

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **046413**

(13) **B1**

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

(45) Дата публикации и выдачи патента
2024.03.11

(51) Int. Cl. *A61K 38/17* (2006.01)
A61P 1/16 (2006.01)

(21) Номер заявки
202292839

(22) Дата подачи заявки
2020.06.29

(54) **ТЕРАПЕВТИЧЕСКОЕ ПРИМЕНЕНИЕ ТРОЙНОГО АГОНИСТА РЕЦЕПТОРОВ
ГЛЮКАГОНА/GLP-1/GIP ИЛИ ЕГО КОНЬЮГАТА ПРОТИВ ЗАБОЛЕВАНИЯ ПЕЧЕНИ**

(31) **10-2019-0077776; 10-2020-0004386;
10-2020-0004379; 10-2020-0069219**

(56) KR-A-1020150023013
KR-A-1020170080522
WO-A1-2016198624
KR-A-1020180053747
KR-A-1020170003466

(32) **2019.06.28; 2020.01.13; 2020.01.13;
2020.06.08**

(33) **KR**

(43) **2023.01.11**

(62) **202190830; 2020.06.29**

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

(72) Изобретатель:
**Квон Хён Джу, Ким Чон Гук, Пак Ын
Джин, Ли Чон Мин, Ли Чон Сок, Чо
Хё Сан, Чой Ин Ён (KR)**

(74) Представитель:
**Поликарпов А.В., Соколова М.В.,
Черкас Д.А., Игнатъев А.В., Путинцев
А.И., Билык А.В., Дмитриев А.В.,
Бучака С.М., Бельтюкова М.В. (RU)**

(57) Изобретение относится к терапевтическому применению тройного агониста, обладающего активностью в отношении ко всем из рецепторов глюкагона, GLP-1 и GIP, или его конъюгата длительного действия против заболевания печени.

B1

046413

046413

B1

Область изобретения

Настоящее изобретение относится к терапевтическим применениям против заболевания печени тройного агониста, обладающего активностями в отношении всех из рецепторов глюкагона, GLP-1 (глюкагоноподобный пептид) и GIP (глюкозозависимый инсулинопотропный пептид) или его конъюгатов.

Предшествующий уровень техники

Печень представляет собой один из главных органов в живом организме животного, и типичные примеры связанных с печенью заболеваний включают неалкогольное ожирение печени (NAFL), гепатит, фиброз печени, холестатическое заболевание печени, цирроз, печеночную недостаточность, рак печени и т.д. Известно, что вирусы, алкоголь, лекарственные средства, иммунные нарушения, метаболические заболевания и т.д. могут вызывать воспаление печени, и такие заболевания, как фиброз печени, цирроз, рак печени и т.д., могут развиваться по мере того как воспаление печени прогрессирует и становится хроническим.

В общем случае, гепатит, который представляет собой заболевание, характеризующееся воспалением печени, является причиной большинства заболеваний печени, и известно, что по мере того как развивается гепатит могут появляться различные заболевания печени (например фиброз печени, цирроз и т.д.), сопровождаемые воспалением печени или вызванные воспалением печени. Гепатит можно разделить, согласно его характеристикам, на острый гепатит и хронический гепатит, и он может быть разделен, согласно его причинам, на вирусный гепатит, алкогольный гепатит и лекарственный гепатит. Также предполагается то, что холестатическое заболевание печени вызвано воспалительным заболеванием.

Другие типичные примеры заболевания печени включают метаболическое заболевание печени (например жировое перерождение печени, неалкогольная жировая болезнь печени (NAFLD; неалкогольный стеатогепатит), стеатогепатит, фиброз печени, цирроз, печеночная недостаточность, рак печени и т.д.). Поскольку данные заболевания печени могут быть обнаружены только после значительного развития, из-за отсутствия каких-либо симптомов или их узнавания на ранних стадиях, они считаются ведущими причинами смерти не только в Корее, но также и во всем мире, и, таким образом, существует большая потребность в разработке терапевтических лекарственных средств.

Фиброз печени является результатом процесса заживления раны из-за повторного повреждения печени, и нормальное восстановление может быть возможным при устранении причины повреждения печени, но при повторении фиброза печени имеет место цирроз, и фиброз усиливается. Цирроз представляет собой хроническое заболевание, которое патологически сопровождается некрозом, воспалением и фиброзом клеток печени, и которое развивается в такие заболевания, как осложнения цирроза (например печеночная недостаточность), рак печени и т.д., в конечном счете приводя к смерти. В частности, поскольку цирроз может быть обнаружен только после значительного развития из-за отсутствия узнавания его симптома на ранних стадиях заболевания, активно проводятся исследования для разработки способа быстрого лечения фиброза печени, который представляет собой состояние, предшествующее его развитию в цирроз и т.д. Группа др. Kupos недавно описала лекарственное средство, которое разрабатывается посредством химического улучшения ибипинапанта, который является типом проникающего в мозг антагониста каннабиноидного рецептора типа 1 (CB-1), однако все еще не ясно, является ли данное лекарственное средство эффективным в качестве реального лекарственного средства (JCI Insight. 2016; 1(11): e87336.doi:10.1172/jci.insight.87336). Соответственно, все еще существует потребность в разработке лекарственного средства, способного лечить фиброз различных тканей или фиброз печени, которое может обеспечивать пациенту удобство без побочных эффектов.

Неалкогольный стеатогепатит (NAFLD) - метаболическое заболевание печени - представляет собой заболевание, которое демонстрирует тканевые отклонения, аналогичные алкогольному гепатиту, несмотря на отсутствие связи с потреблением алкоголя, и он включает простой стеатоз, неалкогольное ожирение печени (NAFL), неалкогольный стеатогепатит (NASH) и т.д. Неалкогольный стеатогепатит (NAFLD) демонстрировал тенденцию к увеличению наряду с увеличением популяций с ожирением и диабетом, и ежегодный коэффициент заболеваемости в Корее составляет примерно 16%.

Для того чтобы предупредить и/или лечить такой неалкогольный стеатогепатит, предпринимаются усилия по улучшению инсулинорезистентности. Например, все еще активно проводятся клинические испытания по тиазолидиндионам (TZD) или метформину, который является типом сенсibilизатора инсулина (Hepatology (2003) 38: 1008-17, J Clin Invest. (2001) 108: 1167-74).

Однако в случае лечения с использованием лекарственных средств на основе TZD, они имеют недостатки в том, что они могут вызывать большой набор массы и уменьшать скорость тока жидкостей организма. Следовательно, известно, что применение данных лекарственных средств невозможно для пациентов с сердечным заболеванием. Из-за этих результатов и т.д. в данной области различными путями узнали, что непосредственное применение лекарственных средств, которые известны как эффективные в лечении диабета (например средств, улучшающих инсулинорезистентность), в качестве терапевтического средства для лечения неалкогольного стеатогепатита (NAFLD) может вызывать проблемы, такие как побочные эффекты.

Между тем, известно, что макрофаги отвечают за важные иммунные ответы в печени и вовлечены в неалкогольную жировую болезнь печени (NAFLD), включающую неалкогольный стеатогепатит (NASH)

(Nat Rev Gastroenterol Hepatol. 2019 Mar; 16(3): 145-159). В частности, известно, что макрофаги активированы у пациентов с неалкогольной жировой болезнью печени (NAFLD), и что лекарственные средства, нацеленные на такие макрофаги, могут ингибировать воспаление и фиброз в печени и демонстрировать терапевтическую эффективность против неалкогольного стеатогепатита (NASH).

Глюкагоноподобный пептид-1 (GLP-1) и глюкозозависимый инсулинотропный полипептид (GIP) представляют собой типичные желудочно-кишечные гормоны и нейрогормоны, участвующие в регуляции глюкозных компонентов крови согласно приему пищи. Глюкагон представляет собой пептидный гормон, секретируемый поджелудочной железой, и он участвует в регуляции уровней глюкозы крови, наряду с двумя веществами, описанными выше.

GLP-1 представляет собой гормон, секретируемый тонким кишечником, и стимулируется приемом пищи, и он стимулирует секрецию инсулина в поджелудочной железе зависимым от глюкозы крови образом и ингибирует секрецию глюкагона, таким образом помогая действию снижения уровней глюкозы в крови. Кроме того, GLP-1 играет роль в замедлении пищеварительной активности в желудочно-кишечном тракте посредством действия в качестве фактора насыщения и уменьшая уровень приема пищи посредством замедления времени, в течение которого переваренная пища проходит через желудочно-кишечный тракт. Кроме того, сообщалось о том, что введение GLP-1 мышам оказывает эффект ингибирования приема пищи и уменьшения массы тела, и было подтверждено то, что данные эффекты происходят аналогично как в нормальном состоянии, так и в состоянии ожирения, таким образом демонстрируя потенциал GLP-1 в качестве терапевтического средства для лечения ожирения.

GIP, являясь одним из желудочно-кишечных гормонов, секретируемых посредством стимуляции приемом пищи, подобно GLP-1, представляет собой гормон, состоящий из 42 аминокислот, секретируемый кишечными K-клетками. Сообщалось, что GIP выполняет функции стимуляции секреции инсулина в поджелудочной железе зависимым от глюкозы крови образом, и помощи в снижении уровней глюкозы в крови, имеет эффект увеличения активации GLP-1 и т.д.

Глюкагон продуцируется в поджелудочной железе при падении уровней глюкозы крови по таким причинам, как воздействие лекарственного средства, заболевание, недостаточность гормонов или ферментов и т.д. Глюкагон шлет сигнал для разрушения гликогена в печени с индукцией высвобождения глюкозы и посредством этого увеличивает уровни глюкозы крови до нормального уровня. Помимо эффекта увеличения уровней глюкозы крови, сообщалось о том, что глюкагон подавляет у животных и человека аппетит, и активирует гормоночувствительную липазу адипоцитов так, чтобы стимулировать липолиз и расходование энергии, демонстрируя, посредством этого, эффект против ожирения.

Описание изобретения

Техническая проблема.

Целью настоящего изобретения является предложение фармацевтической композиции для предупреждения или лечения заболевания печени, которая содержит пептид, который обладает активностями в отношении рецептора глюкагона, рецептора глюкагоноподобного пептида-1 (GLP-1) и рецептора глюкозозависимого инсулинотропного полипептида (GIP), или его конъюгат.

Другой целью настоящего изобретения является предложение способа предупреждения или лечения заболевания печени, который включает введение пептида или композиции, содержащей данный пептид, субъекту, нуждающемуся в этом.

Еще одной целью настоящего изобретения является предложение применения пептида или композиции, содержащей пептид, в получении лекарственного средства для предупреждения или лечения заболевания печени.

Техническое решение.

Для достижения приведенных выше целей согласно одному аспекту настоящего изобретения предложена фармацевтическая композиция для предупреждения или лечения заболевания печени, которая содержит пептид, обладающий активностями в отношении рецептора глюкагона, рецептора глюкагоноподобного пептида-1 (GLP-1) и рецептора глюкозозависимого инсулинотропного полипептида (GIP), или его конъюгат.

В конкретном воплощении фармацевтическая композиция для предупреждения или лечения заболевания печени содержит фармацевтически приемлемый эксципиент; и пептид, содержащий аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 1-102, в фармацевтически эффективном количестве.

В другом конкретном воплощении пептид отличается тем, что он находится в форме конъюгата длительного действия, и конъюгат длительного действия отличается тем, что он представлен следующей формулой 1:

[Формула 1]:

X-L-F,

где в приведенной выше формуле 1

X представляет собой пептид с аминокислотной последовательностью любой из SEQ ID NO: 1-102;

L представляет собой линкер, включающий этиленгликолевое повторяющееся звено;

F представляет собой Fc-фрагмент иммуноглобулина или его производное; и

"-" представляет собой ковалентную связь между X и L, и между L и F.

В композиции согласно любому из предыдущих конкретных воплощений пептид отличается тем, что С-конец данного пептида является амидированным.

В композиции согласно любому из предыдущих конкретных воплощений заболевание печени отличается тем, что оно представляет собой воспаление печени.

В композиции согласно любому из предыдущих конкретных воплощений фармацевтическая композиция отличается тем, что она уменьшает экспрессию по меньшей мере одного из TNF- α (фактор некроза опухолей-альфа), MCP-1 (моноцитарный хемотаксический белок-1) и IL-6 (интерлейкин-6) в ткани печени при введении.

В композиции согласно любому из предыдущих конкретных воплощений заболевание печени отличается тем, что оно представляет собой метаболическое заболевание печени.

В композиции согласно любому из предыдущих конкретных воплощений фармацевтическая композиция отличается тем, что она уменьшает количество триглицеридов и/или холестерина в ткани печени при введении.

В композиции согласно любому из предыдущих конкретных воплощений заболевание печени отличается тем, что оно представляет собой по меньшей мере одно заболевание, выбранное из группы, состоящей из простого стеатоза, неалкогольного ожирения печени (NAFL), воспаления печени, неалкогольного стеатогепатита (NASH), холестатического заболевания печени, фиброза печени, цирроза, печеночной недостаточности и рака печени.

В композиции согласно любому из предыдущих конкретных воплощений холестатическое заболевание печени отличается тем, что оно представляет собой заболевание, выбранное из группы, состоящей из первичного билиарного цирроза, первичного склерозирующего холангита и их комбинации.

В композиции согласно любому из предыдущих конкретных воплощений заболевание печени отличается тем, что оно представляет собой неалкогольный стеатогепатит (NASH), который сопровождается жировым перерождением печени, фиброзом печени или циррозом.

В композиции согласно любому из предыдущих конкретных воплощений заболевание печени отличается тем, что оно представляет собой рак печени, вызванный неалкогольным стеатогепатитом (NASH).

В композиции согласно любому из предыдущих конкретных воплощений заболевание печени отличается тем, что оно представляет собой по меньшей мере одно заболевание, выбранное из группы, состоящей из простого стеатоза, неалкогольного ожирения печени (NAFL) и цирроза.

В композиции согласно любому из предыдущих конкретных воплощений заболевание печени отличается тем, что оно представляет собой по меньшей мере одно заболевание, выбранное из группы, состоящей из воспаления печени, неалкогольного стеатогепатита (NASH) и фиброза печени.

В композиции согласно любому из предыдущих конкретных воплощений заболевание печени отличается тем, что оно представляет собой фиброз печени, и фармацевтическая композиция отличается тем, что она уменьшает при введении концентрацию в крови TIMP-1 (тканевой ингибитор металлопротеиназы-1) и/или гиалуроновой кислоты у субъекта, которому вводили данную фармацевтическую композицию.

В композиции согласно любому из предыдущих конкретных воплощений пептид отличается тем, что он включает аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 21, 22, 42, 43, 50, 64, 66, 67, 70, 71, 76, 77, 96, 97 и 100.

В композиции согласно любому из предыдущих конкретных воплощений данный пептид отличается тем, что он включает аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 21, 22, 42, 43, 50, 66, 67, 77, 96, 97 и 100.

В композиции согласно любому из предыдущих конкретных воплощений пептид отличается тем, что он включает аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 21, 22, 42, 43, 50, 77 и 96.

В композиции согласно любому из предыдущих конкретных воплощений молекулярная масса по формуле повторяющегося звена этиленгликоля в L находится в диапазоне от 1 до 100 кДа.

Согласно еще одному аспекту настоящего изобретения предложен способ предупреждения или лечения заболевания печени, который включает введение пептида или композиции, содержащей данный пептид, субъекту, нуждающемуся в этом.

Согласно еще одному аспекту настоящего изобретения предложено применение пептида или композиции, содержащей данный пептид, в изготовлении лекарственного средства для предупреждения или лечения заболевания печени.

Согласно еще одному аспекту настоящего изобретения предложено применение пептида или композиции, содержащей данный пептид, для предупреждения или лечения заболевания печени.

Полезные эффекты.

Тройной агонист или его конъюгат согласно настоящему изобретению можно применять для предупреждения или лечения заболевания печени.

Краткое описание графических материалов

На фиг. 1 показана диаграмма, иллюстрирующая результаты изменений балла активности NAFLD (NAS) у мышей при введении конъюгата SEQ ID NO: 42 длительного действия один раз каждые 2 суток в течение 28 суток в мышинной модели неалкогольного стеатогепатита (NASH), индуцированного приемом пищи с недостатком метионина и холина (MCD) (*р менее 0,05; **р менее 0,01; ***р менее 0,001 относительно носителя при определении посредством однофакторного ANOVA (дисперсионный анализ)).

На фиг. 2 показана диаграмма, иллюстрирующая результаты подтверждения эффекта улучшения жирового перерождения печени при помощи конъюгата SEQ ID NO: 42 длительного действия у мышей со стеатогепатитом, индуцированным диетой AMLN.

На фиг. 3 показана диаграмма и изображения, иллюстрирующие результаты подтверждения эффекта уменьшения балла стеатоза при помощи конъюгата SEQ ID NO: 42 длительного действия у мышей со стеатогепатитом, индуцированным диетой AMLN.

На фиг. 4 показана диаграмма, иллюстрирующая результаты изменений балла ELF согласно введению конъюгата SEQ ID NO: 42 длительного действия в мышинной модели фиброза печени, индуцированного введением TAA (тиоацетамид) (*р менее 0,05; **р менее 0,01; ***р менее 0,001 относительно носителя при определении посредством однофакторного ANOVA).

На фиг. 5 показана диаграмма, иллюстрирующей изменения в области, положительной в отношении окрашивания Сириусом красным, в ткани печени согласно введению конъюгата SEQ ID NO: 42 длительного действия в мышинной модели фиброза печени, индуцированного введением TAA (*р менее 0,05; **р менее 0,01; ***р менее 0,001 относительно носителя при определении посредством однофакторного ANOVA).

На фиг. 6 показана диаграмма, иллюстрирующей изменения концентрации маркера фиброза печени в крови согласно введению конъюгата SEQ ID NO: 42 длительного действия в мышинной модели фиброза печени, индуцированного BDL (перевязывание желчного протока) (*р менее 0,05; **р менее 0,01; ***р менее 0,001 относительно носителя при определении посредством однофакторного ANOVA, †††р менее 0,01 относительно обетихоловой кислоты при определении посредством непарного t-критерия).

На фиг. 7а показаны изображения, иллюстрирующие результаты окрашивания Сириусом красным согласно введению конъюгата SEQ ID NO: 42 длительного действия в мышинной модели фиброза печени, индуцированного BDL.

На фиг. 7б показана диаграмма, иллюстрирующая балл фиброза ткани печени согласно введению конъюгата SEQ ID NO: 42 длительного действия в мышинной модели фиброза печени, индуцированного BDL (*р менее 0,05; **р менее 0,01; ***р менее 0,001 относительно носителя при определении посредством однофакторного ANOVA).

На фиг. 8 показаны изображения, иллюстрирующие результаты окрашивания Н&Е (гематоксилин и эозин), и диаграмма, иллюстрирующая изменения балла воспаления ткани печени согласно введению конъюгата SEQ ID NO: 42 длительного действия в мышинной модели первичного билиарного цирроза (PBC) (*р менее 0,05; **р менее 0,01; ***р менее 0,001 относительно носителя при определении посредством однофакторного ANOVA).

На фиг. 9 показаны изображения, иллюстрирующие результаты окрашивания Н&Е, и диаграмма, иллюстрирующая изменения балла паренхиматозного некроза ткани печени согласно введению конъюгата SEQ ID NO: 42 длительного действия в мышинной модели первичного склерозирующего холангита (PSC) (*р менее 0,05; **р менее 0,01; ***р менее 0,001 относительно носителя при определении посредством однофакторного ANOVA).

На фиг. 10 показана диаграмма, иллюстрирующая изменения балла гиперплазии желчного протока согласно введению конъюгата SEQ ID NO: 42 длительного действия в мышинной модели PSC (первичный склерозирующий холангит) (*р менее 0,05; **р менее 0,01; ***р менее 0,001 относительно носителя при определении посредством однофакторного ANOVA).

На фиг. 11 показана диаграмма, иллюстрирующая изменения уровня экспрессии цитокинов, связанных с воспалением, в ткани печени согласно введению конъюгата SEQ ID NO: 42 длительного действия (*р менее 0,05; **р менее 0,01; ***р менее 0,001 относительно носителя при определении посредством однофакторного ANOVA).

На фиг. 12 показана диаграмма, иллюстрирующая результаты, подтверждающие эффект уменьшения человеческого фактора некроза опухолей- α (TNF- α) при помощи тройных агонистов с SEQ ID NO: 42, 66, 67, 97 и 100 в линии клеток человеческих макрофагов.

Подробное описание изобретения

Далее настоящее изобретение будет описано подробнее.

При этом каждое из объяснений и типичных воплощений, раскрытых в данном описании изобретения, может применяться к каждому другому объяснению и типичному воплощению. То есть, все комбинации различных раскрытых здесь факторов входят в объем настоящего изобретения. Кроме того, объем настоящего изобретения не должен ограничиваться конкретным раскрытием, приведенным ниже в описании изобретения.

