

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(11) **042870**

(13) **B1**

**(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

**(45)** Дата публикации и выдачи патента  
**2023.03.30**

**(21)** Номер заявки  
**201790568**

**(22)** Дата подачи заявки  
**2015.09.16**

**(51)** Int. Cl. **A61K 38/26** (2006.01)  
**A61K 47/48** (2006.01)  
**A61P 1/16** (2006.01)

---

**(54) ПРИМЕНЕНИЕ ДВОЙНОГО АГОНИСТА РЕЦЕПТОРОВ GLP-1/ГЛЮКАГОНА ПРОЛОНГИРОВАННОГО ДЕЙСТВИЯ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ НЕАЛКОГОЛЬНОЙ ЖИРОВОЙ БОЛЕЗНИ ПЕЧЕНИ**

---

**(31)** 10-2014-0122862

**(32)** 2014.09.16

**(33)** KR

**(43)** 2017.07.31

**(86)** PCT/KR2015/009753

**(87)** WO 2016/043533 2016.03.24

**(71)(73)** Заявитель и патентовладелец:  
**ХАНМИ ФАРМ. КО., ЛТД. (KR)**

**(72)** Изобретатель:  
**Хванг Санг Йоун, Ким Дзин Йоунг,  
Ким Сеунг Су, Чой Ин Янг, Дзунг  
Сунг Юб, Квон Се Чанг (KR)**

**(74)** Представитель:  
**Медведев В.Н. (RU)**

**(56)** KR-A-1020140018462  
US-A1-20120329707

DAY et al., "A new glucagon and GLP-1 co-agonist eliminates obesity in rodents", Nature Chemical Biology, Vol. 5, No. 10, p. 749-757 (2009), See the whole document

POCAI et al., "Glucagon-like peptide 1/ glucagon receptor dual agonism reverses obesity in mice", Diabetes, Vol. 58, No. 10, p. 2258-2266 (2009), See the whole document  
WO-A2-2012088379

---

**(57)** Изобретение относится к фармацевтической композиции для профилактики или лечения неалкогольной жировой болезни печени, включающей двойной агонист рецепторов GLP-1/ глюкагона пролонгированного действия, и к способу профилактики или лечения неалкогольной жировой болезни печени, включающему введение композиции. Композиция изобретения либо не имеет побочного эффекта в виде набора веса, либо снижает побочный эффект в виде набора веса, который является побочным эффектом применения стандартных лекарственных средств для лечения неалкогольной жировой болезни печени, а также снижает количество введений двойного агониста рецепторов GLP-1/глюкагона пролонгированного действия, таким образом значительно повышая удобство для пациента. В дополнение, двойной агонист рецепторов GLP-1/глюкагона пролонгированного действия изобретения улучшает надежность и стабильность in vivo.

---

**B1**

**042870**

**042870**

**B1**

### **Область техники**

Изобретение относится к фармацевтической композиции для профилактики или лечения неалкогольной жировой болезни печени, включающей двойной агонист рецепторов глюкагоноподобного пептида-1 (GLP-1)/глюкагона пролонгированного действия, а также к способу профилактики или лечения неалкогольной жировой болезни печени, включающему введение композиции.

### **Уровень техники**

Неалкогольная жировая болезнь печени (NAFLD, НАБП) представляет собой заболевание, при котором развиваются гистологические изменения, сходные с теми, которые наблюдаются при алкогольной болезни печени, хотя они не связаны с потреблением алкоголя, и это является своего рода метаболическим синдромом, ассоциированным с неалкогольной жировой дистрофией печени (NAFL), неалкогольным стеатогепатитом (NASH), циррозом печени и печеночно-клеточной карциномой. Частота развития неалкогольной жировой болезни печени повышается одновременно с ростом в популяции ожирения и диабета. В Корее ежегодная частота развития достигает приблизительно 16%.

Известно, что причина развития неалкогольной жировой болезни печени несколько, например, инсулинорезистентность, липотоксичность и воспалительные ответы. Среди них наиболее частой причиной является инсулинорезистентность.

Большое количество усилий приложено для улучшения инсулинорезистентности с целью профилактики/лечения неалкогольной жировой болезни печени. Например, в последнее время активно проводятся клинические исследования тиазолидиниона (TZD) или метформина, усилителей чувствительности рецепторов к инсулину (см. *Hepatology* (2003) 38: 1008-17, *J Clin Invest* (2001) 108: 1167-74).

Тем не менее, в случае лечения с применением лекарственных средств на основании TZD имеются недостатки в виде большого набора веса и замедленного тока жидкости, и таким образом, применение такой терапии невозможно для пациентов с заболеваниями сердца. В дополнение к лекарственным средствам на основании TZD активно проводят клинические тесты с применением агонистов рецепторов GLP-1, таких как Виктоза или Баета, для лечения неалкогольной жировой болезни печени. Тем не менее, в данных случаях период полувыведения *in vivo* чрезвычайно мал и, таким образом, необходимы повторные введения один раз или по меньшей мере два раза в сутки, как и для других полипептидных гормонов. Таким образом, существует недостаток в виде неудобства для пациентов. Такие частые введения вызывают выраженную боль и дискомфорт у пациентов. Другими словами, простое применение стандартных лекарственных средств для лечения сахарного диабета в качестве лекарственных средств для лечения неалкогольной жировой болезни печени через механизм улучшения инсулинорезистентности, имеет недостатки, такие как различные побочные эффекты или неудобство для пациента. Из-за этих факторов и в случае, когда лекарственное средство, которое известно своей эффективностью при лечении сахарного диабета, например лекарственное средство для улучшения инсулинорезистентности, применяют прямо в качестве лекарственного средства для лечения неалкогольной жировой болезни печени, различные факторы могут привести к проблемам, таким как побочные эффекты, известные в области техники. Так то, что лекарственное средство, которое является эффективным для лечения сахарного диабета, например лекарственное средство для улучшения инсулинорезистентности, можно применять в качестве лекарственного средства для лечения неалкогольной жировой болезни печени, является спорным утверждением. Таким образом, все еще существует необходимость разработки лекарственных средств, способных лечить неалкогольную жировую болезнь печени, в то же время будучи удобными для пациента и не имеющими побочных эффектов.

### **Раскрытие изобретения**

#### **Техническая проблема**

Настоящие изобретатели приложили много усилий для разработки лекарственного средства для профилактики или лечения неалкогольной жировой болезни печени, которое максимально повышает комплаентность пациента, в то же время увеличивая период полувыведения без развития таких побочных эффектов, как набор веса. В результате изобретатели обнаружили, что период полувыведения *in vivo* двойного агониста рецепторов GLP-1/глюкагона пролонгированного действия, связанного с участком Fc, значительно увеличивается, а также наблюдается эффективный результат в виде потери веса и в дальнейшем в снижении концентраций триглицеридов печени и холестерина крови. Настоящее изобретение завершено на основании данного открытия.

#### **Решение проблемы**

Целью настоящего изобретения является предоставление фармацевтической композиции для профилактики или лечения неалкогольной жировой болезни печени, включающей двойной агонист рецепторов GLP-1/глюкагона пролонгированного действия.

Другой целью настоящего изобретения является предоставление способа профилактики или лечения неалкогольной жировой болезни печени, включающего введение композиции пациенту, у которого подозревают наличие или который имеет неалкогольную жировую болезнь печени.

