



(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 202220700 A

(43) 公開日：中華民國 111 (2022) 年 06 月 01 日

(21) 申請案號：110129971

(22) 申請日：中華民國 110 (2021) 年 08 月 13 日

(51) Int. Cl. :

*A61K47/68 (2017.01)**A61K47/60 (2017.01)**A61K38/26 (2006.01)**C07K14/605 (2006.01)**A61P3/04 (2006.01)**A61P1/16 (2006.01)*

(30) 優先權：2020/08/14 南韓

10-2020-0102604

(71) 申請人：南韓商韓美藥品股份有限公司 (南韓) HANMI PHARM. CO., LTD. (KR)
南韓(72) 發明人：白承宰 BAEK, SEUNGJAE (KR)；崔在德 CHOI, JAEDUK (KR)；辛苑汀 SHIN,
WONJUNG (KR)；金正國 KIM, JUNG KUK (KR)

(74) 代理人：洪武雄；陳昭誠

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：15 項 圖式數：17 共 148 頁

(54) 名稱

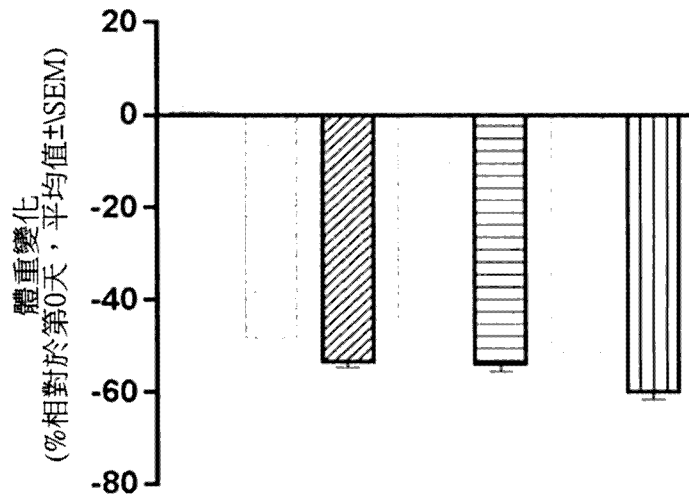
包含三重升糖素 / G L P - 1 / G I P 受體促效劑的長效接合物的醫藥組成物

(57) 摘要

本案提供了一種包括三重促效劑之長效接合物作為活性成分之醫藥組成物以及使用該醫藥組成物治療肥胖症及/或非酒精性脂肪肝疾病之方法。根據對肥胖症及/或非酒精性脂肪肝疾病的治療效果，包括本發明之三重促效劑之長效接合物的醫藥組成物可以穩定地應用於肥胖症及/或非酒精性脂肪肝疾病的治療而沒有副作用。

Provided are a pharmaceutical composition including a long-acting conjugate of a triple agonist as an active ingredient and a method of treating obesity and/or a non-alcoholic fatty liver disease using the same. The pharmaceutical composition including the long-acting conjugate of the triple agonist of the present invention may be stably applied to treatment of obesity and/or a non-alcoholic fatty liver disease without side effects according to therapeutic effects on obesity and/or the non-alcoholic fatty liver disease.

指定代表圖：



- 對照
- SEQ ID NO:42 之長效接合物 1.44nmol/kg
- SEQ ID NO:42 之長效接合物 2.88nmol/kg
- SEQ ID NO:43 之長效接合物 1.44nmol/kg
- SEQ ID NO:43 之長效接合物 2.88nmol/kg
- SEQ ID NO:50 之長效接合物 1.44nmol/kg
- SEQ ID NO:50 之長效接合物 2.88nmol/kg

【圖1】

【發明摘要】

【中文發明名稱】 包含三重升糖素/GLP-1/GIP受體促效劑的長效接合物的醫藥組成物

【英文發明名稱】 PHARMACEUTICAL COMPOSITION COMPRISING LONG-ACTING CONJUGATE OF TRIPLE GLUCAGON/GLP-1/GIP RECEPTOR AGONIST

【中文】

本案提供了一種包括三重促效劑之長效接合物作為活性成分之醫藥組成物以及使用該醫藥組成物治療肥胖症及/或非酒精性脂肪肝疾病之方法。根據對肥胖症及/或非酒精性脂肪肝疾病的治療效果，包括本發明之三重促效劑之長效接合物的醫藥組成物可以穩定地應用於肥胖症及/或非酒精性脂肪肝疾病的治療而沒有副作用。

【英文】

Provided are a pharmaceutical composition including a long-acting conjugate of a triple agonist as an active ingredient and a method of treating obesity and/or a non-alcoholic fatty liver disease using the same. The pharmaceutical composition including the long-acting conjugate of the triple agonist of the present invention may be stably applied to treatment of obesity and/or a non-alcoholic fatty liver disease without side effects according to therapeutic effects on obesity and/or the non-alcoholic fatty liver disease.

【指定代表圖】 圖1

【代表圖之符號簡單說明】 無

【特徵化學式】 無

【發明說明書】

【中文發明名稱】 包含三重升糖素/GLP-1/GIP受體促效劑的長效接合物的醫藥組成物

【英文發明名稱】 PHARMACEUTICAL COMPOSITION COMPRISING LONG-ACTING CONJUGATE OF TRIPLE GLUCAGON/GLP-1/GIP RECEPTOR AGONIST

【技術領域】

【0001】 本發明有關一種包括三重升糖素/GLP-1/GIP受體促效劑的長效接合物作為活性成分的醫藥組成物以及一種使用該醫藥組成物治療肥胖症及/或非酒精性脂肪肝疾病之方法。

【先前技術】

【0002】 當過量的能量攝入超過能量消耗持續長時間時，由能量失衡引起的肥胖症是一種影響全身的代謝疾病。作為一種代表性的代謝疾病，肥胖症本身就是一種疾病，但已知會增加患各種其他疾病(例如，糖尿病、高脂血症、高血壓及脂肪肝)的風險。

【0003】 非酒精性脂肪肝疾病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)係一種展現與彼等酒精性肝炎相似的組織學發現的疾病，儘管該疾病與酒精攝入無關並且包括非酒精性脂肪肝(non-alcoholic fatty liver, NAFL)、非酒精性脂肪肝炎(non-alcoholic steatohepatitis, NASH)、肝纖維化及肝細胞癌。隨著肥胖症和糖尿病患者數的增加，非酒精性脂肪肝有增加的趨勢，在韓國的年發病率為約16%。

諸如胰島素阻抗、肥胖症、脂毒性及發炎反應之各種因素已知係非酒精性脂肪肝疾病的原因。其中，胰島素阻抗是主因。

【0004】 為了預防及/或治療此類非酒精性脂肪肝疾病，已付出大量努力以降低胰島素阻抗。例如，胰島素增敏劑噻唑烷二酮類(TZD)和二甲雙胍的臨床試驗仍在積極進行中(Hepatology (2003) 38:1008–17, *J Clin Invest.* (2001) 108:1167–74)，而且已經廣泛進行將GLP-1受體促效劑(諸如，Victoza、Byetta或Ozempic)應用於非酒精性脂肪肝疾病的臨床試驗。然而，仍然需要開發能夠治療肥胖症和非酒精性脂肪肝疾病，同時增加患者便利性且無副作用之藥物。

【0005】 業經報導對於所有類升糖素肽-1(glucagon-like peptide-1, GLP-1)、葡萄糖依賴性促胰島素多肽(glucose-dependent insulintropic polypeptide, GIP)以及升糖素受體具有活性的三重促效劑為能夠治療包括肥胖症之代謝症候群之藥物，並藉由增加其半衰期而增加患者的便利性且無副作用(WO 2017116204 A和WO 2017116205 A)。

【0006】 然而，雖然藥物的效果係基於體外實驗所證實，有經由臨床試驗在向個體(特別是人類)投予藥物的情況下，確認在治療上為安全和有效之投予途徑和劑量之需求。由於此等性質，實際上很難經由實際臨床試驗開發出適合商業化之藥物。

【0007】 從動物到人體研究的劑量轉換(translation)被認為是新藥開發中的困難和障礙之一，因為其非常複雜和困難(Reagan-Shaw S *et al.*, Dose translation from animal to human studies revisited. *Fed Am Soc Exp Biol J* 2008)。亦即，可以僅基於臨床試驗設計及其結果，考慮藥理活性、副作用和人體耐受劑量(安全投予的劑量)，而確定最佳投予間隔和劑量。

【0008】 例如，與西地那非(sildenafil)(其係治療勃起功能障礙的Viagra®(威而鋼))的醫藥物質有關的專利(專利號 78931)揭露其劑量和投予間隔為「針對口服給藥投予人類(平均成人，70 kg)之化合物的劑量通常在4 mg 至800 mg的範圍內」。然而，劑量為低於25mg的西地那非因缺乏療效在美國未核准，且每日劑量為25 mg、50 mg、100 mg的西地那非已核准上市。其中，劑量為25 mg的西地那非因療效不足而需求不佳，且西地那非在韓國已僅以50 mg和100 mg劑量進入市場。從以上的例子可以看出，與醫藥化合物相關的專利中建議的「每日劑量4 mg至800 mg」是一個非常廣泛的範圍，其中最小值和最大值之間的差高於200倍。亦即，雖然與西地那非相關的專利揭露最小劑量4 mg和最大劑量800 mg的效果沒有區別，且兩者皆可以向人體投予，在上述範圍中無法保證其藥理效果和安全性。事實上，基於臨床試驗證實的結果，4 mg至25 mg的劑量療效不足，未能治療勃起功能障礙，及在超過100 mg的劑量下觀察到諸如臉紅和視力異常之副作用，且因此超過100 mg的劑量無法保證安全性，更遑論在最大劑量 800 mg下。

【0009】 此外，用劑間隔係藉由考慮藥物的持久性而確定的，且通常使用半衰期來估計。亦即，當有效量的藥物持續6小時時，每天投予4次是有效的。一般而言，隨著藥物劑量的增加，其療效也隨之增加。然而，副作用也會增加，且因此無限增加劑量是不可取的。此外，當劑量達到一定等級時，療效達到最大程度，且在大多數情況下不能再增加(S形曲線)，但增加的療效也可能下降(雙相效應)。因此，難以確定用劑間隔和劑量，因為應考慮此等因素。

【0010】 在這一點上，即使在所屬技術領域已知藥物的療效的情況下，藉由使用與彼等所屬技術領域中已知者不同之投予方法和劑量而提高藥物的治療

效果、抑制副作用及提高投予便利性之方法也可被視為與開發新穎醫藥物質或其醫學用途之方法一樣有價值。只要在減少劑量或延長用劑間隔的同時獲得相同的治療效果，任何提高用劑便利性的方法都可能對患者有重要價值。患者每天在特定時間堅持服藥並不容易，且有許多其中由於服藥困難而中斷治療之案例或其中由於難以遵守規定的劑量而對疾病的治療效果不佳的案例。

【0011】 因此，即使證實了三重促效劑可作為藥物使用且具有廣泛的有效劑量範圍而不會引起嚴重副作用，仍有確認三重促效劑之臨床有效之投予方法和劑量以將三重促效劑應用至實際醫療上。

【發明內容】

[技術問題]

【0012】 本發明之一個目的是提供一種組成物，該組成物包括作為活性成分的三重促效劑之長效接合物，其對升糖素受體、類升糖素肽-1(GLP-1)受體以及葡萄糖依賴性促胰島素多肽(GIP)受體均具有活性，該組成物是用於預防或治療肥胖症及/或非酒精性脂肪肝疾病的醫藥組成物，其中該三重促效劑之長效接合物係以0.5 mg至8 mg的劑量向肥胖症及/或非酒精性脂肪肝疾病患者每週一次腸胃外投予。

[技術方案]

【0013】 本發明之一個態樣提供了一種組成物，該組成物包括作為活性成分的三重促效劑之長效接合物，其對升糖素受體、類升糖素肽-1(GLP-1)受體以及葡萄糖依賴性促胰島素多肽(GIP)受體均具有活性。

【0014】 在特定具體例中，該組成物係用於預防或治療肥胖症及/或非酒精

性脂肪肝疾病的醫藥組成物，其中該三重促效劑之長效接合物以0.5 mg至8 mg的劑量向肥胖症及/或非酒精性脂肪肝疾病患者每週腸胃外投予一次。

【0015】 在另一個特定具體例中，向患有肥胖症及/或非酒精性脂肪肝疾病之患者每週一次以2 mg至 6 mg之劑量腸胃外投予三重促效劑之長效接合物。

【0016】 在根據特定具體例中任一者之醫藥組成物中，腸胃外投予可係皮下投予。

【0017】 在根據特定具體例中任一者之醫藥組成物中，患有肥胖症之患者可具有 23kg/m^2 或更高之身體質量指數(body mass index, BMI)。

【0018】 在根據特定具體例中任一者之醫藥組成物中，患有非酒精性脂肪肝疾病之患者可以具有藉由磁共振成像衍生的質子密度脂肪分數 (magnetic resonance imaging-derived proton density fat fraction, MRI-PEFF)所測量之8%或更高的肝臟脂肪含量。

【0019】 在根據特定具體例中任一者之醫藥組成物中，接合物係由下式1表示：

【0020】 [式1]

【0021】 X-L-F

【0022】 其中X係包括SEQ ID NO：1至102之胺基酸序列之一者的肽；

【0023】 L係包括乙二醇重複單元的連接子；

【0024】 F係免疫球蛋白Fc區；以及

【0025】 -係X和L之間以及L和F之間的共價鍵。

【0026】 在根據特定具體例中任一者之醫藥組成物中，投予該醫藥組成物之個體展現以下性質(a)至(f)之至少一者：

【0027】 (a)體重減輕；

【0028】 (b)血壓降低；

【0029】 (c)肝臟中的內臟脂肪質量減少；

【0030】 (d)NAS降低；

【0031】 (e)減少肝細胞之細胞腫脹變性(ballooning degeneration)或小葉發炎的數量；以及

【0032】 (f)纖維化評分降低。

【0033】 在根據特定具體例中任一者之醫藥組成物中，可以向手臂、大腿或腹部投予該醫藥組成物。

【0034】 在根據特定具體例中任一者之醫藥組成物中，F可係IgG Fc區。

【0035】 在根據特定具體例中任一者之醫藥組成物中，長效接合物可以具有其中Fc區為由兩條多肽鏈形成的二聚體形式且肽X僅與長效接合物中之Fc二聚體的兩條多肽鏈之一者連接之結構。

【0036】 在根據特定具體例中任一者之醫藥組成物中，Fc二聚體的多肽鏈可以包括SEQ ID NO：123的胺基酸序列。

【0037】 在根據特定具體例中任一者之醫藥組成物中，可以在從X的N-端算起第16和第20個胺基酸之間形成環。

【0038】 在根據特定具體例中任一者之醫藥組成物中，X可包括選自由SEQ ID NO：21、22、27、30至32、34、36、37、42、43、50至56、58、64至80、83、86、91、93以及96至102所組成群組之胺基酸序列。

【0039】 在根據特定具體例中任一者之醫藥組成物中，X可包括選自由SEQ ID NO：21、22、31、32、37、42、43、50、53、64、65、66、67、68、

69、70、71、72、73、75、76、77、79、96、97、98、99、100、101以及102所組成群組之胺基酸序列。

【0040】在根據特定具體例中任一者之醫藥組成物中，X可包括選自由SEQ ID NO：42、43以及50所組成群組之胺基酸序列。

【0041】在根據特定具體例中任一者之醫藥組成物中，X可以是(實質上)由選自由SEQ ID NO：1至102所組成群組之胺基酸序列所組成之肽。

【0042】在根據特定具體例中任一者之醫藥組成物中，L為具有1 kDa至20 kDa之分子量之聚乙二醇。

【0043】在根據特定具體例中任一者之醫藥組成物中，非酒精性脂肪肝疾病係選自由非酒精性脂肪肝(NAFL)、非酒精性脂肪肝炎(NASH)、肝纖維化、肝硬化及其任意之組合所組成群組。

【0044】本發明之另一個態樣提供了一種治療目標疾病之方法，該方法包括向有其需要之個體投予該接合物或包括作為活性成分之該接合物之組成物。

【0045】在特定具體例中，該疾病可係肥胖症及/或非酒精性脂肪肝疾病。

【0046】在根據另一個特定具體例的方法中，向患有肥胖症及/或非酒精性脂肪肝疾病之患者每週一次以0.5 mg至8 mg之劑量腸胃外投予該接合物。

【0047】在根據特定具體例中任一者之方法中，係以皮下投予該接合物或組成物。

【0048】本發明之另一個態樣提供了該接合物或包含作為活性成分之該接合物之組成物用於預防或治療肥胖症及/或非酒精性脂肪肝疾病之用途。

【0049】在根據特定具體例中任一者中，向患有肥胖症及/或非酒精性脂肪肝疾病之患者每週一次以0.5 mg至8 mg之劑量腸胃外投予該接合物。

【0050】 在根據特定具體例中任一者之用途中，係以皮下投予該接合物或組成物。

【0051】 本發明之另一個態樣提供了一種包括作為活性成分之接合物之製劑。

【0052】 在特定具體例中，向患有肥胖症及/或非酒精性脂肪肝疾病之患者每週一次以0.5 mg至8 mg之劑量腸胃外投予該接合物。

【0053】 在根據特定具體例中任一者之製劑中，該製劑具有用於預防或治療肥胖症及/或非酒精性脂肪肝疾病之用途。

【0054】 在根據特定具體例中任一者之製劑中，該製劑係以皮下投予。

[有利功效]

【0055】 包括本發明之三重促效劑之長效接合物的組成物可以根據其對肥胖症及/或非酒精性脂肪肝疾病之治療效果穩定地應用於治療肥胖症及/或非酒精性脂肪肝疾病而沒有副作用。

【0056】 【圖式簡單說明】

【0057】 圖1顯示在向高脂肪飲食之肥胖症動物模式(小鼠)每2天一次投予 SEQ ID NO：42、43以及50之長效接合物28天後第28天的小鼠體重，且每2天測量一次體重(以單因子ANOVA之 $p < 0.05$ ， $**p < 0.01$ ， $***p < 0.001$ ，相對於載劑)。

【0058】 圖2顯示在向高脂肪飲食之肥胖症動物模式(小鼠)每2天一次投予 SEQ ID NO：42、43以及50之長效接合物28天後第28天的小鼠腸繫膜脂肪重量，且每2天測量一次腸繫膜脂肪重量(以單因子ANOVA之 $p < 0.05$ ， $**p < 0.01$ ， $***p < 0.001$ ，相對於載劑)。

【0059】 圖3顯示投予SEQ ID NO：42之長效接合物的肥胖症患者組之資訊。

【0060】 圖4顯示在患有肥胖症投予SEQ ID NO：42的長效接合物的患者之SEQ ID NO：42的長效接合物的血液濃度。

【0061】 圖5顯示經證實之在患有肥胖症投予SEQ ID NO：42的長效接合物的患者之 C_{max} (ng/mL)、 T_{max} (hr)、 $T_{1/2}$ (hr)、 AUC_{0-inf} (ng/mL·h)、劑量標準化之 C_{max} (ng/mL/mg)以及劑量標準化之 AUC_{inf} (ng/mL·h/mg)。

【0062】 圖6顯示在投予SEQ ID NO：42的長效接合物後1個月的治療緊急不良事件(treatment emergent adverse event, TEAE)。

【0063】 圖7顯示在投予SEQ ID NO：42的長效接合物後4天所測量之心率(heart rate, HR)、收縮壓(systolic blood pressure, SPB)、舒張壓(diastolic blood pressure, DBP)和心率壓力乘積(rate pressure product, RPP)。

【0064】 圖8至10顯示在投予SEQ ID NO：42的長效接合物後所測量之免疫原性(抗藥物抗體(ADAb)；中和抗體(nAb)；以及抗聚乙二醇抗體(抗PEG))。

【0065】 圖11顯示投予SEQ ID NO：42的長效接合物之非酒精性脂肪肝疾病患者組之資訊。

【0066】 圖12顯示患有非酒精性脂肪肝疾病且投予SEQ ID NO：42的長效接合物之患者的SEQ ID NO：42的長效接合物的血液濃度。

【0067】 圖13顯示經證實之在患有非酒精性脂肪肝疾病且投予SEQ ID NO：42的長效接合物患者之 C_{max} (ng/mL)、 T_{max} (hr)、 $T_{1/2}$ (hr)、以及 AUC_{0-168} (ng/mL·h)。W1表示第1週，且W12表示第12週。

【0068】 圖14顯示在投予SEQ ID NO：42的長效接合物後1個月的治療緊急

【0080】 亮胺酸Leu, L	離胺酸Lys, K
【0081】 甲硫胺酸Met, M	苯丙胺酸Phe, F
【0082】 脯胺酸Pro, P	絲胺酸Ser, S
【0083】 蘇胺酸Thr, T	色胺酸Trp, W
【0084】 酪胺酸Tyr, Y	纈胺酸Val, V

【0085】 本發明之態樣提供了一種用於預防或治療肥胖症及/或非酒精性脂肪肝疾病之醫藥組成物，該組成物包括作為活性成分的三重促效劑之長效接合物，其對升糖素受體、類升糖素肽-1(GLP-1)受體以及葡萄糖依賴性促胰島素多肽(GIP)受體均具有活性，其中該三重促效劑之長效接合物以0.5 mg 至8 mg的劑量向肥胖症及/或非酒精性脂肪肝疾病患者每週一次腸胃外投予。

【0086】 根據本發明之醫藥組成物，技術上的意義在於表現出安全和有效療效的特定劑量和用劑間隔已經被確認，並且實際上適用於人體。

【0087】 在本發明之特定態樣中，本發明之醫藥組成物可以包括作為活性成分之三重促效劑或其長效接合物。具體地，該醫藥組成物可以包括藥理有效量的三重促效劑或其長效接合物和醫藥上可接受之賦形劑，但不限於此。

【0088】 在本發明中，對升糖素受體、GLP-1受體和GIP受體具有活性的三重促效劑的長效接合物可以呈其中肽(亦即，三重促效劑)對升糖素受體、GLP-1受體以及GIP受體具有活性且GIP受體與能夠增加其體內半衰期的生物相容性物質連接之形式。在整個說明書中，生物相容性物質與載劑可互換使用。

【0089】 在本發明中，與彼等未與載劑連接的肽的效果相比，三重促效劑的長效接合物可展現增加的持久效果。同時，接合物可以是非天然存在的物質。

【0090】 在本發明之特定具體例中，接合物係由下式1表示：

【0091】 [式1]

【0092】 X-L-F

【0093】 本文中，X是包括SEQ ID NO：1至102之胺基酸序列之一者的肽；

【0094】 L係包含乙二醇重複單元的連接子；

【0095】 F係免疫球蛋白Fc區；以及

【0096】 -係X和L之間以及L和F之間的共價鍵。

【0097】 如本文所用，「對升糖素受體、GLP-1受體以及GIP受體具有活性的肽」可係構成接合物的部分的組分。具體地，該肽對應於上述式1中的X。

【0098】 在本發明中，對升糖素、GLP-1以及GIP受體具有活性的肽與三重促效劑可互換使用。本發明之三重促效劑可包括包含SEQ ID NO：1至102之胺基酸序列之一者的肽。或者，本發明之三重促效劑可包括(基本上)由SEQ ID NOS：1至102之胺基酸序列之一者所組成之肽序列，但不限於此。

【0099】 本發明之三重促效劑或其長效接合物可以藥理有效量向肥胖症及/或非酒精性脂肪肝疾病的患者投予。

【0100】 如本文所用，「藥理有效量」係指三重促效劑或其長效接合物的安全劑量，其對肥胖症及/或非酒精性脂肪肝疾病患者具有治療效果而不對患者引起毒性或副作用，具體為具有肥胖症及/或非酒精性脂肪肝疾病患者之減重、降低內臟脂肪質量、降低血脂濃度、改善葡萄糖代謝參數、降低血壓、及/或降低脂肪肝之效果之劑量以及能夠降低肝組織中之脂肪變性分級、小葉發炎數量和肝細胞之細胞腫脹變性之劑量，導致NAFLD活動評分(NAS)及/或纖維化評分降低。血脂濃度是指總膽固醇、LDL-C、HDL-C、VLDL-C、三酸三酯或游離脂肪酸的血液濃度，而葡萄糖代謝參數可以指空腹血漿葡萄糖(fasting plasma

glucose, FPG)、空腹胰島素、空腹 C-肽、HbA1c、胰島素阻抗之恆定模式評估 (homeostatic model assessment for insulin resistance, HOMA-IR)、胰島素分泌之恆定模式評估 (homeostatic model assessment for insulin secretion, HOMA-B) 等，但不限於此。另外，本發明之「藥理有效量」係指能夠在非酒精性脂肪性肝炎(NASH) 生物標誌物(細胞角質蛋白-18 M30/65片段、增強肝纖維化評分、Pro-C3、非侵襲性 評分 4、纖維化-4指數以及NAFLD纖維化評分)中展現顯著變化的劑量。

