或缺失
- <220>
<221> 變體
<222> (30)..(39)
<223> 此區域可包括 2 至 10 個胺基酸，其中一些位置可為缺失
- <220>
<221> 變體
<222> (40)..(59)
<223> 此區域可包括 15 至 20 個胺基酸，包含
"HSQGTFTSDYSKYLD" 或 "HSQGTFTSDYSRYLDK" 或
"HGEGTFTSDLSKQMEEEAVK," 其中一些位置可為缺失
- <220>
<223> 詳細敘述參閱所提之說明書中關於取代和較佳實施例
- <400> 52
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5 10 15

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
20 25 30

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
35 40 45

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
50 55

- <210> 53
- <211> 40
- <212> PRT
- <213> 人工序列
- <220>
- <223> 人工序列敘述：合成之多肽

- <220>
- <221> 變體
- <222> (1)..(1)
- <223> 組胺酸，去胺基組胺醯基，二甲基-組胺醯基(N-二甲基-組胺醯基)，β-羥基咪唑基丙醯基，4-咪唑基乙醯基，β-羧基咪唑基丙醯基 或 酪胺酸

- <220>
- <221> 變體
- <222> (16)..(16)
- <223> 絲胺酸，麩胺酸或精胺酸

- <220>
- <221> 變體
- <222> (17)..(17)
- <223> 精胺酸，麩胺酸或絲胺酸

- <220>
- <221> 變體
- <222> (18)..(18)
- <223> 精胺酸，丙胺酸或纈胺酸

- <220>
- <221> 變體
- <222> (19)..(19)
- <223> 精胺酸，纈胺酸或絲胺酸

- <220>
- <221> 變體
- <222> (20)..(20)
- <223> 麩胺醯胺，精胺酸或賴胺酸

<220>
<221> 變體
<222> (26).. (26)
<223> 異白胺酸，纈胺酸或絲胺酸

<220>
<221> 變體
<222> (27).. (27)
<223> 甲硫胺酸，精胺酸或麩胺醯胺

<220>
<221> 變體
<222> (29).. (29)
<223> 蘇胺酸，甘胺酸或丙胺酸

<220>
<221> 變體
<222> (30).. (40)
<223> 此區域可包括 8 至 11 個胺基酸，包含
"KRNRNNIA" 或 "GPSSGAPPPS" 或 "GPSSGAPPPSK," 其中一些
位置可為缺失

<220>
<223> 詳細敘述參閱所提之說明書中
關於取代和較佳實施例

<400> 53
Xaa Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Xaa
1 5 10 15

Xaa Xaa Xaa Xaa Leu Phe Val Gln Trp Xaa Xaa Asn Xaa Xaa Xaa Xaa
20 25 30

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
35 40

<210> 54
<211> 41
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列敘述：合成之
多肽

<220>
<221> 變體
<222> (1).. (1)
<223> 組胺酸，去胺基組胺醯基，二甲基-組胺醯基(N-二甲基-
組胺醯基)，β-羥基咪唑基丙醯基，4-咪唑基乙醯基，

β -羧基咪唑基丙醯基 或 酪胺酸

<220>	
<221>	變體
<222>	(2)..(2)
<223>	絲胺酸, Aib, 甲基甘胺酸, d-丙胺酸 或 d-絲胺酸

<220>	
<221>	變體
<222>	(16)..(16)
<223>	絲胺酸或麩胺酸

<220>	
<221>	變體
<222>	(17)..(17)
<223>	精胺酸或賴胺酸

<220>	
<221>	變體
<222>	(20)..(20)
<223>	麩胺醯胺或賴胺酸

<220>
<221> 變體
<222> (21)..(21)
<223> 天冬胺酸或麩胺酸

<220>
<221> 變體
<222> (24)..(24)
<223> 麩胺醯胺, 半胱胺酸或賴胺酸

<220>	
<221>	變體
<222>	(30)..(30)
<223>	半胱胺酸, 賴胺酸或缺失

<220>
<221> 變體
<222> (31)..(41)
<223> 此區域可包括 8 至 11 個胺基酸，包含
"KRNRNNIA" 或 "GPSSGAPPPS" 或 "GPSSGAPPPSK," 其中一些
或全部位置可為缺失

〈220〉
〈223〉 詳細敘述參閱所提之說明書中
關於取代和較佳實施例

<400> 54
Xaa Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Xaa
1 5 10 15

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

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
35 40

- <210> 55
- <211> 60
- <212> PRT
- <213> 人工序列

- <220>
- <223> 人工序列敘述：合成之多肽

- <220>
- <221> 變體
- <222> (1)..(1)
- <223> 組胺酸，去胺基組胺醯基，4-咪唑基乙醯基或酪胺酸

- <220>
- <221> 變體
- <222> (2)..(2)
- <223> Aib（胺基異丁酸），甘胺酸或絲胺酸

- <220>
- <221> 變體
- <222> (3)..(3)
- <223> 麩胺酸或麩胺醯胺

- <220>
- <221> 變體
- <222> (10)..(10)
- <223> 白胺酸或酪胺酸

- <220>
- <221> 變體
- <222> (11)..(11)
- <223> 絲胺酸或丙胺酸

- <220>
- <221> 變體
- <222> (12)..(12)
- <223> 賴胺酸或精胺酸

- <220>
- <221> 變體
- <222> (13)..(13)
- <223> 麩胺醯胺或酪胺酸

- <220>
- <221> 變體
- <222> (14)..(14)
- <223> 白胺酸或甲硫胺酸

- >
<220>
<221> 變體
<222> (15)..(15)
<223> 天冬胺酸或麩胺酸
- <220>
<221> 變體
<222> (16)..(16)
<223> 麩胺酸, α -甲基-麩胺酸或缺失
- <220>
<221> 變體
<222> (17)..(17)
<223> 麩胺醯胺, 麩胺酸, 賴胺酸, 精胺酸或缺失
- <220>
<221> 變體
<222> (18)..(18)
<223> 丙胺酸, 精胺酸或缺失
- <220>
<221> 變體
<222> (19)..(19)
<223> 丙胺酸, 纈胺酸或缺失
- <220>
<221> 變體
<222> (20)..(20)
<223> 賴胺酸, 麩胺醯胺, 精胺酸, α -甲基-麩胺酸或缺失
- <220>
<221> 變體
<222> (21)..(21)
<223> 天冬胺酸, 麩胺酸, 白胺酸或缺失
- <220>
<221> 變體
<222> (22)..(22)
<223> 可存在或缺失
- <220>
<221> 變體
<222> (23)..(23)
<223> 異白胺酸, 纈胺酸或缺失
- <220>
<221> 變體
<222> (24)..(24)
<223> 丙胺酸, 半胱胺酸, 麩胺酸, 麩胺醯胺, α -甲基-麩胺酸或缺失
- <220>
<221> 變體

<222> (25)..(25)
<223> 可存在或缺失

<220>
<221> 變體
<222> (26)..(26)
<223> 丙胺酸，異白胺酸，白胺酸，纈胺酸或缺失

<220>
<221> 變體
<222> (27)..(27)
<223> 丙胺酸，賴胺酸，甲硫胺酸，精胺酸或缺失

<220>
<221> 變體
<222> (28)..(29)
<223> 可存在或缺失

<220>
<221> 變體
<222> (30)..(30)
<223> 半胱胺酸，賴胺酸或缺失

<220>
<221> 變體
<222> (31)..(40)
<223> 此區域可包括 2 至 10 個殘基，其中一些位置可為缺失

<220>
<221> 變體
<222> (41)..(60)
<223> 此區域可包括 8 至 20 個胺基酸，包含
"KRNRNNIA" 或 "GPSSGAPPPS" 或 "GPSSGAPPPSK" 或
"HSQGTFTSDYSKYLD"
或 "HSQGTFTSDYSRYLDK" 或 "HGEGTFTSDLSKQMEEEAVK," 其中一些或全部位置可為缺失

<220>
<223> 詳細敘述參閱所提之說明書中關於取代和較佳實施例

<400> 55
Xaa Xaa Xaa Gly Thr Phe Thr Ser Asp Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5 10 15

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Phe Xaa Xaa Trp Xaa Xaa Asn Thr Xaa Gly Gly
20 25 30

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
35 40 45

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
50 55 60

申請專利範圍

1. 一種長效型調酸素衍生物接合物之液態製劑，包含：藥理活性量之長效型調酸素衍生物接合物，其中該調酸素衍生物接合物包含：

為生理活性肽之調酸素衍生物，包含 SEQ ID NO：

7 至 23、27 至 31、33 及 34 之任一胺基酸序列；

免疫球蛋白 Fc 區；以及

非肽基聚合物，其中該非肽基聚合物係共價連接於該調酸素衍生物和該免疫球蛋白 Fc 區；以及

不含白蛋白之安定劑，其中該安定劑含有 pH 範圍為 4.8 至 6.4 之緩衝劑、選自甘露糖醇或山梨糖醇所成群組之糖醇與聚山梨醇酯 20，

其中該糖醇於該液態製劑中之濃度為 5 至 10% (w/v)；以及

其中該聚山梨醇酯 20 於該液態製劑中之濃度為 0.001 至 0.1% (w/v)。

2. 如申請專利範圍第 1 項所述之長效型調酸素衍生物接合物之液態製劑，其中該安定劑進一步含有等滲劑、糖、多元醇或胺基酸。
3. 如申請專利範圍第 1 或 2 項所述之長效型調酸素衍生物接合物之液態製劑，其中該免疫球蛋白 Fc 區係衍生自 IgG、IgA、IgD、IgE 或 IgM 之 Fc 區。
4. 如申請專利範圍第 3 項所述之長效型調酸素衍生物接合物之液態製劑，其中該免疫球蛋白 Fc 區之各功能區

係源自 IgG、IgA、IgD、IgE 或 IgM 之功能區之雜合體。

5. 如申請專利範圍第 3 項所述之長效型調酸素衍生物接合物之液態製劑，其中該免疫球蛋白 Fc 區係由相同來源功能區構成的單鏈免疫球蛋白所組成之二聚體或多聚體。
6. 如申請專利範圍第 3 項所述之長效型調酸素衍生物接合物之液態製劑，其中該免疫球蛋白 Fc 區為 IgG4Fc 區。
7. 如申請專利範圍第 6 項所述之長效型調酸素衍生物接合物之液態製劑，其中該免疫球蛋白 Fc 區為人類無醯基化 IgG4Fc 區。
8. 如申請專利範圍第 1 或 2 項所述之長效型調酸素衍生物接合物之液態製劑，其中該非肽基聚合物為聚乙二醇、聚丙二醇、乙二醇/丙二醇共聚物、聚氧乙烯化多元醇、聚乙烯醇、多醣、聚乙烯乙醚、聚乳酸(PLA)、聚乳酸-乙醇酸(PLGA)、脂質聚合物、玻尿酸或其組合。
9. 如申請專利範圍第 8 項所述之長效型調酸素衍生物接合物之液態製劑，其中該非肽基聚合物為聚乙二醇。
10. 如申請專利範圍第 8 項所述之長效型調酸素衍生物接合物之液態製劑，其中該多醣為聚葡醣、幾丁質或其組合。
11. 如申請專利範圍第 1 或 2 項所述之長效型調酸素衍生物接合物之液態製劑，其中該緩衝劑為檸檬酸鹽、乙酸鹽、組胺酸或磷酸鹽緩衝劑。

12. 如申請專利範圍第 2 項所述之長效型調酸素衍生物接合物之液態製劑，其中該等滲劑為氯化鈉。
13. 如申請專利範圍第 2 項所述之長效型調酸素衍生物接合物之液態製劑，其中該胺基酸為甲硫胺酸。
14. 如申請專利範圍第 1 或 2 項所述之長效型調酸素衍生物接合物之液態製劑，其中該安定劑含有 pH 範圍為 4.8 至 6.0 之緩衝劑、甘露糖醇或山梨糖醇、及聚山梨醇酯 20。
15. 如申請專利範圍第 1 或 2 項所述之長效型調酸素衍生物接合物之液態製劑，進一步包含一或多種防腐劑，該一或多種防腐劑包括間甲酚、苯酚或苧醇。
16. 如申請專利範圍第 15 項所述之長效型調酸素衍生物接合物之液態製劑，其中該防腐劑於該液態製劑中之濃度為 0.001 至 1% (w/v)。
17. 如申請專利範圍第 15 項所述之長效型調酸素衍生物接合物之液態製劑，其中該防腐劑為間甲酚。
18. 如申請專利範圍第 1 或 2 項所述之長效型調酸素衍生物接合物之液態製劑，其中該製劑係供多劑量給藥用。
19. 一種長效型調酸素衍生物接合物之液態製劑，包含：
藥理有效量之長效型調酸素衍生物接合物，其中該調酸素衍生物包含
為生理活性肽之調酸素衍生物，包含 SEQ ID NO：
7 至 23、27 至 31、33 及 34 之任一胺基酸序列；
免疫球蛋白 Fc 區；以及

非肽基聚合物，其中該非肽基聚合物係共價連接於該調酸素衍生物和該免疫球蛋白 Fc 區；以及

5 至 50 mM 之組胺酸；5 至 10% (w/v) 之甘露糖醇；0.01 至 1 mg/mL 之甲硫胺酸；及 0.001 至 0.1% (w/v) 之聚山梨醇酯 20。