#### **Преимущества изобретения**

Двойной агонист рецепторов GLP-1/глюкагона пролонгированного действия в соответствии с настоящим изобретением может расширить выбор для пациентов путем расширения категории лекарствен-

ных средств, которые имеются и применяются для лечения неалкогольной жировой болезни печени, а также может повысить удобства пациента посредством увеличения периода полувыведения. Дополнительно настоящее изобретение предоставляет новую альтернативу, которую можно применять без опасности для пациентов, имеющих заболевания помимо неалкогольной жировой болезни печени, посредством снижения побочных эффектов, таких как набор веса.

#### **Краткое описание чертежей**

Фиг. 1 представляет собой диаграмму, демонстрирующую изменения веса тела и веса печени при применении двойного агониста рецепторов GLP-1/глюкагона пролонгированного действия на мышинной модели ob/ob с потреблением пищи, богатой жирами, фруктозой и холестерином, содержащей большое количество транс-жиров.

Фиг. 2 представляет собой диаграмму, демонстрирующую результаты изменения концентрации мРНК коллагена-1 $\alpha$ , ФНО- $\alpha$ , белка, связывающего стеролрегулирующие элементы-1с (SREBP-1с), при применении двойного агониста рецепторов GLP-1/глюкагона пролонгированного действия на мышинной модели ob/ob с потреблением пищи, богатой жирами, фруктозой и холестерином, содержащей большое количество транс-жиров.

Фиг. 3 представляет собой диаграмму, демонстрирующую снижение содержания триглицеридов печени и холестерина в сыворотке крови при применении двойного агониста рецепторов GLP-1/глюкагона пролонгированного действия на мышинной модели DIO с потреблением пищи, богатой транс-жирами.

#### **Лучший вариант осуществления изобретения**

Для достижения целей, один аспект настоящего изобретения предоставляет фармацевтическую композицию для профилактики или лечения неалкогольной жировой болезни печени, включающую двойной агонист рецепторов GLP-1/глюкагона пролонгированного действия.

Двойной агонист рецепторов GLP-1/глюкагона пролонгированного действия может представлять собой двойной агонист рецепторов GLP-1/глюкагона пролонгированного действия, который находится в конъюгированной форме, где биосовместимый материал или носитель, способный повышать длительность активности двойного агониста, связан с агонистом при помощи ковалентной связи или линкера.

В случае лечения лекарственными средствами на основе TZD, которые представляют собой лекарственные средства для улучшения ответа на инсулин, который является механизмом улучшения инсулинорезистентности, и стандартными лекарственными средствами для лечения неалкогольной жировой болезни печени, существуют недостатки, которые обуславливают невозможность применять их у пациентов с болезнью сердца из-за развития побочных эффектов, таких как большой набор веса и медленный ток жидкости. В случае лекарственных средств на основе белка, таких как пептидные гормоны, имеются недостатки, такие как короткий период полувыведения *in vivo*, из-за чего необходимо повторное введение. Настоящие изобретатели обнаружили, что двойной агонист рецепторов GLP-1/глюкагона пролонгированного действия либо не имеет побочных эффектов набора веса, либо снижает побочный эффект набора веса на различных животных моделях неалкогольной жировой болезни печени, а также двойной агонист рецепторов GLP-1/глюкагона пролонгированного действия может лечить неалкогольную жировую болезнь печени в форме, при которой стабильность препарата в крови значительно повышается. Соответственно, настоящее изобретение было осуществлено для предоставления применения двойного агониста рецепторов GLP-1/глюкагона пролонгированного действия для профилактики или лечения неалкогольной жировой болезни печени.

Композиция настоящего изобретения характеризуется как отсутствием побочного эффекта в виде набора веса, так и снижением побочного эффекта набора веса.

Более того, композиция настоящего изобретения может предотвратить развитие или вылечить неалкогольную жировую болезнь печени путем осуществления одного из следующих действий: (а) снижения экспрессии или активности коллагена-1 $\alpha$ , который является маркером фиброза; (б) снижения экспрессии или активности фактора некроза опухолей- $\alpha$  (ФНО- $\alpha$ ), который является провоспалительным маркером; (с) снижения экспрессии или активности белка, связывающего стеролрегулирующие элементы-1с (SREBP-1с), который является маркером липогенеза; (d) снижения концентрации триглицеридов печени; и (е) снижения концентрации холестерина в крови.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения двойной агонист рецепторов GLP-1/глюкагона пролонгированного действия настоящего изобретения вводят различным животным моделям неалкогольной жировой болезни печени. В результате подтверждают, что вес тела и вес печени значительно снижаются по сравнению с таковыми параметрами в группе, не получавшей лечение (фиг. 1), также не наблюдаются побочные эффекты, такие как набор веса, как в случае применения стандартного лекарственного средства. Более того, подтверждено, что экспрессия коллагена-1 $\alpha$ , ФНО- $\alpha$ , SREBP-1с значительно снижается по сравнению с группой, не получавшей лечение, таким образом предотвращая развитие фиброза, т.е. фиброза печени, ингибируя воспаление и ингибируя замедление аккумуляции жира (фиг. 2). Таким образом, подтверждено, что двойной агонист рецепторов GLP-1/глюкагона пролонгированного действия настоящего изобретения можно применять в качестве лекарственного средства для

профилактики и лечения различных неалкогольных болезней печени. В дополнение, подтверждено, что триглицериды печени и холестерин крови значительно снижаются по сравнению с таковыми параметрами в группе, не получавшей лечение, и что они значительно снижаются до нормальной концентрации для животных (фиг. 3). Таким образом, подтверждено, что двойной агонист рецепторов GLP-1/глюкагона пролонгированного действия настоящего изобретения можно применять как первоклассное лекарственное средство для профилактики и лечения различных неалкогольных болезней печени.

Как применяют в данной заявке, термин "двойной агонист рецепторов GLP-1/глюкагона" можно использовать взаимозаменяемо с термином "двойной агонист GLP-1/глюкагона". Двойной агонист рецепторов GLP-1/глюкагона включает все пептиды или фрагменты, предшественники, производные или их варианты, которые обладают двойной активностью по отношению к GLP-1/глюкагону, например окситомодулин, природный двойной агонист рецепторов GLP-1/глюкагона, а также материалы, которые могут активировать рецепторы GLP-1 и глюкагона одновременно, но при этом не ограничивается вышеперечисленным. В настоящем изобретении агонист рецепторов GLP-1/глюкагона может представлять собой двойной агонист рецептора, который при помощи пролонгированного действия решает проблему короткого периода полувыведения, и предпочтительно может представлять собой двойной агонист рецептора пролонгированного действия, который можно вводить один раз в неделю, но при этом не ограничивается вышеперечисленным. Конкретные примеры двойного агониста рецепторов GLP-1/глюкагона в соответствии с настоящим изобретением могут частично включать, например, двойной агонист рецепторов GLP-1/глюкагона, его производное и его тип пролонгированного действия, как описано в корейских опубликованных патентных заявках № 10-2012-0137271 и 10-2012-0139579, которые включены в данную заявку во всей полноте посредством ссылки.

