202140074

(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本 (11)公開編號：TW 202140074 A

(43)公開日： 中華民國 110 (2021) 年 11 月 01 日

(21)申請案號：110100686 (22)申請日： 中華民國 110 (2021) 年 01 月 07 日

(51)Int. Cl.： *A61K47/60 (2017.01)* *A61K47/18 (2006.01)*
A61K38/18 (2006.01) *A61P3/00 (2006.01)*

(30)優先權：2020/01/08 美國 62/958,580

(71)申請人：美商必治妥美雅史谷比公司 (美國) BRISTOL-MYERS SQUIBB COMPANY (US)
美國

(72)發明人：帕姆 湯瑪士 PALM, THOMAS (US)；赫斯拉維 曼爾納茲 KHOSSRAVI, MEHRNAZ (US)；百達 尚楷 PATKE,SANKET (IN)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：111 項 圖式數：7 共 154 頁

(54)名稱

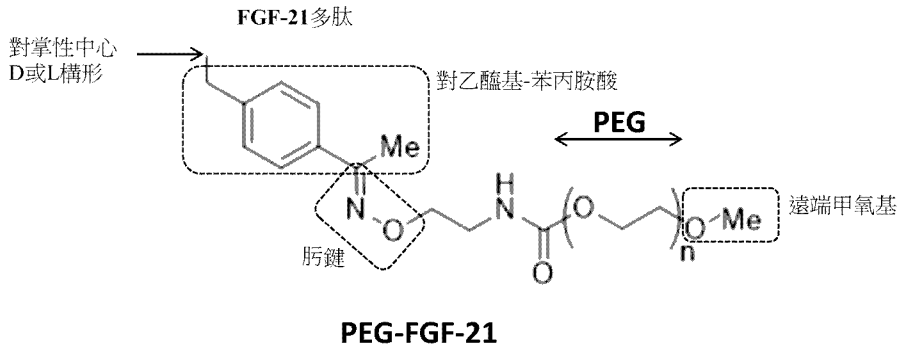
FGF-21 結合物調配物

(57)摘要

本發明提供醫藥調配物，其包含聚乙二醇化 FGF-21，例如 FGF-21 結合物，及一或多種穩定劑，諸如螯合劑 DPTA。該等調配物可進一步藉由包括界面活性劑(諸如聚山梨醇酯 80)及/或將 pH 調整至約 7.1 來穩定。亦提供製造方法、治療方法及套組。

The present application provides pharmaceutical formulations comprising PEGylated FGF-21, e.g., a FGF-21 conjugate, and one or more stabilizers such as the chelator DPTA. The formulations can be further stabilized by including a surfactant such as polysorbate 80 and/or adjusting the pH to about 7.1. Also provided are methods of manufacture, methods of treatment, and kits.

指定代表圖：



PEG-FGF-21

PEG約28 kD-32 kD，例如30 kDa
n約600-800，例如681

【圖6】

202140074

【發明摘要】

【中文發明名稱】

FGF-21結合物調配物

【英文發明名稱】

FGF-21 CONJUGATE FORMULATIONS

【中文】

本發明提供醫藥調配物，其包含聚乙二醇化FGF-21，例如FGF-21結合物，及一或多種穩定劑，諸如螯合劑DPTA。該等調配物可進一步藉由包括界面活性劑(諸如聚山梨醇酯80)及/或將pH調整至約7.1來穩定。亦提供製造方法、治療方法及套組。

【英文】

The present application provides pharmaceutical formulations comprising PEGylated FGF-21, e.g., a FGF-21 conjugate, and one or more stabilizers such as the chelator DPTA. The formulations can be further stabilized by including a surfactant such as polysorbate 80 and/or adjusting the pH to about 7.1. Also provided are methods of manufacture, methods of treatment, and kits.

【指定代表圖】

圖6

【代表圖之符號簡單說明】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】

FGF-21結合物調配物

【英文發明名稱】

FGF-21 CONJUGATE FORMULATIONS

【技術領域】

【0001】 本申請案尤其涉及包含FGF-21多肽，例如聚乙二醇化FGF-21多肽(PEG-FGF-21)之調配物，其使用螯合劑(例如DTPA)、界面活性劑(例如PS80)進行穩定，且具有特定pH範圍(例如約7.1)，該等調配物經由各種途徑投與，包括例如皮下投與。

【先前技術】

【0002】 纖維母細胞生長因子(FGF)為廣泛表現於發育及成熟組織中之多肽(Baird等人, Cancer Cells, 3:239-243, 1991)，其在多個生理功能中起關鍵作用(McKeehan等人, Prog. Nucleic Acid Res. Mol. Biol. 59:135-176, 1998；Burgess, W. H.等人, Annu. Rev. Biochem. 58:575-606 (1989))。根據文獻，FGF家族係由至少二十二個成員組成(Reuss等人, Cell Tissue Res. 313:139-157 (2003))。

【0003】 FGF-21可用於治療與纖維化相關之疾病及病狀。纖維化為在器官或組織中形成過量纖維結締組織。纖維組織之過量沈積係與可導致器官或組織功能障礙之病理病狀相關。受影響器官可包括肺臟(肺纖維化(lung/pulmonary fibrosis))、肝臟(肝纖維化(liver/hepatic fibrosis))、腎臟(腎纖維化(kidney/renal fibrosis))及心臟(心臟纖維化)。纖維化亦可影響其他組織及器官，包括關節、皮膚、腸、骨髓及其他組織及器官。例示性纖

維化病狀或疾病包括(但不限於)非酒精性脂肪變性肝炎(NASH)，其影響肝臟；糖尿病性腎病及糖尿病性腎病變，其影響腎臟；及代謝性心臟衰竭，其影響心臟。舉例而言，NASH之特徵在於少飲酒或不飲酒者的肝臟出現脂肪積聚、發炎及損傷，該疾病可導致肝硬化。往往在通常某些脂質之血液含量升高及患糖尿病或糖尿病前期之超重或肥胖中年人中診斷出NASH。

【0004】 已報導，FGF-21具有活體內經歷蛋白水解，活體外形成聚集體且經歷脫醯胺之傾向(Gimeno及Moller, Trends Endocrinol Metab. 2014年6月; 25(6):303-11；美國專利第8,361,963號；Hecht等人, PLoS One. 2012; 7(11):e49345；美國專利公開案第2007/0293430號；WO 2006/0065582)，有可能限制含有FGF-21之醫藥組合物之儲存期限。聚集體及脫醯胺形式之治療性多肽可潛在地增加免疫原性(參見美國衛生及公共服務部(U.S. Department of Health and Human Services),「Immunogenicity Assessment for Therapeutic Protein Products」, 2014年8月；Subramanyam (編),「Therapeutic Protein Immunogenicity Focus Group Newsletter」, American Association of Pharmaceutical Scientists, 第1卷, 第3期 (2011年12月))。

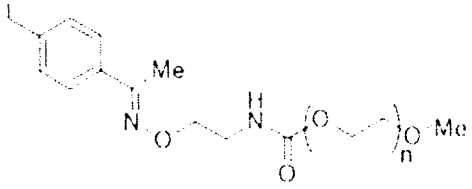
【0005】 本發明尤其解決對以下醫藥調配物之需求，該等醫藥調配物解決與包含FGF-21多肽，且尤其變異FGF-21多肽的醫藥調配物之製造相關之問題。

【發明內容】

【0006】 本發明提供一種包含以下之醫藥調配物：(i)纖維母細胞生長因子21 (FGF-21)多肽結合於聚乙二醇(PEG)部分(「FGF-21結合物」)

及(ii)胺基聚羧酸陽離子螯合劑，其中與不含胺基聚羧酸陽離子螯合劑之參考調配物相比，該調配物具有經改良之穩定性，其中該FGF-21結合物包含式I：

FGF-21多肽



(式I)，且其中n為任何整數。

【0007】 在一些態樣中，PEG部分結合於FGF-21多肽中之非天然胺基酸。在一些態樣中，FGF-21多肽中之非天然胺基酸為苯丙胺酸衍生物。在一些態樣中，苯丙胺酸衍生物為對-乙醯基-L-苯丙胺酸。

【0008】 在一些態樣中，FGF-21多肽包含與胺基酸序列SEQ ID NO: 3具有至少約80%、至少約85%、至少約90%、至少約95%、至少約96%、至少約97%、至少約98%或至少約99%胺基酸序列一致性的胺基酸序列，其中該多肽具有FGF-21活性。在一些態樣中，非天然胺基酸係在對應於SEQ ID NO: 3之胺基酸殘基109處。在一些態樣中，FGF-21多肽包含如SEQ ID NO: 1中所示之序列。在一些態樣中，FGF-21結合物對應於SEQ ID NO: 2之化合物。

【0009】 在一些態樣中，式I中之n為約500至約900個乙二醇單元、約600至約800個乙二醇單元、約650至約750個乙二醇單元，或約670至約690個乙二醇單元。在一些態樣中，n為在約670與約690之間的乙二醇單元，例如約681個乙二醇單元。

【0010】 在一些態樣中，FGF-21結合物對應於SEQ ID NO: 4之化

合物。在一些態樣中，FGF-21結合物呈L構形。在一些態樣中，FGF-21結合物呈D構形。在一些態樣中，FGF-21結合物以約1 mg/ml與約40 mg/ml之間的濃度存在。在一些態樣中，FGF-21結合物以約10 mg/ml或約20 mg/ml之濃度存在。在一些態樣中，FGF-21結合物以約20 mg/ml之濃度存在。

【0011】 在一些態樣中，FGF-21結合物之存在量在每單位劑量約1 mg與約40 mg之間。在一些態樣中，FGF-21結合物之存在量為每單位劑量約1 mg、每單位劑量約5 mg、每單位劑量約10 mg、每單位劑量約20 mg或每單位劑量約40 mg。在一些態樣中，FGF-21結合物之存在量為每單位劑量約10 mg或約20 mg。

【0012】 在一些態樣中，醫藥調配物展現以下中之一或多者：

(a) 當儲存於40℃約一個月時，相對於參考調配物，多肽脫醯胺速率較低；

(b) 當儲存於40℃約一個月時，相對於參考調配物，高分子量(HMW)多肽聚集速率較低；或

(c) (a)及(b)兩者。

【0013】 在一些態樣中，胺基聚羧酸陽離子螯合劑防止或減少一或多種甲硫胺酸氧化。在一些態樣中，該等甲硫胺酸對應於FGF-21多肽之甲硫胺酸1 (Met1)及/或甲硫胺酸169 (Met169)。在一些態樣中，在25℃及/或40℃下，甲硫胺酸氧化係藉由螯合劑得到阻止或減少。在一些態樣中，胺基聚羧酸陽離子螯合劑為二伸乙三胺五乙酸(DTPA)。在一些態樣中，DTPA陽離子螯合劑之存在量在約10 μM與約100 μM DTPA之間、在約20 μM與約90 μM DTPA之間、在約30 μM與約80 μM DTPA之間、在

約25 μM與約75 μM DTPA之間、或在約40 μM與約60 μM DTPA之間、或在約30 μM與約70 μM DTPA之間、或在約40 μM與約70 μM DTPA之間。在一些態樣中，DTPA陽離子螯合劑之存在量為約40 μM、約45 μM、約50 μM、約55 μM或約60 μM DTPA。

【0014】 在一些態樣中，調配物之pH高於6.5、高於6.6、高於6.7、高於6.8、高於6.9、高於7.0、高於7.1、高於7.2、高於7.3、高於7.4或高於7.5。在一些態樣中，pH在約6.7與約7.5之間、在約6.8與約7.5之間、在約6.9與約7.4之間、在約7.0與約7.3之間、在約7.1與7.2之間、在約7.1與約7.3之間、在約7.1與約7.4之間，或在約7.1與約7.5之間。在一些態樣中，pH為約6.7、約6.8、約6.9、約7.0、約7.1、約7.2、約7.3、約7.4或約7.5。在一些態樣中，醫藥調配物相較於pH 6.5之參考調配物為更穩定的。

【0015】 在一些態樣中，醫藥調配物進一步包含界面活性劑。在一些態樣中，界面活性劑為非離子型界面活性劑。在一些態樣中，非陰離子型界面活性劑為聚山梨醇酯。在一些態樣中，聚山梨醇酯為聚氧乙烯(20)脫水山梨糖醇單油酸酯(聚山梨醇酯80)。在一些態樣中，聚山梨醇酯80界面活性劑之存在量為約0.01% (w/v)至約0.1% (w/v)、約0.02% (w/v)至約0.09% (w/v)、約0.03% (w/v)至約0.08% (w/v)、約0.04% (w/v)至約0.07% (w/v)，或約0.05% (w/v)至約0.06% (w/v)。在一些態樣中，聚山梨醇酯80界面活性劑之存在量為至少約0.01% (w/v)、至少約0.02% (w/v)、至少約0.03% (w/v)、至少約0.04% (w/v)、至少約0.05% (w/v)、至少約0.06% (w/v)、至少約0.07% (w/v)、至少約0.08% (w/v)、至少約0.09% (w/v)或至少約0.1% (w/v)。在一些態樣中，當在震盪器上攪拌

時，界面活性劑減少微粒及/或氣泡形成。

【0016】 在一些態樣中，醫藥調配物進一步包含胺基酸緩衝劑。在一些態樣中，胺基酸緩衝劑為組胺酸。在一些態樣中，組胺酸緩衝劑之存在量為約10 mM至約100 mM組胺酸、約20 mM至約90 mM組胺酸、約30 mM至約80 mM組胺酸、約40 mM至約70 mM組胺酸、約10 mM至約30 mM組胺酸、約15 mM至約25 mM組胺酸、約17.5 mM至約22.5 mM組胺酸，或約40 mM至約60 mM組胺酸。在一些態樣中，組胺酸緩衝劑之存在量為約10 mM組胺酸、約15 mM組胺酸、約20 mM組胺酸、約25 mM組胺酸、約30 mM組胺酸、約35 mM組胺酸、約40 mM組胺酸、約45 mM組胺酸或約50 mM組胺酸。

【0017】 在一些態樣中，醫藥調配物進一步包含滲透調節劑。在一些態樣中，滲透調節劑包含糖。在一些態樣中，糖為蔗糖。在一些態樣中，蔗糖滲透調節劑之存在量為約100 mM至約1 M蔗糖、約200 mM至約900 mM、約300 mM至約800 mM、約400 mM至約700 mM，或約500 mM至約600 mM。在一些態樣中，蔗糖滲透調節劑之存在量為約100 mM蔗糖、約200 mM蔗糖、約300 mM蔗糖、約400 mM蔗糖、約500 mM蔗糖、約600 mM蔗糖、約700 mM蔗糖、約800 mM蔗糖、約900 mM蔗糖或約1 M蔗糖。

【0018】 在一些態樣中，調配物係調配用於皮下投與。在一些態樣中，調配物係調配用於使用安全注射器皮下投與。在一些態樣中，調配物係調配用於每日或每週投與一次。在一些態樣中，調配物為水性調配物。

【0019】 本發明提供一種包含以下之醫藥調配物：

(i) FGF-21結合物；

(ii)濃度在約10 mM與約50 mM之間的組胺酸；

(iii)濃度在約100 mM與約1 M之間的蔗糖；

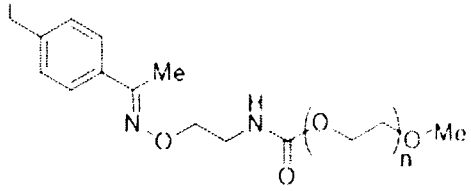
(iv)濃度在約0.01% (w/v)與約0.1% (w/v)之間的聚山梨醇酯80；及，

(v)濃度在約10 μM與約100 μM之間的DTPA；

其中該調配物之pH在約6.7與約7.5之間，

其中該FGF-21結合物包含式I：

FGF-21多肽



(式I)，

其中n在約670與約690之間，例如為約681，且其中FGF-21多肽包含SEQ ID NO: 1。

【0020】 本發明亦提供一種包含以下之醫藥調配物：

(i) FGF-21結合物；

(ii)濃度為約20 mM之組胺酸；

(iii)濃度為約600 mM之蔗糖；

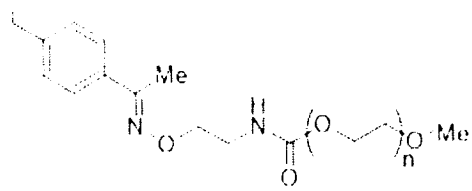
(iv)濃度為約0.05% (w/v)之聚山梨醇酯80；及

(v)濃度為約50 μM之DTPA；

其中pH為約7.1，

其中該FGF-21結合物包含式I：

FGF-21多肽



(式I)，

其中n在約670與約690之間，例如為約681，且其中FGF-21多肽包含SEQ ID NO: 1。

【0021】 亦提供一種包含以下之醫藥調配物：

(i) FGF-21結合物；

(ii)濃度為20 mM之組胺酸；

(iii)濃度為600 mM之蔗糖；

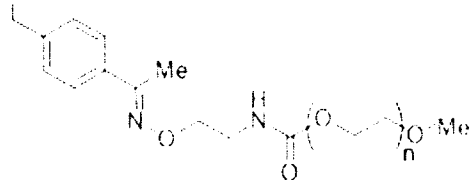
(iv)濃度為0.05% (w/v)之聚山梨醇酯80；及

(v)濃度為50 μM之DTPA；

其中pH為7.1，

其中該FGF-21結合物包含式I：

FGF-21多肽



(式I)，

其中n在約670與約690之間，例如為約681，且其中FGF-21多肽包含SEQ ID NO: 1。

【0022】 本發明提供一種包含以下之醫藥調配物：

(i) FGF-21結合物；

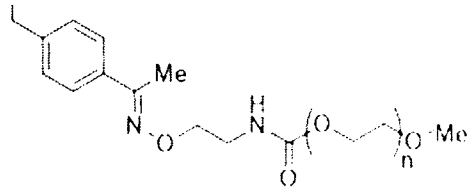
(ii)濃度為約20 mM之組胺酸；及

(iii)濃度為約600 mM之蔗糖；

其中pH為約7.0，

其中該FGF-21結合物包含式I：

FGF-21多肽



(式I)，

其中n在約670與約690之間，例如為約681，且其中FGF-21多肽包含SEQ ID NO: 1。

【0023】 本發明提供一種包含以下之醫藥調配物：

(i) FGF-21結合物；

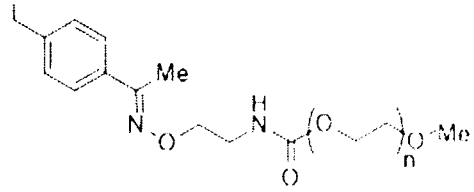
(ii)濃度為20 mM之組胺酸；及

(iii)濃度為600 mM之蔗糖；

其中pH為7.0，

其中該FGF-21結合物包含式I：

FGF-21多肽



(式I)，

其中n在約670與約690之間，例如為約681，且其中FGF-21多肽包含SEQ ID NO: 1。

【0024】 本發明亦提供一種包含以下之醫藥調配物：

(i)濃度為約10 mg/mL之FGF-21結合物；

(ii)濃度為約20 mM之組胺酸；

(iii)濃度為約600 mM之蔗糖；

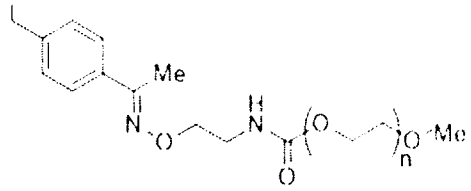
(iv)濃度為約0.05% (w/v)之聚山梨醇酯80；及

(v)濃度為約50 uM之DTPA；

其中pH為約7.1，

其中該FGF-21結合物包含式I：

FGF-21多肽



(式I)，

其中n在約670與約690之間，例如為約681，且其中FGF-21多肽包含SEQ ID NO: 1。

【0025】 本發明亦提供一種包含以下之醫藥調配物：

(i)濃度為約20 mg/mL之FGF-21結合物；

(ii)濃度為約20 mM之組胺酸；

(iii)濃度為約600 mM之蔗糖；

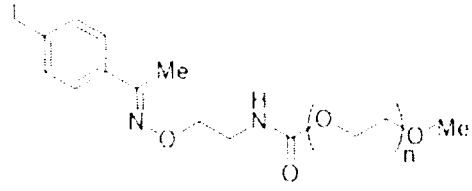
(iv)濃度為約0.05% (w/v)之聚山梨醇酯80；及

(v)濃度為約50 uM之DTPA；

其中pH為約7.1，

其中該FGF-21結合物包含式I：

FGF-21多肽



(式I)，

其中n在約670與約690之間，例如為約681，且其中FGF-21多肽包含SEQ ID NO: 1。

【0026】 本發明提供一種包含以下之醫藥調配物：

(i)濃度為10 mg/mL之FGF-21結合物；

(ii)濃度為20 mM之組胺酸；

(iii)濃度為600 mM之蔗糖；

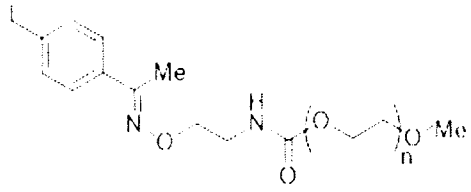
(iv)濃度為0.05% (w/v)之聚山梨醇酯80；及

(v)濃度為50 uM之DTPA；

其中pH為7.0，

其中該FGF-21結合物包含式I：

FGF-21多肽



(式I)，

其中n在約670與約690之間，例如為約681，且其中FGF-21多肽包含SEQ ID NO: 1。

【0027】 本發明提供一種包含以下之醫藥調配物：

(i)濃度為20 mg/mL之SEQ ID NO: 2或4之PEG-FGF21；

(ii)濃度為20 mM之組胺酸；

(iii)濃度為600 mM之蔗糖；

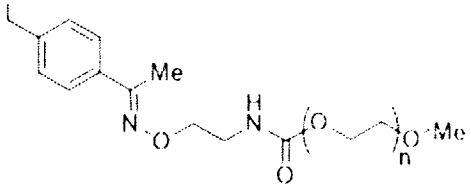
(iv)濃度為0.05% (w/v)之聚山梨醇酯80；及

(v)濃度為50 uM之DTPA；

其中pH為7.0，

其中該FGF-21結合物包含式I：

FGF-21多肽



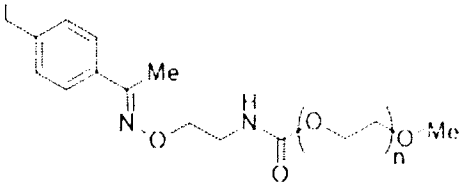
(式I)，

其中n在約670與約690之間，例如為約681，且其中FGF-21多肽包含

SEQ ID NO: 1。

【0028】 本發明提供一種改良醫藥調配物之穩定性的方法，該醫藥調配物包含纖維母細胞生長因子21 (FGF-21)多肽結合於聚乙二醇(PEG)部分(「FGF-21結合物」)，該方法包含摻合胺基聚羧酸陽離子螯合劑，其中與不含胺基聚羧酸陽離子螯合劑之參考調配物相比，該調配物具有經改良之穩定性，其中該FGF-21結合物包含式I：

FGF-21多肽



(式I)，

其中n在約670與約690之間，例如為約681，且其中FGF-21多肽包含SEQ ID NO: 1。

【0029】 在本文所揭示之方法之一些態樣中，PEG部分結合於FGF-21多肽中之非天然胺基酸。在一些態樣中，FGF-21多肽中之非天然胺基酸為對-乙醯基-L-苯丙胺酸。在一些態樣中，FGF-21多肽為SEQ ID NO: 1之FGF-21多肽。在一些態樣中，FGF-21結合物呈L構形。在一些態樣中，FGF-21結合物呈D構形。在一些態樣中，穩定性之改良包含(i)多肽物理穩定性增加、(ii)多肽化學穩定性增加，或(iii) (i)及(ii)兩者。在一些態樣中，物理穩定性增加包含(i)防止或降低多肽聚集、(ii)防止或降低多肽斷裂(fragmentation)，或(iii) (i)及(ii)兩者。在一些態樣中，化學穩定性增加包含(i)防止或降低多肽脫醯胺、(ii)防止或降低多肽氧化，或(iii) (i)及(ii)兩者。在一些態樣中，穩定性之改良包含以下中之一或多者：(a)當儲存於40℃約一個月時，相對於參考調配物，多肽脫醯胺速率較低；(b)當儲存於40℃約一個月時，相對於參考調配物，高分子量(HMW)多肽

聚集速率較低；或(c) (a)及(b)兩者。在一些態樣中，穩定性之改良包含防止或減少一或多種甲硫胺酸氧化。在一些態樣中，該等甲硫胺酸對應於FGF-21多肽之Met1及/或Met169。在一些態樣中，甲硫胺酸氧化在25℃及/或40℃防止或減少。

【0030】 在本文所揭示之方法之一些態樣中，胺基聚羧酸陽離子螯合劑為DTPA。在一些態樣中，DTPA陽離子螯合劑之存在量在約10 μM與約100 μM DTPA之間、在約20 μM與約90 μM DTPA之間、在約25 μM與約75 μM DTPA之間、在約40 μM與約60 μM DTPA之間、在約30 μM與約70 μM DTPA之間、在約30 μM與約80 μM DTPA之間或在約40 μM與約70 μM之間。在一些態樣中，DTPA陽離子螯合劑之存在量為約40 μM、約45 μM、約50 μM、約55 μM或約60 μM DTPA。

【0031】 在本文所揭示之方法之一些態樣中，該方法進一步包含將pH調整至高於6.5、高於6.6、高於6.7、高於6.8、高於6.9或高於7.0。在一些態樣中，將pH調整至在約6.8與約7.5之間、或在約6.9與約7.4之間、或在約7.0與約7.3之間、或在約7.1及7.2之間、或在約7.1與約7.3之間、或在約7.1與約7.4之間、或在約7.1與約7.5之間。在一些態樣中，經調整之pH為約6.8、約6.9、約7.0、約7.1、約7.2、約7.3、約7.4或約7.5。在一些態樣中，該調配物相較於pH 6.5之參考調配物為更穩定的。

【0032】 在本文所揭示之方法之一些態樣中，該方法進一步包含摻合界面活性劑。在一些態樣中，界面活性劑為非離子型界面活性劑。在一些態樣中，非陰離子型界面活性劑為聚山梨醇酯。在一些態樣中，聚山梨醇酯為聚山梨醇酯80。在一些態樣中，聚山梨醇酯80界面活性劑之摻合量為約0.01% (w/v)至約0.1% (w/v)、約0.02% (w/v)至約0.09% (w/v)、約

0.03% (w/v)至約0.08% (w/v)、約0.04% (w/v)至約0.07% (w/v)，或約0.05% (w/v)至約0.06% (w/v)。在一些態樣中，聚山梨醇酯80界面活性劑之摻合量為至少約0.01% (w/v)、至少約0.02% (w/v)、至少約0.03% (w/v)、至少約0.04% (w/v)、至少約0.05% (w/v)、至少約0.06% (w/v)、至少約0.07% (w/v)、至少約0.08% (w/v)、至少約0.09% (w/v)或至少約0.1% (w/v)。在一些態樣中，當在震盪器上攪拌時，界面活性劑減少微粒形成及/或氣泡形成。

【0033】 在本文所揭示之方法之一些態樣中，該方法進一步包含摻合胺基酸緩衝劑。在一些態樣中，胺基酸緩衝劑為組胺酸。在一些態樣中，組胺酸緩衝劑之摻合量為約10 mM至約100 mM組胺酸、約20 mM至約90 mM組胺酸、約30 mM至約80 mM組胺酸、約40 mM至約70 mM組胺酸、約10 mM至約30 mM組胺酸、約15 mM至約25 mM組胺酸、約17.5 mM至約22.5 mM組胺酸，或約40 mM至約60 mM組胺酸。在一些態樣中，組胺酸緩衝劑之摻合量為約10 mM組胺酸、約15 mM組胺酸、約20 mM組胺酸、約25 mM組胺酸、約30 mM組胺酸、約35 mM組胺酸、約40 mM組胺酸、約45 mM組胺酸或約50 mM組胺酸。

【0034】 在本文所揭示之方法之一些態樣中，該方法進一步包含摻合滲透調節劑。在一些態樣中，滲透調節劑包含糖。在一些態樣中，糖為蔗糖。在一些態樣中，蔗糖滲透調節劑之摻合量為約100 mM至約1 M蔗糖、約200 mM至約900 mM蔗糖、約300 mM至約800 mM蔗糖、約400 mM至約700 mM蔗糖，或約500 mM至約600 mM蔗糖。在一些態樣中，蔗糖滲透調節劑之摻合量為約100 mM蔗糖、約200 mM蔗糖、約300 mM蔗糖、約400 mM蔗糖、約500 mM蔗糖、約600 mM蔗糖、約700 mM蔗

糖、約800 mM蔗糖、約900 mM蔗糖或約1 M蔗糖。

【0035】 在一些態樣中，調配物為水性調配物。在一些態樣中，本發明提供一種根據本文所揭示之方法製備的醫藥調配物。

【0036】 本發明亦提供一種小瓶，其包含：

(i) FGF-21結合物；

(ii)濃度在約10 mM與約50 mM之間的組胺酸；

(iii)濃度在約100 mM與約1 M之間的蔗糖；

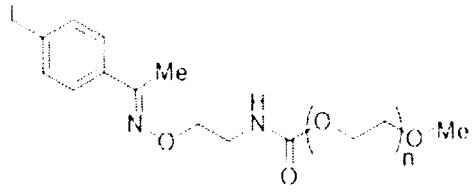
(iv)濃度在約0.01% (w/v)與約0.1% (w/v)之間的聚山梨醇酯80；及，

(v)濃度在約10 μM與約100 μM之間的DTPA；

其中該調配物之pH在約6.7與約7.5之間，

其中該FGF-21結合物包含式I：

FGF-21多肽



(式I)，

其中n在約670與約690之間，例如為約681，且其中FGF-21多肽包含SEQ ID NO: 1。

【0037】 本發明亦提供一種小瓶，其包含：

(i)約5 mg至約20 mg FGF-21結合物；

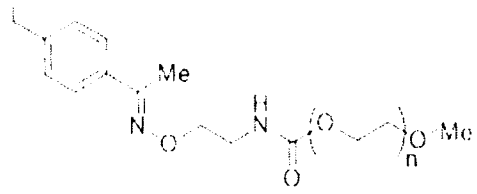
(ii)濃度為約20 mM之組胺酸；及

(iii)濃度為約600 mM之蔗糖；

其中pH為約7.0，

其中該FGF-21結合物包含式I：

FGF-21多肽



(式I)，

其中n在約670與約690之間，例如為約681，且其中FGF-21多肽包含SEQ ID NO: 1。

【0038】 本發明亦提供一種小瓶，其包含：

(i)約10 mg至約20 mg FGF-21結合物；

(ii)濃度為約20 mM之組胺酸；

(iii)濃度為約600 mM之蔗糖；

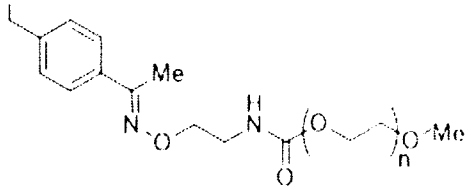
(iv)濃度為約0.05% (w/v)之聚山梨醇酯80；及

(v)濃度為約50 uM之DTPA；

其中pH為約7.1，

其中該FGF-21結合物包含式I：

FGF-21多肽



(式I)，

其中n在約670與約690之間，例如為約681，且其中FGF-21多肽包含SEQ ID NO: 1。

【0039】 本發明亦提供一種小瓶，其包含：

(i) 約10 mg FGF-21結合物；

(ii)濃度為約20 mM之組胺酸；

(iii)濃度為約600 mM之蔗糖；

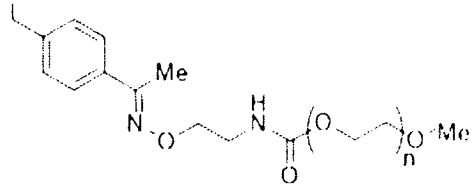
(iv)濃度為約0.05% (w/v)之聚山梨醇酯80；及

(v)濃度為約50 uM之DTPA；

其中pH為約7.1，

其中該FGF-21結合物包含式I：

FGF-21多肽



(式I)，

其中n在約670與約690之間，例如為約681，且其中FGF-21多肽包含SEQ ID NO: 1。

【0040】 本發明亦提供一種小瓶，其包含：

(i) 約20 mg FGF-21結合物；

(ii)濃度為約20 mM之組胺酸；

(iii)濃度為約600 mM之蔗糖；

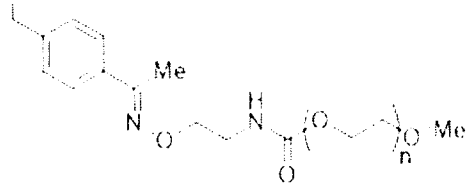
(iv)濃度為約0.05% (w/v)之聚山梨醇酯80；及

(v)濃度為約50 uM之DTPA；

其中pH為約7.1，

其中該FGF-21結合物包含式I：

FGF-21多肽



(式I)，

其中n在約670與約690之間，例如為約681，且其中FGF-21多肽包含SEQ ID NO: 1。

【0041】 本發明亦提供一種套組或製品，其包含(i)本文所揭示之醫藥調配物或本文所揭示之小瓶，及(ii)使用說明書。

【0042】 本發明亦提供治療或預防有需要之個體與纖維化及/或糖尿病相關之疾病或病狀的方法，其包含向該個體投與有效量之本文所揭示之醫藥調配物、本文所揭示之小瓶或本文所揭示之套組。在一些態樣中，疾病或病狀為糖尿病。在一些態樣下，糖尿病為第2型糖尿病。在一些態樣中，疾病或病狀為非酒精性脂肪變性肝炎(NASH)。在一些態樣中，向個體投與有效量之醫藥調配物降低肝臟硬度、降低體脂百分比、降低體重、降低肝臟/體重比、降低肝臟脂質含量、降低肝纖維化面積、降低空腹血糖含量、降低空腹三酸甘油酯含量、降低LDL膽固醇含量、降低ApoB含量、降低ApoC含量、增加HDL膽固醇，或其任何組合。在一些態樣中，以約20 mg之均一劑量(flat dose)投與FGF-21結合物。在一些態樣中，以一週投藥間隔投與FGF-21結合物。在一些態樣中，皮下投與醫藥調配物。在一些態樣中，使用安全注射器皮下投與醫藥調配物。在一些態樣中，與未經治療之個體或投與該醫藥調配物之前的個體之水準相比，向個體投與該醫藥調配物造成：