20. 如申請專利範圍第 19 項所述之長效型調酸素衍生物接合物之液態製劑，進一步包含 0.001 至 1% (w/v) 之間甲酚。

21. 一種用於製備如申請專利範圍第 1 至 14 項中任一項所述之液態製劑之方法，該方法包括以下步驟：

- a) 製備如申請專利範圍第 1 至 14 項中任一項所述之長效型調酸素衍生物接合物；及
- b) 使步驟 a) 中製備之長效型調酸素衍生物接合物，與含有緩衝劑、糖醇與非離子性界面活性劑之不含白蛋白之安定劑混合。

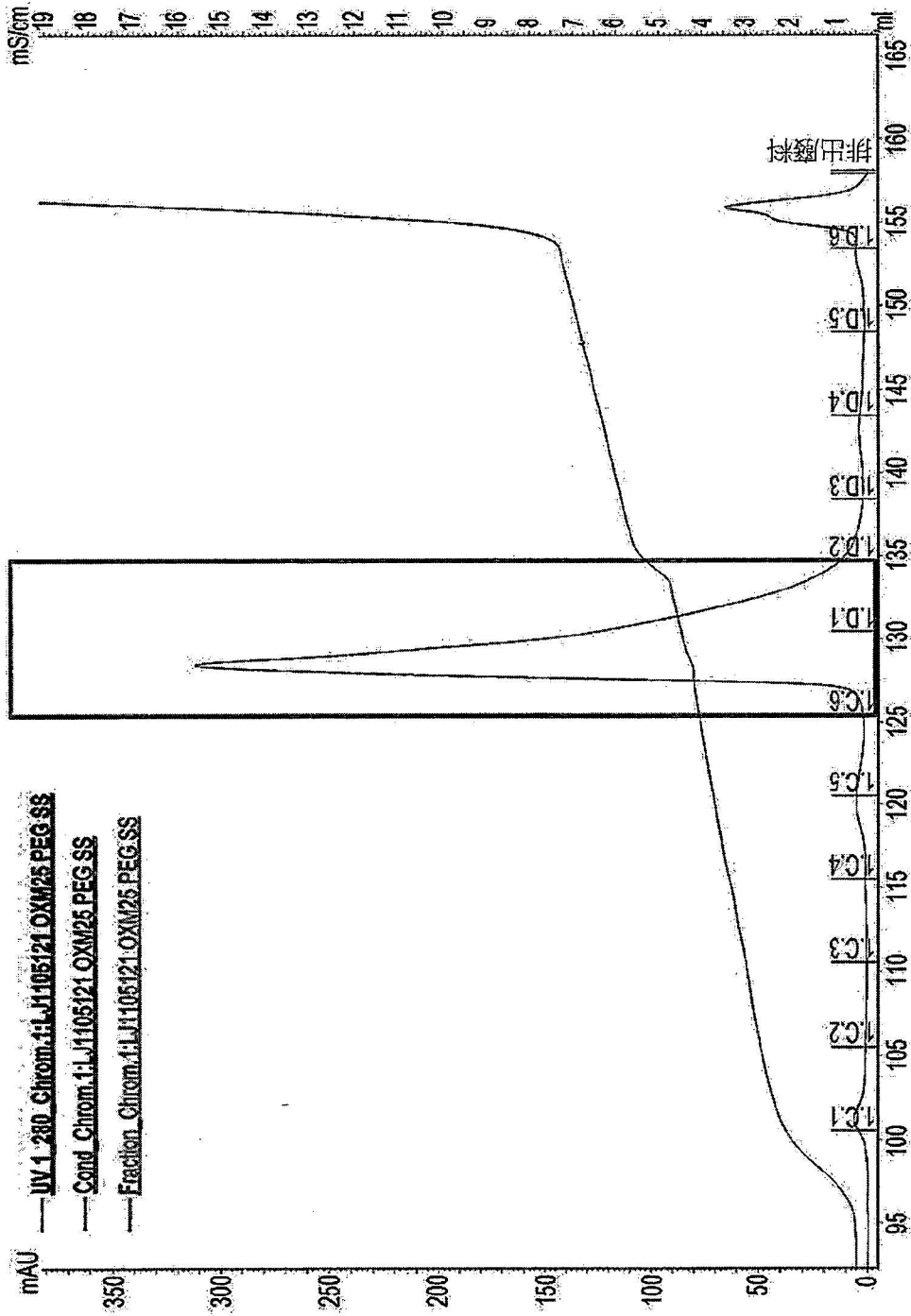
22. 一種用於製備如申請專利範圍第 19 項所述之液態製劑之方法，該方法包括以下步驟：

- a) 製備如申請專利範圍第 19 項所述之長效型調酸素衍生物接合物；及
- b) 使步驟 a) 中製備之長效型調酸素衍生物接合物，與 5 至 50 mM 之組胺酸、5 至 10% (w/v) 之甘露糖醇、0.01 至 1 mg/mL 之甲硫胺酸、及 0.001 至 0.1% (w/v) 之聚山梨醇酯 20 混合。