【0101】 或者，「藥理有效量」可係投予後能夠表現出30 ng/mL至1000 ng/mL的最大濃度(C_{max})或5000h·ng/mL至110000h·ng/mL的平均曲線下面積 (AUC平均值)的劑量，但不限於此。

【0102】 本發明之醫藥組成物可以投予一次或超過一次，以便將最大濃度 (C_{max})或平均曲線下面積(AUC平均值)維持在恆定等級或更高，但不限於此。具體地，可以投予醫藥組成物以獲得30 ng/mL至1000 ng/mL、40 ng/mL至900 ng/mL或41.8 ng/mL至820 ng/mL的 C_{max} ，或在範圍為0.01 mg/kg至 0.12 mg/kg中之5000 h·ng/mL至110000 h·ng/mL、5500 h·ng/mL至 105000 h·ng/mL或5609.2 h·ng/mL至 100933.9 h·ng/mL之平均AUC，但不限於此。

【0103】 在本發明之特定具體例中，可以以約0.01mg、0.02mg、0.03mg、0.04mg、0.05mg、0.06mg、0.07 mg、0.08 mg、0.09 mg、0.1 mg、0.2 mg、0.3 mg、0.4 mg、0.5 mg、0.6 mg、0.7 mg、0.8 mg、0.9 mg、1 mg、1.1 mg、1.2 mg、1.3 mg、1.4 mg、1.5 mg、1.6 mg、1.7 mg、1.8 mg、1.9 mg或2.0 mg或更多以及約10 mg、9.9 mg、9.8 mg、9.7 mg、9.6 mg、9.5 mg、9.4 mg、9.3 mg、9.2 mg、9.1 mg、9 mg、8.9 mg、8.8 mg、8.7 mg、8.6 mg、8.5 mg、8.4 mg、8.3 mg、8.2 mg、8.1 mg、8 mg、7.9 mg、7.8 mg、7.7 mg、7.6 mg、7.5 mg、7.4 mg、7.3 mg、7.2 mg、7.1 mg、7.0 mg、6.9 mg、6.8 mg、6.7 mg、6.6 mg、6.5 mg、6.4 mg、6.3 mg、6.2 mg、6.1 mg、6.0 mg、5.9 mg、5.8 mg、5.7 mg、5.6 mg、5.5 mg、5.4 mg、5.3 mg、5.2 mg、5.1 mg、5.0 mg、4.9 mg、4.8 mg、4.7 mg、4.6 mg、4.5 mg、4.4 mg、4.3 mg、4.2 mg、4.1 mg、4.0 mg、3.9 mg、3.8 mg、3.7 mg、3.6 mg、3.5 mg、3.4 mg、3.3 mg、3.2 mg、3.1 mg、3.0 mg、2.9 mg、2.8 mg、2.7 mg、2.6 mg、2.5 mg、2.4 mg、2.3 mg、2.2 mg、2.1 mg、2.0 mg、1.9 mg、1.8 mg、1.7 mg、1.6 mg、1.5 mg、1.4 mg、1.3 mg、1.2 mg、1.1 mg、1.0 mg、0.9 mg、0.8 mg、0.7 mg、0.6 mg、0.5 mg、0.4 mg、0.3 mg、0.2 mg、0.1 mg、0.09 mg、0.08 mg、0.07 mg、0.06 mg、0.05 mg、0.04 mg、0.03 mg、0.02 mg、0.01 mg、0.009 mg、0.008 mg、0.007 mg、0.006 mg、0.005 mg、0.004 mg、0.003 mg、0.002 mg、0.001 mg、0.0009 mg、0.0008 mg、0.0007 mg、0.0006 mg、0.0005 mg、0.0004 mg、0.0003 mg、0.0002 mg、0.0001 mg、0.00009 mg、0.00008 mg、0.00007 mg、0.00006 mg、0.00005 mg、0.00004 mg、0.00003 mg、0.00002 mg、0.00001 mg、0.000009 mg、0.000008 mg、0.000007 mg、0.000006 mg、0.000005 mg、0.000004 mg、0.000003 mg、0.000002 mg、0.000001 mg、0.0000009 mg、0.0000008 mg、0.0000007 mg、0.0000006 mg、0.0000005 mg、0.0000004 mg、0.0000003 mg、0.0000002 mg、0.0000001 mg、0.00000009 mg、0.00000008 mg、0.00000007 mg、0.00000006 mg、0.00000005 mg、0.00000004 mg、0.00000003 mg、0.00000002 mg、0.00000001 mg、0.000000009 mg、0.000000008 mg、0.000000007 mg、0.000000006 mg、0.000000005 mg、0.000000004 mg、0.000000003 mg、0.000000002 mg、0.000000001 mg、0.0000000009 mg、0.0000000008 mg、0.0000000007 mg、0.0000000006 mg、0.0000000005 mg、0.0000000004 mg、0.0000000003 mg、0.0000000002 mg、0.0000000001 mg、0.00000000009 mg、0.00000000008 mg、0.00000000007 mg、0.00000000006 mg、0.00000000005 mg、0.00000000004 mg、0.00000000003 mg、0.00000000002 mg、0.00000000001 mg、0.000000000009 mg、0.000000000008 mg、0.000000000007 mg、0.000000000006 mg、0.000000000005 mg、0.000000000004 mg、0.000000000003 mg、0.000000000002 mg、0.000000000001 mg、0.0000000000009 mg、0.0000000000008 mg、0.0000000000007 mg、0.0000000000006 mg、0.0000000000005 mg、0.0000000000004 mg、0.0000000000003 mg、0.0000000000002 mg、0.0000000000001 mg、0.00000000000009 mg、0.00000000000008 mg、0.00000000000007 mg、0.00000000000006 mg、0.00000000000005 mg、0.00000000000004 mg、0.00000000000003 mg、0.00000000000002 mg、0.00000000000001 mg、0.000000000000009 mg、0.000000000000008 mg、0.000000000000007 mg、0.000000000000006 mg、0.000000000000005 mg、0.000000000000004 mg、0.000000000000003 mg、0.000000000000002 mg、0.000000000000001 mg、0.0000000000000009 mg、0.0000000000000008 mg、0.0000000000000007 mg、0.0000000000000006 mg、0.0000000000000005 mg、0.0000000000000004 mg、0.0000000000000003 mg、0.0000000000000002 mg、0.0000000000000001 mg、0.00000000000000009 mg、0.00000000000000008 mg、0.00000000000000007 mg、0.00000000000000006 mg、0.00000000000000005 mg、0.00000000000000004 mg、0.00000000000000003 mg、0.00000000000000002 mg、0.00000000000000001 mg、0.000000000000000009 mg、0.000000000000000008 mg、0.000000000000000007 mg、0.000000000000000006 mg、0.000000000000000005 mg、0.000000000000000004 mg、0.000000000000000003 mg、0.000000000000000002 mg、0.000000000000000001 mg、0.0000000000000000009 mg、0.0000000000000000008 mg、0.0000000000000000007 mg、0.0000000000000000006 mg、0.0000000000000000005 mg、0.0000000000000000004 mg、0.0000000000000000003 mg、0.0000000000000000002 mg、0.0000000000000000001 mg、0.00000000000000000009 mg、0.00000000000000000008 mg、0.00000000000000000007 mg、0.00000000000000000006 mg、0.00000000000000000005 mg、0.00000000000000000004 mg、0.00000000000000000003 mg、0.00000000000000000002 mg、0.00000000000000000001 mg、0.000000000000000000009 mg、0.000000000000000000008 mg、0.000000000000000000007 mg、0.000000000000000000006 mg、0.000000000000000000005 mg、0.000000000000000000004 mg、0.000000000000000000003 mg、0.000000000000000000002 mg、0.000000000000000000001 mg、0.0000000000000000000009 mg、0.0000000000000000000008 mg、0.0000000000000000000007 mg、0.0000000000000000000006 mg、0.0000000000000000000005 mg、0.0000000000000000000004 mg、0.0000000000000000000003 mg、0.0000000000000000000002 mg、0.0000000000000000000001 mg、0.00000000000000000000009 mg、0.00000000000000000000008 mg、0.00000000000000000000007 mg、0.00000000000000000000006 mg、0.00000000000000000000005 mg、0.00000000000000000000004 mg、0.00000000000000000000003 mg、0.00000000000000000000002 mg、0.00000000000000000000001 mg、0.000000000000000000000009 mg、0.000000000000000000000008 mg、0.000000000000000000000007 mg、0.000000000000000000000006 mg、0.000000000000000000000005 mg、0.000000000000000000000004 mg、0.000000000000000000000003 mg、0.000000000000000000000002 mg、0.000000000000000000000001 mg、0.0000000000000000000000009 mg、0.0000000000000000000000008 mg、0.0000000000000000000000007 mg、0.0000000000000000000000006 mg、0.0000000000000000000000005 mg、0.0000000000000000000000004 mg、0.0000000000000000000000003 mg、0.0000000000000000000000002 mg、0.0000000000000000000000001 mg、0.00000000000000000000000009 mg、0.00000000000000000000000008 mg、0.00000000000000000000000007 mg、0.00000000000000000000000006 mg、0.00000000000000000000000005 mg、0.00000000000000000000000004 mg、0.00000000000000000000000003 mg、0.00000000000000000000000002 mg、0.00000000000000000000000001 mg、0.000000000000000000000000009 mg、0.000000000000000000000000008 mg、0.000000000000000000000000007 mg、0.000000000000000000000000006 mg、0.000000000000000000000000005 mg、0.000000000000000000000000004 mg、0.000000000000000000000000003 mg、0.000000000000000000000000002 mg、0.000000000000000000000000001 mg、0.0000000000000000000000000009 mg、0.0000000000000000000000000008 mg、0.0000000000000000000000000007 mg、0.0000000000000000000000000006 mg、0.0000000000000000000000000005 mg、0.0000000000000000000000000004 mg、0.0000000000000000000000000003 mg、0.0000000000000000000000000002 mg、0.0000000000000000000000000001 mg、0.00000000000000000000000000009 mg、0.00000000000000000000000000008 mg、0.00000000000000000000000000007 mg、0.00000000000000000000000000006 mg、0.00000000000000000000000000005 mg、0.00000000000000000000000000004 mg、0.00000000000000000000000000003 mg、0.00000000000000000000000000002 mg、0.00000000000000000000000000001 mg、0.000000000000000000000000000009 mg、0.000000000000000000000000000008 mg、0.000000000000000000000000000007 mg、0.000000000000000000000000000006 mg、0.000000000000000000000000000005 mg、0.000000000000000000000000000004 mg、0.000000000000000000000000000003 mg、0.000000000000000000000000000002 mg、0.000000000000000000000000000001 mg、0.0000000000000000000000000000009 mg、0.0000000000000000000000000000008 mg、0.0000000000000000000000000000007 mg、0.0000000000000000000000000000006 mg、0.0000000000000000000000000000005 mg、0.0000000000000000000000000000004 mg、0.0000000000000000000000000000003 mg、0.0000000000000000000000000000002 mg、0.0000000000000000000000000000001 mg、0.00000000000000000000000000000009 mg、0.00000000000000000000000000000008 mg、0.00000000000000000000000000000007 mg、0.00000000000000000000000000000006 mg、0.00000000000000000000000000000005 mg、0.00000000000000000000000000000004 mg、0.00000000000000000000000000000003 mg、0.00000000000000000000000000000002 mg、0.00000000000000000000000000000001 mg、0.000000000000000000000000000000009 mg、0.000000000000000000000000000000008 mg、0.000000000000000000000000000000007 mg、0.000000000000000000000000000000006 mg、0.000000000000000000000000000000005 mg、0.000000000000000000000000000000004 mg、0.000000000000000000000000000000003 mg、0.000000000000000000000000000000002 mg、0.000000000000000000000000000000001 mg、0.0000000000000000000000000000000009 mg、0.0000000000000000000000000000000008 mg、0.0000000000000000000000000000000007 mg、0.0000000000000000000000000000000006 mg、0.0000000000000000000000000000000005 mg、0.0000000000000000000000000000000004 mg、0.0000000000000000000000000000000003 mg、0.0000000000000000000000000000000002 mg、0.0000000000000000000000000000000001 mg、0.00000000000000000000000000000000009 mg、0.00000000000000000000000000000000008 mg、0.00000000000000000000000000000000007 mg、0.00000000000000000000000000000000006 mg、0.00000000000000000000000000000000005 mg、0.00000000000000000000000000000000004 mg、0.00000000000000000000000000000000003 mg、0.00000000000000000000000000000000002 mg、0.00000000000000000000000000000000001 mg、0.000000000000000000000000000000000009 mg、0.000000000000000000000000000000000008 mg、0.000000000000000000000000000000000007 mg、0.000000000000000000000000000000000006 mg、0.000000000000000000000000000000000005 mg、0.000000000000000000000000000000000004 mg、0.000000000000000000000000000000000003 mg、0.000000000000000000000000000000000002 mg、0.000000000000000000000000000000000001 mg、0.0000000000000000000000000000000000009 mg、0.0000000000000000000000000000000000008 mg、0.0000000000000000000000000000000000007 mg、0.0000000000000000000000000000000000006 mg、0.0000000000000000000000000000000000005 mg、0.0000000000000000000000000000000000004 mg、0.0000000000000000000000000000000000003 mg、0.0000000000000000000000000000000000002 mg、0.0000000000000000000000000000000000001 mg、0.00000000000000000000000000000000000009 mg、0.00000000000000000000000000000000000008 mg、0.00000000000000000000000000000000000007 mg、0.00000000000000000000000000000000000006 mg、0.00000000000000000000000000000000000005 mg、0.00000000000000000000000000000000000004 mg、0.00000000000000000000000000000000000003 mg、0.00000000000000000000000000000000000002 mg、0.00000000000000000000000000000000000001 mg、0.000000000000000000000000000000000000009 mg、0.000000000000000000000000000000000000008 mg、0.000000000000000000000000000000000000007 mg、0.000000000000000000000000000000000000006 mg、0.000000000000000000000000000000000000005 mg、0.000000000000000000000000000000000000004 mg、0.000000000000000000000000000000000000003 mg、0.000000000000000000000000000000000000002 mg、0.000000000000000000000000000000000000001 mg、0.0000000000000000000000000000000000000009 mg、0.0000000000000000000000000000000000000008 mg、0.0000000000000000000000000000000000000007 mg、0.0000000000000000000000000000000000000006 mg、0.0000000000000000000000000000000000000005 mg、0.0000000000000000000000000000000000000004 mg、0.0000000000000000000000000000000000000003 mg、0.0000000000000000000000000000000000000002 mg、0.0000000000000000000000000000000000000001 mg、0.009 mg、0.008 mg、0.007 mg、0.006 mg、0.005 mg、0.004 mg、0.003 mg、0.002 mg、0.001 mg、0.0009 mg、0.0008 mg、0.0007 mg、0.0006 mg、0.0005 mg、0.0004 mg、0.0003 mg、0.0002 mg、0.0001 mg、0.009 mg、0.008 mg、0.007 mg、0.006 mg、0.005 mg、0.004 mg、0.003 mg、0.002 mg、0.001 mg、0.0009 mg、0.0008 mg、0.0007 mg、0.0006 mg、0.0005 mg、0.0004 mg、0.0003 mg、0.0002 mg、0.0001 mg、0.009 mg、0.008 mg、0.007 mg、0.006 mg、0.005 mg、0.004 mg、0.003 mg、0.002 mg、0.001 mg、0.0009 mg、0.0008 mg、0.0007 mg、0.0006 mg、0.0000000000

mg、7 mg、6.9 mg、6.8 mg、6.7 mg、6.6 mg、6.5 mg、6.4 mg、6.3 mg、6.2 mg、6.1 mg或6.0 mg或更少的劑量投予根據本發明之三重促效劑之長效接合物，但不限於此。具體地，本發明之三重促效劑之長效接合物的劑量可係約0.01 mg至10 mg、約0.1 mg至10 mg、約0.5 mg至8 mg、約1 mg至7 mg，或約2 mg至6 mg，但不限於此，且根據醫生或開立處方者的判斷，可根據疾病的嚴重程度、患者的年齡、投予持續時間等作適當調整。劑量係指為了治療肥胖症或非酒精性脂肪肝疾病而應定期投予的劑量。

【0104】 雖然三重促效劑之長效接合物可以以恆定劑量投予，而不管患者的體重，若需要，可以根據體重適當調整劑量。

【0105】 如本文所用，術語「約」係指包括所有 ± 0.5 、 ± 0.4 、 ± 0.3 、 ± 0.2 、 ± 0.1 、 ± 0.05 、 ± 0.01 等的範圍，並且包括與彼等緊接在術語「約」之後或在彼等類似範圍內者等等效之所有值，但不限於此。

【0106】 本發明之三重促效劑或其長效接合物在一定時期內以一劑量定期投予時，可對肥胖症及/或非酒精性脂肪肝疾病具有預防或治療效果，但不限於此。

【0107】 本發明之醫藥組成物可以包括上述劑量中之三重促效劑或長效接合物，或者可以進一步包括所需量的醫藥上可接受之賦形劑，但不限於此。

【0108】 由於三重促效劑與本發明之三重促效劑之長效接合物中的免疫球蛋白Fc區連接，三重促效劑之長效接合物具有增加的半衰期且維持三重促效劑的活性。維持促效劑，以便使其藥理效果維持足夠的時間，並且可以延長用劑間隔，從而提高患者的便利性。

【0109】 具體地，長效接合物可以每週投予一次、每兩週投予一次、每三

週投予一次、每四週投予一次或每月一次投予，但是用劑間隔不限於此，只要在能夠提供其藥理共用的活體內濃度得以維持。

【0110】 本發明之三重促效劑之長效接合物可以藉由分次治療規程(protocol)之方式，以多劑量長時間向患者投予。

【0111】 具體地，本發明之醫藥組成物可以投予足以獲得治療效果的時段。例如，足夠時間可以是其中肥胖症及/或酒精性脂肪肝病患者的一个或多個不正常指標(諸如，體重、BMI、肝臟脂肪含量、內臟脂肪質量、血脂濃度以及葡萄糖代謝參數)可能恢復到所屬技術領域公認的正常範圍(例如，BMI小於23且肝臟脂肪含量為5%或更少)的時段，或是其中所屬技術領域中用於診斷和治療非酒精性脂肪肝疾病的指標(諸如，NAFLD活動評分(NAS)、肝細胞之細胞腫脹變性、小葉發炎的數量或纖維化評分可恢復到正常範圍。然而，可以根據醫生或開處方者的判斷適當地確定足夠的時間段，但不限於此。例如，該醫藥組成物可以投予4週、5週、6週、7週、8週、9週、10週、11週、12週、13週、14週、15週、16週、17週、18週、19週、20週、21週、22週、23週、24週、25週、26週、27週、28週、29週、30週、31週、32週、33週、34週、35週、36週、37週、38週、39週、40週、41週、42週、43週、44週、45週、46週、47週、48週、49週、50週、51週或52週或更長，但可根據病情輕重適當調整投予週期。

【0112】 本發明之醫藥組成物可以在上述投予期間每週投予一次。

【0113】 本發明之醫藥組成物可以向患有肥胖症及/或非酒精性脂肪肝病病患者投予。

【0114】 如本文所用，術語「肥胖」係指體內脂肪組織過多的狀況，並且通常是由於能量攝入超過能量消耗持續很長時間時能量失衡造成的。肥胖症作

為一種影響全身的代謝性疾病，可能增加罹患糖尿病和高血脂症的可能性，增加發生性功能障礙、關節炎以及心血管疾病的風險，並與癌症的發生有關。

【0115】 本發明之醫藥組成物可以向肥胖症患者投予，並且肥胖症個體通常可以基於身體質量指數(BMI)來確定。

【0116】 在本發明中，BMI係指體重(kg)除以身高(m)的平方得到的值，具有BMI為23 kg/m²或更高、24 kg/m²或更高、25 kg/m²或更高、26 kg/m²或更高、27 kg/m²或更高、28 kg/m²或更高、29 kg/m²或更高、30 kg/m²或更高、31 kg/m²或更高、32 kg/m²或更高、33 kg/m²或更高、34 kg/m²或更高、35 kg/m²或更高、36 kg/m²或更高、37 kg/m²或更高、38 kg/m²或更高、39 kg/m²或更高、或40 kg/m²或更高之患者可被定義為肥胖症患者。

【0117】 或者，藉由生物電阻抗分析所測量之具有25%或更高之體脂百分比的男性和具有30%或更高之體脂百分比的女性、具有90 cm或更高腰圍的男性和具有85 cm或更高腰圍的女性體型、以及彼等藉由電腦斷層掃描(CT)所測量之內臟脂肪與皮下脂肪比大於或等於0.4者被診斷為肥胖症患者。然而，本發明之醫藥組成物可以向根據所屬技術領域公知的肥胖症診斷標準被診斷患有肥胖症的患者投予。

【0118】 本發明之醫藥組成物對肥胖症患者具有減肥、減少內臟脂肪質量、降低血壓等效果。

【0119】 如本文所用，術語「非酒精性脂肪肝疾病」係指即使疾病與酒精攝入無關時，亦展現類似於酒精性肝炎的組織學發現的一類疾病，並且非酒精性脂肪肝疾病可能包括非酒精性脂肪肝(NAFL)、非酒精性脂肪肝炎(NASH)、肝纖維化以及肝硬化。具體地，本發明之非酒精性脂肪肝疾病可以包括非酒精性脂肪

肝和伴隨其的非酒精性脂肪肝炎。

【0120】 本發明之醫藥組成物可以向非酒精性脂肪肝疾病患者投予，並且非酒精性脂肪肝疾病的受試患者通常可以根據藉由藉由磁共振成像衍生的質子密度脂肪分數所測量之肝臟脂肪含量而確定。

【0121】 在本發明中，磁共振成像衍生的質子密度脂肪分數(MRI-PDFF)是使用MRI定量測量肝臟中肝臟脂肪含量的指標，而且具有肝臟脂肪含量為8%或更高、9%或更高、10%或更高、11%或更高、12%或更高、13%或更高、14%或更高、15%或更高、16%或更高、17%或更高、18%或更高、19%或更高、20%或更高、21%或更高、22%或更高、23%或更高、24%或更高、25%或更高、26%或更高、27%或更高、28%或更高、29%或更高、或30%或更高之患者可被確定為本發明之非酒精性脂肪肝疾病患者。

【0122】 或者，可以使用所屬技術領域中眾所周知的生化方法或成像方法診斷患有非酒精性脂肪肝疾病患者。例如，具有4或更高的NAFLD活動評分(NAS)、1或更高的AST/ALT比、300 dB/m或更高之藉由使用肝纖維化掃描設備之脂肪肝測量技術所獲得之受控衰減參數(controlled attenuation parameter, CAP)值，或1或更高之纖維化評分的患者為可診斷為非酒精性脂肪肝疾病患者。然而，本發明之醫藥組成物可以根據所屬技術領域中眾所周知的非酒精性脂肪肝疾病的診斷標準向被診斷為非酒精性脂肪肝疾病之患者投予。

【0123】 在本發明中，非酒精性脂肪肝疾病患者可以是僅患有特定非酒精性脂肪肝疾病的患者，但也可以是患有另一種疾病(例如，肥胖症)或多種非酒精性脂肪肝疾病的患者。例如，患者可能同時患有肥胖症和非酒精性脂肪肝疾病(例如，非酒精性脂肪肝炎(NASH))或非酒精性脂肪肝(NAFL)和非酒精性脂肪肝

炎兩者，但患者不限於此，只要可以藉由投予本發明之醫藥組成物而獲得預防或治療效果。

【0124】 本發明之醫藥組成物可具有預防或治療非酒精性脂肪肝疾病的藥理效果，諸如減輕體重、減少內臟脂肪質量、降低肝臟脂肪含量、降低血脂濃度以及改善非酒精性脂肪肝疾病患者的葡萄糖代謝參數。據此，該醫藥組成物可藉由降低脂肪變性分級、降低NAFLD活性評分(NAS)、減少肝細胞之細胞腫脹變性或小葉發炎的數量、降低纖維化評分及/或或顯著改變肝組織中 NASH 的生物標記(Cytokeratin-18 M30/65片段、增強型肝纖維化評分、Pro-C3、非侵入性評分4、纖維化-4指數或 NAFLD纖維化評分)，而對非酒精性脂肪肝疾病具有預防或治療效果。