Во всем описании настоящего изобретения используются не только традиционные однобуквенные и трехбуквенные обозначения встречающихся в природе аминокислот, но также и те трехбуквенные коды, которые обычно допускаются для других аминокислот, таких как α -аминоизомасляная кислота (Aib), Sar (N-метилглицин) и α -метилглутаминовая кислота. Кроме того, упомянутые здесь аминокислоты сокращены согласно правилам номенклатуры IUPAC-IUB (Международный союз теоретической и прикладной химии - Международный биохимический союз) следующим образом:

аланин (Ala, A)	аргинин (Arg, R)
аспарагин (Asn, N)	аспарагиновая кислота (Asp, D)
цистеин (Cys, C)	глутаминовая кислота (Glu, E)
глутамин (Gln, Q)	глицин (Gly, G)
гистидин (His, H)	изолейцин (Ile, I)
лейцин (Leu, L)	лизин (Lys, K)
метионин (Met, M)	фенилаланин (Phe, F)
пролин (Pro, P)	серин (Ser, S)
треонин (Thr, T)	триптофан (Trp, W)
тирозин (Tyr, Y)	валин (Val, V)

Для достижения целей настоящего изобретения в одном аспекте настоящего изобретения предложена фармацевтическая композиция для предупреждения или лечения заболевания печени, которая содержит пептид, обладающий активностями в отношении рецептора глюкагона, рецептора глюкагоноподобного пептида-1 (GLP-1) и рецептора глюкозозависимого инсулилотропного полипептида (GIP), и, в частности, пептид, содержащий аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 1-102.

В настоящем изобретении термин "пептид, обладающий активностями в отношении рецептора глюкагона, рецептора GLP-1 и рецептора GIP" может быть использован взаимозаменяемо с термином "тройной агонист".

Такой пептид включает различные вещества, которые имеют значительный уровень активностей в отношении рецепторов глюкагона, GLP-1 и GIP (например разные пептиды).

Тройной агонист, имеющий значительный уровень активностей в отношении рецепторов глюкагона, GLP-1 и GIP, может демонстрировать активности *in vitro*, которые составляют примерно 0,001% или выше, примерно 0,01% или выше, примерно 0,1% или выше, примерно 1% или выше, примерно 2% или выше, примерно 3% или выше, примерно 4% или выше, примерно 5% или выше, примерно 6% или выше, примерно 7% или выше, примерно 8% или выше, примерно 9% или выше, примерно 10% или выше, примерно 20% или выше, примерно 30% или выше, примерно 40% или выше, примерно 50% или выше, примерно 60% или выше, примерно 70% или выше, примерно 80% или выше, примерно 90% или выше и примерно 100% или выше, в отношении одного или более рецепторов, в частности двух или более рецепторов и более конкретно всех трех рецепторов из рецепторов глюкагона, GLP-1 и GIP по сравнению с природными лигандами соответствующих рецепторов (природным глюкагоном, природным GLP-1 и природным GIP), но данный тройной агонист конкретно не ограничивается этими, и интервалы активности со значительным увеличением включены без ограничения.

В частности, активности в отношении рецепторов могут включать, например, случаи, когда активности *in vitro* составляют 0,1% или выше, 1% или выше, 2% или выше, 3% или выше, 4% или выше, 5% или выше, 6% или выше, 7% или выше, 8% или выше, 9% или выше, 10% или выше, 20% или выше, 30% или выше, 40% или выше, 50% или выше, 60% или выше, 70% или выше, 80% или выше, 90% или выше, 100% или выше и примерно 200% или выше по сравнению с природными рецепторами, но данные активности не ограничены ими.

Термин "примерно", при использовании здесь, относится к интервалу, включающему все из плюс/минус 0,5, плюс/минус 0,4, плюс/минус 0,3, плюс/минус 0,2, плюс/минус 0,1 и так далее, и он включает все значения, эквивалентные значениям, которые следуют непосредственно после термина "примерно", или значения в аналогичном интервале, но не ограничивается этими.

Способ измерения *in vitro* активности тройного агониста может относиться к примеру 1 настоящего изобретения, но данный способ конкретно не ограничивается этим.

При этом тройной агонист отличается наличием одной или более активностей (1)-(3), описанных ниже, и, в частности, его значительной активностью:

- 1) активации рецептора GLP-1;
- 2) активации рецептора глюкагона и
- 3) активации рецептора GIP.

В частности, активация рецепторов может включать, например, случаи, когда активности *in vitro* составляют примерно 0,1% или выше, примерно 1% или выше, примерно 2% или выше, примерно 3% или выше, примерно 4% или выше, примерно 5% или выше, примерно 6% или выше, примерно 7% или выше, примерно 8% или выше, примерно 9% или выше, примерно 10% или выше, примерно 20% или выше, примерно 30% или выше, примерно 40% или выше, примерно 50% или выше, примерно 60% или выше, примерно 70% или выше, примерно 80% или выше, примерно 90% или выше и примерно 100% или выше по сравнению с природными рецепторами, но эти активности не ограничены ими.

Кроме того, пептид может представлять собой пептид, который имеет увеличенный период полувыведения *in vivo* по сравнению с любым из природного GLP-1, природного глюкагона и природного GIP, но данный пептид конкретно не ограничивается этими.

Пептид может представлять собой пептид, который не встречается в природе, но он конкретно не ограничивается этими.

Пептид может представлять собой аналог природного глюкагона, но конкретно не ограничивается этими.

В частности, аналог природного глюкагона включает пептиды, которые имеют по меньшей мере одно отличие в аминокислотной последовательности по сравнению с аминокислотной последовательностью природного глюкагона; пептиды, которые модифицированы посредством модификации последовательности природного глюкагона; и миметики природного глюкагона.

При этом природный глюкагон может иметь следующую аминокислотную последовательность, но конкретно не ограничен ею:

His-Ser-Gln-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Tyr-Ser-Lys-Tyr-Leu-Asp-Ser-Arg-Arg-Ala-

Gln-Asp-Phe-Val-Gln-Trp-Leu-Met-Asn-Thr (SEQ ID NO: 118)

В частности, пептид может представлять собой аналог природного глюкагона, в котором по меньшей мере на одной аминокислоте последовательности природного глюкагона произошло изменение, выбранное из группы, состоящей из замены, добавления, делеции, модификации и их комбинации, но данный пептид конкретно не ограничивается этими.

Кроме того, замена аминокислоты включает и замену аминокислотой, и замену неприродным соединением.

Кроме того, добавление может осуществляться на N-конце и/или C-конце пептида. При этом длина аминокислотного сегмента, подлежащего присоединению, конкретно не ограничена, и можно присоединять 1 или более, 2 или более, 3 или более, 4 или более, 5 или более, 6 или более, 7 или более, 8 или более, 9 или более, 10 или более, 11 или более аминокислот, и в широком смысле, присоединение может включать присоединение полипептида, но данное присоединение конкретно не ограничено этим.

Более конкретно, пептид может представлять собой пептиды, где 1 или более, 2 или более, 3 или более, 4 или более, 5 или более, 6 или более, 7 или более, 8 или более, 9 или более, 10 или более, 11 или более, 12 или более, 13 или более, 14 или более, 15 или более, 16 или более, 17 или более, 18 или более, 19 или более, или 20 аминокислот, выбранных из группы, состоящей из аминокислот в положениях 1, 2, 3, 7, 10, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 23, 24, 27, 28 и 29 в аминокислотной последовательности природного глюкагона заменены другими аминокислотами, и, кроме того, может представлять собой пептиды, где 1 или более, 2 или более, 3 или более, 4 или более, 5 или более, 6 или более, 7 или более, 8 или более, 9 или более, 10 или более, 11 или более аминокислот независимо или дополнительно присоединены к их C-концу, но данный пептид конкретно не ограничен ими.

Еще более конкретно, пептид может представлять собой пептиды, где 1 или более, 2 или более, 3 или более, 4 или более, 5 или более, 6 или более, 7 или более, 8 или более, 9 или более, 10 или более, 11 или более, 12 или более, 13 или более, 14 или более, 15 или более, 16 или более, 17 или более, 18 или более или 19 аминокислот, выбранных из группы, состоящей из аминокислот в положениях 1, 2, 3, 10, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 23, 24, 27, 28 и 29 в аминокислотной последовательности природного глюкагона заменены другими аминокислотами, и, кроме того, может представлять собой пептиды, где 1 или более, 2 или более, 3 или более, 4 или более, 5 или более, 6 или более, 7 или более, 8 или более, 9 или более, 10 или более, или 11 или более аминокислот независимо или дополнительно присоединены к их C-концу, но данный пептид конкретно не ограничивается этими.

Еще более конкретно, данный пептид может представлять собой пептиды, где 1 или более, 2 или более, 3 или более, 4 или более, 5 или более, 6 или более, 7 или более, 8 или более, 9 или более, 10 или более, 11 или более, 12 или более, 13 или более, 14 или более, 15 или более, 16 или более, или 17 аминокислот, выбранных из группы, состоящей из аминокислот в положениях 1, 2, 3, 10, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 23, 24, 28 и 29 в аминокислотной последовательности природного глюкагона заменены другими аминокислотами, и, кроме того, может представлять собой пептиды, где 1 или более, 2 или более, 3 или более, 4 или более, 5 или более, 6 или более, 7 или более, 8 или более, 9 или более, 10 или более, или

11 или более аминокислот независимо или дополнительно присоединены к их С-концу, но данный пептид конкретно не ограничивается этими.

Еще более конкретно, данный пептид может представлять собой пептиды, где 1 или более, 2 или более, 3 или более, 4 или более, 5 или более, 6 или более, 7 или более, 8 или более, 9 или более, 10 или более, 11 или более, 12 или более, 13 или более, или 14 аминокислот, выбранных из группы, состоящей из аминокислот в положениях 1, 2, 13, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 23, 24, 27, 28 и 29 в аминокислотной последовательности природного глюкагона заменены другими аминокислотами, и, кроме того, может представлять собой пептиды, где 1 или более, 2 или более, 3 или более, 4 или более, 5 или более, 6 или более, 7 или более, 8 или более, 9 или более, 10 или более, или 11 или более аминокислот независимо или дополнительно присоединены к их С-концу, но данный пептид конкретно не ограничивается этими.

Аминокислоты, подлежащие введению, могут быть выбраны из группы, состоящей из тирозина, α -метил-глутаминовой кислоты, Aib, метионина, глутаминовой кислоты, гистидина, лизина, лейцина, изолейцина, глутамин, валина, глицина, аланина, цистеина, серина, аланина, аспарагиновой кислоты и аргинина, но подлежащие введению аминокислоты конкретно не ограничены ими.

Например, подлежащая(ие) присоединению аминокислотная(ые) последовательность(и) может(гут) представлять собой одну или более чем одну аминокислотную последовательность, происходящую из аминокислотной последовательности природного GLP-1, аминокислотной последовательности природного GIP или аминокислотной последовательности природного эксендина-4.

Такой пептид может включать внутримолекулярный мостик (например ковалентную сшивку или нековалентную сшивку) и, в частности, может находиться в форме, включающей кольцо, например может находиться в форме, где кольцо образовано 16-й аминокислотой и 20-й аминокислотой пептида, но данный пептид конкретно не ограничивается этим.

Неограничивающий пример кольца может включать лактамный мостик (или лактамное кольцо).

Кроме того, пептид включает все пептиды, которые модифицированы для включения кольца или включения аминокислоты, способной образовать кольцо в целевом положении.

Например, пептид может представлять собой пептид, где одна из 16-й и 20-й аминокислот заменена глутаминовой кислотой, а другая - лизином, которые могут образовать кольцо, но данный пептид не ограничивается этим.

Такое кольцо может быть образовано боковыми цепями аминокислот в пределах пептида; например, кольцо может находиться в форме, где образуется лактамное кольцо между боковой цепью лизина и боковой цепью глутаминовой кислоты, но данное кольцо конкретно не ограничивается этими.

Примеры пептида, полученного комбинацией данных способов, могут включать пептиды, в которых их аминокислотные последовательности отличаются от аминокислотной последовательности природного глюкагона по меньшей мере одной аминокислотой, а α -углерод на их N-конце удален, при наличии активностей к рецептору глюкагона, рецептору GLP-1 и рецептору GIP и т.д., но данный пептид не ограничивается этим, и пептид, применимый к настоящему изобретению, может быть получен комбинацией разных способов получения аналогов.

Кроме того, в отношении пептида по настоящему изобретению некоторые из аминокислот могут быть заменены другими аминокислотами или неприродными соединениями, чтобы избежать распознавания деградирующим ферментом для увеличения периода полувыведения данного пептида *in vivo*, но данный пептид конкретно не ограничивается этим.

В частности, пептид может представлять собой пептид, в котором период полувыведения *in vivo* увеличен посредством избегания распознавания деградирующим ферментом путем замены 2-й аминокислотной последовательности среди аминокислотных последовательностей данного пептида, но любая замена или модификация аминокислот для того, чтобы избежать распознавания деградирующим ферментом *in vivo* включена без ограничения.

Кроме того, такая модификация для получения пептида включает все модификации с использованием аминокислот L-типа или D-типа и/или неприродных аминокислот; и/или модификацию природной последовательности, например модификацию функциональной группы боковой цепи, внутримолекулярное ковалентное связывание (например образование кольца между боковыми цепями), метилирование, ацилирование, убиквитинирование, фосфорилирование, аминоксанирование, биотинилирование и т.д.

Кроме того, данная модификация также включает все модификации, где одна или более чем одна аминокислота добавлена к амино- и/или карбокси-концу природного глюкагона.

В качестве аминокислот для замены или добавления можно использовать не только 20 аминокислот, обычно встречающихся в человеческих белках, но также и нетипичные или не встречающиеся в природе аминокислоты. Коммерческие источники нетипичных аминокислот включают Sigma-Aldrich, ChemPep Inc. и Genzyme Pharmaceuticals. Пептиды, в которые включены данные аминокислоты, и типичные пептидные последовательности могут быть синтезированы и приобретены у коммерческих компаний по синтезу пептидов (например American Peptide Company, Bachem (США) или Anygen (Корея)).

Аминокислотные производные могут быть получены таким же способом, и в качестве одного такого примера можно использовать 4-имидазоуксусную кислоту и т.д.

Кроме того, пептид согласно настоящему изобретению может находиться в форме варианта, где N-конец и/или C-конец и т.д. данного пептида химически модифицирован или защищен органическими группами, или аминокислоты могут быть добавлены на конец данного пептида для его защиты от протеаз *in vivo* с увеличением его стабильности.

В частности, в случае химически синтезированного пептида, его N- и C-концы являются электрически заряженными. Следовательно, для того чтобы удалить такой заряд, N-конец данного пептида может быть ацетилирован и/или C-конец данного пептида может быть амидирован, но модификация пептида конкретно не ограничивается этим.

Кроме того, пептид согласно настоящему изобретению включает все пептиды в виде самого пептида, его соли (например его фармацевтически приемлемой соли) или его сольвата. Кроме того, данный пептид может находиться в любой фармацевтически приемлемой форме.

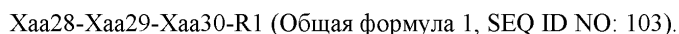
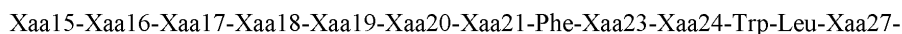
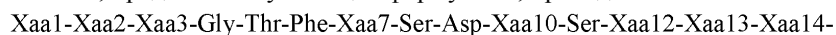
Вид соли конкретно не ограничен. Однако данная соль предпочтительно представляет собой соль, которая является безопасной и эффективной формой для субъекта (например млекопитающего), но данная соль конкретно не ограничивается этим.

Термин "фармацевтически приемлемый" относится к веществу, которое может быть эффективно использовано для желательного применения в пределах объема фармако-медицинского решения без индуцирования избыточной токсичности, раздражения, аллергических ответов и т.д.

Термин "фармацевтически приемлемая соль" при использовании здесь относится к соли, полученной из фармацевтически приемлемых неорганических кислот, органических кислот или оснований. Примеры подходящих кислот могут включать соляную кислоту, бромноватую кислоту, серную кислоту, азотную кислоту, перхлорную кислоту, фумаровую кислоту, малеиновую кислоту, фосфорную кислоту, гликолевую кислоту, молочную кислоту, салициловую кислоту, янтарную кислоту, толуол-п-сульфоновую кислоту, винную кислоту, уксусную кислоту, лимонную кислоту, метансульфоновую кислоту, муравьиную кислоту, бензойную кислоту, малоновую кислоту, нафталин-2-сульфоновую кислоту, бензолсульфоновую кислоту и т.д. Соли, полученные из подходящих оснований, могут включать соли щелочных металлов (например натрия, калия и т.д.); щелочноземельных металлов (например магния); аммония и т.д.

Термин "сольват", при использовании здесь, относится к комплексу, образованному пептидом согласно настоящему изобретению или его солью и молекулой растворителя.

В другом воплощении пептида он может представлять собой пептид, который включает аминокислотную последовательность, представленную общей формулой I, приведенной ниже:



В общей формуле I, приведенной выше,

Xaa1 представляет собой гистидин, 4-имидазоацетил или тирозин;

Xaa2 представляет собой глицин, α -метилглутаминовую кислоту или Aib;

Xaa3 представляет собой глутаминовую кислоту или глутамин;

Xaa7 представляет собой треонин или изолейцин;

Xaa10 представляет собой лейцин, тирозин, лизин, цистеин или валин;

Xaa12 представляет собой лизин, серин или изолейцин;

Xaa13 представляет собой глутамин, тирозин, аланин или цистеин;

Xaa14 представляет собой лейцин, метионин или тирозин;

Xaa15 представляет собой цистеин, аспарагиновую кислоту, глутаминовую кислоту или лейцин;

Xaa16 представляет собой глицин, глутаминовую кислоту или серин;

Xaa17 представляет собой глутамин, аргинин, изолейцин, глутаминовую кислоту, цистеин или лизин;

Xaa18 представляет собой аланин, глутамин, аргинин или гистидин;

Xaa19 представляет собой аланин, глутамин, цистеин или валин;

Xaa20 представляет собой лизин, глутамин или аргинин;

Xaa21 представляет собой глутаминовую кислоту, глутамин, лейцин, цистеин или аспарагиновую кислоту;

Xaa23 представляет собой изолейцин или валин;

Xaa24 представляет собой аланин, глутамин, цистеин, аспарагин, аспарагиновую кислоту или глутаминовую кислоту;

Xaa27 представляет собой валин, лейцин или лизин;

Xaa28 представляет собой цистеин, лизин, аланин, аспарагин или аспарагиновую кислоту;

Xaa29 представляет собой цистеин, глицин, глутамин, треонин, глутаминовую кислоту или гистидин;

Xaa30 представляет собой цистеин, глицин, лизин или гистидин, или отсутствует; и

R1 представляет собой цистеин, GKKNWVKHNIT (SEQ ID NO: 106), m-SSGAPPPS-n (SEQ ID NO: 107) или m-SSGQPPPS-n (SEQ ID NO: 108), или отсутствует, где:

m представляет собой -Cys-, -Pro- или -Gly-Pro-; и

n представляет собой -Cys-, -Gly-, -Ser- или -His-Gly-, или отсутствует.

Примерами тройного агониста могут быть примеры, которые включают аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1-11 и SEQ ID NO: 13-102, и примеры, которые (по существу) состоят из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1-11 и SEQ ID NO: 13-102, но данный тройной агонист не ограничивается этими.

Кроме того, хотя он и описан в настоящем изобретении как "пептид, состоящий из конкретной SEQ ID NO", такое описание не исключает мутацию, которая может происходить путем добавления бессмысленной последовательности выше или ниже аминокислотной последовательности соответствующей SEQ ID NO, или мутацию, которая может происходить естественным образом, или его молчащую мутацию, при условии, что данный пептид имеет активность, идентичную или соответствующую активности пептида, который состоит из аминокислотной последовательности соответствующей SEQ ID NO, и он очевидно входит в объем настоящего изобретения, даже когда пептид имеет такое присоединение последовательности или мутацию в ней.

Приведенное выше может быть применимым к другим конкретным воплощениям или аспектам настоящего изобретения, но не ограничивается этими.

В частности, в общей формуле 1 выше, Хаа14 может представлять собой лейцин или метионин, и Хаа15 может представлять собой цистеин, аспарагиновую кислоту или лейцин.

Примеры такого пептида могут включать пептид, который включает аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1-11, 14-17 и 21-102; или пептид, который (по существу) состоит из нее, но данный пептид конкретно не ограничивается этими.

Пептид может значительно активировать по меньшей мере один из рецептора глюкагона, рецептора GLP-1 и рецептора GIP, но данный пептид конкретно не ограничивается этим. В частности, данный пептид может представлять собой пептид, который значительно активизирует рецептор GLP-1, или дополнительно значительно активизирует рецептор глюкагона и/или рецептор GIP, но данный пептид конкретно не ограничивается этим.