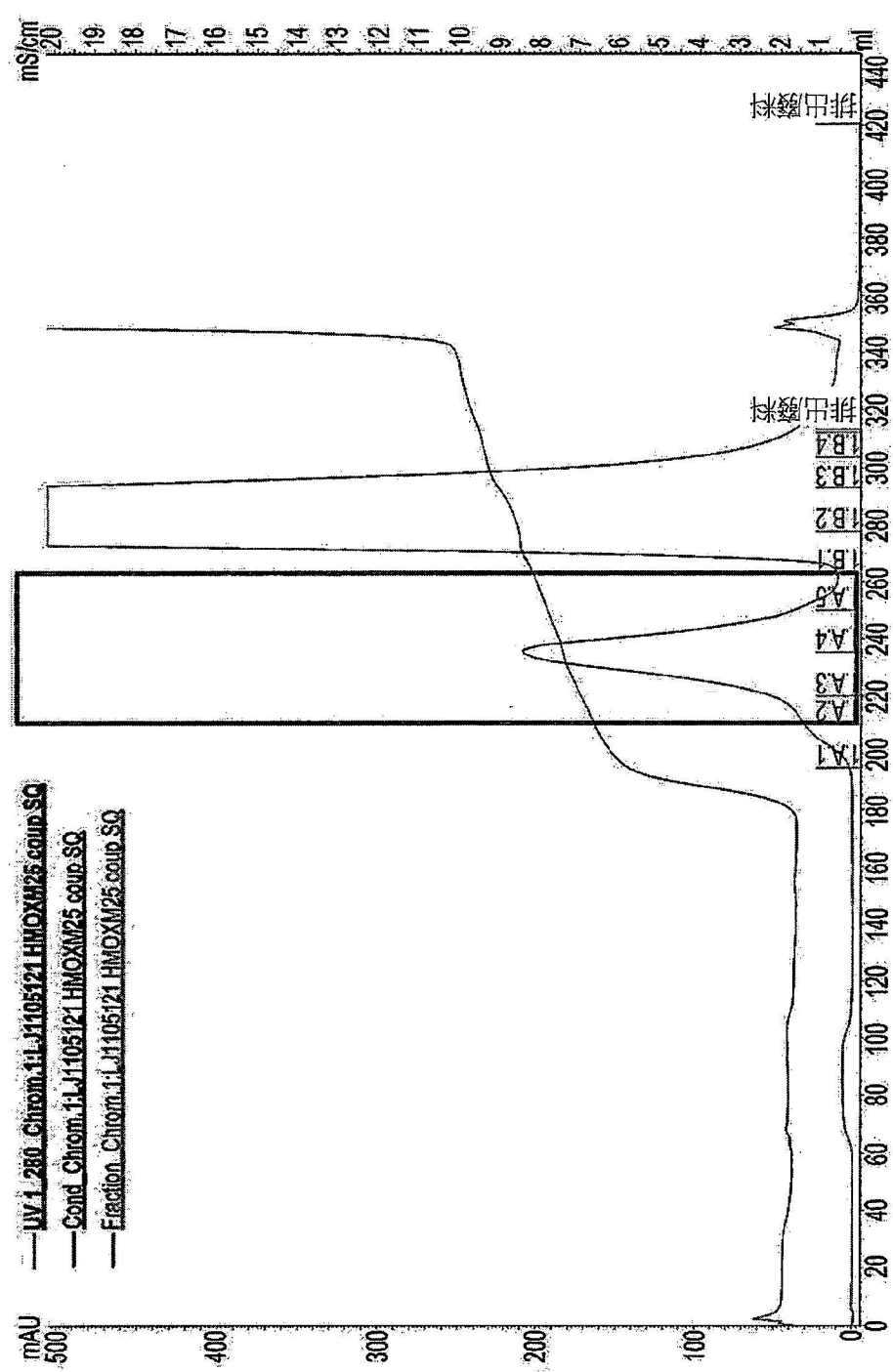
23. 如申請專利範圍第 21 或 22 項所述之方法，進一步包

含使步驟 a) 中製備之長效型調酸素衍生物接合物，與含有等滲劑、糖、多元醇、胺基酸、防腐劑或其組合混合。

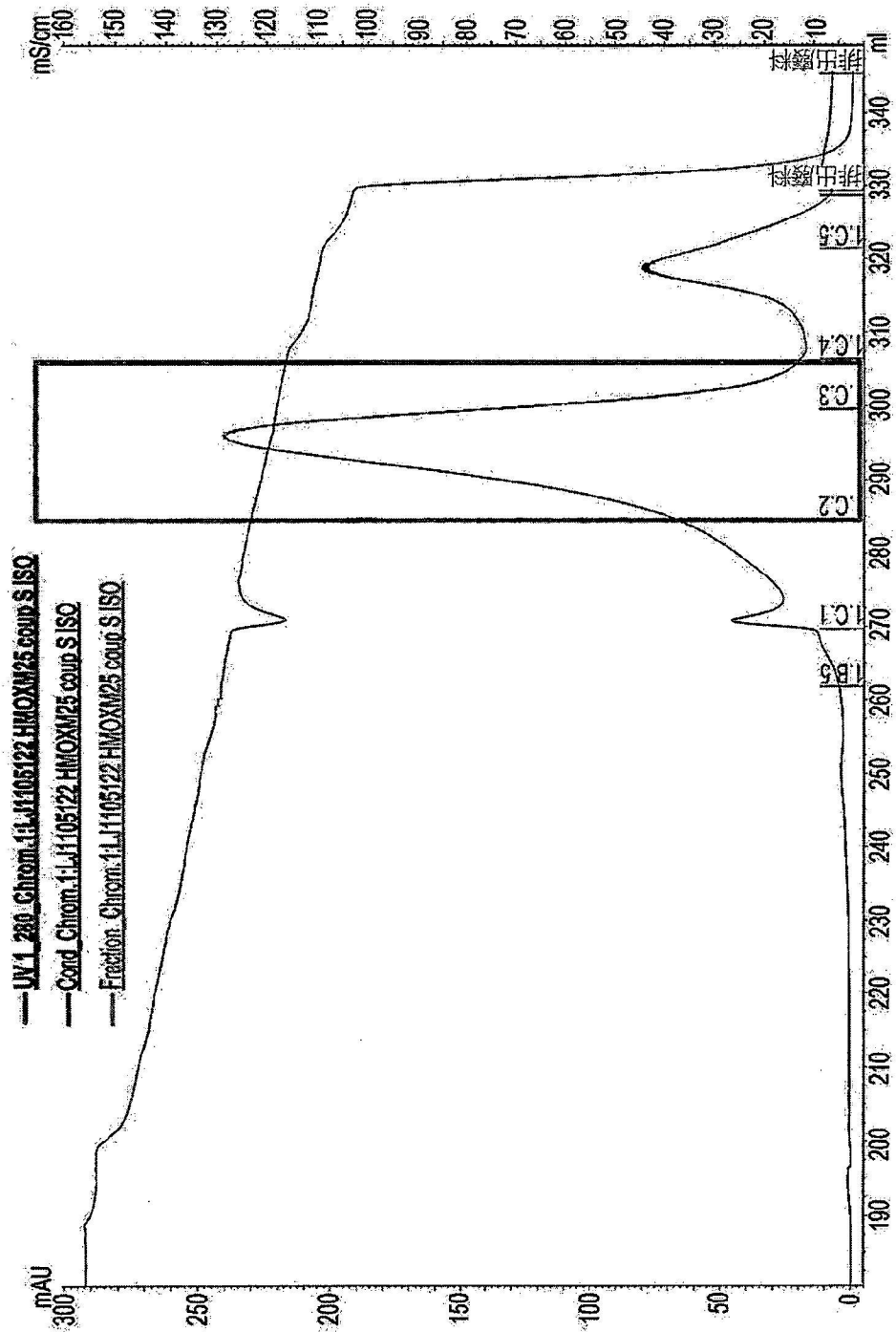
【發明圖式】



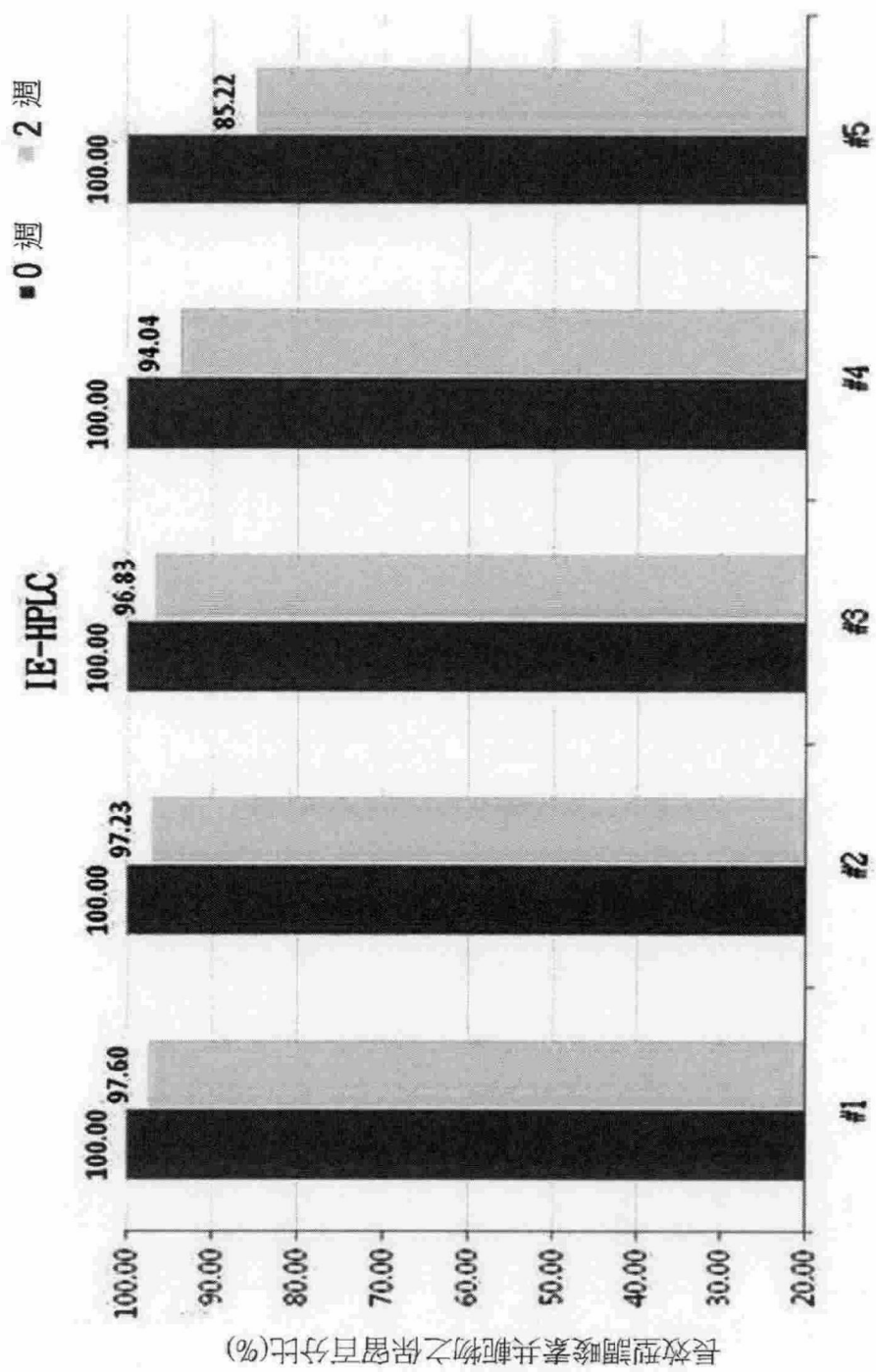