【0125】 本發明之醫藥組成物的劑量可以根據肥胖症及/或非酒精性脂肪肝疾病的嚴重程度和投予持續時間進行調整。

【0126】 本發明之醫藥組成物可以與醫藥上可接受之賦形劑組合配製成各種劑型。例如，本發明之醫藥組成物可以配製成用於三重促效劑的投予(特別是腸胃外)之投予合適的劑型。此外，本發明之醫藥組成物可以配製成能夠維持三重促效劑或其長效接合物的藥理活性的安定劑型，但不限於此。

【0127】 例如，本發明之醫藥組成物可以配製成安瓿或多劑量形式的單位劑型。該醫藥組成物還可以配製成溶液、懸浮液、片劑、丸劑、膠囊、緩釋製劑等。

【0128】 具體地，可以將該醫藥組成物配製成用於皮下投予的可注射製劑。

【0129】 注射劑係經由皮下途徑、血管(血管內注射)或肌肉(肌內注射)直

接投予至人體中，而不經過胃腸道吸收或肝臟代謝，從而(無論其溶解度或生物利用度如何)可以直接獲得其效果。然而，有必要非常小心可能直接影響人體組織的藥物組分引起的毒性。亦即，僅基於考慮藥理作用、副作用以及耐受劑量(安全投予劑量)獲得的臨床試驗設計及其結果，可以確保胃腸外途徑的安定性。

【0130】 又，本發明之醫藥組成物可以根據醫藥領域中常用的方法配製成適合向患者身體投予之單位劑型(具體為可用於投予蛋白質藥物的形式)且經由所屬技術領域常用的腸胃外投予途徑投予，且所屬技術領域中具有通常知識者可以適當地使用皮內、靜脈內、肌內、動脈內、髓內、鞘內、心室內、肺內、經皮、皮下、腹膜內、鼻內、腸道、局部、舌下、陰道或直腸途徑作為腸胃外投予途徑。具體地，本發明之醫藥組成物可以經由皮下投予來投予。更具體地，本發明之醫藥組成物可以經由皮下投予向患者的手臂(上臂)、大腿或腹部投予，但不限於此。

【0131】 鑑於本發明之目的，該醫藥組成物可藉由在投予醫藥組成物之個體展現至少一種以下性質(a)至(f)中的至少一者，而對肥胖症及/或非酒精性脂肪肝病具有預防或治療效果：

【0132】 (a)體重減輕；

【0133】 (b)血壓降低；

【0134】 (c)肝臟中的內臟脂肪質量減少；

【0135】 (d)NAS降低；

【0136】 (e)減少肝細胞之細胞腫脹變性或小葉發炎的數量；以及

【0137】 (f)纖維化評分降低。

【0138】 具體地，與投予之初期的患者相比，在投予本發明之醫藥組成物

的患者中，脂肪含量可減少30%或更高，體重可減少5%或更高，但具體例不限於此。

【0139】本發明之醫藥組成物可以包括藥理有效量的包括或(基本上)由SEQ ID NO：1至102之胺基酸序列之一者所組成的肽(三重促效劑)，但不限於此。

【0140】在本發明中，三重促效劑可以是由下式1表示的長效接合物形式：

【0141】 [式1]

【0142】 X-L-F

【0143】本文中，X係包括SEQ ID NO：1至102之胺基酸序列之一者之肽；

【0144】 L係包含乙二醇重複單元的連接子；

【0145】 F係免疫球蛋白Fc區；以及

【0146】 -係X和L之間以及L和F之間的共價鍵。

【0147】在接合物中，X對應於本發明之三重促效劑，特別是包括或(基本上)由SEQ ID NO：1至102之胺基酸序列之一者所組成之肽。

【0148】雖然在本發明中描述為由特定SEQ ID NO：「組成」的肽，不排除可能天然發生的突變或藉由在SEQ ID NO之胺基酸序列上游或下游添加無意義序列而發生的突變或其沉默突變，只要該肽與由該胺基酸序列所組成之肽具有相同或等效的活性，且當即使存在此種序列添加或突變時，顯然屬於本發明之範疇。亦即，序列的任何部分差異皆可以落入本發明之範疇內，只要肽具有一定等級以上的同源性並且對升糖素受體具有活性。

【0149】例如，對於本發明之三重促效劑而言，參見WO 2017-116204和WO 2017-116205。

【0150】雖然沒有特別限制，與相應的受體(天然升糖素、天然GLP-1以及

天然GIP)的天然配體相比，對於升糖素、GLP-1以及GIP受體具有顯著活性水準之三重促效劑可以對至少一種受體(具體是至少兩種受體，以及更具體是所有三種升糖素、GLP-1以及GIP受體)展現約0.1%或更高、1%或更高、2%或更高、3%或更高、4%或更高、5%或更高、6%或更高、7%或更高、8%或更高、9%或更高、10%或更高、20%或更高、30%或更高、40%或更高、50%或更高、60%或更高、70%或更高、80%或更高、90%或更高、100%或更高、40%或更高之體外活性。

【0151】 對於用於測量三重促效劑脂體外活性之方法，參見本發明實驗例1，但不限於此。

【0152】 同時，肽的特徵在於具有一種或多種(具體是三種)以下i)至iii)之活性，具體為其顯著的(多種)活性：

【0153】 i)GLP-1受體之活化；ii)升糖素受體之活化；以及iii) GIP受體之活化。

【0154】 對此，受體之活化可以包括例如，其中與天然形式相比，體外活性為0.1%或更高、1%或更高、2%或更高、3%或更高、4%或更高、5%或更高、6%或更高、7%或更高、8%或更高、9%或更高、10%或更高、20%或更高、30%或更高、40%或更高、50%或更高、60%或更高、70%或更高、80%或更高、90%或更高、或100%或更高之情況，但具體例不限於此。

【0155】 此外，肽可以是相對於天然GLP-1、天然升糖素和天然GIP中任一者具有增加的體內半衰期之肽，但不限於此。

【0156】 雖然沒有特別限制，肽可以是非天然存在之肽。

【0157】 即使在本發明之接合物形式中，可以獲得對升糖素受體、GLP-1受體以及GIP受體的顯著活性，且因此接合物可以對肥胖症及/或非酒精性脂肪肝

疾病發揮預防或治療效果。

【0158】 具體地，本發明之接合物可與其天然形式相比，對升糖素受體、GLP-1受體及/或GIP受體具有0.01%或更高、0.1%或更高、0.2%或更高、0.5%或更高、0.7%或更高、1%或更高、2%或更高、3%或更高、4%或更高、5%或更高、6%或更高、7%或更高、8%或更高、9%或更高、10%或更高、20%或更高、30%或更高、40%或更高、50%或更高、60%或更高、70%或更高、80%或更高、90%或更高、100%或更高之體外活性，但不限於此。

【0159】 在本發明之特定態樣中，三重促效劑可以包括SEQ ID NO：1至102之胺基酸序列之一者、(基本上)由SEQ ID NO：1至102之胺基酸序列之一者所組成、或包括與SEQ ID NO：1至102之胺基酸序列之一者具有60%或更高、65%或更高、70%或更高、75%或更高、80%或更高、85%或更高、90%或更高、91%或更高、92%或更高、93%或更高、94%或更高、或95%或更高的序列同一性之肽，但不特別限於此，只要該肽對肥胖或非酒精性脂肪肝疾病具有治療效果。

【0160】 在本發明之另一個特定態樣中，三重促效劑可以包括SEQ ID NO：21、22、27、30至32、34、36、37、42、43、50至56、58、64至80、83、86、91、93以及96至102之胺基酸序列之一者、(基本上)由SEQ ID NO：21、22、27、30至32、34、36、37、42、43、50至56、58、64至80、83、86、91、93以及96至102之胺基酸序列之一者所組成、或包括與SEQ ID NO：21、22、27、30至32、34、36、37、42、43、50至56、58、64至80、83、86、91、93以及96至102之胺基酸序列之一者具有60%或更高、65%或更高、70%或更高、75%或更高、80%或更高、85%或更高、90%或更高、91%或更高、92%或更高、93%或更高、94%或更高、或95%或更高的序列同一性之肽，但不特別限於此。

【0161】 在本發明之另一個特定態樣中，三重促效劑可以包括SEQ ID NO：21、22、31、32、37、42、43、50、53、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、75、76、77、79、96、97、98、99、100、101以及102之胺基酸序列之一者，(實質上)由SEQ ID NO：21、22、31、32、37、42、43、50、53、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、75、76、77、79、96、97、98、99、100、101以及102之胺基酸序列之一者所組成，或包括與SEQ ID NO：21、22、31、32、37、42、43、50、53、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、75、76、77、79、96、97、98、99、100、101以及102之胺基酸序列之一者具有60%或更高、65%或更高、70%或更高、75%或更高、80%或更高、85%或更高、90%或更高、91%或更高、92%或更高、93%或更高、94%或更高、或95%或更高的序列同一性之肽，但不特別限於此。

【0162】 在本發明之另一個特定態樣中，三重促效劑可以包括SEQ ID NO：42、43以及50之胺基酸序列之一者，(實質上)由SEQ ID NO：42、43以及50之胺基酸序列之一者所組成，或包括與SEQ ID NO：42、43以及50之胺基酸序列之一者具有60%或更高、65%或更高、70%或更高、75%或更高、80%或更高、85%或更高、90%或更高、91%或更高、92%或更高、93%或更高、94%或更高、或95%或更高的序列同一性之肽，但不特別限於此。

【0163】 如本文所用，術語「同源性」或「同一性」係指兩個給定的胺基酸序列或核苷酸序列之間的相關程度並且可以表示為百分比。

【0164】 術語同源性和同一性通常可以互換使用。

【0165】 兩個給定肽序列之間的序列同源性、相似性或同一性可以使用任意已知的電腦演算法(諸如，“FASTA”程式)，其係藉由使用例如由如Pearson et al

(1988) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:2444所引入之默認參數來確定。或者，在歐洲分子生物學開放軟體組(European Molecular Biology Open Software Suite, EMBOSS)套件(Rice *et al.*, 2000, *Trends Genet.* 16:276–277)(版本5.0.0或更高版本)之Needleman程式中進行的Needleman-Wunsch 演算法(1970, *J. Mol. Biol.* 48:443–453)可用於測定兩個給定肽序列之間的序列同源性、相似性或同一性(包括GCG程序套件(Devereux, J. *et al.*, *Nucleic Acids Research* 12:387 (1984))、BLASTP、BLASTN、FASTA (Atschul, S. F. *et al.*, *J MOLEC BIOL* 215:403 (1990) ; *Guide to Huge Computers*, Martin J. Bishop, ed., Academic Press, San Diego, 1994, and CARILLO *et al.* (1988) *SIAM J Applied Math* 48:1073)。例如，同源性、相似性或同一性可以使用來自美國國家生物技術資訊中心(National Center for Biotechnology)資料庫或 ClustalW的BLAST而確定。

【0166】 如Smith and Waterman, *Adv. Appl. Math* (1981) 2:482中所揭露，多肽之間之同源性、相似性或同一性可以藉由使用GAP電腦程式(諸如，Needleman *et al.* (1970), *J Mol Biol.* 48:443引入的程式)比較序列資訊而確定。簡而言之，GAP程式將相似性定義為相似的排比(aligned)之符號(亦即，胺基酸)的數量除以兩個序列中較短序列中的符號總數量。GAP程序的默認參數可能包括：(1)二元比較矩陣(含有針對同一性之值1且針對無同一性之值0)，其係Schwartz and Dayhoff, eds., *Atlas Of Protein Sequence And Structure*, National Biomedical Research Foundation, pp. 353–358 (1979)中揭露之Gribskov *et al.* (1986) *Nucl. Acids Res.* 14:6745之加權比較矩陣(或EDNAFULL(NCBI NUC4.4之EMBOSS版本)替換矩陣；(2)每個空位罰分3.0，且每個空位中之每個符號0.10額外罰分0.10(或空位開放罰分10且空位 延長罰分0.5)；以及(3)端空位無罰分。因此，如本文所用，術語

「同源性」或「同一性」係表示序列之間的相關性。

【0167】 三重促效劑可以包括分子內橋(例如，共價交聯或非共價交聯)，且具體地，其呈包括環的形式，例如，呈在三重促效劑的第16和20個胺基酸之間形成環的形式，但不限於此。

【0168】 環的非限制性實例可包括內醯胺橋(或內醯胺環)。

【0169】 此外，三重促效劑包括所有經修飾以包括環或包括能夠在目標位置形成環的胺基酸者。

【0170】 例如，三重促效劑可係其中一對第16個和第20個胺基酸對經能夠形成環之谷胺酸或離胺酸取代之三重促效劑，但不限於此。

【0171】 三重促效劑中之胺基酸側鏈之間可以形成環，例如，離胺酸側鏈和谷胺酸側鏈之間可以形成內醯胺環，但不限於此。

【0172】 又，雖然沒有特別限制，但在本發明之肽中，一些胺基酸可以經不同的胺基酸或非天然化合物取代以避免被降解酶識別以增加活體內半衰期。

【0173】 具體地，肽可係經由取代三重促效劑的胺基酸序列中的第二個胺基酸而避免被降解酶識別而具有增加的活體內半衰期的肽，但是為了避免被活生物中的降解酶識別之任何胺基酸的取代或修飾可以不受限制地使用。

【0174】 此外，用於製備三重促效劑的此類修飾包括使用L型或D型胺基酸及/或非天然胺基酸的修飾；及/或天然序列的修飾(諸如，側鏈官能基的修飾)、分子內共價鍵的修飾(諸如，側鏈之間的環形成、甲基化、醯化、泛素化、磷酸化、胺基己烷化和生物素化)。

【0175】 又，該修飾包括將一個或多個胺基酸加到三重促效劑的胺基端及/或羧基端的所有情況。

【0176】 經取代或添加之胺基酸不僅可以是人類蛋白質中常見的20個胺基酸，還可以是非典型胺基酸或非天然存在的胺基酸。非典型胺基酸的商業來源可能包括Sigma-Aldrich、ChemPep Inc.以及Genzyme Pharmaceuticals。包括這些胺基酸和典型肽序列的肽可以從商業肽供應商處合成和購買，例如American Peptide Company、Bachem或Anygen(韓國)。

【0177】 胺基酸衍生物也可以同樣的方式獲得；例如，可以使用4-咪唑乙酸。

【0178】 此外，根據本發明之三重促效劑可以呈多種形式，其中N端及/或C端係經化學修飾或被有機基團保護，或者可以將胺基酸加到肽，以用於保護生物免受蛋白酶的侵害，同時增加其安定性。

【0179】 特別地，由於化學合成肽的N端和C端帶電，N-端可以經乙醯化及/或C端可經醯胺化以去除電荷，但本發明不限於此。

【0180】 此外，根據本發明之三重促效劑包括所有彼等呈三重促效劑本身、其鹽(例如，肽之醫藥上可接受之鹽)或其溶劑化物形式者。又，肽可以呈任意醫藥上可接受之形式。

【0181】 鹽的類型沒有特別限制。然而，鹽較佳為呈對個體(例如，哺乳動物)安全且有效之形式，但不限於此。

【0182】 術語「醫藥上可接受的」係指可以有效地用於藥物-醫學決策之範疇內的所欲用途而不引起過度毒性、刺激、過敏反應等的物質。

【0183】 如本文所用，術語「醫藥上可接受的鹽」係指源自醫藥上可接受的無機酸、有機酸或鹼的鹽。合適的酸的實例可以包括鹽酸、溴酸、硫酸、硝酸、過氯酸、富馬酸、馬來酸、磷酸、乙醇酸、乳酸、水楊酸、琥珀酸、甲苯-對-磺

酸、酒石酸、乙酸、檸檬酸、甲磺酸、甲酸、苯甲酸、丙二酸、萘-2-磺酸以及苯磺酸。源自合適的鹼的鹽的實例可包括鹼金屬(諸如，鈉和鉀)、鹼土金屬(諸如，鎂)和銨。

【0184】此外，如本文所用，術語「溶劑化物」係指根據本發明之三重促效劑或其鹽與溶劑分子的複合物。

【0185】同時，本發明之肽可以根據長度，藉由所屬技術領域中眾所周知的方法合成，例如藉由自動肽合成儀，並且可以藉由基因工程技術生產。

【0186】具體地，本發明之肽可以藉由標準合成方法、重組表現系統或所屬技術領域已知的任何其他方法來製備。因此，根據本發明之肽可以藉由複數種方法合成，包括以下方法：

【0187】(a)藉由固相或液相方法以分步或片段組裝的方式合成肽，然後分離和純化最終肽產物之方法；

【0188】(b)在宿主細胞中表現編碼肽的核酸構建體，並從宿主細胞培養物中回收表現產物之方法；

【0189】(c)進行編碼肽的核酸構建體的體外無細胞表現，並從中回收表現產物之方法；或者

【0190】藉由方法(a)、(b)和(c)的任何組合獲得肽片段、藉由連接肽片段而獲得肽，且接著回收肽之方法。

【0191】在上式1的長效接合物中，F是能夠增加對應於構成本發明接合物的部分的組分之X的半衰期的物質，亦即，對升糖素受體、GLP-1受體以及GIP受體具有活性的肽。

【0192】F和X可以藉由共價化學鍵或非共價化學鍵彼此連接，且F和X可

以藉由共價化學鍵、非共價化學鍵、或其任何組合而經由L彼此連接。

【0193】更具體地，X和L以及L和F可以經由共價鍵彼此連接，並且接合物是其中X、L和F經由共價鍵以如式1中所示的順序連接的接合物。

【0194】F可以是免疫球蛋白Fc區，且更具體地，免疫球蛋白Fc區可以源自IgG，但不限於此。

【0195】如本文所用，術語“免疫球蛋白Fc區”是指包括重鏈恆定域2(CH₂)及/或重鏈恆定域3(CH₃)的區，排除免疫球蛋白之重鏈和輕鏈可變域。免疫球蛋白Fc區可以是構成本發明接合物部分的組分。

【0196】在整個說明書中，Fc區不僅包括從免疫球蛋白的木瓜蛋白酶切割獲得的天然序列，還包括其衍生物，例如與天然序列不同並且藉由經由刪除、增加、非保守或保守取代，或其任何組合修飾一個或多個胺基酸殘基獲得的序列。

【0197】F具有其中兩條多肽鏈藉由二硫鍵彼此連接的結構，其中該連接是由兩條鏈之一的氮原子形成，但不限於此。經由氮原子的連接可以藉由離胺酸的ε-胺基或N-端胺基的還原胺化而形成。

【0198】還原胺化係指其中一種反應物的胺基(amine group)或胺基(amino group)與另一反應物的醛基(能夠參與反應性胺化的官能基)反應而生成胺，且接著藉由還原而形成胺鍵之反應作為所屬技術領域公知之有機合成反應。

【0199】在特定具體例中，F可以經由N-端脯胺酸的氮原子連接，但不限於此。

【0200】作為構成本發明式1接合物的部分的組分之免疫球蛋白Fc區可以具體對應於上述式1中的F。

【0201】免疫球蛋白Fc區可包括重鏈恆定域中的鉸鏈區，但不限於此。

【0202】 在本發明中，免疫球蛋白Fc區可以包括在N端之特定的鉸鏈序列。

【0203】 如本文所用，術語「鉸鏈序列」是指位於重鏈且經由中間二硫鍵形成免疫球蛋白Fc區之二聚體的位點。

【0204】 在本發明中，鉸鏈序列可以突變為藉由刪除包括流動胺基酸序列的鉸鏈序列的一部分而具有一個半胱胺酸殘基，但不限於此。

【0205】 Glu-Ser-Lys-Tyr-Gly-Pro-Pro-Cys-Pro-Ser-Cys-Pro (SEQ ID NO : 103)。

【0206】 鉸鏈序列可以包括一個半胱胺酸殘基，因為位置8或11 處的半胱胺酸殘基從SEQ ID NO : 103 的鉸鏈序列中刪除。本發明之鉸鏈序列可以由3至12個僅包括一個半胱胺酸殘基胺基酸所組成，但不限於此。更具體地，本發明之鉸鏈序列可具有如下序列：Glu-Ser-Lys-Tyr-Gly-Pro-Pro-Pro-Ser-Cys-Pro (SEQ ID NO : 104)、Glu-Ser-Lys-Tyr-Gly-Pro-Pro-Cys-Pro-Ser-Pro (SEQ ID NO : 105)、Glu-Ser-Lys-Tyr-Gly-Pro-Pro-Cys-Pro-Ser (SEQ ID NO : 106)、Glu-Ser-Lys-Tyr-Gly-Pro-Pro-Cys-Pro-Pro (SEQ ID NO : 107)、Lys-Tyr-Gly-Pro-Pro-Cys-Pro-Ser (SEQ ID NO : 108)、Glu-Ser-Lys-Tyr-Gly-Pro-Pro-Cys (SEQ ID NO : 109)、Glu-Lys-Tyr-Gly-Pro-Pro-Cys (SEQ ID NO : 110)、Glu-Ser-Pro-Ser-Cys-Pro (SEQ ID NO : 111)、Glu-Pro-Ser-Cys-Pro (SEQ ID NO : 112)、Pro-Ser-Cys-Pro (SEQ ID NO : 113)、Glu-Ser-Lys-Tyr-Gly-Pro-Pro-Ser-Cys-Pro (SEQ ID NO : 114)、Lys-Tyr-Gly-Pro-Pro-Pro-Ser-Cys-Pro (SEQ ID NO : 115)、Glu-Ser-Lys-Tyr-Gly-Pro-Ser-Cys-Pro (SEQ ID NO : 116)、Glu-Ser-Lys-Tyr-Gly-Pro-Pro-Cys (SEQ ID NO : 117)、Lys-Tyr-Gly-Pro-Pro-Cys-Pro (SEQ ID NO : 118)、Glu-Ser-Lys-Pro-Ser-Cys-Pro (SEQ ID NO : 119)、Glu-Ser-Pro-Ser-Cys-Pro (SEQ ID NO : 99222

120)、Glu-Pro-Ser-Cys (SEQ ID NO : 121)、或Ser-Cys-Pro (SEQ ID NO : 122)。

【0207】更具體地，鉸鏈序列可以包括胺基酸序列SEQ ID NO : 113 (Pro-Ser-Cys-Pro)或SEQ ID NO : 122 (Ser-Cys-Pro)，但不限於此。

【0208】本發明之免疫球蛋白Fc區可係在鉸鏈序列存在下，包括免疫球蛋白Fc區的兩個鏈分子的二聚體形式，並且根據本發明之由式1所示的接合物可以呈其中連接子的一端與免疫球蛋白Fc區的一條鏈連接為二聚體之形式，但不限於此。

【0209】如本文所用，術語「N-端」係指蛋白質或多肽的胺基端，並且可以包括位於胺基端或從胺基端算起1、2、3、4、5、6、7、8、9、10個或更多個胺基酸。本發明之免疫球蛋白Fc區可包括位於N端的鉸鏈序列，但不限於此。

【0210】又，本發明之免疫球蛋白Fc區可係包括重鏈恆定域1(CH1)及/或輕鏈恆定域1(CL1)的一部分或全部的延伸的Fc區，排除免疫球蛋白的重鏈和輕鏈可變結構域，只要免疫球蛋白Fc區與天然類型相比具有實質上相同或增強的效果。又，免疫球蛋白Fc區可係去除了對應於CH2及/或CH3的胺基酸序列的相當長的部分的區。

【0211】例如，本發明之免疫球蛋白Fc區可以包括1)CH1結構域、CH2結構域、CH3結構域以及CH4結構域，2)CH1結構域和CH2結構域，3)CH1結構域和CH3結構域，4)CH2結構域和CH3結構域，5)選自CH1結構域、CH2結構域、CH3結構域以及CH4結構域的一個或多個結構域與免疫球蛋白鉸鏈區(或鉸鏈區的一部分)之組合，或6)重鏈恆定域和輕鏈恆定域中之各二聚體，但不限於此。

【0212】又，在根據本發明之具體例的長效接合物中，免疫球蛋白Fc區F呈由兩條多肽鏈所形成的二聚體形式，並且經由單個包括乙二醇重複單元之連接

子L與X共價連接。在該具體例之特定實例中，X僅經由連接子L與Fc區二聚體F的兩條多肽鏈之一者共價連接。在該具體例之更特定實例中，X經由連接子L僅共價連接Fc區二聚體F的兩條多肽鏈中之一者。在該具體例之最特定實例中，F是同源二聚體。