(i) 肝臟脂肪含量降低；

(ii) 肝損傷程度降低；

(iii) 纖維化程度降低；

(iv) 纖維化生物標記血清Pro-C3 (N端第III型膠原蛋白原肽)含量降低；

(v) 丙胺酸轉胺酶(ALT)含量降低；

(vi) 天冬胺酸轉胺酶(AST)含量降低；

(vii) 血清脂聯素含量增加；

(viii) 血漿LDL含量降低

(ix) 血漿HDL含量增加；

(x) 血漿三酸甘油酯含量降低；

(xi) 肝臟硬度降低；或

(xii) 其任何組合。

【0043】 在一些態樣中，FGF-21多肽可結合於呈約30 kDa之PEG。

【圖式簡單說明】

【0044】 **圖1A**及**圖1B**顯示隨調配物組成而變化之PEG-FGF-21之脫醯胺。**圖1A**顯示不含噴替酸(DTPA)或聚山梨醇酯80之調配物情況下之脫醯胺。**圖1B**顯示包含噴替酸(DTPA)及聚山梨醇酯80之調配物情況下之脫醯胺。

【0045】 **圖2A**及**圖2B**顯示在存在及不存在50 μM DTPA(亦稱為噴替酸)下，甲硫胺酸1 (圖2A)及甲硫胺酸169 (圖2B)情況下的PEG-FGF-21多肽之金屬催化氧化。

【0046】 **圖3A**及**圖3B**顯示pH對PEG-FGF-21聚集之影響。**圖3A**顯示聚集隨所用時間、pH及緩衝液系統之變化。**圖3B**顯示不同溫度及時間(5℃，14個月；25℃，1個月；40℃，1天)及不同pH下之聚集。

【0047】 **圖4A**及**圖4B**顯示隨調配物組成而變化之PEG-FGF-21之聚集。**圖4A**顯示不含噴替酸(DTPA)或聚山梨醇酯80之調配物情況下之聚集。**圖4B**顯示具有噴替酸(DTPA)及聚山梨醇酯80之調配物情況下之聚集。

【0048】 **圖5**顯示在300 rpm回轉式震盪器24小時(左)或腕式搖動6小時(右)之後，不含PS80之較高濃度下之PEG-FGF-21變為混濁的。添加0.01% (w/v)與0.1% (w/v)之間的聚山梨醇酯80降低了樣品之渾濁度。

【0049】 **圖6**顯示本發明之聚乙二醇化FGF-21結合物之示意圖；詳言之，顯示其中FGF-21結合物中之非天然胺基酸為對-乙醯基-苯丙胺酸，例如對-乙醯基-L-苯丙胺酸的一實例。n表示PEG聚合物中所含之乙二醇單元之數目。

【0050】 **圖7**顯示包含681個乙二醇單元之特異性PEG連接子之示意圖，該連接子可以位點特異性方式融合或結合於FGF-21多肽(例如包含非原生胺基酸，諸如對-乙醯基-苯丙胺酸之FGF-21多肽)，得到本發明之FGF-21結合物。

【實施方式】

經由EFS-WEB以電子方式提交之序列表的參考

【0051】 伴隨本申請案申請的以電子方式提交之序列表(名稱：3338_2080002_SeqListing.txt；大小：11,049位元組；及創建日期：2021年1月5日)之內容係以全文引用之方式併入本文中。

【0052】 本發明提供一種穩定醫藥調配物，其包含纖維母細胞生長因子21 (FGF-21)結合物，例如PEG-FGF-21(例如SEQ ID NO: 2或4)。已觀測到諸如DTPA之胺基聚羧酸陽離子螯合劑之存在會減少本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21中的一或多個胺基酸殘基，例如甲硫胺酸之氧化。

【0053】 在包含本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21的調配物中併入DTPA亦降低儲存期間

FGF-21多肽之脫醯胺速率，且亦降低儲存期間高分子量聚集速率。可藉由將調配物之pH調整至7.1來達成進一步穩定。此外，調配物可藉由添加界面活性劑(諸如聚山梨醇酯80)進一步穩定化。

【0054】 本發明亦提供製造所揭示之調配物之方法，以及藉由應用所揭示之方法產生之調配物。亦提供治療或預防與纖維化相關之疾病(例如NASH及糖尿病)之方法，其包含向有需要之個體投與所揭示之穩定調配物。

定義

【0055】 為了使本發明更易理解，首先定義某些術語。如本申請案中所用，除非本文另外明確提供，否則以下術語中之每一者應具有以下闡述之含義。在整個本申請案中，亦闡述其他定義。

【0056】 本發明包括群組中恰好一個成員存在於、用於給定產物或製程中或以其他方式與給定產物或製程相關之態樣。本發明包括超過一個或所有群組成員存在於、用於給定產物或製程中或以其他方式與給定產物或方法相關之態樣。

【0057】 除非上下文另外明確規定，否則單數形式「一(a/an)」及「該(the)」包括複數個提及物。術語「一(a)」(或「一(an)」)以及術語「一或多個(種)」及「至少一個(種)」在本文中可互換使用。在某些態樣中，術語「一(a/an)」意謂「單個」。在其他態樣中，術語「一(a/an)」包括「兩個或更多個(種)」或「多個(種)」。因此，舉例而言，提及「FGF-21結合物」係提及一或多種該等蛋白質或結合物且包括一般熟習此項技術者已知的其等效物等。

【0058】 此外，「及/或」在本文中使用時應視為特定地揭示兩種指

定特徵或組分中之每一者，存在或不存在另一者。因此，如在本文中之諸如「A及/或B」之片語中所用之術語「及/或」意欲包括「A及B」、「A或B」、「A」(單獨)及「B」(單獨)。類似地，諸如「A、B及/或C」之片語中所用之術語「及/或」意欲涵蓋以下態樣中之每一者：A、B及C；A、B或C；A或C；A或B；B或C；A及C；A及B；B及C；A (單獨)；B (單獨)；及C (單獨)。

【0059】 如本文所用，術語「約」指代如藉由一般熟習此項技術者所測定，在特定值或組成之可接受誤差範圍內的值或組成，其將部分視該值或組成量測或測定之方式，亦即量測系統之侷限性而定。舉例而言，「約」可意謂依據此項技術中之實踐，在1個或多於1個標準差內。替代地，「約」可意謂至多20%之範圍。此外，尤其在生物系統或過程方面，該術語可意謂值之至多一個數量級或至多5倍。當特定值或組成提供於本申請案及申請專利範圍中時，除非另有說明，否則「約」之含義應假定為在特定值或組成之可接受誤差範圍內。當術語「約」與數值範圍結合使用時，其藉由向上或向下擴展所闡述數值之邊界來調整其範圍。因此，「約10-20」意謂「約10至約20」。一般而言，術語「約」可調整高於及低於所陳述值例如上下10% (高或低)變化的數值。

【0060】 除非另作定義，否則本文中所用之所有技術及科學術語均具有與一般熟習本發明相關技術者通常所瞭解之含義相同的含義。舉例而言，the Concise Dictionary of Biomedicine and Molecular Biology, Juo, Pei-Show, 第2版, 2002, CRC Press；The Dictionary of Cell and Molecular Biology, 第3版, 1999, Academic Press；及the Oxford Dictionary Of Biochemistry And Molecular Biology, 經修訂, 2000,

Oxford University Press向此項技術者提供本發明中所用之許多術語的通用辭典。

【0061】 應理解，每當本文中用語言「包含」描述態樣時，則亦提供用術語「由……組成」及/或「基本上由……組成」所描述之類似態樣。

【0062】 單位、前綴及符號以其國際單位制(Système International de Unites；SI)接受之形式表示。數值範圍包括界定該範圍之數字。除非另有指示，否則胺基酸序列以胺基至羧基方向自左向右書寫。本文提供之標題並非本發明之各種態樣的限制，其可作為整體由說明書提及。因此，下文緊接著定義之術語參考整個說明書來更完全地定義。

【0063】 胺基酸在本文中可由其通常已知之三字母符號或由IUPAC-IUB生物化學命名法委員會(Biochemical Nomenclature Commission)所推薦之單字母符號來提及。除非另有指示，否則胺基酸序列以胺基至羧基方向自左向右書寫。

【0064】 *聚集*：術語「聚集」係指多肽，例如本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21的FGF-21多肽部分與其他分子(諸如同一多肽之其他分子)形成非共價連接複合體，由此形成高分子量複合體的傾向。量測聚集體形成之例示性方法包括如本文實例中所述之分析型尺寸排阻層析。可測定相對於參考化合物之相對聚集量，例如以鑑別聚集降低之多肽。亦可測定相對於參考調配物之相對聚集量，例如以鑑別其中例如本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21聚集降低之調配物。

【0065】 *胺基酸取代*：術語「胺基酸取代」係指用另一胺基酸殘基

替代親代或參考序列(例如野生型序列)中所存在之胺基酸殘基。胺基酸可在親代或參考序列(例如野生型多肽序列)中例如經由化學肽合成或經由此項技術中已知之重組方法進行取代。因此，提及「位置X處之取代」係指用替代胺基酸殘基取代位置X處存在之胺基酸。在一些態樣中，取代模式可根據結構描述AnY進行描述，其中A為對應於天然或原始存在於位置n處的胺基酸編碼的單一字母，且Y為取代胺基酸殘基。在其他態樣中，取代模式可根據結構描述An(YZ)進行描述，其中A為對應於取代天然或原始存在於位置n處的胺基酸之胺基酸殘基編碼的單一字母，且Y及Z係可置換A之替代的取代胺基酸殘基。

【0066】 在本發明之上下文中，取代(即使當其稱為胺基酸取代時)係在核酸層面上進行，亦即，用替代的胺基酸殘基取代胺基酸殘基係藉由用編碼第二胺基酸之密碼子取代編碼第一胺基酸之密碼子進行。

【0067】 *大約*：如本文所用，如應用於所關注之一或多個值之術語「大約」係指數值類似於所述參考值。在某些態樣中，除非另有說明或另外自上下文顯而易見(除非此類數字超過可能數值之100%)，否則術語「大約」係指落入所述參考值在任一方向上(大於或小於)之10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%或更小範圍內的數值範圍。

【0068】 *與……相關*：如本文關於疾病所用，術語「與……相關」意謂與疾病診斷、罹患、存在或進展有關的相關症狀、量測、特徵或狀態。因為相關可但不必與疾病有因果關係。

【0069】 *生物活性*：如應用於本文所揭示之分子，例如本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21的術語「生物活性」意謂可影響與活生物體相關之生物系統、路徑、分子或

相互作用的任何物理或生物化學特性的任何物質。詳言之，如本文所用，生物活性分子包括(但不限於)任何意欲用於診斷、治癒、減輕、治療或預防人類或其他動物的疾病或病狀(例如與纖維化相關之疾病或病狀)，或以其他方式提高人類或動物的身體或精神健康的物質。

【0070】 *保守胺基酸取代*：「保守性胺基酸取代」為胺基酸殘基經具有類似側鏈之胺基酸殘基置換之取代。此項技術中已定義具有類似側鏈之胺基酸殘基家族，包括鹼性側鏈(例如離胺酸、精胺酸或組胺酸)、酸性側鏈(例如天冬胺酸或麩胺酸)、不帶電極性側鏈(例如甘胺酸、天冬醯胺、麩醯胺酸、絲胺酸、蘇胺酸、酪胺酸或半胱胺酸)、非極性側鏈(例如丙胺酸、纈胺酸、白胺酸、異白胺酸、脯胺酸、苯丙胺酸、甲硫胺酸或色胺酸)、β-分支側鏈(例如蘇胺酸、纈胺酸、異白胺酸)及芳族側鏈(例如酪胺酸、苯丙胺酸、色胺酸或組胺酸)。因此，若多肽中之胺基酸經來自相同側鏈家族之另一胺基酸置換，則將胺基酸取代視為保守。在另一態樣中，一串胺基酸可經側鏈家族成員之次序及/或組成不同之結構上類似之一串保守置換。

【0071】 非保守性胺基酸取代包括以下取代，其中(i)用具有正電性側鏈之殘基(例如Arg、His或Lys)取代負電性殘基(例如Glu或Asp)或經負電性殘基(例如Glu或Asp)取代；(ii)用親水性殘基(例如Ser或Thr)取代疏水性殘基(例如Ala、Leu、Ile、Phe或Val)或經疏水性殘基(例如Ala、Leu、Ile、Phe或Val)取代；(iii)用半胱胺酸或脯胺酸取代任何其他殘基或經任何其他殘基取代；或(iv)用具有龐大疏水性或芳族側鏈之殘基(例如Val、Ile、Phe或Trp)取代具有較小側鏈之殘基(例如Ala或Ser)或無側鏈之殘基(例如Gly)或經具有較小側鏈之殘基(例如Ala或Ser)或無側鏈之殘基

(例如Gly)取代。

【0072】 亦可使用其他胺基酸取代。舉例而言，對於胺基酸丙胺酸，取代可取自D-丙胺酸、甘胺酸、β-丙胺酸、L-半胱胺酸及D-半胱胺酸中之任一者。對於離胺酸，置換可為D-離胺酸、精胺酸、D-精胺酸、高精胺酸、甲硫胺酸、D-甲硫胺酸、鳥胺酸或D-鳥胺酸。一般而言，可預期誘發分離多肽之特性改變的功能上重要區域之取代為以下取代，其中(i)例如絲胺酸或蘇胺酸之極性殘基取代例如白胺酸、異白胺酸、苯丙胺酸或丙胺酸之疏水性殘基(或經其取代)；(ii)半胱胺酸殘基取代任何其他殘基(或經其取代)；(iii)例如離胺酸、精胺酸或組胺酸之具有正電性側鏈之殘基取代例如麩胺酸或天冬胺酸之具有負電性側鏈之殘基(或經其取代)；或(iv)例如苯丙胺酸之具有龐大側鏈之殘基取代例如甘胺酸之不具有此類側鏈之殘基(或經其取代)。以上非保守性取代之一可改變蛋白質之功能特性的可能性亦與取代相對於蛋白質之功能上重要區域之位置相關：因此一些非保守性取代可對生物特性幾乎無或無作用。

【0073】 *保守*：如本文中所用，術語「保守」係指多肽序列之胺基酸殘基分別在所比較之兩個或更多個序列之相同位置中未發生改變。相對保守之胺基酸為與序列中其他地方出現之核苷酸或胺基酸相比而言較相關之序列中的保守胺基酸。

【0074】 在一些態樣中，若兩個或更多個序列彼此100%一致，則將其稱為「完全保守」或「一致」。在一些態樣中，若兩個或更多個序列彼此至少70%一致、至少80%一致、至少90%一致或至少95%一致，則將其稱為「高度保守」。在一些態樣中，若兩個或更多個序列彼此呈約70%一致、約80%一致、約90%一致、約95%、約98%或約99%一致，則將其

稱為「高度保守」。在一些態樣中，若兩個或更多個序列彼此至少30%一致、至少40%一致、至少50%一致、至少60%一致、至少70%一致、至少80%一致、至少90%一致或至少95%一致，則將其稱為「保守」。在一些態樣中，若兩個或更多個序列為彼此約30%一致、約40%一致、約50%一致、約60%一致、約70%一致、約80%一致、約90%一致、約95%一致、約98%一致或約99%一致，則將其稱為「保守」。序列之保守可應用於聚核苷酸或多肽之整個長度或可應用於其一部分、區域或特徵。

【0075】 *脫醯胺*：術語「脫醯胺」係指多肽內之胺基酸殘基自發經歷脫醯胺反應，由此改變胺基酸之化學結構且可能影響多肽功能之傾向。量測脫醯胺之例示性方法係揭示於本文實例中。可測定相對於參考化合物之相對脫醯胺量，例如以鑑別脫醯胺降低之多肽。亦可測定相對於參考調配物之相對脫醯胺量，例如以鑑別其中本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21具有降低脫醯胺之調配物。

【0076】 *與纖維化相關之疾病*：術語「與纖維化相關之疾病」包括已觀測到纖維化發生或已知或認為纖維化與疾病病因、進展或症狀相關或促進疾病病因、進展或症狀，或已知或認為纖維化隨疾病進展發生之疾病、病症及病狀。

【0077】 纖維化可影響器官或組織，諸如胰臟、肺臟、心臟、腎臟、肝臟、眼、神經系統、骨髓、淋巴結、心內膜或腹膜後腔。與纖維化相關之例示性疾病包括(但不限於)：非酒精性脂肪變性肝炎(NASH)、肝纖維化、硬化前期(pre-cirrhosis)、硬化、彌漫性實質性肺病、囊腫性纖維化、肺纖維化(lung fibrosis/pulmonary fibrosis)、進行性大塊性纖維

化、特發性肺纖維化、注射性纖維化、腎纖維化(kidney fibrosis/renal fibrosis)、慢性腎病、糖尿病性腎病、局部區段性腎小球硬化、膜性腎病變、IgA腎病變、骨髓纖維化、心臟衰竭、代謝性心臟衰竭、心臟纖維化、白內障性纖維化、白內障、眼部疤痕、胰臟纖維化、皮膚纖維化、腸纖維化、腸狹窄、心內膜心肌纖維化、心房纖維化、縱隔纖維化、克羅恩氏病(Crohn's disease)、腹膜後纖維化、瘢痕瘤、腎源性全身纖維化、硬皮病、全身性硬化症、關節纖維化、佩洛尼氏症候群(Peyronie's syndrome)、杜普宜特朗氏攣縮(Dupuytren's contracture)、糖尿病神經病變、黏連性滑膜囊炎(adhesive capsulitis)、酒精性肝病、脂肪肝、病毒性肝炎、膽道疾病、原發性血色素沈著症、藥物相關之硬化、隱源性硬化、威爾森氏病(Wilson's disease)及α1-抗胰蛋白酶缺乏症、間質性肺病(ILD)、人類纖維性肺病、黃斑變性、視網膜病變、玻璃體視網膜病變、心肌纖維化、格雷弗氏眼病(Grave's ophthalmopathy)、藥物誘發之麥角中毒、心血管疾病、動脈粥樣硬化/再狹窄、肥厚性疤痕、原發性或特發性骨髓纖維化及發炎性腸病(包括(但不限於)膠原性結腸炎)。在一些態樣中，與纖維化相關之疾病可包括肝纖維化、腎纖維化、肺纖維化及心臟纖維化(heart/cardiac fibrosis)。在一些態樣中，與纖維化相關之疾病可為肝纖維化。在一些態樣中，與纖維化相關之疾病可為NASH。

【0078】 *有效量*：如本文所用，術語包含本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21的調配物之「有效量」係足以實現有益或所需結果，例如，臨床結果之量，且因此，「有效量」視其所施用之情形而定。例如，在投與治療NASH的本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21之情

形下，有效量之FGF-21結合物為例如足以改善肝臟脂肪、肝臟損傷或纖維化(例如相對於未經治療之個體之含量(程度)或相對於投與治療之前的個體之含量(程度)，肝臟脂肪、肝臟損傷或纖維化降低)的量。在一些態樣中，本文所揭示之調配物中的FGF-21多肽之量係基於藉由斜率光譜分析，例如配備有SoloVPE Fibrette (C Technologies公司；P/N OF0002-P50) (SoloVPE拋棄式UV塑膠容器(C Technologies公司；P/N OC0009-1))之Agilent Cary 60 UV-Vis分光光度計，在280 nm下使用0.87 (mL/(mg*cm))之消光係數進行之量測。

【0079】 在一些態樣中，相對於未經治療之個體之含量或相對於投與治療之前的個體之含量，治療NASH的本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21之有效量可改變一或多種纖維化生物標記物之含量：例如，降低血清Pro-C3；降低ALT或AST；增加血清脂聯素；降低血漿LDL；增加血漿HDL；降低血漿三酸甘油酯含量，或其任何組合。

【0080】 術語「有效量」可與「有效劑量」、「治療有效量」或「治療有效劑量」互換使用。

【0081】 關於本發明之方法及劑型的「均一劑量」意謂向患者投與的不考慮患者體重或體表面積(BSA)的劑量。因此均一劑量並非以mg/kg劑量提供，而實際上以絕對分子量，例如mg提供。與均一劑量相反，如本文中所提及的術語「基於體重之劑量」意謂向患者投與之劑量係基於患者之體重而計算的。在一些態樣中，本文所揭示之呈均一劑量的FGF-21多肽之量係基於藉由斜率光譜分析，例如配備有SoloVPE Fibrette (C Technologies公司；P/N OF0002-P50) (SoloVPE拋棄式UV塑膠容器(C

Technologies公司；P/N OC0009-1))之Agilent Cary 60 UV-Vis分光光度計，在280 nm下使用0.87 (mL/(mg*cm))之消光係數進行之量測。

【0082】 *FGF-21活性*：術語「FGF-21活性」係指FGF-21結合物(例如本發明之聚乙二醇化FGF-21結合物)中FGF-21多肽之至少一種生物活性。術語「生物活性」係指分子，例如FGF-21多肽(例如FGF-21結合物或本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21中之FGF-21多肽)影響與生物體相關之生物系統、路徑、分子或相互作用，包括(但不限於)病毒、細菌、噬菌體、轉座子、朊病毒、昆蟲、真菌、植物、動物及人類之任何物理或生物化學特性的能力。

【0083】 例如，生物活性包括野生型FGF-21所發揮的生物功能中之任一者。測定分子是否具有野生型FGF-21 (諸如SEQ ID NO: 3之野生型FGF-21多肽)之至少一種生物活性的例示性方法可包括此項技術中已知的任何功能分析，包括美國申請公開案第2017/0189486號之實例5及實例17中所揭示之方法，該公開案係以全文引用之方式併入本文中。

【0084】 *參考化合物*：可測定相對於參考化合物的生物活性之相對水準，例如以鑑別針對預期治療用途具有生物活性或具有足夠高生物活性，例如具有比參考化合物之EC_{50}高小於5倍、小於10倍、小於20倍、小於50倍或小於100倍的EC_{50}的多肽。亦可測定相對於參考調配物的生物活性之相對水準，例如以鑑別其中本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21針對預期治療用途具有生物活性或具有足夠高生物活性，例如具有比參考化合物中之相應FGF-21的EC_{50}高小於5倍、小於10倍、小於20倍、小於50倍或小於100倍的EC_{50}的調配物。

【0085】 本文所述之參考化合物可為缺乏修飾，諸如如本文所述之聚乙二醇化的相應FGF-21序列。例如，參考化合物可為野生型FGF-21或變異FGF-21多肽序列(例如具有胺基酸取代，諸如用諸如對-乙醯基-L-苯丙胺酸之非天然胺基酸置換Q109之野生型FGF-21)，但其不具有PEG結合物部分。因此，在一些態樣中，參考化合物可含有至少一種非天然胺基酸，其不連接於本文所述之PEG部分。在一些態樣中，PEG部分包含遠端甲氧基(-O-CH_3)。

【0086】 本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21之例示性參考化合物包括(但不限於)SEQ ID NO: 3之野生型FGF-21及SEQ ID NO: 1之變異FGF-21多肽。

【0087】 在一些態樣中，參考化合物可含有額外胺基酸取代、缺失及/或插入。在一些態樣中，可與聚乙二醇化或非聚乙二醇化形式之多肽進行比較；在前者之情況下，可與包含或不包含非天然胺基酸之多肽進行比較。

【0088】 *一致性*：如本文所用，術語「一致性」係指聚合分子之間，例如多肽分子之間的總體單體守恆。不具有任何額外限定詞之術語「一致」，例如蛋白A與蛋白B一致，暗示序列100%一致(100%序列一致性)。描述兩個序列為例如「70%一致」係等效於描述其具有例如「70%序列一致性」。

【0089】 舉例而言，兩個多肽序列之一致性百分比的計算可例如藉由出於最佳比較目的比對兩個序列來進行(例如，可將空位引入第一及第二多肽序列中之一個或兩個中以便最佳比對，且出於比較目的可忽略非一致序列)。在某些態樣中，出於比較目的比對的序列之長度為參考序列之

長度的至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%、至少95%或100%。隨後比較相應胺基酸位置處之胺基酸。

【0090】 若第一序列中之位置與第二序列中之對應位置由相同胺基酸殘基佔據，則分子在該位置處一致。在考慮到為求兩個序列之最佳比對而需要引入之空位數目及各空位長度的情況下，該等兩個序列之間的一致性百分比與該等序列共有的一致位置之數目有關。可使用數學算法達成序列比較及測定兩個序列之間的一致性百分比。

【0091】 合適的軟體程式可由各種來源獲得，且用於比對蛋白質與核苷酸序列。一種測定序列一致性百分比之適合程式為bl2seq，其為可自美國政府國立生物技術資訊中心(U.S. government's National Center for Biotechnology Information)BLAST網站(blast.ncbi.nlm.nih.gov)獲得之BLAST套件之一部分。Bl2seq使用BLASTN或BLASTP演算法執行兩個序列之間的比較。BLASTN用於比較核酸序列，而BLASTP用於比較胺基酸序列。其他適合之程式為例如Needle、Stretcher、Water或Matcher (生物信息學程式之EMBOSS套件之一部分)且亦可自歐洲生物信息研究所(EBI)在www.ebi.ac.uk/Tools/psa獲得。序列比對可使用此項技術中已知之方法，諸如MAFFT、Clustal (ClustalW、Clustal X或Clustal Omega)、MUSCLE等進行。

【0092】 與多肽參考序列比對之單一多肽靶序列內不同區域可各自具有其自身序列一致性百分比。應注意，序列一致性百分比值四捨五入至小數點後一位。舉例而言，80.11、80.12、80.13及80.14四捨五入為80.1，而80.15、80.16、80.17、80.18及80.19四捨五入為80.2。亦注意，

長度值將總是為整數。

【0093】 在某些態樣中，第一胺基酸序列相對於第二胺基酸序列之一致性百分比(%ID)計算為100×(Y/Z)，其中Y為在第一及第二序列之比對中評分為一致匹配之胺基酸殘基數目(如藉由目視檢查或特定序列比對程式比對)且Z為第二序列中殘基總數。若第一序列之長度比第二序列長，則第一序列相對於第二序列之一致性百分比將高於第二序列相對於第一序列之一致性百分比。

【0094】 熟習此項技術者將瞭解用於序列一致性%計算之序列比對的產生不限於僅僅由一級序列數據驅動之二元序列-序列比較。亦將瞭解，序列比對可藉由將序列資料與來自異質來源之資料(諸如結構資料(例如晶體學蛋白結構)、功能資料(例如突變位置)或系統發生資料)整合來生成。整合異質資料以生成多個序列比對之適合的程式為T-Coffee，可在www.tcoffee.org獲得且或者例如獲自EBI。亦應瞭解，用於計算序列一致性百分比之最終比對可自動或人工計算。

【0095】 *活體內蛋白水解降解*：術語「活體內蛋白水解降解」係指當引入至活系統中時(例如當注射至生物體中時)，可由該生物體中存在之蛋白酶引起的多肽之裂解。蛋白水解可潛在地影響多肽之生物活性或半衰期。舉例而言，野生型FGF-21可經歷C端裂解，產生截短不活化多肽。

【0096】 量測FGF-21活體內蛋白水解之例示性方法為美國申請公開案第US2017/0189486號之實例10中所述之基於Meso Scale Discovery (MSD)之電化學發光免疫吸附劑分析(ECLIA)。可測定相對於參考化合物之相對活體內或活體外蛋白水解量，例如以鑑別活體內蛋白水解降低之多肽。亦可測定相對於參考調配物之活體內蛋白分解之相對量，亦即以鑑別

其中本文所揭示之FGF-21結合物，SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21的FGF-21多肽部分具有降低之活體外蛋白分解的調配物。

【0097】 *分離*：如本文所用，術語「分離」係指物質或實體(例如多肽)已與其締合組分之至少一些分離(不管本質上或在實驗環境中)。經分離之物質(例如蛋白質)關於其曾締合之物質的純度可不同。

【0098】 術語「連接」、「融合」、「結合」及「附接」可互換使用且係指共價融合或串接於，包括內部地插入至FGF-21多肽，例如本文所揭示之變異FGF-21多肽(例如SEQ ID NO: 1之FGF-21多肽)的PEG部分(例如約30 kD PEG部分)。

【0099】 在本發明之上下文中，FGF-21多肽，例如本文所揭示之變異FGF-21多肽(例如SEQ ID NO: 1之FGF-21多肽)與PEG部分可由於化學合成「融合」。

【0100】 在本發明之上下文中，術語「結合物」或「結合」表示兩種分子實體(例如FGF-21多肽，例如本文所揭示之變異FGF-21多肽及諸如PEG之聚合物部分)已化學連接。在一些特定態樣中，FGF-21多肽與PEG部分係經由肟鍵連接，如本文所揭示之式I中所示。在一些態樣中，PEG部分包含遠端甲氧基(-O-CH_3)。

【0101】 *突變*：在本發明之內容中，如上文所定義之術語「突變」及「胺基酸取代」(有時簡單地提及為「取代」)視為可互換的。

【0102】 *非天然胺基酸*：「非天然胺基酸」係指並非20種常見胺基酸或吡咯離胺酸或硒半胱胺酸中之一者的胺基酸。可與術語「非天然胺基酸」同義使用的其他術語為「非天然編碼胺基酸」、「非天然性胺基酸」、「非天然存在之胺基酸」及其各種加連字符及非加連字符形式。

【0103】 術語「非天然胺基酸」亦包括(但不限於)藉由天然編碼胺基酸(包括(但不限於)20種常見胺基酸)之修飾(例如轉譯後修飾)存在，但本身並非藉由轉譯複合體天然併入生長多肽鏈中的胺基酸。此類非天然胺基酸之實例包括(但不限於) N-乙醯基葡糖胺基-L-絲胺酸、N-乙醯基葡糖胺基-L-蘇胺酸及O-磷酸酪胺酸。在本發明之一個特定態樣中，非天然胺基酸為對-乙醯基-苯丙胺酸。在本發明之一個特定態樣中，非天然胺基酸為對-乙醯基-L-苯丙胺酸。在本發明之一個特定態樣中，非天然胺基酸為對-乙醯基-D-苯丙胺酸。

【0104】 *患者*：如本文中所用，「患者」係指可能尋求或需要治療、要求治療、正在接受治療、即將接受治療之個體，或受到經過訓練的專業人員針對特定疾病或病狀之照護之個體。.