В одном варианте настоящего изобретения двойной агонист рецепторов GLP-1/глюкагона пролонгированного действия может находиться в конъюгированной форме, в которой биосовместимый материал или носитель связываются с агонистом при помощи ковалентной связи или линкера. В другом варианте осуществления такой тип пролонгированного действия может находиться в форме, в которой биосовместимый материал или носитель могут связываться напрямую с двойным агонистом рецепторов GLP-1/глюкагона при помощи ковалентной связи посредством известной техники генетической рекомбинации. Пролонгированный тип упомянутого двойного агониста рецепторов GLP-1/глюкагона может увеличить период полувыведения или биодоступность по сравнению с формой, в которой последовательность двойного агониста рецепторов GLP-1/глюкагона не является пролонгированной, но в остальном является аналогичной. В соответствии с одним вариантом осуществления настоящего изобретения в качестве примера двойного агониста рецепторов GLP-1/глюкагона пролонгированного действия, можно применять композицию, в которой участок Fc иммуноглобулина связывается с тридцатой аминокислотой двойного агониста рецепторов GLP-1/глюкагона при помощи непептидного полимерного линкера, предпочтительно полиэтиленгликоля (PEG), но при этом не ограничивается вышеперечисленным.

Как применяют в данной заявке, термины "биосовместимый материал" или "носитель" относятся к материалам, которые могут повышать продолжительность действия двойного агониста рецепторов GLP-1/глюкагона, когда биосовместимый материал или носитель ковалентно или нековалентно связан с двойным агонистом рецепторов GLP-1/глюкагона настоящего изобретения прямым или непрямым образом с образованием конъюгата. Например, при образовании конъюгата материал, который может увеличивать период полувыведения двойного агониста рецепторов GLP-1/глюкагона *in vivo*, может представлять собой биосовместимый материал или носитель, который можно применять для увеличения вариантов периода полувыведения, и его примеры могут включать полиэтиленгликоль, жирную кислоту, холестерин, альбумин или его фрагмент, альбумин-связывающее вещество, полимер, состоящий из повторяющихся участков определенной аминокислотной последовательности, антитело, фрагмент антитела, связывающее вещество для неонатального Fc-рецептора (FcRn), соединительную ткань *in vivo*, нуклеотид, фибронектин, трансферрин, сахарид, полимер и т.д. Конечно, носители или биосовместимые материалы можно применять в комбинации по меньшей мере из двух вышеперечисленных веществ. Биосовместимый материал или носитель включает биосовместимый материал, который удлиняет период полувыведения *in vivo* при помощи ковалентной или нековалентной связей.

В настоящем изобретении способы, при помощи которых биосовместимый материал или носитель связываются с двойным агонистом рецепторов GLP-1/глюкагона, включают метод генетической рекомбинации, а также связывание при помощи полимеров или низкомолекулярных химических веществ *in vitro*, но не ограничиваются ими. Связывающий FcRn материал может представлять собой участок Fc иммуноглобулина. Например, при применении полиэтиленгликоля в качестве носителя можно применять технику перекодирования Ambrx Inc., которая может способствовать точному позиционному прикреплению к полиэтиленгликолю. Способы могут включать технику гликопегилирования компании Nektar, которая способствует специфическому прикреплению к гликозилированному фрагменту. Более того, способы могут включать технику удаления PEG, при которой удаляется полиэтиленгликоль, но не ограничиваются ими. Способы могут включать техники, которые могут повышать биодоступность при помощи PEG. В дополнение, также можно включать полимеры, такие как полиэтиленгликоль, полипропиленгликоль, сополимер этиленгликоль-пропиленгликоль, полиоксиэтилированный полиол, поливини-

ловый спирт, полисахариды, декстран, поливиниловый этиловый эфир, биodeградируемый полимер, липидный полимер, хитины или гиалуроновую кислоту.

При применении альбумина в качестве носителя способы могут включать технологию, при которой альбумины или фрагменты альбумина могут напрямую ковалентно связываться с пептидами двойного агониста рецепторов GLP-1/глюкагона для повышения стабильности *in vivo*. Даже если альбумин не связывается напрямую, можно применять технику, при которых связывающие альбумин вещества, например, альбумин-специфическое связывающее антитело или фрагмент антитела связываются с пептидами для связывания с альбумином, а также технику, при которой конкретный пептид/белок, имеющий аффинность связывания с альбумином, связывается с пептидами. В дополнение, способы могут включать технику, при которой жирные кислоты и т.д., имеющие аффинность связывания с альбумином, связываются с пептидами, но не ограничиваются ей. В данную заявку может быть включена любая техника или способ связывания, которые могут повысить стабильности *in vivo* с применением альбумина.

Технику связывания с пептидом путем применения антитела или фрагмента антитела в качестве носителя с целью увеличения периода полувыведения *in vivo*, также можно включить в данное изобретение. Можно применять антитело или фрагмент антитела, имеющий сайт связывания FcRn, и также можно применять любой фрагмент антитела, не содержащий сайт связывания FcRn, такой как Fab. В данную заявку может быть включена техника CovX-body компании CovX, при которой применяют каталитическое антитело, а также техника, которая увеличивает период полувыведения *in vivo* при помощи Fc фрагментов. При применении Fc фрагмента линкер, связывающий Fc фрагмент и пептид, а также их способ связывания могут включать пептидную связь или полиэтиленгликоль и т.п., но не ограничиваются ими, также можно применять любой способ химического связывания. В дополнение, соотношение связывания двойного агониста рецепторов GLP-1/глюкагона настоящего изобретения может составлять 1:1 или 1:2, но не ограничивается этим, и любое соотношение, которое может увеличивать период полувыведения *in vivo*, можно включать без ограничений.

Далее, носитель, который применяют для увеличения периода полувыведения *in vivo*, может представлять собой непептидильный материал, такой как полисахарид или жирная кислота.

Линкер, связывающийся с носителем, который применяют для увеличения периода полувыведения *in vivo*, может включать пептиды, полиэтиленгликоли, жирные кислоты, сахара, полимеры, низкомолекулярные соединения, нуклеотиды и комбинации вышеперечисленных веществ, а также может представлять собой любую химическую связь, такую как нековалентная химическая связь, ковалентная химическая связи и т.д. без ограничений.

Состав, который может повышать биодоступность или длительное сохранение активности, может включать состав с замедленным высвобождением в виде микрочастиц, наночастиц и т.п. с применением сополимера молочной и гликолевой кислот (PLGA), гиалуроновой кислоты, хитозана и т.д.

Более того, состав по различным аспектам, который может повышать биодоступность или длительное сохранять активность, может представлять собой состав, такой как импланты, средства для ингаляции, составы для трансназального введения или пластыри.

В одном типичном варианте осуществления изобретения примеры двойного агониста рецепторов GLP-1/глюкагона могут включать нативный двойной агонист рецепторов GLP-1/глюкагона, такой как оксинтомодулин и его производные, его состав пролонгированного действия и т.п. также могут быть включены.

Как применяют в данной заявке, термин "оксинтомодулин" обозначает пептид, полученный из предшественника глюкагона, пре-глюкагона, и включает нативный оксинтомодулин, его предшественники, производные, фрагменты, а также его варианты. Предпочтительно также он может иметь аминокислотную последовательность SEQ ID №

1 (HSQGTFTSDYSKYLDSRRAQDFVQWLMNTKRNRRNIA) .