【0213】 在另一個特定具體例中，免疫球蛋白Fc區F呈由兩條多肽鏈所形成之二聚體形式，且L的一端僅與兩條多肽鏈多肽之一連接，但不限於此。

【0214】 在根據本發明之另一個具體例之長效接合物中，兩個X分子也可以呈二聚體形式對稱連接一個Fc區。在這種情況下，免疫球蛋白Fc和X可以藉由非肽基連接子彼此連接。然而，該具體例不限於此。

【0215】 此外，本發明之免疫球蛋白Fc區不僅包括天然胺基酸序列，還包括其序列衍生物。胺基酸序列衍生物是由於一個或多個胺基酸殘基的刪除、插入、非保守或保守取代或其任何組合而不同於天然胺基酸序列的序列。

【0216】 例如，在IgG Fc中，已知在位置214至238、297至299、318至322或327至331位的連接中重要的胺基酸殘基可用作修飾的合適靶標。

【0217】 又，其他各種衍生物亦係可能者，可使用包括彼等其中能夠形成二硫鍵的區經刪除或某些胺基酸殘基在天然Fc形式的N端被去除，並且甲硫胺酸殘基被加到其中者。此外，為了去除效應子功能，可以在補體結合位點(諸如，C1q結合位點和抗體依賴性細胞介導的細胞毒性(antibody dependent cell mediated cytotoxicity, ADCC)位點發生刪除。在國際專利公開案號WO 97/34631和WO 96/32478中揭露了製備免疫球蛋白Fc區的此類序列衍生物的技術。

【0218】 通常不會改變分子的活性之蛋白質和肽中的胺基酸交換係所屬技術領域已知者(H. Neurath, R. L. Hill, *The Proteins*, Academic Press, New York,

1979)。最常見的交換是雙向之 Ala/Ser、Val/Ile、Asp/Glu、Thr/Ser、Ala/Gly、Ala/Thr、Ser/Asn、Ala/Val、Ser/Gly、Thy/Phe、Ala/Pro、Lys/Arg、Asp/Asn、Leu/Ile、Leu/Val、Ala/Glu以及Asp/Gly。若需要，Fc 區可以藉由磷酸化、硫酸化、丙烯酸化、糖基化、甲基化、法呢基化、乙醯化、醯胺化等進行修飾。

【0219】 上述Fc衍生物是具有與本發明之Fc區相當的生物活性或對熱、pH等具有改善的結構安定性的衍生物。

【0220】 此外，這些Fc 區可以從人類和其他動物(包括牛、山羊、豬、小鼠、兔、倉鼠、大鼠和豚鼠)中單離之天然形式獲得，或者可係從轉化的動物細胞或微生物獲得之其重組體或衍生物。關於這點，它們可以藉由從人類或動物生物中單離完整免疫球蛋白並用蛋白水解酶處理它們，而從天然免疫球蛋白獲得。木瓜蛋白酶將天然免疫球蛋白切割成Fab和Fc區，且胃蛋白酶處理導致pF'c和F(ab)₂片段的產生。可以對這些片段進行尺寸排阻層析術以單離Fc或pF'c。在更特定實例中，人源Fc區是從微生物獲得的重組免疫球蛋白Fc區。

【0221】 此外，免疫球蛋白Fc區可具有天然聚醣或與天然類型相比增加或減少的聚醣，或呈去糖基化形式。免疫球蛋白Fc之聚醣的增加、減少或去除可以藉由所屬技術領域中常用的任何方法實現，諸如化學方法、酶促方法以及使用微生物的基因工程方法。關於這點，藉由去除聚醣而獲得之免疫球蛋白Fc區與補體c1q的結合親和力顯著降低，且抗體依賴性細胞毒性或補體依賴性細胞毒性減少或喪失，因此不會在活的生物誘導不必要的免疫反應。基於此，考慮到本發明之目的，去糖基化或非糖基化的免疫球蛋白Fc區可能更適合作為藥物載劑。

【0222】 如本文所用，術語「去糖基化」係指使用酶從其中去除聚醣的Fc區，並且術語「無糖基化」係指未糖基化且在原核生物中產生的Fc區，更具體地，

大腸桿菌。

【0223】 同時，免疫球蛋白Fc區可以源自人類或動物，諸如，牛、山羊、豬、小鼠、兔、倉鼠、大鼠或豚鼠。在更特定具體例中，免疫球蛋白Fc區可以源自人類。

【0224】 此外，免疫球蛋白Fc區可以源自IgG、IgA、IgD、IgE或IgM，或其任意之組合或雜交體。在更特定具體例中，免疫球蛋白Fc區源自人類血液中最豐富的蛋白質IgG或IgM，在一個甚至更特定具體例中，免疫球蛋白Fc區源自已知可增強配體結合蛋白半衰期的IgG。在又甚至更特定具體例中，免疫球蛋白Fc區是IgG4 Fc區，以及在最特定具體例中，免疫球蛋白Fc區係源自人類IgG4的無糖基化Fc區，但不限於此。

【0225】 此外，在特定具體例中，免疫球蛋白Fc片段可係呈同源二聚體形式(其中兩個單體經由位於各單體之位置3之胺基酸半胱胺酸之間所形成的二硫鍵(鍵間)彼此連接)的人類IgG4 Fc片段。關於這點，同源二聚體之各單體具有或可以具有獨立的兩個內部二硫鍵(鍵內)，亦即，位置35和95之半胱胺酸之間所形成之二硫鍵和位置141和199之半胱胺酸之間所形成之二硫鍵。各單體可由221個胺基酸所組成，且構成同源二聚體的胺基酸總數可為442個，但不限於此。具體地，免疫球蛋白Fc片段可以呈同源二聚體形式(其中各具有SEQ ID NO: 123之胺基酸序列(由221個胺基酸組成)的兩個單體經由各單體之位置3之半胱胺酸之間的二硫鍵彼此連接)，其中同源二聚體之單體各自獨立地具有位置35和95之半胱胺酸之間所形成的二硫鍵和位置141和199之半胱胺酸之間所形成的二硫鍵，但不限於此。

【0226】 同時，如本文所用，與免疫球蛋白Fc區相關的術語「組合」係指

在形成二聚體或多聚體時，編碼相同來源的單鏈免疫球蛋白Fc區的多肽與不同來源的單鏈多肽之間形成連接。亦即，二聚體或多聚體可以使用選自由IgG Fc、IgA Fc、IgM Fc、IgD Fc以及IgE Fc片段所組成群組中的兩個或更多個Fc片段而製備。

【0227】 如本文所用，術語「雜交體」係指對應於兩個或更多個不同來源的免疫球蛋白Fc片段的序列存在於免疫球蛋白恆定域的單鏈中。在本發明中，各種雜交體是可能的。亦即，域雜交體可以由選自由IgG Fc、IgM Fc、IgA Fc、IgE Fc以及IgD Fc之CH1、CH2、CH3以及CH4所組成群組之1至4個域組成，並且可以進一步包括鉸鏈區。

【0228】 同時，IgG亦可以分為IgG1、IgG2、IgG3和IgG4亞類，其在本發明中可以組合或雜交。較佳係IgG2和IgG4亞類，且最佳係很少具有效應子功能(諸如，補體依賴性細胞毒性(complement dependent cytotoxicity, CDC))的IgG4的Fc片段。

【0229】 此外，與天然GLP-1、GIP或升糖素相比，或與未用F修飾的X相比，上述接合物可具有改善的長效特性，並且接合物可包括封閉在可生物降解的奈米粒子中的形式以及彼等上述者，但不限於此。

【0230】 同時，L可以是非肽基連接子，例如，包括乙二醇重複單元的連接子。

【0231】 在本發明中，「非肽基連接子」包括其中連接了兩個或更多個重複單元的生物相容性聚合物。重複單元經由除了肽鍵之外的任何共價鍵相互連接。非肽基連接子可以是構成本發明之接合物的部分的組分並且對應於式1中的L。

【0232】 作為本發明中使用的非肽基連接子，可以不受限制地使用對活生物中的蛋白酶具有抗性的任何聚合物。在本發明中，非肽基連接子可以與非肽基聚合物互換使用。

【0233】 另外，與F對應的多肽連接的本發明之非肽基連接子不僅可係一種聚合物，還可係不同類型聚合物的組合。

【0234】 在一特定具體例中，接合物可為其中F和X經由包括在兩端結合F的反應基團(特別是免疫球蛋白Fc區)且另一個結合X(特別是三重促效劑)之非肽基連接子彼此共價連接者。

【0235】 具體地，在本發明中，非肽基連接子可以在兩端包括反應性基團以藉由反應形成構成接合物的另一組分的接合物。在兩端具有反應性官能基的非肽基連接子經由反應基團與式1的X和F結合的情況下，非肽基連接子或非肽基聚合物可被命名為非肽基聚合物連接子部分或非肽基連接子連接單元。

【0236】 雖然沒有特別限制，非肽基連接子可係包括乙二醇重複單元的連接子，例如聚乙二醇，以及所屬技術領域中已知的並且在所屬技術領域技術水準容易製備的任何衍生物屬於本發明之範疇。

【0237】 非肽基連接子的重複單元可以是乙二醇重複單元，且具體地，非肽基連接子可以包括乙二醇重複單元和在其兩端用於製備接合物的官能基。在根據本發明之長效接合物中，X可以經由官能基與F連接，但不限於此。在本發明中，非肽基連接子可以包括兩個、三個或更多個官能基，其可以相同或不同，但不限於此。

【0238】 具體地，連接子可以是由以下化學式2表示的聚乙二醇(PEG)，但不限於此：

【0239】 [式2]



【0240】

【0241】 在式2中，n可為10至2400，n可為10至480，或n可為50至250，但不限於此。

【0242】 在長效接合物中，PEG部分不僅可以包括 $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n$ -結構和插入在連接元素和 $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n$ -結構之間的氧原子，但不限於此。

【0243】 此外，在特定具體例中，接合物可以具有其中三重促效劑(X)經由包括乙二醇重複單元的連接子藉由共價鍵連接免疫球蛋白Fc區(F)之結構，但不限於此。

【0244】 聚乙二醇是包括所有形式的乙二醇均聚體、PEG共聚體以及經單甲基取代之PEG聚合物(mPEG)的術語，但不限於此。

【0245】 用於本發明之非肽基連接子可以是包括對活生物中的蛋白酶有抗性的乙二醇重複單元的任何聚合物，但不限於此。非肽基聚合物的分子量可大於0 kDa且小於約100 kDa，在約1 kDa至約100 kDa的範圍內，特別為約1 kDa至約20kDa，或約1kDa至約10 kDa，但不限於此。此外，與F對應的多肽連接的本發明之非肽基連接子不僅可以包括單一類型的聚合物，還可以包括不同類型的聚合物的組合。

【0246】 具體地，非肽基連接子在未連接F和X的狀態下在兩端包括反應性基團並且經由反應性基團連接F和X。

【0247】 在特定具體例中，非肽基連接子的兩個端可以分別連接F(例如，

免疫球蛋白Fc區)的胺基或硫醇基以及X的胺基或硫醇基。

【0248】 具體地，非肽基聚合物可以包括在兩端分別與F(例如，免疫球蛋白Fc區)和X連接的反應基團，特別是分別與N-端的胺基或X或F(例如，免疫球蛋白Fc區)的半胱胺酸的離胺酸或硫醇基團連接的反應基團，但不限於此。

【0249】 此外，與F(例如，免疫球蛋白Fc區)連接的反應基團，和X可以選自由醛基、馬來醯亞胺基和琥珀醯亞胺衍生物所組成群組，但不限於此。

【0250】 在以上描述中，醛基可以是丙醛基或丁醛基，但不限於此。

【0251】 在以上描述中，琥珀醯亞胺衍生物可以是戊酸琥珀醯亞胺酯、甲基丁酸琥珀醯亞胺酯、甲基丙酸琥珀醯亞胺酯、丁酸琥珀醯亞胺酯、丙酸琥珀醯亞胺酯、*N*-羥基琥珀醯亞胺、羥基琥珀醯亞胺、羧甲基琥珀醯亞胺、碳酸琥珀醯亞胺酯，但不限於此。

【0252】 非肽基連接子可經由此類反應性基團連接X和F，但不限於此。

【0253】 藉由醛鍵之還原胺化產生的最終產物比藉由醯胺鍵產生者更安定。醛反應基團選擇性地與低pH之N端反應以與在高pH(例如，在9.0的pH下)之離胺酸殘基形成共價鍵。

【0254】 此外，非肽基連接子的兩端的反應基團可以為相同或不同，例如，可以在一端提供馬來醯亞胺基，且可在另一端提供醛基、丙醛基或丁醛基。然而，反應基團沒有特別限制，只要F(特別是免疫球蛋白Fc區)和X可以連接非肽基連接子的各個端。

【0255】 例如，非肽基連接子可以在一端包含馬來醯亞胺基團並且在另一端包含醛基團、丙醛基團或丁醛基團作為反應性基團。

【0256】 當在兩端具有羥基作為反應基團的聚乙二醇用作非肽基聚合物

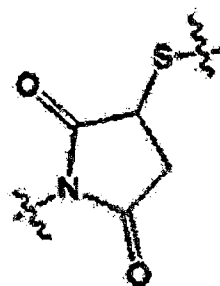
時，可以藉由已知化學反應將羥基活化為各種反應基團來製備根據本發明之長效蛋白質接合物，或使用市售具有修飾之反應基團之聚乙二醇。

【0257】 在特定具體例中，非肽基聚合物可以連接半胱胺酸殘基，更特別是半胱胺酸的-SH基，但不限於此。

【0258】 例如，非肽基聚合物可以連接對應於X之位置10的半胱胺酸殘基、位置13的半胱胺酸殘基、位置15的半胱胺酸殘基、位置17的半胱胺酸殘基、位置19的半胱胺酸殘基、位置21的半胱胺酸殘基、位置24的半胱胺酸殘基、位置28的半胱胺酸殘基、位置29的半胱胺酸殘基、位置30的半胱胺酸殘基、位置31的半胱胺酸殘基、位置40位半胱胺酸殘基或位置41的半胱胺酸殘基，但不限於此。具體地，非肽基聚合物的反應基團可以連接半胱胺酸殘基的-SH基，且反應基團係如上所述。

【0259】 當使用馬來醯亞胺-PEG-醛時，馬來醯亞胺基團可以經由硫醚鍵連接X的-SH基，且醛基可以經由還原胺化連接F(特別是免疫球蛋白Fc區)的-NH₂基團，但僅係一個示例且本發明不限於此。

【0260】 位於PEG一端的氧原子經由具有-CH₂CH₂CH₂-結構的連接子官能基經由還原性烷基化與免疫球蛋白Fc區的N-端胺基連接以形成-PEG-O-CH₂CH₂CH₂NH-免疫球蛋白Fc結構。PEG的另一端可以經由硫醚鍵連接位於三重



促效劑半胱胺酸處的硫原子。上述硫醚鍵可具有 結構。

【0261】 然而，具體例不限於彼等上述者，而僅係一個示例。

【0262】 在另一個特定具體例中，非肽基聚合物可以連接離胺酸殘基，更特別為X的離胺酸的胺基，但不限於此。

【0263】 此外，在接合物中，非肽基聚合物的反應基團可以連接位於免疫球蛋白Fc區N端的-NH₂基，但僅係一個示例。

【0264】 除非另有說明，在說明書或申請專利範圍的技術中揭露的關於本發明之“肽”或其中肽與生物相容性材料共價連接的「接合物」的詳細描述可不僅適用於肽或接合物，而是亦適用於肽或接合物之鹽(例如，肽的醫藥上可接受之鹽)或其溶劑化物形式。因此，雖然在說明書中僅描述了「肽」或「接合物」，但其描述也可應用於其特定鹽、其特定溶劑化物和特定鹽的溶劑化物。此類鹽可以是例如醫藥上可接受之鹽的形式。鹽的類型沒有特別限制。然而，鹽在哺乳動物中可以是安全有效的形式，但不限於此。

【0265】 以上給定的描述還可以應用於其他特定具體例或其他態樣，但不限於此。

【0266】 本發明之醫藥組成物可進一步包括醫藥上可接受之載劑、賦形劑或稀釋劑。醫藥上可接受之載劑、賦形劑或稀釋劑可以是非天然存在者。

【0267】 如本文所用，術語「醫藥上可接受的」係指足以展現治療效果而不引起副作用的量，並且可以由所屬技術領域中具有通常知識者基於醫學領域中眾所周知的因素容易地確定，諸如，疾病類型、患者的年齡、體重、健康狀況、性別，以及患者對藥物的敏感性、投予途徑、投予方式、投予頻率、療程、以及聯合或同時使用的藥物。

【0268】 本發明之醫藥組成物可進一步包括醫藥上可接受之載劑。由於醫藥上可接受之載劑是緩衝液、保存劑、鎮痛劑、增溶劑、等滲劑和安定劑，可以

組合使用，但不限於此。

【0269】 本發明之醫藥組成物包含藥理有效量的三重促效劑或其長效接合物，特別為0.5 mg至8 mg的劑量，並且每週一次投予於肥胖症及/或非酒精性脂肪肝疾病患者。

【0270】 此類每週一次以0.5 mg至8 mg的劑量投予在技術上是重要的，因為這些是經由對肥胖症及/或非酒精性脂肪肝疾病患者進行的臨床試驗證明的獲得療效、藥物耐受性和安定性的最佳用劑間隔和劑量，且投予本發明之醫藥組成物可獲得對肥胖症及/或非酒精性脂肪肝疾病的實質性預防和治療效果。

【0271】 本發明之另一個態樣提供了一種預防或治療肥胖症及/或非酒精性脂肪肝疾病之方法，其包括向肥胖症及/或非酒精性脂肪肝疾病之患者每週一次以0.5 mg至8 mg之劑量經由腸胃外投予投予三重促效劑之長效接合物。

【0272】 具體地，預防或治療肥胖症及/或非酒精性脂肪肝疾病之方法包括包括向肥胖症及/或非酒精性脂肪肝疾病之患者每週一次以0.5 mg至8 mg之劑量經由腸胃外投予(特別為皮下投予)投予三重促效劑之長效接合物，但不限於此。

【0273】 三重促效劑、長效接合物、醫藥組成物、肥胖症、非酒精性脂肪肝疾病和投予係如上所述。

【0274】 本發明之另一個態樣提供了三重促效劑之長效接合物或包含該長效接合物之組成物於製備用於預防或治療肥胖症及/或非酒精性脂肪肝疾病之藥物中之用途。

【0275】 具體地，三重促效劑之長效接合物可以每週一次以0.5 mg至8 mg的劑量經由腸胃外投予(特別為皮下投予)向肥胖症及/或非酒精性脂肪肝疾病患者投予，但不限於此。

【0276】 三重促效劑、長效接合物、醫藥組成物、肥胖症、非酒精性脂肪肝疾病和投予係如上所述。

【0277】 本發明之另一個態樣提供了一種用於預防或治療肥胖症及/或非酒精性脂肪肝疾病之製劑，其包括三重促效劑之長效接合物。

【0278】 具體地，該製劑以每週一次以0.5 mg至8 mg的劑量經由腸胃外投予(特別為皮下投予)向肥胖症及/或非酒精性脂肪肝疾病患者投予，但不限於此。

【0279】 三重促效劑、長效接合物、醫藥組成物、肥胖症、非酒精性脂肪肝疾病和投予係如上所述。

【0280】 在下文中，將參考以下實施例更詳細地描述本發明。然而，以下實施例僅用於舉例說明本發明，且本發明之範疇不限於此。

【0281】 實施例1：三重促效劑之製備

【0282】 製備對GLP-1、GIP和升糖素受體均具有活性之三重促效劑，且其序列列於下表1中。

【0283】表1

SEQ ID NO :	序列	資訊
1	HXQGTFTSDVSSYLDGQAAKEFIAWLVKGC	
2	HXQGTFTSDVSSYLDGQAQKEFIAWLVKGC	
3	HXQGTFTSDVSSYLLGQAAKQFIAWLVKGGGPS SGAPPPSC	
4	HXQGTFTSDVSSYLLGQQQKEFIAWLVKGC	
5	HXQGTFTSDVSSYLLGQQQKEFIAWLVKGGGPS SGAPPPSC	
6	HXQGTFTSDVSSYLDGQAAKEFVAWLLKGC	
7	HXQGTFTSDVSKYLDGQAAKEFVAWLLKGC	
8	HXQGTFTSDVSKYLDGQAAQEFVAWLLKGC	
9	HXQGTFTSDVSKYLDGQAAQEFVAWLLAGC	
10	HXQGTFTSDVSKYLDGQAAQEFVAWLLAGGGP SSGAPPPSC	
11	CAGEGTFTSDLSKYLDSTRRQQLFVQWLKAGGPS SGAPPPSHG	
12	CAGEGTFISDLSKYMDEQAVQLFVEWLMAGGPS SGAPPPSHG	
13	CAGEGTFISDYSIQLDEIAVQDFVEWLLAQKPSS GAPPPSHG	

14	CAGQGTFTSDYSIQLDEIAVRDFVEWLKNGGPS SGAPPPSHG	
15	CAGQGTFTSDLSKQMDEEAVRLFIEWLKNGGPS SGAPPPSHG	
16	CAGQGTFTSDLSKQMDSEAQQLFIEWLKNGGPS SGAPPPSHG	
17	CAGQGTFTSDLSKQMDEERAREFIEWLLAQKPS SGAPPPSHG	
18	CAGQGTFTSDLSKQMDSERAREFIEWLKNTGPS SGAPPPSHG	
19	CAGQGTFTSDLSIQYDSEHQ _R DFIEWLKDTGPSS GAPPPSHG	
20	CAGQGTFTSDLSIQYEEEEAAQQDFVEWLKDTGPS SGAPPPSHG	
21	YXQGTFTSDYSKYLDE <u>CRAK</u> EFVQWLLDHHPS SGQPPPS	形成環
22	YXQGTFTSDYSKCLDE <u>KRAK</u> EFVQWLLDHHPS SGQPPPS	形成環
23	YXQGTFTSDYSKYLDE <u>CRAK</u> EFVQWLLAQK GK KNDWKHNIT	形成環
24	YXQGTFTSDYSKYLDE <u>CRAK</u> EFVQWLKNGGPS SGAPPPS	形成環

25	HXQGTFTSDCSKYLDERRAAQDFVQWLLDGGPS SGAPPPS	
26	HXQGTFTSDCSKYLDSRAAQDFVQWLLDGGPS SGAPPPS	
27	HXQGTFTSDYSKYLDERACQDFVQWLLDQGGP SSGAPPPS	
28	HXQGTFTSDYSKYLDEKRAQEFVCWLLAQK GK KNDWKHNIT	
29	HXQGTFTSDYSKYLDEKAAK <u>E</u> FVQWLLNTC	形成環
30	HXQGTFTSDYSKYLDEKAQK <u>E</u> FVQWLLDTC	形成環
31	HXQGTFTSDYSKYLDEKACK <u>E</u> FVQWLLAQ	形成環
32	HXQGTFTSDYSKYLDEKACK <u>D</u> FVQWLLDGGPS SGAPPPS	形成環
33	HXQGTFTSDYSIAMDEIHQK <u>D</u> FVNWLLAQKC	形成環
34	HXQGTFTSDYSKYLDEKRQK <u>E</u> FVNWLLAQKC	形成環
35	HXQGTFTSDYSIAMDEIHQK <u>D</u> FVNWLLNTKC	形成環
36	HXQGTFTSDYSKYLC <u>E</u> KRQK <u>E</u> FVQWLLNGGPS SGAPPPSG	形成環
37	HXQGTFTSDYSKYLDECRQK <u>E</u> FVQWLLNGGPS SGAPPPSG	形成環
38	CAXQGTFTSDKSSYLDERRAAQDFVQWLLDGGPS SGAPPPSS	

39	HXQGTFTSDYSKYLDGQHAQCFVAWLLAGGGP SSGAPPPS	
40	HXQGTFTSDKSKYLDERACQDFVQWLLDGGPS SGAPPPS	
41	HXQGTFTSDKSKYLDECAAQDFVQWLLDGGPS SGAPPPS	
42	YXQGTFTSDYSKYLDE <u>K</u> RA <u>K</u> EFVQWLLDHHPS SGQPPPS	形成環
43	YXQGTFTSDYSKYLDE <u>K</u> RA <u>K</u> EFVQWLLDHHCS SGQPPPS	形成環
44	HGQGTFTSDCSKQLDGQAAQEFVAWLLAGGGPS SGAPPPS	
45	HGQGTFTSDCSKYMDGQAAQDFVAWLLAGGGPS SGAPPPS	
46	HGQGTFTSDCSKYLDEQHAQEFVAWLLAGGGPS GAPPPS	
47	HGQGTFTSDCSKYLDGQRAQEFVAWLLAGGGPS SGAPPPS	
48	HGQGTFTSDCSKYLDGQRAQDFVNWLLAGGGPS SGAPPPS	
49	CAXQGTFTSDYSICMDE <u>I</u> H <u>Q</u> DFVNWLLNTK	形成環
50	HXQGTFTSDYSKYLDE <u>K</u> RA <u>K</u> EFVQWLLDHHPS SGQPPPS	形成環