【0105】 *醫藥組合物*：術語「醫藥組合物」係指呈該形式以便允許活性成分(例如本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21)的生物活性為有效的，且其不含對組合物將投與之個體具有不可接受毒性的其他組分(例如賦形劑及水)的製備物。此類組合物可為無菌的。

【0106】 *醫藥學上可接受*：片語「醫藥學上可接受」在本文中用於指在合理醫學判斷範疇內，適用於與人類及動物之組織接觸而無過度毒性、刺激、過敏反應或其他問題或併發症，與合理益處/風險比相匹配的彼等化合物、物質、組合物及/或劑型。一般而言，經聯邦或州政府之管理機構批准(或列於美國藥典或其他公認藥典中)供用於動物中，且更特定言之，供用於人類中，暗示彼等化合物、物質、組合物及/或劑型為醫藥學上可接受的。出於治療目的一般可接受為安全的化合物、物質、組合物

及/或劑型係「治療上可接受」的。

【0107】 *醫藥學上可接受之賦形劑*：如本文所用，片語「醫藥學上可接受之賦形劑」係指除本文所述之活性化合物外之任何成分(例如，能夠懸浮或溶解活性化合物之媒劑)且其具有在個體中實質上無毒性及非炎性之特性。賦形劑可包括例如螯合劑、界面活性劑、緩衝劑、滲透調節劑、抗氧化劑、乳化劑、填充劑(稀釋劑)、防腐劑、吸附劑、懸浮或分散劑、甜味劑及水合用水。出於治療目的公認為安全的賦形劑為「治療上可接受」的。

【0108】 *醫藥學上可接受之鹽*：本發明亦包括本文中所描述之化合物之醫藥學上可接受之鹽。如本文所用，「醫藥學上可接受之鹽」係指所揭示之化合物之衍生物，其中母體化合物藉由將現有酸或鹼部分轉化為其鹽形式(例如藉由使游離鹼基與適合有機酸反應)來改性。醫藥學上可接受之鹽的實例包括(但不限於)鹼性殘基(諸如胺)之無機酸鹽或有機酸鹽；酸性殘基(諸如羧酸)之鹼金屬鹽或有機鹽；及其類似者。

【0109】 *多肽*：術語「多肽」、「肽」及「蛋白質」在本文中可互換使用，係指任何長度之胺基酸之聚合物。聚合物可包含經修飾之胺基酸。該等術語亦涵蓋經天然修飾或藉由干預修飾之胺基酸聚合物；例如二硫鍵形成、糖基化、脂質化、乙醯化、磷酸化或任何其他操縱或修飾，諸如與標記組分結合。例如，含有一或多種胺基酸類似物(包括例如，非天然胺基酸，諸如同半胱胺酸、鳥胺酸、對-乙醯基苯丙胺酸、D-胺基酸及肌酸)以及此項技術中已知之其他修飾的多肽亦包括於該定義內。在一特定態樣中，本文所揭示之多肽為FGF-21多肽。

【0110】 如本文中所用，該術語係指具有任何尺寸、結構或功能之

蛋白質、多肽及肽。多肽包括基因產物、天然存在之多肽、合成多肽、同源物、直系同源物、旁系同源物、片段及前述者之其他等效物、變異體及類似物。多肽可為單一多肽或可為多分子複合體，諸如二聚體、三聚體或四聚體。其亦可包含單鏈或多鏈多肽。最常見二硫鍵發現於多鏈多肽中。術語多肽亦可適用於其中一或多個胺基酸殘基為相應天然存在之胺基酸之人工化學類似物的胺基酸聚合物。在一些態樣中，「肽」可小於或等於50個胺基酸長，例如約5、10、15、20、25、30、35、40、45或50個胺基酸長。

【0111】 *預防*：如本文所用，術語「預防」係指部分或完全地延遲疾病、病症及/或病狀之發作；部分或完全地延遲特定疾病、病症及/或病狀之一或多種症狀、特徵或臨床表現的發作；部分或完全地延遲特定疾病、病症及/或病狀之一或多種症狀、特徵或表現的發作；部分或完全地延遲特定疾病、病症及/或病狀之進展；及/或降低罹患與疾病、病症及/或病狀相關之病變的風險。在一些態樣中，本申請案中所揭示之醫藥調配物可用於預防與纖維化相關之疾病或病狀，諸如NASH或糖尿病之發作、預防其症狀或預防其併發症。

【0112】 *預防性*：如本文所用，「預防性」係指用於防止疾病或病狀之發作，或防止或延遲與纖維化相關之疾病或病狀(例如NASH)之症狀的療法或行動方針。在一些態樣中，本申請案中所揭示之醫藥調配物可預防性地使用。

【0113】 *預防*：如本文所用，「預防」係指維持健康且防止或延遲與纖維化相關之疾病或病狀(例如NASH或糖尿病)之發作，或防止或延遲與疾病或病狀相關之症狀所採取的措施。

【0114】 *重組*：「重組」多肽或蛋白質係指經由重組DNA技術產生之多肽或蛋白質。出於本發明之目的，分離在工程改造之宿主細胞中表現的重組產生之多肽及蛋白質視為如已藉由任何適合技術分離、分級分離或部分或實質上純化之天然或重組多肽。本文所揭示之變異FGF-21可使用此項技術中已知之方法重組產生。本文所揭示之蛋白質及肽亦可化學合成。

【0115】 在一些態樣中，適用於本文所揭示之結合物的FGF-21多肽(例如包含非天然胺基酸之FGF-21多肽，例如SEQ ID NO: 1之FGF-21)係由細菌宿主重組產生。

【0116】 相似性：如本文所用，術語「相似性」係指聚合分子之間，例如多肽分子之間的總體相關性。聚合分子彼此之相似性百分比的計算可以與一致性百分比之計算相同的方式進行，但相似性百分比之計算要考慮此項技術中所理解之保守性取代。

【0117】 *溶解度*：術語「溶解度」係指一種物質可溶解於另一物質中之量，例如可溶解於水溶液中的野生型FGF-21 (例如SEQ ID NO: 3之FGF-21多肽)、變異FGF-21 (例如包含非天然胺基酸之FGF-21多肽，例如SEQ ID NO: 1之FGF-21多肽)或本發明之FGF-21結合物(例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之FGF-21多肽)之量。

【0118】 測量野生型、變異FGF-21多肽或FGF-21結合物之溶解度的例示性方法為美國申請公開案第US2017/0189486號之實例8中描述之塞流(plug flow)溶解度測試。可測定相對於參考化合物之相對溶解度，例如以鑑別溶解度增加之多肽。在一些態樣中，可測定相對於參考調配物之相對溶解度，例如以鑑別其中多肽溶解度增加之調配物。

【0119】 *個體*：「個體(subject/individual)」或「動物」或「哺乳動物」意謂需要診斷、預後或治療之任何個體，尤其哺乳動物個體。哺乳動物個體包括(但不限於)人類；家畜；農畜；動物園動物；運動型動物；寵物動物，諸如狗、貓、天竺鼠、家兔、大鼠、小鼠、馬、家牛、奶牛；靈長類動物，諸如猿、猴、紅毛猩猩及黑猩猩；犬科動物，諸如狗及狼；貓科動物，諸如貓、獅子及老虎；馬科動物，諸如馬、驢及斑馬；食用動物，諸如奶牛、豬及綿羊；有蹄動物，諸如鹿及長頸鹿；嚙齒動物，諸如小鼠、大鼠、倉鼠及天竺鼠；等。在某些態樣中，哺乳動物為人類個體。在其他態樣中，個體為人類患者。在一特定態樣中，個體為人類患者或不管活體內、活體外或離體均適合於本文所述之方法的細胞。

【0120】 *罹患*：「罹患」疾病、病症及/或病狀之個體已診斷患有該疾病、病症及/或病狀或呈現其一或多種症狀。在一些態樣中，本文所揭示之醫藥調配物可向患有與纖維化相關之疾病或病狀，諸如NASH或糖尿病之個體投與。

【0121】 *易患*：「易患」疾病、病症及/或病狀之個體尚未診斷患有該疾病、病症及/或病狀及/或可能未展現其症狀，但具有罹患疾病或其症狀之傾向。在一些態樣中，易患疾病、病症及/或病狀(例如癌症)之個體的特徵可在於以下中之一或多者：(1)與罹患該疾病、病症及/或病狀相關之基因突變；(2)與罹患該疾病、病症及/或病狀相關之遺傳多形現象；(3)與該疾病、病症及/或病狀相關之蛋白質及/或核酸的表現及/或活性增加及/或減小；(4)與患上該疾病、病症及/或病狀相關之習慣及/或生活方式；(5)該疾病、病症及/或病狀之家族病史；及(6)暴露於及/或感染與罹患該疾病、病症及/或病狀相關之微生物。

【0122】在一些態樣中，易患疾病、病症及/或病狀之個體將罹患該疾病、病症及/或病狀。在一些態樣中，易患疾病、病症及/或病狀之個體將不罹患該疾病、病症及/或病狀。在一些態樣中，本文所揭示之醫藥調配物可向易患與纖維化相關之疾病或病狀，諸如NASH或糖尿病之個體投與。

【0123】*治療劑*：術語「治療劑」或「藥劑」係指當向個體投與時具有治療性、診斷性及/或預防性作用及/或引起所需生物及/或藥理學作用的分子實體。例如，在一些態樣中，本文所揭示之FGF-21結合物(例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21)可為治療劑。在一些態樣中，藥劑為作為與至少一種本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21的組合療法之部分共投與的另一分子。

【0124】*治療有效量*：如本文所用，術語「治療有效量」意謂待遞送的藥劑(例如本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21，或包含FGF-21結合物之調配物)之量，其當向患有或易患感染、疾病、病症及/或病狀之個體投與時，足夠治療感染、疾病、病症及/或病狀；改善其症狀；對其進行診斷、預防及/或延遲其發作。通常，治療有效量之投與預期引起治療上有效之作用。

【0125】*治療有效結果*：如本文所用，術語「治療有效結果」意謂在罹患或易患感染、疾病、病症及/或病狀之個體中足以治療感染、疾病、病症及/或病狀、改善其症狀、對其進行診斷、預防及/或延遲其發作的結果。

【0126】*治療(Treat/treatment)*、*療法(therapy)*：如本文所用，術

語「治療」或「療法」或其文法變體係指部分或完全預防、減緩、減輕、改善、緩解、延遲與纖維化相關之疾病或病狀(例如NASH或糖尿病)的一或多種症狀或特徵之發作、抑制其進展、降低其嚴重程度及/或降低其發生率。例如，「治療」與纖維化相關之疾病可指防止症狀、減輕症狀、延遲疾病或病狀或其症狀之發作等。出於降低患與疾病、病症及/或病狀相關之病變的風險的目的，可向未展現該疾病、病症及/或病狀之病徵的個體及/或向僅展現該疾病、病症及/或病狀之早期病徵的個體投與治療。

【0127】 ug、uM、uL：如本文所用，術語「ug」、「uM」及「uL」可分別與「μg」、「μM」及「μL」互換使用。

【0128】 在以下分章節中進一步詳細描述本發明之各個態樣。

I. FGF-21結合物調配物

【0129】 本發明提供包含纖維母細胞生長因子21 (FGF-21)結合物及胺基聚羧酸陽離子螯合劑，例如二伸乙三胺五乙酸(DTPA)之醫藥調配物，其中與參考調配物相比，該等調配物具有經改良之穩定性。術語「參考調配物」係指包含與「測試調配物」(與參考調配物相比之調配物)相同之組分及特性(例如pH、溫度)的調配物，不同之處在於該參考調配物不含胺基聚羧酸陽離子螯合劑。

【0130】 術語「FGF-21結合物」係指包含連接於PEG部分之FGF-21多肽部分的結合物。在一些態樣中，PEG部分包含遠端甲氧基(-O-CH_3)。術語「FGF-21多肽」一般係指野生型FGF-21多肽(例如SEQ ID NO: 3之多肽)及「變異FGF-21多肽」。

【0131】 如本文所用，術語「PEG-FGF-21結合物」或」PEG-FGF-21」係指聚乙二醇化FGF-21形式，其包含經由肟鍵連接於變異FGF-21多

肽部分之PEG部分。本發明之例示性PEG-FGF-21結合物示於下表4中之SEQ ID NO: 2或5及SEQ ID NO: 4或6中。

表1：例示性FGF-21序列

SEQ ID NO	描述	序列
1	Q109pAF FGF-21	MHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGA ADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDP EACSFRELLLEDGYNVY(pAF)SEAHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGP ARFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVGPSQGRSPSYAS pAF =對-乙醯基-L-苯丙胺酸
2	PEG-FGF-21 Q109pAF FGF-21 聚乙二醇化	MHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGA ADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDP EACSFRELLLEDGYNVY(pAF)SEAHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGP ARFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVGPSQGRSPSYAS 其中pAF連接於28-32 kDa PEG
5	無Met之PEG-FGF-21 Q109pAF FGF-21 聚乙二醇化	HPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAA DQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPE ACSFRELLLEDGYNVY(pAF)SEAHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPA RFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVGPSQGRSPSYAS 其中pAF連接於28-32 kDa PEG
3	原生FGF-21	MHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGA ADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDP EACSFRELLLEDGYNVY**Q**SEAHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARF LPLPGLPPAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVGPSQGRSPSYAS SEQ ID NO: 1、2及4中修飾之麩醯胺酸(Q)係加下劃線的。
4	PEG-FGF-21 Q109pAF FGF-21 聚乙二醇化 PEG= PEG681	MHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGA ADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDP EACSFRELLLEDGYNVY(pAF)SEAHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGP ARFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVGPSQGRSPSYAS 其中pAF係經由肟鍵連接於PEG_{681} (線性PEG包含681個乙二醇單元)，該肟鍵例如由pAF之乙醯基與圖7中所呈現的30 kDa甲基PEG_{681}胺氧基分子之胺氧基之間的反應形成。
6	無Met之PEG-FGF-21 Q109pAF FGF-21 聚乙二醇化 PEG= PEG681	HPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAA DQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPE ACSFRELLLEDGYNVY(pAF)SEAHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPA RFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVGPSQGRSPSYAS 其中pAF係經由肟鍵連接於PEG_{681} (線性PEG包含681個乙二醇單元)，該肟鍵例如由pAF之乙醯基與圖7中所呈現的30 kDa甲基PEG_{681}胺氧基分子之胺氧基之間的反應形成。

【0132】 此項技術中已知之諸多FGF-21可用於本文所揭示之聚乙二

醇化FGF-21結合物調配物中，例如美國專利第8,012,931號及第9,434,788號中所揭示之彼等FGF-21，該等專利係以全文引用之方式併入本文中。纖維母細胞生長因子21 (FGF-21)已描述於文獻(Nishimura等人, Biochimica et Biophysica Acta, 1492:203-206 (2000)；WO 01/36640；及WO 01/18172及美國專利公開案第20040259780號，其中之每一者係以全文引用之方式併入本文中)中。不同於其他FGF，已報導FGF-21不具有增生及致瘤效應(Ornitz及Itoh, Genome Biology 2001, 2(3):評述3005.1-3005.12)。

【0133】 在一些態樣中，適用於本發明之FGF-21多肽包含如在N端處不具有甲硫胺酸的SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4中所示之胺基酸序列。

【0134】 已鑑別FGF-21之多種多形現象。已在美國專利公開案第20010012628號及美國專利第6,716,626號中描述相同位置處之白胺酸或脯胺酸。相差一種胺基酸(白胺酸)之N端前導序列或信號序列示於美國專利第6,716,626號及美國專利公開案第20040259780號中。FGF-21變異體或突變體包括(但不限於)以下中所揭示之彼等者：美國專利第6,716,626號；美國專利公開案第2005/0176631號、第2005/0037457號、第2004/0185494號、第2004/0259780號、第2002/0164713及第2001/0012628號；WO 01/36640；WO 03/011213；WO 03/059270；WO 04/110472；WO 05/061712；WO 05/072769；WO 05/091944；WO 05/113606；WO 06/028595；WO 06/028714；WO 06/050247；WO 06/065582；WO 06/078463；WO01/018172；WO09/149171；WO10/042747；WO12/066075；WO11/154349；WO13/052311；

WO13/188181，該等專利以全文引用之方式併入本文中。

【0135】 如本文所用，術語「變異FGF-21」及「變異FGF-21多肽」係指在至少一個胺基酸位置方面與參考野生型FGF-21多肽(例如SEQ ID NO: 3之野生型人類FGF-21)不同，且通常具有纖維母細胞生長因子21之至少一種生物活性的FGF-21多肽，以及FGF-21類似物、FGF-21同功異型物、FGF-21模擬物、FGF-21片段、混合FGF-21蛋白、融合蛋白、寡聚物及多聚體、同系物、糖基化模式變異體、剪接變異體及其突變蛋白(無關於其生物活性)。該術語涵蓋天然存在及非天然存在之變異體，例如由用非天然胺基酸(例如對-乙醯基-L-苯丙胺酸)取代野生型FGF-21多肽，例如SEQ ID NO: 3之多肽中之胺基酸產生的變異體。取代可為例如重組表現或化學或酶促合成之結果。在一些態樣中，本發明之變異FGF-21多肽包含SEQ ID NO: 1之多肽、由SEQ ID NO: 1之多肽組成或基本上由SEQ ID NO: 1之多肽組成。

【0136】 本發明之變異FGF-21多肽涵蓋包含一或多個胺基酸取代、添加或缺失之FGF-21多肽。例如，本發明之變異FGF-21多肽包含一或多個胺基酸取代(例如，用天然存在或非天然存在之胺基酸)、缺失(末端或內部缺失)或修飾，諸如異源部分之附接(C端、N端或內部，藉由在胺基酸序列中嵌入/插入或藉由側鏈附接)。術語變異FGF-21多肽亦涵蓋多形現象(例如天然存在之FGF-21序列變異體)，例如FGF-21之P形式或L形式。

【0137】 已描述天然存在之FGF-21多肽中之多個胺基酸位置處的取代。取代包括(但不限於)調節溶解性或穩定性、增加促效劑活性、增加活體內或活體外半衰期、增加蛋白酶抗性、使多肽轉化為拮抗劑、降低免疫原性或毒性、促進純化或可製造性，或其任何組合的彼等者，且藉由術語

變異FGF-21多肽涵蓋。

【0138】 術語變異FGF-21多肽亦包括天然存在之FGF-21多肽之生物活性片段、生物活性變異體及立體異構體以及天然存在之FGF-21之促效劑、模擬劑及拮抗劑變異體及其多肽融合體。在胺基端、羧基端或兩處包含額外胺基酸之融合體係藉由術語變異FGF-21多肽涵蓋。

【0139】 例示性融合體包括(但不限於)例如其中甲硫胺酸連接於例如由缺乏前導序列或信號肽或其部分的FGF-21之成熟形式的重組表現產生的FGF-21多肽之N端(甲硫胺酸連接於由重組表現產生的FGF-21之N端，例如在大腸桿菌中)的甲硫胺醯基FGF-21，出於純化目的之融合體(包括(但不限於)與聚組胺酸或親和力抗原決定基之融合體)。

【0140】 術語變異FGF-21多肽亦包括糖基化FGF-21多肽，諸如(但不限於)在任何胺基酸位置處糖基化之多肽、多肽之N連接或O連接糖基化形式。含有單一核苷酸變化之變異體亦視為FGF-21之生物活性變異體。此外，剪接變異體亦包括在內。

【0141】 術語變異FGF-21多肽亦包括任何一或多種未經修飾或經修飾之FGF-21或任何其他多肽、蛋白質、碳水化合物、聚合物、小分子、連接子、配位體或任何類型之其他生物活性分子之FGF-21雜二聚體、均二聚體、雜多聚體或均多聚體(藉由化學方式連接或表現為融合蛋白)，以及含有例如特異性缺失或其他修飾但仍維持生物活性之多肽類似物。

【0142】 在一些態樣中，變異FGF-21多肽包含增加FGF-21多肽對其受體之親和力的添加、取代或缺失。類似地，術語變異FGF-21多肽包含化學或酶促裂解序列、蛋白酶裂解序列、反應基、抗體-結合域(包括(但不限於) FLAG或poly-His)或其他基於親和力之序列(包括(但不限於)

FLAG、poly-His、GST等)或連接分子(包括(但不限於)生物素)，以改良偵測(包括(但不限於) GFP)、純化、經由組織或細胞膜之轉運、前藥釋放或活化、FGF-21多肽尺寸減小或多肽之其他性狀。

【0143】 在一些態樣中，變異FGF-21多肽包含與胺基酸序列SEQ ID NO: 1或SEQ ID NO: 3或在N端處不具有甲硫胺酸之SEQ ID NO: 1或SEQ ID NO: 3具有至少約70%、至少約75%、至少約80%、至少約85%、至少約90%、至少約95%、至少約96%、至少約97%、至少約98%或至少約99%胺基酸序列一致性的多肽，其中該多肽具有FGF-21活性。在一些態樣中，變異FGF-21多肽包含如SEQ ID NO: 5或SEQ ID NO: 6中所示之胺基酸序列。

【0144】 在一些態樣中，變異FGF-21多肽係由以下組成或基本上由以下組成：與胺基酸序列SEQ ID NO: 1或SEQ ID NO: 3或在N端處不具有甲硫胺酸之SEQ ID NO: 1或SEQ ID NO: 3具有至少約70%、至少約75%、至少約80%、至少約85%、至少約90%、至少約95%、至少約96%、至少約97%、至少約98%或至少約99%胺基酸序列一致性的多肽，其中該多肽具有FGF-21活性。在一些態樣中，變異FGF-21多肽基本上由如SEQ ID NO: 5或SEQ ID NO: 6中所示之胺基酸序列組成。

【0145】 此定義所涵蓋之變異FGF-21多肽包括例如包含至少一種非天然胺基酸之變異FGF-21多肽。在一些態樣中，非天然胺基酸為與胺氧基衍生物反應後，可形成穩定肟鍵之胺基酸，例如對-乙醯基苯丙胺酸、間乙醯基苯丙胺酸、對(3-氧丁烯醯基)-L-苯丙胺酸、對(2-胺基-3-羥乙基)苯丙胺酸及類似者。在一些態樣中，非天然胺基酸為對-乙醯基苯丙胺酸。在一些態樣中，非天然胺基酸為對-乙醯基-L-苯丙胺酸。

【0146】在一些態樣中，一或多個非天然胺基酸係併入野生型FGF-21之以下位置中之一或多者：位置1之前(亦即，N端處)、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、141、142、143、144、145、146、147、148、149、150、151、152、153、154、155、156、157、158、159、160、161、162、163、164、165、166、167、168、169、170、171、172、173、174、175、176、177、178、179、180、181、182 (亦即，蛋白質之羧基端處) (胺基酸位置對應於SEQ ID NO: 3)。

【0147】在一些特定態樣中，本發明之變異FGF-21係經修飾之FGF-21多肽SEQ ID NO: 1，亦即其中野生型FGF-21之麩醯胺酸109已經非天然胺基酸對-乙醯基-L-苯丙胺酸取代的SEQ ID NO: 3之野生型FGF-21的衍生物。

【0148】在一些特定態樣中，本發明之FGF-21多肽係經修飾以使得FGF-21多肽(SEQ ID NO: 1或SEQ ID NO: 3)之N端處的甲硫胺酸被移

除：SEQ ID NO: 5或6。

【0149】 如上文所揭示，本發明之變異FGF-21多肽可連接於聚乙二醇(PEG)部分。PEG與本文所揭示之變異FGF-21多肽(例如SEQ ID NO: 1之FGF-21多肽)的連接可引起以下變化，其包括(但不限於)相對於未經修飾之形式增加或調節血清(活體內)半衰期或增加或調節治療半衰期，調節免疫原性或毒性，調節物理締合特徵(諸如聚集及多聚體形成)，改變受體結合，改變與一或多種結合搭配物之結合及改變受體二聚作用或多聚作用。在一些態樣中，與參考化合物，諸如變異FGF-21多肽之非結合形式(例如SEQ ID NO: 1之FGF-21多肽)或野生型FGF-21(例如SEQ ID NO: 3之FGF-21多肽)相比，PEG與本文所揭示之變異FGF-21(例如SEQ ID NO: 1之FGF-21多肽)的連接改良或改變藥物動力學或生理特性，其包括(但不限於)增加吸收速率、降低毒性、改良溶解性、降低蛋白質聚集、增加生物活性及/或聚乙二醇化FGF-21之目標選擇率、增加可製造性及/或降低免疫原性(參見例如美國專利第4,179,337號)。在一些態樣中，至少一個連接子可插在變異FGF-21多肽部分與PEG部分之間。在一些態樣中，PEG部分包含遠端甲氧基(-O-CH_3)。

【0150】 FGF-21或FGF家族成員之結晶結構及其與FGF受體之相互作用的研究可指示哪些胺基酸殘基具有可完全或部分接近溶劑之側鏈。這些位置處的非天然胺基酸之側鏈可遠離蛋白質表面且指向於溶劑，且因此連接於PEG。

【0151】 PEG可連接於野生型FGF-21多肽或變異FGF-21多肽之以下胺基酸位置中之一或多者：位置1之前(亦即，N端處)、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、

21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、141、142、143、144、145、146、147、148、149、150、151、152、153、154、155、156、157、158、159、160、161、162、163、164、165、166、167、168、169、170、171、172、173、174、175、176、177、178、179、180、181、182(亦即，蛋白質之羧基端處)(胺基酸位置對應於SEQ ID NO: 3)。在一些態樣中，PEG係附接至非天然胺基酸，例如苯丙胺酸衍生物，諸如對-乙醯基-L-苯丙胺酸之側鏈，該非天然胺基酸取代上文揭示之位置中之任一者處的天然存在之胺基酸。

【0152】 本發明之PEG包括(但不限於)聚乙二醇、聚乙二醇丙醛、其單C_1-C_{10}烷氧基或芳氧基衍生物(描述於美國專利第5,252,714號中，其係以引用之方式併入本文中)、單甲氧基-聚乙二醇、離散PEG、聚環氧丙烷/環氧乙烷共聚物、聚伸烷二醇及其衍生物、聚伸烷二醇及其衍生物之共聚物或其混合物。在一些態樣中，PEG可具有支化結構。支化PEG係描述於例如美國專利第5,643,575號；Morpurgo等人，Appl. Biochem. Biotechnol. 56:59-72 (1996)；Vorobjev等人，Nucleosides Nucleotides

18:2745-2750 (1999)；及Caliceti等人，Bioconjug. Chem. 10:638-646 (1999)。

【0153】在一些態樣中，PEG之分子量為約30 kDa。可使用其他大小，視所需特性(例如，所需持續釋放之持續時間、作用(若有任何生物活性)、易於操作、抗原性之程度或缺乏抗原性及聚乙二醇對於蛋白質或類似物之其他已知作用)而定。在一些態樣中，PEG之分子量為約28 kDa、約29 kDa、約30 kDa、約31 kDa或約32 kDa。在一些態樣中，PEG之分子量係在約28 kDa與約29 kDa之間、約29 kDa與約30 kDa之間、約30 kDa與約31 kDa之間，或約31 kDa與約32 kDa之間。測定PEG(以及FGF-21結合物)之分子量之方法為所屬領域中眾所周知的。任何已知方法，例如質譜分析(例如MALDI-TOF及/或ESI)可用於量測針對本發明之PEG之分子量。

【0154】在一些態樣中，PEG具有約600個乙二醇單元、約610個乙二醇單元、約620個乙二醇單元、約630個乙二醇單元、約640個乙二醇單元、約650個乙二醇單元、約660個乙二醇單元、約670個乙二醇單元、約680個乙二醇單元、約690個乙二醇單元、約700個乙二醇單元、約710個乙二醇單元、約720個乙二醇單元、約730個乙二醇單元、約740個乙二醇單元、約750個乙二醇單元、約760個乙二醇單元、約770個乙二醇單元、約780個乙二醇單元、約790個乙二醇單元，或約800個乙二醇單元。

【0155】在一些態樣中，PEG具有約600個與約610個之間的乙二醇單元、約610個與約620個之間的乙二醇單元、約620個與約630個之間的乙二醇單元、約630個與約640個之間的乙二醇單元、約640個與約650個之間的乙二醇單元、約650個與約660個之間的乙二醇單元、約660個與約

670個之間的乙二醇單元、約670個與約680個之間的乙二醇單元、約680個與約690個之間的乙二醇單元、約690個與約700個之間的乙二醇單元、約700個與約710個之間的乙二醇單元、約710個與約720個之間的乙二醇單元、約720個與約730個之間的乙二醇單元、約730個與約740個之間的乙二醇單元、約740個與約750個之間的乙二醇單元、約750個與約760個之間的乙二醇單元、約760個與約770個之間的乙二醇單元、約770個與約780個之間的乙二醇單元、約780個與約790個之間的乙二醇單元，或約790個與約800個之間的乙二醇單元。

【0156】 在一些態樣中，PEG具有660、661、662、663、664、665、666、667、668、669、670、671、672、673、674、675、676、677、678、679、680、681、682、683、684、685、686、687、688、689、690、691、692、693、694、695、696、697、698、699或700個乙二醇單元。

【0157】 在一些特定態樣中，PEG部分經由肟鍵連接於本發明之變異FGF-21多肽(例如，SEQ ID NO: 1之FGF-21多肽)。在一些態樣中，PEG部分係經由肟鍵連接於本發明之變異FGF-21多肽(例如，SEQ ID NO: 1之變異FGF-21多肽)，該肟鍵形成於PEG分子之反應性基團(例如如圖7中所呈現，30 kDa甲基PEG_{681}胺氧基分子之胺氧基)與變異FGF-21多肽中之非天然胺基酸之反應性基團(例如對-乙醯基-苯丙胺酸之乙醯基，該對-乙醯基-苯丙胺酸例如在變異FGF-21多肽之序列之胺基酸位置109處)之間。在一些態樣中，非天然胺基酸為置換SEQ ID NO: 3之Gln109的對-乙醯基-L-苯丙胺酸。在一些態樣中，PEG部分包含遠端甲氧基(-O-CH_3)。

【0158】 在一些態樣中，本文所揭示之調配物中之FGF-21結合物為SEQ ID NO: 2之PEG-FGF-21，亦即其中野生型FGF-21 (SEQ ID NO: 3)之麩醯胺酸109已經對-乙醯基-L-苯丙胺酸置換，且有經由肟鍵共價附接於該對-乙醯基-L-苯丙胺酸的PEG部分，例如分子量在約28 kDa與約32 kDa之間，例如約30 kDa的線性PEG的SEQ ID NO: 1之FGF-21。在一些態樣中，PEG部分包含遠端甲氧基(-O-CH_3)。

【0159】 在一些態樣中，本文所揭示之調配物中之FGF-21結合物為SEQ ID NO: 2之PEG-FGF-21，亦即包含以下之FGF-21結合物：(i)其中對-乙醯基-L-苯丙胺酸置換野生型FGF-21 (SEQ ID NO: 3)之麩醯胺酸109的SEQ ID NO: 1之FGF-21，及(ii)PEG部分，例如分子量在約28 kDa與約32 kDa之間，例如約30 kDa的線性PEG，該PEG經由肟鍵共價附接於該對-乙醯基-L-苯丙胺酸。在一些態樣中，PEG部分包含遠端甲氧基(-O-CH_3)。

【0160】 在一些態樣中，本文所揭示之調配物中之FGF-21結合物為SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21，亦即其中野生型FGF-21 (SEQ ID NO: 3)之麩醯胺酸109已經對-乙醯基-L-苯丙胺酸置換，且包含681個乙二醇單元之PEG部分經由肟鍵共價附接於該對-乙醯基-L-苯丙胺酸的SEQ ID NO: 1之FGF-21。在一些態樣中，PEG部分包含遠端甲氧基(-O-CH_3)。

【0161】 在一些態樣中，本文所揭示之調配物中之FGF-21結合物為SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21，亦即包含以下之FGF-21結合物：(i)其中對-乙醯基-L-苯丙胺酸置換野生型FGF-21 (SEQ ID NO: 3)之麩醯胺酸109的SEQ ID NO: 1之FGF-21，及(ii)包含681個乙二醇單元之PEG部分，該PEG部分經由肟鍵共價附接於該對-乙醯基-L-苯丙胺酸。在一些態樣中，

PEG部分包含遠端甲氧基(-O-CH_3)。

【0162】 因此，在本發明之一些特定態樣中，本文所揭示之調配物中之FGF-21結合物包含(i)SEQ ID NO: 1之FGF-21多肽部分，及(ii)具有681個乙二醇單元之PEG部分，亦即分子量為大約30 kDa之PEG部分，其中該PEG部分經由肟鍵共價附接於位置109處之對-乙醯基-L-苯丙胺酸。在一些態樣中，PEG部分包含遠端甲氧基(-O-CH_3)。

【0163】 在一些態樣中，肟鍵係藉由變異FGF-21中所存在之非天然胺基酸之反應性基團(例如對-乙醯基-苯丙胺酸之乙醯基)與PEG分子之反應性基團(例如如圖7中所呈現，包含遠端甲氧基的30 kDa甲基PEG_{681}胺氧基分子之胺氧基)之間的化學反應形成。在一些態樣中，非天然胺基酸可以重組方式(例如藉由原核細胞培養物中之表現)，使用活體外轉錄及轉譯、使用化學合成或使用此項技術中已知之任何方法併入變異FGF-21多肽中。在一些態樣中，PEG分子可化學連接於胺基酸(例如對-乙醯基-苯丙胺酸)，且之後PEG-胺基酸例如經由化學合成併入FGF-21多肽中。在一些態樣中，PEG分子包含遠端甲氧基(-O-CH_3)。

【0164】 經由酵母表現產生FGF-21多肽在過去由於存在O連接糖基化而受到阻礙，需要進行位點特異性突變誘發以移除O連接之糖基化位點。當在哺乳動物細胞培養物中重組產生時，FGF-21多肽亦顯示顯著程度之糖基化。因此，在一些態樣中，本發明之變異FGF-21多肽係在原核細胞培養物中重組產生。因此，在一些態樣中，本發明之變異FGF-21多肽未經糖基化。

【0165】 如上文所揭示，本發明提供包含以下之醫藥調配物：本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或5或SEQ ID NO: 4或6之

PEG-FGF-21，及胺基聚羧酸陽離子螯合劑，例如二伸乙三胺五乙酸(DTPA)。術語「螯合劑」或「陽離子螯合劑」為可互換的，且指代能夠藉由形成與原始金屬離子化學特性不同的新型錯離子而自溶液系統移除金屬離子的任何物質。詳言之，本文所揭示之陽離子螯合劑為特異性結合二價金屬，例如Ca++之螯合劑。

【0166】 在一些態樣中，本文所揭示之FGF-21結合物調配物在穩定性方面展現一或多種改良，例如較低脫醯胺速率及/或較低聚集速率。例如，在FGF-21結合物調配物中包括諸如DTPA之胺基聚羧酸陽離子螯合劑可在儲存於特定溫度(例如40℃)持續特定時段(例如1個月)時，相對於參考調配物，降低本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或5或SEQ ID NO: 4或6之PEG-FGF-21的脫醯胺速率。

【0167】 在一些態樣中，在儲存於約25℃、約30℃、約35℃、約40℃或約45℃之醫藥調配物中，相對於參考調配物，胺基聚羧酸陽離子螯合劑(例如DTPA)可降低本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或5或SEQ ID NO: 4或6之PEG-FGF-21的脫醯胺速率。在一些態樣中，在儲存於高於25℃、高於30℃、高於35℃、約40℃或約45℃之醫藥調配物中，相對於參考調配物，胺基聚羧酸陽離子螯合劑(例如DTPA)可降低本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或5或SEQ ID NO: 4或6之PEG-FGF-21的脫醯胺速率。

【0168】 在一些態樣中，在儲存於約20℃與約25℃之間、約25℃與約30℃之間、約30℃與約35℃之間，或約40℃與約45℃之間的醫藥調配物中，相對於參考調配物，胺基聚羧酸陽離子螯合劑(例如DTPA)可降低本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之

PEG-FGF-21的脫醯胺速率。

【0169】 在一些態樣中，在上文所揭示之溫度或溫度範圍下，儲存約1週、約2週、約3週、約1個月、約2個月、約3個月或約4個月之後的醫藥調配物中，相對於參考調配物，胺基聚羧酸陽離子螯合劑(例如DTPA)可降低本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21的脫醯胺速率。

【0170】 在一個特定態樣中，在儲存於40℃約一個月之醫藥調配物中，相對於參考調配物，胺基聚羧酸陽離子螯合劑(例如DTPA)可降低本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21的脫醯胺速率。

【0171】 在一些態樣中，在儲存於約25℃、約30℃、約35℃、約40℃或約45℃之醫藥調配物中，相對於參考調配物，胺基聚羧酸陽離子螯合劑(例如DTPA)可降低本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21的高分子量(HMW)聚集速率。在一些態樣中，在儲存於高於25℃、高於30℃、高於35℃、約40℃或約45℃之醫藥調配物中，相對於參考調配物，胺基聚羧酸陽離子螯合劑(例如DTPA)可降低本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21的HMW聚集速率。

【0172】 在一些態樣中，在儲存於約20℃與約25℃之間、約25℃與約30℃之間、約30℃與約35℃之間，或約40℃與約45℃之間的醫藥調配物中，相對於參考調配物，胺基聚羧酸陽離子螯合劑(例如DTPA)可降低本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21的HMW聚集速率。