Термин "вариант оксинтомодулина" представляет собой пептид, имеющий одну или более аминокислотные последовательности, отличные от тех, которые имеются в нативном оксинтомодулине, и обозначает пептид, который сохраняет функцию активации рецепторов GLP-1 и глюкагона, и который можно получить путем одного любого способа замещения, добавления, делеции и модификации или путем комбинирования вышеперечисленных способов относительно аминокислотных последовательностей нативного оксинтомодулина.

Термин "производное оксинтомодулина" включает пептиды, производные пептидов или пептидомиметики, которые можно получить путем добавления, делеции или замещения аминокислот оксинтомодулина таким образом, чтобы происходила активация как рецептора GLP-1, так и рецептора глюкагона на высоком уровне по сравнению с нативным оксинтомодулином. Предпочтительно производное оксинтомодулина имеет аминокислотную последовательность SEQ ID № 25 и более предпочтительно его шестнадцатая и двадцатая аминокислоты образуют кольцо.

Термин "фрагмент оксинтомодулина" обозначает фрагмент, имеющий одну или более аминокислоту, добавленную или удаленную в N-конце или C-конце нативного оксинтомодулина, в который могут быть добавлены не встречающиеся в природе аминокислоты (например, D-тип аминокислоты), и который выполняет функцию активации как рецептора GLP-1, так и рецептора глюкагона.

Каждый из способов изготовления для вариантов, производных и фрагментов окситомодулина можно применять отдельно или в комбинации. Например, настоящее изобретение включает пептид, который имеет одну или более аминокислоту, отличную от тех, которые имеются в нативном пептиде, и дезаминирование N-концевого аминокислотного остатка, а также выполняет функцию активации как рецептора GLP-1, так и рецептора глюкагона.

C-концевые аминокислоты вариантов, производных и фрагментов окситомодулина настоящего изобретения могут быть амидированы.

Материал носителя, который можно применять в настоящем изобретении, можно выбирать из группы, состоящей из антитела, участка Fc иммуноглобулина, альбумина, жирной кислоты, углевода, полимера, имеющего повторяющуюся единицу пептида, трансферрин, а также PEG, и предпочтительно представляет собой участок Fc иммуноглобулина. В одном типичном варианте осуществления настоящего изобретения двойной агонист рецепторов GLP-1/глюкагона пролонгированного действия связан с носителем при помощи непептидильного полимера в качестве линкера. В еще одном типичном варианте осуществления носитель, связанный с непептидильным полимером, представляет собой участок Fc иммуноглобулина.

В настоящем изобретении двойной агонист рецепторов GLP-1/глюкагона пролонгированного действия находится в форме, при которой двойной агонист рецептора GLP-1/глюкагона связан с участком Fc иммуноглобулина и демонстрирует надежность и безопасность. Связывание участка Fc иммуноглобулина и двойного агониста рецепторов GLP-1/глюкагона может быть в виде соединения в пределах рамки считывания или они могут быть связаны при помощи непептидного полимерного линкера. В настоящем изобретении Fc иммуноглобулин можно применять взаимозаменяемо с фрагментами иммуноглобулина.

Как применяют в данной заявке, термин "непептидильный полимер" относится к биосовместимому полимеру, включающему по меньшей мере две повторяющиеся единицы, связанные друг с другом ковалентной связью за исключением пептидной связи. В настоящем изобретении непептидильный полимер можно взаимозаменяемо применять с непептидильным линкером.

Непептидильный полимер, который можно применять в настоящем изобретении можно выбирать из группы, состоящей из биodeградируемого полимера, например, полиэтиленгликоля, полипропиленгликоля, сополимера этиленгликоль-пропиленгликоль, полиоксиэтилированного полиола, поливинилового спирта, полисахарида, декстрана, поливинилового этилового эфира, полимолочной кислоты (PLA), полимолочной-гликолиевой кислоты (PLGA), липидного полимера, хитина, гиалуроновой кислоты и комбинации вышеперечисленных веществ, и предпочтительно биodeградируемый полимер представляет собой полиэтиленгликоль. В дополнение, его производные, известные в области техники, и производные, легко изготавливаемые при помощи способов, известных в области техники, могут быть включены в объем изобретения.

Пептидный линкер, который применяют в слитном белке, полученном при помощи традиционного метода соединения в пределах рамки считывания, имеет недостаток, выражающийся в том, что он легко разрушается *in vivo* протеазой и, таким образом, достаточный эффект увеличения периода полувыведения активного лекарственного средства в сыворотке крови носителем не может быть достигнут, как ожидается. Тем не менее, в настоящем изобретении полимер, имеющий резистентность к протеазе, можно применять для поддержания периода полувыведения в сыворотке крови пептида сходным образом с носителем. Таким образом, любой непептидильный полимер можно применять без ограничений, поскольку данный полимер выполняет упомянутую функцию, следовательно, является полимером, обладающим резистентностью к протеазе *in vivo*. Непептидильный полимер имеет молекулярный вес в диапазоне от 1 до 100 кДа, предпочтительно от 1 до 20 кДа. Дополнительно непептидильный полимер настоящего изобретения, связанный с участком Fc иммуноглобулина, может представлять собой один полимер или комбинацию различных типов полимеров.

Непептидильный полимер, применяемый в настоящем изобретении, имеет реакционноспособную группу, способную связываться с участком Fc иммуноглобулина и белковым лекарственным средством. Реакционноспособная группа на обоих концах непептидильного полимера предпочтительно выбирается из группы, состоящей из реакционноспособной альдегидной группы, пропиональдегида, бутилальдегидной группы, малеимидной группы и производного сукцинимида. Производное сукцинимида может представлять собой сукцинимидилпропионат, гидроксисукцинимидил, сукцинимидилкарбоксиметил или сукцинимидилкарбонат. В частности, в случае, когда непептидильный полимер имеет реакционноспособную группу, представленную реакционноспособной альдегидной группой на обоих его концах, это является эффективным для минимизации неспецифических реакций и связывания физиологически активного полипептида и иммуноглобулина на обоих концах непептидильного полимера. Конечный продукт, образованный при помощи восстановительного алкилирования при помощи альдегидной связи, является намного более стабильным по сравнению с тем, который связан амидной связью. Альдегидная реакционноспособная группа селективно связывается с N-концом при низком pH и связывается с остатком лизина с образованием ковалентной связи при высоком pH, таком как 9,0. Реакционноспособные группы на обоих концах непептидильного полимера могут быть одинаковыми или отличаться друг от друга. Например, непептидильный полимер может содержать малеимидную группу на одном конце и

альдегидную группу, пропиональдегидную группу или бутиральдегидную группу на другом конце. Когда применяют полиэтиленгликоль, имеющий реакционноспособные гидроксигруппы на обоих концах, гидроксигруппу можно активировать до различных реакционноспособных групп при помощи известных химических реакций, или имеющийся в продаже полиэтиленгликоль, имеющий модифицированную реакционноспособную группу, можно применять для изготовления конъюгата двойного агониста рецепторов GLP-1/глюкагона настоящего изобретения.

В дополнение, участок Fc иммуноглобулина является благоприятным в отношении изготовления, очищения и выхода конъюгата не только потому, что его молекулярный вес является относительно небольшим по сравнению с целой молекулой, но и потому, что гомогенность материалов также значительно повышается, а способность вызывать антигенность в крови снижается, поскольку аминокислотные последовательности отличаются в каждом антителе и, таким образом, Fab-фрагмент, демонстрирующий высокую негомогенность, удаляется.