Более конкретно пептид может представлять собой пептид, в котором в общей формуле 1 выше

Хаа2 представляет собой глицин, α -метил-глутаминовую кислоту или Aib;

Хаа7 представляет собой треонин;

Хаа10 представляет собой тирозин, цистеин или валин;

Хаа12 представляет собой лизин или изолейцин;

Хаа13 представляет собой тирозин, аланин, глутамин или цистеин;

Хаа14 представляет собой лейцин, цистеин или метионин;

Хаа15 представляет собой цистеин, лейцин, глутаминовую кислоту или аспарагиновую кислоту;

Хаа17 представляет собой глутамин, аргинин, изолейцин, цистеин, глутаминовую кислоту или лизин;

Хаа18 представляет собой аланин, глутамин, аргинин или гистидин;

Хаа19 представляет собой аланин, глутамин, валин или цистеин;

Хаа20 представляет собой лизин, аргинин или глутамин;

Хаа21 представляет собой глутаминовую кислоту, глутамин, лейцин, цистеин или аспарагиновую кислоту;

Хаа23 представляет собой изолейцин или валин;

Хаа24 представляет собой цистеин, аланин, глутамин, аспарагин, глутаминовую кислоту или аспарагиновую кислоту; и

Хаа27 представляет собой лейцин или лизин, но данный пептид конкретно не ограничивается этими.

Более конкретно пептид может представлять собой пептид, в котором в общей формуле 1 выше

Хаа2 представляет собой глицин, α -метил-глутаминовую кислоту или Aib;

Хаа7 представляет собой треонин;

Хаа10 представляет собой тирозин, цистеин или валин;

Хаа12 представляет собой лизин или изолейцин;

Хаа13 представляет собой тирозин, аланин или цистеин;

Хаа14 представляет собой лейцин или метионин;

Хаа15 представляет собой цистеин или аспарагиновую кислоту;

Хаа17 представляет собой глутамин, аргинин, изолейцин, цистеин или лизин;

Хаа18 представляет собой аланин, аргинин или гистидин;

Хаа19 представляет собой аланин, глутамин или цистеин;

Хаа20 представляет собой лизин или глутамин;

Хаа21 представляет собой глутаминовую кислоту, цистеин или аспарагиновую кислоту;

Хаа23 представляет собой валин;
 Хаа24 представляет собой аланин, глутамин, цистеин, аспарагин или аспарагиновую кислоту; и
 Хаа27 представляет собой лейцин или лизин, но данный пептид конкретно не ограничивается этим.
 Более конкретно данный пептид может представлять собой пептид, в котором в общей формуле 1

выше

Хаа2 представляет собой α -метил-глутаминовую кислоту или Aib;
 Хаа7 представляет собой треонин;
 Хаа10 представляет собой тирозин или цистеин;
 Хаа12 представляет собой лизин или изолейцин;
 Хаа13 представляет собой тирозин, аланин или цистеин;
 Хаа14 представляет собой лейцин или метионин;
 Хаа15 представляет собой цистеин или аспарагиновую кислоту;
 Хаа16 представляет собой глутаминовую кислоту;
 Хаа17 представляет собой аргинин, изолейцин, цистеин или лизин;
 Хаа18 представляет собой аланин, аргинин или гистидин;
 Хаа19 представляет собой аланин, глутамин или цистеин;
 Хаа20 представляет собой лизин или глутамин;
 Хаа21 представляет собой глутаминовую кислоту или аспарагиновую кислоту;
 Хаа23 представляет собой валин;
 Хаа24 представляет собой глутамин, аспарагин или аспарагиновую кислоту;
 Хаа27 представляет собой лейцин; и
 Хаа28 представляет собой цистеин, аланин, аспарагин или аспарагиновую кислоту.

В частности, данный пептид может представлять собой пептид, в котором в общей формуле 1 выше

Хаа1 представляет собой гистидин или 4-имидазоацетил;
 Хаа2 представляет собой α -метил-глутаминовую кислоту или Aib;
 Хаа3 представляет собой глутамин;
 Хаа7 представляет собой треонин;
 Хаа10 представляет собой тирозин;
 Хаа12 представляет собой изолейцин;
 Хаа13 представляет собой аланин или цистеин;
 Хаа14 представляет собой метионин;
 Хаа15 представляет собой аспарагиновую кислоту;
 Хаа16 представляет собой глутаминовую кислоту;
 Хаа17 представляет собой изолейцин или лизин;
 Хаа18 представляет собой аланин или гистидин;
 Хаа19 представляет собой глутамин или цистеин;
 Хаа20 представляет собой лизин;
 Хаа21 представляет собой аспарагиновую кислоту;
 Хаа23 представляет собой валин;
 Хаа24 представляет собой аспарагин;
 Хаа27 представляет собой лейцин;
 Хаа28 представляет собой аланин или аспарагин;
 Хаа29 представляет собой глутамин или треонин; и
 Хаа30 представляет собой цистеин или лизин, или отсутствует.

Более конкретно пептид может представлять собой пептид, в котором в общей формуле 1 выше

Хаа2 представляет собой глицин, α -метил-глутаминовую кислоту или Aib;
 Хаа3 представляет собой глутамин;
 Хаа7 представляет собой треонин;
 Хаа10 представляет собой тирозин, цистеин или валин;
 Хаа12 представляет собой лизин;
 Хаа13 представляет собой тирозин;
 Хаа14 представляет собой лейцин;
 Хаа15 представляет собой аспарагиновую кислоту;
 Хаа16 представляет собой глицин, глутаминовую кислоту или серин;
 Хаа17 представляет собой глутамин, аргинин, цистеин или лизин;
 Хаа18 представляет собой аланин, аргинин или гистидин;
 Хаа19 представляет собой аланин или глутамин;
 Хаа20 представляет собой лизин или глутамин;
 Хаа21 представляет собой глутаминовую кислоту, цистеин или аспарагиновую кислоту;
 Хаа23 представляет собой валин;
 Хаа24 представляет собой аланин, глутамин или цистеин;

Хаа27 представляет собой лейцин или лизин; и

Хаа29 представляет собой глицин, глутамин, треонин или гистидин, но данный пептид конкретно не ограничивается этим.

Такой пептид может соответствовать случаю, когда данный пептид имеет значительные уровни активации как на рецепторе GLP-1, так и на рецепторе глюкагона, или более высокие уровни активации по сравнению с уровнем активации на рецепторе GIP; случаю, когда данный пептид имеет значительные уровни активации на всех из рецептора GLP-1, рецептора глюкагона и рецептора GIP; или случаю, когда данный пептид имеет значительные уровни активации как на рецепторе GLP-1, так и на рецепторе GIP и более высокие уровни активации по сравнению с уровнем активации на рецепторе глюкагона; но данные случаи конкретно не ограничены ими.

Примеры пептида могут включать пептид, который включает аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 8, 9, 21-37, 39, 42, 43, 49-61, 64-83, 85, 86, 88, 89, 91-93 и 95-102; или пептид, который (по существу) состоит из нее, но данный пептид конкретно не ограничивается этими.

В конкретном воплощении данный пептид может включать аминокислотную последовательность, представленную общей формулой 2 ниже.

Xaa1-Xaa2-Gln-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Xaa10-Ser-Lys-Xaa13-Xaa14-Xaa15-

Xaa16-Xaa17-Xaa18-Xaa19-Xaa20-Xaa21-Phe-Xaa23-Xaa24-Trp-Leu-Leu-Xaa28-Xaa29-

Xaa30-Xaa31-Ser-Ser-Gly-Gln-Pro-Pro-Pro-Ser-Xaa40 (Общая формула 2, SEQ ID NO: 104).

В общей формуле 2, приведенной выше, пептид может представлять собой пептид, где:

Хаа1 представляет собой 4-имидазоацетил, гистидин или тирозин;

Хаа2 представляет собой глицин, α -метил-глутаминовую кислоту или Aib;

Хаа10 представляет собой тирозин или цистеин;

Хаа13 представляет собой аланин, глутамин, тирозин или цистеин;

Хаа14 представляет собой лейцин, метионин или тирозин;

Хаа15 представляет собой аспарагиновую кислоту, глутаминовую кислоту или лейцин;

Хаа16 представляет собой глицин, глутаминовую кислоту или серин;

Хаа17 представляет собой глутамин, аргинин, изолейцин, глутаминовую кислоту, цистеин или лизин;

Хаа18 представляет собой аланин, глутамин, аргинин или гистидин;

Хаа19 представляет собой аланин, глутамин, цистеин или валин;

Хаа20 представляет собой лизин, глутамин или аргинин;

Хаа21 представляет собой цистеин, глутаминовую кислоту, глутамин, лейцин или аспарагиновую кислоту;

Хаа23 представляет собой изолейцин или валин;

Хаа24 представляет собой цистеин, аланин, глутамин, аспарагин или глутаминовую кислоту;

Хаа28 представляет собой лизин, цистеин, аспарагин или аспарагиновую кислоту;

Хаа29 представляет собой глицин, глутамин, цистеин или гистидин;

Хаа30 представляет собой цистеин, глицин, лизин или гистидин;

Хаа30 представляет собой пролин или цистеин; и

Хаа40 представляет собой цистеин или отсутствует.

Более конкретно, пептид может представлять собой пептид, где в общей формуле 2:

Хаа13 представляет собой аланин, тирозин или цистеин;

Хаа15 представляет собой аспарагиновую кислоту или глутаминовую кислоту;

Хаа17 представляет собой глутамин, аргинин, цистеин или лизин;

Хаа18 представляет собой аланин, аргинин или гистидин;

Хаа21 представляет собой цистеин, глутаминовую кислоту, глутамин или аспарагиновую кислоту;

Хаа23 представляет собой изолейцин или валин;

Хаа24 представляет собой цистеин, глутамин или аспарагин;

Хаа28 представляет собой цистеин, аспарагин или аспарагиновую кислоту;

Хаа29 представляет собой глутамин, цистеин или гистидин; и

Хаа30 представляет собой цистеин, лизин или гистидин.

Примеры пептида могут включать пептид, который включает аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 21, 22, 42, 43, 50, 64-77 и 95-102; более конкретно, пептид, который включает аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 21, 22, 42, 43, 50, 64-77 и 96-102; или пептид, который (по существу) состоит из них, но данный пептид конкретно не ограничивается этими.

В конкретном воплощении данный пептид может включать аминокислотную последовательность, представленную общей формулой 3, приведенной ниже.

Xaa1-Xaa2-Gln-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Tyr-Ser-Lys-Xaa13-Leu-Asp-Glu-Xaa17-Xaa18-Xaa19-Lys-Xaa21-Phe-Val-Xaa24-Trp-Leu-Leu-Xaa28-Xaa29-Xaa30-Xaa31-Ser-Ser-Gly-Gln-Pro-Pro-Pro-Ser-Xaa40 (Общая формула 3, SEQ ID NO: 105).

Данный пептид может представлять собой пептид, где в общей формуле 3, приведенной выше:

Xaa1 представляет собой гистидин или тирозин;
 Xaa2 представляет собой α -метил-глутаминовую кислоту или Aib;
 Xaa13 представляет собой аланин, тирозин или цистеин;
 Xaa17 представляет собой аргинин, цистеин или лизин;
 Xaa18 представляет собой аланин или аргинин;
 Xaa19 представляет собой аланин или цистеин;
 Xaa21 представляет собой глутаминовую кислоту или аспарагиновую кислоту;
 Xaa24 представляет собой глутамин или аспарагин;
 Xaa28 представляет собой цистеин или аспарагиновую кислоту;
 Xaa29 представляет собой цистеин, гистидин или глутамин;
 Xaa30 представляет собой цистеин или гистидин;
 Xaa31 представляет собой пролин или цистеин; и
 Xaa40 представляет собой цистеин или отсутствует.

Примеры пептида могут включать пептид, который включает аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 21, 22, 42, 43, 50, 64-71, 75-77 и 96-102; или пептид, который (по существу) состоит из нее, но данный пептид конкретно не ограничивается этими.

Дополнительно, пептид может представлять собой пептид, в котором в общей формуле 1, приведенной выше, R1 представляет собой цистеин, GKKNWVWVHIT (SEQ ID NO: 106), CSSGQPPPS (SEQ ID NO: 109), GPSSGAPPPS (SEQ ID NO: 110), GPSSGAPPPSC (SEQ ID NO: 111), PSSGAPPPS (SEQ ID NO: 112), PSSGAPPPSG (SEQ ID NO: 113), PSSGAPPPSHG (SEQ ID NO: 114), PSSGAPPPSS (SEQ ID NO: 115), PSSGQPPPS (SEQ ID NO: 116) или PSSGQPPPS (SEQ ID NO: 117), или отсутствует, но данный пептид конкретно не ограничивается этими.

Кроме того, пептид по настоящему изобретению может быть синтезирован согласно его длине методом, хорошо известным в данной области (например при помощи автоматического синтезатора пептидов) и может быть получен посредством технологии генной инженерии.

Конкретно пептид по настоящему изобретению может быть получен при помощи стандартного метода синтеза, системы рекомбинантной экспрессии или любым другим способом, известным в данной области. Соответственно, пептид по настоящему изобретению может быть синтезирован многими способами, включающими, например, способы, описанные ниже:

(а) способ синтеза пептида посредством ступенчатого твердофазного или жидкофазного метода, или посредством сборки фрагментов, с последующим выделением и очисткой конечного пептидного продукта; или

(б) способ осуществления экспрессии нуклеиновокислотной конструкции, кодирующей пептид, в клетке-хозяине, и выделения экспрессированного продукта из культуры клетки-хозяина; или

(в) способ осуществления бесклеточной экспрессии *in vitro* нуклеиновокислотной конструкции, кодирующей пептид, и выделения из нее экспрессированного продукта; или способ получения фрагментов пептида посредством любой комбинации способов (а), (б) и (в), получение данного пептида посредством связывания фрагментов пептида и затем выделение данного пептида.

В частности, композиция согласно изобретению представляет собой фармацевтическую композицию для предупреждения или лечения заболевания печени, и она может представлять собой фармацевтическую композицию, которая содержит фармацевтически приемлемый эксципиент; и пептид, содержащий аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 1-102, или пептид, (по существу) состоящий из нее, в фармацевтически эффективном количестве.

В более конкретном воплощении данный пептид может представлять собой пептид, который включает аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 21, 22, 42, 43, 50, 64, 66, 67, 70, 71, 76, 77, 96, 97 и 100, или (по существу) состоит из нее; пептид, который включает аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 21, 22, 42, 43, 50, 66, 67, 77, 96, 97 и 100, или (по существу) состоит из нее; или пептид, который включает аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 21, 22, 42, 43, 50, 77 и 96, или (по существу) состоит из нее; но данный пептид не ограничивается этими. Кроме того, в настоящем изобретении данный пептид находится в форме конъюгата длительного действия, и конъюгат длительного действия может представлять собой конъюгат, в котором биосовместимое вещество для увеличения периода полувыведения пептида *in vivo* связано с пептидом, имеющим активности в отношении рецептора глюкагона, рецептора GLP-1 и рецептора GIP. В настоящем описании изобретения термин "биосовместимое вещество" может использоваться взаимозаменяемо с термином "носитель".

В настоящем изобретении конъюгат пептида может демонстрировать повышенную продолжительность эффективности по сравнению с пептидом, с которым носитель не связан, и в настоящем изобрете-

нии такой конъюгат называется "конъюгатом длительного действия", что может использоваться взаимозаменяемо с "конъюгатом".

При этом конъюгат может представлять собой конъюгат, который не встречается в природе.

В частности, конъюгат длительного действия может представлять собой конъюгат, представленный Формулой I ниже, но конъюгат длительного действия не ограничивается этим.

[Формула 1]

X-L-F

где в формуле 1 выше

X представляет собой пептид, содержащий аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 1-102;

L представляет собой линкер, содержащий повторяющееся звено этиленгликоля;

F представляет собой Fc-фрагмент иммуноглобулина или его производное; и

"-" представляет собой ковалентную связь между X и L, и между L и F.

В приведенном выше конъюгате, F представляет собой вещество, способное увеличивать период полувыведения X (т.е. пептида, обладающего активностями в отношении рецептора глюкокагона, рецептора GLP-1 и рецептора GIP; и, в частности, пептида, содержащего аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 1-102), и оно соответствует структуре группировки, которая составляет конъюгат по настоящему изобретению.

F может представлять собой вещество, которое связано с X при помощи ковалентной химической связи или нековалентной химической связи, и, в частности, F и X могут быть связаны друг с другом через L посредством ковалентной химической связи.

В конкретном воплощении F может представлять собой Fc-фрагмент иммуноглобулина или его производное, и, более конкретно, Fc-фрагмент иммуноглобулина или его производное могут происходить из IgG, но F конкретно не ограничивается этими.

В настоящем изобретении термин "Fc-фрагмент иммуноглобулина" относится к области, которая включает части константной области 2 тяжелой цепи (CH₂) и/или константной области 3 тяжелой цепи (CH₃), за исключением переменных областей тяжелой и легкой цепей иммуноглобулина. Fc-фрагмент иммуноглобулина может представлять собой структуру, составляющую группировку конъюгата по настоящему изобретению.

В настоящем изобретении Fc-фрагмент включает не только природную последовательность, полученную посредством папаинового расщепления иммуноглобулина, но также ее производное (т.е. последовательности, в которых один или более чем один аминокислотный остаток в природной последовательности модифицирован посредством делеции, вставки, неконсервативной или консервативной замены или их комбинации) и, таким образом, отличается от последовательности природной формы.

F может иметь структуру, в которой две полипептидные цепи связаны дисульфидной связью, или структуру, в которой две полипептидные цепи связаны через атом азота только в одной из этих двух цепей, но структура F не ограничивается этими. Связь через атом азота может быть осуществлена с эпсилон-атомом N или N-концевой аминогруппой лизина посредством восстановительного аминирования.

Реакция восстановительного аминирования относится к реакции, в которой аминная группа или аминогруппа реагента взаимодействует с альдегидом другого реагента (т.е. с функциональной группой, способной к восстановительному аминированию) с получением амина, и затем образуется аминная связь посредством восстановительного аминирования. Реакция восстановительного аминирования представляет собой реакцию органического синтеза, широко известную в данной области.

В одном воплощении F может представлять собой структуру, которая связывается через атом азота N-конца пролина, но F не ограничивается этим.

Такой Fc-фрагмент иммуноглобулина может включать шарнирную область в константной области тяжелой цепи, но не ограничивается этим.

В настоящем изобретении Fc-фрагмент иммуноглобулина может включать конкретную шарнирную последовательность на N-конце.

Термин "шарнирная последовательность", при использовании здесь, относится к области, которая располагается в тяжелой цепи и образует димер Fc-фрагментов иммуноглобулина через межмолекулярную дисульфидную связь.

В настоящем изобретении шарнирная последовательность может представлять собой модифицированную последовательность, в которой часть шарнирной последовательности, имеющей следующую аминокислотную последовательность, делетирована и, таким образом, в данной последовательности имеется только один остаток цистеина, но шарнирная последовательность не ограничивается этим:

Glu-Ser-Lys-Tyr-Gly-Pro-Pro-Cys-Pro-Ser-Cys-Pro (SEQ ID NO: 119).

Шарнирная последовательность может представлять собой последовательность, в которой 8-й или 11-ый остаток цистеина в шарнирной последовательности SEQ ID NO: 119 делетирован, и, таким образом, в данную последовательность включен только один остаток цистеина. Шарнирная последовательность по настоящему изобретению может состоять из 3-12 аминокислот, включая только один остаток

цистеина, но шарнирная последовательность не ограничивается этим. Более конкретно, шарнирная последовательность по настоящему изобретению может иметь следующие последовательности:

Glu-Ser-Lys-Tyr-Gly-Pro-Pro-Pro-Ser-Cys-Pro (SEQ ID NO: 120),
 Glu-Ser-Lys-Tyr-Gly-Pro-Pro-Cys-Pro-Ser-Pro (SEQ ID NO: 121), Glu-Ser-Lys-Tyr-Gly-Pro-Pro-Cys-Pro-Ser (SEQ ID NO: 122), Glu-Ser-Lys-Tyr-Gly-Pro-Pro-Cys-Pro-Pro (SEQ ID NO: 123), Lys-Tyr-Gly-Pro-Pro-Cys-Pro-Ser (SEQ ID NO: 124), Glu-Ser-Lys-Tyr-Gly-Pro-Pro-Cys (SEQ ID NO: 125), Glu-Lys-Tyr-Gly-Pro-Pro-Cys (SEQ ID NO: 126), Glu-Ser-Pro-Ser-Cys-Pro (SEQ ID NO: 127), Glu-Pro-Ser-Cys-Pro (SEQ ID NO: 128), Pro-Ser-Cys-Pro (SEQ ID NO: 129), Glu-Ser-Lys-Tyr-Gly-Pro-Pro-Ser-Cys-Pro (SEQ ID NO: 130), Lys-Tyr-Gly-Pro-Pro-Pro-Ser-Cys-Pro (SEQ ID NO: 131), Glu-Ser-Lys-Tyr-Gly-Pro-Ser-Cys-Pro (SEQ ID NO: 132), Glu-Ser-Lys-Tyr-Gly-Pro-Pro-Cys (SEQ ID NO: 133), Lys-Tyr-Gly-Pro-Pro-Cys-Pro (SEQ ID NO: 134), Glu-Ser-Lys-Pro-Ser-Cys-Pro (SEQ ID NO: 135), Glu-Ser-Pro-Ser-Cys-Pro (SEQ ID NO: 136), Glu-Pro-Ser-Cys (SEQ ID NO: 137) и Ser-Cys-Pro (SEQ ID NO: 138).