51	HXQGTFTSDYSKYLDE <u>KRQKE</u> FVQWLLNTC	形成環
52	HXQGTFTSDYSKYLDE <u>KRQKE</u> FVQWLLDTC	形成環
53	HXEGTFTSDYSIAMDE <u>IHQK</u> DFVNWLLAQC	形成環
54	HXEGTFTSDYSIAMDE <u>IHQK</u> DFVDWLLAEC	形成環
55	HXQGTFTSDYSIAMDE <u>IHQK</u> DFVNWLLAQC	形成環
56	HXQGTFTSDYSKYLDE <u>KRQKE</u> FVNWLLAQC	形成環
57	HXQGTFTSDYSIAMDE <u>IHQK</u> DFVNWLLNTC	形成環
58	HXQGTFTSDYSKYLDE <u>KRQKE</u> FVQWLLNTKC	形成環
59	CAXQGTFTSDYSICMDE <u>KHQK</u> DFVNWLLNTK	形成環
60	CAXQGTFTSDYSIAMDE <u>KHCK</u> DFVNWLLNTK	形成環
61	CAXQGTFTSDYSIAMDE <u>IACK</u> DFVNWLLNTK	形成環
62	CAXQGTFTSDKSKYLDERAAQDFVQWLLDGGPS- SGAPPPS	
63	CAXQGTFTSDCSKYLDERAAQDFVQWLLDGGPS- SGAPPPS	
64	YXQGTFTSDYSKYLDE <u>CAAKE</u> FVQWLLDHHPS GQPPPS	形成環
65	HXQGTFTSDYSKCLDE <u>KRAKE</u> FVQWLLDHHPS SGQPPPS	形成環
66	YXQGTFTSDYSKYLDE <u>CRAK</u> DFVQWLLDHHPS SGQPPPS	形成環
67	YXQGTFTSDYSKYLDE <u>CAAK</u> DFVQWLLDHHPS SGQPPPS	形成環

68	YXQGTFTSDYSKCLDE <u>KAAK</u> EFVQWLLDHHPS SGQPPPS	形成環
69	YXQGTFTSDYSKCLDE <u>RAAK</u> EFVQWLLDHHPS GQPPPS	形成環
70	YXQGTFTSDYSKCLDE <u>KRAK</u> DFVQWLLDHHPS SGQPPPS	形成環
71	YXQGTFTSDYSKYLD <u>ERACK</u> DFVQWLLDHHPS SGQPPPS	形成環
72	YXQGTFTSDCSKYLD <u>ERAAK</u> DFVQWLLDHHPS SGQPPPS	形成環
73	CAXQGTFTSDYSKYLD <u>ECRAK</u> EFVQWLLDHHPS SGQPPPS	形成環
74	CAXQGTFTSDYSKCLDE <u>KRAK</u> EFVQWLLDHHPS SGQPPPS	形成環
75	YXQGTFTSDYSKYLD <u>EKAAK</u> EFVQWLLDHHPS SGQPPPS	形成環
76	YXQGTFTSDYSKYLD <u>EKRAK</u> DFVQWLLDHHPS SGQPPPS	形成環
77	YXQGTFTSDYSKYLD <u>EKAAK</u> DFVQWLLDHHPS SGQPPPS	形成環
78	HXQGTFTSDYSKYLD <u>EKRQK</u> EFVQWLLDTKC	形成環
79	HXEGTFTSDYSIAMDE <u>IHQK</u> DFVNWLLAQKC	形成環
80	HXEGTFTSDYSIAMDE <u>IHQK</u> DFVDWLLAEKC	形成環

81	CAXQGTFTSDYSKYLDE <u>KRQ</u> KEFVQWLLNTC	形成環
82	CAXQGTFTSDYSKYLDE <u>KRQ</u> KEFVQWLLDTC	形成環
83	CAXEGTFTSDYSIAMDE <u>IHQ</u> KDFVNWLLAQC	形成環
84	CAXEGTFTSDYSIAMDE <u>IHQ</u> KDFVDWLLAEC	形成環
85	CAXQGTFTSDYSIAMDE <u>IHQ</u> KDFVNWLLAQC	形成環
86	CAXQGTFTSDYSKYLDE <u>KRQ</u> KEFVNWLLAQC	形成環
87	CAXQGTFTSDYSIAMDE <u>IHQ</u> KDFVNWLLNTC	形成環
88	CAXQGTFTSDYSKYLDE <u>KRQ</u> KEFVQWLLNTKC	形成環
89	CAXQGTFTSDYSKYLDE <u>KRQ</u> KEFVQWLLDTKC	形成環
90	CAXEGTFTSDYSIAMDE <u>IHQ</u> KDFVNWLLAQKC	形成環
91	CAXEGTFTSDYSIAMDE <u>IHQ</u> KDFVDWLLAEKC	形成環
92	CAXQGTFTSDYSIAMDE <u>IHQ</u> KDFVNWLLAQKC	形成環
93	CAXQGTFTSDYSKYLDE <u>KRQ</u> KEFVNWLLAQKC	形成環
94	CAXQGTFTSDYSIAMDE <u>IHQ</u> KDFVNWLLNTKC	形成環
95	YXQGTFTSDYSKYLDE <u>KRA</u> KEFVQWLLCHHPS SGQPPPS	形成環
96	YXQGTFTSDYSKYLDE <u>KRA</u> KEFVQWLLDHCPS SGQPPPS	形成環
97	YXQGTFTSDYSKYLDE <u>KRA</u> KEFVQWLLDCHPS SGQPPPS	形成環
98	YXQGTFTSDYSKALDE <u>KAA</u> KEFVNWLLDHHPS GQPPPS	形成環

99	YXQGTFTSDYSKALDE <u>KAA</u> <u>K</u> DFVNWLLDHHPS SGQPPPSC	形成環
100	YXQGTFTSDYSKALDE <u>KAA</u> <u>K</u> EFVQWLLDQHPS GQPPPSC	形成環
101	YXQGTFTSDYSKALDE <u>KAA</u> <u>K</u> EFVNWLLDQHPS GQPPPSC	形成環
102	YXQGTFTSDYSKALDE <u>KAA</u> <u>K</u> DFVNWLLDQHPS SGQPPPSC	形成環

【0284】在表1所示的序列中，X標記的胺基酸表示為非天然胺基酸之胺基異丁酸(Aib)，且下劃線之胺基酸表示其之間形成環。此外，在表1中，CA是4-咪唑乙醯基，Y是酪胺酸。

【0285】實施例2：三重促效劑之長效接合物的製備

【0286】用於將在兩端分別具有馬來醯亞胺基和醛基的10 kDa PEG(亦即，馬來醯亞胺-PEG-醛(10kDa，NOF，日本)聚乙二醇化成實施例1的每個三重促效劑的半胱胺酸殘基1 (SEQ ID NO：21、22、42、43、50、77以及96)，且三重促效劑和馬來醯亞胺-PEG-醛以1:1至3的莫耳比反應和1 mg/mL至5 mg/mL之蛋白質濃度，在低溫下反應0.5至3小時。在這種情況下，反應在包括其中添加了20%至60%的異丙醇之50 mM Tris緩衝液(pH 7.5)的環境中進行。反應終止後，將反應溶液施加於SP Sepharose HP(GE Healthcare, USA)，以純化在半胱胺酸上之單聚乙二醇化三重促效劑。

【0287】隨後，純化的單聚乙二醇化三重促效劑和免疫球蛋白Fc(SEQ ID

NO：123的同源二聚體)以1:1至5的莫耳比與10 mg/mL至50 mg/mL的蛋白質濃度在4°C至8°C的溫度維持12至18 小時反應。反應在其中將作為還原劑的10 mM至50 mM氟基硼氫化鈉和10%至30%異丙醇加到100 mM磷酸鈣緩衝液(pH 6.0)的環境中進行。反應終止後，將反應物溶液施加於丁基瓊脂糖凝膠FF 純化管柱(GE Healthcare，美國)和Source ISO純化管柱 (GE Healthcare，美國)以純化包含三重促效劑和免疫球蛋白Fc的接合物。

【0288】 同時，免疫球蛋白Fc可係其中各自具有SEQ ID NO：123(由221 個胺基酸所組成)的胺基酸序列的兩個單體經由位置3之半胱胺酸之間的二硫鍵彼此連接之同源二聚體的形式，其中該同源二聚體的單體各自獨立地具有在位置35和95之半胱胺酸之間形成的二硫鍵和在位置141和199之半胱胺酸之間形成的二硫鍵，但不限於此。

【0289】 製備後，藉由逆向色層析術、尺寸排阻層析術以及離子交換層析術分析的純度為95%或更高。

【0290】 對此，其中SEQ ID NO：21的三重促效劑經由PEG連接子與免疫球蛋白Fc連接的接合物被命名為「包括SEQ ID NO：21和免疫球蛋白Fc之接合物」或「SEQ ID NO：21之長效接合物」，並且它們在本發明中可以互換使用。

【0291】 對此，其中SEQ ID NO：22之三重促效劑經由PEG連接子與免疫球蛋白Fc連接的接合物被命名為「包括SEQ ID NO：22和免疫球蛋白Fc 之接合物」或「SEQ ID NO：22之長效接合物」，並且它們在本發明中可以互換使用。

【0292】 對此，其中SEQ ID NO：42之三重促效劑經由PEG連接子與免疫球蛋白Fc連接的接合物被命名為「包括SEQ ID NO：42和免疫球蛋白Fc 之接合物」或「SEQ ID NO：42之長效接合物」，並且它們在本發明中可以互換使用。

【0293】 對此，其中SEQ ID NO：22之三重促效劑經由PEG連接子與免疫球蛋白Fc連接的接合物被命名為「包括SEQ ID NO：43和免疫球蛋白Fc 之接合物」或「SEQ ID NO：43之長效接合物」，並且它們在本發明中可以互換使用。

【0294】 對此，其中SEQ ID NO：50之三重促效劑經由PEG連接子與免疫球蛋白Fc連接的接合物被命名為「包括SEQ ID NO：50和免疫球蛋白Fc 之接合物」或「SEQ ID NO：50之長效接合物」，並且它們在本發明中可以互換使用。

【0295】 對此，其中SEQ ID NO：77之三重促效劑經由PEG連接子與免疫球蛋白Fc連接的接合物被命名為「包括SEQ ID NO：77和免疫球蛋白Fc 之接合物」或「SEQ ID NO：77之長效接合物」，並且它們在本發明中可以互換使用。

【0296】 對此，其中SEQ ID NO：96之三重促效劑經由PEG連接子與免疫球蛋白Fc連接的接合物被命名為「包括SEQ ID NO：96」和免疫球蛋白Fc 之接合物」或「SEQ ID NO：96之長效接合物」，並且它們在本發明中可以互換使用。

【0297】 實驗例1：三重促效劑及其長效接合物的體外活性量測

【0298】 將轉化細胞系用於測量分別在實施例1和2中製備的三重促效劑及其長效接合物的活性，其中，GLP-1受體、升糖素(GCG)受體和GIP受體係以一種測量體外細胞活性的方法之方式轉化。

【0299】 細胞係經轉化成使得人類GLP-1受體、人類GCG受體以及人類GIP受體的基因各自在中國倉鼠卵巢(Chinese hamster ovary, CHO)中表現，並且適用於測量GLP-1、GCG以及GIP的活性。因此，使用各轉化細胞系測量每個部分的活性。

【0300】 為了測量分別在實施例1和2中製備的三重促效劑及其長效接合物對GLP-1的活性，將人類GLP-1經受從50 nM至0.000048 nM4倍連續稀釋，以及

分別在實施例1和2中製備的三重促效劑及其長效接合物經400 nM 至0.00038 nM 的4倍連續稀釋。從其中表現人類GLP-1受體的培養的CHO細胞中除去培養液，且將連續稀釋的物質分別以5 μ L的量加到CHO細胞中。此後，向其中加入5 μ L的量之包括cAMP抗體的緩衝溶液並在室溫培養15分鐘。接著，向其中加入10 μ L 包括細胞裂解緩衝液的檢測混合物以裂解細胞，隨後在室溫反應90分鐘。反應終止後，將細胞裂解物施加於 LANCE cAMP 套組(PerkinElmer，美國)以經由累計的cAMP計算EC₅₀值，並將這些值相互比較。與人類GLP-1 相比的相對效力顯示在下表2和3中。

【0301】 為了測量分別在實施例1和2中製備的三重促效劑及其長效接合物對GCG的活性，將人類GCG經從50 nM至0.000048 nM連續稀釋4倍，並將分別在實施例1和2中製備的三重促效劑及其長效接合物經從400 nM至 0.00038 nM的4倍連續稀釋。從其中表現人類GCG受體的培養的CHO細胞中除去培養液，且將各系列稀釋物質以5 μ L的量加到CHO細胞中。接著，以5 μ L的量向其中加入包括cAMP抗體的緩衝溶液並在室溫培養15分鐘。接著，向其中加入10 μ L的量之包括細胞裂解緩衝液的檢測混合物以裂解細胞，隨後在室溫反應90分鐘。反應終止後，將細胞裂解物施加於LANCE cAMP 套組(PerkinElmer，美國)以經由累計的cAMP計算EC₅₀值，並將這些值相互比較。與人類GCG相比的相對效力顯示在下表2和3中。

【0302】 為了測量分別在實施例1和2中製備的三重促效劑及其長效接合物對GCG的活性，將人類GCG經受從50 nM至0.000048 nM連續稀釋4倍，並將分別在實施例1和2中製備的三重促效劑及其長效接合物經從400 nM至 0.00038 nM的4倍連續稀釋。從其中表現人類GCG受體的培養的CHO細胞中除去培養液，

且將各系列稀釋物質以5 μ L的量加到CHO細胞中。接著，以5 μ L的量向其中加入包括cAMP抗體的緩衝溶液並在室溫培養15分鐘。接著，向其中加入10 μ L的量之包括細胞裂解緩衝液的檢測混合物以裂解細胞，隨後在室溫反應90分鐘。反應終止後，將細胞裂解物施加於LANCER cAMP 套組(PerkinElmer，美國)以經由累計的cAMP計算EC₅₀值，並將這些值相互比較。與人類GCG相比的相對效力顯示在下表2和3中。

【0303】表2

【0304】三重促效劑的相對效力比

SEQ ID NO :	相對於天然肽的體外活性(%)		
	相對於 GLP-1	相對於升糖素	相對於 GIP
1	3.2	<0.1	<0.1
2	5.9	<0.1	<0.1
3	1.8	<0.1	<0.1
4	8.5	<0.1	<0.1
5	42.1	<0.1	<0.1
6	17.0	<0.1	<0.1
7	13.7	<0.1	<0.1
8	14.2	0.10	<0.1
9	32.1	0.13	<0.1
10	46.0	<0.1	<0.1
11	1.4	<0.1	<0.1
12	0.4	<0.1	<0.1
13	<0.1	<0.1	<0.1
14	28.0	<0.1	<0.1
15	79.2	<0.1	<0.1
16	2.1	<0.1	<0.1
17	0.2	<0.1	<0.1
18	<0.1	<0.1	<0.1
19	<0.1	<0.1	<0.1

20	<0.1	<0.1	<0.1
21	17.8	267	22.7
22	20.1	140	59.7
23	4.01	9.3	<0.1
24	41.2	9.3	<0.1
25	82.6	0.1	<0.1
26	64.5	0.2	<0.1
27	83.1	0.8	0.9
28	17.2	1.6	<0.1
29	38.5	6.0	<0.1
30	142	0.7	0.8
31	135	2.2	2.4
32	151	1.7	8.8
33	24.5	<0.1	10.4
34	19.1	0.92	0.6
35	7.5	<0.1	1.3
36	37.4	0.39	0.2
37	236	6.21	2.2
38	2.3	-	-
39	13.9	0.53	<0.1
40	75.2	<0.1	<0.1
41	34.3	<0.1	<0.1
42	33.9	205.8	7.8

43	12.6	88.4	3.70
44	1.3	<0.1	<0.1
45	6.6	<0.1	<0.1
46	1.4	<0.1	<0.1
47	2.4	<0.1	<0.1
48	1.5	<0.1	<0.1
49	29.8	<0.1	3.3
50	67.4	50.5	2.7
51	14.4	2.0	0.1
52	44.1	7.5	0.3
53	161	8.4	1.3
54	30.6	1.4	0.1
55	27.1	0.7	2.4
56	57.9	4.9	0.8
57	11.7	<0.1	0.3
58	39.1	2.6	0.2
59	40.3	<0.1	4.0
60	106.2	<0.1	8.2
61	59.8	<0.1	2.8
62	5.2	<0.1	<0.1
63	15.3	<0.1	<0.1
64	64.6	60.1	92.9
65	95.4	25.2	11.6

66	15.8	172	17.2
67	28.5	46.2	39.8
68	27.9	8.8	107
69	24.3	9.6	62.8
70	15.1	71.3	64.4
71	90.1	12.7	94.7
72	11.5	1.0	1.6
73	22.6	5.4	3.0
74	12.9	0.9	1.0
75	35.1	8.5	18.0
76	10.3	47.6	11.7
77	38.7	12.2	35.5
78	51.0	14.0	0.12
79	41.5	4.9	1.4
80	8.1	0.0	0.1
81	7.8	0.3	<0.1
82	9.5	1.1	<0.1
83	47.3	1.3	0.4
84	4.2	<0.1	<0.1
85	4.3	<0.1	0.3
86	28.4	0.4	0.2
87	0.9	<0.1	<0.1
88	9.6	0.3	<0.1

89	7.1	0.7	<0.1
90	7.4	<0.1	<0.1
91	31.9	16.8	0.3
92	0.8	<0.1	0.4
93	5.7	0.3	0.7
94	0.5	<0.1	<0.1
95	2.1	0.4	<0.1
96	34.4	194.8	5.2
97	10.5	62.8	2.6
98	28.1	8.2	47.1
99	20.9	14.9	57.7
100	42.2	12.7	118.5
101	23.2	13.9	40.1
102	23.3	29.5	58.0

【0305】 表3

【0306】 三重促效劑之長效接合物的相對效力比

長效接合物	相對於天然肽的體外活性(%)		
	相對於 GLP-1	相對於升糖素	相對於 GIP
21	0.1	1.6	0.2
22	0.1	0.9	0.5
42	3.1	23.1	1.2
43	2.1	13.5	0.6
50	15.4	6.9	0.7
77	6.7	1.7	6.6
96	0.3	4.0	0.3

【0307】 如上所述製備的三重促效劑的新型長效接合物具有作為三重促效劑的功能，能夠活化所有的GLP-1受體、GIP受體和升糖素受體並且可以用作肥胖症及/或非酒精性脂肪肝疾病患者之治療劑。

【0308】 實驗例2：三重促效劑之長效接合物的體外活性的測量

【0309】 本研究中使用了廣泛用作肥胖動物模型的高脂肪飲食誘導的肥胖小鼠。投予前小鼠體重在約50 g至60 g之範圍內。將經過分組的小鼠飼養在圍欄(caging)系統中，並且在本研究期間可以自由飲水。從下午6:00 開始關燈到早上6:00。

【0310】 餵食高脂肪飲食的實驗組包括：第1組：投予賦形劑(經由每2天注射一次)-高脂肪飲食誘導的肥胖小鼠之對照；第2組：投予長效SEQ ID NO：42之

接合物，1.44 nmol/kg(經由每2天注射一次)；第3組：投予SEQ ID NO：42的長效接合物，2.88 nmol/kg(經由每2天注射一次)；第4組：投予SEQ ID NO：43的長效接合物，1.44 nmol/kg(經由每2天注射一次)；第5組：投予SEQ ID NO：43，2.88 nmol/kg的長效接合物(經由每2天注射一次)；第6組：投予SEQ ID NO：50之長效接合物，1.44 nmol/kg(經由每2天注射一次)；第7組：投予SEQ ID NO：50之長效接合物，2.88 nmol/kg(經由每2天注射一次)。實驗在第28天終止，在實驗過程中每隔2天測量每群組小鼠的體重變化。實驗結束後，藉由活組織切片之方式測量腸繫膜脂肪的重量。藉由單因子ANOVA比較高脂肪飲食誘導的肥胖小鼠與實驗組的對照來進行統計分析。

【0311】作為測量體重變化的結果，如圖1所示，證實投予高劑量SEQ ID NOS：42、43和50的長效接合物的所有組別在投予後第28天與投予前體重相比，分別表現出-56.9%、-57.0%和-63.5%的體重減輕(** $p < 0.001$ ，相對於投予賦形劑之對照，單因子ANOVA)。

【0312】另外，作為測量腸繫膜脂肪重量的結果，如圖2所示，證實與投予之組相比，投予高劑量的SEQ ID NOS：42、43和50的長效接合物的所有組別在投予後第28天表現出與投予賦形劑之組相比體內脂肪的顯著減少(** $p < 0.001$ ，相對於投予賦形劑之對照，單因子ANOVA)。

【0313】實驗例3：三重促效劑長效接合物在肥胖症患者的安定性和藥物耐受性實驗

【0314】以0.01mg/kg至0.12mg/kg的劑量將SEQ ID NO：42之長效接合物向肥胖症患者皮下投予一次。投予1個月後，觀察安定性和藥物耐受性，結果見圖3至10。

【0315】 收集年齡超過18歲但小於65歲並且具有30 kg/m²至40 kg/m²之BMI 和小於6.5%之HbA1c的肥胖症患者。共收集了41位肥胖症患者。該41位肥胖症患者的平均年齡為45.7歲，平均BMI為33.6 kg/m²，男性比率為51.2%，以及肥胖症患者的其他資訊如圖3所示。如圖3所示，除了7位肥胖症患者以0.08 mg/kg的劑量投予外，分別以0.01 mg/kg、0.02 mg/kg、0.04 mg/kg以及0.12 mg/kg的劑量投予各組包括6名肥胖症患者。安慰劑組的肥胖症患者僅投予無菌、無色溶液，其包括其中免疫球蛋白Fc與 PEG連接之接合物(不包括SEQ ID NO：42之三重促效劑)，且總共投予十位肥胖症患者使得每組兩名肥胖症患者分別被投予0.01 mg/kg、0.02 mg/kg、0.04 mg/kg、0.08 mg/kg 和 0.12 mg/kg的劑量。

【0316】 從投予前2天至投予後第7天在醫院觀察肥胖症患者的情況，並在第10天和第17天以門診患者觀察，然後在第30天進行追蹤觀察。

【0317】 根據臨床試驗手冊，在第1天(投予後4小時、8小時和12小時)、第2天(24小時和36小時後)、第3天(48小時後)、第4天(72小時後)、第5天(96小時後)、第7天(144小時後)、第10天(216小時後)、第17天(384小時後)以及第30天(696小時後)，從肥胖症患者採集2 mL血液樣本。由此測量了SEQ ID NO：42的長效接合物的血中濃度，結果示於圖4。

【0318】 圖5顯示當投予SEQ ID NO：42之長效接合物時之C_{max} (ng/mL)、T_{max}(hr)、T_{1/2}(hr)、AUC_{0-inf} (ng/mL·h)、劑量標準化之C_{max}(ng/mL/mg)以及劑量標準化之AUC_{inf} (ng/mL·h/mg)。

【0319】 投予後一個月觀察治療中出現的不良事件(TEAE)，結果示於圖6所。

【0320】 藉由24小時動態血壓監測(ambulatory blood pressure monitoring,

ABPM)連續測量4天之血壓、心率(HR)、收縮壓(SPB)、舒張壓(DBP)以及心率乘積(RPP))示於圖7。

【0321】 根據臨床試驗手冊，在投予前(投予前1天)和第7天(144小時後)和第30天(696小時後)從肥胖症患者採集12 mL血液樣本。測量免疫原性(抗藥物抗體(ADAbs);中和抗體(nAbs);以及抗聚乙二醇抗體(抗PEG))，結果示於圖8至10。

【0322】 基於結果，證實當以0.5 mg至8 mg的劑量向肥胖症患者每週腸胃外(皮下)投予長效接合物一次時確保安定性和藥物耐受性。

【0323】 實驗例4：三重促效劑之長效接合物在非酒精性脂肪肝疾病患者的安定性、藥物耐受性和療效的實驗

【0324】 向非酒精性脂肪肝疾病患者以0.01 mg/kg至0.08 mg/kg之劑量每週皮下投予SEQ ID NO：42之長效接合物一次，持續12週，結果示於圖11至17。