Как применяют в данной заявке, термин "участок Fc иммуноглобулина" относится к константному домену тяжелой цепи 2 (CH2) и константному домену тяжелой цепи 3 (CH3) иммуноглобулина за исключением переменных доменов тяжелой и легкой цепей, константного домена тяжелой цепи 1 (CH1) и константного домена легкой цепи 1 (CL1) иммуноглобулина. Он может дополнительно включать шарнирную область константного домена тяжелой цепи.

Также участок Fc иммуноглобулина настоящего изобретения может содержать часть или целый участок Fc, включающий константный домен тяжелой цепи 1 (CH1) и/или константный домен легкой цепи 1 (CL1) за исключением переменных доменов тяжелой и легкой цепей иммуноглобулина, поскольку он обладает эффектом, практически эквивалентным или превышающим таковой у нативного белка. Более того, участок Fc иммуноглобулина может представлять собой фрагмент, имеющий делецию в относительно длинной части аминокислотной последовательности, которая соответствует CH2 и/или CH3. Так, участок Fc иммуноглобулина настоящего изобретения может включать 1) домен CH1, домен CH2, домен CH3 и домен CH4, 2) домен CH1 и домен CH2, 3) домен CH1 и домен CH3, 4) домен CH2 и домен CH3, 5) комбинацию одного или более доменов и шарнирный участок иммуноглобулина (или часть шарнирного участка) и 6) димер каждого домена константных доменов тяжелой цепи и константного домена легкой цепи.

Дополнительно участок Fc иммуноглобулина настоящего изобретения включает нативную аминокислотную последовательность так же, как и производное его последовательности (мутант). Производное аминокислотной последовательности имеет отличную последовательность благодаря делеции, инсерции, неконсервативного или консервативного замещений. Например, в Fc IgG аминокислотные остатки в позициях с 214 по 238, с 297 по 299, с 318 по 322 или с 327 по 331, которые считаются важными для связывания, можно применять в качестве подходящей цели для модифицирования.

Дополнительно возможны различные типы производных, включая такой, в котором удален участок, способный образовывать дисульфидную связь, определенные аминокислотные остатки удалены в N-конце нативного Fc участка, остаток метионина добавлен в N-конец нативного участка Fc и т.д. Дополнительно для удаления эффекторных функций, сайт связывания комплемента, такой как C1q-сайт связывания, и сайт антителозависимой клеточно-обусловленной цитотоксичности (ADCC) могут быть удалены. Технологии приготовления таких производных последовательностей участка Fc иммуноглобулина раскрыты в Международных публикациях № WO 97/34631, WO 96/32478 и т.д. Аминокислотные замены в белках и пептидах, которые не полностью изменяют активность молекул, известны в области техники (H. Neurath, R.L. Hill, *The Proteins*, Academic Press, New York, 1979). Наиболее часто наблюдаемые замены представляют собой 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 и Asp/Gly в обоих направлениях. В дополнение участок Fc по желанию может быть модифицирован путем фосфорилирования, сульфатирования, акрирования, гликозилирования, метилирования, фарнесилирования, ацетилирования, амидирования и т.п.

Производные Fc представляют собой производные, которые обладают биологической активностью, идентичной участку Fc настоящего изобретения, с улучшенной структурной стабильностью участка Fc, например, в отношении нагревания, pH и т.п.

Более того, данные участки Fc можно получить из нативных форм, выделенных у людей и других животных, включая коров, козлов, свиней, мышей, кроликов, хомяков, крыс, морских свинок и т.д., или они могут представлять собой их рекомбинанты или производные, полученные из трансформированных клеток животных или микроорганизмов. В данной заявке они могут быть получены из нативной формы путем выделения целых иммуноглобулинов из организмов людей или животных с последующей обработкой их протеазой. При обработке папаином он переваривает нативный иммуноглобулин на участки Fab и Fc, при обработке пепсином нативный иммуноглобулин разрушается на pF'c и F(ab)2. Fc и pF'c можно выделить при помощи эксклюзионной хроматографии и т.д. Предпочтительно полученный от человека участок Fc представляет собой участок Fc рекомбинантного иммуноглобулина, который получают от микроорганизмов.

В дополнение, участок Fc иммуноглобулина может находиться в форме, имеющей нативные сахар-

ные цепи или повышенное или пониженное количество сахарных цепей по сравнению с нативной формой, или может находиться в дегликозилированной форме. Повышение, снижение количества или удаление сахарных цепей иммуноглобулина Fc может достигаться при помощи способов, широко известных в области техники, например, химических методов, ферментативных и методов генной инженерии с применением микроорганизмов. Удаление сахарных цепей из участка Fc приводит к значительному снижению аффинности связывания с C1q частью и к снижению или потере антителозависимой клеточно-обусловленной или комплемент-зависимой цитотоксичности, таким образом, не вызывая ненужные иммунные ответы *in vivo*. В этом отношении участок Fc иммуноглобулина в дегликозилированной или агликозилированной форме может быть более подходящим для цели настоящего изобретения в качестве носителя лекарственного средства.

Как применяют в данной заявке, термин "дегликозилирование" относится к ферментативному удалению сахарных компонентов участка Fc, и термин "агликозилирование" относится к участку Fc, который представлен у прокариотов, предпочтительно *E. coli*, и не является гликозилированным.

При этом участок Fc иммуноглобулина можно получить от людей или других животных, включая коров, козлов, свиней, мышей, кроликов, хомячков, крыс, морских свинок и т.д., и предпочтительно от людей.

Также участок Fc иммуноглобулина может представлять собой участок Fc, который получен из IgG, IgA, IgD, IgE и IgM, комбинации вышеперечисленных веществ или их гибридов. Предпочтительно его получают из IgG или IgM, которые в избытке обнаруживаются в крови человека, и наиболее предпочтительно - из IgG, который, как известно, увеличивает периоды полувыведения лиганд-связывающих белков, но не ограничиваясь ими.

Как применяют в данной заявке, термин "комбинация" относится к таким полипептидам, которые кодируют одноцепочечные Fc участки иммуноглобулина такого же происхождения, связанные с одноцепочечным полипептидом отличного происхождения для образования димера или мультимера. Таким образом, димер или мультимер могут образовываться из двух или более фрагментов, выбираемых из группы, состоящей из фрагментов Fc IgG, Fc IgA, Fc IgM, Fc IgD и Fc IgE.

Как применяют в данной заявке, термин "гибрид" относится к такой последовательности, которая соответствует по меньшей мере двум участкам Fc различного происхождения и присутствует в одноцепочечном Fc участке иммуноглобулина. В настоящем изобретении возможно наличие различных типов гибридов. Таким образом, возможно применение гибрида, состоящего из 1-4 доменов, выбираемых из группы, состоящей из CH1, CH2, CH3 и CH4 Fc IgG, Fc IgA, Fc IgM, Fc IgE и Fc IgD, и возможно содержащего шарнирную область.

С одной стороны IgG также можно классифицировать на подклассы IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4, и в настоящем изобретении возможна их комбинация или гибридизация. Предпочтительно они представляют собой подклассы IgG2 и IgG4, и наиболее предпочтительно представляют собой участок Fc IgG4, который практически не выполняет эффекторную функцию, такую как комплемент-зависимая цитотоксичность (CDC).