Более конкретно, шарнирная последовательность может представлять собой последовательность, которая включает аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 129 (Pro-Ser-Cys-Pro) или SEQ ID NO: 138 (Ser-Cys-Pro), но данная шарнирная последовательность не ограничивается этим.

Fc-фрагмент иммуноглобулина по настоящему изобретению может находиться в форме, в которой две молекулы Fc-цепи иммуноглобулина образуют димер из-за присутствия шарнирной последовательности, и, кроме того, конъюгат формулы 1 по настоящему изобретению может находиться в форме, в которой один конец линкера связан с одной цепью димерных Fc-фрагментов иммуноглобулина, но Fc-фрагмент иммуноглобулина и конъюгат формулы 1 не ограничены ими.

Термин "N-конец" при использовании здесь, относится к amino-концу белка или полипептида, и он может включать 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10, или более аминокислот из самого терминального конца или терминального конца amino-конца. Fc-фрагмент иммуноглобулина по настоящему изобретению может включать шарнирную последовательность на N-конце, но Fc-фрагмент иммуноглобулина не ограничивается этим.

Кроме того, Fc-фрагмент иммуноглобулина по настоящему изобретению может представлять собой удлиненный Fc-фрагмент, который включает всю или часть константной области 1 тяжелой цепи (CH1) и/или константной области 1 легкой цепи (CL1), исключая переменные области тяжелой цепи и легкой цепи иммуноглобулина, при условии, что он имеет по существу такой же или улучшенный эффект по сравнению с его природным типом. Кроме того, Fc-фрагмент иммуноглобулина по настоящему изобретению может представлять собой фрагмент, в котором удалены некоторые довольно длинные аминокислотные последовательности, соответствующие CH2 и/или CH3.

Например, Fc-фрагмент иммуноглобулина по настоящему изобретению может представлять собой 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 двух, или более доменов из домена CH1, домена CH2, домена CH3 и домена CH4, и шарнирной области иммуноглобулина (или части шарнирной области); и 6) димер каждого домена константной области тяжелой цепи и константной области легкой цепи, но данный Fc-фрагмент иммуноглобулина не ограничивается этими.

Кроме того, в конкретном воплощении Fc-фрагмент иммуноглобулина может находиться в димерной форме, или одна молекула X может быть ковалентно связана с одним Fc-фрагментом в димерной форме и, в частности, Fc иммуноглобулина и X могут быть связаны друг с другом посредством непептидного полимера.

При этом также возможно, что две молекулы X симметрично связаны с одним Fc-фрагментом в димерной форме. В частности, Fc иммуноглобулина и X могут быть связаны друг с другом посредством непептидного линкера, но связь между Fc-фрагментом иммуноглобулина и X не ограничена воплощениями, описанными выше.

Кроме того, Fc-фрагмент иммуноглобулина по настоящему изобретению включает природные аминокислотные последовательности, а также их производные последовательности. Производные аминокислотной последовательности означает, что данная последовательность аминокислот отличается от его природной аминокислотной последовательности из-за присутствия делеции, присоединения, консервативной или неконсервативной замены, или их комбинации в одном или более чем одном аминокислотном остатке в последовательности природных аминокислот.

Например, в качестве подходящих для модификации сайтов можно использовать аминокислотные остатки в положениях 214-238, 297-299, 318-322 или 327-331 в Fc IgG, которые, как известно, являются важными для связывания.

Кроме того, возможны разные типы производных, например производное, где удален сайт, способный образовать межмолекулярную дисульфидную связь; производное, где удалены несколько N-концевых аминокислот из природного Fc; производное, где остаток метионина добавлен к N-концу природного Fc и т.д. Кроме того, могут быть удалены сайты связывания комплемента (например сайты связывания C1q) или сайты антителозависимой клеточной цитотоксичности (ADCC) для устранения эффекторной функции. Технологии получения производных последовательности Fc-фрагмента иммуноглобулина раскрыты в международных публикациях WO 97/34631, WO 96/32478 и т.д.

Аминокислотные замены в белке или пептиде, которые не изменяют всю активность молекулы, хорошо известны в данной области (H. Neurath, R. L. Hill, *The Proteins*, Academic Press, New York, 1979). Наиболее распространенные замены происходят между аминокислотными остатками 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 некоторых случаях аминокислоты могут быть модифицированы фосфорилированием, сульфатированием, акрилизацией, гликозилизацией, метилированием, фарнезилизацией, ацетилизацией, амидированием и т.д.

Кроме того, производные Fc, описанные выше, могут представлять собой производные, которые демонстрируют такую же биологическую активность, что и область Fc по настоящему изобретению, и имеют повышенную структурную стабильность области Fc в отношении нагрева, pH и т.д.

Кроме того, такой Fc-фрагмент может быть получен из природного типа, выделенного у человека и животных (например коровы, коз, свиней, мышей, кроликов, хомяков, крыс, морских свинок и т.д.), или может представлять собой рекомбинанты или их производные, полученные из трансформированных животных клеток или микроорганизмов. В частности, Fc-фрагмент может быть получен из природного Fc путем выделения полных иммуноглобулинов из человеческого или животных организмов и их обработки протеазой. Папаиновая обработка Fc-фрагмента генерирует фрагменты Fab и Fc, и пепсиновая обработка Fc-фрагмента продуцирует фрагменты pF'c и F(ab)₂. Данные фрагменты могут быть подвергнуты гель-фильтрации для выделения Fc или pF'c. В более конкретном воплощении Fc-фрагмент может представлять собой Fc-фрагмент рекомбинантного иммуноглобулина, где человеческий Fc-фрагмент получают из микроорганизма.

Кроме того, Fc-фрагмент иммуноглобулина может находиться в форме природного гликана, с повышенным содержанием гликанов по сравнению с его природным типом, с пониженным содержанием гликанов по сравнению с его природным типом или в дегликозированной форме. Повышение, снижение уровня или удаление гликанов Fc иммуноглобулина может достигаться традиционными способами, такими как химический способ, ферментативный способ и способ генной инженерии с использованием микроорганизма. В частности, Fc-фрагмент иммуноглобулина, где из Fc удалены гликаны, демонстрирует значительное снижение аффинности связывания в отношении комплемента (C1q) и снижение или устранение антителозависимой цитотоксичности или комплементзависимой цитотоксичности, и, таким образом, он не индуцирует ненужных иммунных ответов *in vivo*. В этом отношении Fc-фрагмент иммуноглобулина в дегликозированной или агликозированной форме может быть более подходящим для выполнения первичной цели настоящего изобретения в качестве носителя лекарственного средства.

Термин "дегликозилирование", при использовании здесь, означает удаление гликанов из Fc-фрагмента с использованием фермента, и термин "агликозилирование" означает, что Fc-фрагмент продуцируется в негликозированной форме в прокариотах, и в более конкретном воплощении в *E. coli*.

При этом Fc-фрагмент иммуноглобулина может происходить из человека или животных (например коров, коз, свиней, мышей, кроликов, хомяков, крыс, морских свинок и т.д.), и в более конкретном воплощении он может происходить из человека.

Кроме того, Fc-фрагмент иммуноглобулина может происходить из IgG, IgA, IgD, IgE, IgM или их комбинации или гибрида. В более конкретном воплощении Fc-фрагмент иммуноглобулина может происходить из IgG или IgM, которые являются одними из самых многочисленных белков в человеческой крови, и в еще более конкретном воплощении он может происходить из IgG, который, как известно, увеличивает периоды полувыведения лиганд-связывающих белков. В еще более конкретном воплощении Fc-фрагмент иммуноглобулина может представлять собой Fc-фрагмент IgG4, и в наиболее конкретном воплощении он может представлять собой агликозилированный Fc-фрагмент, происходящий из человеческого IgG4, но данный Fc-фрагмент иммуноглобулина не ограничивается этим.

Кроме того, в конкретном воплощении Fc-фрагмент иммуноглобулина, представляющий собой фрагмент человеческого IgG4, может находиться в форме гомодимера, в котором два мономера связаны внутренней дисульфидной связью (межцепочечная форма) между цистеинами, которые представляют собой 3-ю аминокислоту каждого мономера. В частности, каждый мономер гомодимера независимо имеет/или может иметь внутреннюю дисульфидную связь между цистеинами в положениях 35 и 95; и внутреннюю дисульфидную связь между цистеинами в положениях 141 и 199 (т.е. две внутренние дисульфидные связи (межцепочечная форма)). В отношении количества аминокислот, каждый мономер может состоять из 221 аминокислоты, и аминокислоты, образующие гомодимер, могут состоять в общей сложности из 442 аминокислот, но количество аминокислот не ограничено этим.

В частности, Fc-фрагмент иммуноглобулина может представлять собой фрагмент, в котором два

мономера, имеющие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 139 (состоящую из 221 аминокислоты), образуют гомодимер посредством внутренней дисульфидной связи между цистеинами, которые представляют собой 3-ю аминокислоту каждого мономера, и в котором мономеры гомодимера независимо образуют внутреннюю дисульфидную связь между цистеинами в положениях 35 и 95, и внутреннюю дисульфидную связь между цистеинами в положениях 141 и 199, но Fc-фрагмент иммуноглобулина не ограничивается этим.

Термин "комбинация", при использовании здесь, означает, что полипептиды, кодирующие одноцепочечные Fc-фрагменты иммуноглобулина такого же происхождения, связаны с одноцепочечным полипептидом другого происхождения с образованием димера или мультимера. То есть можно получить димер или мультимер из двух или более чем двух фрагментов, выбранных из группы, состоящей из Fc-фрагментов IgG Fc, IgA Fc, IgM Fc, IgD Fc и IgE Fc.

При этом L может представлять собой непептидный линкер, например линкер, содержащий повторяющееся звено этиленгликоля.

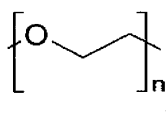
В настоящем изобретении термин "непептидный линкер" включает биосовместимый полимер, в котором соединены два или более чем два повторяющихся звена. Повторяющиеся звенья связаны друг с другом посредством любой ковалентной связи, которая не является пептидной связью. Непептидный линкер может представлять собой одну структуру, которая составляет группировку конъюгата по настоящему изобретению, и он соответствует L в формуле 1, приведенной выше. В качестве непептидного линкера, который можно использовать в настоящем изобретении, можно использовать без ограничения любой полимер, который имеет устойчивость к протеазам *in vivo*. В настоящем изобретении термин "непептидный линкер" можно использовать взаимозаменяемо с непептидным полимером.

Непептидный линкер, хотя он и не является конкретно ограниченным, может представлять собой линкер, содержащий повторяющееся звено этиленгликоля (например полиэтиленгликоль), и, кроме того, те производные, которые уже известны в данной области, и производные, которые могут быть легко получены на технологическом уровне специалистов в данной области, включены в объем настоящего изобретения.

Повторяющееся звено непептидного линкера может представлять собой повторяющееся звено этиленгликоля, и, в частности, непептидный линкер может представлять собой линкер, который включает функциональную группу, используемую для получения в конце конъюгата при включении повторяющегося звена этиленгликоля. Конъюгат длительного действия согласно настоящему изобретению может находиться в форме, в которой X и F связаны через функциональную группу, но конъюгат длительного действия не ограничивается этим. В настоящем изобретении непептидный линкер может включать две, три или более чем три функциональные группы, и каждая функциональная группа может быть одинаковой или отличной друг от друга, но непептидный линкер не ограничивается этим.

В частности, линкер может представлять собой полиэтиленгликоль (PEG), представленный формулой 2 ниже, но линкер не ограничивается этим:

[Формула 2]



где n равен от 10 до 2400, n равен от 10 до 480, или n равен от 50 до 250, но диапазон n не ограничивается этим.

В приведенном выше конъюгате длительного действия группировка PEG может включать не только структуру $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n-$, но также атом кислорода, расположенный между связывающим элементом и структурой $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n-$, но группировка PEG не ограничивается этим.

Кроме того, в конкретном воплощении конъюгат может иметь структуру, в которой фрагмент иммуноглобулина (F) связан с пептидом (X), содержащим аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 1-102, посредством ковалентной связи через линкер, содержащий повторяющееся звено этиленгликоля, но структура конъюгата не ограничивается этим. Полиэтиленгликоль представляет собой общий термин, включающий все формы гомополимеров этиленгликоля, сополимеров PEG и монометилзамещенных полимеров PEG (mPEG), но полиэтиленгликоль конкретно не ограничивается этими.

Молекулярная масса непептидного полимера может находиться в диапазоне от 1 до 100 кДа, в частности от 1 до 20 кДа, или от 1 до 10 кДа, но молекулярная масса непептидного полимера не ограничивается этим. Кроме того, непептидный линкер по настоящему изобретению, который связан с полипептидом, соответствующим F, может включать не только один вид полимера, но также и комбинацию разных видов полимеров.

В конкретном воплощении один конец непептидного линкера может быть связан с аминогруппой или тиольной группой F (например Fc-фрагмента иммуноглобулина), тогда как другой конец может быть связан с аминогруппой или тиольной группой X.

В частности, непептидный полимер может включать реакционноспособную группу, которая может

быть связана с F (например Fc-фрагментом иммуноглобулина) и X на его обоих концах соответственно, и, более конкретно, реакционноспособную группу, которая может быть связана с аминогруппой, расположенной на N-конце лизина, или тиольной группой цистеина X; или с аминогруппой, расположенной на N-конце лизина, или тиольной группой цистеина F, но непептидный полимер не ограничивается этим.

Кроме того, реакционноспособная группа непептидного полимера, которая может быть связана с F (например Fc-фрагментом иммуноглобулина) и X, может быть выбрана из группы, состоящей из альдегидной группы, малеимидной группы и сукцинимидного производного, но реакционноспособная группа не ограничивается этим.

В приведенном выше в качестве примера альдегидной группы можно использовать пропиональдегидную группу или бутиральдегидную группу, но альдегидная группа не ограничивается этим.

В приведенном выше в качестве сукцинимидного производного можно использовать сукцинимидилвалерат, сукцинимидилметилбутаноат, сукцинимидилметилпропионат, сукцинимидилбутаноат, сукцинимидилпропионат, N-гидроксисукцинимид, гидроксисукцинимидил, сукцинимидилкарбоксиметил или сукцинимидилкарбонат, но сукцинимидное производное не ограничивается этим.

Непептидный линкер может быть связан с X и F через данные реакционноспособные группы, но реакционноспособные группы конкретно не ограничены ими.

Кроме того, конечный продукт, полученный посредством восстановительного аминирования при помощи альдегидной связи, является значительно более стабильным, чем продукт, связанный амидной связью. Альдегидная реакционноспособная группа селективно реагирует с N-концом при низком pH, при этом она может образовать ковалентную связь с остатком лизина при высоком pH (например pH 9,0).

Кроме того, реакционноспособные группы на каждом конце непептидного линкера могут быть одинаковыми или отличающимися друг от друга. Например, непептидный линкер может иметь малеимидную реакционноспособную группу на одном конце, при наличии альдегидной группы, пропиональдегидной группы или бутиральдегидной группы на другом конце. Однако реакционноспособные группы конкретно не ограничены ими, при условии, что F (в частности Fc-фрагмент иммуноглобулина) может быть связан с X на каждом конце непептидного линкера.

Например, непептидный линкер может включать, в качестве реакционноспособной группы, малеимидную группу на одном конце при включении альдегидной группы, пропиональдегидной группы или бутиральдегидной группы на другом конце.

При использовании в качестве непептидного полимера полиэтиленгликоля, имеющего реакционноспособную гидроксильную группу на обоих его концах, конъюгат белка длительного действия по настоящему изобретению может быть получен посредством активирования гидроксильной группы до разных реакционноспособных групп посредством известных химических реакций или путем использования имеющегося в продаже полиэтиленгликоля, имеющего модифицированную реакционноспособную группу.

В конкретном воплощении непептидный полимер может представлять собой полимер, который связан с остатком цистеина X, и, более конкретно, с -SH группой цистеина, но непептидный полимер не ограничивается этим.

Например, непептидный полимер может представлять собой полимер, который связан с пептидом, соответствующим X, в положении 10-го остатка цистеина, 13-го остатка цистеина, 15-го остатка цистеина, 17-го остатка цистеина, 19-го остатка цистеина, 21-го остатка цистеина, 24-го остатка цистеина, 28-го остатка цистеина, 29-го остатка цистеина, 30-го остатка цистеина, 31-го остатка цистеина, 40-го остатка цистеина или 41-го остатка цистеина, но непептидный полимер конкретно не ограничивается этим.

В частности, реакционноспособная группа данного непептидного полимера может быть связана с -SH группой остатка цистеина, и все приведенные выше описания могут применяться к данной реакционноспособной группе. В случае, когда используется малеимид-PEG-альдегид, малеимидная группа связана с -SH группой X посредством тиоэфирной связи, и альдегидная группа может быть связана с F (в частности с группой -NH₂ Fc иммуноглобулина) посредством реакции восстановительного аминирования, но связь не ограничивается этим, и данная связь просто представляет собой одно воплощение.

Кроме того, в приведенном выше конъюгате реакционноспособная группа непептидного полимера может быть связана с -NH₂, расположенным на N-конце Fc-фрагмента иммуноглобулина, но данная связь просто представляет собой одно воплощение.

Кроме того, данный конъюгат может представлять собой конъюгат, имеющий повышенную продолжительность эффективности по сравнению с природным GLP-1, GIP или глюкагоном, или X, который не модифицирован F, и такой конъюгат включает не только формы, описанные выше, но также все формы, инкапсулированные в биodeградируемые наночастицы и т.д.

Пептид согласно настоящему изобретению или его конъюгат может иметь применение в предупреждении или лечении заболевания печени.

Термин "заболевание печени", при использовании здесь, относится к заболеванию, имеющему место в печени, и он может включать метаболическое заболевание печени или воспаление печени, но заболевание печени не ограничивается этим. Типичные примеры заболевания печени могут включать простой стеатоз, неалкогольное ожирение печени (NAFL), воспаление печени, неалкогольный стеатогепатит

(NASH), холестатическое заболевание печени, фиброз печени, цирроз, печеночную недостаточность, рак печени и т.д., и при условии, что нарушение происходит в тканях и функциях печени, оно может представлять собой заболевание печени согласно настоящему изобретению. Во многих случаях воспаление печени может происходить из-за таких причин, как вирусы, алкоголь, лекарственные средства, иммунные расстройства, метаболические заболевания и т.д., и известно, что воспаление печени развивается в такие заболевания как цирроз, рак печени и т.д. в соответствии с развитием и хроническим характером воспаления печени. Композиция согласно настоящему изобретению может демонстрировать влияние на заболевание печени, сопровождаемое или вызванное воспалением печени (например воспаление печени, неалкогольный стеатогепатит (NASH) или фиброз печени), но заболевание печени не ограничивается этим.

При этом композиция согласно настоящему изобретению может демонстрировать влияние даже в отношении предупреждения или лечения заболевания печени, которое не сопровождается воспалением, и примеры такого заболевания печени могут включать простой стеатоз, неалкогольное ожирение печени (NAFL), цирроз и т.д., но заболевание печени не ограничивается этим.

Заболевание печени, в отношении которого пептид по настоящему изобретению или его конъюгат оказывает терапевтический эффект, может представлять собой метаболическое заболевание печени, но заболевание печени не ограничивается этим. Метаболическое заболевание печени представляет собой заболевание, вызванное аномальной химической реакцией организма, которая вмешивается в метаболизм организма, и оно включает простой стеатоз, жировое перерождение печени, стеатогепатит и т.д.

Композиция согласно настоящему изобретению может представлять собой композицию, которая демонстрирует эффект предупреждения или терапевтический эффект на метаболическое заболевание печени путем уменьшения количества триглицеридов и/или холестерина в ткани печени при введении, но данная композиция не ограничивается этим. Метаболическое заболевание печени может сопровождаться или может не сопровождаться воспалением, и примеры заболеваний печени, которые можно лечить композицией согласно настоящему изобретению, могут включать простой стеатоз, неалкогольное ожирение печени (NAFL), неалкогольный стеатогепатит (NASH) и т.д., но заболевания печени не ограничены ими.

"Неалкогольная жировая болезнь печени (NAFLD)", которая представляет собой типичный пример метаболического заболевания печени, относится к заболеванию, которое сопровождается жировым перерождением печени, даже несмотря на то, что субъект не имел истории потребления алкоголя, или не связанным с потреблением алкоголя. Жировое перерождение печени относится к возникновению феномена, при котором триглицериды, по-видимому, ненормально откладываются в клетках печени, в отличие от нормальных случаев. Примерно 5% нормальной печени состоит из жировой ткани. Хотя триглицериды, жирные кислоты, фосфолипиды, холестерин и сложные эфиры холестерина и являются главными компонентами жира, как только происходит жировое перерождение печени, большинство компонентов заменяется триглицеридами, и когда количество триглицеридов составляет 5% или более относительно массы печени, оно диагностируется как жировое перерождение печени. Жировое перерождение печени вызвано расстройством метаболизма жира в клетках печени или дефектом в процессе транспортировки избыточного жира и т.д., и оно, главным образом, вызвано расстройством жирового метаболизма в печени. Большой частью жира, накопленного при жировом перерождении печени, могут быть триглицериды.