【第1a圖】



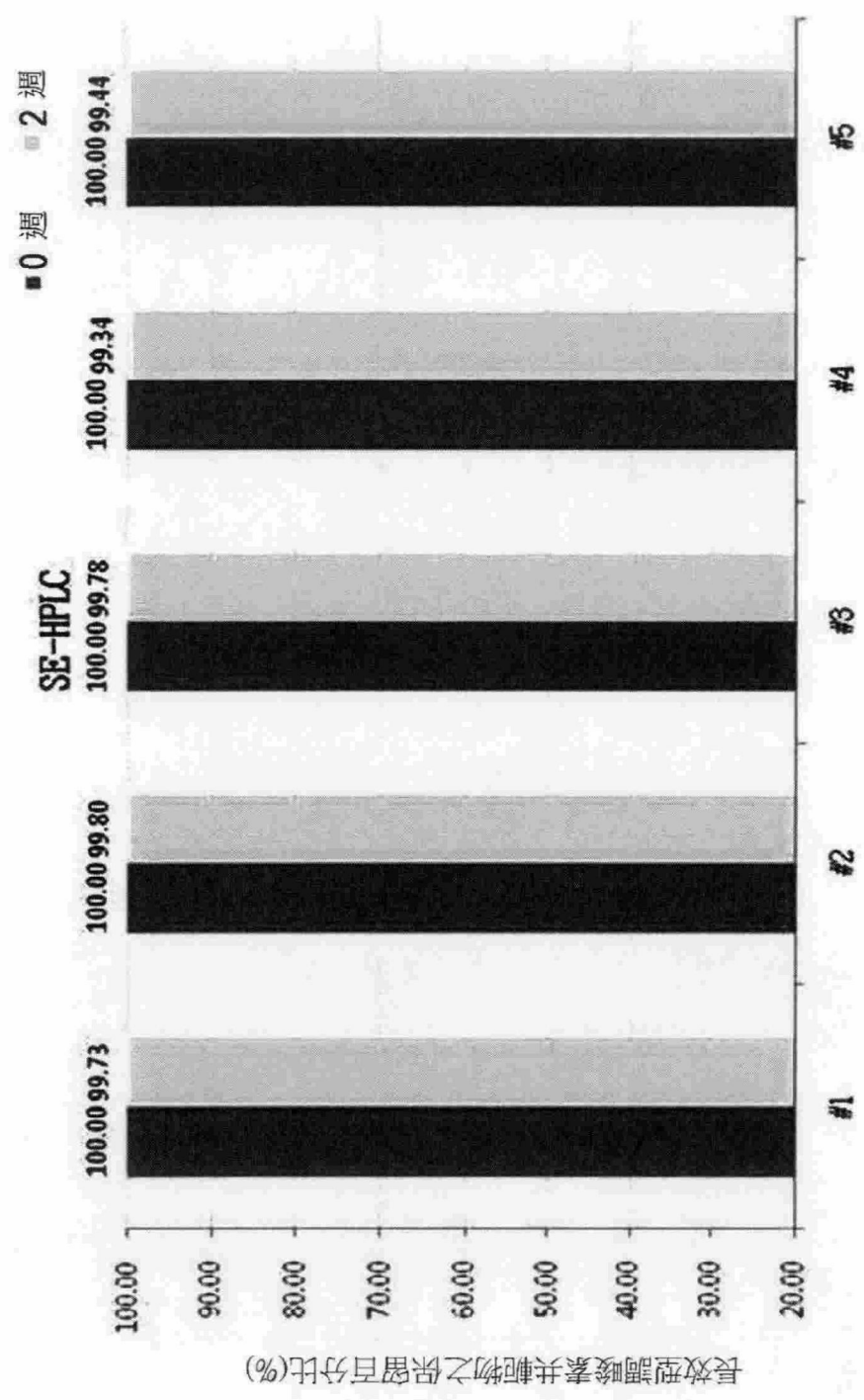
【第1b圖】



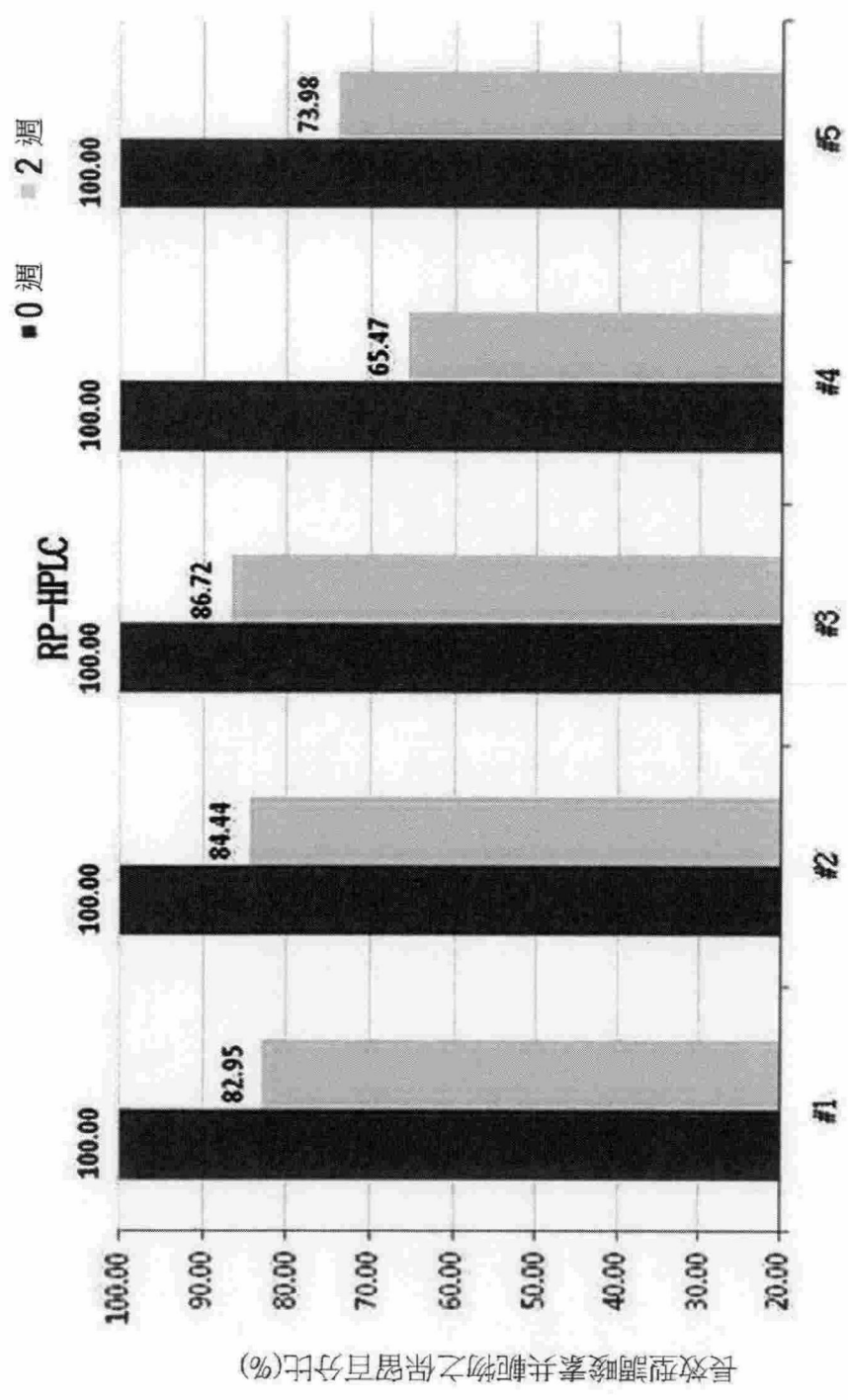
【第1c圖】



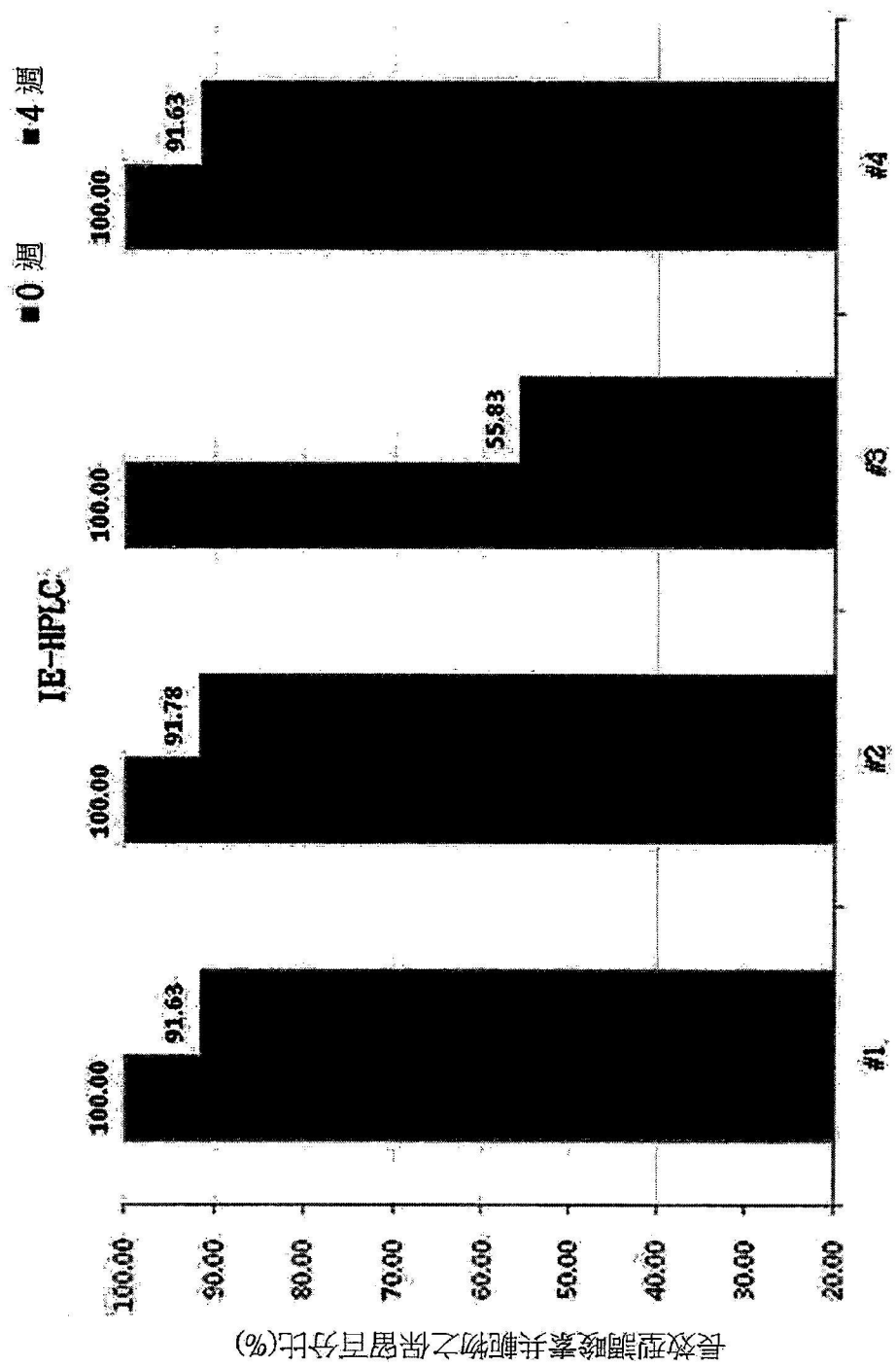
【第2a圖】



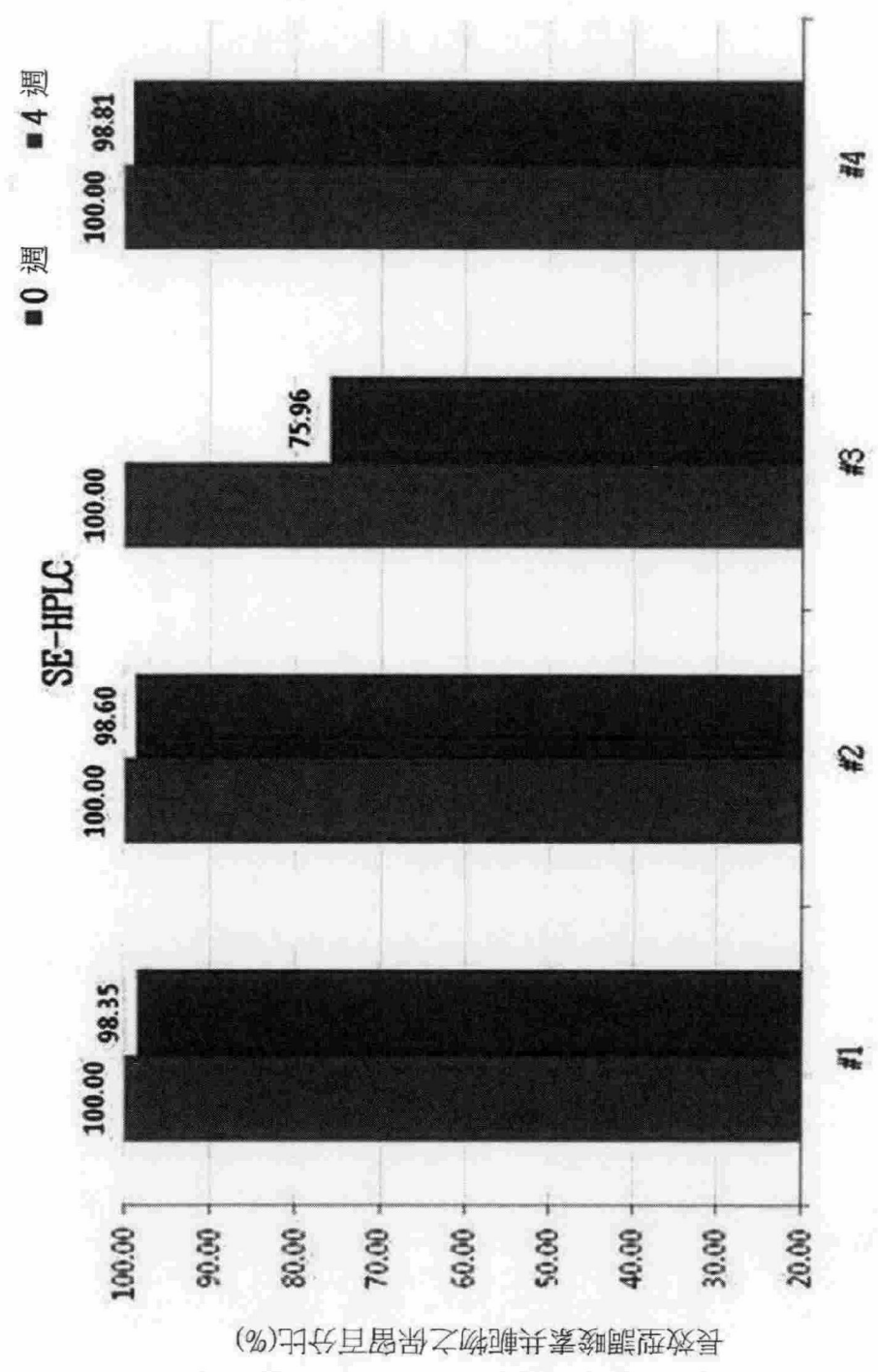