Таким образом, участок Fc иммуноглобулина для носителя лекарственного средства настоящего изобретения может представлять собой, например, полученный из IgG4 человека агликозилированный участок Fc, но не ограничивается этим. Участок Fc, полученный от человека, является более предпочтительным по сравнению с полученным не от человека участком Fc, который может вызывать иммунные ответы немедленного типа, например, который может действовать как антиген в теле человека и вызывать выработку новых антител.

Способ приготовления двойного агониста рецепторов GLP-1/глюкагона пролонгированного действия настоящего изобретения не имеет конкретных ограничений. Например, подробная информация по методу приготовления и эффектах описана, например, в корейской опубликованной патентной заявке № 10-2012-0139579.

Применение двойного агониста рецепторов GLP-1/глюкагона пролонгированного действия имеет огромные преимущества в отношении количества введений пациенту с хроническим заболеванием, которому требуется ежедневное введение, в виде значительного снижения их количества из-за увеличения периода полувыведения в крови и стабильности *in vivo*, что таким образом повышает качество жизни пациента. Таким образом, это является чрезвычайно полезным в лечении неалкогольной жировой болезни печени.

Как применяют в данной заявке, термин "неалкогольная жировая болезнь печени" относится к случаям жировой дегенерации печени, при которых отсутствует анамнез потребления алкоголя или при которых потребление алкоголя не связано с развитием болезни. Жировая дегенерация печени относится к феномену, при котором имеет место ненормальное аккумулялирование триглицеридов в клетках печени по сравнению с нормальными концентрациями триглицеридов. Приблизительно 5% нормальной ткани печени представлено жировой тканью, и основными компонентами жира являются триглицериды, жирные кислоты, фосфолипиды, холестерин и эфиры холестерина. Тем не менее, при развитии жировой дегенерации печени большая часть компонентов замещается триглицеридами. Если количество триглицеридов превышает 5% веса печени, ставится диагноз жировой дегенерации печени. Причиной развития жировой



дегенерации печени является нарушение метаболизма липидов или дефект в процесс переноса избыточного жира в клетки печени, и в основном причиной является нарушение метаболизма липидов в печени. Большая часть жира, который аккумулируется при жировой дегенерации печени, может быть в форме триглицеридов. Неалкогольная жировая болезнь печени включает неалкогольную жировую дегенерацию печени, неалкогольный стеатогепатит, цирроз, рак печени и т.п., но жировая болезнь печени, развитие которой надо предотвратить или которую нужно лечить при помощи композиции настоящего изобретения, включена без ограничений.

Как применяют в данной заявке, термин "профилактика" относится ко всем действиям, при помощи которых обеспечивают профилактику или отсрочку развития неалкогольной жировой болезни печени, применяя введение композиции настоящего изобретения. Термин "лечение" относится ко всем действиям, при помощи которых обеспечивается облегчение или положительная динамика симптомов неалкогольной жировой болезни печени. Лечение неалкогольной жировой болезни печени применимо ко всем млекопитающим, у которых может развиваться неалкогольная жировая болезнь печени, и их примеры включают не только людей и приматов, но также крупный рогатый скот, например, коров, свиней, овец, лошадей, собак и кошек без ограничений, но предпочтительно применимо к человеку.

Как применяют в данной заявке, термин "введение" относится к введению количества предварительно определенного вещества пациенту при помощи подходящего способа. Композицию настоящего изобретения можно вводить при помощи любого стандартного пути введения, чтобы она смогла достичь желаемых тканей. Например, это может быть интраперитонеальное, внутривенное, внутримышечное, подкожное, внутрикожное, пероральное, топическое, интраназальное, внутривлагалищное или ректальное введение, не ограничиваясь вышеперечисленным. Тем не менее, поскольку пептиды перевариваются при пероральном введении, активные ингредиенты композиции для перорального введения должны быть покрыты оболочкой или выпускаться с защитой от разрушения в желудке. Предпочтительно композицию можно вводить в форме инъекций. В дополнение, составы пролонгированного действия можно вводить при помощи любого устройства, в котором активный материал может быть транспортирован в клетку-мишень.

Доза для введения и частота введения фармацевтической композиции настоящего изобретения определяются типом активного ингредиента совместно с различными факторами, такими как заболевание, которое необходимо лечить, путь введения, возраст пациента, пол и вес тела, а также тяжесть заболевания.

Фармацевтическая композиция настоящего изобретения может дополнительно включать фармацевтически приемлемый носитель, эксципиент или растворитель. Как применяют в данной заявке, термин "фармацевтически приемлемый носитель" относится к носителю или растворителю, которые не стимулируют организм и ингибируют биологическую активность или свойства вводимого соединения. Для перорального введения носитель может включать связывающее вещество, смягчающее вещество, дезинтегрант, эксципиент, солубилизатор, диспергирующее средство, стабилизатор, суспендирующее средство, краситель и ароматизирующее вещество. В составах для инъекции носитель может включать буферное средство, консервант, аналгетическое средство, солубилизатор, изотоническое средство, стабилизатор и т.д. В составах для топического применения носитель может включать основу, эксципиент, смягчающее средство, консервант и т.д.

Композиция настоящего изобретения может быть изготовлена в различных лекарственных формах в комбинации с вышеупомянутыми фармацевтически приемлемыми носителями. Например, для перорального введения фармацевтическая композиция может быть изготовлена в виде таблеток, пастилок, капсул, эликсиров, суспензий, сиропов или облаток. Для инъекционных составов фармацевтическая композиция может быть изготовлена в виде ампулы в качестве формы однократной дозы или многодозового контейнера. Фармацевтическая композиция также может быть изготовлена в виде растворов, суспензий, таблеток, драже, капсул и составов пролонгированного действия.

С другой стороны примеры носителя, эксципиента и растворителя, подходящих для фармацевтических составов, включают лактозу, декстрозу, сахарозу, сорбитол, маннитол, ксилитол, эритритол, мальтитол, крахмал, гуммиарабик, альгинат, желатин, фосфат кальция, силикат кальция, целлюлозу, метилцеллюлозу, микрокристаллическую целлюлозу, поливинилпирролидон, воду, метилгидроксibenзоат, пропиленгликоль, стеарат магния и минеральные масла. В дополнение, фармацевтические составы могут дополнительно включать наполнители, антикоагулянты, смягчающие средства, увлажняющие средства, ароматизаторы и антисептики.

В другом аспекте настоящее изобретение предоставляет способ профилактики или лечения неалкогольной болезни печени, включающий стадию введения композиции, включающей двойной агонист рецепторов GLP-1/глюкагона пролонгированного действия, пациенту за исключением людей, имеющему высокий риск развития или имеющих неалкогольную болезнь печени.

Описание композиции и неалкогольной жировой болезни печени совпадает с тем, которое указано выше.

#### **Вариант изобретения**

Здесь и далее настоящее изобретение будет более подробно описано при помощи примеров. Данные примеры предназначены исключительно для иллюстрирования настоящего изобретения, и объем настоящего изобретения не следует рассматривать как ограниченный данными примерами.

Пример 1. Синтез производных окситомодулина.

В примерах синтезированы производные окситомодулина, которые имеют следующие аминокислотные последовательности (таблица).