【0173】 在一些態樣中，在上文所揭示之溫度或溫度範圍下，儲存約1週、約2週、約3週、約1個月、約2個月、約3個月或約4個月之後的醫藥調配物中，相對於參考調配物，胺基聚羧酸陽離子螯合劑(例如DTPA)可降低本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或5或SEQ ID NO: 4或6之PEG-FGF-21的HMW聚集速率。在一個特定態樣中，在儲存於40℃約一個月之醫藥調配物中，相對於參考調配物，胺基聚羧酸陽離子螯合劑(例如DTPA)可降低本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21的HMW聚集速率。

【0174】 在一些態樣中，例如DTPA之胺基聚羧酸陽離子螯合劑在本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21中防止或減少一或多種胺基酸，例如甲硫胺酸氧化。在特定態樣中，在25℃及/或40℃下，例如DTPA之胺基聚羧酸陽離子螯合劑防止或減少SEQ ID NO: 3之胺基酸1及/或胺基酸169 (或SEQ ID NO: 1、2或4中之相應胺基酸)氧化。

【0175】 在一些特定態樣中，胺基聚羧酸陽離子螯合劑為DTPA。噴替酸或二伸乙三胺五乙酸(DTPA)為由具有五個羧甲基之二伸乙基三胺主鏈組成之胺基聚羧酸。DTPA之共軛鹼對金屬陽離子具有高親和力。因此，假定各氮中心及各COO^-基團視為配位中心，五-陰離子(penta-anion) $DTPA^{5-}$可能為八齒配位體。其錯合物之形成常數比EDTA之形成常數大約100。

【0176】 作為螯合劑，DTPA係藉由形成至多八個鍵來圍繞金屬離子。然而，過渡金屬通常形成小於八個配位鍵。因此，在與金屬形成錯合物之後，DTPA仍具有結合於其他試劑之能力，如由其衍生物噴地肽

(pendetide)所示。例如，在其與銅(II)之錯合物中，DTPA利用三個胺中心及五個羧酸根中之三者以六齒方式結合。

【0177】 在一些其他態樣中，胺基聚羧酸陽離子螯合劑可為另一種胺基聚羧酸陽離子螯合劑，諸如乙二胺四乙酸(EDTA)、乙二醇-雙(β-胺乙基醚)-N,N,N',N'-四乙酸(EGTA)、1,4,7,10-四氮雜環十二烷-1,4,7,10-四乙酸(DOTA)或相關化合物，例如替坦(tiuxetan) (碳主鏈含有異硫氰基苯甲基及甲基之DTPA之改性形式)。此項技術中已知的與DTPA及EDTA相關之其他螯合劑為其中醯胺基之氮可經一或多個C_{1-18}烷基取代之螯合劑，例如DTPA.BMA及EDTA.BMA。

【0178】 在一些態樣中，DTPA陽離子螯合劑之存在量在約10 μM與約100 μM之間、15 μM與約95 μM之間、約20 μM與約90 μM之間、約25 μM與約85 μM之間、約30 μM與約80 μM之間、約35 μM與約75 μM之間、約40 μM與約70 μM之間、約45 μM與約65 μM之間、約50 μM與約60 μM之間、約25 μM與約75 μM之間、約40 μM與約60 μM之間、約30 μM與約70 μM，或約40 μM與約75 μM之間。

【0179】 在一些態樣中，DTPA陽離子螯合劑之存在量為約10 μM、約15 μM、約20 μM、約25 μM、約30 μM、約35 μM、約40 μM、約45 μM、約50 μM、約55 μM、約60 μM、約65 μM、約70 μM、約75 μM、約80 μM、約85 μM、約90 μM、約95 μM或約100 μM。

【0180】 在一些態樣中，DTPA陽離子螯合劑之存在量為至少約15 μM、至少約20 μM、至少約25 μM、至少約30 μM、至少約35 μM、至少約40 μM、至少約45 μM、至少約50 μM、至少約55 μM、至少約60 μM、至少約65 μM、至少約70 μM或至少約75 μM。

【0181】在一個特定態樣中，例如DTPA之胺基聚羧酸陽離子螯合劑之存在量為50 μM。

【0182】在一些態樣中，本文所揭示之調配物之pH高於約6.5、高於約6.6、高於約6.7、高於約6.8、高於約6.9、高於約7.0、高於約7.1、高於約7.2、高於約7.3、高於約7.4或高於約7.5。在一些態樣中，調配物之pH高於 6.5、高於6.6、高於6.7、高於6.8、高於6.9、高於7.0、高於7.1、高於7.2、高於7.3、高於7.4或高於7.5。在一些態樣中，調配物之pH為約6.5、約6.6、約6.7、約6.8、約6.9、約7.0、約7.1、約7.2、約7.3、約7.4或約7.5。

【0183】在一些態樣中，調配物之pH在約6.5與約7.5之間、約6.6與約7.5之間、約6.7與約7.5之間、約6.8與約7.5之間、約6.9與約7.5之間、約7.0與約7.5之間、約7.1與約7.5之間、約7.2與約7.5之間、約7.3與約7.5之間、約7.4與約7.5之間、約6.5與約7.4之間、約6.5與約7.3之間、約6.5與約7.2之間、約6.5與約7.1之間、約6.5與約7.0之間、約6.5與約6.9之間、約6.5與約6.8之間、約6.5與約6.7之間、約6.6與約7.4之間、約6.7與約7.4之間、約6.8與約7.4之間、約6.9與約7.4之間、約7.0與約7.4之間、約7.1與約7.4之間、約7.2與約7.4之間、約7.3與約7.4之間、約6.5與約7.3之間、約6.6與約7.3之間、約6.7與約7.3之間、約6.7與約7.3之間、約6.8與約7.3之間、約6.9與約7.3之間、約7.0與約7.3之間、約7.1與約7.3之間、約7.2與約7.3之間、約6.5與約7.2之間、約6.6與約7.2之間、約6.7與約7.2之間、約6.8與約7.2之間、約6.9與約7.2之間、約7.0與約7.2之間、約7.1與約7.2之間、約6.9與約7.1之間，或約7.0與約7.1之間。

【0184】在一些態樣中，調配物之pH為約6.8、約6.9、約7.0、約

7.1、約7.2、約7.3、約7.4或約7.5。在一些態樣中，醫藥調配物相較於pH 6.5之參考調配物為更穩定的。

【0185】 在一些態樣中，醫藥調配物進一步包含界面活性劑。如本文所用，術語「界面活性劑」意謂當溶解或懸浮於水或水溶液中時降低表面張力，或降低兩種液體之間或液體與固體之間的界面張力的任何化合物，通常呈兩性分子。

【0186】 在本發明之上下文中，界面活性劑為降低包含本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或5或SEQ ID NO: 4或6之PEG-FGF-21的溶液之界面應力及剪切力的任何化合物。

【0187】 在一些態樣中，界面活性劑為非離子型界面活性劑，亦即在中性溶液中往往不具有淨電荷之界面活性劑。在一些態樣中，非陰離子型界面活性劑為聚山梨醇酯。聚山梨醇酯是一類重要的非離子型界面活性劑，廣泛用於蛋白質藥物中，可穩定蛋白質以防止界面誘導之聚集且將蛋白質之表面吸附降至最低(Wang W 2005. Protein aggregation and its inhibition in biopharmaceutics. Int J Pharm 289 (1-2):1-30)。聚山梨醇酯為包含聚氧乙烯(POE)脫水山梨糖醇之脂肪酸酯的兩性非離子型界面活性劑。市售聚山梨醇酯為主要含有脫水山梨糖醇POE脂肪酸酯的化學上多種多樣的混合物。

【0188】 如本文所用，術語「聚山梨醇酯」係指山梨糖醇及其酐之油酸酯，其通常與環氧乙烷共聚。例示性聚山梨醇酯包括聚山梨醇酯20 (TWEEN 20；PS20) (聚氧乙烯(20)脫水山梨糖醇單月桂酸酯)；聚山梨醇酯40 (TWEEN 40；PS40) (聚氧乙烯(20)脫水山梨糖醇單棕櫚酸酯)；聚山梨醇酯60(TWEEN 60；PS60) (聚氧乙烯(20)脫水山梨糖醇單硬脂酸

酯)；及聚山梨醇酯80 (TWEEN 80；PS80) (聚氧乙烯(20)脫水山梨糖醇單油酸酯)。

【0189】『聚氧乙烯』部分之後的數字20係指分子中所發現的氧化乙烯-(CH_2CH_2O)-基團之總數目。『聚山梨醇酯』部分之後的數字係關於與分子之聚氧乙烯脫水山梨糖醇部分相關聯的脂肪酸之類型。單月桂酸酯係藉由20指示，單棕櫚酸酯係藉由40指示，單硬脂酸酯係藉由60指示，且單油酸酯係藉由80指示。在一些態樣中，非離子型界面活性劑之存在量高於臨界微胞濃度(CMC)，對於聚氧乙烯脫水山梨糖醇脂肪酸酯，量為大約至少0.01 mg/ml。參見Wan及Lee, Journal of Pharm Sci, 63, 第136頁, 1974。界面活性劑濃度(%)在整個本發明中對應於(w/v)。

【0190】在一些態樣中，聚山梨醇酯為聚山梨醇酯80 (PS80)。在一些態樣中，聚山梨醇酯80界面活性劑之存在量為約0.01%至約0.1% (w/v)、約0.02%至約0.1% (w/v)、約0.03%至約0.1% (w/v)、約0.04%至約0.1% (w/v)、約0.05%至約0.1% (w/v)、約0.06%至約0.1% (w/v)、約0.07%至約0.1% (w/v)、約0.08%至約0.1% (w/v)、約0.09%至約0.1% (w/v)、約0.02%至約0.09% (w/v)、約0.03%至約0.09% (w/v)、約0.04%至約0.09% (w/v)、約0.05%至約0.09% (w/v)、約0.06%至約0.09% (w/v)、約0.07%至約0.09% (w/v)、約0.08%至約0.09% (w/v)、約0.03%至約0.08% (w/v)、約0.04%至約0.08% (w/v)、約0.05%至約0.08% (w/v)、約0.06%至約0.08% (w/v)、約0.07%至約0.08% (w/v)、約0.04%至約0.07% (w/v)、約0.05%至約0.07% (w/v)、約0.06%至約0.07% (w/v)，或約0.05%至約0.06% (w/v)。

【0191】在一些態樣中，聚山梨醇酯80界面活性劑之存在量為至少約

0.01% (w/v)、至少約0.02% (w/v)、至少約0.03% (w/v)、至少約0.04% (w/v)、至少約0.05% (w/v)、至少約0.06% (w/v)、至少約0.07% (w/v)、至少約0.08% (w/v)、至少約0.09% (w/v)或至少約0.1% (w/v)。

【0192】 在一些態樣中，當在震盪器上攪拌調配物時，界面活性劑(例如聚山梨醇酯80)減少微粒及/或氣泡形成。在一些態樣中，與參考調配物中之微粒形成量相比，界面活性劑(例如聚山梨醇酯80)在調配物中之存在可使微粒形成減少至少10%、至少15%、至少20%、至少25%、至少30%、至少35%、至少40%、至少45%、至少50%、至少55%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%或100%。在一些態樣中，與參考調配物中之氣泡形成量相比，界面活性劑(例如聚山梨醇酯80)在調配物中之存在可使氣泡形成減少至少10%、至少15%、至少20%、至少25%、至少30%、至少35%、至少40%、至少45%、至少50%、至少55%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%或100%。

【0193】 在一些態樣中，醫藥調配物進一步包含胺基酸緩衝劑。胺基酸可有利地用作醫藥應用中之緩衝液，因為其天然存在可輕易代謝之物質。此外，如果調配物為冷凍乾燥的，則用作緩衝劑之胺基酸亦可保護非晶相中之蛋白質。適合胺基酸緩衝劑可含有組胺酸、離胺酸及/或精胺酸。組胺酸具有呈約pH 7之良好緩衝能力。

【0194】 如本文所用，術語「組胺酸」包含L-組胺酸或D-組胺酸、組胺酸之溶合形式、組胺酸之水合形式(例如單水合物)或組胺酸之無水形式或其混合物。僅舉數例，本發明之調配物中的其他適合之緩衝劑有麩胺酸鹽、Tris或丁二酸鹽。

【0195】 在一些特定態樣中，胺基酸緩衝劑為L-組胺酸。

【0196】 在一些態樣中，組胺酸緩衝劑之存在量為約10 mM至約100 mM組胺酸、約15 mM至約100 mM組胺酸、約20 mM至約100 mM組胺酸、約25 mM至約100 mM、約30 mM至約100 mM組胺酸、約35 mM至約100 mM組胺酸、約40 mM至約100 mM組胺酸、約45 mM至約100 mM組胺酸、約50 mM至約100 mM組胺酸、約55 mM至約100 mM組胺酸、約60 mM至約100 mM組胺酸、約65 mM至約100 mM組胺酸、約70 mM至約100 mM組胺酸、約75 mM至約100 mM組胺酸、約80 mM至約100 mM組胺酸、約85 mM至約100 mM組胺酸、約90 mM至約100 mM組胺酸，或約95 mM至約100 mM組胺酸。

【0197】 在一些態樣中，組胺酸緩衝劑之存在量為約20 mM至約90 mM組胺酸、約25 mM至約90 mM組胺酸、約30 mM至約90 mM組胺酸、約35 mM至約90 mM組胺酸、約40 mM至約90 mM組胺酸、約45 mM至約90 mM組胺酸、約50 mM至約90 mM組胺酸、約55 mM至約90 mM組胺酸、約60 mM至約90 mM組胺酸、約65 mM至約90 mM組胺酸、約70 mM至約90 mM組胺酸、約75 mM至約90 mM組胺酸、約80 mM至約90 mM組胺酸、約85 mM至約90 mM組胺酸、約30 mM至約80 mM組胺酸、約35 mM至約80 mM組胺酸、約40 mM至約80 mM組胺酸、約45 mM至約80 mM組胺酸。

【0198】 在一些態樣中，組胺酸緩衝劑之存在量為約50 mM至約80 mM組胺酸、約55 mM至約80 mM組胺酸、約60 mM至約80 mM組胺酸、約65 mM至約80 mM組胺酸、約70 mM至約80 mM組胺酸、約75 mM至約80 mM組胺酸、約40 mM至約70 mM組胺酸、約45 mM至約70 mM組

胺酸、約50 mM至約70 mM組胺酸、約55 mM至約70 mM組胺酸、約60 mM至約70 mM組胺酸、約65 mM至約70 mM組胺酸、約10 mM至約30 mM組胺酸、約15 mM至約30 mM組胺酸、約20 mM至約30 mM組胺酸、約25 mM至約30 mM組胺酸、約15 mM至約25 mM組胺酸，或約20 mM至約25 mM。

【0199】 在一些態樣中，組胺酸緩衝劑之存在量為約15 mM至約20 mM組胺酸、約40 mM至約60 mM組胺酸、約45 mM至約60 mM組胺酸、約50 mM至約60 mM組胺酸、約15.5 mM至約24.5 mM組胺酸、約16 mM至約24 mM組胺酸、約16.5 mM至約23.5 mM組胺酸、約17 mM至約23 mM組胺酸、約17.5 mM至約22.5 mM組胺酸、約18 mM至約22 mM組胺酸、約18.5 mM至約21.5 mM組胺酸、約19 mM至約21 mM組胺酸，或約19.5 mM至約20.5 mM組胺酸。

【0200】 在一些態樣中，組胺酸緩衝劑之存在量為約10 mM組胺酸、約11 mM組胺酸、約12 mM組胺酸、約13 mM組胺酸、約14 mM組胺酸、約15 mM組胺酸、約16 mM組胺酸、約17 mM組胺酸、約18 mM組胺酸、約19 mM組胺酸、約20 mM組胺酸、約21 mM組胺酸、約22 mM組胺酸、約23 mM組胺酸、約24 mM組胺酸、約25 mM組胺酸、約26 mM組胺酸、約27 mM組胺酸、約28 mM組胺酸、約29 mM組胺酸、約30 mM組胺酸、約31 mM組胺酸、約32 mM組胺酸、約33 mM組胺酸、約34 mM組胺酸、約35 mM組胺酸、約36 mM組胺酸、約37 mM組胺酸、約38 mM組胺酸、約39 mM組胺酸、約40 mM組胺酸、約41 mM組胺酸、約42 mM組胺酸、約43 mM組胺酸、約44 mM組胺酸、約45 mM組胺酸、約46 mM組胺酸、約47 mM組胺酸、約48 mM組胺酸、約49 mM組胺酸或約50

mM組胺酸。

【0201】 在一些態樣中，醫藥調配物進一步包含滲透調節劑(在此項技術中亦已知為張力劑)。根據本發明，滲透調節劑(張力劑)可包含多元醇、醣、碳水化合物、鹽(諸如氯化鈉)或其混合物。例示性多元醇包含分子量小於約600 kD (例如在120至400 kD範圍內)之多元醇，例如甘露糖醇、海藻糖、山梨糖醇、赤藻糖醇、異麥芽酮糖醇、乳糖醇、麥芽糖醇、木糖醇、甘油、乳糖醇、丙二醇、聚乙二醇、肌醇或其混合物。

【0202】 醣或碳水化合物滲透調節劑包含單醣、雙醣及多醣或其混合物。在一些態樣中，醣或碳水化合物係選自由以下組成之群：果糖、葡萄糖、甘露糖、蔗糖、山梨糖、木糖、乳糖、麥芽糖、蔗糖、葡聚糖、普魯蘭(pullulan)、糊精、環糊精、可溶性澱粉、羥乙基澱粉、水溶性葡聚糖及其混合物。

【0203】 在一些態樣中，滲透調節劑包含選自還原糖或非還原糖或其混合物之群的醣。在一些態樣中，滲透調節劑(張力劑)包含呈非還原性糖之醣，較佳選自由蔗糖、海藻糖及其混合物組成之群的糖。在一些特定態樣中，非還原性糖為蔗糖。

【0204】 在一些態樣中，蔗糖滲透調節劑之存在量為約100 mM至約1 M蔗糖、約200 mM至約1 M蔗糖、約300 mM至約1 M蔗糖、約400 mM至約1 M蔗糖、約500 mM至約1 M蔗糖、約600 mM至約1 M蔗糖、約700 mM至約1 M蔗糖、約800 mM至約1 M蔗糖、約900 mM至約1 M蔗糖、約200 mM至約900 mM蔗糖、約300 mM至約900 mM蔗糖、約400 mM至約900 mM蔗糖、約500 mM至約900 mM蔗糖、約600 mM至約900 mM蔗糖、約700 mM至約900 mM蔗糖、約800 mM至約900 mM蔗糖、約

300 mM至約800 mM蔗糖、約400 mM至約800 mM蔗糖、約500 mM至約800 mM蔗糖、約600 mM至約800 mM蔗糖、約700 mM至約800 mM蔗糖、約400 mM至約700 mM蔗糖、約500 mM至約700 mM蔗糖、約600 mM至約700 mM蔗糖，或約500 mM至約600 mM蔗糖。

【0205】 在一些態樣中，蔗糖滲透調節劑之存在量為約100 mM蔗糖、約150 mM蔗糖、約200 mM蔗糖、約250 mM蔗糖、約300 mM蔗糖、約350 mM蔗糖、約400 mM蔗糖、約450 mM蔗糖、約500 mM蔗糖、約550 mM蔗糖、約600 mM蔗糖、約650 mM蔗糖、約700 mM蔗糖、約750 mM蔗糖、約800 mM蔗糖、約850 mM蔗糖、約900 mM蔗糖、約950 mM蔗糖或約1 M蔗糖。

【0206】 在一些態樣中，本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或5或SEQ ID NO: 4或6之PEG-FGF-21以約1 mg/ml與約40 mg/ml之間的濃度存在。在一些態樣中，本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或5或SEQ ID NO: 4或6之PEG-FGF-21以約10 mg/ml、約20 mg/ml、約30 mg/ml或約40 mg/ml之濃度存在。在一些態樣中，本文所揭示之醫藥調配物中的FGF-21結合物之濃度係基於藉由斜率光譜分析，例如配備有SoloVPE Fibrette (C Technologies公司；P/N OF0002-P50) (SoloVPE拋棄式UV塑膠容器(C Technologies公司；P/N OC0009-1))之Agilent Cary 60 UV-Vis分光光度計，在280 nm下使用0.87 (mL/(mg*cm))之消光係數進行之量測。

【0207】 在一些態樣中，本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21以約1 mg/ml與5 mg/ml之間、約5 mg/ml與約10 mg/ml之間、約10 mg/ml與約15 mg/ml之間、約15 mg/ml

與約20 mg/ml之間、約20 mg/ml與約25 mg/ml之間、約25 mg/ml與約30 mg/ml之間、約30 mg/ml與約35 mg/ml之間，或約35 mg/ml與約40 mg/ml之間的濃度存在。

【0208】 在一些態樣中，本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21以約1 mg/ml、約2 mg/ml、約3 mg/ml、約4 mg/ml、約5 mg/ml、約6 mg/ml、約7 mg/ml、約8 mg/ml、約9 mg/ml、約10 mg/ml、約11 mg/ml、約12 mg/ml、約13 mg/ml、約14 mg/ml、約15 mg/ml、約16 mg/ml、約17 mg/ml、約18 mg/ml、約19 mg/ml、約20 mg/ml、約21 mg/ml、約22 mg/ml、約23 mg/ml、約24 mg/ml、約25 mg/ml、約26 mg/ml、約27 mg/ml、約28 mg/ml、約29 mg/ml、約30 mg/ml、約31 mg/ml、約32 mg/ml、約33 mg/ml、約34 mg/ml、約35 mg/ml、約36 mg/ml、約37 mg/ml、約38 mg/ml、約39 mg/ml或約40 mg/ml之濃度存在。在一個特定態樣中，本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21以約10 mg/ml之濃度存在。在一個特定態樣中，本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21以約20 mg/ml之濃度存在。

【0209】 在一些態樣中，本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21的濃度係根據此項技術中已知之方法或本說明書之實例章節中所揭示之特定方法測定。

【0210】 在一些態樣中，本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21在本文所揭示之調配物中的存在量係在每劑量約1 mg與約40 mg之間。在一些態樣中，本文所揭示之

FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21在本文所揭示之調配物中的存在量係在每劑量約1 mg與約5 mg之間、每劑量約5 mg與約10 mg之間、或每劑量約10 mg與約15 mg之間、每劑量約15 mg與約20 mg之間、或每劑量約20 mg與約25 mg之間、每劑量約25 mg與約30 mg之間、或每劑量約30 mg與約35 mg之間、或每劑量約35 mg與約40 mg之間。在一些態樣中，劑量為均一劑量。在一些態樣中，本文所揭示之醫藥調配物中的FGF-21結合物之量係基於藉由斜率光譜分析，例如配備有SoloVPE Fibrette (C Technologies公司；P/N OF0002-P50) (SoloVPE拋棄式UV塑膠容器(C Technologies公司；P/N OC0009-1))之Agilent Cary 60 UV-Vis分光光度計，在280 nm下使用0.87 (mL/(mg*cm))之消光係數進行之量測。

【0211】在一些態樣中，本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21在本文所揭示之調配物中的存在量係在每劑量約19 mg與約21 mg之間、每劑量約18 mg與約22 mg之間、每劑量約17 mg與約23 mg之間、每劑量約16 mg與約24 mg之間、每劑量約15 mg與約25 mg之間、每劑量約14 mg與約26 mg之間、每劑量約13 mg與約27 mg之間、每劑量約12 mg與約28 mg之間、每劑量約11 mg與約29 mg之間或每劑量約10 mg與約30 mg之間。在一些態樣中，本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21在本文所揭示之調配物中的存在量為每劑量高於40 mg。在一些態樣中，劑量為均一劑量。

【0212】在一些態樣中，本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21在本文所揭示之調配物中的存在

量為每劑量約1 mg、每劑量約2 mg、每劑量約3 mg、每劑量約4 mg、每劑量約5 mg、每劑量約6 mg、每劑量約7 mg、每劑量約8 mg、每劑量約9 mg、每劑量約10 mg、每劑量約11 mg、每劑量約12 mg、每劑量約13 mg、每劑量約14 mg、每劑量約15 mg、每劑量約16 mg、每劑量約17 mg、每劑量約18 mg、每劑量約19 mg、每劑量約20 mg、每劑量約21 mg、每劑量約22 mg、每劑量約23 mg、每劑量約24 mg、每劑量約25 mg、每劑量約26 mg、每劑量約27 mg、每劑量約28 mg、每劑量約29 mg、每劑量約30 mg、每劑量約31 mg、每劑量約32 mg、每劑量約33 mg、每劑量約34 mg、每劑量約35 mg、每劑量約36 mg、每劑量約37 mg、每劑量約38 mg、每劑量約39 mg或每劑量約40 mg。在一個特定態樣中，本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21在本文所揭示之調配物中的存在量為每劑量約10 mg。在一個特定態樣中，本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21在本文所揭示之調配物中的存在量為每劑量約20 mg。在一些態樣中，劑量為均一劑量。

【0213】 在一些態樣中，醫藥調配物係調配用於皮下投與。如下文所論述，本文所揭示之其他醫藥調配物可經由其他途徑投與。在一些態樣中，醫藥調配物係調配用於例如使用安全注射器皮下投與。在一些態樣中，調配物係調配用於每日或每週投與一次，例如每1天、每2天、每3天、每4天、每5天、每6天、每週或每兩週投與一次。在一些態樣中，調配物為水性調配物。

【0214】 在一些態樣中，本發明提供一種包含以下之醫藥調配物：(i)本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之

PEG-FGF-21；(ii)濃度在約10 mM與約50 mM之間的組胺酸；(iii)濃度在約100 mM與約1 M之間的蔗糖；(iv)濃度在約0.01% (w/v)與約0.1% (w/v)之間的聚山梨醇酯80；及(v)濃度在約10 μM與約100 μM之間的DTPA；其中調配物之pH在約6.7與約7.5之間。

【0215】 在一些態樣中，本發明提供一種包含以下之醫藥調配物：(i)本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 5或SEQ ID NO: 6之PEG-FGF-21；(ii)濃度在約10 mM與約50 mM之間的組胺酸；(iii)濃度在約100 mM與約1 M之間的蔗糖；(iv)濃度在約0.01% (w/v)與約0.1% (w/v)之間的聚山梨醇酯80；及(v)濃度在約10 μM與約100 μM之間的DTPA；其中調配物之pH在約6.7與約7.5之間。

【0216】 亦提供一種包含以下之醫藥調配物：(i)本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或5或SEQ ID NO: 4或6之PEG-FGF-21；(ii)濃度為約20 mM之組胺酸；(iii)濃度為約600 mM之蔗糖；(iv)濃度為約0.05% (w/v)之聚山梨醇酯80；及(v)濃度為約50 μM之DTPA；其中pH為約7.1。

【0217】 亦提供一種包含以下之醫藥調配物：(i)本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或5或SEQ ID NO: 4或6之PEG-FGF-21；(ii)濃度為20 mM之組胺酸；(iii)濃度為600 mM之蔗糖；(iv)濃度為0.05% (w/v)之聚山梨醇酯80；及(v)濃度為50 μM之DTPA；其中pH為7.1。

【0218】 亦提供一種包含以下之醫藥調配物：(i)本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或5或SEQ ID NO: 4或6之PEG-FGF-21；(ii)濃度為約20 mM之組胺酸；及(iii)濃度為約600 mM之蔗糖；其中pH為

約7.0。

【0219】 亦提供一種包含以下之醫藥調配物：(i)本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或5或SEQ ID NO: 4或6之PEG-FGF-21；(ii)濃度為20 mM之組胺酸；及(iii)濃度為600 mM之蔗糖；其中pH為7.0。

【0220】 在一些特定態樣中，本發明提供一種包含以下之醫藥調配物：(i)濃度為約10 mg/mL之本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或5或SEQ ID NO: 4或6之PEG-FGF-21；(ii)濃度為約20 mM之組胺酸；(iii)濃度為約600 mM之蔗糖；(iv)濃度為約0.05% (w/v)之聚山梨醇酯80；及(v)濃度為約50 uM之DTPA；其中pH為約7.1。在一些態樣中，本文所揭示之醫藥調配物中的FGF-21結合物之濃度係藉由斜率光譜分析，例如配備有SoloVPE Fibrette (C Technologies公司；P/N OF0002-P50) (SoloVPE拋棄式UV塑膠容器(C Technologies公司；P/N OC0009-1))之Agilent Cary 60 UV-Vis分光光度計，在280 nm下使用0.87 (mL/(mg*cm))之消光係數來量測。

【0221】 亦提供一種包含以下之醫藥調配物：(i)濃度為約20 mg/mL之本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或5或SEQ ID NO: 4或6之PEG-FGF-21；(ii)濃度為約20 mM之組胺酸；(iii)濃度為約600 mM之蔗糖；(iv)濃度為約0.05% (w/v)之聚山梨醇酯80；及(v)濃度為約50 uM之DTPA；其中pH為約7.1。在一些態樣中，本文所揭示之醫藥調配物中的FGF-21結合物之濃度係藉由斜率光譜分析，例如配備有SoloVPE Fibrette (C Technologies公司；P/N OF0002-P50) (SoloVPE拋棄式UV塑膠容器(C Technologies公司；P/N OC0009-1))之Agilent Cary 60 UV-Vis

分光光度計，在280 nm下使用0.87 (mL/(mg*cm))之消光係數來量測。

【0222】 亦提供一種包含以下之醫藥調配物：(i)濃度為10 mg/mL之本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或5或SEQ ID NO: 4或6之PEG-FGF-21；(ii)濃度為20 mM之組胺酸；(iii)濃度為600 mM之蔗糖；(iv)濃度為0.05% (w/v)之聚山梨醇酯80；及(v)濃度為50 uM之DTPA；其中pH為7.1。

【0223】 亦提供一種包含以下之醫藥調配物：(i)濃度為20 mg/mL之本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或5或SEQ ID NO: 4或6之PEG-FGF-21；(ii)濃度為20 mM之組胺酸；(iii)濃度為600 mM之蔗糖；(iv)濃度為0.05% (w/v)之聚山梨醇酯80；及(v)濃度為50 uM之DTPA；其中pH為7.1。

【0224】 本發明亦提供根據所述方法中之任一者製備的醫藥調配物，以改良包含本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或5或SEQ ID NO: 4或6之PEG-FGF-21的調配物之穩定性。

【0225】 在一個特定態樣中，本發明提供一種包含濃度為20 g/L的於20 mM組胺酸、600 mM蔗糖、50 uM DTPA及0.05% PS80中之SEQ ID NO: 4或6之FGF-21結合物的醫藥調配物(pH 7.1)。在一個特定態樣中，本發明提供一種包含濃度為10 g/L的於20 mM組胺酸、600 mM蔗糖、50 uM DTPA及0.05% (w/v) PS80中之SEQ ID NO: 4或6之FGF-21結合物的醫藥調配物(pH 7.1)。在一些態樣中，本文所揭示之醫藥調配物中的FGF-21結合物之濃度係藉由斜率光譜分析，例如配備有SoloVPE Fibrette (C Technologies公司；P/N OF0002-P50) (SoloVPE拋棄式UV塑膠容器(C Technologies公司；P/N OC0009-1))之Agilent Cary 60 UV-Vis分光光度

計，在280 nm下使用0.87 (mL/(mg*cm))之消光係數來量測。

【0226】 在一些態樣中，調配物係冷凍的。在一些態樣中，調配物係儲存在例如蛤殼袋之袋中。在一些態樣中，例如蛤殼袋之袋的體積在6 L與12 L之間。

【0227】 在一些態樣中，調配物係含於小瓶中。在一些態樣中，調配物係含於注射器中。在一些態樣中，注射器為安全注射器。在一些態樣中，注射器為可預填充注射器。在一些態樣中，注射器為BD NEOPAK™可預填充注射器。在一些態樣中，調配物係含於自注射裝置中。

【0228】 在一些態樣中，注射器(例如可預填充注射器)或自注射裝置包含1 mL醫藥調配物(pH 7.1)，該調配物包含濃度為10 g/L的於20 mM組胺酸、600 mM蔗糖、50 uM DTPA及0.05% (w/v) PS80中之SEQ ID NO: 4或6之FGF-21結合物。在一些態樣中，注射器(例如可預填充注射器)或自注射裝置包含1 mL醫藥調配物(pH 7.1)，該調配物包含濃度為20 g/L的於20 mM組胺酸、600 mM蔗糖、50 uM DTPA及0.05% PS80中之SEQ ID NO: 4或6之FGF-21結合物。在一些態樣中，本文所揭示之醫藥調配物中的FGF-21結合物之濃度係藉由斜率光譜分析，例如配備有SoloVPE Fibrette (C Technologies公司；P/N OF0002-P50) (SoloVPE拋棄式UV塑膠容器(C Technologies公司；P/N OC0009-1))之Agilent Cary 60 UV-Vis分光光度計，在280 nm下使用0.87 (mL/(mg*cm))之消光係數來量測。

II. 製造方法

【0229】 本發明亦提供改良或促進包含本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或5或SEQ ID NO: 4或6之PEG-FGF-21的醫藥調

配物之穩定性的方法，其包含摻合胺基聚羧酸陽離子螯合劑，例如DTPA，其中與不含胺基聚羧酸陽離子螯合劑之參考調配物相比，該調配物具有經改良之穩定性。此等穩定方法包含(i)將胺基聚羧酸陽離子螯合劑摻合至調配物，(ii)摻合聚山梨醇酯界面活性劑(例如聚山梨醇酯80)，(iii)將調配物之pH調整至大約7.1，或(iv)其任何組合。

【0230】 在一些態樣中，本文所述之醫藥調配物係藉由以下製程製得：摻合(i)呈達成最終濃度為約10 mg/mL之量的本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或5或SEQ ID NO: 4或6之PEG-FGF-21；(ii)呈達成最終濃度為約20 mM之量的組胺酸；(iii)呈達成最終濃度為約600 mM之量的蔗糖；(iv)呈達成最終濃度為約0.05% (w/v)之量的聚山梨醇酯80；及(v)呈達成最終濃度為約50 uM之量的 DTPA；且將pH調整呈約7.1。