【0325】 具體地，收集具有BMI為 30kg/m^2 或更高、腰圍為57英寸或更小、空腹血糖水平為 7 mmol/L (126 mg/dL)或更低、HbA1c小於6.5%，受控衰減參數(CAP)值為 300 dB/m 或更高(其係藉由使用肝纖維化掃描裝置之脂肪肝測量技術測量)以及肝臟脂肪含量為10%或更高(其係藉由MRI-PDFP測量)之非酒精性脂肪肝疾病(NAFLD)患者。總共收集了66位非酒精性脂肪肝疾病患者。66位非酒精性脂肪肝疾病患者中女性之比率為50%，平均年齡為46歲(SD：11.4)，平均BMI為 36 kg/m^2 (SD：4.96)，平均肝臟脂肪含量MRI-PDFP為19.2%(SD：6.5)，且非酒精性脂肪肝疾病患者的其他資訊如圖11所示。

【0326】 如圖11所示，以 0.01mg/kg 的劑量向非酒精性脂肪肝疾病患者以 0.01mg/kg 的劑量每週一次皮下投予，維持12週，以 0.01 mg/kg 之劑量投予9位患者，以 0.04 mg/kg 之劑量投予12位患者，以 0.06 mg/kg 之劑量投予9位患者，以及

以0.08 mg/kg之劑量投予9位患者。安慰劑組的非酒精性脂肪肝疾病患者僅接受無菌、無色溶液，其包括其中免疫球蛋白Fc與PEG連接的接合物(不包括SEQ ID NO: 42之三重促效劑)，以及總共15位非酒精性脂肪肝疾病患者(每群組3位非酒精性脂肪肝疾病患者)分別0.01 mg/kg、0.02 mg/kg、0.04 mg/kg、0.06 mg/kg、和0.08 mg/kg的劑量投予。

【0327】 非酒精性脂肪肝疾病患者從投予前2天到第2次投予(初次投予後第8天)在醫院觀察，且從第3次投予(初次投予後第15天)、第4次投予(初次投予後第22天)、第5次投予(初次投予後第29天)、第6次投予(初次投予後第36天)、第7次投予(初次投予後第46天)、第8次(初次投予後第50天)、第9次投予(初次投予後第57天)、第10次投予(初次投予後第64天)以及第11次投予(初次投予後第71天)作為門診患者觀察。在第12次投予(從初次投予後第78天)在醫院觀察患者的狀況。初次投予後第13週和第15週作為門診患者再次觀察病況，接著追蹤2週。

【0328】 根據臨床試驗手冊，在投予前和第1週(投予後8小時、24小時、48小時和72小時)、第2週(第2次投予前和第2次投予後48小時)、第3週(第3次投予前和初次投予後第15天)、第4週(第4次投予前和初次投予後第22天)、第5週(第5次投予前和初次投予後第29天)、第6週(第6次投予前和初次投予後第36天)、第8週(第8次投予前和初次投予後第50天)、第9週(第9次投予前和初次投予後第57天)、第12週(第12次投予前和第12次投予後48小時和72小時)、第12次投予後168小時(初次投予後第85天)、第12次投予後504小時(初次投予後第99天)以及第12次投予後840小時(初次投予後第113天)，從非酒精性脂肪肝疾病患者採集2 mL血液樣本。由此測量了SEQ ID NO: 42之長效接合物的血中濃度，結果示於圖12。

【0329】 圖13顯示當投予SEQ ID NO: 42之長效接合物時，在初始投予後

第1週和第12週確認之 C_{max} (ng/mL)、 T_{max} (hr)、 $T_{1/2}$ (hr)以及 AUC_{0-inf} (ng/mL·h)。

【0330】直到投予後第17週，觀察到治療中出現的不良事件 (TEAE)，結果示於圖12。

【0331】在初次投予後第8週和第12週，藉由磁共振成像衍生的質子密度脂肪分數(MRI-PDF)測量非酒精性脂肪肝疾病患者的肝脂肪含量和肝脂肪變性程度，並且結果示於圖15至圖17。

【0332】通過實驗證實，向非酒精性脂肪肝疾病患者投予本發明之三重促效劑的長效結合物可以降低肝臟脂肪含量，從而獲得對非酒精性脂肪肝的治療效果。

【0333】基於該結果，證實非酒精性脂肪肝疾病患者經由以0.5 mg至8 mg的劑量每週一次腸胃外投予(皮下投予)獲得安定性、藥物耐受性和療效。

【0334】**實驗例5：三重促效劑之長效接合物在非酒精性脂肪肝疾病患者中的安定性、藥物耐受性以及療效的實驗**

【0335】根據實驗例4的結果，將非酒精性脂肪肝疾病患者分為每週投予一次2 mg之組別、每週投予一次4 mg之組別、每週投予一次6 mg之組別，隨後設計實驗例5的實驗且觀察結果。

【0336】將 SEQ ID NO：42之長效接合物(其效果在實驗例4中證實)以2 mg至6 mg的劑量向患有非酒精性脂肪肝疾病之患者每週投予一次，持續52週。

【0337】收集年齡超過18歲但小於70歲、BMI為18 kg/m²或更高、被診斷為肝纖維化(F1-F3 的纖維化階段)以及非肝硬化非酒精性脂肪肝炎(NASH) 以及MRI-PDF肝臟脂肪含量為8%或更高之患者。

【0338】具體地，將患者分為以下三個投予組別和安慰劑組，每週一次皮

下投予，持續52週，且接著最後投予後觀察安定性(TEAE)4週：

【0339】 -以2mg的劑量每週投予一次之組

【0340】 -以4mg的劑量每週投予一次之組

【0341】 -以6mg的劑量每週投予一次之組

【0342】 在初次投予後第26週和第52週，藉由磁共振成像衍生的質子密度脂肪分數(MRI-PDF)測量非酒精性脂肪肝疾病患者的肝脂肪含量和肝脂肪變性水平。

【0343】 在初次投予後第14週、第26週、第38週以及第52週進行肝纖維化掃描(echosens)，且在投予後第14週、第26週、第38週以及第52週確認血脂濃度(總膽固醇、LDL-C、HDL-C、VLDL-C、三酸甘油酯和游離脂肪酸)、NASH生物標記(細胞角質蛋白-18 M30/65 片段、增強型肝纖維化評分、Pro-C3、非侵入性評分4、纖維化-4指數和 NAFLD纖維化評分)、PK/PD分析以及以下葡萄糖代謝參數。

【0344】 <葡萄糖代謝參數>

【0345】 - FPG(空腹血糖)

【0346】 - 空腹胰島素

【0347】 - 空腹C-肽

【0348】 - HbA1c

【0349】 -胰島素阻抗：HOMA-IR(胰島素阻抗之恆定模式評估)

【0350】 -胰島素分泌：HOMA-B(胰島素分泌之恆定模式評估)

【0351】 為了評估非酒精性脂肪肝疾病的緩解程度，在初次投予後第52週進行肝活組織切片，且如下表 4 所示使用NAFLD活性評分(0至8)和纖維化評分

評估緩解程度 (0至4)。

【0352】 表4

項目	分數	內容
肝臟脂肪堆積分布(脂肪變性分級，0至3)	0	<5%
	1	5-33%
	2	>33-66%
	3	>66%
小葉發炎次數(0至3)	0	無病灶
	1	每 200×視野有<2 個病灶
	2	每 200×視野有 2 至 4 個病灶
	3	每 200×視野有>4 個病灶
肝細胞之細胞腫脹變性(0至2)	0	無
	1	幾個腫脹之細胞
	2	許多細胞/突出的細胞腫脹

【0353】 纖維化評分係藉由使用0至4的評分評估肝竇旁雞絲纖維化、門靜脈纖維化和橋接纖維化而獲得。

【0354】 在本發明中，當滿足以下三項中的至少一項時，可以確定非酒精性脂肪肝疾病得到緩解。

【0355】 - NAS降低2或更高

【0356】 - 肝細胞之細胞腫脹變性評分為0或小葉發炎數量評分為0至1

【0357】 - 纖維化評分增加1或更高

【0358】 根據安定性、藥物耐受性以及療效的實驗結果，建議非酒精性脂

肪肝疾病患者以0.5 mg至8 mg的劑量每週接受一次胃腸外投予，較佳係以2 mg至6 mg的劑量每週接受一次，以獲得安定性、藥物耐受性以及療效。

【0359】 提供本發明之以上描述是為了闡釋之目的，且所屬技術領域中具通常知識者理解在不改變本發明之技術構思和本質特徵的情況下，可以進行各種變化和修飾。因此，上述具體例在所有態樣皆為闡釋性的，且並不限制本發明。本文揭露的各種實施例不旨在限制，其中，實質範疇和精神係由以下申請專利範圍所示。本發明僅受所附申請專利範圍的細項(term)以及該等申請專利範圍所賦予的等效物的全部範疇的限制。

【符號說明】 無

【序列表】

<110> 南韓商韓美藥品股份有限公司(HANMI PHARM. CO., LTD.)
 <120> 包含三重升糖素/GLP-1/GIP 受體促效劑的長效接合物的醫藥組成物
 <130> OPA21283
 <150> KR 10-2020-0102604
 <151> 2020-08-14
 <160> 123
 <170> KoPatentIn 3.0
 <210> 1
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 三重促效劑
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (2)
 <223> Xaa 係胺基異丁酸 (Aib)
 <400> 1
 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Asp Gly
 1 5 10 15
 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly Cys
 20 25 30
 <210> 2
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 三重促效劑
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (2)
 <223> Xaa 係胺基異丁酸 (Aib)
 <400> 2
 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Asp Gly
 1 5 10 15
 Gln Ala Gln Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly Cys

20

25

30

<210> 3
 <211> 41
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 三重促效劑

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

<400> 3
 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Leu Gly
 1 5 10 15
 Gln Ala Ala Lys Gln Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly Gly Gly Pro
 20 25 30
 Ser Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Cys
 35 40

<210> 4
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 三重促效劑

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

<400> 4
 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Leu Gly
 1 5 10 15
 Gln Gln Gln Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly Cys
 20 25 30

<210> 5
 <211> 41
 <212> PRT
 <213> 人工序列

99222

第 2 頁，共 60 頁(序列表)

<220>
<223> 三重促效劑

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

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

Gln Gln Gln Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly Gly Gly Pro
20 25 30

Ser Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Cys
35 40

<210> 6
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 三重促效劑

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

<400> 6
His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Asp Gly
1 5 10 15

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Val Ala Trp Leu Leu Lys Gly Cys
20 25 30

<210> 7
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 三重促效劑

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

<400> 7
 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Lys Tyr Leu Asp Gly
 1 5 10 15

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Val Ala Trp Leu Leu Lys Gly Cys
 20 25 30

<210> 8
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 三重促效劑

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

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

Gln Ala Ala Gln Glu Phe Val Ala Trp Leu Leu Lys Gly Cys
 20 25 30

<210> 9
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 三重促效劑

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

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

Gln Ala Ala Gln Glu Phe Val Ala Trp Leu Leu Ala Gly Cys
 20 25 30

<210> 10

<211> 41
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 三重促效劑

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

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

Gln Ala Ala Gln Glu Phe Val Ala Trp Leu Leu Ala Gly Gly Gly Pro
 20 25 30

Ser Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Cys
 35 40

<210> 11
 <211> 41
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 三重促效劑

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)
 <223> Xaa 係 4-咪唑乙醯基 (CA)

<400> 11
 Xaa Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Tyr Leu Asp Ser
 1 5 10 15

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

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser His Gly
 35 40

<210> 12
 <211> 41
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 99222

<223> 三重促效劑

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)

<223> Xaa 係 4-咪唑乙醯基 (CA)

<400> 12

Xaa Gly Glu Gly Thr Phe Ile Ser Asp Leu Ser Lys Tyr Met Asp Glu
1 5 10 15

Gln Ala Val Gln Leu Phe Val Glu Trp Leu Met Ala Gly Gly Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser His Gly
35 40

<210> 13

<211> 41

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 三重促效劑

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)

<223> Xaa 係 4-咪唑乙醯基 (CA)

<400> 13

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

Ile Ala Val Gln Asp Phe Val Glu Trp Leu Leu Ala Gln Lys Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser His Gly
35 40

<210> 14

<211> 41

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 三重促效劑

<220>

<221> MISC_FEATURE

99222

<222> (1)
 <223> Xaa 係 4-咪唑乙醯基 (CA)

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

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

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser His Gly
 35 40

<210> 15
 <211> 41
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 三重促效劑

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)
 <223> Xaa 係 4-咪唑乙醯基 (CA)

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

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

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser His Gly
 35 40

<210> 16
 <211> 41
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 三重促效劑

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)
 <223> Xaa 係 4-咪唑乙醯基 (CA)

<400> 16

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

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

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser His Gly
 35 40

<210> 17
 <211> 41
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 三重促效劑

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)
 <223> Xaa 係 4-咪唑乙醯基 (CA)

<400> 17
 Xaa Gly Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Asp Glu
 1 5 10 15

Glu Arg Ala Arg Glu Phe Ile Glu Trp Leu Leu Ala Gln Lys Pro Ser
 20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser His Gly
 35 40

<210> 18
 <211> 41
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 三重促效劑

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)
 <223> Xaa 係 4-咪唑乙醯基 (CA)

<400> 18
 Xaa Gly Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Asp Ser
 1 5 10 15

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

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser His Gly
 35 40

<210> 19
 <211> 41
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 三重促效劑

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)
 <223> Xaa 係 4-咪唑乙醯基 (CA)

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

Glu His Gln Arg Asp Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asp Thr Gly Pro Ser
 20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser His Gly
 35 40

<210> 20
 <211> 41
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 三重促效劑

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)
 <223> Xaa 係 4-咪唑乙醯基 (CA)

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

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

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser His Gly
 35 40

<210> 21
 <211> 39
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 三重促效劑

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

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

<400> 21
 Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu
 1 5 10 15
 Cys Arg Ala Lys Glu Phe Val Gln Trp Leu Leu Asp His His Pro Ser
 20 25 30
 Ser Gly Gln Pro Pro Pro Ser
 35

<210> 22
 <211> 39
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 三重促效劑

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

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

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

Lys Arg Ala Lys Glu Phe Val Gln Trp Leu Leu Asp His His Pro Ser
 20 25 30

Ser Gly Gln Pro Pro Pro Ser
 35

<210> 23
 <211> 41
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 三重促效劑

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

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

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

Cys Arg Ala Lys Glu Phe Val Gln Trp Leu Leu Ala Gln Lys Gly Lys
 20 25 30

Lys Asn Asp Trp Lys His Asn Ile Thr
 35 40

<210> 24
 <211> 39
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 三重促效劑

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

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (16)..(20)

<223> 位置 16 及 20 處之胺基酸形成環

<400> 24

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

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

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser
35

<210> 25

<211> 39

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 三重促效劑

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (2)

<223> Xaa 係胺基異丁酸 (Aib)

<400> 25

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

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

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser
35

<210> 26

<211> 39

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 三重促效劑

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (2)

<223> Xaa 係胺基異丁酸 (Aib)

<400> 26

His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Cys Ser Lys Tyr Leu Asp Ser

Lys Asn Asp Trp Lys His Asn Ile Thr
 35 40

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

<220>
 <223> 三重促效劑

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

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

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

Lys Ala Ala Lys Glu Phe Val Gln Trp Leu Leu Asn Thr Cys
 20 25 30

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

<220>
 <223> 三重促效劑

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

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

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

1 5 10 15
 Lys Ala Cys Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Leu Asp Gly Gly Pro Ser
 20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser
 35

<210> 33
 <211> 31
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 三重促效劑

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

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

<400> 33
 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Ile Ala Met Asp Glu
 1 5 10 15

Ile His Gln Lys Asp Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gln Lys Cys
 20 25 30

<210> 34
 <211> 31
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 三重促效劑

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

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (16).. (20)

<223> 位置 16 及 20 處之胺基酸形成環

<400> 34

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

Lys Arg Gln Lys Glu Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gln Lys Cys
20 25 30

<210> 35

<211> 31

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 三重促效劑

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (2)

<223> Xaa 係胺基異丁酸 (Aib)

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (16)..(20)

<223> 位置 16 及 20 處之胺基酸形成環

<400> 35

His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Ile Ala Met Asp Glu
1 5 10 15

Ile His Gln Lys Asp Phe Val Asn Trp Leu Leu Asn Thr Lys Cys
20 25 30

<210> 36

<211> 40

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 三重促效劑

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (2)

<223> Xaa 係胺基異丁酸 (Aib)

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

<400> 36
 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Cys Glu
 1 5 10 15
 Lys Arg Gln Lys Glu Phe Val Gln Trp Leu Leu Asn Gly Gly Pro Ser
 20 25 30
 Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Gly
 35 40

<210> 37
 <211> 40
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 三重促效劑

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

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

<400> 37
 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu
 1 5 10 15
 Cys Arg Gln Lys Glu Phe Val Gln Trp Leu Leu Asn Gly Gly Pro Ser
 20 25 30
 Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Gly
 35 40

<210> 38
 <211> 40
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 三重促效劑

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)
 <223> Xaa 係 4-咪唑乙醯基 (CA)

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

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

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

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Ser
 35 40

<210> 39
 <211> 40
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 三重促效劑

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

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

Gln His Ala Gln Cys Phe Val Ala Trp Leu Leu Ala Gly Gly Gly Pro
 20 25 30

Ser Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser
 35 40

<210> 40
 <211> 39
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 三重促效劑

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

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

Arg Ala Cys Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Leu Asp Gly Gly Pro Ser
 20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser
 35

<210> 41
 <211> 39
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 三重促效劑

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

<400> 41
 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Lys Ser Lys Tyr Leu Asp Glu
 1 5 10 15

Cys Ala Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Leu Asp Gly Gly Pro Ser
 20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser
 35

<210> 42
 <211> 40
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 三重促效劑

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (2)

<223> Xaa 係胺基異丁酸 (Aib)

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (16)..(20)

<223> 位置 16 及 20 處之胺基酸形成環

<400> 42

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

Lys Arg Ala Lys Glu Phe Val Gln Trp Leu Leu Asp His His Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Gln Pro Pro Pro Ser Cys
35 40

<210> 43

<211> 39

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 三重促效劑

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (2)

<223> Xaa 係胺基異丁酸 (Aib)

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (16)..(20)

<223> 位置 16 及 20 處之胺基酸形成環

<400> 43

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

Lys Arg Ala Lys Glu Phe Val Gln Trp Leu Leu Asp His His Cys Ser
20 25 30

Ser Gly Gln Pro Pro Pro Ser
35

<210> 44

<211> 39

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 三重促效劑

<400> 44

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

Gln Ala Ala Gln Glu Phe Val Ala Trp Leu Leu Ala Gly Gly Pro Ser
 20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser
 35

<210> 45

<211> 39

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 三重促效劑

<400> 45

His Gly Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Cys Ser Lys Tyr Met Asp Gly
 1 5 10 15

Gln Ala Ala Gln Asp Phe Val Ala Trp Leu Leu Ala Gly Gly Pro Ser
 20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser
 35

<210> 46

<211> 39

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 三重促效劑

<400> 46

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

Gln His Ala Gln Glu Phe Val Ala Trp Leu Leu Ala Gly Gly Pro Ser
 20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser
 35

<210> 47

<211> 39

99222

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 三重促效劑

<400> 47
His Gly Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Cys Ser Lys Tyr Leu Asp Gly
1 5 10 15

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

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser
35

<210> 48
<211> 39
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 三重促效劑

<400> 48
His Gly Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Cys Ser Lys Tyr Leu Asp Gly
1 5 10 15

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

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser
35

<210> 49
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 三重促效劑

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)
<223> Xaa 係 4-咪唑乙醯基 (CA)

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

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

<400> 49
 Xaa Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Ile Cys Met Asp Glu
 1 5 10 15
 Ile His Gln Lys Asp Phe Val Asn Trp Leu Leu Asn Thr Lys
 20 25 30

<210> 50
 <211> 40
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 三重促效劑

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

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

<400> 50
 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu
 1 5 10 15
 Lys Arg Ala Lys Glu Phe Val Gln Trp Leu Leu Asp His His Pro Ser
 20 25 30
 Ser Gly Gln Pro Pro Pro Ser Cys
 35 40

<210> 51
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 三重促效劑

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

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

<400> 51
 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu
 1 5 10 15

Lys Arg Gln Lys Glu Phe Val Gln Trp Leu Leu Asn Thr Cys
 20 25 30

<210> 52
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 三重促效劑

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

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

<400> 52
 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu
 1 5 10 15

Lys Arg Gln Lys Glu Phe Val Gln Trp Leu Leu Asp Thr Cys
 20 25 30

<210> 53
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 三重促效劑

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

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

<400> 53
 His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Ile Ala Met Asp Glu
 1 5 10 15
 Ile His Gln Lys Asp Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gln Cys
 20 25 30

<210> 54
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 三重促效劑

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

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

<400> 54
 His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Ile Ala Met Asp Glu
 1 5 10 15
 Ile His Gln Lys Asp Phe Val Asp Trp Leu Leu Ala Glu Cys
 20 25 30

<210> 55
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 三重促效劑

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

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

<400> 55
 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Ile Ala Met Asp Glu
 1 5 10 15

Ile His Gln Lys Asp Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gln Cys
 20 25 30

<210> 56
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 三重促效劑

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

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

<400> 56
 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu
 1 5 10 15

Lys Arg Gln Lys Glu Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gln Cys
 20 25 30

<210> 57
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>

<223> 三重促效劑

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (2)

<223> Xaa 係胺基異丁酸 (Aib)

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (16)..(20)

<223> 位置 16 及 20 處之胺基酸形成環

<400> 57

His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Ile Ala Met Asp Glu
1 5 10 15

Ile His Gln Lys Asp Phe Val Asn Trp Leu Leu Asn Thr Cys
20 25 30

<210> 58

<211> 31

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 三重促效劑

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (2)

<223> Xaa 係胺基異丁酸 (Aib)

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (16)..(20)

<223> 位置 16 及 20 處之胺基酸形成環

<400> 58

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

Lys Arg Gln Lys Glu Phe Val Gln Trp Leu Leu Asn Thr Lys Cys
20 25 30

<210> 59

<211> 30

<212> PRT

<213> 人工序列

99222

第 28 頁，共 60 頁(序列表)

<220>
<223> 三重促效劑

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)
<223> Xaa 係 4-咪唑乙醯基 (CA)

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

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

<400> 59
Xaa Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Ile Cys Met Asp Glu
1 5 10 15

Lys His Gln Lys Asp Phe Val Asn Trp Leu Leu Asn Thr Lys
20 25 30

<210> 60
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 三重促效劑

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)
<223> Xaa 係 4-咪唑乙醯基 (CA)

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

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

<400> 60
 Xaa Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Ile Ala Met Asp Glu
 1 5 10 15

Lys His Cys Lys Asp Phe Val Asn Trp Leu Leu Asn Thr Lys
 20 25 30

<210> 61
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 三重促效劑

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)
 <223> Xaa 係 4-咪唑乙醯基 (CA)

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

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

<400> 61
 Xaa Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Ile Ala Met Asp Glu
 1 5 10 15

Ile Ala Cys Lys Asp Phe Val Asn Trp Leu Leu Asn Thr Lys
 20 25 30

<210> 62
 <211> 39
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 三重促效劑

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)
 <223> Xaa 係 4-咪唑乙醯基 (CA)

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

<400> 62
 Xaa Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Lys Ser Lys Tyr Leu Asp Glu
 1 5 10 15
 Arg Ala Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Leu Asp Gly Gly Pro Ser
 20 25 30
 Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser
 35

<210> 63
 <211> 39
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 三重促效劑

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)
 <223> Xaa 係 4-咪唑乙醯基 (CA)

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

<400> 63
 Xaa Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Cys Ser Lys Tyr Leu Asp Glu
 1 5 10 15
 Arg Ala Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Leu Asp Gly Gly Pro Ser
 20 25 30
 Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser
 35

<210> 64
 <211> 39
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>

<223> 三重促效劑

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (2)

<223> Xaa 係胺基異丁酸 (Aib)

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (16)..(20)

<223> 位置 16 及 20 處之胺基酸形成環

<400> 64

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

Cys Ala Ala Lys Glu Phe Val Gln Trp Leu Leu Asp His His Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Gln Pro Pro Pro Ser
35

<210> 65

<211> 39

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 三重促效劑

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (2)

<223> Xaa 係胺基異丁酸 (Aib)

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (16)..(20)