【第2b圖】



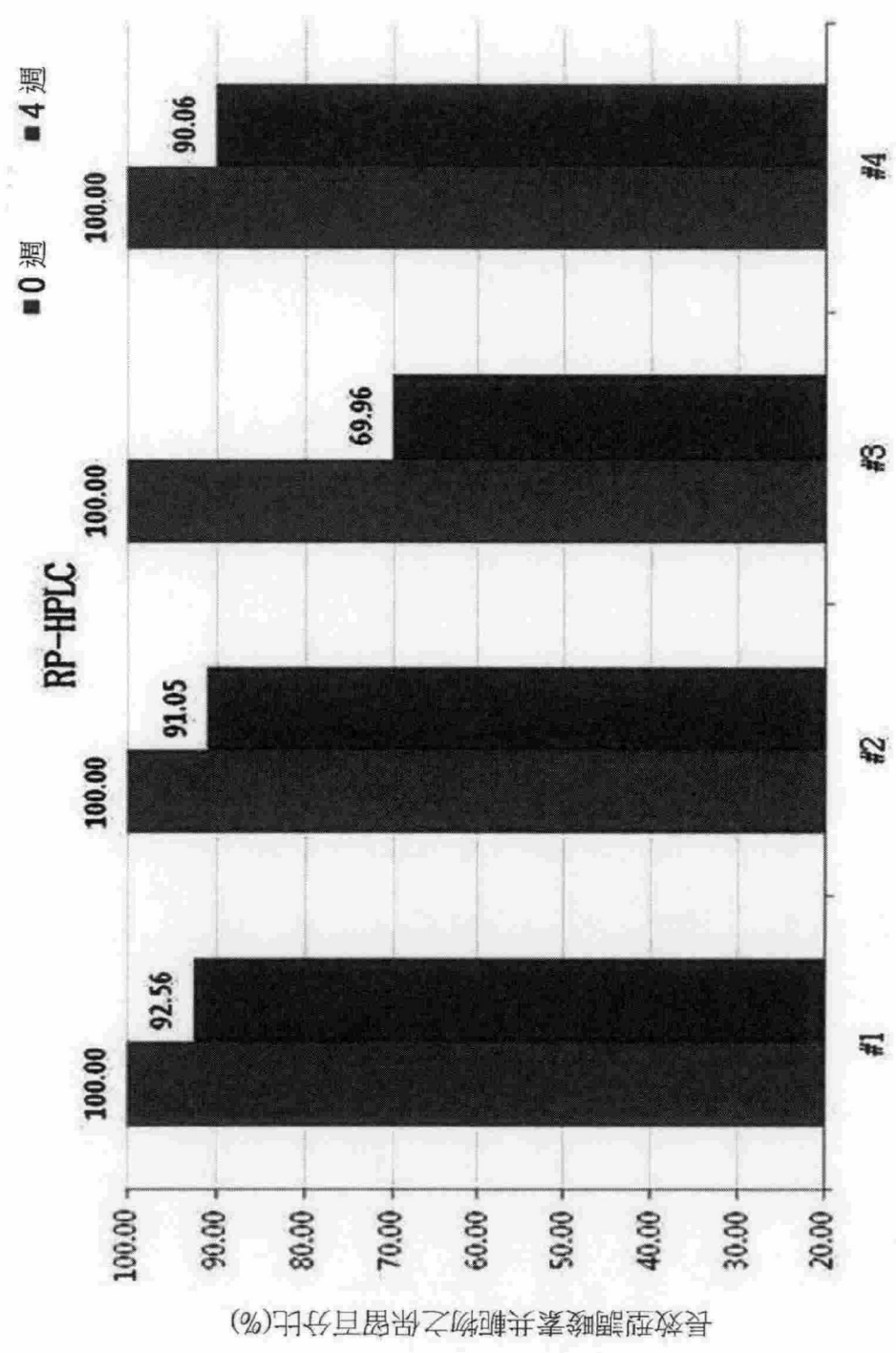
【第2c圖】



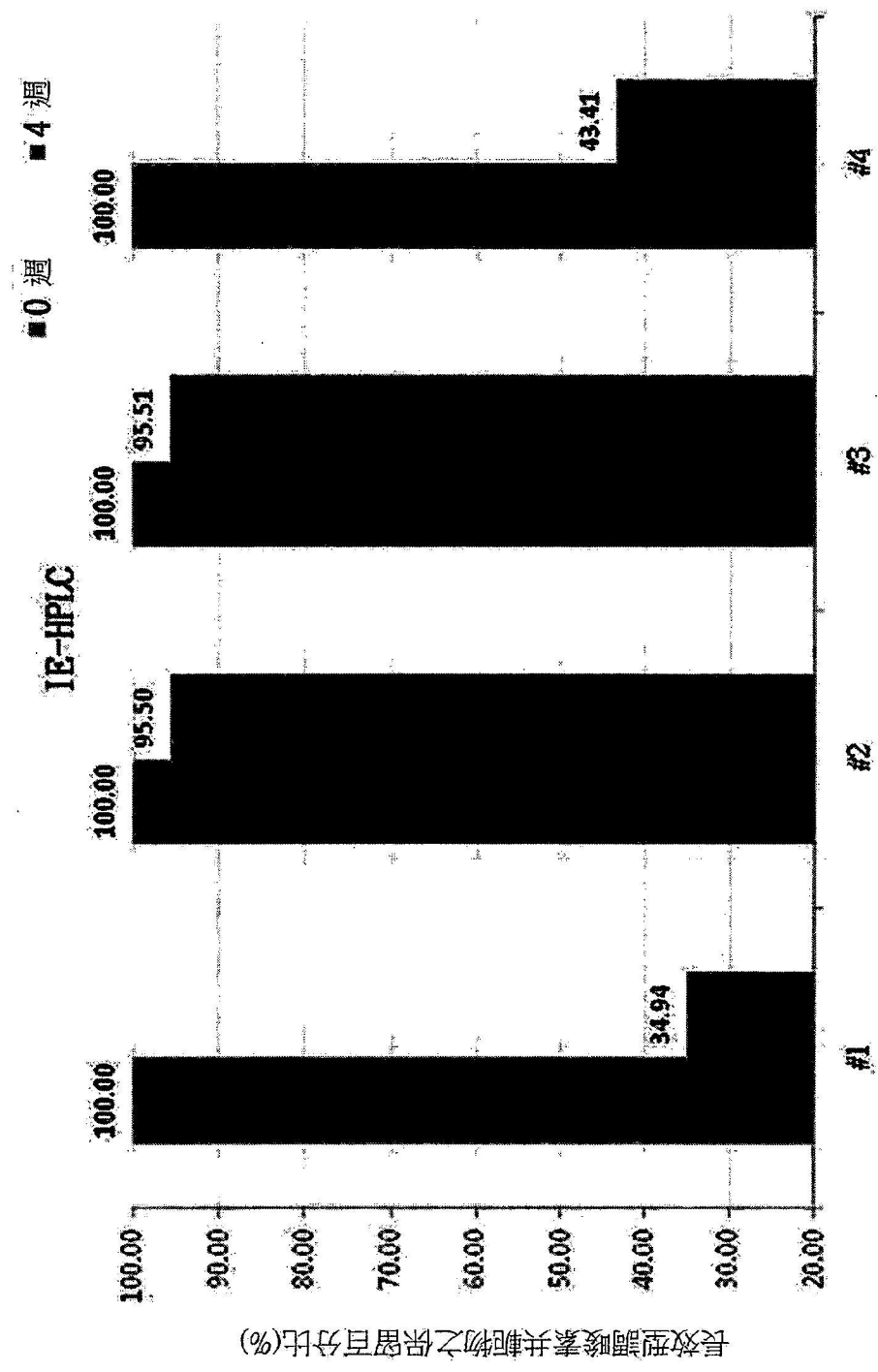
【第3a圖】



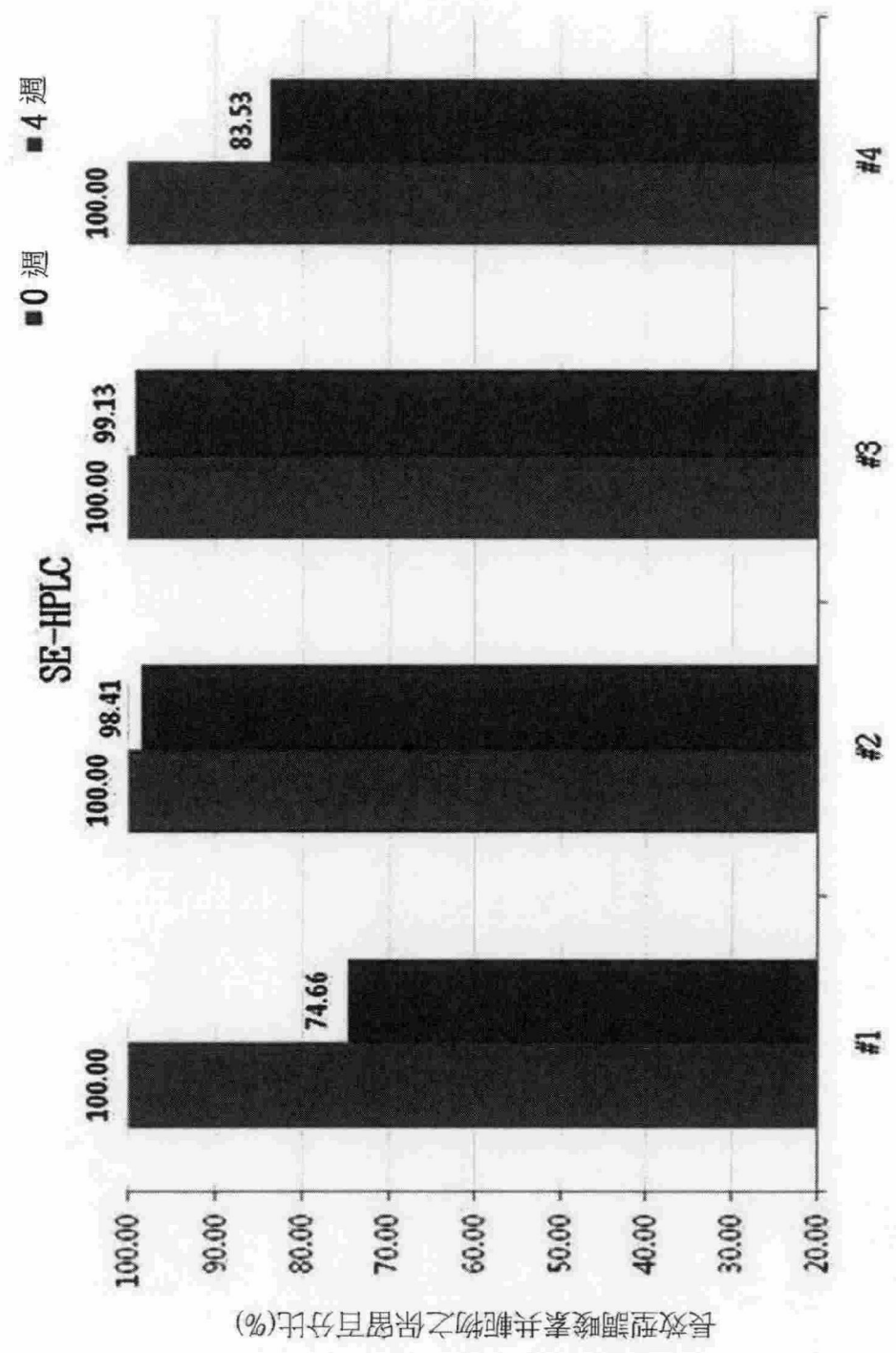
【第3b圖】



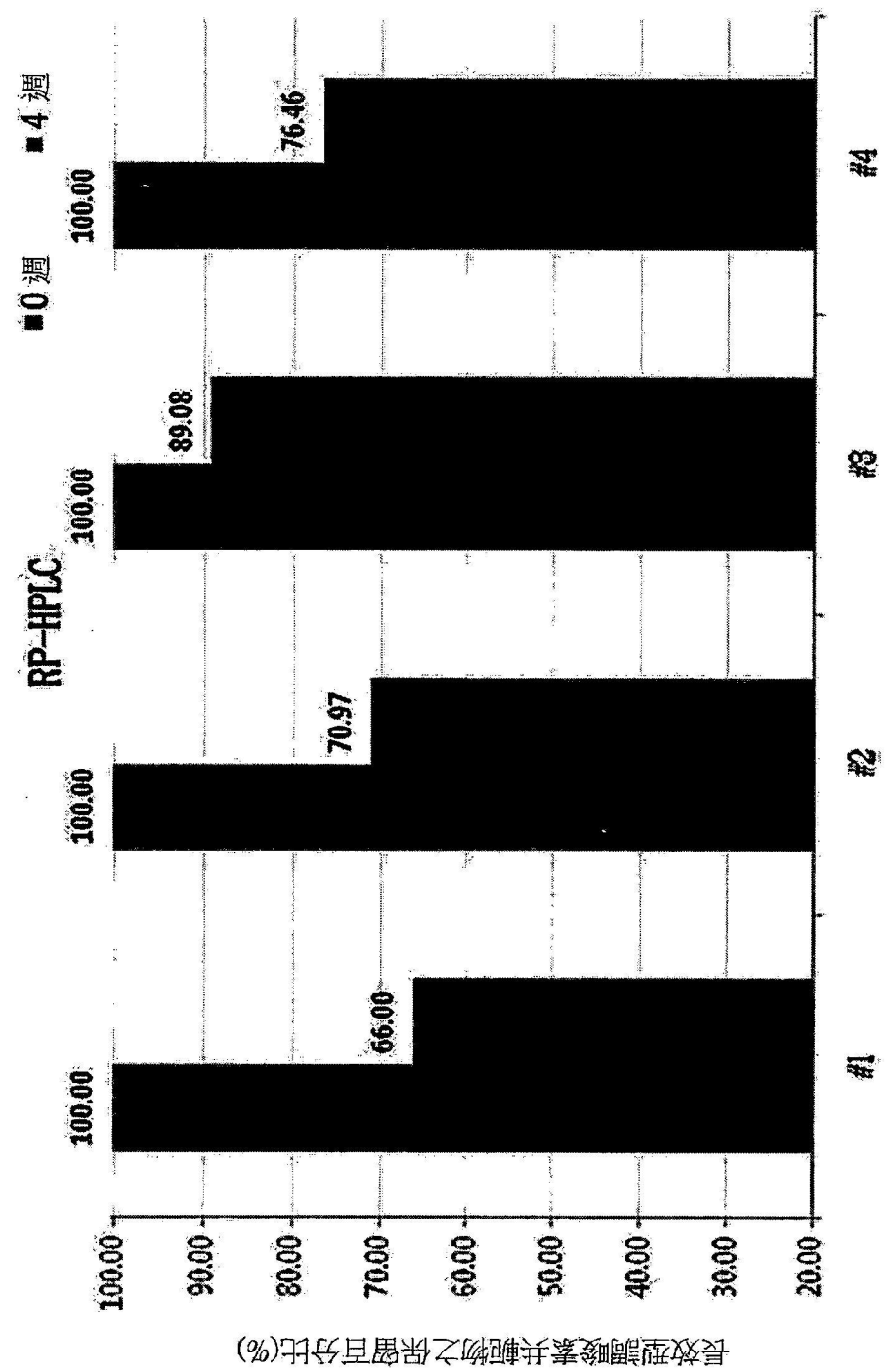
【第3c圖】