【0231】 在一些態樣中，本文所述之醫藥調配物係藉由以下製程製得：摻合(i)呈達成最終濃度為約20 mg/mL之量的本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或5或SEQ ID NO: 4或6之PEG-FGF-21；(ii)呈達成最終濃度為約20 mM之量的組胺酸；(iii)呈達成最終濃度為約600 mM之量的蔗糖；(iv)呈達成最終濃度為約0.05% (w/v)之量的聚山梨醇酯80；及(v)呈達成最終濃度為約50 uM之量的 DTPA；且將pH調整呈約7.1。

【0232】 在一些態樣中，本文所述之醫藥調配物係藉由以下製程製得：摻合(i)呈達成最終濃度為10 mg/mL之量的本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或5或SEQ ID NO: 4或6之PEG-FGF-21；(ii)呈達成最終濃度為20 mM之量的組胺酸；(iii)呈達成最終濃度為600 mM之量

的蔗糖；(iv)呈達成最終濃度為0.05% (w/v)之量的聚山梨醇酯80；及(v)呈達成最終濃度為50 uM之量的 DTPA；且將pH調整呈7.1。

【0233】 在一些態樣中，本文所述之醫藥調配物係藉由以下製程製得：摻合(i)呈達成最終濃度為20 mg/mL之量的本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或5或SEQ ID NO: 4或6之PEG-FGF-21；(ii)呈達成最終濃度為20 mM之量的組胺酸；(iii)呈達成最終濃度為600 mM之量的蔗糖；(iv)呈達成最終濃度為0.05% (w/v)之量的聚山梨醇酯80；及(v)呈達成最終濃度為50 uM之量的 DTPA；且將pH調整呈7.1。

【0234】 如本文所用，術語「摻合」係指本文所揭示之調配物之組分以沒有預定次序之方式組合，以藉由此項技術中已知的任何手段達至所揭示之濃度。例如，本文所揭示之醫藥調配物中之賦形劑可依序或同時添加至包含本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21之溶液中。替代地，包含本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21之濃縮溶液可添加至包含調配物中之賦形劑之全部或一部分的溶液中。在其他態樣中，可使用例如滲析或過濾將賦形劑併入調配物。

【0235】 在一些態樣中，由所揭示方法之應用引起的穩定性之改良包含例如(i)相對於參考調配物，物理穩定性增加、(ii)相對於參考調配物，化學穩定性增加或(iii)其組合。

【0236】 在一些態樣中，物理穩定性增加包含(i)防止或降低FGF-21多肽聚集、(ii)防止或降低FGF-21多肽斷裂或(iii)其組合。

【0237】 在一些態樣中，本文所揭示之醫藥組合物中所觀測到之FGF-21多肽聚集為參考調配物中所觀測到之FGF-21多肽聚集的約90%、

約85%、約80%、約75%、約70%、約65%、約60%、約55%、約50%、約45%、約40%、約35%、約30%、約25%、約20%、約15%或約10%。

【0238】在一些態樣中，本文所揭示之醫藥組合物中所觀測到之FGF-21多肽聚集為參考調配物中所觀測到之FGF-21多肽聚集的小於90%、小於85%、小於80%、小於75%、小於70%、小於65%、小於60%、小於55%、小於50%、小於45%、小於40%、小於35%、小於30%、小於25%、小於20%、小於15%或小於10%。

【0239】在一些態樣中，本文所揭示之醫藥組合物中所觀測到之FGF-21多肽斷裂為參考調配物中所觀測到之FGF-21多肽斷裂的約90%、約85%、約80%、約75%、約70%、約65%、約60%、約55%、約50%、約45%、約40%、約35%、約30%、約25%、約20%、約15%或約10%。

【0240】在一些態樣中，本文所揭示之醫藥組合物中所觀測到之FGF-21多肽斷裂為參考調配物中所觀測到之FGF-21多肽斷裂的小於90%、小於85%、小於80%、小於75%、小於70%、小於65%、小於60%、小於55%、小於50%、小於45%、小於40%、小於35%、小於30%、小於25%、小於20%、小於15%或小於10%。

【0241】在一些態樣中，化學穩定性增加包含(i)防止或降低FGF-21多肽脫醯胺、(ii)防止或降低FGF-21多肽氧化或(iii)其組合。在一些態樣中，本文所揭示之醫藥組合物中所觀測到之FGF-21多肽脫醯胺為參考調配物中所觀測到之FGF-21多肽脫醯胺的約90%、約85%、約80%、約75%、約70%、約65%、約60%、約55%、約50%、約45%、約40%、約35%、約30%、約25%、約20%、約15%或約10%。

【0242】在一些態樣中，本文所揭示之醫藥組合物中所觀測到之

FGF-21多肽脫醯胺為參考調配物中所觀測到之FGF-21多肽脫醯胺的小於90%、小於85%、小於80%、小於75%、小於70%、小於65%、小於60%、小於55%、小於50%、小於45%、小於40%、小於35%、小於30%、小於25%、小於20%、小於15%或小於10%。

【0243】 在一些態樣中，本文所揭示之醫藥組合物中所觀測到之FGF-21多肽氧化為參考調配物中所觀測到之FGF-21多肽氧化的約90%、約85%、約80%、約75%、約70%、約65%、約60%、約55%、約50%、約45%、約40%、約35%、約30%、約25%、約20%、約15%或約10%。

【0244】 在一些態樣中，本文所揭示之醫藥組合物中所觀測到之FGF-21多肽氧化為參考調配物中所觀測到之FGF-21多肽氧化的小於90%、小於85%、小於80%、小於75%、小於70%、小於65%、小於60%、小於55%、小於50%、小於45%、小於40%、小於35%、小於30%、小於25%、小於20%、小於15%或小於10%。

【0245】 在一些態樣中，相對於參考調配物，使本文所揭示之調配物穩定(改良或促進穩定性)之方法不僅可降低降解程度且亦降低降解速率：例如，所揭示之方法可降低多肽脫醯胺速率、降低FGF-21多肽氧化速率、降低FGF-21多肽聚集速率、降低FGF-21多肽蛋白水解降解速率，或其任何組合。

【0246】 例如，在本文所揭示之醫藥調配物中摻合諸如DTPA之胺基聚羧酸陽離子螯合劑可在儲存於特定溫度持續特定時段時，相對於參考調配物，降低本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21的脫醯胺速率。

【0247】 在一些態樣中，向包含本文所揭示之FGF-21結合物，例如

SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21的醫藥調配物中摻合胺基聚羧酸陽離子螯合劑(例如DTPA)可在醫藥調配物儲存於例如約25℃、約30℃、約35℃、約40℃或約45℃時，相對於參考調配物，降低FGF-21結合物之脫醯胺速率。

【0248】 在一些態樣中，胺基聚羧酸陽離子螯合劑(例如DTPA)可在醫藥調配物儲存於高於25℃、高於30℃、高於35℃、約40℃或約45℃之溫度時，相對於參考調配物，降低本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21的脫醯胺速率。

【0249】 在一些態樣中，胺基聚羧酸陽離子螯合劑(例如DTPA)可在醫藥調配物儲存於約20℃與約25℃之間、約25℃與約30℃之間、約30℃與約35℃之間或約40℃與約45℃之間的溫度時，相對於參考調配物，降低本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21的脫醯胺速率。

【0250】 在一些態樣中，向包含本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21的醫藥調配物中摻合胺基聚羧酸陽離子螯合劑(例如DTPA)可在醫藥調配物儲存於上文所揭示之溫度或溫度範圍約1週、約2週、約3週、約1個月、約2個月、約3個月或約4個月時，相對於參考調配物，降低FGF-21結合物之脫醯胺速率。

【0251】 在一個特定態樣中，向包含本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21的醫藥調配物中摻合胺基聚羧酸陽離子螯合劑(例如DTPA)可在醫藥調配物儲存於40℃約一個月時，相對於參考調配物，降低FGF-21結合物之脫醯胺速率。

【0252】 在一些態樣中，向包含本文所揭示之FGF-21結合物，例如

SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21的醫藥調配物中摻合胺基聚羧酸陽離子螯合劑(例如DTPA)可在醫藥調配物儲存於約25℃、約30℃、約35℃、約40℃或約45℃時，相對於參考調配物，降低FGF-21結合物之高分子量(HMW)聚集速率。

【0253】 在一些態樣中，向包含本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21的醫藥調配物中摻合胺基聚羧酸陽離子螯合劑(例如DTPA)可在醫藥調配物儲存於高於25℃、高於30℃、高於35℃、約40℃或約45℃之溫度時，相對於參考調配物，降低FGF-21結合物之HMW聚集速率。

【0254】 在一些態樣中，向包含本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21的醫藥調配物中摻合胺基聚羧酸陽離子螯合劑(例如DTPA)可在醫藥調配物儲存於約20℃與約25℃之間、約25℃與約30℃之間、約30℃與約35℃之間或約40℃與約45℃之間的溫度時，相對於參考調配物，降低FGF-21結合物之HMW聚集速率。

【0255】 在一些態樣中，向包含本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21的醫藥調配物中摻合胺基聚羧酸陽離子螯合劑(例如DTPA)可在醫藥調配物儲存於上文所揭示之溫度或溫度範圍約1週、約2週、約3週、約1個月、約2個月、約3個月或約4個月時，相對於參考調配物，降低FGF-21結合物之HMW聚集速率。

【0256】 在一個特定態樣中，向包含本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21的醫藥調配物中摻合胺基聚羧酸陽離子螯合劑(例如DTPA)可在醫藥調配物儲存於40℃約一個月時，相對於參考調配物，降低FGF-21結合物之HMW聚集速率。

【0257】在一些態樣中，向包含本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21的醫藥調配物中摻合胺基聚羧酸陽離子螯合劑(例如DTPA)可防止或減少FGF-21結合物中之一或多種甲硫胺酸氧化。

【0258】在特定態樣中，向包含本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21的醫藥調配物中摻合胺基聚羧酸陽離子螯合劑(例如DTPA)可防止或減少SEQ ID NO: 3 (野生型FGF-21)之胺基酸1及/或胺基酸169或SEQ ID NO: 1、2、4或根據本發明之任何其他FGF-21結合物中之相應胺基酸氧化。

【0259】所揭示之方法可使用胺基聚羧酸陽離子螯合劑DTPA。然而，在一些其他態樣中，胺基聚羧酸陽離子螯合劑可為例如另一種胺基聚羧酸陽離子螯合劑，諸如EDTA、EGTA、DOTA、DTPA相關化合物(諸如替坦)或此項技術中已知的與DTPA及EDTA相關之任何螯合劑，例如DTPA.BMA及EDTA.BMA。

【0260】在一些態樣中，DTPA陽離子螯合劑可摻合至量在約10 μM與約100 μM、15 μM與約95 μM之間、約20 μM與約90 μM之間、約25 μM與約85 μM之間、約30 μM與約80 μM之間、約35 μM與約75 μM之間、約40 μM與約70 μM之間、約45 μM與約65 μM之間、約50 μM與約60 μM之間、約25 μM與約75 μM之間、約40 μM與約60 μM之間、約30 μM與約70 μM，或約40 μM與約75 μM之間。

【0261】在一些態樣中，DTPA陽離子螯合劑可摻合至量為約10 μM、約15 μM、約20 μM、約25 μM、約30 μM、約35 μM、約40 μM、約45 μM、約50 μM、約55 μM、約60 μM、約65 μM、約70 μM、約75

μM、約80 μM、約85 μM、約90 μM、約95 μM或約100 μM。

【0262】 在一些態樣中，DTPA陽離子螯合劑可摻合至量為至少約15 μM、至少約20 μM、至少約25 μM、至少約30 μM、至少約35 μM、至少約40 μM、至少約45 μM、至少約50 μM、至少約55 μM、至少約60 μM、至少約65 μM、至少約70 μM，或至少約75 μM。

【0263】 在一個特定態樣中，例如DTPA之胺基聚羧酸陽離子螯合劑被摻合至量為50 μM。

【0264】 在本文所揭示之方法之一些態樣中，將調配物之pH調節至pH高於約6.5、高於約6.6、高於約6.7、高於約6.8、高於約6.9、高於約7.0、高於約7.1、高於約7.2、高於約7.3、高於約7.4，或高於約7.5。

【0265】 在一些態樣中，將調配物之pH調節至pH高於6.5、高於6.6、高於6.7、高於6.8、高於6.9、高於7.0、高於7.1、高於7.2、高於7.3、高於7.4，或高於7.5。

【0266】 在一些態樣中，將調配物之pH調節至pH呈6.5、6.6、6.7、6.8、6.9、7.0、7.1、7.2、7.3、7.4或7.5。

【0267】 在一些態樣中，將調配物之pH調節至pH在約6.5與約7.5之間、約6.6與約7.5之間、約6.7與約7.5之間、約6.8與約7.5之間、約6.9與約7.5之間、約7.0與約7.5之間、約7.1與約7.5之間、約7.2與約7.5之間、約7.3與約7.5之間、約7.4與約7.5之間、約6.5與約7.4之間、約6.5與約7.3之間、約6.5與約7.2之間、約6.5與約7.1之間、約6.5與約7.0之間、約6.5與約6.9之間、約6.5與約6.8之間、約6.5與約6.7之間、約6.6與約7.4之間、約6.7與約7.4之間、約6.8與約7.4之間、約6.9與約7.4之間、約7.0與約7.4之間、約7.1與約7.4之間、約7.2與約7.4之間、約7.3與約7.4之間、

約6.5與約7.3之間、約6.6與約7.3之間、約6.7與約7.3之間、約6.7與約7.3之間、約6.8與約7.3之間、約6.9與約7.3之間、約7.0與約7.3之間、約7.1與約7.3之間、約7.2與約7.3之間、約6.5與約7.2之間、約6.6與約7.2之間、約6.7與約7.2之間、約6.8與約7.2之間、約6.9與約7.2之間、約7.0與約7.2之間、約7.1與約7.2之間、約6.9與約7.1之間，或約7.0與約7.1之間。

【0268】 在一些態樣中，將調配物之pH調節至pH呈約6.8、約6.9、約7.0、約7.1、約7.2、約7.3、約7.4或約7.5。在一些態樣中，調整pH之後，醫藥調配物相較於pH 6.5之參考調配物為更穩定的。

【0269】 將調配物之pH調節至pH呈6.8、6.9、7.0、7.1、7.2、7.3、7.4，或7.5。在一些態樣中，調整pH之後，醫藥調配物相較於pH 6.5之參考調配物為更穩定的。

【0270】 在一些態樣中，改良包含本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21的醫藥調配物之穩定性的方法進一步包含摻合界面活性劑。在一些態樣中，摻合界面活性劑為非離子型界面活性劑，亦即在中性溶液中往往不具有淨電荷之界面活性劑。在一些態樣中，摻合的非陰離子型界面活性劑為聚山梨醇酯。在一些態樣中，非離子型界面活性劑之摻合量高於臨界微胞濃度(CMC)，對於聚氧乙烯脫水山梨糖醇脂肪酸酯，量為大約至少0.01 mg/ml。參見Wan及Lee, Journal of Pharm Sci, 63, 第136頁, 1974。在本發明方法之一些態樣中，聚山梨醇酯為聚山梨醇酯80 (PS80)。

【0271】 在一些態樣中，摻合至醫藥調配物的PS80界面活性劑之量為約0.01%至約0.1% (w/v)、約0.02%至約0.1% (w/v)、約0.03%至約

0.1% (w/v)、約0.04%至約0.1% (w/v)、約0.05%至約0.1% (w/v)、約0.06%至約0.1% (w/v)、約0.07%至約0.1% (w/v)、約0.08%至約0.1% (w/v)、約0.09%至約0.1% (w/v)、約0.02%至約0.09% (w/v)、約0.03%至約0.09% (w/v)、約0.04%至約0.09% (w/v)、約0.05%至約0.09% (w/v)、約0.06%至約0.09% (w/v)、約0.07%至約0.09% (w/v)、約0.08%至約0.09% (w/v)、約0.03%至約0.08% (w/v)、約0.04%至約0.08% (w/v)、約0.05%至約0.08% (w/v)、約0.06%至約0.08% (w/v)、約0.07%至約0.08% (w/v)、約0.04%至約0.07% (w/v)、約0.05%至約0.07% (w/v)、約0.06%至約0.07% (w/v)，或約0.05%至約0.06% (w/v)。

【0272】 在一些態樣中，聚山梨醇酯80界面活性劑之摻合量為至少約0.01% (w/v)、至少約0.02% (w/v)、至少約0.03% (w/v)、至少約0.04% (w/v)、至少約0.05% (w/v)、至少約0.06% (w/v)、至少約0.07% (w/v)、至少約0.08% (w/v)、至少約0.09% (w/v)或至少約0.1% (w/v)。在一些態樣中，例如當攪拌(例如，在震盪器上)調配物時，界面活性劑，例如PS80之摻合量足以減少或防止微粒形成及/或氣泡形成。

【0273】 在一些態樣中，改良包含本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21的醫藥調配物之穩定性的方法進一步包含摻合胺基酸緩衝劑，例如組胺酸(亦即，L-組胺酸、D-組胺酸、溶合組胺酸、水合組胺酸、無水組胺酸或其混合物)。

【0274】 在一些態樣中，組胺酸緩衝劑之摻合量為約10 mM至約100 mM組胺酸、約15 mM至約100 mM組胺酸、約20 mM至約100 mM組胺酸、約25 mM至約100 mM組胺酸、約30 mM至約100 mM組胺酸、約35 mM至約100 mM組胺酸、約40 mM至約100 mM組胺酸、約45 mM至約100

mM組胺酸、約50 mM至約100 mM組胺酸、約55 mM至約100 mM組胺酸、約60 mM至約100 mM組胺酸、約65 mM至約100 mM組胺酸、約70 mM至約100 mM組胺酸、約75 mM至約100 mM組胺酸、約80 mM至約100 mM組胺酸、約85 mM至約100 mM組胺酸、約90 mM至約100 mM組胺酸、約95 mM至約100 mM組胺酸、約20 mM至約90 mM組胺酸、約25 mM至約90 mM組胺酸、約30 mM至約90 mM組胺酸、約35 mM至約90 mM組胺酸、約40 mM至約90 mM組胺酸、約45 mM至約90 mM組胺酸、約50 mM至約90 mM組胺酸、約55 mM至約90 mM組胺酸、約60 mM至約90 mM組胺酸、約65 mM至約90 mM組胺酸、約70 mM至約90 mM組胺酸、約75 mM至約90 mM組胺酸、約80 mM至約90 mM組胺酸、約85 mM至約90 mM組胺酸、約30 mM至約80 mM組胺酸、約35 mM至約80 mM組胺酸、約40 mM至約80 mM組胺酸、約45 mM至約80 mM組胺酸、約50 mM至約80 mM組胺酸、約55 mM至約80 mM組胺酸、約60 mM至約80 mM組胺酸、約65 mM至約80 mM組胺酸、約70 mM至約80 mM組胺酸、約75 mM至約80 mM組胺酸、約40 mM至約70 mM組胺酸、約45 mM至約70 mM組胺酸、約50 mM至約70 mM組胺酸、約55 mM至約70 mM組胺酸、約60 mM至約70 mM組胺酸、約65 mM至約70 mM組胺酸、約10 mM至約30 mM組胺酸、約15 mM至約30 mM組胺酸、約20 mM至約30 mM組胺酸、約25 mM至約30 mM組胺酸、約15 mM至約25 mM組胺酸、約20 mM至約25 mM、約15 mM至約20 mM組胺酸、約40 mM至約60 mM組胺酸、約45 mM至約60 mM組胺酸、約50 mM至約60 mM組胺酸、約15.5 mM至約24.5 mM組胺酸、約16 mM至約24 mM組胺酸、約16.5 mM至約23.5 mM組胺酸、約17 mM至約23 mM組胺酸、約17.5 mM

至約22.5 mM組胺酸、約18 mM至約22 mM組胺酸、約18.5 mM至約21.5 mM組胺酸、約19 mM至約21 mM組胺酸，或約19.5 mM至約20.5 mM組胺酸。

【0275】在一些態樣中，組胺酸緩衝劑之摻合量為約10 mM組胺酸、約11 mM組胺酸、約12 mM組胺酸、約13 mM組胺酸、約14 mM組胺酸、約15 mM組胺酸、約16 mM組胺酸、約17 mM組胺酸、約18 mM組胺酸、約19 mM組胺酸、約20 mM組胺酸、約21 mM組胺酸、約22 mM組胺酸、約23 mM組胺酸、約24 mM組胺酸、約25 mM組胺酸、約26 mM組胺酸、約27 mM組胺酸、約28 mM組胺酸、約29 mM組胺酸、約30 mM組胺酸、約31 mM組胺酸、約32 mM組胺酸、約33 mM組胺酸、約34 mM組胺酸、約35 mM組胺酸、約36 mM組胺酸、約37 mM組胺酸、約38 mM組胺酸、約39 mM組胺酸、約40 mM組胺酸、約41 mM組胺酸、約42 mM組胺酸、約43 mM組胺酸、約44 mM組胺酸、約45 mM組胺酸、約46 mM組胺酸、約47 mM組胺酸、約48 mM組胺酸、約49 mM組胺酸或約50 mM組胺酸。

【0276】在一些態樣中，改良包含本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21的醫藥調配物之穩定性的方法進一步包含摻合滲透調節劑(張力劑)。根據本發明，滲透調節劑(張力劑)可包含多元醇、醣、碳水化合物、鹽(諸如氯化鈉)或其混合物。例示性多元醇包含分子量小於約600 kD (例如在120至400 kD範圍內)之多元醇，例如甘露糖醇、海藻糖、山梨糖醇、赤藻糖醇、異麥芽酮糖醇、乳糖醇、麥芽糖醇、木糖醇、甘油、乳糖醇、丙二醇、聚乙二醇、肌醇或其混合物。醣或碳水化合物滲透調節劑包含單醣、雙醣及多醣或其混合物。

【0277】在一些態樣中，醣或碳水化合物係選自由以下組成之群：果糖、葡萄糖、甘露糖、蔗糖、山梨糖、木糖、乳糖、麥芽糖、蔗糖、葡聚糖、普魯蘭、糊精、環糊精、可溶性澱粉、羥乙基澱粉、水溶性葡聚糖及其混合物。在一些態樣中，滲透調節劑包含選自還原糖或非還原糖或其混合物之群的醣。在一些態樣中，滲透調節劑(張力劑)包含呈非還原性糖，較佳選自由蔗糖、海藻糖及其混合物組成之群的醣。在一些特定態樣中，非還原性糖為蔗糖。

【0278】在一些態樣中，蔗糖滲透調節劑之摻合量為約100 mM至約1 M蔗糖、約200 mM至約1 M蔗糖、約300 mM至約1 M蔗糖、約400 mM至約1 M蔗糖、約500 mM至約1 M蔗糖、約600 mM至約1 M蔗糖、約700 mM至約1 M蔗糖、約800 mM至約1 M蔗糖、約900 mM至約1 M蔗糖、約200 mM至約900 mM蔗糖、約300 mM至約900 mM蔗糖、約400 mM至約900 mM蔗糖、約500 mM至約900 mM蔗糖、約600 mM至約900 mM蔗糖、約700 mM至約900 mM蔗糖、約800 mM至約900 mM蔗糖、約300 mM至約800 mM蔗糖、約400 mM至約800 mM蔗糖、約500 mM至約800 mM蔗糖、約600 mM至約800 mM蔗糖、約700 mM至約800 mM蔗糖、約400 mM至約700 mM蔗糖、約500 mM至約700 mM蔗糖、約600 mM至約700 mM蔗糖，或約500 mM至約600 mM蔗糖。

【0279】在一些態樣中，蔗糖滲透調節劑之摻合量為約100 mM蔗糖、約150 mM蔗糖、約200 mM蔗糖、約250 mM蔗糖、約300 mM蔗糖、約350 mM蔗糖、約400 mM蔗糖、約450 mM蔗糖、約500 mM蔗糖、約550 mM蔗糖、約600 mM蔗糖、約650 mM蔗糖、約700 mM蔗糖、約750 mM蔗糖、約800 mM蔗糖、約850 mM蔗糖、約900 mM蔗

糖、約950 mM蔗糖或約1 M蔗糖。

【0280】 在一些態樣中，適用於本文所揭示之方法中的FGF-21結合物包含與胺基酸序列SEQ ID NO: 3 (野生型人類FGF-21)具有至少約70%、至少約75%、至少約80%、至少約85%、至少約90%、至少約95%、至少約96%、至少約97%、至少約98%或至少約99%胺基酸序列一致性的FGF-21多肽，其中該FGF-21多肽具有FGF-21活性。

【0281】 在一些態樣中，FGF-21結合物為SEQ ID NO: 2之PEG-FGF-21，亦即其中野生型FGF-21 (SEQ ID NO: 3)之麩醯胺酸109已經對-乙醯基-L-苯丙胺酸置換，且有經由肟鍵共價附接於該對-乙醯基-L-苯丙胺酸的PEG部分，例如分子量在約28 kDa與約32 kDa之間，例如約30 kDa的線性PEG的SEQ ID NO: 1之FGF-21。在一些態樣中，FGF-21結合物為SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21，亦即其中野生型FGF-21 (SEQ ID NO: 3)之麩醯胺酸109已經對-乙醯基-L-苯丙胺酸置換，且包含681個乙二醇單元之PEG部分經由肟鍵共價附接於該對-乙醯基-L-苯丙胺酸的SEQ ID NO: 1之FGF-21。

【0282】 在本文所揭示之方法之一些態樣中，FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21以約1 mg/ml與約40 mg/ml之間的濃度存在。在一些態樣中，本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21以約10 mg/ml、約20 mg/ml、約30 mg/ml或約40 mg/ml之濃度存在。在一些特定態樣中，本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21以約10 mg/ml之濃度存在。在一些特定態樣中，本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21以約

20 mg/ml之濃度存在。

【0283】 在一些態樣中，調配物包含濃度為約10 mg/ml之約1 mL本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21。在一些態樣中，調配物包含濃度為約20 mg/ml之約1 mL本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21。

【0284】 在一些態樣中，本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21的濃度係根據此項技術中已知之方法或本說明書之實例章節中所揭示之特定方法測定。

【0285】 在本文所揭示之方法之一些態樣中，調配物係調配用於皮下投與。在一些態樣中，調配物係調配用於使用安全注射器皮下投與。在一些態樣中，調配物係調配用於每日或每週投與一次。在一些態樣中，調配物為水性調配物。

【0286】 本發明提供一種改良包含本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21(例如濃度為10 mg/mL或20 mg/mL)的調配物之穩定性的方法，其包含摻合(i)濃度在約10 mM與約50 mM之間的組胺酸；(ii)濃度在約100 mM與約1 M之間的蔗糖；(iii)濃度在約0.01% (w/v)與約0.1% (w/v)之間的聚山梨醇酯80；及(iv)濃度在約10 μM與約100 μM之間的DTPA；其中調配物之pH在約6.7與約7.5之間。

【0287】 本發明提供一種改良包含本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21(例如濃度為10 mg/mL或20 mg/mL)的調配物之穩定性的方法，其包含摻合(i)濃度在約15 mM與

約45 mM之間的組胺酸；(ii)濃度在約200 mM與約900 mM之間的蔗糖；(iii)濃度在約0.02% (w/v)與約0.09% (w/v)之間的聚山梨醇酯80；及(iv)濃度在約20 μM與約90 μM之間的DTPA；其中調配物之pH在約6.8與約7.4之間。

【0288】 本發明提供一種改良包含本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21(例如濃度為10 mg/mL或20 mg/mL)的調配物之穩定性的方法，其包含摻合(i)濃度在約15 mM與約40 mM之間的組胺酸；(ii)濃度在約300 mM與約800 mM之間的蔗糖；(iii)濃度在約0.03% (w/v)與約0.08% (w/v)之間的聚山梨醇酯80；及(iv)濃度在約30 μM與約80 μM之間的DTPA；其中調配物之pH在約6.9與約7.3之間。

【0289】 本發明提供一種改良包含本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21(例如濃度為10 mg/mL或20 mg/mL)的調配物之穩定性的方法，其包含摻合(i)濃度在約15 mM與約30 mM之間的組胺酸；(ii)濃度在約400 mM與約800 mM之間的蔗糖；(iii)濃度在約0.04% (w/v)與約0.07% (w/v)之間的聚山梨醇酯80；及(iv)濃度在約40 μM與約70 μM之間的DTPA；其中調配物之pH在約7與約7.2之間。

【0290】 本發明提供一種改良包含本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21(例如濃度為10 mg/mL或20 mg/mL)的調配物之穩定性的方法，其包含摻合(i)濃度在約15 mM與約25 mM之間的組胺酸；(ii)濃度在約500 mM與約700 mM之間的蔗糖；(iii)濃度在約0.04% (w/v)與約0.06% (w/v)之間的聚山梨醇酯80；及(iv)

濃度在約45 μM與約55 μM之間的DTPA；其中調配物之pH在約7與約7.1之間。在一些態樣中，本文所揭示之醫藥調配物中的FGF-21結合物之濃度係藉由斜率光譜分析，例如配備有SoloVPE Fibrette (C Technologies公司；P/N OF0002-P50) (SoloVPE拋棄式UV塑膠容器(C Technologies公司；P/N OC0009-1))之Agilent Cary 60 UV-Vis分光光度計，在280 nm下使用0.87 (mL/(mg*cm))之消光係數來量測。

【0291】 本發明亦提供一種改良包含本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21(例如濃度為10 mg/mL或20 mg/mL)的調配物之穩定性的方法，其包含摻合(i)濃度為約20 mM之組胺酸；(ii)濃度為約600 mM之蔗糖；(iii)濃度為約0.05% (w/v)之聚山梨醇酯80；及(iv)濃度為約50 μM之DTPA；其中pH為約7.1。

【0292】 本發明亦提供一種改良包含本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21(例如濃度為10 mg/mL或20 mg/mL)的調配物之穩定性的方法，其包含摻合(i)濃度為20 mM之組胺酸；(ii)濃度為600 mM之蔗糖；(iii)濃度為0.05% (w/v)之聚山梨醇酯80；及(iv)濃度為50 μM之DTPA；其中pH為7.1。

【0293】 本發明提供一種改良包含本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21 (例如濃度為10 mg/mL或20 mg/mL)的調配物之穩定性的方法，其包含摻合(i)濃度為約20 mM之組胺酸；及(ii)濃度為約600 mM之蔗糖；其中pH為約7.0。

【0294】 本發明提供一種改良包含本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21 (例如濃度為10 mg/mL或20 mg/mL)的調配物之穩定性的方法，其包含摻合(i)濃度為20 mM之組

胺酸；及(ii)濃度為600 mM之蔗糖；其中pH為7.0。

【0295】 本發明提供一種改良包含濃度為約10 mg/mL的本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21的調配物之穩定性的方法，其包含摻合(i)濃度為約20 mM之組胺酸；(ii)濃度為約600 mM之蔗糖；(iii)濃度為約0.05% (w/v)之聚山梨醇酯80；及(iv)濃度為約50 uM之DTPA；其中pH為約7.1。

【0296】 本發明提供一種改良包含濃度為約20 mg/mL的本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21的調配物之穩定性的方法，其包含摻合(i)濃度為約20 mM之組胺酸；(ii)濃度為約600 mM之蔗糖；(iii)濃度為約0.05% (w/v)之聚山梨醇酯80；及(iv)濃度為約50 uM之DTPA；其中pH為約7.1。

【0297】 本發明提供一種改良包含濃度為約10 mg/mL的本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21的調配物之穩定性的方法，其包含摻合(i)濃度為20 mM之組胺酸；(ii)濃度為600 mM之蔗糖；(iii)濃度為0.05% (w/v)之聚山梨醇酯80；及(iv)濃度為50 uM之DTPA；其中pH為7.1。

【0298】 本發明提供一種改良包含濃度為約20 mg/mL的本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21的調配物之穩定性的方法，其包含摻合 (i)濃度為20 mM之組胺酸；(ii)濃度為600 mM之蔗糖；(iii)濃度為0.05% (w/v)之聚山梨醇酯80；及(iv)濃度為50 uM之DTPA；其中pH為7.1。

【0299】 本發明亦提供一種改良包含本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 5或SEQ ID NO: 6之PEG-FGF-21 (例如濃度為10 mg/mL

或20 mg/mL)的調配物之穩定性的方法，其包含摻合(i)濃度為約20 mM之組胺酸；(ii)濃度為約600 mM之蔗糖；(iii)濃度為約0.05% (w/v)之聚山梨醇酯80；及(iv)濃度為約50 μM之DTPA；其中pH為約7.1。

【0300】 本發明亦提供一種改良包含本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 5或SEQ ID NO: 6之PEG-FGF-21 (例如濃度為10 mg/mL或20 mg/mL)的調配物之穩定性的方法，其包含摻合(i)濃度為20 mM之組胺酸；(ii)濃度為600 mM之蔗糖；(iii)濃度為0.05% (w/v)之聚山梨醇酯80；及(iv)濃度為50 μM之DTPA；其中pH為7.1。

【0301】 本發明提供一種改良包含本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 5或SEQ ID NO: 6之PEG-FGF-21 (例如濃度為10 mg/mL或20 mg/mL)的調配物之穩定性的方法，其包含摻合(i)濃度為約20 mM之組胺酸；及(ii)濃度為約600 mM之蔗糖；其中pH為約7.0。

【0302】 本發明提供一種改良包含本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 5或SEQ ID NO: 6之PEG-FGF-21 (例如濃度為10 mg/mL或20 mg/mL)的調配物之穩定性的方法，其包含摻合(i)濃度為20 mM之組胺酸；及(ii)濃度為600 mM之蔗糖；其中pH為7.0。

【0303】 本發明提供一種改良包含濃度為約10 mg/mL的本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 5或SEQ ID NO: 6之PEG-FGF-21的調配物之穩定性的方法，其包含摻合(i)濃度為約20 mM之組胺酸；(ii)濃度為約600 mM之蔗糖；(iii)濃度為約0.05% (w/v)之聚山梨醇酯80；及(iv)濃度為約50 uM之DTPA；其中pH為約7.1。