Окситомодулин и производные окситомодулина

SEQ ID №	Последовательность аминокислот
SEQ ID № 1	HSQGTFTSDYSKYLDSRRAQDFVQWLMTKRRNRNIA
SEQ ID № 2	CA-SQGTFTSDYSKYLDEEAVRLFIEWLMNTRNRNIA
SEQ ID № 3	CA-SQGTFTSDYSKYLDERRAQDFVWLKNTGSSGAPPPS
SEQ ID № 4	CA-GQGTFTSDYSRYLEEEAVRLFIEWLKNKGGSSGAPPPS
SEQ ID № 5	CA-GQGTFTSDYSRQMEEEAVRLFIEWLKNKGGSSGAPPPS
SEQ ID № 6	CA-GEGTFTSDLSRQMEEEAVRLFIEWAAHSQGTFTSDYSKYLD
SEQ ID № 7	CA-SQGTFTSDYSRYLDEEAVRLFIEWLMNTRN
SEQ ID № 8	CA-SQGTFTSDLSRQLEEEAVRLFIEWLMNK
SEQ ID № 9	CA-GQGTFTSDYSRYLDEEAVRLFIEWLMNTRNRNIA
SEQ ID № 10	CA-SQGTFTSDYSRQMEEEAVRLFIEWLMNKGSSGAPPPSK
SEQ ID № 11	CA-GEGTFTSDLSRQMEEEAVRLFIEWAAHSQGTFTSDYSRYLDR
SEQ ID № 12	CA-SQGTFTSDYSRYLDGGGGEGTFTSDLSRQMEEEAVK
SEQ ID № 13	CA-SQGTFTSDYSRYLDEAVRLFIEWLMNTRN
SEQ ID № 14	CA-GQGTFTSDYSRYLDEEAVRLFIXWLMNTRNRNIA
SEQ ID № 15	CA-GQGTFTSDYSRYLDEEAVRLFIXWLMNTRNRNIA
SEQ ID № 16	CA-SQGTFTSDLSRQLEGGGHSQGTFTSDLSRQLEK
SEQ ID № 17	CA-SQGTFTSDYSRYLDEEAVRLFIEWIRNTRNRNIA
SEQ ID № 18	CA-SQGTFTSDYSRYLDEEAVRLFIEWIRNKGSSGAPPPSK
SEQ ID № 19	CA-SQGTFTSDYSRYLDEAVRLFIEWIRNTRNRNIA
SEQ ID № 20	CA-SQGTFTSDYSRYLDEAVRLFIEWIRNKGSSGAPPPSK
SEQ ID № 21	CA-SQGTFTSDYSRQLEEEAVRLFIEWVRNTRNRNIA
SEQ ID № 22	DA-SQGTFTSDYSKYLDEKRAKEFVQWLMTK
SEQ ID № 23	HA <b>i</b> bQGTFTSDYSKYLDEKRAKEFVQWLMT
SEQ ID № 24	HA <b>i</b> bQGTFTSDYSKYLDEKRAKEFVQWLMT <b>C</b>
SEQ ID № 25	HA <b>i</b> bQGTFTSDYSKYLDEKRAKEFVQWLMT <b>C</b>
SEQ ID № 26	HA <b>i</b> bQGTFTSDYSKYLDEKRAKEFVQWLMT <b>C</b>
SEQ ID № 27	HA <b>i</b> bQGTFTSDYSKYLDEKRAKEFVQWLMT
SEQ ID № 28	HA <b>i</b> bQGTFTSDYSKYLDEKRAKEFVQWLMT
SEQ ID № 29	H (d) SQGTFTSDYSKYLDSRRAQDFVQWLMTKRRNRNIA
SEQ ID № 30	CA-SQGTFTSDYSKYLDSRRAQDFVQWLMTKRRNRNIA
SEQ ID № 31	CA- (d) SQGTFTSDYSKYLDSRRAQDFVQWLMTKRRNRNIA
SEQ ID № 32	CA-A <b>i</b> bQGTFTSDYSKYLDEKRAKEFVQWLMT <b>C</b>
SEQ ID № 33	HA <b>i</b> bQGTFTSDYAKYLDEKRAKEFVQWLMT <b>C</b>
SEQ ID № 34	YA <b>i</b> bQGTFTSDYSKYLDEKRAKEFVQWLMT <b>C</b>

В таблице аминокислоты, выделенные жирным шрифтом и подчеркнутые, образуют кольцо, а аминокислоты, обозначенные как "X" обозначают ненативную аминокислоту, альфа-метилглутаминовую кислоту. В дополнение, "CA" обозначает 4-имидазолацетил, а "DA" обозначает дезаминагистидил.

Здесь и далее типичный двойной агонист рецепторов GLP-1/глюкагона пролонгированного действия, т.е. двойной агонист рецепторов GLP-1/глюкагона пролонгированного действия, в котором Fc связан с тридцатой аминокислотой двойного агониста рецепторов GLP-1/глюкагона при помощи непептидного полимера, PEG (полиэтиленгликоля), изготовлен и применяется в примерах 2 и 3 далее.

Пример 2. Подтверждение влияния двойного агониста рецепторов GLP-1/глюкагона пролонгированного действия на неалкогольную жировую болезнь печени на мышинной модели ob/ob с потреблением пищи, богатой жирами, фруктозой и холестерином, содержащей большое количество транс-жиров.

С целью подтверждения влияния двойного агониста рецепторов GLP-1/глюкагона пролонгированного действия на неалкогольную жировую болезнь печени для введения мышинной модели ob/ob выбирают диету с высоким содержанием жиров (40% ккал), фруктозы (22%) и холестерина (2%), содержащую большое количество транс-жиров (диета НТФ), в течение 8 недель для подготовки мышинной модели к неалкогольной жировой болезни печени. Далее двойной агонист рецепторов GLP-1/глюкагона пролонгированного действия подкожно вводят мышам один раз каждые 2 дня (Q2D) в дозе 0,7 и 1,4 нмоль/кг, и введение повторяют в течение 4 недель. Вес животных сравнивают с таковым в группе, получающей основу, не содержащую действующее вещество, в течение четырехнедельного тестирования. После завершения четырехнедельного тестирования измеряют и сравнивают вес печени. Дополнительно после завершения четырехнедельного теста подтверждают наличие мРНК коллагена-1a, который является маркером фиброза; ФНО-α, который является провоспалительным маркером; и SREBP-1c, который является маркером липогенеза.

В результате измерение веса тела и веса печени после введения в течение 4 недель демонстрирует, что в случае двойного агониста рецепторов GLP-1/глюкагона пролонгированного действия вес значительно снижается по сравнению с группой, получающей основу, не содержащую действующее вещество (фиг. 1). Такие результаты предполагают, что двойной агонист рецепторов GLP-1/глюкагона пролонгированного действия настоящего изобретения может подавлять набор веса, который наблюдается в животной модели неалкогольной жировой болезни печени, и что он может снижать побочные эффекты стандартных лекарственных средств для улучшения инсулинорезистентности.

Дополнительно сравнение мРНК коллагена-1a, ФНО-α и SREBP-1c демонстрирует, что в группе двойного агониста рецепторов GLP-1/глюкагона пролонгированного действия количество данных мРНК значительно снижено (фиг. 2). Такие результаты предполагают, что двойной агонист рецепторов GLP-1/глюкагона пролонгированного действия настоящего изобретения уменьшает фиброз, воспаление и т.п.

в животной модели неалкогольной жировой болезни печени и ингибирует образование жира, таким образом, являясь эффективным для профилактики и лечения неалкогольной жировой болезни печени.