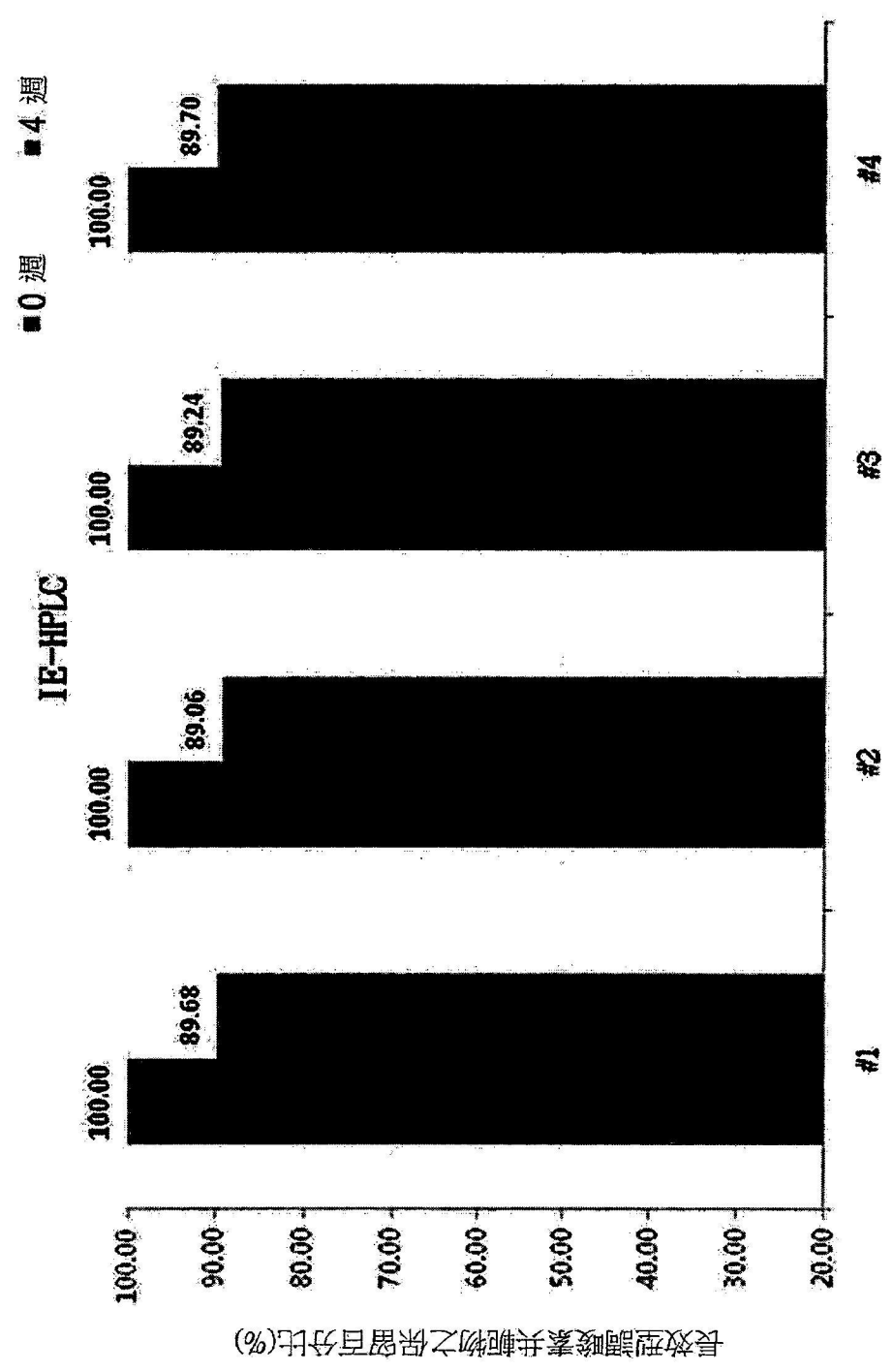
【第4a圖】



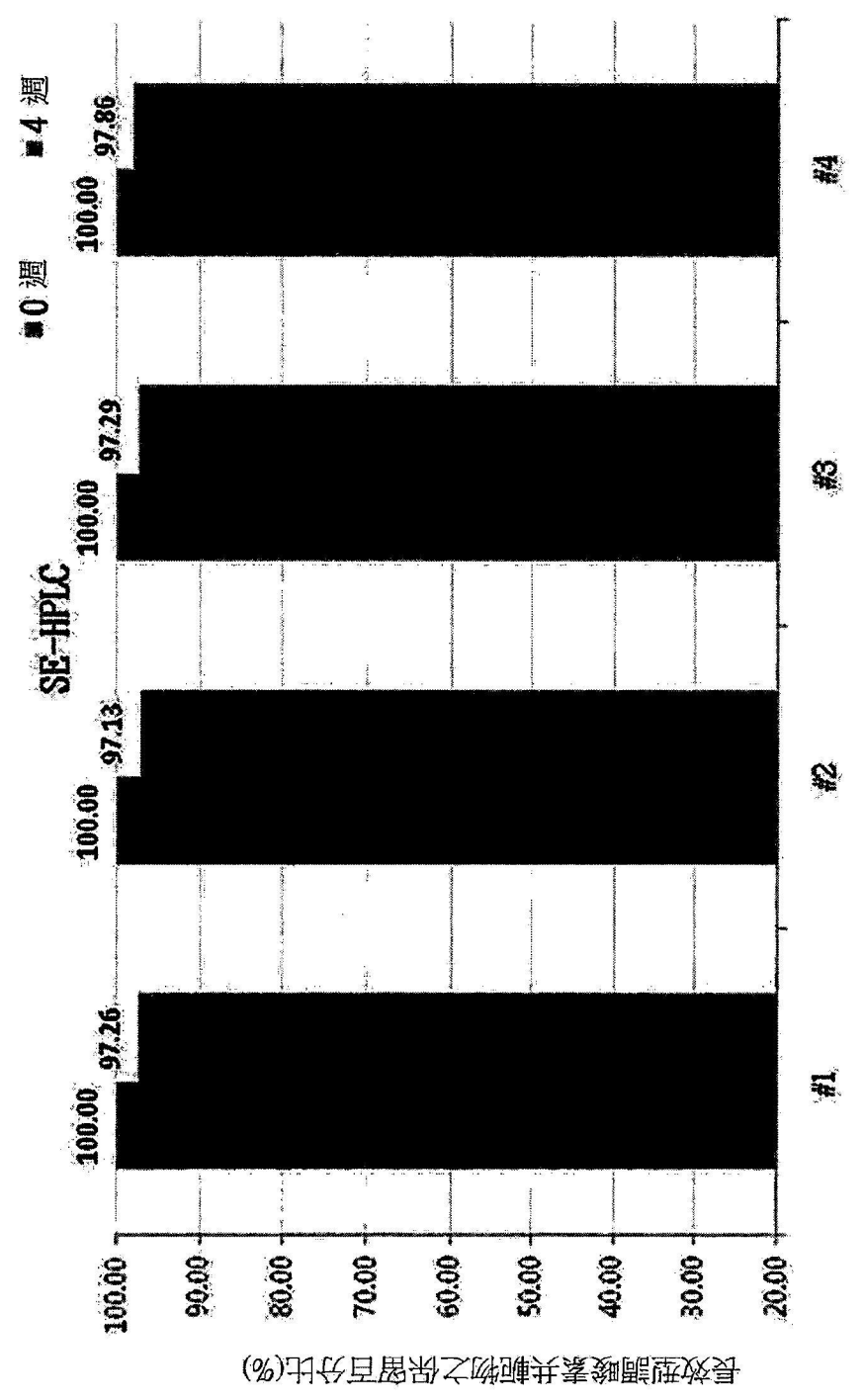
【第4b圖】



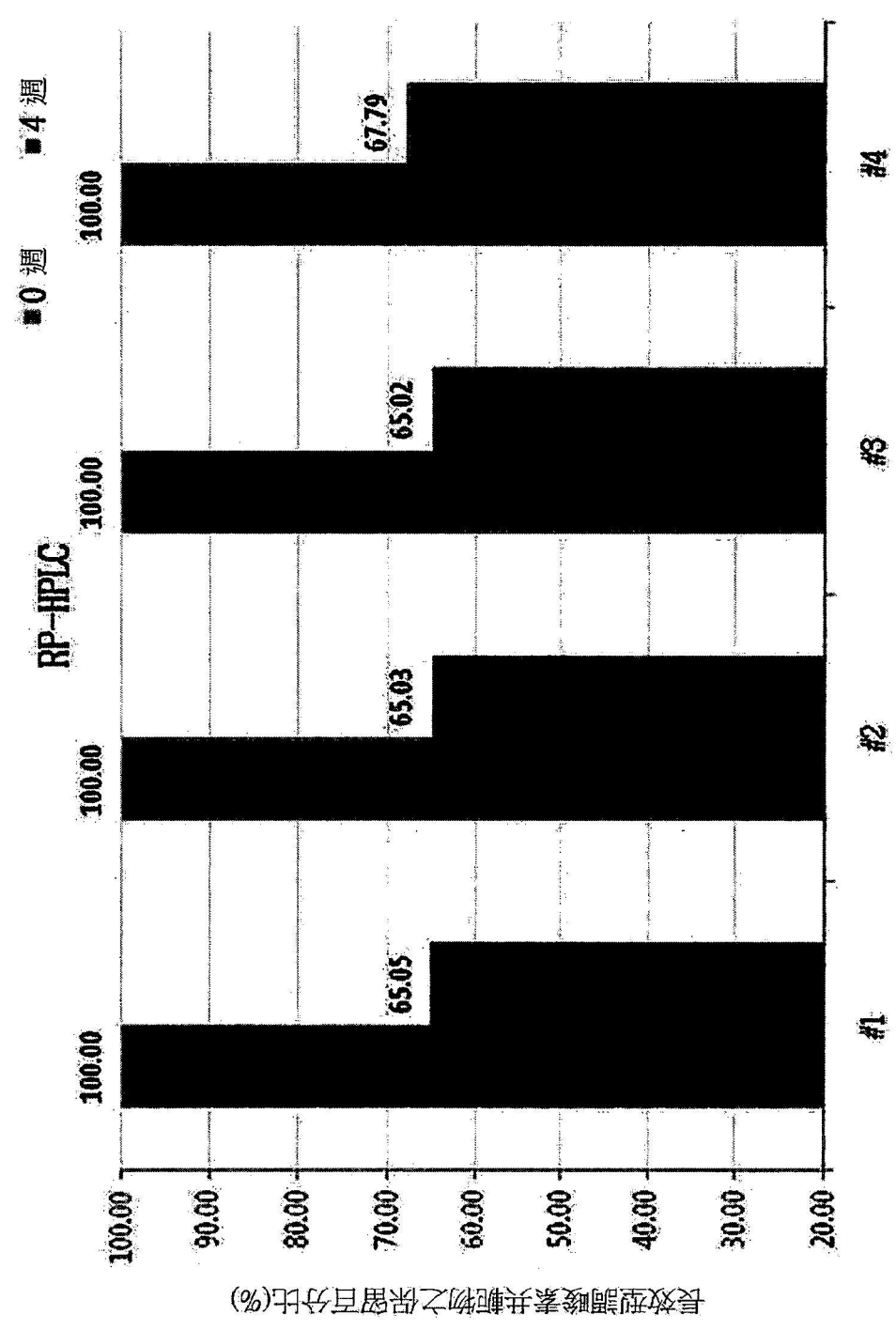
【第4c圖】



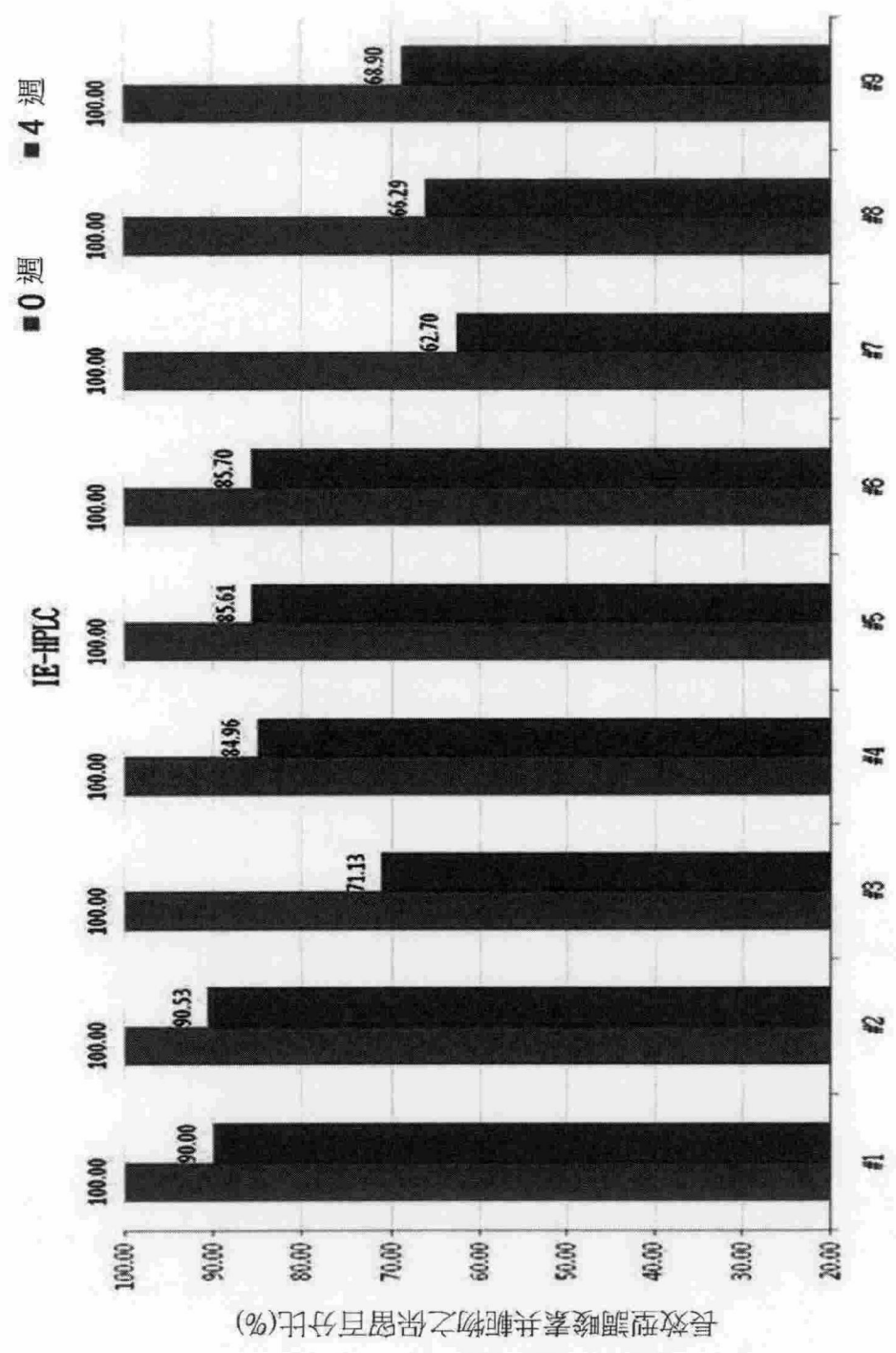
【第5a圖】