<223> 位置 16 及 20 處之胺基酸形成環

<400> 65

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

Lys Arg Ala Lys Glu Phe Val Gln Trp Leu Leu Asp His His Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Gln Pro Pro Pro Ser
35

<210> 66
 <211> 39
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 三重促效劑

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

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

<400> 66
 Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu
 1 5 10 15
 Cys Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Leu Asp His His Pro Ser
 20 25 30
 Ser Gly Gln Pro Pro Pro Ser
 35

<210> 67
 <211> 39
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 三重促效劑

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

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

<400> 67
 Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu
 1 5 10 15

Cys Ala Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Leu Asp His His Pro Ser
 20 25 30

Ser Gly Gln Pro Pro Pro Ser
 35

<210> 68
 <211> 39
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 三重促效劑

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

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

<400> 68
 Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Cys Leu Asp Glu
 1 5 10 15

Lys Ala Ala Lys Glu Phe Val Gln Trp Leu Leu Asp His His Pro Ser
 20 25 30

Ser Gly Gln Pro Pro Pro Ser
 35

<210> 69
 <211> 39
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 三重促效劑

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

<220>
 <221> MISC_FEATURE

<222> (16)..(20)
 <223> 位置 16 及 20 處之胺基酸形成環

<400> 69
 Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Cys Leu Asp Glu
 1 5 10 15

Arg Ala Ala Lys Glu Phe Val Gln Trp Leu Leu Asp His His Pro Ser
 20 25 30

Ser Gly Gln Pro Pro Pro Ser
 35

<210> 70
 <211> 39
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 三重促效劑

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

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

<400> 70
 Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Cys Leu Asp Glu
 1 5 10 15

Lys Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Leu Asp His His Pro Ser
 20 25 30

Ser Gly Gln Pro Pro Pro Ser
 35

<210> 71
 <211> 39
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 三重促效劑

<220>
 99222

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

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

<400> 71
 Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu
 1 5 10 15
 Arg Ala Cys Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Leu Asp His His Pro Ser
 20 25 30
 Ser Gly Gln Pro Pro Pro Ser
 35

<210> 72
 <211> 39
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 三重促效劑

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

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

<400> 72
 Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Cys Ser Lys Tyr Leu Asp Glu
 1 5 10 15
 Arg Ala Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Leu Asp His His Pro Ser
 20 25 30
 Ser Gly Gln Pro Pro Pro Ser
 35

<210> 73
 <211> 39
 <212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 三重促效劑

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)

<223> Xaa 係 4-咪唑乙醯基 (CA)

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (2)

<223> Xaa 係胺基異丁酸 (Aib)

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (16)..(20)

<223> 位置 16 及 20 處之胺基酸形成環

<400> 73

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

Cys Arg Ala Lys Glu Phe Val Gln Trp Leu Leu Asp His His Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Gln Pro Pro Pro Ser
35

<210> 74

<211> 39

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 三重促效劑

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)

<223> Xaa 係 4-咪唑乙醯基 (CA)

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (2)

<223> Xaa 係胺基異丁酸 (Aib)

<220>

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

<400> 74
 Xaa Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Cys Leu Asp Glu
 1 5 10 15
 Lys Arg Ala Lys Glu Phe Val Gln Trp Leu Leu Asp His His Pro Ser
 20 25 30
 Ser Gly Gln Pro Pro Pro Ser
 35

<210> 75
 <211> 40
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 三重促效劑

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

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

<400> 75
 Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu
 1 5 10 15
 Lys Ala Ala Lys Glu Phe Val Gln Trp Leu Leu Asp His His Pro Ser
 20 25 30
 Ser Gly Gln Pro Pro Pro Ser Cys
 35 40

<210> 76
 <211> 40
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 三重促效劑

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

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

<400> 76
 Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu
 1 5 10 15
 Lys Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Leu Asp His His Pro Ser
 20 25 30
 Ser Gly Gln Pro Pro Pro Ser Cys
 35 40

<210> 77
 <211> 40
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 三重促效劑

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

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

<400> 77
 Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu
 1 5 10 15
 Lys Ala Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Leu Asp His His Pro Ser
 20 25 30
 Ser Gly Gln Pro Pro Pro Ser Cys
 35 40

<210> 78
 <211> 31

<212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 三重促效劑

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

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

<400> 78
 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu
 1 5 10 15
 Lys Arg Gln Lys Glu Phe Val Gln Trp Leu Leu Asp Thr Lys Cys
 20 25 30

<210> 79
 <211> 31
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 三重促效劑

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

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

<400> 79
 His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Ile Ala Met Asp Glu
 1 5 10 15
 Ile His Gln Lys Asp Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gln Lys Cys
 20 25 30

<210> 80
 <211> 31
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 三重促效劑

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

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

<400> 80
 His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Ile Ala Met Asp Glu
 1 5 10 15
 Ile His Gln Lys Asp Phe Val Asp Trp Leu Leu Ala Glu Lys Cys
 20 25 30

<210> 81
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 三重促效劑

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)
 <223> Xaa 係 4-咪唑乙醯基 (CA)

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

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

<400> 81
 Xaa Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu
 1 5 10 15

Lys Arg Gln Lys Glu Phe Val Gln Trp Leu Leu Asn Thr Cys
 20 25 30

<210> 82
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 三重促效劑

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)
 <223> Xaa 係 4-咪唑乙醯基 (CA)

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

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

<400> 82
 Xaa Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu
 1 5 10 15

Lys Arg Gln Lys Glu Phe Val Gln Trp Leu Leu Asp Thr Cys
 20 25 30

<210> 83
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 三重促效劑

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)
 <223> Xaa 係 4-咪唑乙醯基 (CA)

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

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

<400> 83
 Xaa Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Ile Ala Met Asp Glu
 1 5 10 15

Ile His Gln Lys Asp Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gln Cys
 20 25 30

<210> 84
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 三重促效劑

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)
 <223> Xaa 係 4-咪唑乙醯基 (CA)

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

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

<400> 84
 Xaa Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Ile Ala Met Asp Glu
 1 5 10 15

Ile His Gln Lys Asp Phe Val Asp Trp Leu Leu Ala Glu Cys
 20 25 30

<210> 85
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 三重促效劑

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)
 <223> Xaa 係 4-咪唑乙醯基 (CA)

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

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

<400> 85
 Xaa Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Ile Ala Met Asp Glu
 1 5 10 15
 Ile His Gln Lys Asp Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gln Cys
 20 25 30

<210> 86
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 三重促效劑

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)
 <223> Xaa 係 4-咪唑乙醯基 (CA)

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

<220>

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

<400> 86
 Xaa Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu
 1 5 10 15

Lys Arg Gln Lys Glu Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gln Cys
 20 25 30

<210> 87
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 三重促效劑

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)
 <223> Xaa 係 4-咪唑乙醯基 (CA)

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

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

<400> 87
 Xaa Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Ile Ala Met Asp Glu
 1 5 10 15

Ile His Gln Lys Asp Phe Val Asn Trp Leu Leu Asn Thr Cys
 20 25 30

<210> 88
 <211> 31
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 三重促效劑

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)
 <223> Xaa 係 4-咪唑乙醯基 (CA)

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

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

<400> 88
 Xaa Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu
 1 5 10 15
 Lys Arg Gln Lys Glu Phe Val Gln Trp Leu Leu Asn Thr Lys Cys
 20 25 30

<210> 89
 <211> 31
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 三重促效劑

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)
 <223> Xaa 係 4-咪唑乙醯基 (CA)

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

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

<400> 89
 Xaa Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu
 1 5 10 15

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

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

<400> 91
 Xaa Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Ile Ala Met Asp Glu
 1 5 10 15
 Ile His Gln Lys Asp Phe Val Asp Trp Leu Leu Ala Glu Lys Cys
 20 25 30

<210> 92
 <211> 31
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 三重促效劑

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)
 <223> Xaa 係 4-咪唑乙醯基 (CA)

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

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

<400> 92
 Xaa Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Ile Ala Met Asp Glu
 1 5 10 15
 Ile His Gln Lys Asp Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gln Lys Cys
 20 25 30

<210> 93
 <211> 31
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 三重促效劑

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)
 <223> Xaa 係 4-咪唑乙醯基 (CA)

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

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

<400> 93
 Xaa Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu
 1 5 10 15
 Lys Arg Gln Lys Glu Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gln Lys Cys
 20 25 30

<210> 94
 <211> 31
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 三重促效劑

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)
 <223> Xaa 係 4-咪唑乙醯基 (CA)

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

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

<400> 94
 Xaa Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Ile Ala Met Asp Glu
 1 5 10 15
 Ile His Gln Lys Asp Phe Val Asn Trp Leu Leu Asn Thr Lys Cys
 20 25 30

<210> 95
 <211> 39
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 三重促效劑

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

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

<400> 95
 Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu
 1 5 10 15
 Lys Arg Ala Lys Glu Phe Val Gln Trp Leu Leu Cys His His Pro Ser
 20 25 30
 Ser Gly Gln Pro Pro Pro Ser
 35

<210> 96
 <211> 39
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 三重促效劑

<220>

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

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

<400> 96
 Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu
 1 5 10 15

Lys Arg Ala Lys Glu Phe Val Gln Trp Leu Leu Asp His Cys Pro Ser
 20 25 30

Ser Gly Gln Pro Pro Pro Ser
 35

<210> 97
 <211> 39
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 三重促效劑

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

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

<400> 97
 Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu
 1 5 10 15

Lys Arg Ala Lys Glu Phe Val Gln Trp Leu Leu Asp Cys His Pro Ser
 20 25 30

Ser Gly Gln Pro Pro Pro Ser
 35

<210> 98
 <211> 40
 <212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 三重促效劑

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (2)

<223> Xaa 係胺基異丁酸 (Aib)

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (16).. (20)

<223> 位置 16 及 20 處之胺基酸形成環

<400> 98

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

Lys Ala Ala Lys Glu Phe Val Asn Trp Leu Leu Asp His His Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Gln Pro Pro Pro Ser Cys
35 40

<210> 99

<211> 40

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 三重促效劑

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (2)

<223> Xaa 係胺基異丁酸 (Aib)

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (16).. (20)

<223> 位置 16 及 20 處之胺基酸形成環

<400> 99

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

Lys Ala Ala Lys Asp Phe Val Asn Trp Leu Leu Asp His His Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Gln Pro Pro Pro Ser Cys
 35 40

<210> 100
 <211> 40
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 三重促效劑

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

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

<400> 100
 Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Ala Leu Asp Glu
 1 5 10 15

Lys Ala Ala Lys Glu Phe Val Gln Trp Leu Leu Asp Gln His Pro Ser
 20 25 30

Ser Gly Gln Pro Pro Pro Ser Cys
 35 40

<210> 101
 <211> 40
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 三重促效劑

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

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

<400> 101
 Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Ala Leu Asp Glu
 1 5 10 15

Lys Ala Ala Lys Glu Phe Val Asn Trp Leu Leu Asp Gln His Pro Ser
 20 25 30

Ser Gly Gln Pro Pro Pro Ser Cys
 35 40

<210> 102
 <211> 40
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 三重促效劑

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

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

<400> 102
 Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Ala Leu Asp Glu
 1 5 10 15

Lys Ala Ala Lys Asp Phe Val Asn Trp Leu Leu Asp Gln His Pro Ser
 20 25 30

Ser Gly Gln Pro Pro Pro Ser Cys
 35 40

<210> 103
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> HOMO SAPIENS

<400> 103
 Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro
 1 5 10

<210> 104
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
<223> 鉸鏈區變體

<400> 104
Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Pro Ser Cys Pro
1 5 10

<210> 105
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 鉸鏈區變體

<400> 105
Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Pro
1 5 10

<210> 106
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 鉸鏈區變體

<400> 106
Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser
1 5 10

<210> 107
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 鉸鏈區變體

<400> 107
Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro
1 5 10

<210> 108
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 鉸鏈區變體

<400> 108

Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser

1

5

<210> 109

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 鉸鏈區變體

<400> 109

Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys

1

5

<210> 110

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 鉸鏈區變體

<400> 110

Glu Lys Tyr Gly Pro Pro Cys

1

5

<210> 111

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 鉸鏈區變體

<400> 111

Glu Ser Pro Ser Cys Pro

1

5

<210> 112

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

99222

<223> 鉸鏈區變體

<400> 112
Glu Pro Ser Cys Pro
1 5

<210> 113
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 鉸鏈區變體

<400> 113
Pro Ser Cys Pro
1

<210> 114
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 鉸鏈區變體

<400> 114
Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Ser Cys Pro
1 5 10

<210> 115
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 鉸鏈區變體

<400> 115
Lys Tyr Gly Pro Pro Pro Ser Cys Pro
1 5

<210> 116
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 鉸鏈區變體

<400> 116
Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Ser Cys Pro
1 5

<210> 117
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 鉸鏈區變體

<400> 117
Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys
1 5

<210> 118
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 鉸鏈區變體

<400> 118
Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro
1 5

<210> 119
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 鉸鏈區變體

<400> 119
Glu Ser Lys Pro Ser Cys Pro
1 5

<210> 120
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 鉸鏈區變體

<400> 120
 Glu Ser Pro Ser Cys Pro
 1 5

<210> 121
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 鉸鏈區變體

<400> 121
 Glu Pro Ser Cys
 1

<210> 122
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 鉸鏈區變體

<400> 122
 Ser Cys Pro
 1

<210> 123
 <211> 221
 <212> PRT
 <213> homo sapiens

<400> 123
 Pro Ser Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
 1 5 10 15

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
 20 25 30

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln
 35 40 45

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
 50 55 60

Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
 65 70 75 80

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
 85 90 95

Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
 99222

【發明申請專利範圍】

【請求項1】 一種用於預防或治療肥胖症或非酒精性脂肪肝疾病之醫藥組成物，該組成物包含作為活性成分之由下式 1 所示且對升糖素受體、類升糖素肽-1 (GLP-1)受體以及葡萄糖依賴性促胰島素多肽(GIP)受體均具有活性之三重促效劑之長效接合物，

其中，該三重促效劑之長效接合物以 0.5 mg 至 8 mg 的劑量向肥胖症或非酒精性脂肪肝疾病患者每週一次腸胃外投予：

[式 1]

X-L-F

其中，X 係包含 SEQ ID NO：1 至 102 的胺基酸序列之肽；

L 係包含乙二醇重複單元之連接子；

F 係免疫球蛋白 Fc 區；以及

- 係 X 和 L 之間以及 L 和 F 之間的共價鍵。

【請求項2】 如請求項 1 所述之醫藥組成物，其中，該三重促效劑之長效接合物以 2 mg 至 6 mg 的劑量向肥胖症或非酒精性脂肪肝疾病患者每週一次腸胃外投予。

【請求項3】 如請求項 1 所述之醫藥組成物，其中，該腸胃外投予係皮下投予。

【請求項4】 如請求項 1 所述之醫藥組成物，其中，該肥胖症患者具有 23 kg/m² 或更高之身體質量指數(BMI)。

【請求項5】如請求項 1 所述之醫藥組成物，其中，該酒精性脂肪肝疾病患者具有藉由磁共振成像衍生的質子密度脂肪分數(MRI-PDFF)所量測之 8%或更高之肝臟脂肪含量。

【請求項6】如請求項 1 所述之醫藥組成物，其中，該醫藥組成物所投予之個體展現以下性質(a)至(f)之至少一者：

- (a)體重減輕；
- (b)血壓降低；
- (c)肝臟中的內臟脂肪質量減少；
- (d)NAS 降低；
- (e)減少肝細胞之細胞腫脹變性或小葉發炎的數量；以及
- (f)纖維化評分降低。

【請求項7】如請求項 1 所述之醫藥組成物，其中，向手臂、大腿或腹部投予該醫藥組成物。

【請求項8】如請求項 1 所述之醫藥組成物，其中，該 F 係 IgG Fc 區。

【請求項9】如請求項 1 所述之醫藥組成物，其中，該長效接合物可以具有其中 Fc 區為由兩條多肽鏈形成的二聚體形式且肽 X 僅與該長效接合物中之 Fc 二聚體的兩條多肽鏈之一者連接之結構。

【請求項10】如請求項 9 所述之醫藥組成物，其中，該 Fc 二聚體的多肽鏈包括 SEQ ID NO：123 之胺基酸序列。

【請求項11】如請求項 9 所述之醫藥組成物，其中，該 X 包括選自由 SEQ ID NO：21、22、27、30 至 32、34、36、37、42、43、50 至 56、58、64 至 80、83、86、91、93 以及 96 至 102 所組成群組之胺基酸序列。

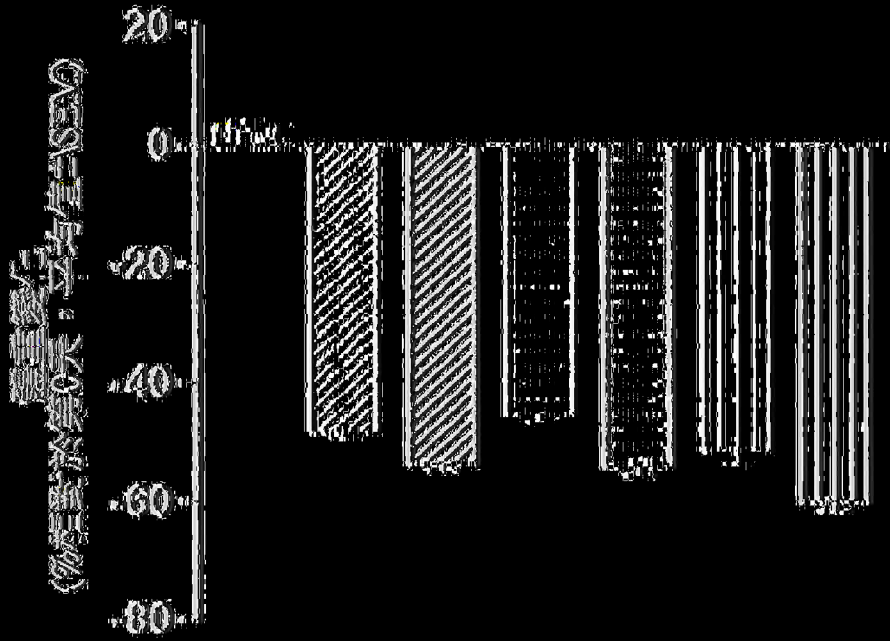
【請求項12】如請求項 1 所述之醫藥組成物，其中，該 X 包括選自由 SEQ ID NO：21、22、31、32、37、42、43、50、53、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、75、76、77、79、96、97、98、99、100、101 以及 102 所組成群組之胺基酸序列。

【請求項13】如請求項 1 所述之醫藥組成物，其中，該 X 包括選自由 SEQ ID NO：42、43 以及 50 所組成群組之胺基酸序列。

【請求項14】如請求項 1 所述之醫藥組成物，其中，該 L 係分子量為 1 kDa 至 20 kDa 之聚乙二醇。

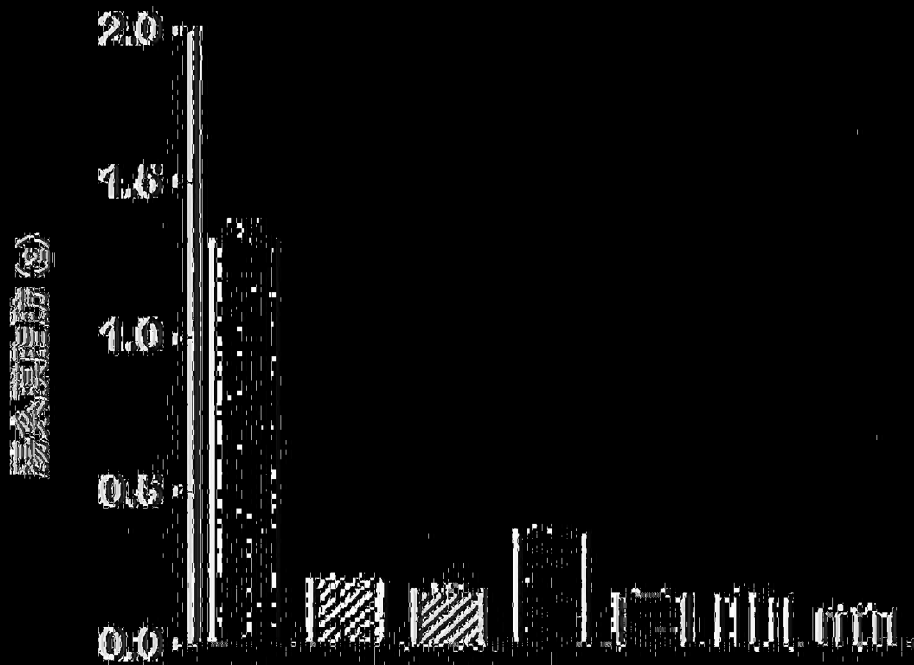
【請求項15】如請求項 1 所述之醫藥組成物，其中，該非酒精性脂肪肝疾病係選自非酒精性脂肪肝(NAFL)、非酒精性脂肪肝炎(NASH)、肝纖維化、肝硬化及其任意之組合。

【發明圖式】



- 對照
- SBQ ID NO.42 之長效接合物 1.44μmol/kg
- ▨ SBQ ID NO.42 之長效接合物 2.88μmol/kg
- SBQ ID NO.43 之長效接合物 1.44μmol/kg
- ▨ SBQ ID NO.43 之長效接合物 2.88μmol/kg
- SBQ ID NO.50 之長效接合物 1.44μmol/kg
- ▨ SBQ ID NO.50 之長效接合物 2.88μmol/kg

【圖1】



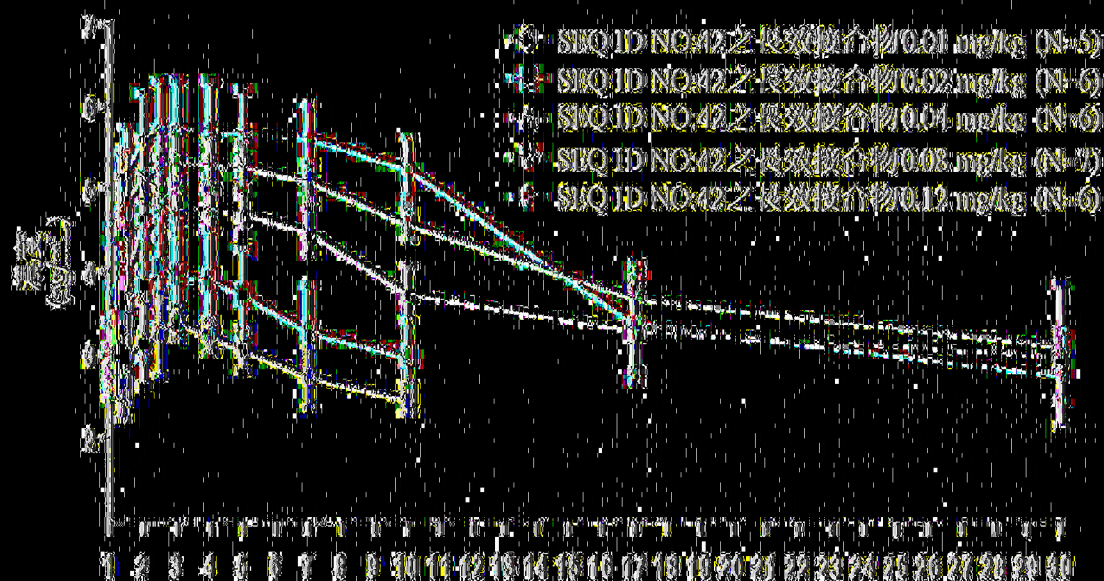
- 总汞
- ▨ SHQ ID NO.02 之长效接触物 1.44mg/kg
- ▩ SHQ ID NO.12 之长效接触物 2.88mg/kg
- ▧ SHQ ID NO.13 之长效接触物 1.44mg/kg
- ▦ SHQ ID NO.14 之长效接触物 2.88mg/kg
- ▤ SHQ ID NO.50 之长效接触物 1.44mg/kg
- ▣ SHQ ID NO.51 之长效接触物 2.88mg/kg

【附 2】

221001

	STQ ID NO.12-1 0.01mg/kg (N=6)	STQ ID NO.12-2 0.02mg/kg (N=6)	STQ ID NO.12-3 0.05mg/kg (N=6)	STQ ID NO.12-4 0.08mg/kg (N=7)	STQ ID NO.12-5 0.12mg/kg (N=6)	(N=10)
体重 (SD)	41.0 (14.3)	39.8 (17.3)	51.0 (6.1)	48.7 (11.1)	48.6 (10.6)	47.4 (6.6)
性別 (n)	3/3	3/3	3/3	4/3	3/3	3/7
種族 (n)						
種別						
白人	4 (6)	3 (3)	2 (3)	3 (7)	5 (10)	6 (6)
黒人及び高血圧種人	2 (3)	1 (1)	2 (3)	1 (1)	0 (0)	4 (4)
種別	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
種別(種別)種別 太平洋種族	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	2 (2)
体温 (SD)	36.7 (0.5)	37.1 (0.8)	36.8 (0.3)	37.5 (1.0)	37.3 (1.3)	36.6 (0.7)
呼吸 (SD)	33.2 (1.7)	31.0 (0.4)	33.1 (2.4)	32.7 (1.8)	32.7 (2.3)	31.6 (0.3)