Неалкогольное стеатогепатитное заболевание (NAFLD) относится к группе заболеваний, которая включает простой стеатоз с лишь избыточным накоплением жира в клетках печени, неалкогольное ожирение печени (NAFL), неалкогольный стеатогепатит (NASH), сопровождаемый печеночно-клеточным некрозом, воспалением и фиброзом, и т.д., но неалкогольный стеатогепатит (NAFLD) не ограничивается этим, при условии, что данное заболевание можно лечить композицией согласно настоящему изобретению. Неалкогольное стеатогепатитное заболевание (NAFLD) согласно настоящему изобретению может представлять собой заболевание, которое сопровождается неалкогольным стеатогепатитом (NASH), но неалкогольное стеатогепатитное заболевание (NAFLD) не ограничивается этим.

Кроме того, заболевание печени, в отношении которого пептид по настоящему изобретению или его конъюгат имеет терапевтический эффект, может представлять собой воспаление печени, но заболевание печени не ограничивается этим. При использовании здесь, термин "воспаление печени", которое является самой обычной причиной заболевания печени, относится к заболеванию, которое вызывает воспаление печени, и оно подразделяется на острый гепатит и хронический гепатит согласно причинам и симптомам. Вирусы, алкоголь, лекарственные средства, иммунные расстройства, метаболические заболевания и т.д. являются главными причинами.

Композиция согласно настоящему изобретению может уменьшать экспрессию по меньшей мере одного из TNF- α , MCP-1 и IL-6 в ткани печени при введении, и, посредством этого, данная композиция может демонстрировать эффект предупреждения или терапевтический эффект на воспаление печени, но эффекты данной композиции не ограничены этим.

Пептид по настоящему изобретению или его конъюгат может демонстрировать не только эффект облегчения воспаления самой печени, но также терапевтический эффект на заболевания, сопровождаемые или вызванные воспалением печени (например гепатит, неалкогольный стеатогепатит (NASH), фиб-

роз печени и т.д.).

При использовании здесь, "неалкогольный стеатогепатит (NASH)", который представляет собой одно из неалкогольных стеатогепатитных заболеваний, представляет собой типичный пример заболевания печени, сопровождаемого некрозом клеток печени, воспалением и фиброзом. Композиция согласно настоящему изобретению может подавлять воспаление и фиброз печени и, посредством этого, демонстрирует влияние на неалкогольный стеатогепатит (NASH), и, в частности, может демонстрировать влияние на неалкогольный стеатогепатит (NASH), сопровождаемый жировым перерождением печени, фиброзом печени или циррозом; или рак печени, вызванный неалкогольным стеатогепатитом (NASH), но заболевания не ограничены этим.

Термин "фиброз печени", при использовании здесь, относится к образованию избыточной фиброзной соединительной ткани в органах или тканях во время репаративного или ответного процесса в результате процесса заживления раны из-за повторного повреждения печени. Хронический характер и обострение воспаления печени известны как причина возникновения фиброза печени. Известно, что фиброз печени является обратимым (в отличие от цирроза), состоит из тонких фибрилл и не сопровождается образованием узелков. Как только прекращает действовать причина повреждения печени, может быть возможным восстановление нормальной печени. Однако при постоянном повторении процесса фиброза печени увеличивается образование сшивок между внеклеточными матриксами (ECM), приводя, посредством этого, к прогрессированию необратимого цирроза с узелками.

Композиция согласно настоящему изобретению может демонстрировать эффект предупреждения или терапевтический эффект на фиброз печени и, в частности, на фиброз печени, сопровождаемый неалкогольным стеатогепатитом (NASH), но эффекты не ограничены этим.

Композиция согласно настоящему изобретению, при введении субъекту, может демонстрировать эффект предупреждения или терапевтический эффект на фиброз печени у субъекта, которому введена данная композиция, посредством уменьшения уровней в крови TIMP-1 и/или гиалуроновой кислоты, но эффекты не ограничены этим.

В частности, пептид согласно настоящему изобретению или его конъюгат может демонстрировать влияние на фиброз печени и, в частности, данное влияние может заключаться в предупреждении или лечении фиброза печени посредством снижения балла усиленного фиброза печени (ELF).

Балл ELF (балл усиленного фиброза печени) представляет собой балл, который подтверждает степень заживления фиброза печени, и он может быть рассчитан согласно следующему уравнению. Балл ELF может быть рассчитан посредством следующего уравнения после измерения концентраций гиалуроновой кислоты (HA), N-концевого пропептида проколлагена типа III (PIIINP) и тканевого ингибитора металлопротеиназы-1 (TIMP-1) в образцах крови:

$$\text{Балл ELF} = 2,278 + 0,851 \ln(\text{CHA}) + 0,751 \ln(\text{CPIIINP}) + 0,394 \ln(\text{CTIMP-1})$$

Приведенное выше снижение балла ELF может представлять собой снижение от примерно 10% до примерно 100%, от примерно 10% до примерно 95%, от примерно 10% до примерно 90%, от примерно 10% до примерно 80%, от примерно 10% до примерно 70%, от примерно 10% до примерно 60%, от примерно 10% до примерно 50%, или от примерно 14% до примерно 30% по сравнению с группой, которой не вводили пептид согласно настоящему изобретению или его конъюгат длительного действия, но снижение балла ELF не ограничивается этим.

Композиция может предупреждать или лечить фиброз печени путем снижения балла ELF субъекта, которому вводили композицию, до примерно 9,8 или ниже, примерно 9,7 или ниже, примерно 9,6 или ниже, примерно 9,5 или ниже, примерно 9,4 или ниже, примерно 9,3 или ниже, примерно 9,2 или ниже или примерно 9,1 или ниже, но данное снижение балла ELF не ограничивается этим.

В настоящем изобретении "холестаз" относится к состоянию, при котором ток желчи от печени к двенадцатиперстной кишке замедляется или блокируется, и "холестатическое заболевание печени" означает, что образование желчи в печени ухудшено из-за таких состояний, как различные заболевания, расширенное яремное питание или побочные эффекты конкретных лекарственных средств (например некоторых антибиотиков). Обычные признаки холестаза включают усталость, прурит (зуд), разлитие желчи и ксантому (отложение подкожных обогащенных холестерином веществ). Эффекты холестаза безграничны и широки, вызывают обострение заболевания печени до системного заболевания, печеночную недостаточность и потребность в пересадке печени. Причины холестатического заболевания печени могут включать острый гепатит, воспаление желчных протоков и т.д.

Холестатическое заболевание печени может включать первичный билиарный холангит (PBC), первичный склерозирующий холангит (PSC), прогрессирующий наследственный внутрипеченочный холестаз (PFIC) и синдром Алажилля (AS), но холестатическое заболевание печени не ограничивается этим.

Первичный билиарный цирроз, который также известен как первичный билиарный холангит (PBC), представляет собой криптогенное хроническое холестатическое заболевание печени. Прогрессирующее повреждение желчного протока из-за портального или перипортального воспаления может вызвать прогрессирующий фиброз и, в конечном счете, цирроз. По состоянию на сегодняшний день иммунологические, генетические факторы и факторы окружающей среды известны как потенциальные причины первичного билиарного цирроза. Первичный билиарный цирроз, главным образом, случается у женщин

среднего возраста, и такие симптомы, как слабость, зуд и гиперлипидемия неясного происхождения также могут появляться при раннем начале первичного билиарного цирроза.

В настоящее время понятно, что первичный билиарный цирроз представляет собой иммуноопосредованное заболевание, и, в частности, иммуногистохимическое окрашивание Т-лимфоцитов в портальной и перипортальной областях демонстрирует CD4-положительные и CD8-негативные Т-клетки.

Кроме того, аномальная активность супрессорных Т-клеток была описана у бессимптомных родственников первой линии пораженных субъектов. Сообщалось о том, что интерлейкины могут играть роль в патогенезе РВС, способствуя измененным иммунным функциям и фиброзу (G.J. Webb et al., J. Autoimmunity, 2015 Nov; 64: 42-52).

Способом лечения РВС является терапия желчными кислотами с использованием урсодезоксихолевой кислоты (UDSA) и обетихолевой кислоты (OCA). Механизм действия этих двух лекарственных средств при РВС ассоциирован с их способностью активировать FXR и TGR5 для оказания их противовоспалительных эффектов. Однако достаточный биохимический ответ не достигался у почти 40% пациентов, которых лечили UDCA.

Первичный склерозирующий холангит (PSC) представляет собой криптогенное хроническое холестатическое заболевание печени, вызванное воспалением и фиброзом внутрипеченочных и внепеченочных желчных протоков. В частности, он представляет собой воспалительное заболевание желчных протоков и желчного тракта, и как только данное заболевание прогрессирует, происходит фиброз и стенка желчного протока становится утолщенной, сужая, посредством этого, желчные протоки.

Причины данного заболевания пока не были идентифицированы, но возможной причиной, по-видимому, может быть комбинация различных факторов, таких как генетические факторы, факторы среды и связанные с этим иммунные ответы.

Субъект диагностируется как имеющий первичный склерозирующий холангит, когда результаты анализов функции печени посредством анализов крови демонстрируют увеличение уровней щелочной фосфатазы, увеличение уровней аминотрансферазы и указание на гаммаглобулинемию.

На данный момент способ лечения PSC не был ясно описан, и хирургия по пересадке печени является единственным лечением, которое может радикально лечить PSC.

Соответственно, все еще существует потребность в разработке лекарственного средства, способного лечить РВС и PSC без побочных эффектов при одновременном обеспечении удобства пациента.

"Цирроз печени" по настоящему изобретению представляет собой хроническое заболевание, которое происходит с повторяющейся возрастающей регенерацией клеток печени и волокнистой ткани, он патологически сопровождается некрозом, воспалением и фиброзом и развивается в осложнения цирроза (например печеночную недостаточность) и заболевания (например рак печени), в конечном счете приводя к смерти. В частности, поскольку цирроз печени может быть обнаружен только после значительного развития из-за отсутствия узнавания собственных симптомов на ранних стадиях данного заболевания, требуется быстро лечить фиброз печени, который является состоянием перед его развитием в цирроз и т.д. Композиция согласно настоящему изобретению может демонстрировать эффект предупреждения или терапевтический эффект в отношении цирроза печени и, в частности, цирроза печени, сопровождаемого неалкогольным стеатогепатитом (NASH), но эффекты данной композиции не ограничены этим.

В настоящем изобретении "печеночная недостаточность" относится к состоянию, при котором функция печени ослабевает, и печень не может осуществлять синтез белка и метаболические функции как нормальные физиологические функции из-за вирусного гепатита, цирроза, повреждения печени лекарственными средствами или алкоголем, или заболевания печени. Печеночная недостаточность подразделяется на острую печеночную недостаточность и хроническую печеночную недостаточность согласно скорости развития, и известно, что она вызывает различные осложнения. Поскольку композиция по настоящему изобретению демонстрирует такие эффекты как ингибирование воспаления и фиброза, она может демонстрировать эффект предупреждения или терапевтический эффект в отношении печеночной недостаточности.

В настоящем изобретении "рак печени (печеночно-клеточная карцинома)" относится к злокачественной опухоли, возникающей из клеток печени, и он может быть классифицирован как первичный рак печени (печеночно-клеточная карцинома), который происходит в самих клетках печени, и метастатический рак печени, при котором раковые заболевания других тканей метастазировали в печень, и примерно 90% или более случаев рака печени представляют собой первичный рак печени. Главными причинами являются алкоголь, курение, ожирение и т.д., помимо гепатита и хронического заболевания печени.

Композиция согласно настоящему изобретению может демонстрировать эффект предупреждения или терапевтический эффект на рак печени и, в частности, рак печени, вызванный неалкогольным стеатогепатитом (NASH), но эффекты данной композиции не ограничиваются этим.

Модели, используемые в примерах настоящего изобретения, известны как: модель неалкогольного стеатогепатита (NASH), индуцированного диетой MCD; и модели жирового перерождения печени и стеатогепатита, индуцированного диетой AMLN. Кроме того, известна мышинная модель AMLN/ТАА, используемая в качестве модели фиброза печени или неалкогольного стеатогепатита (NASH). Приведенная выше модель представляет собой модель, используемую в разных исследованиях, связанных с заболева-

нием печени, и в примерах по настоящему изобретению эффект пептида по настоящему изобретению (тройного агониста) или его конъюгата длительного действия был подтвержден в каждой модели, что свидетельствует о том, что пептид по настоящему изобретению (тройной агонист) или его конъюгат длительного действия является полезным для предупреждения или лечения заболевания печени (например гепатита, фиброза печени, простого стеатоза, неалкогольного ожирения печени (NAFL), неалкогольного стеатогепатита (NASH) и т.д.). Кроме того, в примерах по настоящему изобретению эффект улучшения конъюгата длительного действия тройного агониста был подтвержден в моделях PBC и/или PSC, и также был подтвержден эффект на холестатическое заболевание печени.

Композиция согласно настоящему изобретению может отличаться тем, что отсутствует набор веса или имеется относительно слабая степень набора веса, что является побочным эффектом традиционного терапевтического средства против заболевания печени.

Композиция по настоящему изобретению может предупреждать или лечить заболевание печени посредством выполнения одной или более чем одной из следующих характеристик (а)-(л), но характеристики, подлежащие выполнению, не ограничены ими.

(а) уменьшение значений NAS (балл активности неалкогольного стеатогепатитного заболевания (NAFLD));

(б) уменьшение уровней триглицеридов в печени;

(в) уменьшение уровней холестерина в крови;

(г) уменьшение балла стеатоза;

(д) уменьшение уровней TNF- α , MCP-1 и IL-6 в ткани печени;

(е) уменьшение балла воспаления печени;

(ж) уменьшение балла паренхиматозного некроза;

(з) уменьшение балла гиперплазии желчного протока; (и) уменьшение балла усиленного фиброза печени (ELF);

(к) уменьшение концентрации в крови TIMP-1 и/или гиалуроновой кислоты (т.е. маркеров фиброза печени); и

(л) уменьшение балла фиброза.

Термин "предупреждение", при использовании здесь, относится ко всем активностям, которые ингибируют или задерживают появление заболевания печени посредством введения приведенного выше пептида или композиции, содержащей данный пептид, и термин "лечение" относится ко всем активностям, которые улучшают или полезным образом изменяют симптомы заболевания печени посредством введения приведенного выше пептида или композиции, содержащей данный пептид.

Фармацевтическая композиция по настоящему изобретению может дополнительно содержать фармацевтически приемлемый эксципиент, носитель или разбавитель. Фармацевтически приемлемый эксципиент, носитель или разбавитель может представлять собой фармацевтически приемлемый эксципиент, носитель или разбавитель, который не встречается в природе.

Термин "фармацевтически приемлемый", при использовании здесь, относится к свойствам наличия достаточного количества для того, чтобы продемонстрировать терапевтический эффект и не вызывать побочных эффекты, и может быть легко определено специалистами в данной области на основе хорошо известных в области медицины факторов, таких как вид заболевания, возраст, масса тела, состояние здоровья, пол, чувствительность пациента к лекарственному средству, путь введения, способ введения, частота введения, продолжительность лечения, лекарственное(ные) средство(ва), подлежащее(щие) смешиванию или одновременному введению и т.д.

Фармацевтическая композиция по настоящему изобретению, содержащая данный пептид, может дополнительно содержать фармацевтически приемлемый эксципиент. Фармацевтически приемлемый эксципиент может включать, для перорального введения, связывающее вещество, смазывающее вещество, разрыхлитель, солюбилизатор, диспергирующее вещество, стабилизатор, суспендирующий агент, краситель, отдушку и т.д.; для инъекций: буферный агент, консервант, анальгетик, солюбилизатор, изотонический агент, стабилизатор и т.д., которые могут быть объединены для применения; и для местных введений: основу, эксципиент, смазывающее вещество, консервант и т.д.

Тип препарата композиции по настоящему изобретению может быть получен по-разному посредством объединения с фармацевтически приемлемым эксципиентом, описанным выше. Например, для перорального введения, композиция может быть приготовлена в виде таблеток, пастилок, капсул, эликсиров, суспензий, сиропов, облаток и т.д., и для инъекций композиция может быть приготовлена в виде однодозовых ампул или многодозовых контейнеров. Данная композиция также может быть приготовлена в виде растворов, суспензий, таблеток, пилюль, капсул, препаратов с замедленным высвобождением и т.д.

При этом примеры подходящих носителей, эксципиентов и разбавителей могут включать лактозу, декстрозу, сахарозу, сорбит, маннит, ксилит, эритрит, мальтит, крахмал, аравийскую камедь, альгинат, желатин, фосфат кальция, силикат кальция, целлюлозу, метилцеллюлозу, микрокристаллическую целлюлозу, поливинилпирролидон, воду, метилгидроксibenзоат, пропиленгидроксibenзоат, тальк, стеарат магния, минеральное масло и т.д. Кроме того, данная композиция может дополнительно содержать наполни-

тель, противосвертывающее средство, смазывающее вещество, увлажнитель, отдушку, консервант и т.д.

Кроме того, фармацевтическая композиция по настоящему изобретению может иметь любой вид препарата, выбранный из группы, состоящей из таблеток, пилюль, порошков, гранул, капсул, суспензий, жидкого лекарственного средства для внутреннего применения, эмульсий, сиропов, стерильных водных растворов, неводных растворителей, лиофилизированных препаратов и суппозиториев.

Кроме того, данная композиция может быть приготовлена в виде препарата стандартной лекарственной формы, подходящей для введения в организм пациента, и конкретно может быть приготовлена в виде препарата, используемого для пептидных лекарственных средств, согласно традиционному способу в области фармацевтики, таким образом, чтобы вводить ее пероральным или парентеральным путем (включая кожный, внутривенный, внутримышечный, внутриартериальный, интрамедуллярный, подоболочечный, внутрижелудочковый, легочный, чрескожный, подкожный, внутрибрюшинный, интраназальный, внутрижелудочковый, местный, подязычный, вагинальный или ректальный путь, но пути введения не ограничены этим.

Кроме того, данный конъюгат можно использовать смешанным с различными фармацевтически приемлемыми носителями, такими как физиологический раствор или органические растворители. Для увеличения стабильности или поглотительной способности, в качестве фармацевтических средств можно использовать углеводы (например глюкозу, сахарозу или декстраны), антиоксиданты (например аскорбиновую кислоту или глутатион), хелатообразующие агенты, низкомолекулярные белки или другие стабилизаторы и т.д.

Доза и частота введения фармацевтической композиции по настоящему изобретению определяются типом активного(ных) ингредиента(тов), наряду с различными факторами, такими как заболевание, подлежащее лечению, путь введения, возраст, пол и масса тела пациента, тяжесть заболевания и т.д. В частности, композиция по настоящему изобретению может представлять собой композицию, которая содержит пептид, содержащий аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 1-102, или конъюгат длительного действия, содержащий данный пептид, в фармацевтически эффективном количестве, но композиция по настоящему изобретению не ограничивается этим.

Содержание пептида или его конъюгата длительного действия в фармацевтически эффективном количестве относится к уровню, при котором посредством пептида или его конъюгата длительного действия может быть получена нужная фармакологическая активность (например предупреждение, улучшение или лечение заболевания печени), и, кроме того, может относиться к уровню, при котором токсичности или побочные эффекты не наблюдаются или наблюдаются на незначительном уровне у субъекта, которому следует осуществлять введение, или может относиться к фармацевтически приемлемому уровню, но данный уровень не ограничивается этим. Фармацевтически эффективное количество как таковое может быть определено посредством всестороннего рассмотрения количества введений, пациента, препаратов и т.д.

Общее эффективное количество композиции по настоящему изобретению может быть введено пациенту в одной дозе или может вводиться в течение длительного периода времени в многократных дозах согласно протоколу фракционированного лечения. В фармацевтической композиции по настоящему изобретению содержание активного(ных) ингредиента(тов) может варьировать в зависимости от тяжести заболевания. В частности, общая ежесуточная доза конъюгата по настоящему изобретению может составлять от примерно 0,0001 мг до 500 мг на 1 кг массы тела пациента. Однако эффективную дозу конъюгата определяют с учетом различных факторов, включающих возраст пациента, массу тела, состояние здоровья, пол, тяжесть заболевания, диету и скорость выведения, а также путь введения и частоту лечения фармацевтической композицией. В данном отношении специалисты в данной области могут легко определить эффективную дозу, подходящую для конкретного применения фармацевтической композиции по настоящему изобретению. Фармацевтическая композиция по настоящему изобретению конкретно не ограничивается типом препарата и путем и способом введения, при условии, что она демонстрирует эффекты по настоящему изобретению.

Фармацевтическая композиция по настоящему изобретению имеет превосходную продолжительность эффективности *in vivo* и титр, и, таким образом, число и частота введений фармацевтического препарата по настоящему изобретению могут быть значительно снижены.