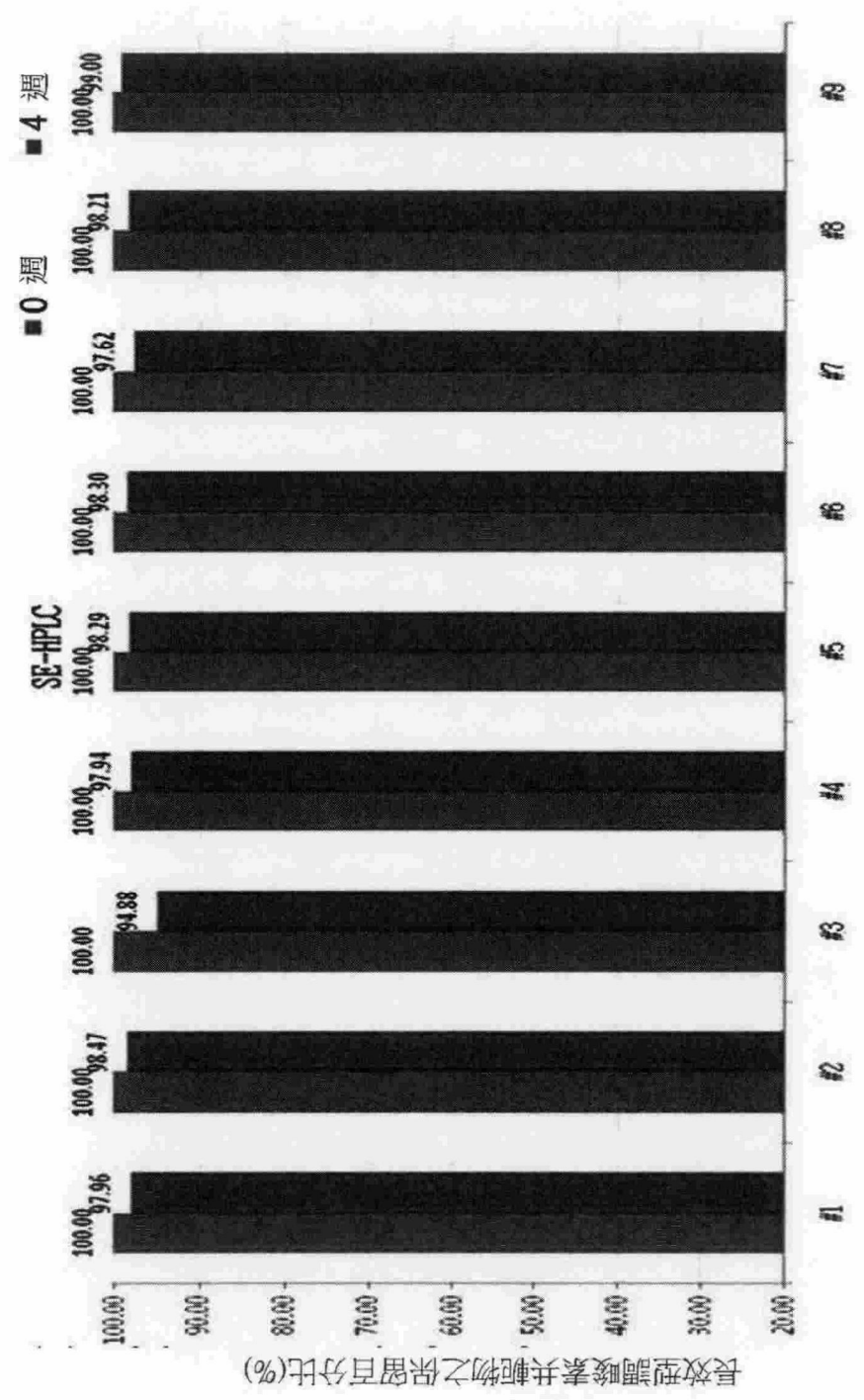
【第5b圖】



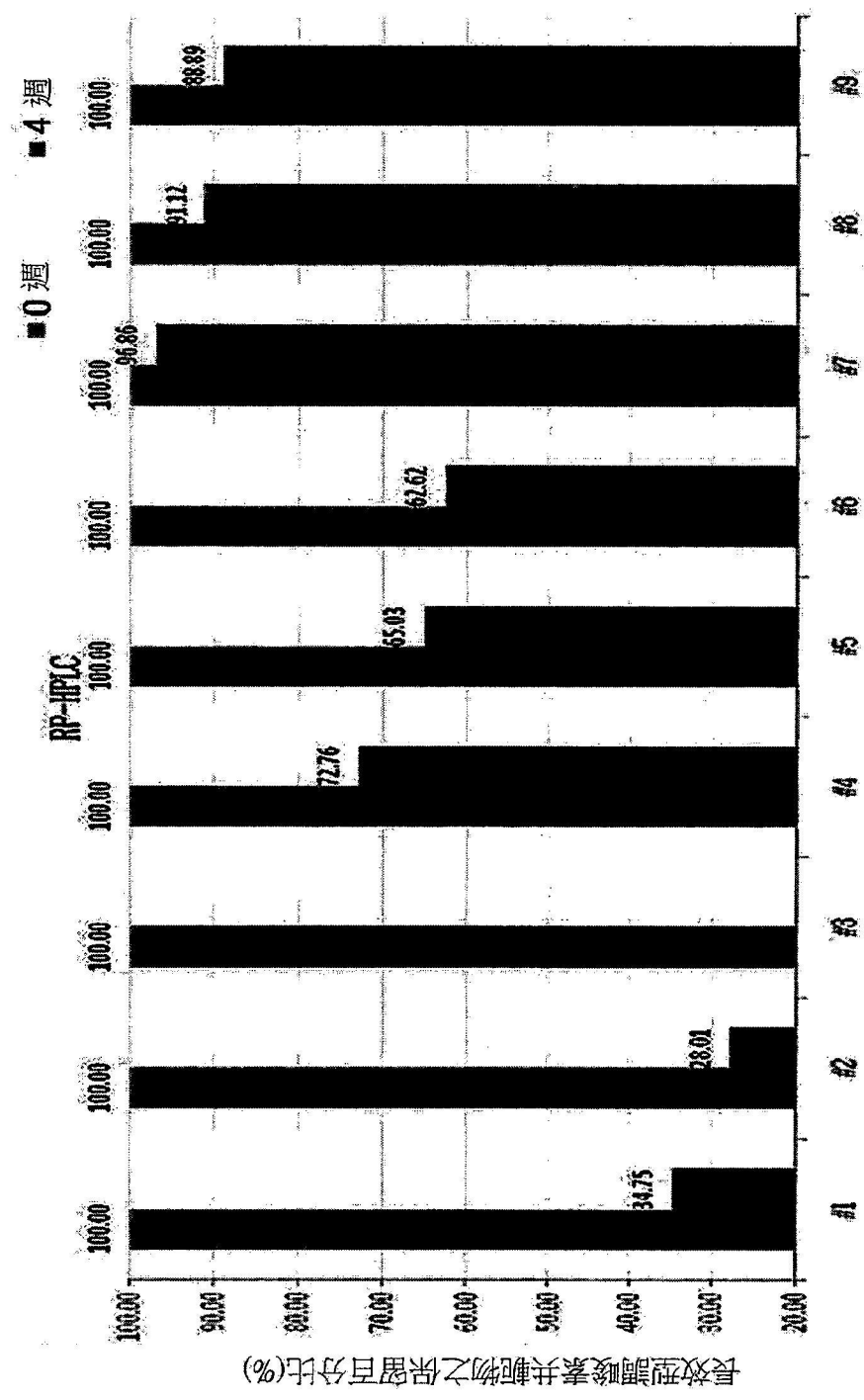
【第5c圖】



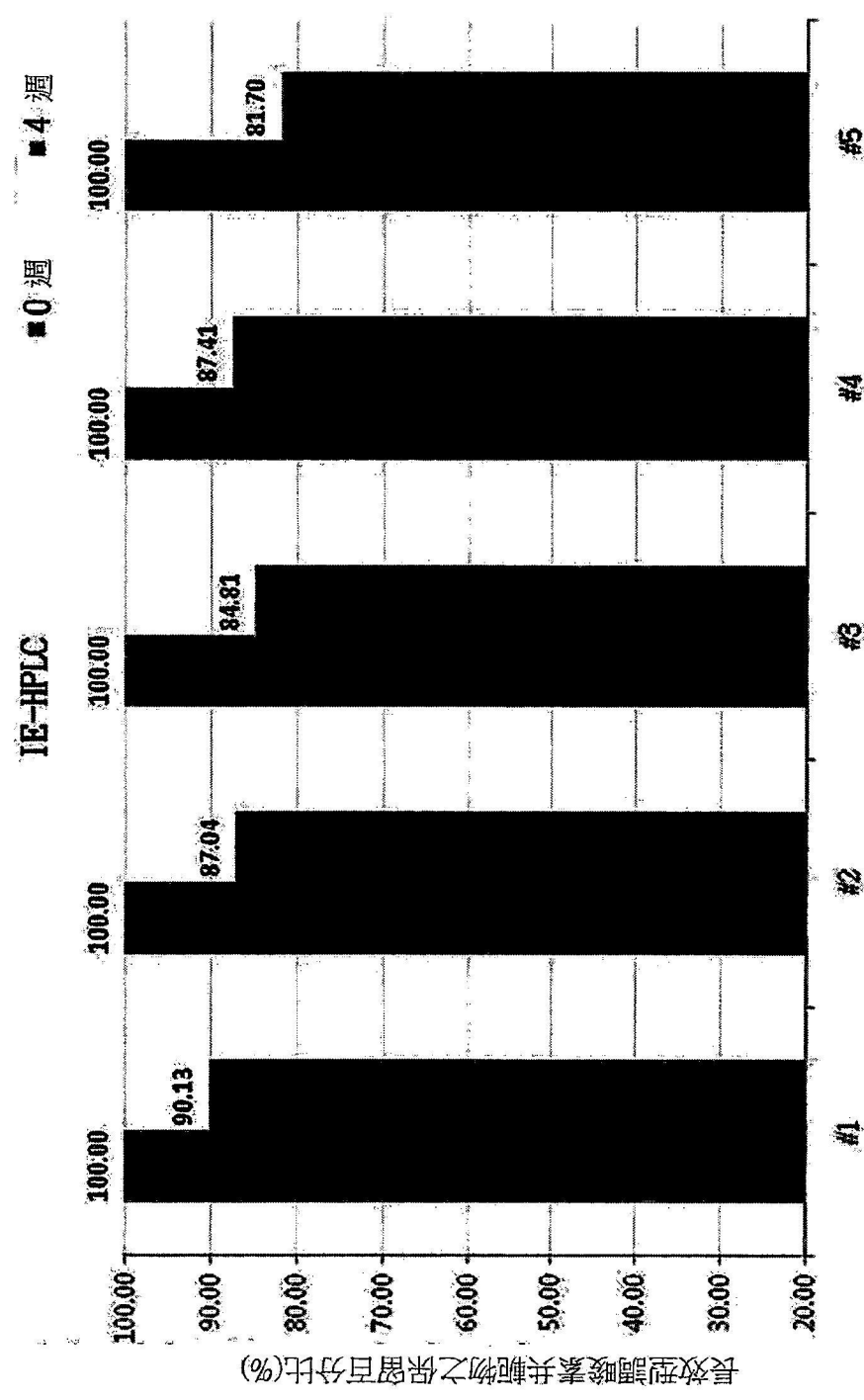
【第6a圖】



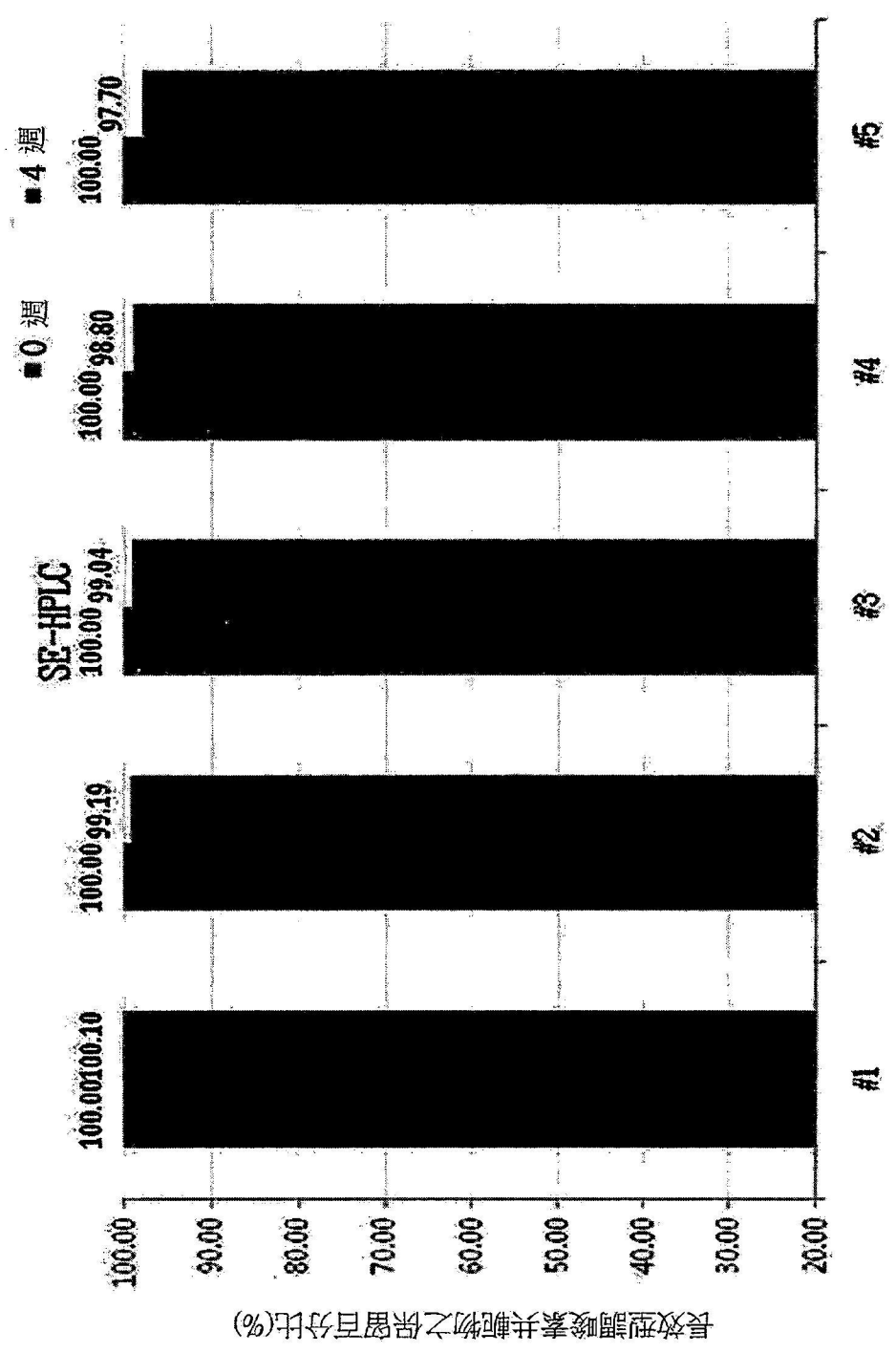
【第6b圖】