【0304】 本發明提供一種改良包含濃度為約20 mg/mL的本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 5或SEQ ID NO: 6之PEG-FGF-21

的調配物之穩定性的方法，其包含摻合(i)濃度為約20 mM之組胺酸；(ii)濃度為約600 mM之蔗糖；(iii)濃度為約0.05% (w/v)之聚山梨醇酯80；及(iv)濃度為約50 uM之DTPA；其中pH為約7.1。

【0305】 本發明提供一種改良包含濃度為約10 mg/mL的本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 5或SEQ ID NO: 6之PEG-FGF-21的調配物之穩定性的方法，其包含摻合(i)濃度為20 mM之組胺酸；(ii)濃度為600 mM之蔗糖；(iii)濃度為0.05% (w/v)之聚山梨醇酯80；及(iv)濃度為50 uM之DTPA；其中pH為7.1。

【0306】 本發明提供一種改良包含濃度為約20 mg/mL的本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 5或SEQ ID NO: 6之PEG-FGF-21的調配物之穩定性的方法，其包含摻合(i)濃度為20 mM之組胺酸；(ii)濃度為600 mM之蔗糖；(iii)濃度為0.05% (w/v)之聚山梨醇酯80；及(iv)濃度為50 uM之DTPA；其中pH為7.1。

【0307】 在一些實施例中，醫藥調配物中所包括的獨立賦形劑(例如DTPA、PS80、組胺酸、蔗糖或其組合)之濃度可測定/計算為在醫藥調配物製造過程中，添加至該醫藥調配物中的獨立賦形劑的每成品醫藥調配物之最終體積單位的量(例如重量、莫耳數等)。在其他實施例中，醫藥調配物中所包括的賦形劑(例如DTPA、PS80、組胺酸、蔗糖或其組合)之濃度係基於醫藥調配物中之獨立賦形劑之實際量。

【0308】 在一些態樣中，本文所揭示之製造方法進一步包含將本文所揭示之調配物，例如以下調配物轉移至容器，該調配物包含濃度為約10 mg/mL或約20 mg/mL之本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21；濃度為20 mM之組胺酸；濃度為600 mM

之蔗糖；濃度為0.05% (w/v)之聚山梨醇酯80；及濃度為50 uM之DTPA，其中pH為7.1。在一些態樣中，本文所揭示之製造方法進一步包含將本文所揭示之調配物，例如以下調配物轉移至容器，該調配物包含濃度為約10 mg/mL或約20 mg/mL之本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 5或SEQ ID NO: 6之PEG-FGF-21；濃度為20 mM之組胺酸；濃度為600 mM之蔗糖；濃度為0.05% (w/v)之聚山梨醇酯80；及濃度為50 uM之DTPA，其中pH為7.1。在一些態樣中，容器為小瓶。一些態樣中，容器為袋，例如蛤殼袋。在一些態樣中，例如蛤殼袋之袋的體積在6 L與12 L之間。在一些態樣中，容器為注射器。在一些態樣中，注射器為安全注射器。在一些態樣中，注射器為可預填充注射器。在一些態樣中，注射器為BD NEOPAK™可預填充注射器。在一些態樣中，容器為自注射裝置。在一些態樣中，將約1 mL調配物存放於容器(例如小瓶、注射器或自注射裝置)中，該調配物包含濃度為約10 mg/mL或約20 mg/mL的本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21。在一些態樣中，將約1 mL調配物存放於容器(例如小瓶、注射器或自注射裝置)中，該調配物包含濃度為約10 mg/mL或約20 mg/mL的本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 5或SEQ ID NO: 6之PEG-FGF-21。在一些態樣中，容器含有多個劑量，例如多個1 mL劑量。

III. 治療方法

【0309】 本發明亦提供治療或預防有需要之個體與纖維化及/或糖尿病相關之疾病或病狀的方法，其包含向該個體投與有效量之包含本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21的醫藥調配物。

【0310】在一些態樣中，疾病或病狀為糖尿病，例如第2型糖尿病。在一些態樣中，疾病或病狀為非酒精性脂肪變性肝炎(NASH)。

【0311】在一些態樣中，本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21可以每劑量(例如1 mL劑量或多個1 mL劑量)約1 mg與約40 mg之間的量用於本文所揭示之治療或預防方法中。在一些態樣中，對於該劑量，FGF-21結合物之量係基於藉由斜率光譜分析，例如配備有SoloVPE Fibrette (C Technologies公司；P/N OF0002-P50) (SoloVPE拋棄式UV塑膠容器(C Technologies公司；P/N OC0009-1))之Agilent Cary 60 UV-Vis分光光度計，在280 nm下使用0.87 (mL/(mg*cm))之消光係數進行之量測。在一些態樣中，本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21可以每劑量(例如1 mL劑量或多個1 mL劑量)約1 mg與約5 mg之間、或每劑量約5 mg與約10 mg之間、或每劑量約10 mg與約15 mg之間、或每劑量約15 mg與約20 mg之間、或每劑量約20 mg與約25 mg之間、或每劑量約25 mg與約30 mg之間、或每劑量約30 mg與約35 mg之間、或每劑量約35 mg與約40 mg之間的量用於本文所揭示之治療或預防方法中。在一些態樣中，本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21可以每劑量(例如1 mL劑量或多個1 mL劑量)高於40 mg的量用於本文所揭示之治療或預防方法中。在一些態樣中，劑量為均一劑量。

【0312】在一些態樣中，本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21可以每劑量約1 mg，約2 mg、約3 mg、約4 mg、約5 mg、約6 mg、約7 mg、約8 mg、約9 mg、約10 mg、約11 mg、約12 mg、約13 mg、約14 mg、約15 mg、約16 mg、約

17 mg、約18 mg、約19 mg、約20 mg、約21 mg、約22 mg、約23 mg、約24 mg、約25 mg、約26 mg、約27 mg、約28 mg、約29 mg、約30 mg、約31 mg、約32 mg、約33 mg、約34 mg、約35 mg、約36 mg、約37 mg、約38 mg、約39 mg或約40 mg的量用於本文所揭示之治療或預防方法中。在一個特定態樣中，本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21可以每劑量(例如1 mL劑量或多個1 mL劑量)約10 mg的量用於本文所揭示之治療或預防方法中。在一個特定態樣中，本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21可以每劑量(例如1 mL劑量或多個1 mL劑量)約20 mg的量用於本文所揭示之治療或預防方法中。在一些態樣中，劑量為均一劑量。

【0313】 在一些態樣中，例如使用安全注射器或自動注射器皮下投與醫藥調配物。在一些態樣中，每日或每週投與醫藥調配物一次。

【0314】 在一些態樣中，向個體投與有效量之包含本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21的醫藥調配物降低肝臟硬度、降低體脂百分比、降低體重、降低肝臟/體重比、降低肝臟脂質含量、降低肝纖維化面積、降低空腹血糖含量、降低空腹三酸甘油酯含量、降低LDL膽固醇含量、降低ApoB含量、降低ApoC含量、增加HDL膽固醇，或其任何組合。

【0315】 在一些態樣中，與未經治療之個體或投與該醫藥調配物之前的個體之水準相比，根據本文所揭示之治療方法，向個體投與包含本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21的醫藥調配物造成：(i)肝臟脂肪含量降低；(ii)肝損傷程度降低；

(iii)纖維化程度降低；(iv)纖維化生物標記血清Pro-C3 (N端第III型膠原蛋白原肽)含量降低；(v)丙胺酸轉胺酶(ALT)含量降低；(vi)天冬胺酸轉胺酶(AST)含量降低；(vii)血清脂聯素含量增加；(viii)血漿LDL含量降低；(ix)血漿HDL含量增加；(x)血漿三酸甘油酯含量降低；(xi)肝臟硬度降低；或(xii)其任何組合。

【0316】 本發明提供一種治療與纖維化相關之疾病之方法，其包含向有需要之個體投與有效量之包含本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21的醫藥調配物。

【0317】 在一些態樣中，與纖維化相關之疾病可影響器官或組織，諸如胰臟、肺臟、心臟、腎臟、肝臟、眼、神經系統、骨髓、淋巴結、心內膜及/或腹膜後腔。在一些態樣中，與纖維化相關之疾病可為肝纖維化或硬化前期。在一些態樣中，與纖維化相關之疾病可選自：非酒精性脂肪變性肝炎(NASH)、硬化、彌漫性實質性肺病、囊腫性纖維化、肺纖維化、進行性大塊性纖維化、特發性肺纖維化、注射性纖維化、腎纖維化、慢性腎病、糖尿病性腎病、局部區段性腎小球硬化、膜性腎病變、IgA腎病變、骨髓纖維化、心臟衰竭、急性心臟衰竭、慢性心臟衰竭、代謝性心臟衰竭、心臟纖維化、白內障性纖維化、白內障、眼部疤痕、胰臟纖維化、皮膚纖維化、腸纖維化、腸狹窄、心內膜心肌纖維化、心房纖維化、縱隔纖維化、克羅恩氏病、腹膜後纖維化、瘢痕瘤、腎源性全身纖維化、硬皮病、全身性硬化症、關節纖維化、佩洛尼氏症候群、杜普宜特朗氏攣縮、糖尿病神經病變、黏連性滑膜囊炎、酒精性肝病、脂肪肝、病毒性肝炎、膽道疾病、原發性血色素沈著症、藥物相關之硬化、隱源性硬化、威爾森氏病及α1-抗胰蛋白酶缺乏症、間質性肺病(ILD)、人類纖維性肺病、

肝纖維化、黃斑變性、視網膜病變、玻璃體視網膜病變、心肌纖維化、格雷弗氏眼病、藥物誘發之麥角中毒、心血管疾病、動脈粥樣硬化/再狹窄、肥厚性疤痕、原發性或特發性骨髓纖維化及發炎性腸病(包括(但不限於)膠原性結腸炎)。在一些態樣中，與纖維化相關之疾病係由肺病、肺癌、藥物療法、化學療法或放射療法中之一或多者引起。在一些態樣中，與纖維化相關之疾病係由衰老、心臟病發作、中風、心肌損傷或左心室功能障礙中之一或多者引起。在一些態樣中，與纖維化相關之疾病可選自腎纖維化、腎絲球腎炎、慢性腎病、慢性腎衰竭及與全身性狼瘡、癌症、身體障礙、毒素、代謝疾病、免疫疾病或糖尿病性腎病變相關之腎炎。在一些態樣中，與纖維化相關之疾病係由外傷、脊椎損傷、感染、手術、缺血性損傷、心臟病發作、燒傷、環境污染物暴露、肺炎、肺結核或急性呼吸窘迫症候群中之一或多者引起。在一些態樣中，與纖維化相關之疾病可選自肺纖維化、間質性肺病、人類纖維性肺病、特發性肺纖維化、肝纖維化、心臟纖維化、心肌纖維化、黃斑變性、視網膜病變、玻璃體視網膜病變、格雷弗氏眼病、藥物誘發之麥角中毒、心血管疾病、動脈粥樣硬化/再狹窄、瘢痕瘤及肥厚性疤痕、原發性或特發性骨髓纖維化、發炎性腸病、膠原結腸炎、眼部疤痕及白內障性纖維化。在一些態樣中，與纖維化相關之疾病可選自NASH、肝纖維化及硬化。在一些態樣中，與纖維化相關之疾病可為NASH。在一些態樣中，與纖維化相關之疾病可選自糖尿病性腎病、慢性腎病及腎纖維化。在一些態樣中，與纖維化相關之疾病可選自代謝性心臟衰竭及心臟纖維化。在一些態樣中，與纖維化相關之疾病可為肺纖維化。

【0318】 在一些態樣中，本發明提供一種降低有需要之個體之肝臟

脂肪分數的方法，其包含向該個體投與有效量之包含本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21的醫藥調配物，其中視情況地，該個體處於罹患NASH之風險下或已診斷患有NASH。

【0319】 在一些態樣中，本發明提供一種降低有需要之個體之肝臟硬度、降低體脂百分比、降低體重、降低肝臟/體重比、降低肝臟脂質含量、降低肝纖維化面積、降低空腹血糖含量、空腹三酸甘油酯、降低LDL膽固醇、降低ApoB、降低ApoC及/或增加HDL膽固醇的方法，其包含向該個體投與有效量之包含本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21的醫藥調配物，其中視情況地，該個體處於罹患NASH之風險下或已診斷患有NASH。

【0320】 在一些態樣中，本發明提供一種增加有需要之個體之脂聯素含量的方法，其包含向該個體投與有效量之包含本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21的醫藥調配物，其中視情況地，該個體處於罹患NASH風險下或已診斷患有NASH。

【0321】 在一些態樣中，本發明提供一種治療有需要之個體之與NASH相關之一或多個症狀的方法，其包含向該個體投與有效量之包含本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21的醫藥調配物。

【0322】 本文亦提供治療或預防有需要之個體之NASH的方法，其包含向該個體投與治療有效量之包含包括SEQ ID NO: 1的變異FGF-21多肽的本文所揭示之醫藥調配物，其中其非天然對-乙醯基-苯丙胺酸殘基係經由肟鍵連接於分子量為約28 kDa至約32 kDa之PEG部分。在一些態樣

中，非天然對-乙醯基-苯丙胺酸取代野生型FGF-21 (SEQ ID NO: 3)之麩醯胺酸109。在一些態樣中，PEG部分之分子量為約30 kDa。在一些態樣中，PEG部分具有在約600與約800之間的乙二醇單元。在一些態樣中，PEG部分為PEG_{681}。

【0323】 在一些特定態樣中，本發明提供治療或預防有需要之個體之NASH的方法，其包含向該個體投與治療有效量之包含SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之FGF-21結合物的本文所揭示之醫藥調配物。

【0324】 在一些態樣中，個體可能展現NASH CRN纖維化分期1-3，其視情況藉由肝臟活組織檢查測定。在一些態樣中，在治療之前，個體可能展現至少約60之脂肪肝指數。在一些態樣中，在治療之前，個體可能展現至少10%之肝臟脂肪分數百分比，其視情況藉由磁共振成像測定。

【0325】 在一些態樣中，本發明提供一種治療有需要之個體之第1型糖尿病或第2型糖尿病的方法，其包含向該個體投與治療有效量之包含本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21的醫藥調配物。

【0326】 在一些態樣中，本發明提供一種治療有需要之個體之肥胖症的方法，其包含向該個體投與治療有效量之包含本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21的醫藥調配物。

【0327】 在一些態樣中，本發明提供一種調節有需要之個體之葡萄糖及脂質內穩定、葡萄糖攝入、GLUT 1表現及/或葡萄糖、三酸甘油酯、胰島素或升糖素之血清濃度中之至少一者的方法，其包含向該個體投與有效量之包含本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID

NO: 4之PEG-FGF-21的醫藥調配物。

【0328】 在一些態樣中，本發明提供一種在有需要之個體中增加胰島素敏感性、增加脂聯素含量、降低血糖含量、降低升糖素含量、降低三酸甘油酯含量、降低果糖胺含量、降低低密度膽固醇含量或降低C反應蛋白含量的方法，其包含向該個體投與有效量之包含本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21的醫藥調配物。

【0329】 在一些態樣中，本發明提供一種治療有需要之個體之選自以下之病狀或病症的方法：肥胖症、糖尿病、胰臟炎、胰島素抗性、高胰島素血症、葡萄糖不耐、高血糖症、代謝症候群、葡萄糖耐受性異常、葡萄糖清除不充分、高血糖及普拉德-威利症候群(Prader-Willi syndrome)，其包含向該個體投與有效量之包含本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21的醫藥調配物。

【0330】 在一些態樣中，本發明提供一種治療選自以下之胰島素相關病狀或病症的方法：A型胰島素抗性、C型胰島素抗性(亦稱為HAIR-AN症候群)、羅伯森-門登霍爾症候群(Rabson-Mendenhall Syndrome)、多諾霍症候群(Donohue's Syndrome)或矮妖症(Leprechaunism)、雄激素過多症、多毛症或黑棘皮病，其包含向該個體投與有效量之包含本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21的醫藥調配物。

【0331】 在一些態樣中，包含本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21的醫藥調配物可經由注射投與。在一些態樣中，包含本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID

NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21的醫藥調配物可經由皮下注射、靜脈內注射、腹膜內注射或肌肉內注射，例如使用注射器(諸如安全注射器)或自動注射器投與。

【0332】在一些態樣中，包含本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21的醫藥調配物可以約每天一次或低於約每天一次之頻率投與。在一些態樣中，包含本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21的醫藥調配物可以約每週兩次或低於約每週兩次之頻率投與。在一些態樣中，包含本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21的醫藥調配物可以約每週一次或低於約每週兩次之頻率投與。在一些態樣中，包含本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21的醫藥調配物可以約每兩週一次或低於約每週兩次之頻率投與。

【0333】在一些態樣中，包含本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21的醫藥調配物可以約每三週一次或低於約每週兩次之頻率投與。

【0334】在一些態樣中，包含本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21的醫藥調配物可以約每月一次或低於約每月一次之頻率投與。

【0335】在一些態樣中，包含本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21的醫藥調配物可以每四週一次之頻率投與。

【0336】在一些態樣中，包含本文所揭示之FGF-21結合物，例如

SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21的醫藥調配物可以約每天一次之頻率投與。

【0337】在一些態樣中，包含本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21的醫藥調配物可以約每週一次之頻率投與。

【0338】在一些態樣中，包含本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21的醫藥調配物可以選自每劑量約1 mg、約2 mg、約5 mg、約10 mg、約15 mg、約20 mg、約25 mg、約30 mg、約35 mg、約40 mg、約45 mg、約50 mg、約55 mg、約60 mg、約65 mg、約70 mg、約75 mg、約80 mg、約85 mg、約90 mg、約95 mg及約100 mg之本文所揭示之FGF-21結合物的量投與。在一個特定態樣中，包含本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21的醫藥調配物可以約10 mg/劑量(例如1 mL劑量或多個1 mL劑量)之量投與。在一個特定態樣中，包含本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21的醫藥調配物可以約20 mg/劑量(例如1 mL劑量或多個1 mL劑量)之量投與。在一些態樣中，劑量為均一劑量。

【0339】例如，包含本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21的醫藥調配物在本文中可以每公斤接受個體體重約0.1與100 mg之間的濃度向個體投與。在一些態樣中，包含本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21的醫藥調配物可以每公斤接受個體體重約0.5-5 mg之本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-

21的濃度向個體投與。在另一態樣中，包含本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21的醫藥調配物可以每天一次與每兩週一次之間的頻率，諸如約每週一次或兩次、每兩天一次、每三天一次、每四天一次、每五天一次或每六天一次向接受個體投與。

【0340】 本發明之醫藥調配物，亦即包含本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21的醫藥調配物可藉由適用於蛋白質或肽之任何習知途徑投與，包括(但不限於)非經腸，例如包括(但不限於)皮下注射或靜脈內注射或任何其他注射或輸注形式的注射。在一些態樣中，醫藥調配物可使用注射器，例如安全注射器投與。在一些態樣中，醫藥調配物可使用自動注射器投與。

IV. 製品及套組

【0341】 本發明亦提供一種製品或套組，其包含(i)包含本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21的FGF-21醫藥調配物，及(ii)使用說明書。在一些態樣中，製品或套組可包含容器。適合容器包括例如瓶子、小瓶、注射器及試管。在一些態樣中，容器可由諸如玻璃、塑膠或金屬之多種材料形成。在一些態樣中，容器裝有醫藥調配物，例如液體調配物，其包含本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21。在一些態樣中，容器裝有醫藥調配物，例如液體調配物，其包含本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID NO: 5或SEQ ID NO: 6之PEG-FGF-21。

【0342】 容器上或與容器結合之標籤可指示用於復原及/或使用之說明。例如，標籤可指示包含本文所揭示之FGF-21結合物，例如SEQ ID

NO: 2或SEQ ID NO: 4之PEG-FGF-21的醫藥調配物待稀釋至如上文所述之蛋白質濃度。標籤可進一步指示調配物為適用於或欲用於皮下投藥之皮下調配物。

【0343】 在一些態樣中，裝有調配物之容器可為多次使用之小瓶，其使得可重複投與例如皮下調配物(例如2至6次投藥或更多次)。替代地，容器可為含有例如皮下調配物之預填充注射器。

【0344】 製品或套組可進一步包含包括例如溶劑之第二容器。製品可進一步包括自商業及使用者觀點來看所需之其他材料，包括其他緩衝劑、稀釋劑、過濾器、針、注射器及具有使用說明書之藥品說明書。在一些態樣中，套組或製品包含注射器(例如安全注射器)。在一些態樣中，套組或製品包含自動注射器。

***

【0345】 應瞭解，[實施方式]章節而非[發明內容]及[發明摘要]章節意欲用以解釋申請專利範圍。[發明內容]及[發明摘要]章節可闡述如由本發明人所預期的本發明之一或多個而非所有例示性態樣，且因此，不意欲以任何方式來限制本發明及所附申請專利範圍。

【0346】 上文已憑藉說明特定功能及該等功能之關係之實施之功能建置區塊來描述本發明。為了便於描述，本文已任意地界定此等功能建置組塊之邊界。只要適當地執行指定功能及其關係，便可界定替代邊界。

【0347】 對特定態樣之前述描述將因此充分展現本發明之一般性：在不脫離本發明之一般概念的情況下，其他人可藉由應用熟習此項技術者所瞭解之知識針對各種應用而容易地修改及/或調適該等特定態樣，而無需進行過度實驗。因此，基於本文所呈現之教示及指導，該等調適及修改

意欲在所揭示態樣之等效物的意義及範圍內。應理解，本文之措辭或術語係出於描述而非限制之目的，使得本說明書之術語或措辭待由熟習此項技術者按照該等教示及該指導進行解譯。

【0348】 本發明之範圍及範疇不應由上述例示性態樣中任一者限制，而應僅根據以下申請專利範圍及其等效者進行界定。

【0349】 可在本申請案通篇中引用的所有引用之參考文獻(包括文獻參考、專利、專利申請案及網站)之內容出於任何目的以全文引用之方式明確地併入本文中，就如同其中所引用之參考文獻一樣。

實例

實例1

PEG-FGF-21調配物研發

【0350】 在初步研究中，PEG-FGF-21在20 mM Tris、250 mM蔗糖、pH 8.3中以7.5 mg/mL調配。在此調配物中觀測到的高脫醯胺速率使得有必要將藥品在-20℃下冷凍儲存。因此，還進行了額外的工作，以研發一種即用型(RTU)調配物，其允許在2-8℃下儲存該藥品。

【0351】 PEG-FGF-21 (SEQ ID NO: 2)係藉由以位點特異性方式將如圖6中所描繪的包含遠端甲氧基之線性30-kDa PEG部分附接於變異FGF-21 (SEQ ID NO: 1)，得到圖6中所示的分子結合物結構而製得，其中對-乙醯基-苯丙胺酸具有L構形。為了達成位點特異性聚乙二醇化，藉由此項技術中已知之方法將活化PEG與FGF-21分子之位置109處的非天然胺基酸對-乙醯基-L-苯丙胺酸(pAF)反應，形成化學上穩定的肟連接之PEG-蛋白結合物。活化PEG可購自多個來源，包括例如購自Nippon Oil & Fats有限公司, Tokyo, Japan。

【0352】 較低的調配物pH顯示增加分子之聚集速率，而較高的調配物pH顯示增加脫醯胺速率。在靶蛋白濃度為10 mg/mL時，發現pH 7.0為聚集速率與脫醯胺速率之間的最佳平衡。增加蔗糖濃度顯示進一步穩定分子以防止聚集。

【0353】 進一步研究選擇的調配物是於20 mM L-組胺酸、600 mM蔗糖、pH 7.0中的10 mg/mL PEG-FGF-21。考慮到每位患者每週20 mg的預期週劑量，研發了一種更高濃度的於預填充注射器中之藥品。為了能夠實現更高濃度之藥品，有必要進一步最佳化調配物。

【0354】 在3 mL I型玻璃瓶中進行了較高濃度調配物之初步研發。將15 mg/mL和22 mg/mL PEG-FGF-21攪拌於20 mM L-組胺酸、600 mM蔗糖、pH 7.0中後，觀測到氣泡夾帶，且溶液變得愈來愈混濁(圖5，左圖)。為了試圖緩解該問題，使用了聚山梨醇酯80。聚山梨醇酯80能夠防止氣泡夾帶(圖5，右圖)。因此，將聚山梨醇酯80以0.05%(w/v)之濃度添加至高濃度PEG-FGF-21調配物中。

【0355】 氧化為PEG-FGF-21之重要品質屬性，且C端附近的甲硫胺酸-169之氧化消除受體結合，且因此消除分子活性。金屬催化氧化為蛋白質可氧化之機制之一。歸因於細胞培養所致之殘留、與不鏽鋼容器接觸、賦形劑中之雜質、可預填充注射器之形成過程等，蛋白質調配物中可存在痕量之金屬濃度。

【0356】 為了測試PEG-FGF-21是否對金屬催化氧化敏感，將添加及不添加金屬混合物(250 ppm Fe、10 ppm Cu、15 ppm Cr、15 ppm Ni、10 ppm Mo)的樣品在存在或不存在0.05 mM噴替酸(二伸乙三胺五乙酸(DTPA))下分別在25℃下培育一個月且在40℃下培育兩週，且藉由胰蛋

白酶肽映射測定甲硫胺酸1及甲硫胺酸169之氧化程度(圖2A及圖2B)。

【0357】 在不存在噴替酸(DTPA)下，即使在沒有添加金屬之樣品中，亦觀測到兩種甲硫胺酸殘基之顯著氧化，而在外加金屬混合物之樣品中，氧化程度甚至更高。在具有50 μM噴替酸之樣品中，未觀測到任何一種甲硫胺酸之氧化程度增加。此表明PEG-FGF-21對金屬催化氧化敏感，且調配物中已經存在痕量級之金屬。噴替酸有效地螯合調配物中所存在之金屬以及外加於調配物中之額外金屬，且防止甲硫胺酸1及169發生金屬催化氧化。因此，向PEG-FGF-21之高濃度調配物中添加50 μM噴替酸。

【0358】 為了最佳化較高濃度調配物之pH，吾人回顧了在pH 6.3與8.5之間收集的PEG-FGF-21之聚集資料，其顯示聚集速率在低於pH 6.8下迅速增加(圖3A及圖3B)。因此，吾人將高濃度調配物之目標pH自pH 7.0提高至pH 7.1。

【0359】 為了對新的高濃度調配物與先前調配物進行比較，將於20 mM L-組胺酸、600 mM蔗糖、0.05 mM噴替酸、0.05% (w/v)聚山梨醇酯80、pH 7.0 (pH最佳化前)中之20 mg/mL的PEG-FGF-21置於穩定狀態，且與於20 mM L-組胺酸、600 mM蔗糖、pH 7.0中之22.5 mg/mL的PEG-FGF-21進行比較。

【0360】 如圖4A及圖4B、圖1A及圖1B中所示，向PEG-FGF-21調配物中添加聚山梨醇酯80及噴替酸在所有溫度下均使得聚集速率降低，且在40℃下使得脫醯胺較少。

測試方法

【0361】 *聚集*聚集係在市售系統(例如具有PDA偵測器之Agilent Technologies 1100 Series HPLC系統或具有PDA偵測器之Waters Alliance

e2695 Series HPLC)上藉由尺寸排阻高效液相層析測試，該系統裝配有市售分析管柱(Tosoh TSK gel G3000SWXL，7.8 × 300 mm，P/N：08541)。使用流速為0.8毫升/分鐘的95%磷酸鹽緩衝鹽水(PBS)與5%乙醇之移動相來分離高分子量物種與蛋白質單體。將樣品用PBS稀釋至蛋白質濃度為0.5 mg/mL，且各實驗注入0.01 mg (0.02 mL)樣品。用儀器軟體將高分子量峰之面積除以所有觀測到的峰之總面積，測定出聚集體量。

【0362】 *脫醯胺*：脫醯胺係在市售系統(例如具有PDA偵測器之Agilent Technologies 1100 Series HPLC系統或具有PDA偵測器之Waters Alliance e2695 Series HPLC)上藉由陰離子交換高效液相層析測試，該系統裝配有市售分析管柱(Agilent Bio WAX，無孔，5 μm管柱，4.6 × 250 mm，P/N：5190-2487)。移動相A係由20 mM Tris，pH 8.2組成，且移動相B係由20 mM Tris、500 mM氯化鈉、pH 8.2組成。使用在20分鐘內以1.0毫升/分鐘之流速自2% B至67% B之線性梯度來分離帶電蛋白質變異體。將樣品用移動相A稀釋至蛋白質濃度為1 mg/mL，且各實驗注入0.075 mg (0.075 mL)樣品。用儀器軟體將酸性變異體峰之面積除以所有觀測到的峰之總面積，測定出脫醯胺量。

【0363】 *氧化*：藉由胰蛋白酶肽映射測試氧化。用胰蛋白酶消化蛋白質樣品後，所得肽係在市售系統(例如Waters Acquity UPLC)上藉由逆相超高效液相層析分離，該系統裝配有市售分析管柱(Waters Acquity C18 BEH肽RP UPLC管柱，2.1 × 150 mm，1.7-μm粒度, 130-Å孔徑，P/N：186003556)。移動相A係由於水中之0.2%三氟乙酸(TFA)組成，且移動相B係由於乙腈中之0.2% TFA組成。使用在27分鐘內在60℃之溫度下且以0.3毫升/分鐘之流速自10% B至40% B之複合梯度來分離胰蛋白酶肽。使

用儀器軟體將氧化肽峰之面積除以氧化及相應的非氧化峰之總面積，測定出氧化量。

【0364】 微粒形成及氣泡形成：目視觀測。

【0365】 *PEG-FGF-21之濃度*：本文所揭示之醫藥調配物中的PEG-FGF-21之濃度係藉由斜率光譜分析，例如配備有SoloVPE Fibrette (C Technologies公司；P/N OF0002-P50) (SoloVPE拋棄式UV塑膠容器(C Technologies公司；P/N OC0009-1))之Agilent Cary 60 UV-Vis分光光度計，在280 nm下使用0.87 (mL/(mg*cm))之消光係數來量測。在整個本發明中，PEG-FGF-21之劑量係基於以此種方式量測之醫藥調配物。斜率光譜分析亦可通常適用於任何FGF-21結合物，而不僅僅是PEG-FGF-21。

【0366】 *pH之測定*：根據標準方法(USP<791>)測定pH。

【0367】 *賦形劑之濃度*：本文所揭示之醫藥調配物中的獨立賦形劑(例如DTPA、PS80、組胺酸、蔗糖)之濃度係測定/計算為在醫藥調配物製造過程中，添加至該醫藥調配物中的獨立賦形劑的每成品醫藥調配物之最終體積單位的量(重量、莫耳數等)。替代地，賦形劑之濃度可基於醫藥調配物中之獨立賦形劑之實際量。

【序列表】

<110> 美商必治妥美雅史谷比公司(BRISTOL-MYERS SQUIBB COMPANY)

<120> FGF-21結合物調配物

<130> 3338.2080002/ELE/C-K

<150> US 62/958,580
<151> 2020-01-08

<160> 6

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
<211> 182
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 經Q109修飾之FGF-21

<220>
<221> misc_feature
<222> (109)..(109)
<223> 經對乙醯基-L-苯丙胺酸置換之野生型Q109

<400> 1

Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
1 5 10 15

Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
20 25 30

His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
35 40 45

Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile
50 55 60

Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp

65 70 75 80

Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
85 90 95

Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Xaa Ser Glu Ala
100 105 110

His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp
115 120 125

Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro
130 135 140

Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp
145 150 155 160

Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg
165 170 175

Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
180

<210> 2
<211> 182
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 聚乙二醇化Q109pAF FGF-21

<220>
<221> misc_feature
<222> (109)..(109)
<223> 經由肟鍵連接之聚(乙二醇)

<400> 2

Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
1 5 10 15

Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
20 25 30

His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
35 40 45

Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile
50 55 60

Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
65 70 75 80

Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
85 90 95

Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Xaa Ser Glu Ala
100 105 110

His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp
115 120 125

Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro
130 135 140

Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp
145 150 155 160

Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg
165 170 175

Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
180

<210> 3
<211> 182
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> FGF-21野生型序列

<400> 3

Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
1 5 10 15

Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
20 25 30

His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
35 40 45

Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile
50 55 60

Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
65 70 75 80

Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
85 90 95

Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
100 105 110

His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp
115 120 125

Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro
130 135 140

Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp
145 150 155 160

Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg
165 170 175

Ser Pro Ser Tyr Ala Ser

180

<210> 4
<211> 182
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 具有含681個單元之PEG (PEG681)之聚乙二醇化Q109pAF FGF-21

<220>
<221> misc_feature
<222> (109)..(109)
<223> 其中ON-爲肟鍵

<400> 4

Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
1 5 10 15

Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
20 25 30

His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
35 40 45

Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile
50 55 60

Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
65 70 75 80

Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
85 90 95

Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Xaa Ser Glu Ala
100 105 110

His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp
115 120 125

Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro
130 135 140

Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp
145 150 155 160

Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg
165 170 175

Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
180

<210> 5
<211> 181
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 無Met

Q109pAF FGF-21

PEGylated

<220>
<221> misc_feature
<222> (108)..(108)
<223> 其中Xaa連接於28-32 kDa PEG

<400> 5

His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val
1 5 10 15

Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His
20 25 30

Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser
35 40 45

Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln

50 55 60

Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly
65 70 75 80

Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg
85 90 95

Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Xaa Ser Glu Ala His
100 105 110

Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp Pro
115 120 125

Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro
130 135 140

Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val
145 150 155 160

Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg Ser
165 170 175

Pro Ser Tyr Ala Ser
180

<210> 6
<211> 181
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 無Met 聚乙二醇化Q109pAF FGF-21 PEG=PEG681

<220>
<221> Misc_feature
<222> (108)..(108)
<223> 其中Xaa係經由肟鍵連接於PEG681
(包含681個乙二醇單元之線性PEG)，
該肟鍵例如由pAF之乙醯基與30 kDa甲基PEG681胺氧基
分子之胺氧基之間的反應形成