【表3】



※

【圖4】

	SEQ ID NO.42之 长效混合物 0.01mg/kg (N=5)	SEQ ID NO.42之 长效混合物 0.02mg/kg (N=6)	SEQ ID NO.42之 长效混合物 0.04mg/kg (N=6)	SEQ ID NO.42之 长效混合物 0.08mg/kg (N=5)	SEQ ID NO.42之 长效混合物 0.12mg/kg (N=6)
C_{max} (ng/ml)	2876 (14707)	7652 (38889)	12732 (51227)	23214 (82485)	58567 (183768)
T_{max} (h)	51.20 (10783)	42.08 (16571)	38.01 (75858)	41.71 (20652)	53.05 (18518)
$T_{1/2}$ (h)	72.05 (14538)	77.24 (76186)	65.23 (70037)	142.10 (62841)	78.16 (16888)
AUC_{0-40} (ng·h/ml·h)	6031.63 (132273)	10169.06 (464112)	24508.83 (868078)	42376.72 (1608161)	108603.07 (4488744)
0-1h之 C_{max} (ng/ml)	30.78 (1834)	35.55 (1421)	33.16 (870)	31.05 (1100)	33.89 (226)
0-1h之 AUC_{0-1} (ng·h/ml·h)	699.10 (32383)	1092.07 (111271)	1021.02 (30583)	1022.11 (108288)	1715.16 (309173)

【圖5】

項目 種類・項目名	STO ID	STO ID	SEC ID	STO ID	SEC ID	測定回数 (N)
	NO.12-1	NO.12-2	NO.12-3	NO.12-4	NO.12-5	
	0.01mg/kg (N=6)	0.02mg/kg (N=6)	0.04mg/kg (N=6)	0.08mg/kg (N=7)	0.12mg/kg (N=6)	
第15天・呼吸器						
呼吸器						
除塵	3(60.0)	3(66.7)	3(60.0)	4(57.1)	6(100.0)	3(50.0)
非定量的	3(60.0)	1(16.7)	3(60.0)	3(42.9)	0(0.0)	3(50.0)
等価2						
除塵	3(100.0)	1(100.0)	2(66.7)	3(100.0)	0(0.0)	3(100.0)
陽性	0(0.0)	0(0.0)	1(33.3)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)
第17天・呼吸器						
呼吸器						
除塵	1(66.7)	3(100.0)	2(100.0)	4(57.1)	1(16.7)	3(50.0)
非定量的	2(66.7)	3(100.0)	3(100.0)	1(14.3)	6(100.0)	2(33.3)
等価2						
除塵	0(0.0)	1(33.3)	1(33.3)	1(14.3)	0(0.0)	1(16.7)
陽性	2(100.0)	2(66.7)	2(66.7)	0(0.0)	6(100.0)	1(16.7)
第20天・呼吸器						
呼吸器						
除塵	1(66.7)	3(100.0)	2(100.0)	4(57.1)	1(20.0)	0(0.0)
非定量的	2(66.7)	3(100.0)	3(100.0)	1(14.3)	4(66.7)	2(33.3)
等価2						
除塵	1(100.0)	0(0.0)	3(100.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)
陽性	1(66.7)	2(100.0)	0(0.0)	1(14.3)	4(100.0)	2(100.0)

【備考】

品名 数量	SFC ID	SFC ID	SFC ID	SFC ID	SFC ID	数量
	NO.12 0.01mg/kg (N=6)	NO.13 0.02mg/kg (N=6)	NO.14 0.04mg/kg (N=6)	NO.15 0.08mg/kg (N=6)	NO.16 0.12mg/kg (N=6)	
1. 10000						10000
2. 10000						10000
3. 10000						10000
4. 10000						10000
5. 10000						10000
6. 10000						10000
7. 10000						10000
8. 10000						10000
9. 10000						10000
10. 10000						10000
11. 10000						10000
12. 10000						10000
13. 10000						10000
14. 10000						10000
15. 10000						10000
16. 10000						10000
17. 10000						10000
18. 10000						10000
19. 10000						10000
20. 10000						10000
21. 10000						10000
22. 10000						10000
23. 10000						10000
24. 10000						10000
25. 10000						10000
26. 10000						10000
27. 10000						10000
28. 10000						10000
29. 10000						10000
30. 10000						10000
31. 10000						10000
32. 10000						10000
33. 10000						10000
34. 10000						10000
35. 10000						10000
36. 10000						10000
37. 10000						10000
38. 10000						10000
39. 10000						10000
40. 10000						10000
41. 10000						10000
42. 10000						10000
43. 10000						10000
44. 10000						10000
45. 10000						10000
46. 10000						10000
47. 10000						10000
48. 10000						10000
49. 10000						10000
50. 10000						10000
51. 10000						10000
52. 10000						10000
53. 10000						10000
54. 10000						10000
55. 10000						10000
56. 10000						10000
57. 10000						10000
58. 10000						10000
59. 10000						10000
60. 10000						10000
61. 10000						10000
62. 10000						10000
63. 10000						10000
64. 10000						10000
65. 10000						10000
66. 10000						10000
67. 10000						10000
68. 10000						10000
69. 10000						10000
70. 10000						10000
71. 10000						10000
72. 10000						10000
73. 10000						10000
74. 10000						10000
75. 10000						10000
76. 10000						10000
77. 10000						10000
78. 10000						10000
79. 10000						10000
80. 10000						10000
81. 10000						10000
82. 10000						10000
83. 10000						10000
84. 10000						10000
85. 10000						10000
86. 10000						10000
87. 10000						10000
88. 10000						10000
89. 10000						10000
90. 10000						10000
91. 10000						10000
92. 10000						10000
93. 10000						10000
94. 10000						10000
95. 10000						10000
96. 10000						10000
97. 10000						10000
98. 10000						10000
99. 10000						10000
100. 10000						10000

[1119]

項目	SIG ID	SIG ID	SIG ID	SIG ID	SIG ID	標準値
	NO.12-1	NO.12-2	NO.12-3	NO.12-4	NO.12-5	
	0.01mg/kg	0.02mg/kg	0.04mg/kg	0.08mg/kg	0.12mg/kg	
	(N=6)	(N=6)	(N=6)	(N=5)	(N=6)	(N=10)
前視						
結果 = 個数(%)						
可溶性中不溶解	2(33.3)	2(33.3)	2(33.3)	1(16.7)	2(33.3)	2(20.0)
崩壊						
崩壊中崩壊-1 崩壊不全陽性	1(100)	1(33.3)	1(100)	0(0)	2(100)	0(0)
崩壊中崩壊-1 崩壊不全陰性	1(100)	2(66.7)	1(100)	1(100)	2(100)	2(100)
崩壊中崩壊-2 崩壊不全陽性	0(0)	1(33.3)	0(0)	0(0)	1(20.0)	0(0)
崩壊中崩壊-2 崩壊不全陰性	2(100)	2(66.7)	2(100)	1(100)	2(100)	2(100)
崩壊中崩壊-3 崩壊不全陽性	2(100)	1(33.3)	1(50)	0(0)	1(10)	2(33.3)
崩壊中崩壊-3 崩壊不全陰性	0(0)	2(66.7)	1(50)	1(100)	1(20)	1(33.3)
崩壊						
崩壊中崩壊-1 崩壊不全陽性	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
崩壊中崩壊-1 崩壊不全陰性	1(100)	1(100)	1(100)	2(100)	2(100)	0(0)
崩壊中崩壊新性崩壊陽性	0(0)	1(100)	0(0)	0(0)	1(100)	0(0)
崩壊中崩壊新性崩壊陰性	0(0)	0(0)	1(100)	0(0)	0(0)	0(0)
崩壊中崩壊崩壊新性崩壊陽性	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
崩壊中崩壊崩壊新性崩壊陰性	2(100)	1(100)	1(100)	0(0)	2(66.7)	2(100)
交叉反応性						
崩壊-1 交叉反応性崩壊陽性	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
崩壊-1 交叉反応性崩壊陰性	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
崩壊交叉反応性崩壊陽性	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
崩壊交叉反応性崩壊陰性	0(0)	1(100)	0(0)	0(0)	1(100)	0(0)
崩壊崩壊交叉反応性崩壊陽性	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
崩壊崩壊交叉反応性崩壊陰性	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)

【 崩壊10】

	SHO ID NO.42-1 0.01mg/kg (N=9)	SHO ID NO.42-2 0.02mg/kg (N=10)	SHO ID NO.42-3 0.04mg/kg (N=12)	SHO ID NO.42-4 0.06mg/kg (N=9)	SHO ID NO.42-5 0.08mg/kg (N=9)	平均値 (N=17)
年齢：年(SD)	41.2 (12.3)	46.5 (9.3)	49.3 (18.5)	43.8 (10.3)	47.3 (11.7)	46.7 (11.3)
性別：男/女(%)	66.7/33.3	80.0/20.0	62.5/37.5	66.7/33.3	66.7/33.3	47.4/52.6
種族(%)						
白人	6 (66.7)	10 (100.0)	7 (58.3)	9 (100.0)	6 (66.7)	16 (68.2)
黒人	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (8.3)	0 (0.0)	2 (22.2)	2 (11.8)
ヒスパニック系	1 (11.1)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
アジア系	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (8.3)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
その他	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (11.1)	0 (0.0)
BMI: kg (SD)	10.4 (10.7)	85.0 (18.3)	60.7 (20.1)	117.2 (38.0)	103.5 (10.9)	96.8 (18.9)
BMI: g/m ² (SD)	36.4 (6.6)	32.9 (2.3)	37.0 (6.1)	40.1 (7.3)	35.7 (6.6)	36.5 (6.3)
HbA1c: % (SD)	6.6 (0.3)	6.73 (0.2)	5.9 (0.3)	5.7 (0.3)	6.7 (0.3)	6.6 (0.3)
FPG: mg/dL (SD)	97.8 (6.6)	102.3 (8.0)	102.2 (6.4)	103.6 (10.3)	103.3 (7.7)	98.1 (6.3)
HbA1c: % (SD)	16.6 (6.0)	18.2 (4.3)	18.8 (6.7)	17.9 (6.7)	23.6 (6.0)	18.2 (5.3)
腎臓機能検査値						
ASr: uUA (SD)	24.4 (11.4)	21.1 (7.3)	30.4 (12.2)	22.2 (6.0)	28.1 (10.3)	30.2 (22.9)
AUr: uUA (SD)	69.3 (26.3)	33.8 (14.1)	51.2 (21.2)	31.4 (16.7)	38.6 (27.2)	45.9 (14.1)

【結果】

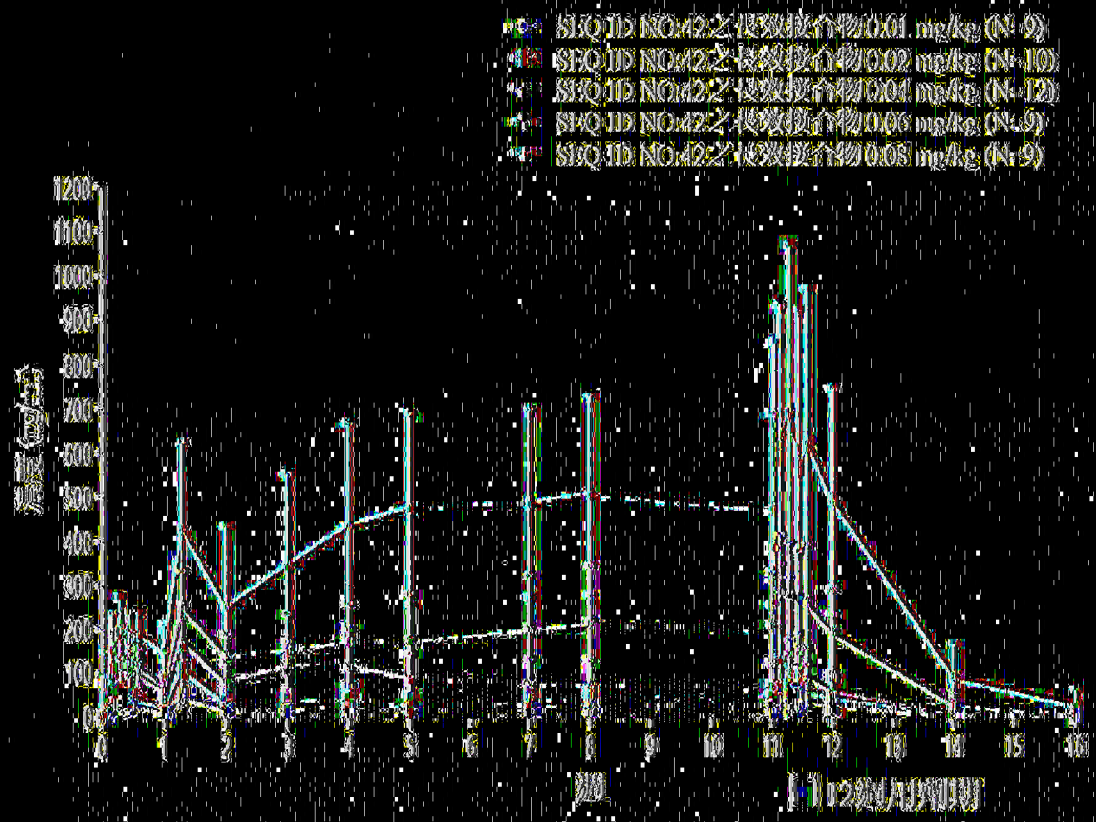


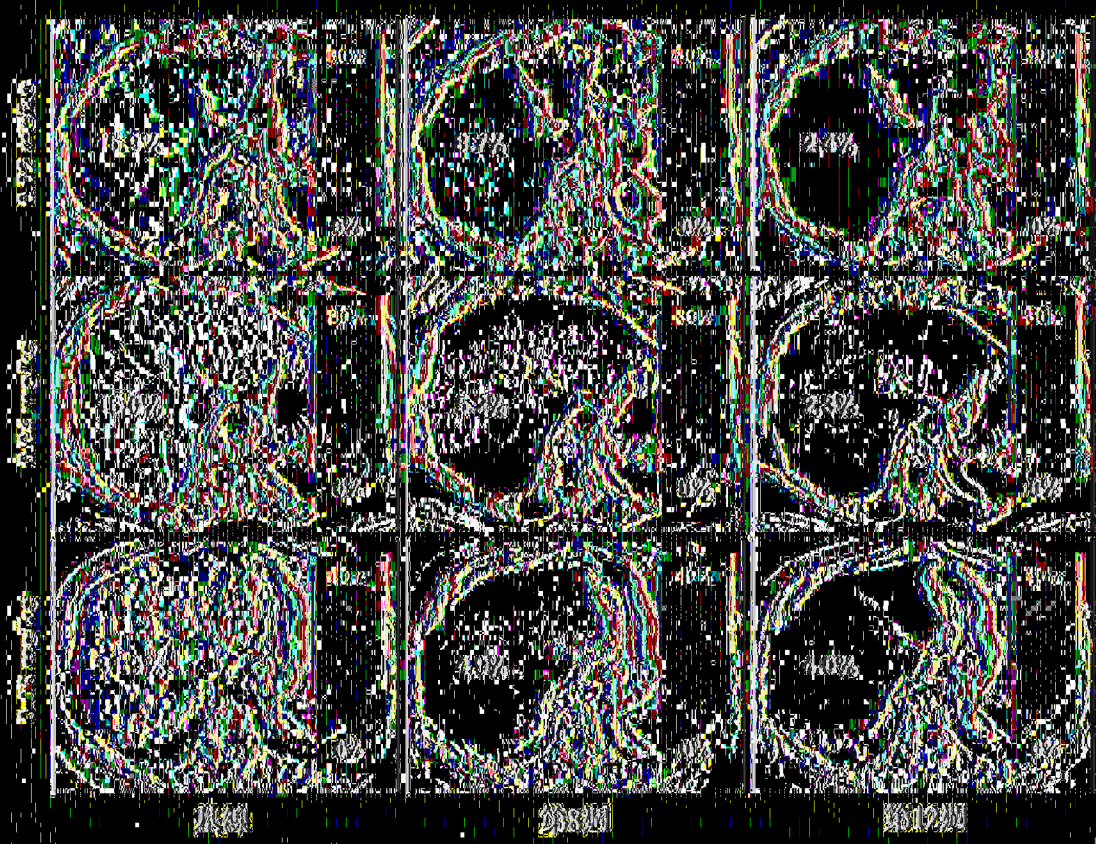
图 12.1

	SRO ID NO:12-2-18 3022172 0.01mg/kg		SRO ID NO:12-2-18 3022173 0.02mg/kg		SRO ID NO:12-2-18 3022174 0.04mg/kg		SRO ID NO:12-2-18 3022175 0.06mg/kg		SEC ID NO:12-2-18 3022176 0.06mg/kg	
	WT1 (kg)	WT2 (kg)	WT1 (kg)	WT2 (kg)	WT1 (kg)	WT2 (kg)	WT1 (kg)	WT2 (kg)	WT1 (kg)	WT2 (kg)
C_{max} (ng/ml)	81.29 ± 18.47	41.45 ± 20.73	13.32 ± 32.83	33.45 ± 40.63	130.26 ± 32.48	161.03 ± 40.78	163.35 ± 30.69	105.44 ± 107.33	231.43 ± 62.34	470 ± 89.74
T_{max} (h)	30.00 ± 42.00	45.00 ± 10.00	40.00 ± 18.00	40.00 ± 22.00	30.00 ± 18.00	15.00 ± 16.00	31.83 ± 24.00	45.00 ± 10.00	70.00 ± 27.00	40 ± 37.00
$T_{1/2}$ (h)	62.02 ± 1.04	11.6 ± 1.04	15.05 ± 30.03	11.6 ± 1.04	105.21 ± 63.74	175.03 ± 110.0	207.01 ± 207.40	152.44 ± 61.00	116.24 ± 41.00	104.20 ± 35.00
AUC_{0-120h} (ng/ml/h)	1516.9 ± 168.0	1334.8 ± 303.0	434.8 ± 213.0	1020.8 ± 210.4	4463.8 ± 600.0	4788.07 ± 830.00	1810.43 ± 600.00	4103.0 ± 1017.12	2610.17 ± 693.0	2966.00 ± 420.00

(13)

項目	STQ ID NO.12 0.01mg/kg (N=9)	STQ ID NO.13 0.02mg/kg (N=10)	STQ ID NO.14 0.04mg/kg (N=12)	STQ ID NO.15 0.06mg/kg (N=9)	STQ ID NO.16 0.08mg/kg (N=9)	要項 (N=17)
任意項目	7(17.3)	9(90.0)	9(75.0)	8(88.9)	6(66.7)	4(23.5)
任意項目最大検出限度						
小検出	7(17.3)	6(60.0)	7(58.3)	6(66.7)	5(55.6)	5(29.4)
中検出	0(0.0)	0(0.0)	1(8.3)	2(22.2)	4(44.4)	2(11.8)
大検出	0(0.0)	0(0.0)	1(8.3)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)
任意項目任意項目	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)
任意項目任意項目	0(0.0)	1(10.0)	1(8.3)	0(0.0)	1(11.1)	0(0.0)
任意項目任意項目	2(22.2)	1(10.0)	3(25.0)	1(11.1)	0(0.0)	1(5.9)
任意項目任意項目	2(22.2)	0(0.0)	4(33.3)	0(0.0)	4(44.4)	0(0.0)
項目	0(0.0)	0(0.0)	1(8.3)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)
項目	0(0.0)	1(10.0)	1(8.3)	1(11.1)	0(0.0)	3(17.6)
項目	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	1(5.9)
項目	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	1(11.1)	0(0.0)	0(0.0)
項目	1(11.1)	3(30.0)	1(8.3)	1(11.1)	3(33.3)	1(5.9)
項目	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	1(11.1)	1(11.1)	0(0.0)
項目	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	1(5.9)
任意項目任意項目	0(0.0)	0(0.0)	1(8.3)	0(0.0)	0(0.0)	1(5.9)
任意項目	1(11.1)	1(10.0)	2(16.7)	2(22.2)	3(33.3)	1(5.9)
任意項目	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	1(5.9)
任意項目	1(11.1)	0(0.0)	0(0.0)	1(11.1)	1(11.1)	1(5.9)

【表 14】



(15)

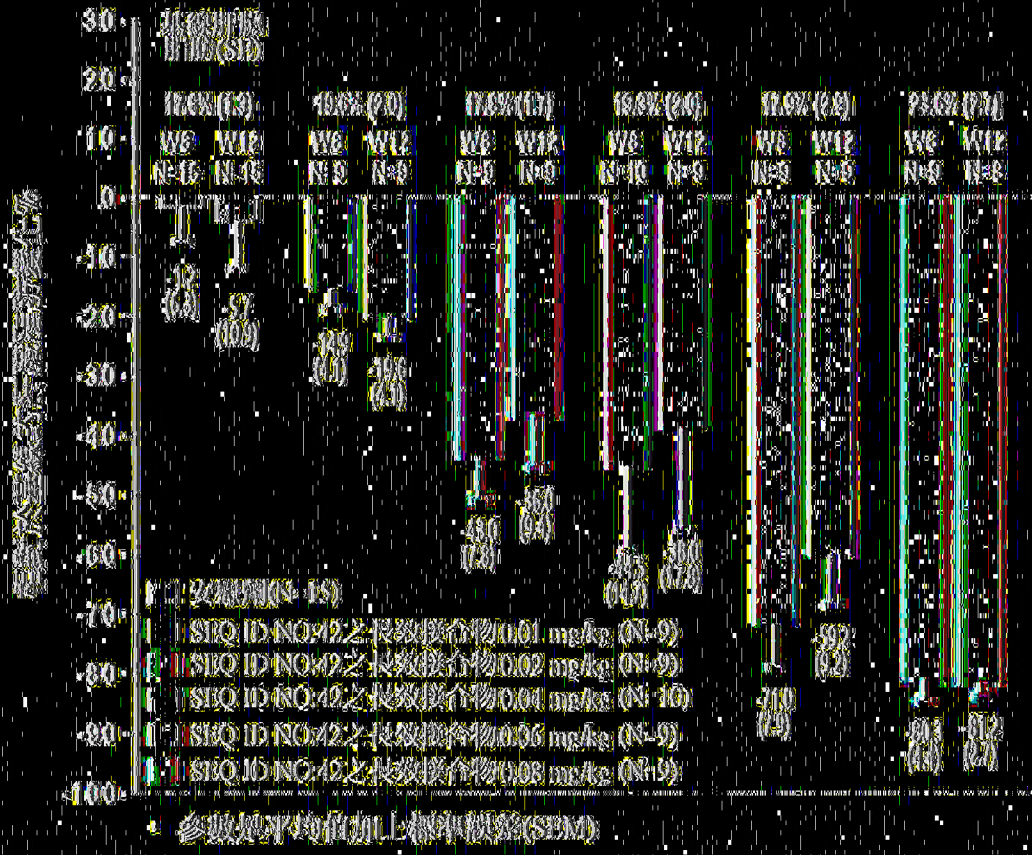


图16

項目	SIO ID NO.12之1 0.01mg/kg (N=9)	SIO ID NO.12之2 0.02mg/kg (N=9)	SIO ID NO.12之3 0.04mg/kg (N=10)	SIO ID NO.12之4 0.06mg/kg (N=4)	SIO ID NO.12之5 0.08mg/kg (N=9)
----	---	---	--	---	---

以下者は、 $\leq 50\%$ のばらつきを減少させた

0.01mg/kg	10.0% (2/15)	11.1% (1/9)	77.8% (7/9)	70% (7/10)	88.9% (8/9)	100% (9/9)
0.02mg/kg	73.3% (7/15)	88.9% (8/9)	77.8% (7/9)	85.0% (8/10)	88.9% (8/9)	100% (9/9)

以下者は、 $> 50\%$ のばらつきを減少させた

0.04mg/kg	67% (7/15)	0% (0/9)	44.4% (4/9)	80% (8/10)	88.9% (8/9)	100% (9/9)
0.06mg/kg	10.0% (2/15)	0% (0/9)	22.2% (2/9)	50.0% (5/10)	88.9% (8/9)	100% (9/9)

【 圖】17】