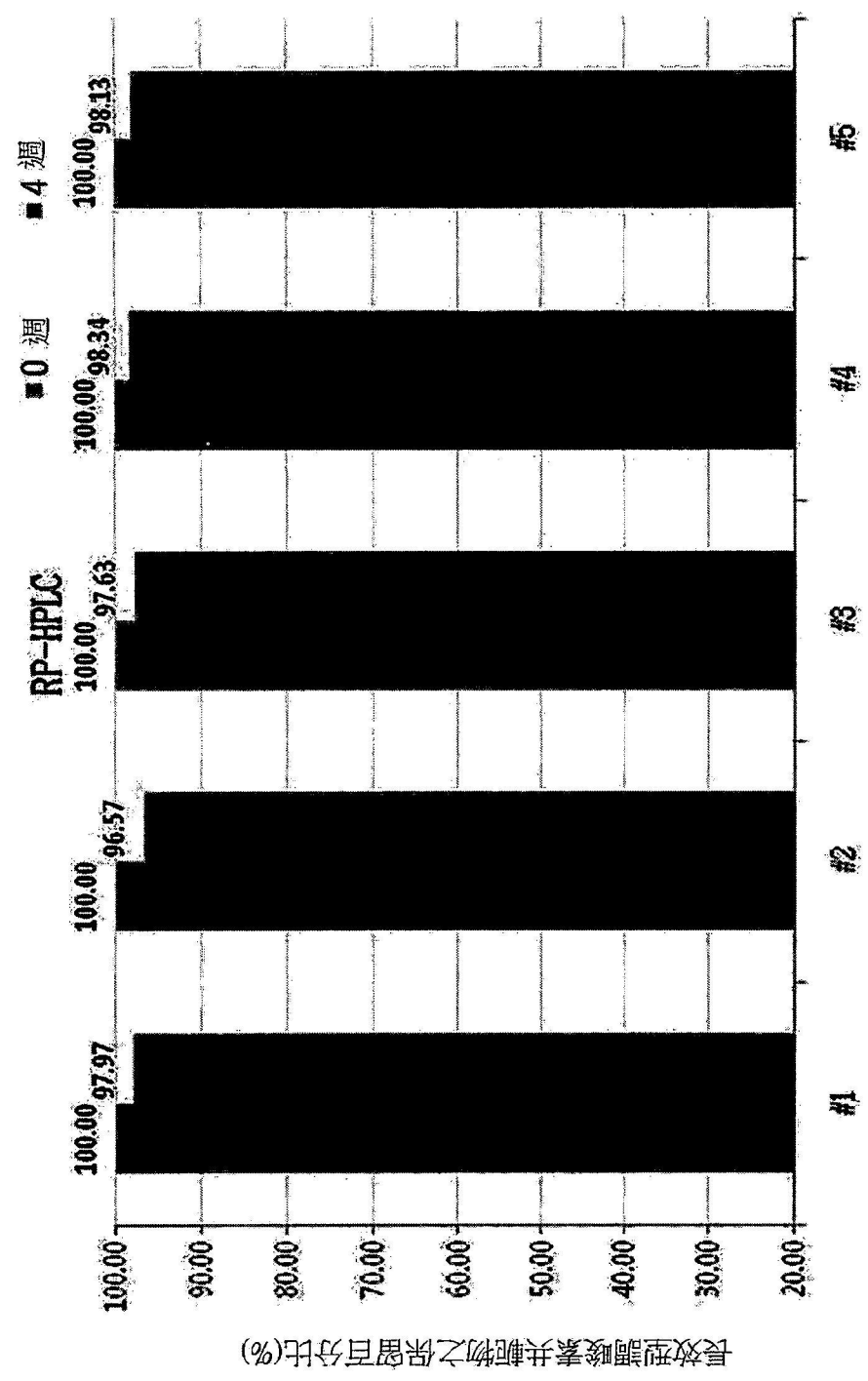
【第6c圖】



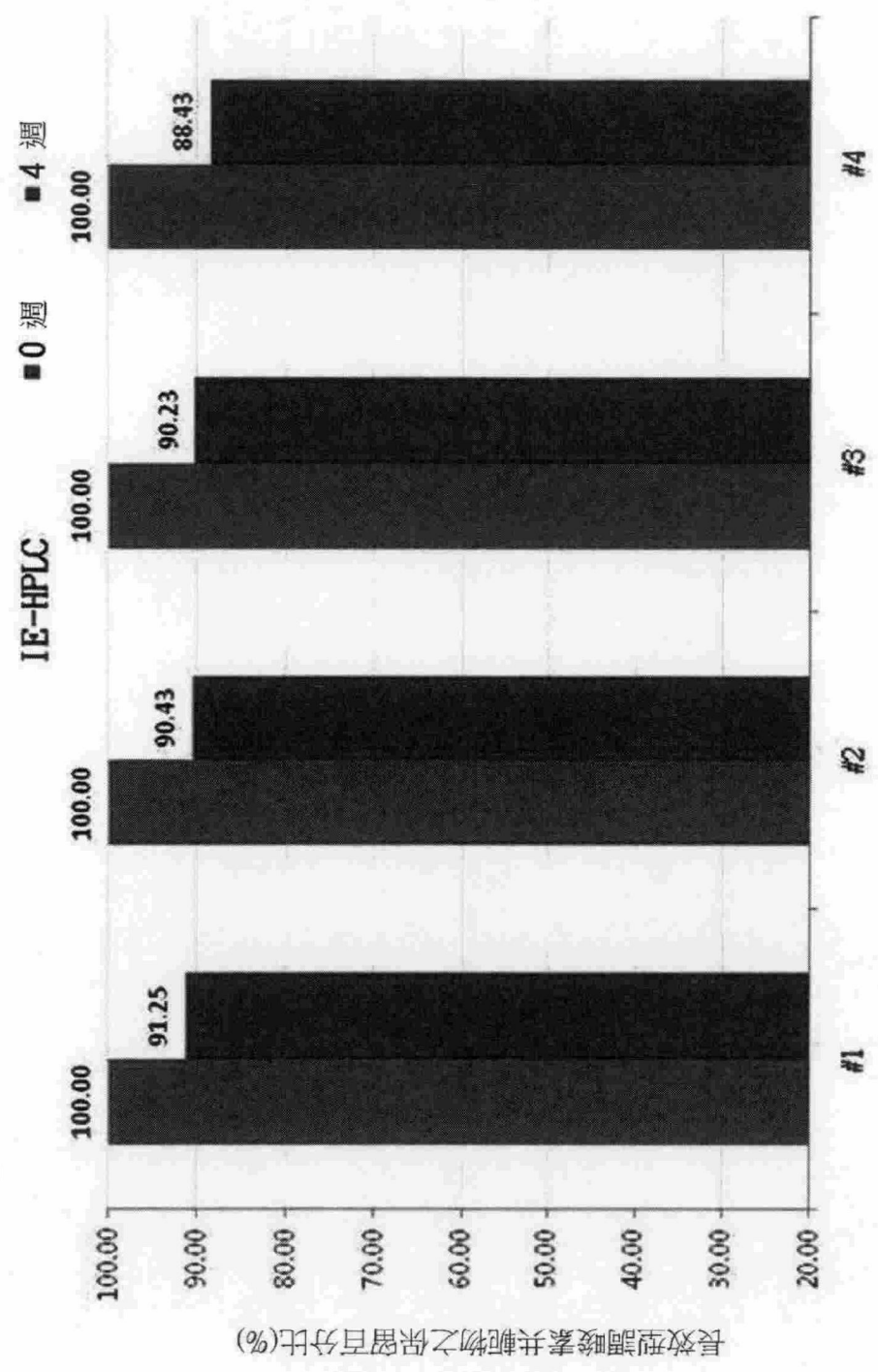
【第7a圖】



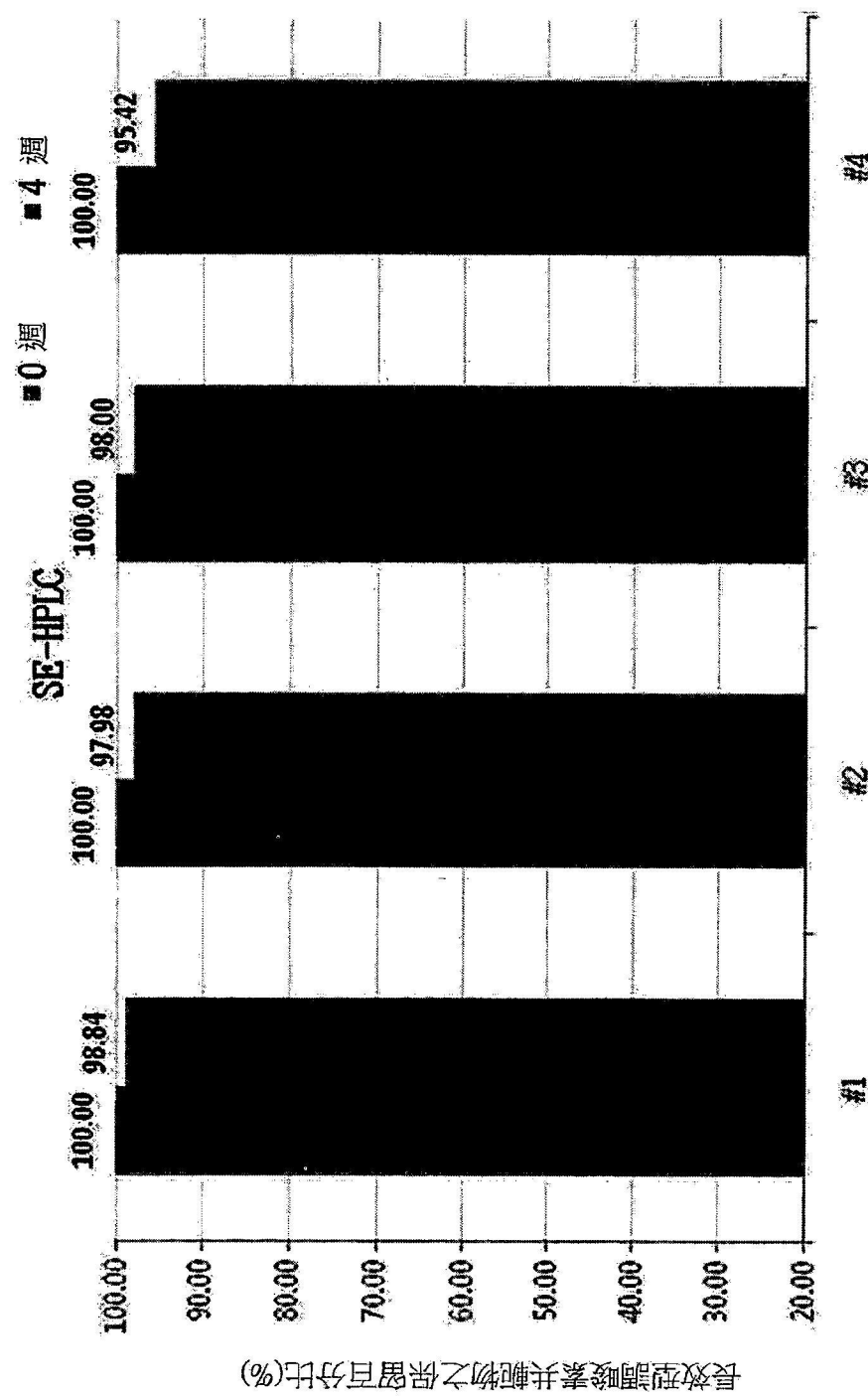
【第7b圖】



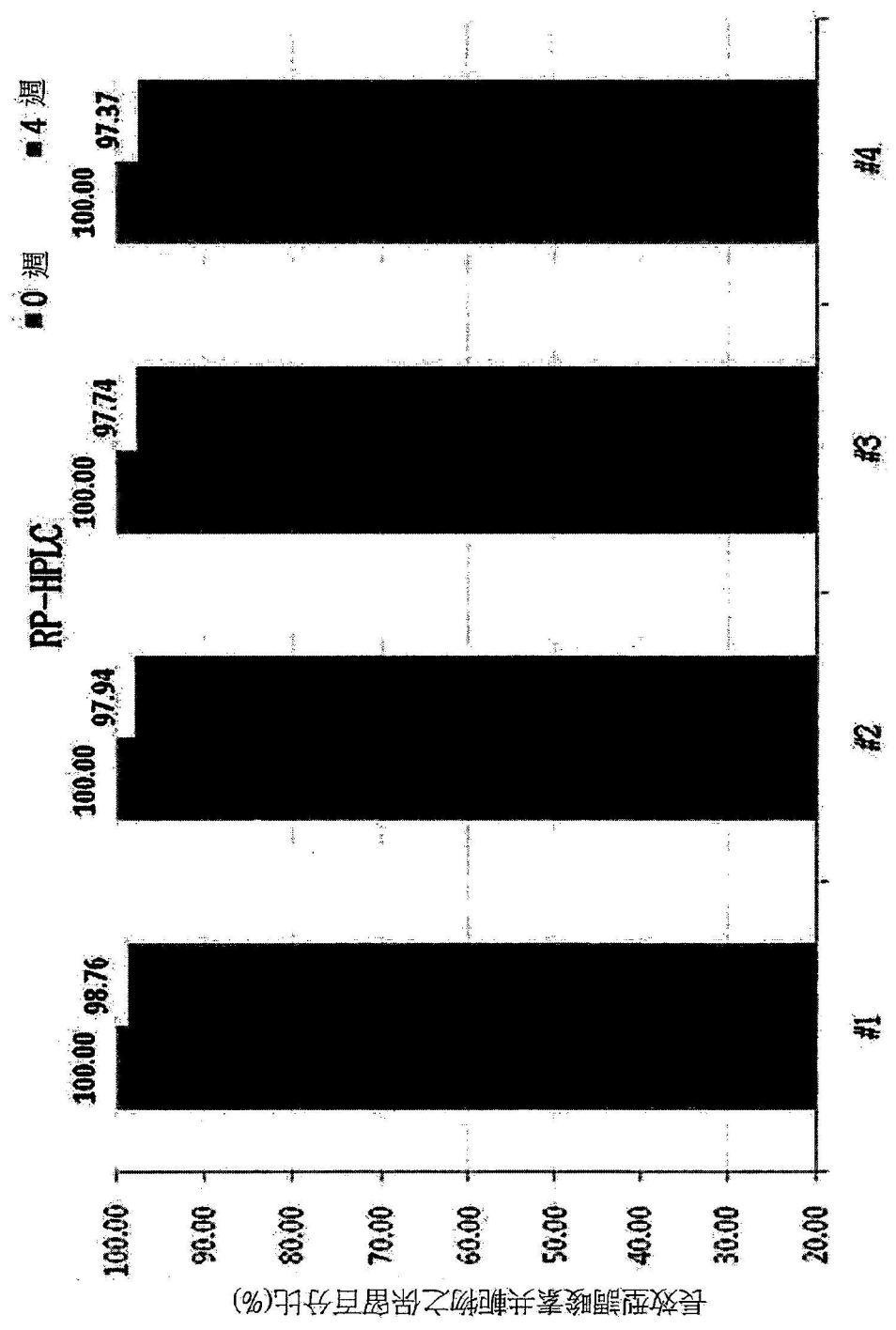
【第7c圖】



【第8a圖】



【第8b圖】



【第8c圖】