<400> 6

His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val
1 5 10 15

Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His
20 25 30

Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser
35 40 45

Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln
50 55 60

Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly
65 70 75 80

Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg
85 90 95

Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Xaa Ser Glu Ala His
100 105 110

Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp Pro
115 120 125

Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro
130 135 140

Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val
145 150 155 160

Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg Ser
165 170 175

Pro Ser Tyr Ala Ser
180

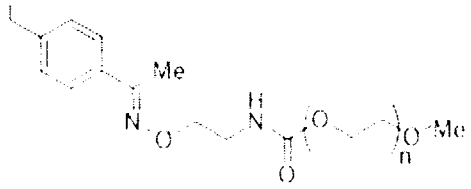
202140074

【發明申請專利範圍】

【請求項1】

一種醫藥調配物，其包含：(i)纖維母細胞生長因子21 (FGF-21)多肽結合於聚乙二醇(PEG)部分(「FGF-21結合物」)及(ii)胺基聚羧酸陽離子螯合劑，其中與不含該胺基聚羧酸陽離子螯合劑之參考調配物相比，該調配物具有經改良之穩定性，其中該FGF-21結合物包含式I：

FGF-21多肽



(式I)，且其中n為任何整數。

【請求項2】

如請求項1之醫藥調配物，其中該PEG部分結合於該FGF-21多肽中之非天然胺基酸。

【請求項3】

如請求項1或2之醫藥調配物，其中該FGF-21多肽中之該非天然胺基酸為苯丙胺酸衍生物。

【請求項4】

如請求項3之醫藥調配物，其中該苯丙胺酸衍生物為對-乙醯基-L-苯丙胺酸。

【請求項5】

如請求項1至4中任一項之醫藥調配物，其中該FGF-21多肽包含與胺基酸序列SEQ ID NO: 3具有至少約80%、至少約85%、至少約90%、至少

約95%、至少約96%、至少約97%、至少約98%或至少約99%胺基酸序列一致性的胺基酸序列，其中該多肽具有FGF-21活性。

【請求項6】

如請求項2至5中任一項之醫藥調配物，其中該非天然胺基酸係在對應於SEQ ID NO: 3之胺基酸殘基109。

【請求項7】

如請求項1至6中任一項之醫藥調配物，其中該FGF-21多肽包含如SEQ ID NO: 1中所示之序列。

【請求項8】

如請求項1至7中任一項之醫藥調配物，其中該FGF-21結合物對應於SEQ ID NO: 2之化合物。

【請求項9】

如請求項1至8中任一項之醫藥調配物，其中該n為約500至約900個乙二醇單元、約600至約800個乙二醇單元、約650至約750個乙二醇單元，或約670至約690。

【請求項10】

如請求項1至9中任一項之醫藥調配物，其中該n在約670與約690之間，例如為約681。

【請求項11】

如請求項1至10中任一項之醫藥調配物，其中該FGF-21結合物對應於SEQ ID NO: 4之化合物。

【請求項12】

如請求項1至11中任一項之醫藥調配物，其中該FGF-21結合物呈L構

形。

【請求項13】

如請求項1至12中任一項之醫藥調配物，其中該FGF-21結合物以約1 mg/ml與約40 mg/ml之間的濃度存在。

【請求項14】

如請求項13之醫藥調配物，其中該FGF-21結合物以約10 mg/ml或約20 mg/ml之濃度存在。

【請求項15】

如請求項14之醫藥調配物，其中該FGF-21結合物以約20 mg/ml之濃度存在。

【請求項16】

如請求項1至15中任一項之醫藥調配物，其中該FGF-21結合物之存在量在每單位劑量約1 mg與約40 mg之間。

【請求項17】

如請求項16之醫藥調配物，其中該FGF-21結合物之存在量為每單位劑量約1 mg、每單位劑量約5 mg、每單位劑量約10 mg、每單位劑量約20 mg或每單位劑量約40 mg。

【請求項18】

如請求項16之醫藥調配物，其中該FGF-21結合物之存在量為每單位劑量約10 mg或約20 mg。

【請求項19】

如請求項1至18中任一項之醫藥調配物，其展現以下中之一或多者：

(a)　當儲存於40℃約一個月時，相對於該參考調配物，多肽脫醯胺

速率較低；

(b)　當儲存於40℃約一個月時，相對於該參考調配物，高分子量(HMW)多肽聚集速率較低；或

(c)　(a)及(b)兩者。

【請求項20】

如請求項1至19中任一項之醫藥調配物，其中該胺基聚羧酸陽離子螯合劑防止或減少一或多種甲硫胺酸氧化。

【請求項21】

如請求項20之醫藥調配物，其中該等甲硫胺酸對應於該FGF-21多肽之Met1及/或Met169。

【請求項22】

如請求項20或21之醫藥調配物，其中甲硫胺酸氧化在25℃及/或40℃防止或減少。

【請求項23】

如請求項1至22中任一項之醫藥調配物，其中該胺基聚羧酸陽離子螯合劑為二伸乙三胺五乙酸(DTPA)。

【請求項24】

如請求項1至23中任一項之醫藥調配物，其中該DTPA陽離子螯合劑之存在量在約10 μM與約100 μM DTPA之間、在約20 μM與約90 μM DTPA之間、在約30 μM與約80 μM DTPA之間、在約25 μM與約75 μM DTPA之間、或在約40 μM與約60 μM DTPA之間、或在約30 μM與約70 μM DTPA之間、或在約40 μM與約70 μM DTPA之間。

【請求項25】

如請求項23或24之醫藥調配物，其中該DTPA陽離子螯合劑之存在量為約40 μM、約45 μM、約50 μM、約55 μM或約60 μM DTPA。

【請求項26】

如請求項1至25中任一項之醫藥調配物，其中pH高於6.5、高於6.6、高於6.7、高於6.8、高於6.9、高於7.0、高於7.1、高於7.2、高於7.3、高於7.4或高於7.5。

【請求項27】

如請求項26之醫藥調配物，其中該pH在約6.7與約7.5之間、在約6.8與約7.5之間、在約6.9與約7.4之間、在約7.0與約7.3之間、在約7.1與7.2之間、在約7.1與約7.3之間、在約7.1與約7.4之間，或在約7.1與約7.5之間。

【請求項28】

如請求項27之醫藥調配物，其中該pH為約6.7、約6.8、約6.9、約7.0、約7.1、約7.2、約7.3、約7.4或約7.5。

【請求項29】

如請求項26至28中任一項之醫藥調配物，其中該醫藥調配物相較於pH 6.5之參考調配物為更穩定的。

【請求項30】

如請求項1至29中任一項之醫藥調配物，其進一步包含界面活性劑。

【請求項31】

如請求項30之醫藥調配物，其中該界面活性劑為非離子型界面活性劑。

【請求項32】

如請求項31之醫藥調配物，其中該非陰離子型界面活性劑為聚山梨醇酯。

【請求項33】

如請求項32之醫藥調配物，其中該聚山梨醇酯為聚氧乙烯(20)脫水山梨糖醇單油酸酯(聚山梨醇酯80)。

【請求項34】

如請求項33之醫藥調配物，其中該聚山梨醇酯80界面活性劑之存在量為約0.01% (w/v)至約0.1% (w/v)、約0.02% (w/v)至約0.09% (w/v)、約0.03% (w/v)至約0.08% (w/v)、約0.04% (w/v)至約0.07% (w/v)，或約0.05% (w/v)至約0.06% (w/v)。

【請求項35】

如請求項33或34之醫藥調配物，其中該聚山梨醇酯80界面活性劑之存在量為至少約0.01% (w/v)、至少約0.02% (w/v)、至少約0.03% (w/v)、至少約0.04% (w/v)、至少約0.05% (w/v)、至少約0.06% (w/v)、至少約0.07% (w/v)、至少約0.08% (w/v)、至少約0.09% (w/v)或至少約0.1% (w/v)。

【請求項36】

如請求項30至35中任一項之醫藥調配物，其中當在震盪器上攪拌時，該界面活性劑減少微粒及/或氣泡形成。

【請求項37】

如請求項1至36中任一項之醫藥調配物，其進一步包含胺基酸緩衝劑。

【請求項38】

如請求項37之醫藥調配物，其中該胺基酸緩衝劑為組胺酸。

【請求項39】

如請求項38之醫藥調配物，其中該組胺酸緩衝劑之存在量為約10 mM至約100 mM組胺酸、約20 mM至約90 mM組胺酸、約30 mM至約80 mM組胺酸、約40 mM至約70 mM組胺酸、約10 mM至約30 mM組胺酸、約15 mM至約25 mM組胺酸、約17.5 mM至約22.5 mM組胺酸，或約40 mM至約60 mM組胺酸。

【請求項40】

如請求項38或39之醫藥調配物，其中該組胺酸緩衝劑之存在量為約10 mM組胺酸、約15 mM組胺酸、約20 mM組胺酸、約25 mM組胺酸、約30 mM組胺酸、約35 mM組胺酸、約40 mM組胺酸、約45 mM組胺酸或約50 mM組胺酸。

【請求項41】

如請求項1至40中任一項之醫藥調配物，其進一步包含滲透調節劑。

【請求項42】

如請求項41之醫藥調配物，其中該滲透調節劑包含糖。

【請求項43】

如請求項42之醫藥調配物，其中該糖為蔗糖。

【請求項44】

如請求項43之醫藥調配物，其中該蔗糖滲透調節劑之存在量為約100 mM至約1 M蔗糖、約200 mM至約900 mM、約300 mM至約800 mM、約400 mM至約700 mM，或約500 mM至約600 mM。

【請求項45】

如請求項43或44之醫藥調配物，其中該蔗糖滲透調節劑之存在量為約100 mM蔗糖、約200 mM蔗糖、約300 mM蔗糖、約400 mM蔗糖、約500 mM蔗糖、約600 mM蔗糖、約700 mM蔗糖、約800 mM蔗糖、約900 mM蔗糖或約1 M蔗糖。

【請求項46】

如請求項1至45中任一項之醫藥調配物，其中該調配物係調配用於皮下投與。

【請求項47】

如請求項46之醫藥調配物，其中該調配物係調配用於使用安全注射器皮下投與。

【請求項48】

如請求項1至47中任一項之醫藥調配物，其中該調配物係調配用於每日或每週投與一次。

【請求項49】

如請求項1至48中任一項之醫藥調配物，其中該調配物為水性調配物。

【請求項50】

一種醫藥調配物，其包含：

(i) FGF-21結合物；

(ii)濃度在約10 mM與約50 mM之間的組胺酸；

(iii)濃度在約100 mM與約1 M之間的蔗糖；

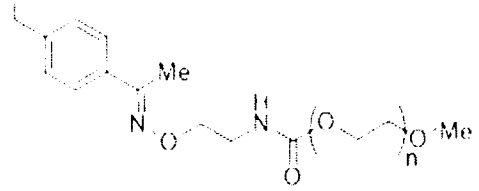
(iv)濃度在約0.01% (w/v)與約0.1% (w/v)之間的聚山梨醇酯80；及，

(v)濃度在約10 μM與約100 μM之間的DTPA；

其中該調配物之pH在約6.7與約7.5之間，

其中該FGF-21結合物包含式I：

FGF-21多肽



(式I)，

其中n在約670與約690之間，例如為約681，且其中該FGF-21多肽包含SEQ ID NO: 1。

【請求項51】

一種醫藥調配物，其包含：

(i) FGF-21結合物；

(ii)濃度為約20 mM之組胺酸；

(iii)濃度為約600 mM之蔗糖；

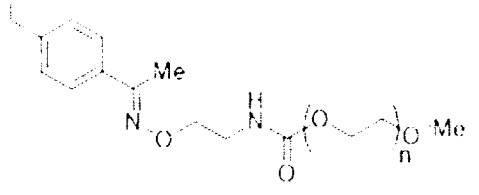
(iv)濃度為約0.05% (w/v)之聚山梨醇酯80；及

(v) 濃度為約50 μM之DTPA；

其中pH為約7.1，

其中該FGF-21結合物包含式I：

FGF-21多肽



(式I)，

其中n在約670與約690之間，例如為約681，且其中該FGF-21多肽包含SEQ ID NO: 1。

【請求項52】

一種醫藥調配物，其包含：

(i) FGF-21結合物；

(ii)濃度為20 mM之組胺酸；

(iii)濃度為600 mM之蔗糖；

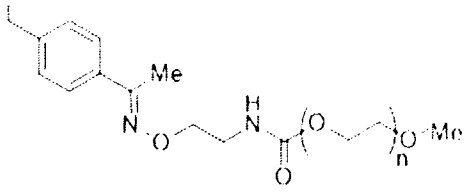
(iv)濃度為0.05% (w/v)之聚山梨醇酯80；及

(v)濃度為50 μM之DTPA；

其中pH為7.1，

其中該FGF-21結合物包含式I：

FGF-21多肽



(式I)，

其中n在約670與約690之間，例如為約681，且其中該FGF-21多肽包含SEQ ID NO: 1。

【請求項53】

一種醫藥調配物，其包含：

(i) FGF-21結合物；

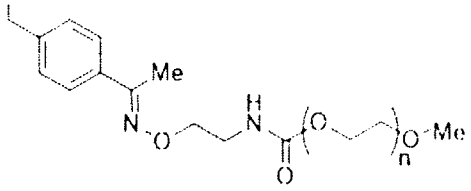
(ii)濃度為約20 mM之組胺酸；及

(iii)濃度為約600 mM之蔗糖；

其中pH為約7.0，

其中該FGF-21結合物包含式I：

FGF-21多肽



(式I)，

其中n在約670與約690之間，例如為約681，且其中該FGF-21多肽包含SEQ ID NO: 1。

【請求項54】

一種醫藥調配物，其包含：

(i) FGF-21結合物；

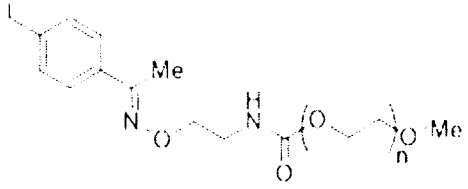
(ii)濃度為20 mM之組胺酸；及

(iii)濃度為600 mM之蔗糖；

其中pH為7.0，

其中該FGF-21結合物包含式I：

FGF-21多肽



(式I)，

其中n在約670與約690之間，例如為約681，且其中該FGF-21多肽包含SEQ ID NO: 1。

【請求項55】

一種醫藥調配物，其包含：

(i)濃度為約10 mg/mL之FGF-21結合物；

(ii)濃度為約20 mM之組胺酸；

(iii)濃度為約600 mM之蔗糖；

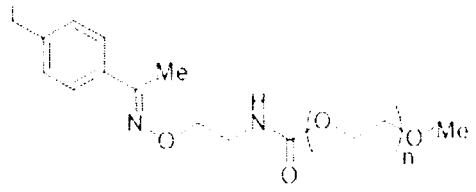
(iv)濃度為約0.05% (w/v)之聚山梨醇酯80；及

(v)濃度為約50 uM之DTPA；

其中pH為約7.1，

其中該FGF-21結合物包含式I：

FGF-21多肽



(式I)，

其中n在約670與約690之間，例如為約681，且其中該FGF-21多肽包含SEQ ID NO: 1。

【請求項56】

一種醫藥調配物，其包含：

(i)濃度為約20 mg/mL之FGF-21結合物；

(ii)濃度為約20 mM之組胺酸；

(iii)濃度為約600 mM之蔗糖；

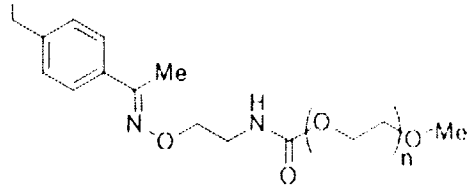
(iv)濃度為約0.05% (w/v)之聚山梨醇酯80；及

(v)濃度為約50 uM之DTPA；

其中pH為約7.1，

其中該FGF-21結合物包含式I：

FGF-21多肽



(式I)，

其中n在約670與約690之間，例如為約681，且其中該FGF-21多肽包含SEQ ID NO: 1。

【請求項57】

一種醫藥調配物，其包含：

(i)濃度為10 mg/mL之FGF-21結合物；

(ii)濃度為20 mM之組胺酸；

(iii)濃度為600 mM之蔗糖；

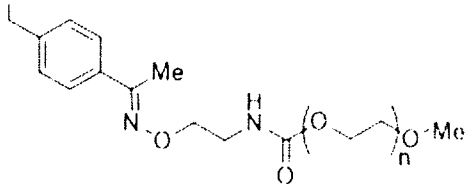
(iv)濃度為0.05% (w/v)之聚山梨醇酯80；及

(v)濃度為50 uM之DTPA；

其中pH為7.0，

其中該FGF-21結合物包含式I：

FGF-21多肽



(式I)，

其中n在約670與約690之間，例如為約681，且其中該FGF-21多肽包含SEQ ID NO: 1。

【請求項58】

一種醫藥調配物，其包含：

(i)濃度為20 mg/mL之SEQ ID NO: 2或4之PEG-FGF21；

(ii)濃度為20 mM之組胺酸；

(iii)濃度為600 mM之蔗糖；

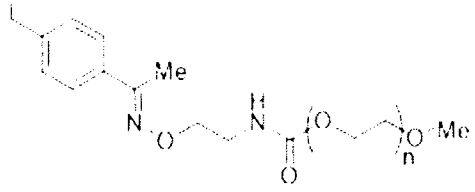
(iv)濃度為0.05% (w/v)之聚山梨醇酯80；及

(v)濃度為50 uM之DTPA；

其中pH為7.0，

其中該FGF-21結合物包含式I：

FGF-21多肽



(式I)，

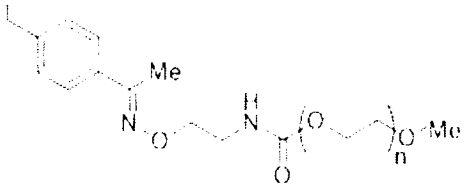
其中n在約670與約690之間，例如為約681，且其中該FGF-21多肽包含SEQ ID NO: 1。

【請求項59】

一種改良醫藥調配物之穩定性的方法，該醫藥調配物包含纖維母細胞生長因子21 (FGF-21)多肽結合於聚乙二醇(PEG)部分(「FGF-21結合物」)，該方法包含摻合胺基聚羧酸陽離子螯合劑，其中與不含該胺基聚羧酸陽離子螯合劑之參考調配物相比，該調配物具有經改良之穩定性，

其中該FGF-21結合物包含式I：

FGF-21多肽



(式I)，

其中n在約670與約690之間，例如為約681，且其中該FGF-21多肽包含SEQ ID NO: 1。

【請求項60】

如請求項59之方法，其中該PEG部分結合於該FGF-21多肽中之非天然胺基酸。

【請求項61】

如請求項60之方法，其中該FGF-21多肽中之該非天然胺基酸為對-乙醯基-L-苯丙胺酸。

【請求項62】

如請求項59至61中任一項之方法，其中該FGF-21多肽為SEQ ID NO: 1之FGF-21多肽。

【請求項63】

如請求項59至62中任一項之方法，其中該FGF-21結合物呈L構形。

【請求項64】

如請求項59至63中任一項之方法，其中穩定性之改良包含(i)多肽物理穩定性增加、(ii)多肽化學穩定性增加，或(iii) (i)及(ii)兩者。

【請求項65】

如請求項64之方法，其中該物理穩定性增加包含(i)防止或降低多肽聚集、(ii)防止或降低多肽斷裂(fragmentation)，或(iii) (i)及(ii)兩者。

【請求項66】

如請求項65之方法，其中該化學穩定性增加包含(i)防止或降低多肽脫醯胺、(ii)防止或降低多肽氧化，或(iii) (i)及(ii)兩者。

【請求項67】

如請求項59至66中任一項之方法，其中穩定性之改良包含以下中之一或多者：

(a)　當儲存於40℃約一個月時，相對於該參考調配物，多肽脫醯胺速率較低；

(b)　當儲存於40℃約一個月時，相對於該參考調配物，高分子量(HMW)多肽聚集速率較低；或

(c)　(a)及(b)兩者。

【請求項68】

如請求項59至67中任一項之方法，其中穩定性之改良包含防止或減少一或多種甲硫胺酸氧化。

【請求項69】

如請求項68之方法，其中該等甲硫胺酸對應於該FGF-21多肽之Met1及/或Met169。

【請求項70】

如請求項68或69之方法，其中甲硫胺酸氧化在25℃及/或40℃防止或減少。

【請求項71】

如請求項59至70中任一項之方法，其中該胺基聚羧酸陽離子螯合劑為DTPA。

【請求項72】

如請求項71之方法，其中該DTPA陽離子螯合劑之存在量在約10 μM與約100 μM DTPA之間、在約20 μM與約90 μM DTPA之間、在約25 μM與約75 μM DTPA之間、在約40 μM與約60 μM DTPA之間、在約30 μM與約70 μM DTPA之間、在約30 μM與約80 μM DTPA之間，或在約40 μM與約70 μM之間。

【請求項73】

如請求項71或72之方法，其中該DTPA陽離子螯合劑之存在量為約40 μM、約45 μM、約50 μM、約55 μM或約60 μM DTPA。

【請求項74】

如請求項59至73中任一項之方法，其進一步包含將pH調整至高於6.5、高於6.6、高於6.7、高於6.8、高於6.9或高於7.0。

【請求項75】

如請求項74之方法，其中將該pH調整至在約6.8與約7.5之間、或在約6.9與約7.4之間、或在約7.0與約7.3之間、或在約7.1及7.2之間、或在約7.1與約7.3之間、或在約7.1與約7.4之間、或在約7.1與約7.5之間。

【請求項76】

如請求項75之方法，其中經調整之pH為約6.8、約6.9、約7.0、約7.1、約7.2、約7.3、約7.4或約7.5。

【請求項77】

如請求項74至76中任一項之方法，其中該調配物相較於pH 6.5之該參考調配物為更穩定的。

【請求項78】

如請求項59至77中任一項之方法，其進一步包含摻合界面活性劑。

【請求項79】

如請求項78之方法，其中該界面活性劑為非離子型界面活性劑。

【請求項80】

如請求項79之方法，其中該非陰離子型界面活性劑為聚山梨醇酯。

【請求項81】

如請求項80之方法，其中該聚山梨醇酯為聚山梨醇酯80。

【請求項82】

如請求項81之方法，其中該聚山梨醇酯80界面活性劑之摻合量為約0.01% (w/v)至約0.1% (w/v)、約0.02% (w/v)至約0.09% (w/v)、約0.03% (w/v)至約0.08% (w/v)、約0.04% (w/v)至約0.07% (w/v)，或約0.05% (w/v)至約0.06% (w/v)。

【請求項83】

如請求項81或82之方法，其中聚山梨醇酯80界面活性劑之摻合量為至少約0.01% (w/v)、至少約0.02% (w/v)、至少約0.03% (w/v)、至少約0.04% (w/v)、至少約0.05% (w/v)、至少約0.06% (w/v)、至少約0.07% (w/v)、至少約0.08% (w/v)、至少約0.09% (w/v)或至少約0.1% (w/v)。

【請求項84】

如請求項79至83中任一項之方法，其中當在震盪器上攪拌時，該界面活性劑減少微粒形成及/或氣泡形成。

【請求項85】

如請求項59至84中任一項之方法，其進一步包含摻合胺基酸緩衝劑。

【請求項86】

如請求項85之方法，其中該胺基酸緩衝劑為組胺酸。

【請求項87】

如請求項86之方法，其中該組胺酸緩衝劑之摻合量為約10 mM至約100 mM組胺酸、約20 mM至約90 mM組胺酸、約30 mM至約80 mM組胺酸、約40 mM至約70 mM組胺酸、約10 mM至約30 mM組胺酸、約15 mM至約25 mM組胺酸、約17.5 mM至約22.5 mM組胺酸，或約40 mM至約60 mM組胺酸。

【請求項88】

如請求項86或87之方法，其中該組胺酸緩衝劑之摻合量為約10 mM組胺酸、約15 mM組胺酸、約20 mM組胺酸、約25 mM組胺酸、約30 mM組胺酸、約35 mM組胺酸、約40 mM組胺酸、約45 mM組胺酸或約50

mM組胺酸。

【請求項89】

如請求項59至88中任一項之方法，其進一步包含摻合滲透調節劑。

【請求項90】

如請求項89之方法，其中該滲透調節劑包含糖。

【請求項91】

如請求項90之方法，其中該糖為蔗糖。

【請求項92】

如請求項91之方法，其中該蔗糖滲透調節劑之摻合量為約100 mM至約1 M蔗糖、約200 mM至約900 mM蔗糖、約300 mM至約800 mM蔗糖、約400 mM至約700 mM蔗糖，或約500 mM至約600 mM蔗糖。

【請求項93】

如請求項91或92之方法，其中該蔗糖滲透調節劑之摻合量為約100 mM蔗糖、約200 mM蔗糖、約300 mM蔗糖、約400 mM蔗糖、約500 mM蔗糖、約600 mM蔗糖、約700 mM蔗糖、約800 mM蔗糖、約900 mM蔗糖或約1 M蔗糖。

【請求項94】

如請求項59至93中任一項之方法，其中該調配物為水性調配物。

【請求項95】

一種醫藥調配物，其係如請求項59至94中任一項之方法製備。

【請求項96】

一種小瓶，其包含：

(i) FGF-21結合物；

(ii)濃度在約10 mM與約50 mM之間的組胺酸；

(iii)濃度在約100 mM與約1 M之間的蔗糖；

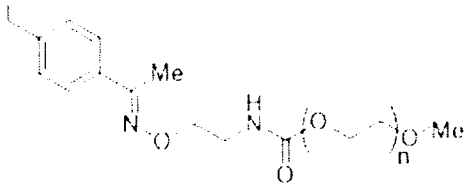
(iv)濃度在約0.01% (w/v)與約0.1% (w/v)之間的聚山梨醇酯80；及，

(v)濃度在約10 μM與約100 μM之間的DTPA；

其中該調配物之pH在約6.7與約7.5之間，

其中該FGF-21結合物包含式I：

FGF-21多肽



(式I)，

其中n在約670與約690之間，例如為約681，且其中該FGF-21多肽包含SEQ ID NO: 1。

【請求項97】

一種小瓶，其包含：

(i)約5 mg至約20 mg FGF-21結合物；

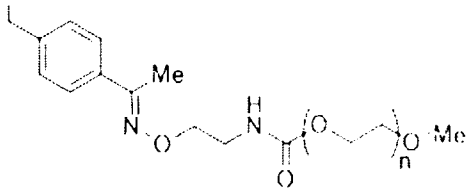
(ii)濃度為約20 mM之組胺酸；及

(iii)濃度為約600 mM之蔗糖；

其中pH為約7.0，

其中該FGF-21結合物包含式I：

FGF-21多肽



(式I)，

其中n在約670與約690之間，例如為約681，且其中該FGF-21多肽包含SEQ ID NO: 1。

【請求項98】

一種小瓶，其包含：

(i)約10 mg至約20 mg FGF-21結合物；

(ii)濃度為約20 mM之組胺酸；

(iii)濃度為約600 mM之蔗糖；

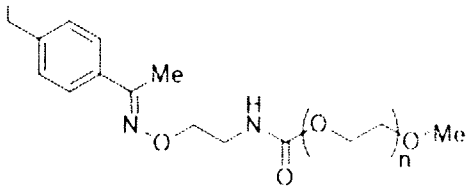
(iv)濃度為約0.05% (w/v)之聚山梨醇酯80；及

(v)濃度為約50 uM之DTPA；

其中pH為約7.1，

其中該FGF-21結合物包含式I：

FGF-21多肽



(式I)，

其中n在約670與約690之間，例如為約681，且其中該FGF-21多肽包含SEQ ID NO: 1。

【請求項99】

一種小瓶，其包含：

(i) 約10 mg FGF-21結合物；

(ii)濃度為約20 mM之組胺酸；

(iii)濃度為約600 mM之蔗糖；

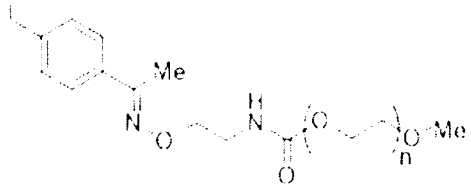
(iv)濃度為約0.05% (w/v)之聚山梨醇酯80；及

(v)濃度為約50 uM之DTPA；

其中pH為約7.1，

其中該FGF-21結合物包含式I：

FGF-21多肽



(式I)，

其中n在約670與約690之間，例如為約681，且其中該FGF-21多肽包含SEQ ID NO: 1。

【請求項100】

一種小瓶，其包含：

(i) 約20 mg FGF-21結合物；

(ii)濃度為約20 mM之組胺酸；

(iii)濃度為約600 mM之蔗糖；

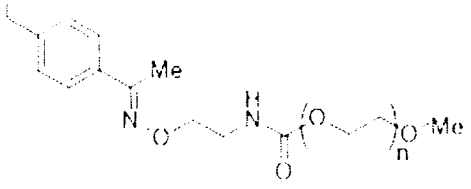
(iv)濃度為約0.05% (w/v)之聚山梨醇酯80；及

(v)濃度為約50 uM之DTPA；

其中pH為約7.1，

其中該FGF-21結合物包含式I：

FGF-21多肽



(式I)，

其中n在約670與約690之間，例如為約681，且其中該FGF-21多肽包含SEQ ID NO: 1。

【請求項101】

一種套組或製品，其包含(i)如請求項1至58及95中任一項之醫藥調配物或如請求項96至100中任一項之小瓶，及(ii)使用說明書。

【請求項102】

一種治療或預防有需要之個體與纖維化及/或糖尿病相關之疾病或病狀的方法，其包含向該個體投與有效量之如請求項1至58及95中任一項之醫藥調配物、如請求項96至100中任一項之小瓶及如請求項101之套組。

【請求項103】

如請求項102之方法，其中該疾病或病狀為糖尿病。

【請求項104】

如請求項103之方法，其中該糖尿病為第2型糖尿病。

【請求項105】

如請求項102之方法，其中該疾病或病狀為非酒精性脂肪變性肝炎(NASH)。

【請求項106】

如請求項102至105中任一項之方法，其中向該個體投與有效量之該醫藥調配物降低肝臟硬度、降低體脂百分比、降低體重、降低肝臟/體重比、降低肝臟脂質含量、降低肝纖維化面積、降低空腹血糖含量、降低空腹三酸甘油酯含量、降低LDL膽固醇含量、降低ApoB含量、降低ApoC含量、增加HDL膽固醇，或其任何組合。