Для достижения целей настоящего изобретения, согласно еще одному другому аспекту настоящего изобретения предложен способ предупреждения или лечения заболевания печени, который включает введение пептида или композиции, содержащей данный пептид, субъекту, нуждающемуся в этом.

Пептид или содержащая его композиция, заболевание печени, предупреждение и лечение являются такими, как описано выше.

В настоящем изобретении субъект относится к субъекту, у которого подозревают наличие заболевания печени, и субъект у которого подозревают наличие заболевания печени, относится к млекопитающим, включающим человека, крыс, крупный рогатый скот и т.д., которые имеют или подвержены риску развития заболевания печени, но любой субъект, которого можно лечить конъюгатом по настоящему изобретению или композицией, содержащей данный конъюгат, включен без ограничения.

Термин "введение", при использовании здесь, относится к введению конкретного вещества субъек-

ту любым подходящим способом, и путем введения композиции может быть любой традиционный путь, который обеспечивает доставку композиции в мишень (например внутривенное введение, внутримышечное введение, подкожное введение, внутрикожное введение, пероральное введение, местное введение, интраназальное введение, внутрилегочное введение, ректальное введение и т.д.), но путь введения не ограничивается этим.

Способ по настоящему изобретению может включать введение фармацевтической композиции, содержащей данный пептид, в фармацевтически эффективном количестве.

Подходящая общая ежедневная доза фармацевтической композиции может быть определена в пределах объема правильного медицинского заключения практикующего врача, и фармацевтическая композиция может быть введена один или несколько раз в отдельных дозах. Однако для целей настоящего изобретения предпочтительно, чтобы конкретная терапевтически эффективная доза фармацевтической композиции для любого конкретного пациента применялась неодинаково, в зависимости от вида и степени ответов, которые должны быть достигнуты, конкретных композиций, включая возможное использование время от времени с ними других средства возраста пациента, массы тела, состояния здоровья, пола и диеты, времени введения, пути введения, скорости выделения композиции, продолжительности лечения, других лекарственных средств, используемых в комбинации или одновременно с конкретными композициями, и аналогичных факторов, хорошо известных в области медицины.

Для достижения целей настоящего изобретения согласно еще одному другому аспекту настоящего изобретения предложено применение пептида или композиции, содержащей данный пептид для предупреждения или лечения заболевания печени.

Для достижения целей настоящего изобретения согласно еще одному другому аспекту настоящего изобретения предложено применение пептида или композиции, содержащей данный пептид, в получении лекарственного средства для предупреждения или лечения заболевания печени.

Пептид или композиция, содержащая данный пептид, заболевание печени, предупреждение и лечение являются такими, как описано выше.

Ниже настоящее изобретение будет описано более подробно со ссылкой на следующие примеры. Однако данные примеры служат лишь для иллюстративных целей, и объем данного изобретения не ограничивается этими примерами.

Пример 1. Измерение активностей *in vitro* тройных агонистов и их конъюгатов длительного действия.

Пример 1-1. Получение тройных агонистов.

Были получены тройные агонисты, демонстрирующие активности по отношению ко всем из рецепторов GLP-1, GIP и глюкагона, и их последовательности показаны в табл. 1 ниже.

Таблица 1

SEQ ID NO	Последовательность	Информация
1	HXQGTFTSDVSSYLDGQA AKEFIAWLVKGC	-
2	HXQGTFTSDVSSYLDGQAQKEFIAWLVKGC	-
3	HXQGTFTSDVSSYLLGQA AKQFIAWLVKGGG PSSGAPPPSC	-
4	HXQGTFTSDVSSYLLGQQQKEFIAWLVKGC	-
5	HXQGTFTSDVSSYLLGQQQKEFIAWLVKGGG PSSGAPPPSC	-
6	HXQGTFTSDVSSYLDGQA AKEFVAWLLKGC	-
7	HXQGTFTSDVSKYLDGQA AKEFVAWLLKGC	-
8	HXQGTFTSDVSKYLDGQA AQEFVAWLLKGC	-
9	HXQGTFTSDVSKYLDGQA AQEFVAWLLAGC	-
10	HXQGTFTSDVSKYLDGQA AQEFVAWLLAGG GPSSGAPPPSC	-
11	CAGEGTFTSDLSKYLD SRRQQLFVQWLKAGG PSSGAPPPSHG	-

12	CAGEGTFISDLSKYMDEQAVQLFVEWLMAGG PSSGAPPPSHG	-
13	CAGEGTFISDYSIQLDEIAVQDFVEWLLAQKP SSGAPPPSHG	-
14	CAGQGTFTSDYSIQLDEIAVRDFVEWLKNGGP SSGAPPPSHG	-
15	CAGQGTFTSDLSKQMDEEAVRLFIEWLKNGG PSSGAPPPSHG	-
16	CAGQGTFTSDLSKQMDSEAQQLFIEWLKNGG PSSGAPPPSHG	-
17	CAGQGTFTSDLSKQMDEERAREFIEWLLAQK PSSGAPPPSHG	-
18	CAGQGTFTSDLSKQMDSERAREFIEWLKNTG PSSGAPPPSHG	-
19	CAGQGTFTSDLSIQYDSEHQDFIEWLKDTGP SSGAPPPSHG	-
20	CAGQGTFTSDLSIQYEEEAQQDFVEWLKDTG PSSGAPPPSHG	-
21	YXQGTFTSDYSKYLDE <u>CRA</u> <u>K</u> EFVQWLLDHHP SSGQPPPS	Образование кольца
22	YXQGTFTSDYSKCLDE <u>KRA</u> <u>K</u> EFVQWLLDHHP SSGQPPPS	Образование кольца
23	YXQGTFTSDYSKYLDE <u>CRA</u> <u>K</u> EFVQWLLAQK GKKNDWKHNIT	Образование кольца
24	YXQGTFTSDYSKYLDE <u>CRA</u> <u>K</u> EFVQWLKNGG PSSGAPPPS	Образование кольца
25	HXQGTFTSDCSKYLDERAAQDFVQWLLDGG PSSGAPPPS	-
26	HXQGTFTSDCSKYLDSRAAQDFVQWLLDGGP SSGAPPPS	-
27	HXQGTFTSDYSKYLDERACQDFVQWLLDQG GPSSGAPPPS	-

28	HXQGTFTSDYSKYLDEKRAQEFVCWLLAQK GKKNDWKHNIT	-
29	HXQGTFTSDYSKYLDEKAAK _{EFVQWLLNTC}	Образование кольца
30	HXQGTFTSDYSKYLDEKAK _{Q_{EFVQWLLDTC}}	Образование кольца
31	HXQGTFTSDYSKYLDEKACK _{EFVQWLLAQ}	Образование кольца
32	HXQGTFTSDYSKYLDEKACK _{DFVQWLLDGG} PSSGAPPS	Образование кольца
33	HXQGTFTSDYSIAMDEIHQ _{K_{DFVNWLLAQKC}}	Образование кольца
34	HXQGTFTSDYSKYLDEKRQ _{K_{EFVNWLLAQK}} C	Образование кольца
35	HXQGTFTSDYSIAMDEIHQ _{K_{DFVNWLLNTKC}}	Образование кольца
36	HXQGTFTSDYSKYLC _{E_{KRQ_{EFVQWLLNGGP}}} SSGAPPSG	Образование кольца
37	HXQGTFTSDYSKYLDE _{CRQ_{EFVQWLLNGGP}} SSGAPPSG	Образование кольца
38	CAXQGTFTSDKSSYLDERAAQDFVQWLLDGG PSSGAPPS	-
39	HXQGTFTSDYSKYLDGQHAQCFVAWLLAGG GPSSGAPPS	-
40	HXQGTFTSDKSKYLDERACQDFVQWLLDGG PSSGAPPS	-
41	HXQGTFTSDKSKYLDECAAQDFVQWLLDGG PSSGAPPS	-
42	YXQGTFTSDYSKYLDEKRA _{K_{EFVQWLLDHP}} SSGQPPSC	Образование кольца
43	YXQGTFTSDYSKYLDEKRA _{K_{EFVQWLLDHH}} CSSGQPPS	Образование кольца

44	HGQGTFTSDCSKQLDGQAAQEFVAWLLAGG PSSGAPPS	-
45	HGQGTFTSDCSKYMDGQAAQDFVAWLLAGG PSSGAPPS	-
46	HGQGTFTSDCSKYLDEQHAQEFVAWLLAGGP SSGAPPS	-
47	HGQGTFTSDCSKYLDGQRAQEFVAWLLAGG PSSGAPPS	-
48	HGQGTFTSDCSKYLDGQRAQDFVNWLLAGG PSSGAPPS	-
49	CA X Q G T F T S D Y S I C M D E I H Q <u>Q</u> D F V N W L L N T K	Образование кольца
50	H X Q G T F T S D Y S K Y L D E <u>K</u> R A <u>K</u> E F V Q W L L D H H P S S G Q P P P S C	Образование кольца
51	H X Q G T F T S D Y S K Y L D E <u>K</u> R Q <u>K</u> E F V Q W L L N T C	Образование кольца
52	H X Q G T F T S D Y S K Y L D E <u>K</u> R Q <u>K</u> E F V Q W L L D T C	Образование кольца
53	H X E G T F T S D Y S I A M D E I H Q <u>Q</u> D F V N W L L A Q C	Образование кольца
54	H X E G T F T S D Y S I A M D E I H Q <u>Q</u> D F V D W L L A E C	Образование кольца
55	H X Q G T F T S D Y S I A M D E I H Q <u>Q</u> D F V N W L L A Q C	Образование кольца
56	H X Q G T F T S D Y S K Y L D E <u>K</u> R Q <u>K</u> E F V N W L L A Q C	Образование кольца
57	H X Q G T F T S D Y S I A M D E I H Q <u>Q</u> D F V N W L L N T C	Образование кольца
58	H X Q G T F T S D Y S K Y L D E <u>K</u> R Q <u>K</u> E F V Q W L L N T K C	Образование кольца
59	CA X Q G T F T S D Y S I C M D E <u>K</u> H Q <u>K</u> D F V N W L L N T K	Образование кольца

60	CAXQGTFTSDYSIAMDE <u>K</u> HCK <u>K</u> DFVNWLLNTK	Образование кольца
61	CAXQGTFTSDYSIAMDE <u>I</u> AC <u>K</u> DFVNWLLNTK	Образование кольца
62	CAXQGTFTSDKSKYLDERAAQDFVQWLLDGG PSSGAPPPS	-
63	CAXQGTFTSDCSKYLDERAAQDFVQWLLDGG PSSGAPPPS	-
64	YXQGTFTSDYSKYLDE <u>C</u> AA <u>K</u> EFVQWLLDHH SSGQPPPS	Образование кольца
65	HXQGTFTSDYSKCLDE <u>K</u> RA <u>K</u> EFVQWLLDHH SSGQPPPS	Образование кольца
66	YXQGTFTSDYSKYLDE <u>C</u> RA <u>K</u> DFVQWLLDHH PSSGQPPPS	Образование кольца
67	YXQGTFTSDYSKYLDE <u>C</u> AA <u>K</u> DFVQWLLDHH PSSGQPPPS	Образование кольца
68	YXQGTFTSDYSKCLDE <u>K</u> AA <u>K</u> EFVQWLLDHH SSGQPPPS	Образование кольца
69	YXQGTFTSDYSKCLDE <u>R</u> AA <u>K</u> EFVQWLLDHH SSGQPPPS	Образование кольца
70	YXQGTFTSDYSKCLDE <u>K</u> RA <u>K</u> DFVQWLLDHH PSSGQPPPS	Образование кольца
71	YXQGTFTSDYSKYLDE <u>R</u> AC <u>K</u> DFVQWLLDHH PSSGQPPPS	Образование кольца
72	YXQGTFTSDCSKYLDERAA <u>K</u> DFVQWLLDHH PSSGQPPPS	Образование кольца
73	CAXQGTFTSDYSKYLDE <u>C</u> RA <u>K</u> EFVQWLLDHH PSSGQPPPS	Образование кольца
74	CAXQGTFTSDYSKCLDE <u>K</u> RA <u>K</u> EFVQWLLDHH PSSGQPPPS	Образование кольца
75	YXQGTFTSDYSKYLDE <u>K</u> AA <u>K</u> EFVQWLLDHH PSSGQPPPS	Образование кольца

76	YXQGTFTSDYSKYLD <u>E</u> KRA <u>K</u> DFVQWLLDHH PSSGQPPSC	Образование кольца
77	YXQGTFTSDYSKYLD <u>E</u> KAA <u>K</u> DFVQWLLDHH PSSGQPPSC	Образование кольца
78	HXQGTFTSDYSKYLD <u>E</u> KRQ <u>K</u> EFVQWLLDTKC	Образование кольца
79	HXEGTFTSDYSIAMD <u>E</u> IHQ <u>K</u> DFVNWLLAQKC	Образование кольца
80	HXEGTFTSDYSIAMD <u>E</u> IHQ <u>K</u> DFVDWLLAEKC	Образование кольца
81	CAXQGTFTSDYSKYLD <u>E</u> KRQ <u>K</u> EFVQWLLNTC	Образование кольца
82	CAXQGTFTSDYSKYLD <u>E</u> KRQ <u>K</u> EFVQWLLDTC	Образование кольца
83	CAXEGTFTSDYSIAMD <u>E</u> IHQ <u>K</u> DFVNWLLAQC	Образование кольца
84	CAXEGTFTSDYSIAMD <u>E</u> IHQ <u>K</u> DFVDWLLAEC	Образование кольца
85	CAXQGTFTSDYSIAMD <u>E</u> IHQ <u>K</u> DFVNWLLAQC	Образование кольца
86	CAXQGTFTSDYSKYLD <u>E</u> KRQ <u>K</u> EFVNWLLAQC	Образование кольца
87	CAXQGTFTSDYSIAMD <u>E</u> IHQ <u>K</u> DFVNWLLNTC	Образование кольца
88	CAXQGTFTSDYSKYLD <u>E</u> KRQ <u>K</u> EFVQWLLNTK C	Образование кольца
89	CAXQGTFTSDYSKYLD <u>E</u> KRQ <u>K</u> EFVQWLLDTK C	Образование кольца
90	CAXEGTFTSDYSIAMD <u>E</u> IHQ <u>K</u> DFVNWLLAQK C	Образование кольца
91	CAXEGTFTSDYSIAMD <u>E</u> IHQ <u>K</u> DFVDWLLAEK C	Образование кольца

92	CA X Q G T F T S D Y S I A M D E I H Q <u>K</u> D F V N W L L A Q K C	Образование кольца
93	CA X Q G T F T S D Y S K Y L D E <u>K</u> R Q <u>K</u> E F V N W L L A Q K C	Образование кольца
94	CA X Q G T F T S D Y S I A M D E I H Q <u>K</u> D F V N W L L N T K C	Образование кольца
95	Y X Q G T F T S D Y S K Y L D E <u>K</u> R A <u>K</u> E F V Q W L L C H H P S S G Q P P P S	Образование кольца
96	Y X Q G T F T S D Y S K Y L D E <u>K</u> R A <u>K</u> E F V Q W L L D H C P S S G Q P P P S	Образование кольца
97	Y X Q G T F T S D Y S K Y L D E <u>K</u> R A <u>K</u> E F V Q W L L D C H P S S G Q P P P S	Образование кольца
98	Y X Q G T F T S D Y S K A L D E <u>K</u> A A <u>K</u> E F V N W L L D H H P S S G Q P P P S C	Образование кольца
99	Y X Q G T F T S D Y S K A L D E <u>K</u> A A <u>K</u> D F V N W L L D H H P S S G Q P P P S C	Образование кольца
100	Y X Q G T F T S D Y S K A L D E <u>K</u> A A <u>K</u> E F V Q W L L D Q H P S S G Q P P P S C	Образование кольца
101	Y X Q G T F T S D Y S K A L D E <u>K</u> A A <u>K</u> E F V N W L L D Q H P S S G Q P P P S C	Образование кольца
102	Y X Q G T F T S D Y S K A L D E <u>K</u> A A <u>K</u> D F V N W L L D Q H P S S G Q P P P S C	Образование кольца

В последовательностях, описанных в табл. 1, аминокислоты, указанные как X, представляют аминокислоту (Aib), которая представляет собой неприродную аминокислоту, а подчеркнутые аминокислоты представляют образование кольца между подчеркнутыми аминокислотами. Кроме того, в табл. 1 CA представляет 4-имидазоацетил, а Y представляет тирозин.

Пример 1-2. Получение конъюгата длительного действия тройных агонистов.

Для пэггилирования остатка цистеина тройных агонистов (SEQ ID NO: 21, 22, 42, 43, 50, 77 и 96) из Примера 1 с использованием PEG (10 кДа), имеющего малеимидную группу и альдегидную группу на каждом конце, т.е. малеимид-PEG-альдегида (10 кДа, NOF, Япония), тройные агонисты и малеимид-PEG-альдегид подвергали взаимодействию в молярном соотношении 1:1-3 с концентрацией белка от 1 мг/мл до 5 мг/мл при низкой температуре в течение 0,5-3 часов. В частности, данную реакцию проводили в среде, в которой от 20% до 60% изопропанола были добавлены в 50 мМ Tris буфер (pH 7,5). По завершении данной реакции реагенты наносили на SP сефарозу HP (GE Healthcare, США) для очистки тройных агонистов, которые были монопэггилированными на цистеине.

Затем очищенные монопэггилированные тройные агонисты и Fc иммуноглобулина подвергали взаимодействию в молярном соотношении от 1:1-5, с концентрацией белка от 10 мг/мл до 50 мг/мл при температуре от 4°C до 8°C в течение 12-18 часов. Данную реакцию проводили в среде, в которой от 10 мМ до 50 мМ цианоборгидрида натрия (NaCNBH₃; восстановитель) и от 10% до 30% изопропанола были добавлены в 100 мМ калий-фосфатный буфер (pH 6,0). По завершении данной реакции реагенты наносили на колонку для очистки с бутилсефарозой FF (GE Healthcare, США) и колонку для очистки Source ISO (GE Healthcare, США) для очистки конъюгатов, включающих тройные агонисты и Fc иммуноглобулина.

После получения было показано то, что чистота, проанализированная посредством хроматографии с обращенной фазой, гель-фильтрации и ионообменной хроматографии, составляет 95% или выше.

В частности, конъюгат, в котором тройной агонист SEQ ID NO: 21 и Fc иммуноглобулина были связаны через PEG, был назван "конъюгат, включающий тройной агонист SEQ ID NO: 21 и Fc иммуноглобулина" или "конъюгат SEQ ID NO: 21 длительного действия", и данные термины могут использоваться в настоящем изобретении взаимозаменяемо.

В частности, конъюгат, в котором тройной агонист с SEQ ID NO: 22 и Fc иммуноглобулина были связаны посредством PEG, был назван "конъюгат, включающий тройной агонист с SEQ ID NO: 22 и Fc иммуноглобулина" или "конъюгат SEQ ID NO: 22 длительного действия", и данные термины могут использоваться в настоящем изобретении взаимозаменяемо.

В частности, конъюгат, в котором тройной агонист SEQ ID NO: 42 и Fc иммуноглобулина были связаны посредством PEG, был назван "конъюгат, включающий тройной агонист с SEQ ID NO: 42 и Fc иммуноглобулина" или "конъюгат SEQ ID NO: 42 длительного действия", и данные термины могут использоваться в настоящем изобретении взаимозаменяемо.

В частности, конъюгат, в котором тройной агонист SEQ ID NO: 43 и Fc иммуноглобулина были

связаны посредством PEG, был назван "конъюгат, включающий тройной агонист с SEQ ID NO: 43 и Fc иммуноглобулина" или "конъюгат SEQ ID NO: 43 длительного действия", и данные термины могут использоваться в настоящем изобретении взаимозаменяемо.

В частности, конъюгат, в котором тройной агонист с SEQ ID NO: 50 и Fc иммуноглобулина были связаны посредством PEG, был назван "конъюгат, включающий тройной агонист с SEQ ID NO: 50 и Fc иммуноглобулина" или "конъюгат SEQ ID NO: 50 длительного действия", и данные термины могут использоваться в настоящем изобретении взаимозаменяемо.

В частности, конъюгат, в котором тройной агонист с SEQ ID NO: 77 и Fc иммуноглобулина были связаны посредством PEG, был назван "конъюгат, включающий тройной агонист с SEQ ID NO: 77 и Fc иммуноглобулина" или "конъюгат SEQ ID NO: 77 длительного действия", и данные термины могут использоваться в настоящем изобретении взаимозаменяемо.

В частности, конъюгат, в котором тройной агонист SEQ ID NO: 96 и Fc иммуноглобулина были связаны посредством PEG, был назван "конъюгат, включающий тройной агонист SEQ ID NO: 96 и Fc иммуноглобулина" или "конъюгат SEQ ID NO: 96 длительного действия", и данные термины могут использоваться в настоящем изобретении взаимозаменяемо.

Пример 1-3: Измерение *in vitro* активностей тройных агонистов и их конъюгатов длительного действия

Активности тройных агонистов и их конъюгатов длительного действия, полученных в примерах 1-1 и 1-2, измеряли при помощи метода измерения клеточных активностей *in vitro* с использованием линий клеток, в которые трансформированы рецептор GLP-1, рецептор глюкагона (GCG) и рецептор GIP соответственно.