Пример 3. Подтверждение влияния двойного агониста рецепторов GLP-1/глюкагона пролонгированного действия на неалкогольную жировую болезнь печени на мышинной модели D10 с потреблением пищи, содержащей большое количество транс-жиров.

Для подтверждения влияния двойного агониста рецепторов GLP-1/глюкагона пролонгированного действия на неалкогольную жировую болезнь печени пищу с 60% высоким содержанием транс-жиров вводят нормальной мышинной модели (C57BL/6) в течение 12 недель для приготовления животной модели неалкогольной жировой болезни печени. Далее мыши подкожно вводят 3 нмоль/кг двойного агониста рецепторов GLP-1/глюкагона пролонгированного действия один раз в неделю (QW), и введение повторяют в течение 4 недель. После завершения четырехнедельного теста измеряют содержание триглицеридов печени (ТГ печени) и холестерина сыворотки крови.

В результате, измерение содержания триглицеридов печени и холестерина сыворотки после введения в течение 4 недель демонстрирует, что в случае введения двойного агониста рецепторов GLP-1/глюкагона пролонгированного действия их концентрации значительно снижены по сравнению с той, которая наблюдается в группе получения основы, не содержащей действующее вещество, а также они значительно снижены по сравнению с концентрациями у нормального животного, находящегося на сбалансированной диете (фиг. 3).

Такие результаты предполагают, что двойной агонист рецепторов GLP-1/глюкагона пролонгированного действия настоящего изобретения может снижать содержание триглицеридов печени и холестерина сыворотки крови до нормальных концентраций у животных в животной модели неалкогольной жировой болезни печени, таким образом, являясь эффективным для профилактики и лечения неалкогольной жировой болезни печени.

Из вышеуказанного описания специалистам в данной области техники должно быть понятно, что изобретение может быть осуществлено в других специфических формах без изменения технической сущности или важных характеристик. В этом отношении варианты осуществления, описанные выше, следует понимать как иллюстративные, а не ограничивающие в каждом отношении. Объем изобретения следует толковать таким образом, что значение и объем прилагаемой формулы изобретения в большей степени, чем подробное описание и все изменения или вариации, полученные из эквивалентных подходов, попадают в объем настоящего изобретения.

#### ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Применение фармацевтической композиции, содержащей конъюгат двойного агониста рецепторов глюкагоноподобного пептида-1 (GLP-1)/глюкагона пролонгированного действия, где указанный конъюгат содержит

двойной агонист рецепторов GLP-1/глюкагона, содержащий аминокислотную последовательность любой из последовательностей SEQ ID № 2-34;

участок Fc иммуноглобулина и

непептидильный полимер, где указанный непептидильный полимер ковалентно связывает двойной агонист рецепторов GLP-1/глюкагона и участок Fc иммуноглобулина, для профилактики или лечения воспаления печени.

2. Применение фармацевтической композиции по п.1, где композиция характеризуется либо отсутствием побочного эффекта в виде набора веса, либо снижением побочного эффекта в виде набора веса.

3. Применение фармацевтической композиции по п.1 или 2, где композиция снижает экспрессию или активность фактора некроза опухолей- $\alpha$  (ФНО- $\alpha$ ), который является провоспалительным маркером.

4. Применение фармацевтической композиции по любому из предшествующих пунктов, где двойной агонист рецепторов GLP-1/глюкагона пролонгированного действия одновременно активирует рецептор GLP-1 и рецептор глюкагона.

5. Применение фармацевтической композиции по любому из предшествующих пунктов, где двойной агонист рецепторов GLP-1/глюкагона пролонгированного действия содержит аминокислотную последовательность SEQ ID № 24, 25 или 26.

6. Применение фармацевтической композиции по п.5, где двойной агонист рецепторов GLP-1/глюкагона содержит аминокислотную последовательность SEQ ID № 24.

7. Применение фармацевтической композиции по п.5, где аминокислоты в позициях 12 и 16 или 16 и 20 двойного агониста рецепторов GLP-1/глюкагона образуют кольцо.

8. Применение фармацевтической композиции по п.7, где двойной агонист рецепторов GLP-1/глюкагона содержит аминокислотную последовательность SEQ ID № 25.

9. Применение фармацевтической композиции по п.7, где двойной агонист рецепторов GLP-1/глюкагона содержит аминокислотную последовательность SEQ ID № 26.

10. Применение фармацевтической композиции по любому из предшествующих пунктов, где непептидильный полимер представляет собой полиэтиленгликоль, полипропиленгликоль, сополимер эти-

ленгликоль-пропиленгликоль, полиоксиэтилированный полиол, поливиниловый спирт, полисахарид, поливиниловый этиловый эфир, полимолочную кислоту (PLA), полимолочную-гликолиевую кислоту (PLGA), липидный полимер, гиалуроновую кислоту и их комбинацию.

11. Применение фармацевтической композиции по п.10, где непептидный полимер представляет собой полиэтиленгликоль.

12. Применение фармацевтической композиции по п.10, где полисахарид представляет собой декстран, хитин или их комбинацию.

13. Применение фармацевтической композиции по любому из предшествующих пунктов, где участок Fc иммуноглобулина является агликозилированным.

14. Применение фармацевтической композиции по любому из предшествующих пунктов, где участок Fc иммуноглобулина включает от одного до трех доменов из CH2, CH3 или CH4 доменов.

15. Применение фармацевтической композиции по п.14, где участок Fc иммуноглобулина дополнительно включает шарнирную область.

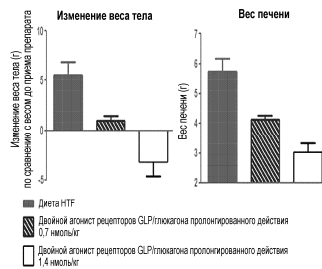
16. Применение фармацевтической композиции по любому из предшествующих пунктов, где участок Fc иммуноглобулина представляет собой участок Fc, полученный из IgG, IgA, IgD, IgE или IgM.

17. Применение фармацевтической композиции по п.16, где домены CH2, CH3 и CH4 представляют собой гибриды IgG, IgA, IgD, IgE и IgM доменов CH2, CH3 и CH4.

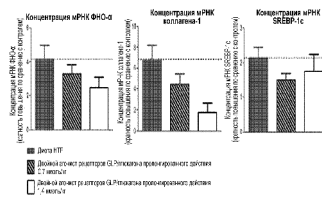
18. Применение фармацевтической композиции по п.16, где участок Fc иммуноглобулина представляет собой димер или полимер из одноцепочечных иммуноглобулинов, состоящих из доменов, полученных из IgG, IgA, IgD, IgE или IgM.

19. Применение фармацевтической композиции по любому из предшествующих пунктов, где композиция дополнительно содержит фармацевтически приемлемый носитель.

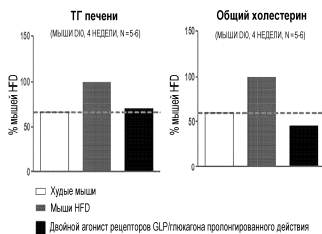
20. Способ профилактики или лечения воспаления печени, включающий введение фармацевтической композиции, охарактеризованной в любом из пп.1-19 пациенту, который имеет высокий риск развития воспаления печени или уже имеет воспаление печени.



Фиг. 1



Фиг. 2



Фиг. 3