【請求項107】

如請求項102至106中任一項之方法，其中以約20 mg之均一劑量(flat dose)投與該FGF-21結合物。

【請求項108】

如請求項107之方法，其中以一週投藥間隔投與該FGF-21結合物。

【請求項109】

如請求項102至108中任一項之方法，其中皮下投與該醫藥調配物。

【請求項110】

如請求項109之方法，其中使用安全注射器皮下投與該醫藥調配物。

【請求項111】

如請求項102至110中任一項之方法，其中與未經治療之個體或投與該醫藥調配物之前個體之水準相比，向該個體投與該醫藥調配物造成：

(i) 肝臟脂肪含量降低；

(ii) 肝損傷程度降低；

(iii) 纖維化程度降低；

(iv) 纖維化生物標記血清Pro-C3 (N端第III型膠原蛋白原肽)含量降低；

(v) 丙胺酸轉胺酶(ALT)含量降低；

(vi) 天冬胺酸轉胺酶(AST)含量降低；

(vii) 血清脂聯素含量增加；

(viii) 血漿LDL含量降低

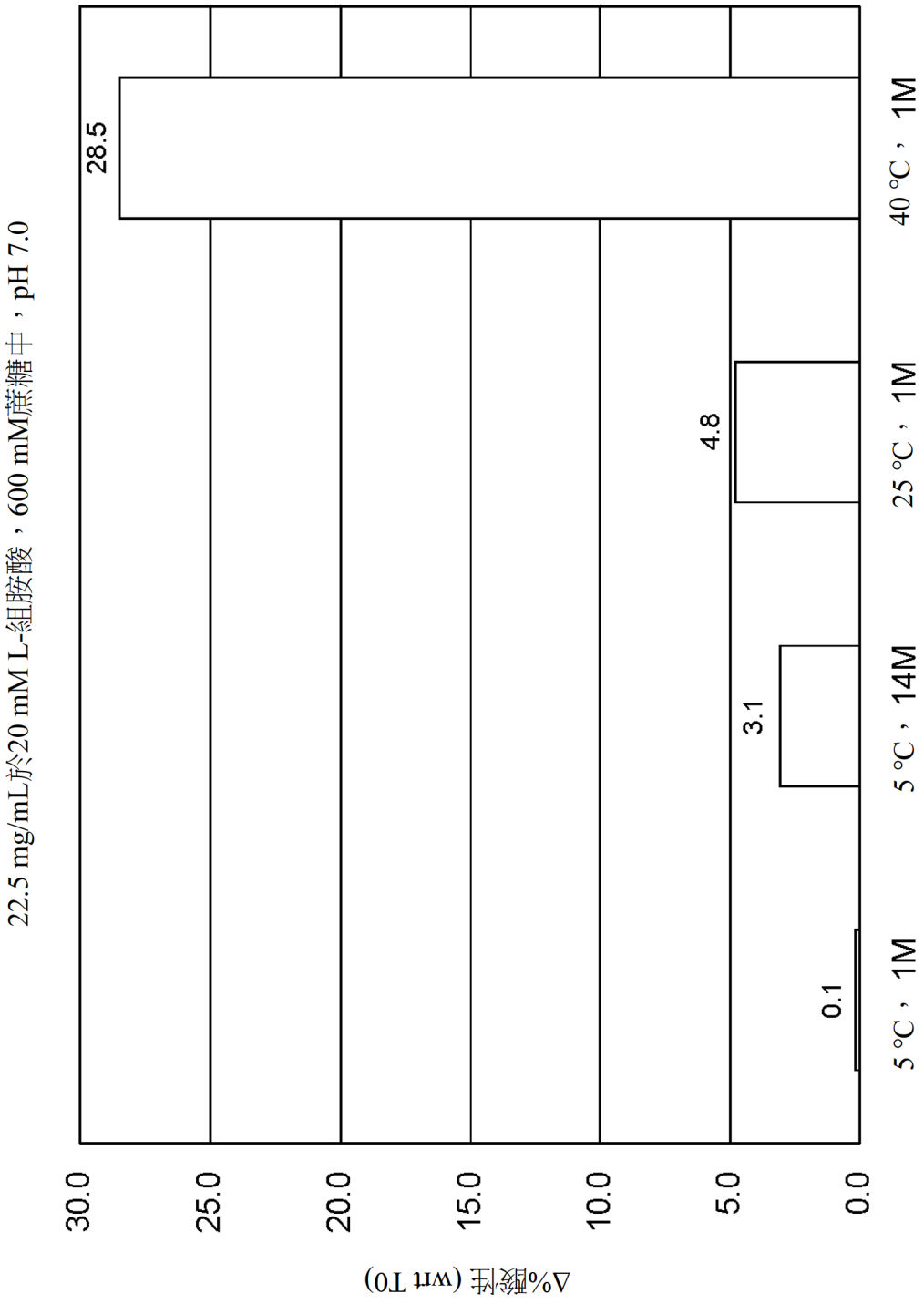
(ix) 血漿HDL含量增加；

(x) 血漿三酸甘油酯含量降低；

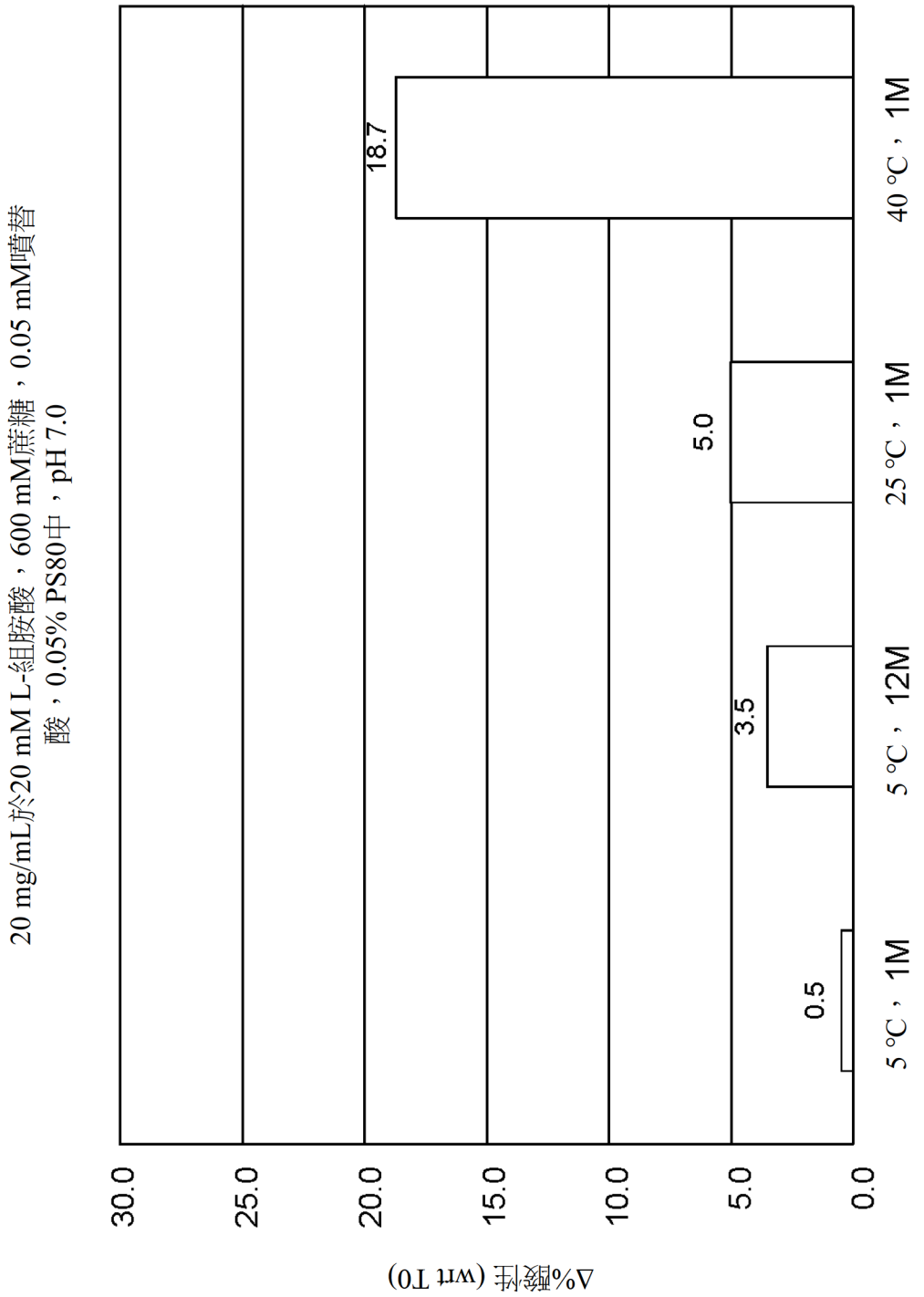
(xi) 肝臟硬度降低；或

(xii) 其任何組合。

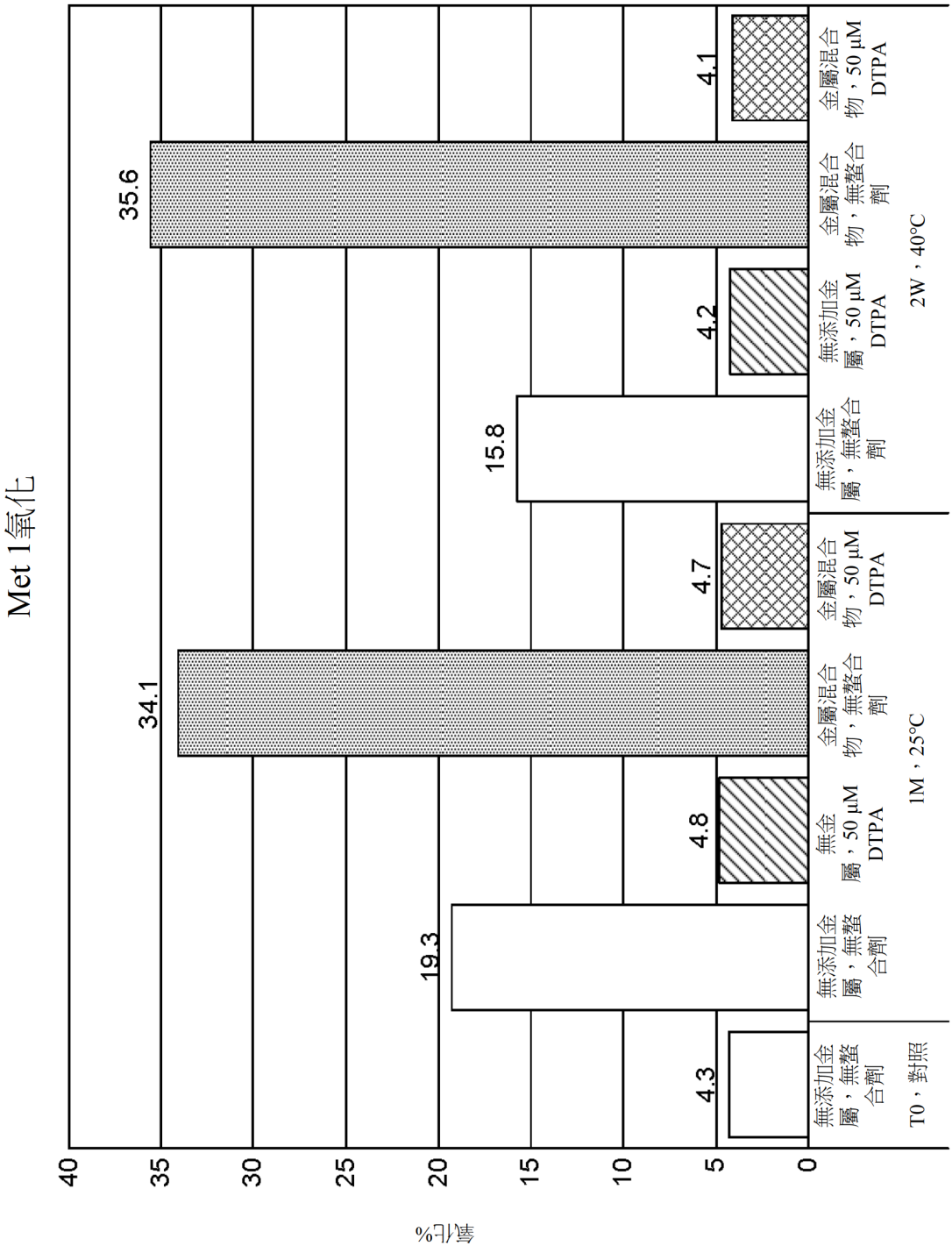
【發明圖式】


22.5 mg/mL於20 mM L-組胺酸，600 mM蔗糖中，pH 7.0
Δ%酸性 (wrt T0)
30.0
25.0
20.0
15.0
10.0
5.0
0.0
0.1
3.1
4.8
28.5
5 °C，1M
5 °C，14M
25 °C，1M
40 °C，1M

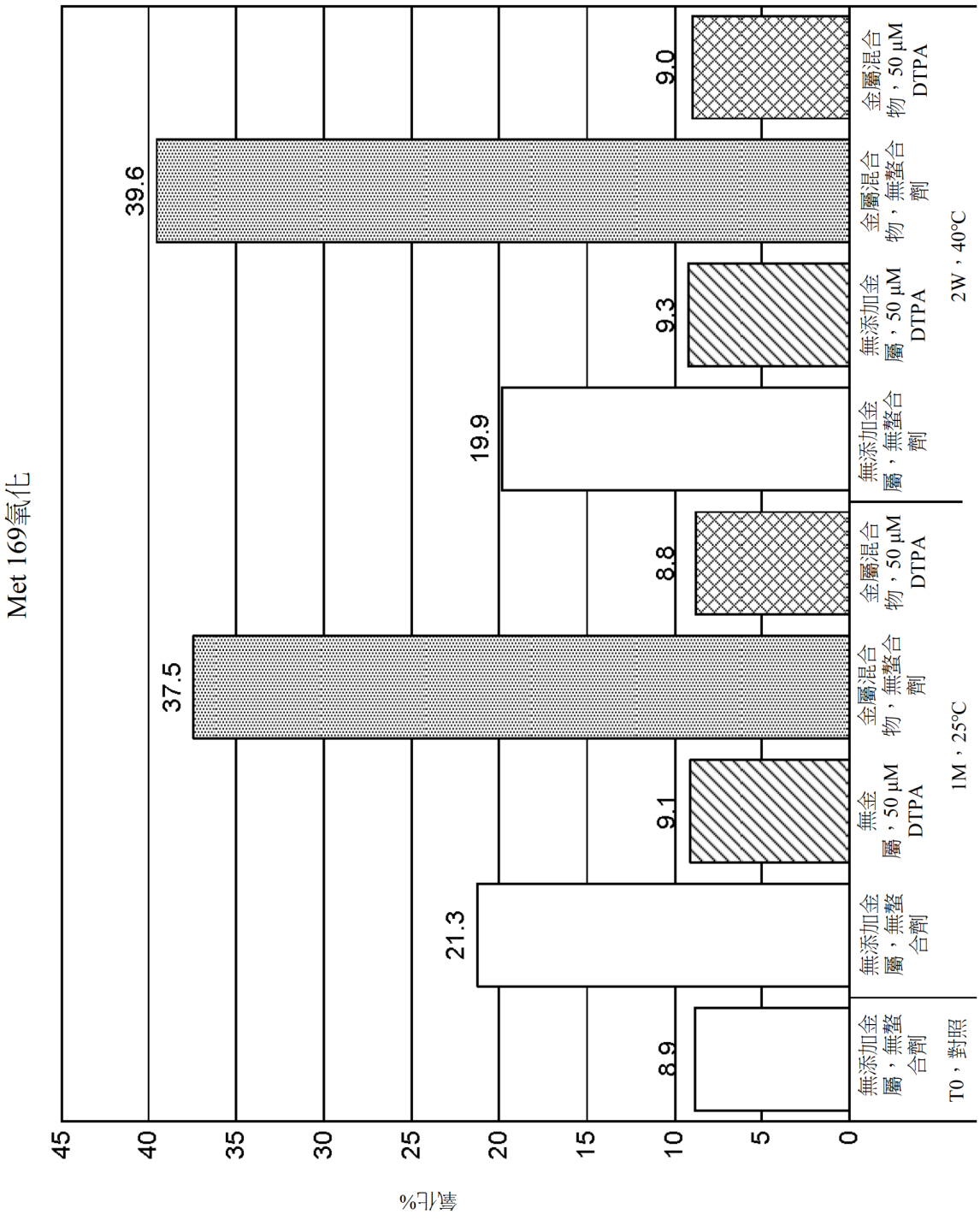
【圖1A】


20 mg/mL於20 mM L-組胺酸，600 mM蔗糖，0.05 mM噴替酸，0.05% PS80中，pH 7.0
Δ%酸性 (wrt T0)
30.0
25.0
20.0
15.0
10.0
5.0
0.0
0.5
3.5
5.0
18.7
5 ℃，1M
5 ℃，12M
25 ℃，1M
40 ℃，1M

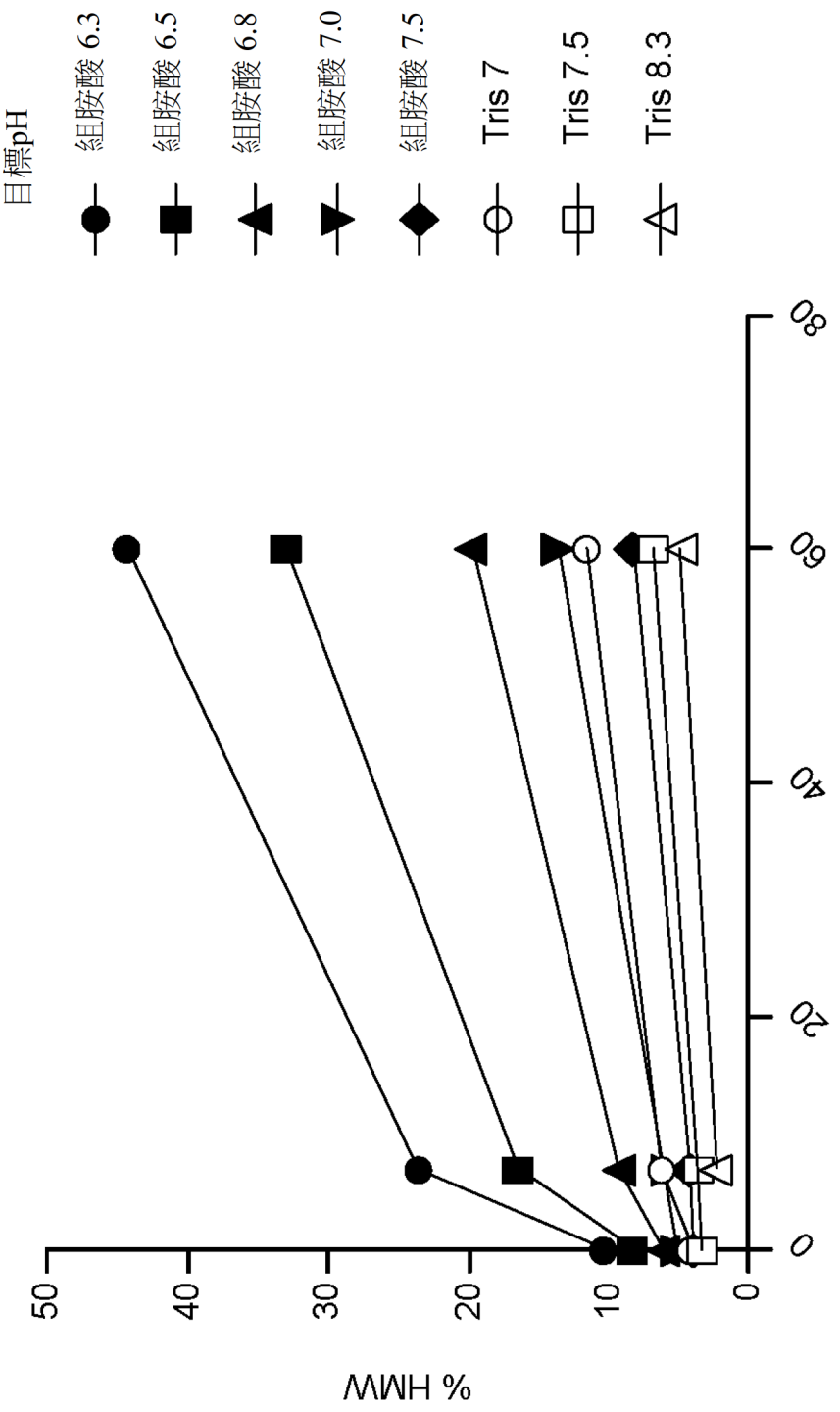
【圖1B】


Met 1氧化
氧化%
40
35
30
25
20
15
10
5
0
4.3
19.3
4.8
34.1
4.7
15.8
4.2
35.6
4.1
無添加金屬，無螯合劑
無金屬，50 μM DTPA
金屬混合物，無螯合劑
金屬混合物，50 μM DTPA
無添加金屬，無螯合劑
無添加金屬，50 μM DTPA
金屬混合物，無螯合劑
金屬混合物，50 μM DTPA
T0，對照
1M，25°C
2W，40°C

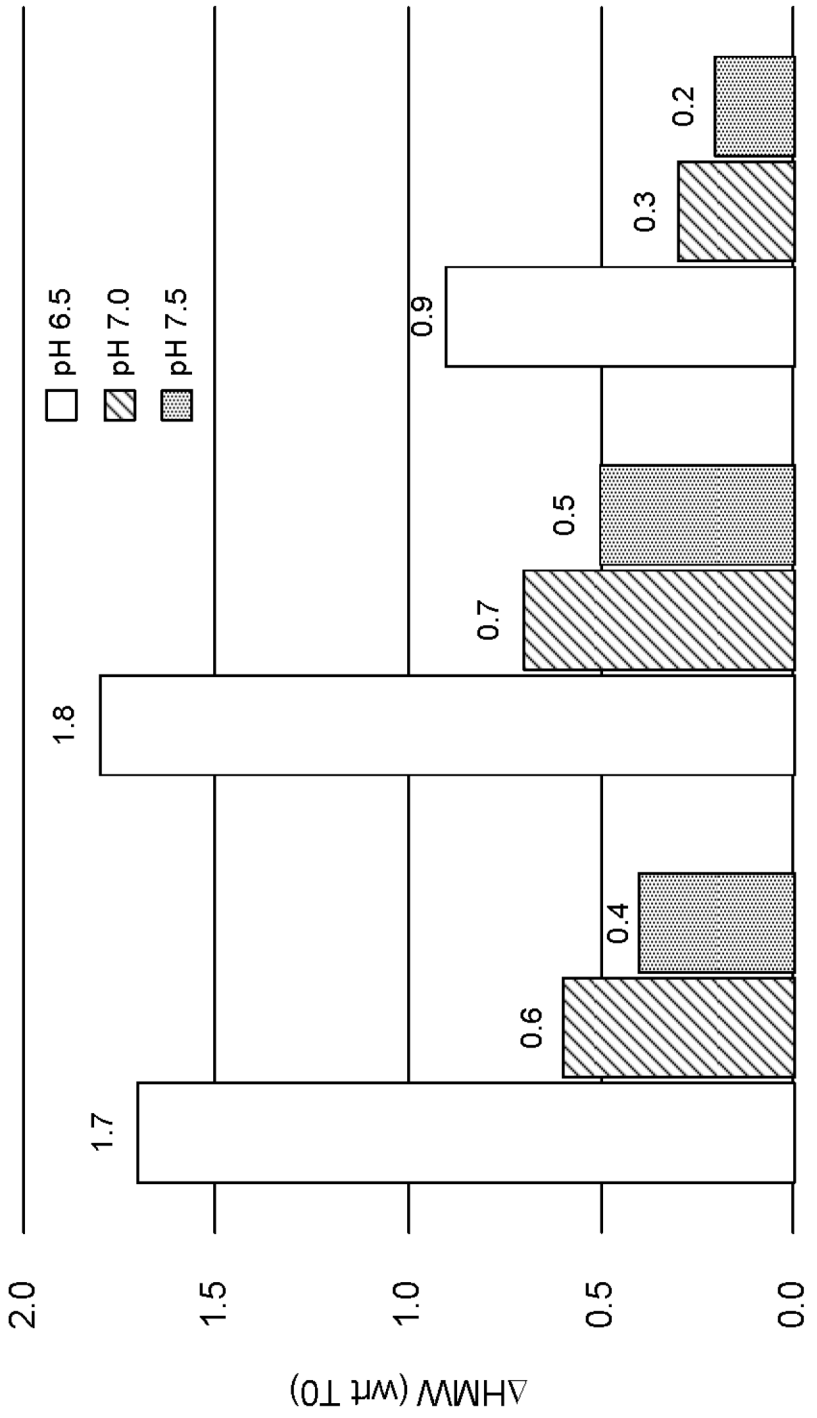
【圖2A】


Met 169氧化
氧化%
45
40
35
30
25
20
15
10
5
0
8.9
21.3
9.1
37.5
8.8
19.9
9.3
39.6
9.0
無添加金屬，無螯合劑
無金屬，50 μM DTPA
無添加金屬，無螯合劑
金屬混合物，無螯合劑
金屬混合物，50 μM DTPA
無添加金屬，無螯合劑
無添加金屬，50 μM DTPA
金屬混合物，無螯合劑
金屬混合物，50 μM DTPA
T0，對照
1M，25°C
2W，40°C

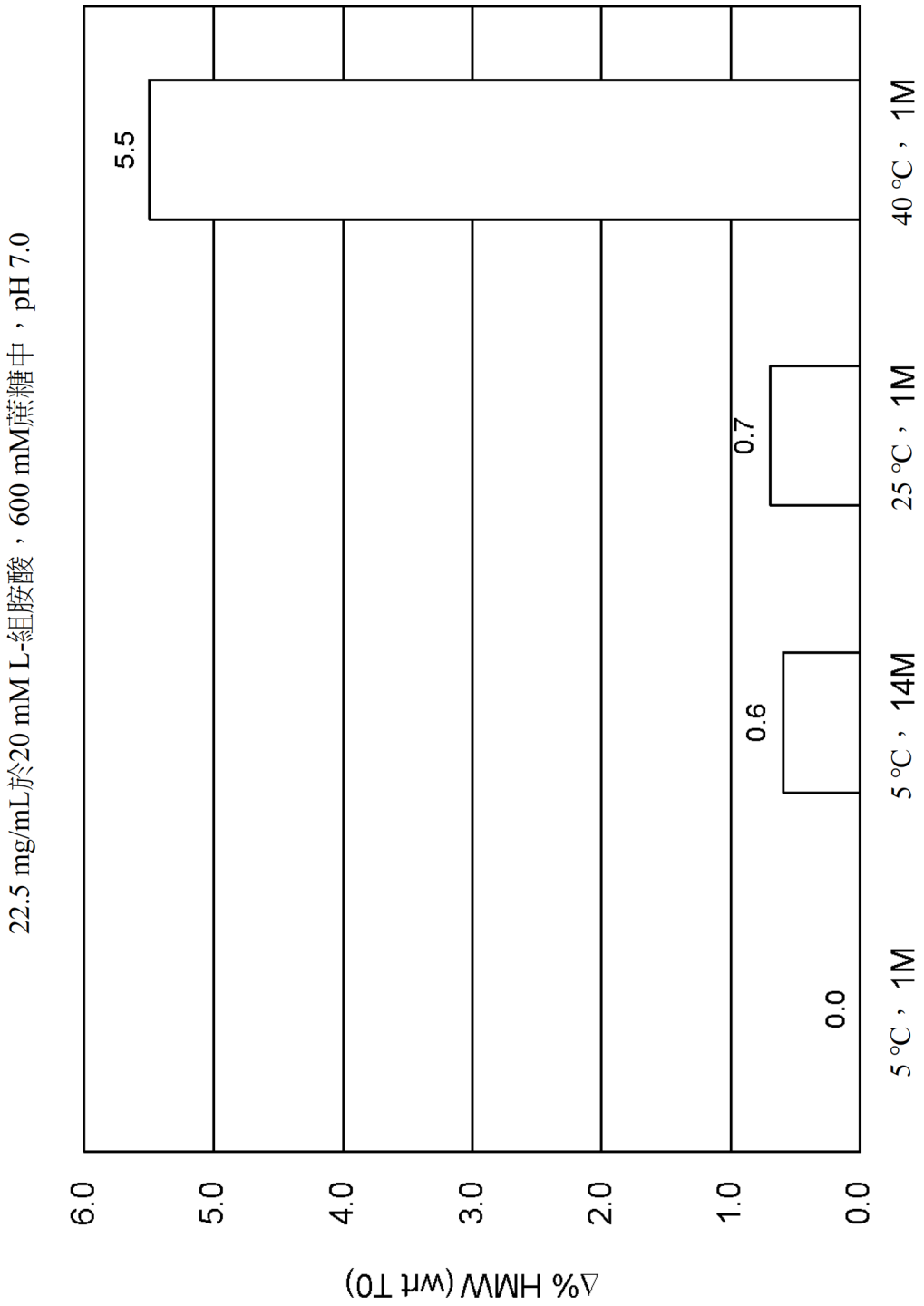
【圖2B】


目標pH
組胺酸 6.3
組胺酸 6.5
組胺酸 6.8
組胺酸 7.0
組胺酸 7.5
Tris 7
Tris 7.5
Tris 8.3
% HMW
0
10
20
30
40
50
0
20
40
60
80
時間(天，在40°C下)

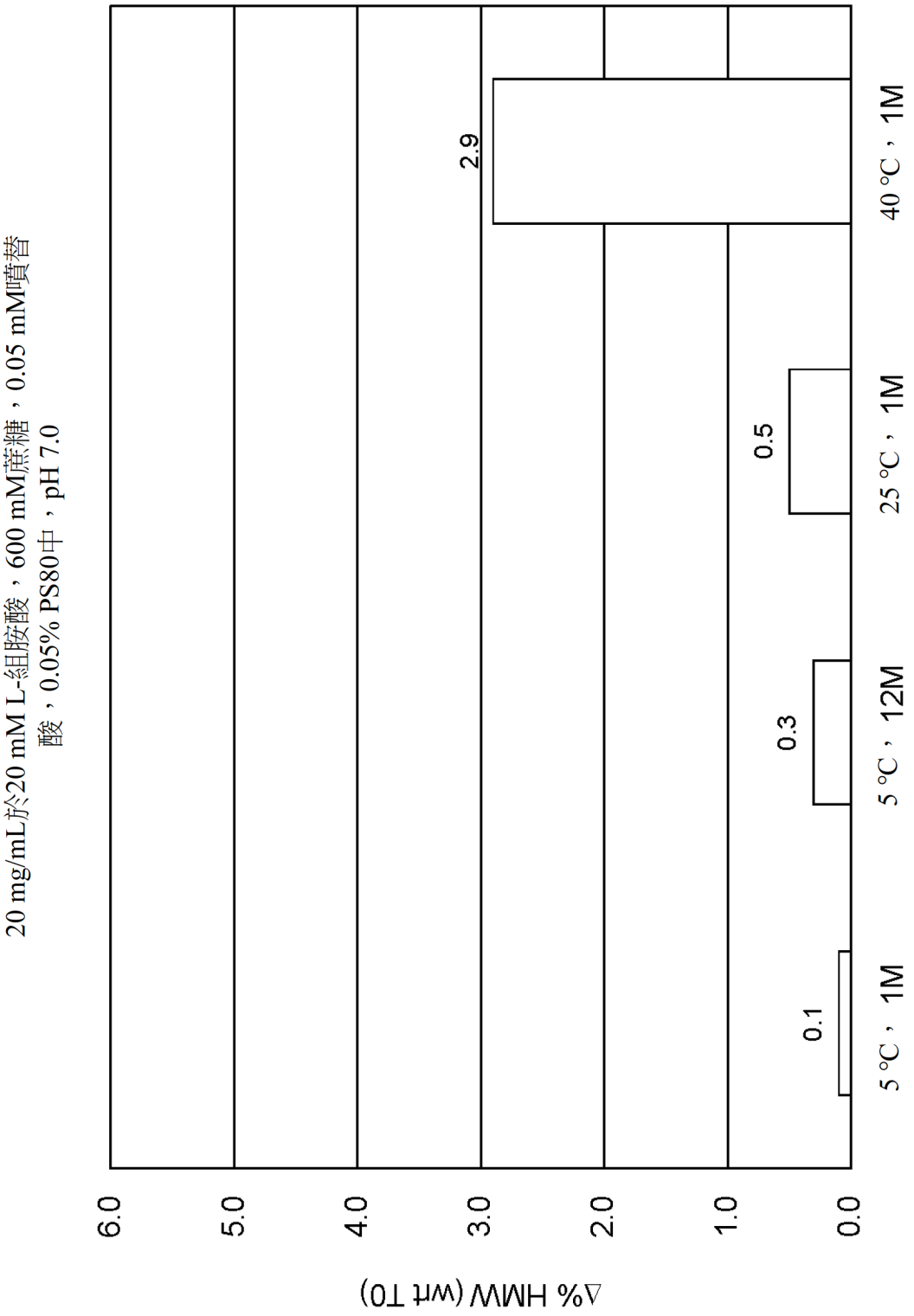
【圖3A】


pH 6.5
pH 7.0
pH 7.5
ΔHMW (wt %)
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
1.7
0.6
0.4
1.8
0.7
0.5
0.9
0.3
0.2
5C-14M
25C-1M
40C-1D

【圖3B】


22.5 mg/mL於20 mM L-組胺酸，600 mM蔗糖中，pH 7.0
Δ% HMW (wt TO)
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0.0
5.5
0.7
0.6
0.0
40 °C，1M
25 °C，1M
5 °C，14M
5 °C，1M

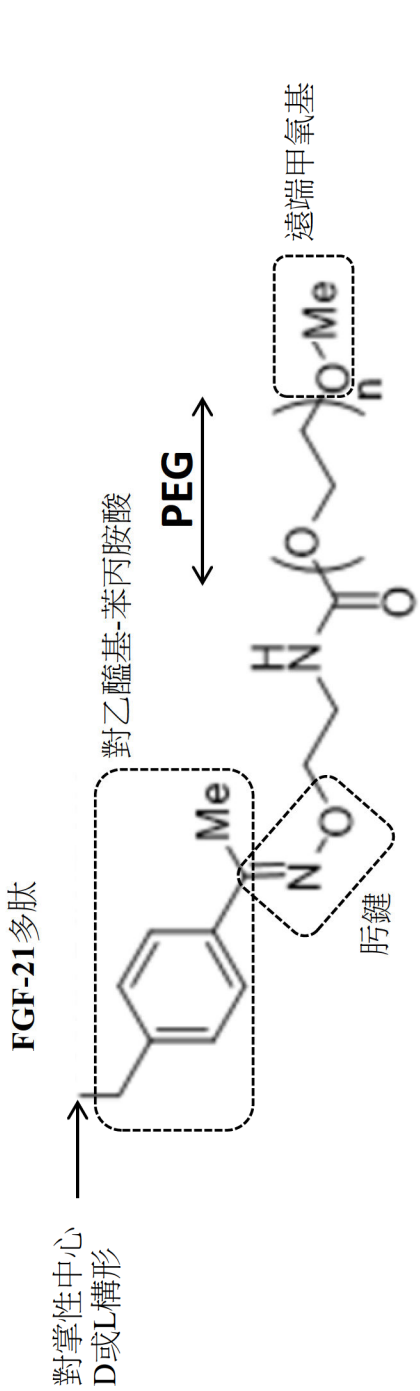
【圖4A】


20 mg/mL於20 mM L-組胺酸，600 mM蔗糖，0.05 mM噴替酸，0.05% PS80中，pH 7.0
Δ% HMW (wt TO)
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0.0
0.1
0.3
0.5
2.9
5 °C，1M
5 °C，12M
25 °C，1M
40 °C，1M

【圖4B】


無PS80
15 mg/mL
22 mg/mL
0% PS80
0.01% PS80
0.025% PS80
0.05% PS80
0.1% PS80

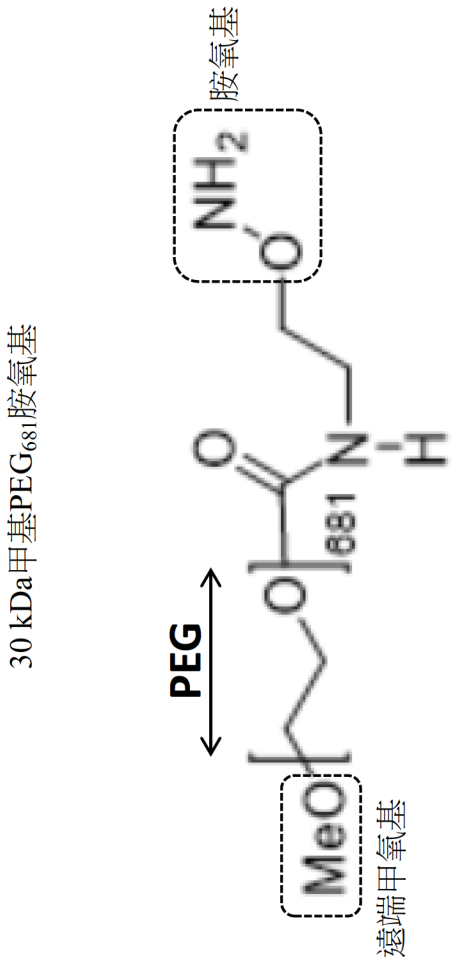
【圖5】



PEG-FGF-21

PEG約28 kD-32 kD，例如30 kDa
n約600-800，例如681

【圖6】



【圖7】