Каждая из приведенных выше линий клеток представляет собой линию клеток, в которой гены человеческого рецептора GLP-1, человеческого рецептора GCG и человеческого рецептора GIP трансформированы в яичники китайского хомяка (CHO), соответственно, для экспрессии в них и, таким образом, она подходит для измерения активностей GLP-1, GCG и GIP. Соответственно, активность каждой части измеряли с использованием соответствующей трансформированной линии клеток.

Для измерения активностей GLP-1 тройных агонистов и их конъюгатов длительного действия, полученных в примерах 1-1 и 1-2, человеческий GLP-1 подвергали 4-кратному серийному разведению от 50 нМ до 0,000048 нМ, и тройные агонисты и их конъюгаты длительного действия, полученные в примерах 1-1 и 1-2, подвергали 4-кратному серийному разведению от 400 нМ до 0,00038 нМ. Культуральный раствор удаляли от культивируемых клеток CHO, в которых экспрессировался человеческий рецептор GLP-1, и каждое из серийно разведенных веществ добавляли к клеткам CHO в количестве 5 мкл соответственно, и добавляли туда буферный раствор, содержащий антитело против цАМФ, в количестве 5 мкл и культивировали при комнатной температуре в течение 15 минут. Затем добавляли к ним выявляющую смесь, содержащую буфер для лизиса клеток, в количестве 10 мкл для лизиса клеток, и осуществляли взаимодействие при комнатной температуре в течение 90 минут. После завершения реакции клеточные лизаты наносили на набор LANCE cAMP kit (PerkinElmer, США) для вычисления значения EC₅₀ через накопленный цАМФ, и эти значения сравнивали друг с другом. Относительные титры по сравнению с человеческим GLP-1 показаны в табл. 2 и 3 ниже.

Для измерения активностей GCG тройных агонистов и их конъюгатов длительного действия, полученных в примерах 1-1 и 1-2, человеческий GCG подвергали 4-кратному серийному разведению от 50 нМ до 0,000048 нМ, и тройные агонисты и их конъюгаты длительного действия, полученные в примерах 1-1 и 1-2, подвергали 4-кратному серийному разведению от 400 нМ до 0,00038 нМ. Культуральный раствор удаляли от культивируемых клеток CHO, в которых экспрессировался человеческий рецептор GCG, и каждое из серийно разведенных веществ добавляли к клеткам CHO в количестве 5 мкл соответственно, и добавляли туда буферный раствор, содержащий антитело против цАМФ, в количестве 5 мкл и культивировали при комнатной температуре в течение 15 минут. Затем добавляли к ним выявляющую смесь, содержащую буфер для лизиса клеток, в количестве 10 мкл для лизиса клеток, и осуществляли взаимодействие при комнатной температуре в течение 90 минут. После завершения реакции клеточные лизаты наносили на набор с LANCE cAMP kit (PerkinElmer, США) для вычисления значения EC₅₀ через накопленный цАМФ, и эти значения сравнивали друг с другом. Относительные титры по сравнению с человеческим GCG показаны в табл. 2 и 3 ниже.

Для измерения активностей GIP тройных агонистов и их конъюгатов длительного действия, полученных в примерах 1-1 и 1-2, человеческий GIP подвергали 4-кратному серийному разведению от 50 нМ до 0,000048 нМ, и тройные агонисты и их конъюгаты длительного действия, полученные в примерах 1-1 и 1-2, подвергали 4-кратному серийному разведению от 400 нМ до 0,00038 нМ. Культуральный раствор удаляли от культивируемых клеток CHO, в которых экспрессировался человеческий рецептор GIP, и каждое из серийно разведенных веществ добавляли к клеткам CHO в количестве 5 мкл соответственно, и добавляли к ним буферный раствор, содержащий антитело против цАМФ, в количестве 5 мкл и культивировали при комнатной температуре в течение 15 минут. Затем добавляли к ним выявляющую смесь, содержащую буфер для лизиса клеток, в количестве 10 мкл для лизиса клеток, и осуществляли взаимодействие при комнатной температуре в течение 90 минут. После завершения реакции клеточные лизаты

наносили на набор с LANCE cAMP kit (PerkinElmer, США) для вычисления значения EC_{50} через накопленный цАМФ, и эти значения сравнивали друг с другом. Относительные титры по сравнению с человеческим GIP показаны в табл. 2 и 3 ниже.

Таблица 2
Относительное отношение титров тройных агонистов

SEQ ID NO	Активность <i>in vitro</i> по сравнению с природным пептидом (%)		
	отн. GLP-1	отн. глюкагона	отн. 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

046413

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

046413

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

Таблица 3

Относительное отношение титров конъюгатов длительного действия тройных агонистов

Конъюгат длительного действия	Активность <i>in vitro</i> по сравнению с природным пептидом (%)		
	отн. GLP-1	отн. глюкагона	отн. 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

Новые конъюгаты тройных агонистов длительного действия, полученные выше, имеют функцию тройных агонистов, которые могут активировать все из рецепторов GLP-1, рецепторов GIP и рецепторов глюкагона, и, таким образом, эти конъюгаты длительного действия тройных агонистов можно использовать в качестве терапевтического вещества для лечения целевого заболевания.

Пример 2. Подтверждение терапевтического эффекта тройных агонистов на метаболическое заболевание печени.

Авторы настоящего изобретения попытались подтвердить терапевтический эффект тройных агонистов по настоящему изобретению на метаболическое заболевание печени.

Пример 2-1. Эффект лечения NASH у мышей с NASH, индуцированным пищевым рационом MCD.

Во-первых, влияние конъюгатов длительного действия тройных агонистов на неалкогольный стеатогепатит (NASH) подтверждали следующим образом.

Мышиную модель неалкогольного стеатогепатита (NASH) индуцировали посредством поступления в организм с пищей рациона с недостатком метионина-холина (MCD) в течение 2 недель у мышей C57BL/6.

Чтобы подтвердить терапевтический эффект разработанного вещества на лечение NASH, мышей делили на нормальных мышей; мышей с индукцией NASH (контрольная группа с эксципиентом) и груп-

пу, которой вводили конъюгат SEQ ID NO: 42 длительного действия (0,36 нмоль/кг, 0,72 нмоль/кг и 1,44 нмоль/кг Q2D (один раз в двое суток)), и данное вещество в повторяющемся режиме вводили подкожно в течение 4 недель. После повторяющегося введения в течение 4 недель у каждой мыши отбирали ткань печени посредством аутопсии и подвергали окрашиванию гематоксилином и эозином (H&E) так, чтобы оценить степень развития NASH посредством балла активности неалкогольного стеатогепатита (NAS).

Как показано на фиг. 1, в результате повторяющегося введения конъюгата SEQ ID NO: 42 длительного действия в течение 4 недель было подтверждено то, что значение NAS в ткани печени значительно снижалось (контрольная группа NASH с эксципиентом - 3,71; группа, которой вводили конъюгат SEQ ID NO: 42 длительного действия (0,36 нмоль/кг) - 2,57; группа, которой вводили конъюгат SEQ ID NO: 42 длительного действия (0,72 нмоль/кг) - 0,43; группа, которой вводили конъюгат SEQ ID NO: 42 длительного действия (1,44 нмоль/кг) - 0).

Из приведенных выше результатов был подтвержден терапевтический эффект на NASH для конъюгата SEQ ID NO: 42 длительного действия, который представляет собой конъюгат типичного тройного агониста согласно настоящему изобретению.

Пример 2-2. Эффект улучшения жирового перерождения печени, индуцированного у мышей рационом AMLN.

Кроме того, авторы настоящего изобретения использовали мышиную модель AMLN таким образом, чтобы подтвердить эффект тройных агонистов по настоящему изобретению на улучшение при жировом перерождении печени.

Известно, что рацион AMLN имеет высокое содержание жира, фруктозы и холестерина, и, таким образом, известно, что он индуцирует ожирение и стеатогепатит при кормлении им в течение длительного периода времени. Следовательно, мышинная модель AMLN используется в качестве модели стеатогепатита.

Мышей, индуцированных 37-недельным рационом AMLN, делили на контрольную группу с эксципиентом; группу, которой вводили обетихоловую кислоту (30 мг/кг, QD (один раз в сутки), пероральное введение), и группу, которой вводили конъюгат SEQ ID NO: 42 длительного действия (2,6 нмоль/кг, Q2D, подкожное введение); и их подвергали повторяющемуся введению в течение 12 недель. После 12 недель повторяющегося введения ткань печени отбирали у каждой мыши посредством аутопсии, и эффективность улучшения при жировом перерождении печени оценивали посредством измерения содержания жира в ткани печени и посредством окрашивания H&E.

В результате было подтверждено, что при повторяющемся введении в течение 12 недель конъюгата SEQ ID NO: 42 длительного действия уровни триглицеридов и холестерина значительно снижались в группе с введением конъюгата SEQ ID NO: 42 длительного действия по сравнению с уровнями контрольной группы с эксципиентом и группы, которой вводили обетихоловую кислоту. Из данного результата было подтверждено, что содержание жира в печени снижалось посредством конъюгата SEQ ID NO: 42 длительного действия согласно настоящему изобретению (фиг. 2).

Кроме того, чтобы дополнительно подтвердить эффект улучшения при жировом перерождении печени согласно введению конъюгата SEQ ID NO: 42 длительного действия, авторы настоящего изобретения проверили изменения балла стеатоза при введении конъюгата SEQ ID NO: 42 длительного действия таким же образом, как описано выше.

В результате было подтверждено, что при введении конъюгата SEQ ID NO: 42 длительного действия балл стеатоза (т.е. значение, указывающее уровень стеатоза) значительно снижался по сравнению с уровнями контрольной группы с эксципиентом и группы, которой вводили обетихоловую кислоту (фиг. 3).

Пример 3. Подтверждение терапевтического эффекта тройных агонистов на фиброз печени.

Пример 3-1. Подтверждение эффекта улучшения индекса фиброза печени у мышей с фиброзом печени, индуцированным введением ТАА.

Чтобы подтвердить эффект улучшения при фиброзе печени посредством конъюгатов длительного действия тройных агонистов, полученных в примере 1, использовали мышиную модель AMLN/ТАА (тиоацетамид), известную в качестве модели фиброза печени. Вкратце, мышей C57BL/6 подвергали воздействию пищевого рациона AMLN и введению ТАА (от 50 мг/кг до 400 мг/кг, TIW: 3 раза в неделю) в течение 16 недель для индукции модели. Индуцированных животных делили на контрольную группу с эксципиентом и группу, которой вводили конъюгат SEQ ID NO: 42 длительного действия (1,3 нмоль/кг, Q2D), который выбран в качестве типичного тройного агониста, и соответствующее вещество повторяющимся образом вводили подкожно на протяжении последних 8 недель индукционного периода. Мышей, которых кормили только рационом AMLN, использовали в качестве отрицательного контроля. После 8 недель повторяющегося введения анализировали концентрации в крови гиалуроновой кислоты, тканевого ингибитора металлопротеиназы-1 (TIMP-1) и N-концевого пропептида проколлагена типа III (PIIINP) в образцах крови, полученных посредством отбора крови, и, посредством этого, рассчитывали балл усиленного фиброза печени (ELF), который известен в качестве неинвазивного индекса фиброза печени.

Как показано на фиг. 4, было подтверждено, что в результате повторяющегося введения конъюгата

SEQ ID NO: 42 длительного действия в течение 8 недель балл ELF, который возрастал в контрольной группе с эксципиентом AMLN/ТАА, значительно снижался.

Данные результаты свидетельствуют о том, что тройные агонисты по настоящему изобретению или их конъюгат длительного действия могут значительно снижать балл ELF и, таким образом, обладают эффектом предупреждения или терапевтическим эффектом на фиброз печени.

Пример 3-2. Подтверждение терапевтического эффекта на фиброз печени у мышей с фиброзом печени, индуцированным введением ТАА.

На основе эффекта улучшения неинвазивного индекса фиброза печени, подтвержденного в примере 3-1, применяли инвазивный способ, чтобы прямо оценить терапевтический эффект конъюгатов длительного действия тройных агонистов на фиброз печени. Вкратце, ткань печени мышей, использованных в примере 3-1 (8-недельное повторяющееся введение), отбирали посредством аутопсии и затем подвергали окрашиванию сириусом красным.

В результате было подтверждено, что положительная площадь в ткани печени, выявленная посредством окрашивания сириусом красным, также значительно снижалась при введении конъюгата тройного агониста длительного действия (фиг. 5).

Данные результаты свидетельствуют о том, что тройной агонист по настоящему изобретению или его конъюгат длительного действия обладает эффектом предупреждения или терапевтическим эффектом на фиброз печени.

Пример 3-3. Подтверждение эффекта улучшения при фиброзе печени у мышей с фиброзом печени, индуцированным BDL.

Для того чтобы подтвердить эффект улучшения при фиброзе печени посредством конъюгата SEQ ID NO: 42 длительного действия, подтвержденный в примерах 3-1 и 3-2, использовали мышиную модель лигатуры желчного протока (BDL), которая известна в качестве модели фиброза печени. Вкратце, мышей C57BL/6 анестезировали, и у этих мышей индуцировали появление холестаза ушиванием желчного протока посредством хирургии, и, посредством этого, у мышей индуцировали появление фиброза печени. Индуцированных животных делили на контрольную группу с эксципиентом и группу, которой вводили конъюгат SEQ ID NO: 42 длительного действия, выбранный в качестве типичного тройного агониста (1,3 нмоль/кг, Q2D, подкожное введение). В качестве контроля использовали мышей, которым вводили обетихоловую кислоту (30 мг/кг, QD, пероральное введение), которая представляет собой активный фармацевтический ингредиент Ocaliva®. Введение лекарственного средства повторяли в течение 2 недель, начиная со 2-ых суток после хирургии. В качестве отрицательного контроля использовали мышей с симуляцией воздействия. Концентрации в крови TIMP-1 и гиалуриновой кислоты, которые являются типичными маркерами фиброза печени, измеряли с использованием образцов крови, полученных отбором крови у мышей, которым повторяющимся образом вводили эксципиент, конъюгат SEQ ID NO: 42 длительного действия или обетихоловую кислоту в течение 2 недель.

В результате было подтверждено, что концентрации TIMP-1 и гиалуриновой кислоты согласованно снижались при введении конъюгата тройного агониста длительного действия (фиг. 6).

Данные результаты вновь свидетельствуют о том, что тройной агонист по настоящему изобретению или его конъюгат длительного действия оказывают терапевтический эффект на фиброз печени.

Пример 3-4. Подтверждение терапевтического эффекта на фиброз печени у мышей с фиброзом печени, индуцированным BDL.

На основе эффекта улучшения неинвазивного индекса фиброза печени, подтвержденного в примере 3-3, применяли инвазивный метод, чтобы прямо оценить терапевтический эффект конъюгатов тройного агониста длительного действия на фиброз печени. Вкратце, ткань печени мышей, использованных в примере 3-3 (2-недельное повторное введение), отбирали посредством аутопсии и затем подвергали окрашиванию сириусом красным. Балл фиброза измеряли на основе окрашивания сириусом красным.

В результате было подтверждено, что при повторяющемся введении в течение 2 недель конъюгата SEQ ID NO: 42 длительного действия балл фиброза, который увеличивался в контрольной группе BDL с эксципиентом, значительно снижался (фиг. 7а и 7б).

Приведенные выше результаты свидетельствуют о том, что тройной агонист по настоящему изобретению или его конъюгат длительного действия можно использовать в качестве средства для предупреждения или лечения фиброза печени.

Пример 4. Подтверждение влияния тройного агониста на воспаление печени.

Для того, чтобы подтвердить терапевтический эффект на холестатическое заболевание печени, которое представляет собой заболевание печени, проводили эксперименты следующим образом.

Пример 4-1. Подтверждение эффекта улучшения при первичном билиарном циррозе (PBC) у мышей с PBC, индуцированным BDL.

Чтобы подтвердить эффект улучшения при первичном билиарном циррозе (PBC) посредством конъюгатов длительного действия тройных агонистов, полученных в примере 1, использовали мышиную модель лигатуры желчного протока (BDL), которая известна в качестве модели PBC. Вкратце, мышей C57BL/6 анестезировали, и у этих мышей индуцировали появление холестаза ушиванием желчного протока посредством хирургии, и, посредством этого, у мышей индуцировали появление воспаления печени.

Индукцированных животных делили на контрольную группу с эксципиентом и группу, которой вводили конъюгат SEQ ID NO: 42 длительного действия (1,3 нмоль/кг, Q2D, подкожное введение). В качестве контроля использовали мышей, которым вводили обетихоловую кислоту (30 мг/кг, QD, пероральное введение), которая представляет собой активный фармацевтический ингредиент Ocaliva®, имеющегося в продаже в качестве терапевтического средства для лечения PBC. Введение лекарственного средства повторяли в течение 2 недель, начиная со 2-ых суток после хирургии. В качестве отрицательного контроля использовали мышей с симуляцией воздействия. После 2 недель повторяющегося введения ткань печени отбирали у каждой мыши посредством аутопсии, и эффект улучшения при воспалении печени оценивали посредством окрашивания H&E.

В результате было подтверждено, что при повторяющемся введении конъюгата тройного агониста длительного действия в течение 2 недель балл воспаления, который возрастал в контрольной группе BDL с эксципиентом, значительно снижался (фиг. 8).

Из приведенных выше результатов было подтверждено, что конъюгат тройного агониста длительного действия имеет превосходный эффект улучшения при воспалении печени у мышей PBC.

Пример 4-2. Подтверждение эффекта улучшения при первичном склерозирующем холангите (PSC) у мышей с PSC, индуцированным BDL.

Чтобы подтвердить эффект улучшения при первичном склерозирующем холангите (PSC) посредством конъюгатов длительного действия тройных агонистов, полученных в примере 1, использовали мышиную модель лигатуры желчного протока (BDL), которая известна в качестве модели PSC.

В частности, мышей C57BL/6 анестезировали, и у мышей индуцировали появление холестаза ушиванием желчного протока посредством хирургической терапии, и, посредством этого, у мышей индуцировали появление повреждений печени и желчных протоков. Индуцированных животных делили на контрольную группу с эксципиентом и группу, которой вводили конъюгат SEQ ID NO: 42 длительного действия (1,3 нмоль/кг, Q2D). Повторное подкожное введение данного конъюгата осуществляли в течение 2 недель, начиная со 2-ых суток после хирургии. После 2 недель повторяющегося введения ткань печени отбирали у каждой мыши посредством аутопсии, и эффект улучшения при повреждениях печени и желчных протоков оценивали посредством окрашивания H&E.

В результате было подтверждено, что при повторяющемся введении конъюгата тройного агониста длительного действия в течение 2 недель балл паренхимного некроза, определенный посредством рефлюкса желчи, который возрастал в контрольной группе BDL с эксципиентом, значительно снижался (фиг. 9).

Кроме того, как показано на фиг. 10, было подтверждено, что увеличение балла гиперплазии желчного протока из-за повреждения желчных протоков значительно снижалось посредством введения конъюгата тройного агониста длительного действия.

Из приведенных выше результатов было подтверждено, что конъюгат тройного агониста длительного действия может улучшать повреждения печени и желчных протоков и облегчать воспаление печени у мышей PSC.

Пример 4-3. Подтверждение эффекта улучшения при воспалении печени у мышей, которым вводили TAA.

Чтобы подтвердить эффект улучшения при воспалении в печени посредством конъюгатов длительного действия тройных агонистов, полученных в примере 1, авторы настоящего изобретения использовали мышиную модель AMLN/TAA (тиоацетамид).

В частности, мышей C57BL/6 подвергали воздействию пищевого рациона AMLN и введению TAA (от 50 мг/кг до 400 мг/кг, TIW: 3 раза в неделю) в течение 16 недель для индукции модели. Индуцированных животных делили на контрольную группу с эксципиентом и группу, которой вводили конъюгат SEQ ID NO: 42 длительного действия (1,3 нмоль/кг, Q2D), и соответствующее вещество повторяющимся образом вводили подкожно на протяжении последних 8 недель индукционного периода. Мышей, которых кормили только рационом AMLN, использовали в качестве отрицательного контроля. Кроме того, измеряли уровень экспрессии цитокинов в ткани печени каждой мыши, отобранной посредством аутопсии.

В частности, обращаясь к фиг. 11, было подтверждено, что, при принятии уровня экспрессии MCP-1 для AMLN (контрольная группа с эксципиентом) за 1,0, относительный уровень экспрессии MCP-1 составлял 1,506 для AMLN/TAA (контрольная группа с эксципиентом) и 0,984 для AMLN/TAA (конъюгат SEQ ID NO: 42 длительного действия); и, при принятии уровня экспрессии IL-6 для AMLN (контрольная группа с эксципиентом) за 1,0, относительный уровень экспрессии IL-6 составлял 1,61 для AMLN/TAA (контрольная группа с эксципиентом) и 1,048 для AMLN/TAA (конъюгат SEQ ID NO: 42 длительного действия). Было подтверждено, что уровни экспрессии MCP-1 и IL-6 в группах, которым вводили конъюгат тройного агониста длительного действия, снижались на 34,7% и 34,9% по отношению к уровню для AMLN/TAA соответственно.

То есть, как показано на фиг. 11, было подтверждено, что уровни экспрессии MCP-1 и/или IL-6 в ткани печени согласованно снижались посредством введения конъюгата тройного агониста длительного действия.

Кроме того, для дополнительного подтверждения эффекта улучшения при воспалении печени, подтвержденного на фиг. 11, измеряли изменения уровня человеческого фактора некроза опухолей- α (TNF- α) в линии клеток человеческих макрофагов (линия клеток THP-1).

В частности, данную линию клеток человеческих макрофагов обрабатывали форбол-12-миристат-13-ацетатом (PMA), и оставляли дифференцироваться в течение 72 часов. Затем полученную линию клеток человеческих макрофагов обрабатывали каждым из тройных агонистов SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 97 и SEQ ID NO: 100 в среде до концентрации 1 мкМ, и каждую использовали в качестве опытной группы. Обработку каждым из тройных агонистов осуществляли в течение 48 часов и затем обрабатывали липополисахаридом (LPS) в течение 6 часов таким образом, чтобы активировать воспалительный ответ.

Через 12 часов, с использованием набора ELISA (твердофазный иммуноферментный анализ) для человеческого TNF- α , измеряли изменения количества человеческого фактора некроза опухолей- α (TNF- α), который секретировался в каждую из сред опытных групп, обработанных каждым из тройных агонистов; группы отрицательного контроля, не обработанной тройным агонистом и LPS; и группы положительного контроля, обработанной только LPS без обработки тройным агонистом, и результаты сравнивали (фиг. 12). Для статистической обработки результаты сравнивали между группой положительного контроля, тестируемыми группами и группой отрицательного контроля с использованием однофакторного ANOVA.

В результате было подтверждено, что количество человеческого фактора некроза опухолей- α (TNF- α), который секретировался в среды всех опытных групп, в которых обработка тройными агонистами, которые способны активировать все из рецепторов GLP-1, GIP и глюкагона, без ограничения конкретными последовательностями, осуществлялась на линии клеток человеческих макрофагов, значительно снижалось по сравнению с количеством в группе положительного контроля, обработанной только LPS. Из данного результата был подтвержден терапевтический эффект тройных агонистов на заболевание печени, сопровождаемое воспалением.

Посредством приведенных выше Примеров авторы настоящего изобретения подтвердили, что конъюгаты тройных агонистов длительного действия по настоящему изобретению могут демонстрировать терапевтический эффект на различные заболевания печени, такие как неалкогольный стеатогепатит (NASH), жировое перерождение печени, первичный билиарный цирроз (PBC) и первичный склерозирующий холангит (PSC).

В целом, тройные агонисты по настоящему изобретению и их конъюгаты длительного действия оказывают терапевтический эффект на заболевание печени, и, таким образом, их можно эффективно использовать в изготовлении лекарственных средств.

Из вышеизложенного специалист в области, к которой относится настоящее изобретение, сможет понять, что настоящее изобретение может быть воплощено в других конкретных формах без модификации технических идей или существенных характеристик настоящего изобретения. В данном отношении типичные раскрытые здесь воплощения служат только для иллюстративных целей, и их не следует истолковывать как ограничивающие объем настоящего изобретения. Наоборот, подразумевается, что настоящее изобретение охватывает не только типичные воплощения, но также и различные альтернативы, модификации, эквиваленты и другие воплощения, которые могут быть включены в пределах сущности и объема настоящего изобретения, как определено в прилагаемой формуле изобретения.

Перечень последовательностей

- <110> HANMI PHARM. CO., LTD.
- <120> Therapeutic use of Trigonal glucagon/GLP-1/GIP receptor agonist or a conjugate thereof for liver disease
- <130> OPA20113
- <150> KR 10-2019-0077776
<151> 2019-06-28
- <150> KR 10-2020-0004379
<151> 2020-01-13
- <150> KR 10-2020-0004386
<151> 2020-01-13
- <150> KR 10-2020-0069219
<151> 2020-06-08
- <160> 139

<170> KoPatentIn 3.0
 <210> 1
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Тройной агонист
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (2)
 <223> Хаа представляет собой аминокислоту (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> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Тройной агонист
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (2)
 <223> Хаа представляет собой аминокислоту (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> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Тройной агонист
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (2)
 <223> Хаа представляет собой аминокислоту (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 Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly Gly Gly Pro
 20 25 30

046413

Ser Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Cys
 35 40

<210> 4
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Тройной агонист

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (2)
 <223> Хаа представляет собой аминокислоту (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> Artificial Sequence

<220>
 <223> Тройной агонист

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (2)
 <223> Хаа представляет собой аминокислоту (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> Artificial Sequence

<220>
 <223> Тройной агонист

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (2)
 <223> Хаа представляет собой аминокислоту (Aib)

<400> 6
 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Asp Gly

046413

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

<210> 10
 <211> 41
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Тройной агонист

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (2)
 <223> Хаа представляет собой аминокислоту (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> Artificial Sequence

<220>
 <223> Тройной агонист

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)
 <223> Хаа представляет собой 4-имидазоацетил (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> Artificial Sequence

<220>
 <223> Тройной агонист

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)
 <223> Хаа представляет собой 4-имидазоацетил (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> Artificial Sequence

<220>
 <223> Тройной агонист

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)
 <223> Xaa представляет собой 4-имидазоацетил (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> Artificial Sequence

<220>
 <223> Тройной агонист

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)
 <223> Xaa представляет собой 4-имидазоацетил (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> Artificial Sequence

<220>
 <223> Тройной агонист

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)
 <223> Хаа представляет собой 4-имидазоацетил (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> Artificial Sequence

<220>
 <223> Тройной агонист

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)
 <223> Хаа представляет собой 4-имидазоацетил (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> Artificial Sequence

<220>
 <223> Тройной агонист

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)
 <223> Хаа представляет собой 4-имидазоацетил (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> Artificial Sequence

<220>
 <223> Тройной агонист

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)
 <223> Хаа представляет собой 4-имидазоацетил (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> Artificial Sequence

<220>
 <223> Тройной агонист

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)
 <223> Хаа представляет собой 4-имидазоацетил (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> Artificial Sequence

<220>
 <223> Тройной агонист

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)
 <223> Хаа представляет собой 4-имидазоацетил (CA)

046413

<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> Artificial Sequence

<220>
 <223> Тройной агонист

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (2)
 <223> Хаа представляет собой аминокислоту (Aib)

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (16)..(20)
 <223> аминокислоты в положениях 16 и 20 образуют кольцо

<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> Artificial Sequence

<220>
 <223> Тройной агонист

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (2)
 <223> Хаа представляет собой аминокислоту (Aib)

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (16)..(20)
 <223> аминокислоты в положениях 16 и 20 образуют кольцо

<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> Artificial Sequence

<220>
<223> Тройной агонист

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)
<223> Хаа представляет собой аминокислоту (Aib)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (16)..(20)
<223> аминокислоты в положениях 16 и 20 образуют кольцо

<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> Artificial Sequence

<220>
<223> Тройной агонист

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)
<223> Хаа представляет собой аминокислоту (Aib)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (16)..(20)
<223> аминокислоты в положениях 16 и 20 образуют кольцо

<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> Artificial Sequence

<220>
 <223> Тройной агонист

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (2)
 <223> Хаа представляет собой аминокислоту (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> Artificial Sequence

<220>
 <223> Тройной агонист

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (2)
 <223> Хаа представляет собой аминокислоту (Aib)

<400> 26
 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Cys Ser Lys Tyr Leu Asp Ser
 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> 27
 <211> 40
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Тройной агонист

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (2)
 <223> Хаа представляет собой аминокислоту (Aib)

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

046413

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

Ser Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser
 35 40

<210> 28
 <211> 41
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Тройной агонист

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (2)
 <223> Хаа представляет собой аминокислоту (Aib)

<400> 28
 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu
 1 5 10 15

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

Lys Asn Asp Trp Lys His Asn Ile Thr
 35 40

<210> 29
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Тройной агонист

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (2)
 <223> Хаа представляет собой аминокислоту (Aib)

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (16)..(20)
 <223> аминокислоты в положениях 16 и 20 образуют кольцо

<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> Artificial Sequence

<220>
 <223> Тройной агонист

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (2)
 <223> Хаа представляет собой аминокислоту (Aib)

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (16)..(20)
 <223> аминокислоты в положениях 16 и 20 образуют кольцо

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

<210> 31
 <211> 29
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Тройной агонист

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (2)
 <223> Хаа представляет собой аминокислоту (Aib)

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (16)..(20)
 <223> аминокислоты в положениях 16 и 20 образуют кольцо

<400> 31
 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu
 1 5 10 15
 Lys Ala Cys Lys Glu Phe Val Gln Trp Leu Leu Ala Gln
 20 25

<210> 32
 <211> 39
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Тройной агонист

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (2)
 <223> Хаа представляет собой аминокислоту (Aib)

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (16)..(20)
 <223> аминокислоты в положениях 16 и 20 образуют кольцо

046413

<400> 32
 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu
 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> Artificial Sequence

<220>
 <223> Тройной агонист

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (2)
 <223> Хаа представляет собой аминокислоту (Aib)

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (16)..(20)
 <223> аминокислоты в положениях 16 и 20 образуют кольцо

<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> Artificial Sequence

<220>
 <223> Тройной агонист

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (2)
 <223> Хаа представляет собой аминокислоту (Aib)

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (16)..(20)
 <223> аминокислоты в положениях 16 и 20 образуют кольцо

<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> Artificial Sequence

<220>
 <223> Тройной агонист

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (2)
 <223> Хаа представляет собой аминокислоту (Aib)

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (16)..(20)
 <223> аминокислоты в положениях 16 и 20 образуют кольцо

<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> Artificial Sequence

<220>
 <223> Тройной агонист

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (2)
 <223> Хаа представляет собой аминокислоту (Aib)

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (16)..(20)
 <223> аминокислоты в положениях 16 и 20 образуют кольцо

<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> Artificial Sequence

<220>

<223> Тройной агонист

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (2)

<223> Xaa представляет собой аминокислоту (Aib)

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (16)..(20)

<223> аминокислоты в положениях 16 и 20 образуют кольцо

<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> Artificial Sequence

<220>

<223> Тройной агонист

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)

<223> Xaa представляет собой 4-имидазоацетил (CA)

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (2)

<223> Xaa представляет собой аминокислоту (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> Artificial Sequence

<220>

<223> Тройной агонист

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (2)
 <223> Хаа представляет собой аминокислоту (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> Artificial Sequence

<220>
 <223> Тройной агонист

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (2)
 <223> Хаа представляет собой аминокислоту (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> Artificial Sequence

<220>
 <223> Тройной агонист

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (2)
 <223> Хаа представляет собой аминокислоту (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> Artificial Sequence

<220>
 <223> Тройной агонист

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (2)
 <223> Хаа представляет собой аминокислоту (Aib)

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (16)..(20)
 <223> аминокислоты в положениях 16 и 20 образуют кольцо

<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> Artificial Sequence

<220>
 <223> Тройной агонист

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (2)
 <223> Хаа представляет собой аминокислоту (Aib)

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (16)..(20)
 <223> аминокислоты в положениях 16 и 20 образуют кольцо

<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> Artificial Sequence

<220>
 <223> Тройной агонист

<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> Artificial Sequence

<220>
 <223> Тройной агонист

<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> Artificial Sequence

<220>
 <223> Тройной агонист

<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
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Тройной агонист

<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> Artificial Sequence

<220>
 <223> Тройной агонист

<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> Artificial Sequence

<220>
 <223> Тройной агонист

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)
 <223> Хаа представляет собой 4-имидазоацетил (CA)

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (2)
 <223> Хаа представляет собой аминокислоту (Aib)

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (16)..(20)
 <223> аминокислоты в положениях 16 и 20 образуют кольцо

<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> Artificial Sequence

<220>
 <223> Тройной агонист

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

<223> Хаа представляет собой аминокислоту (Aib)

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (16)..(20)
 <223> аминокислоты в положениях 16 и 20 образуют кольцо

<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> Artificial Sequence

<220>
 <223> Тройной агонист

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (2)
 <223> Хаа представляет собой аминокислоту (Aib)

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (16)..(20)
 <223> аминокислоты в положениях 16 и 20 образуют кольцо

<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> Artificial Sequence

<220>
 <223> Тройной агонист

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (2)
 <223> Хаа представляет собой аминокислоту (Aib)

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (16)..(20)
 <223> аминокислоты в положениях 16 и 20 образуют кольцо

046413

<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> Artificial Sequence

<220>
 <223> Тройной агонист

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (2)
 <223> Хаа представляет собой аминокислоту (Aib)

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (16)..(20)
 <223> аминокислоты в положениях 16 и 20 образуют кольцо

<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> Artificial Sequence

<220>
 <223> Тройной агонист

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (2)
 <223> Хаа представляет собой аминокислоту (Aib)

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (16)..(20)
 <223> аминокислоты в положениях 16 и 20 образуют кольцо

<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> Artificial Sequence

<220>
 <223> Тройной агонист

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (2)
 <223> Хаа представляет собой аминокислоту (Aib)

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (16)..(20)
 <223> аминокислоты в положениях 16 и 20 образуют кольцо

<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> Artificial Sequence

<220>
 <223> Тройной агонист

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (2)
 <223> Хаа представляет собой аминокислоту (Aib)

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (16)..(20)
 <223> аминокислоты в положениях 16 и 20 образуют кольцо

<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> Artificial Sequence

<220>
 <223> Тройной агонист

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (2)
 <223> Хаа представляет собой аминокислоту (Aib)

<220>

046413

<221> MISC_FEATURE
 <222> (16)..(20)
 <223> аминокислоты в положениях 16 и 20 образуют кольцо

<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> Artificial Sequence

<220>
 <223> Тройной агонист

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (2)
 <223> Хаа представляет собой аминоизомасляную кислоту (Aib)

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (16)..(20)
 <223> аминокислоты в положениях 16 и 20 образуют кольцо

<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> Artificial Sequence

<220>
 <223> Тройной агонист

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)
 <223> Хаа представляет собой 4-имидазоацетил (CA)

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (2)
 <223> Хаа представляет собой аминоизомасляную кислоту (Aib)

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (16)..(20)
 <223> аминокислоты в положениях 16 и 20 образуют кольцо

<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> Artificial Sequence

<220>
 <223> Тройной агонист

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)
 <223> Xaa представляет собой 4-имидазоацетил (CA)

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (2)
 <223> Xaa представляет собой аминокислоту (Aib)

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (16)..(20)
 <223> аминокислоты в положениях 16 и 20 образуют кольцо

<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> Artificial Sequence

<220>
 <223> Тройной агонист

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)
 <223> Xaa представляет собой 4-имидазоацетил (CA)

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (2)
 <223> Xaa представляет собой аминокислоту (Aib)

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (16)..(20)
 <223> аминокислоты в положениях 16 и 20 образуют кольцо

<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> Artificial Sequence

<220>
 <223> Тройной агонист

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)
 <223> Xaa представляет собой 4-имидазоацетил (CA)

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (2)
 <223> Xaa представляет собой аминокислоту (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> Artificial Sequence

<220>
 <223> Тройной агонист

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)
 <223> Xaa представляет собой 4-имидазоацетил (CA)

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (2)
 <223> Xaa представляет собой аминокислоту (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> Artificial Sequence

<220>
 <223> Тройной агонист

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (2)
 <223> Хаа представляет собой аминокислоту (Aib)

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (16)..(20)
 <223> аминокислоты в положениях 16 и 20 образуют кольцо

<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> Artificial Sequence

<220>
 <223> Тройной агонист

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (2)
 <223> Хаа представляет собой аминокислоту (Aib)

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (16)..(20)
 <223> аминокислоты в положениях 16 и 20 образуют кольцо

<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> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Тройной агонист

 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (2)
 <223> Хаа представляет собой аминокислоту (Aib)

 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (16)..(20)
 <223> аминокислоты в положениях 16 и 20 образуют кольцо

 <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> Artificial Sequence

 <220>
 <223> Тройной агонист

 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (2)
 <223> Хаа представляет собой аминокислоту (Aib)

 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (16)..(20)
 <223> аминокислоты в положениях 16 и 20 образуют кольцо

 <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> Artificial Sequence

 <220>
 <223> Тройной агонист

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (2)
 <223> Хаа представляет собой аминокислоту (Aib)

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (16)..(20)
 <223> аминокислоты в положениях 16 и 20 образуют кольцо

<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> Artificial Sequence

<220>
 <223> Тройной агонист

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (2)
 <223> Хаа представляет собой аминокислоту (Aib)

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (16)..(20)
 <223> аминокислоты в положениях 16 и 20 образуют кольцо

<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> Artificial Sequence

<220>
 <223> Тройной агонист

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (2)
 <223> Хаа представляет собой аминокислоту (Aib)

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (16)..(20)
 <223> аминокислоты в положениях 16 и 20 образуют кольцо

<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> Artificial Sequence

<220>
 <223> Тройной агонист

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (2)
 <223> Хаа представляет собой аминокислоту (Aib)

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (16)..(20)
 <223> аминокислоты в положениях 16 и 20 образуют кольцо

<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> Artificial Sequence

<220>
 <223> Тройной агонист

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (2)
 <223> Хаа представляет собой аминокислоту (Aib)

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (16)..(20)
 <223> аминокислоты в положениях 16 и 20 образуют кольцо

046413

<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> Artificial Sequence

<220>
 <223> Тройной агонист

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)
 <223> Хаа представляет собой 4-имидазоацетил (CA)

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (2)
 <223> Хаа представляет собой аминокислоту (Aib)

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (16)..(20)
 <223> аминокислоты в положениях 16 и 20 образуют кольцо

<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> Artificial Sequence

<220>
 <223> Тройной агонист

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)
 <223> Хаа представляет собой 4-имидазоацетил (CA)

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (2)
 <223> Хаа представляет собой аминокислоту (Aib)

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (16)..(20)
 <223> аминокислоты в положениях 16 и 20 образуют кольцо

<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> Artificial Sequence

<220>
 <223> Тройной агонист

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (2)
 <223> Хаа представляет собой аминокислоту (Aib)

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (16)..(20)
 <223> аминокислоты в положениях 16 и 20 образуют кольцо

<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> Artificial Sequence

<220>
 <223> Тройной агонист

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (2)
 <223> Хаа представляет собой аминокислоту (Aib)

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (16)..(20)
 <223> аминокислоты в положениях 16 и 20 образуют кольцо

046413

<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> Artificial Sequence

<220>
 <223> Тройной агонист

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (2)
 <223> Хаа представляет собой аминокислоту (Aib)

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (16)..(20)
 <223> аминокислоты в положениях 16 и 20 образуют кольцо

<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> Artificial Sequence

<220>
 <223> Тройной агонист

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (2)
 <223> Хаа представляет собой аминокислоту (Aib)

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (16)..(20)
 <223> аминокислоты в положениях 16 и 20 образуют кольцо

<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> Artificial Sequence

<220>
 <223> Тройной агонист

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (2)
 <223> Хаа представляет собой аминокислоту (Aib)

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (16)..(20)
 <223> аминокислоты в положениях 16 и 20 образуют кольцо

<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> Artificial Sequence

<220>
 <223> Тройной агонист

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (2)
 <223> Хаа представляет собой аминокислоту (Aib)

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (16)..(20)
 <223> аминокислоты в положениях 16 и 20 образуют кольцо

<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> Artificial Sequence

<220>
<223> Тройной агонист

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)
<223> Хаа представляет собой 4-имидазоацетил (CA)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)
<223> Хаа представляет собой аминокислоту (Aib)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (16)..(20)
<223> аминокислоты в положениях 16 и 20 образуют кольцо

<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> Artificial Sequence

<220>
<223> Тройной агонист

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)
<223> Хаа представляет собой 4-имидазоацетил (CA)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)
<223> Хаа представляет собой аминокислоту (Aib)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (16)..(20)
<223> аминокислоты в положениях 16 и 20 образуют кольцо

<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> Artificial Sequence

<220>
<223> Тройной агонист

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)
<223> Хаа представляет собой 4-имидазоацетил (CA)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)
<223> Хаа представляет собой аминокислоту (Aib)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (16)..(20)
<223> аминокислоты в положениях 16 и 20 образуют кольцо

<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> Artificial Sequence

<220>
<223> Тройной агонист

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)
<223> Хаа представляет собой 4-имидазоацетил (CA)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)
<223> Хаа представляет собой аминокислоту (Aib)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (16)..(20)
<223> аминокислоты в положениях 16 и 20 образуют кольцо

<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> Artificial Sequence

<220>
<223> Тройной агонист

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)
<223> Хаа представляет собой 4-имидазоацетил (CA)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)
<223> Хаа представляет собой аминокислоту (Aib)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (16)..(20)
<223> аминокислоты в положениях 16 и 20 образуют кольцо

<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> Artificial Sequence

<220>
<223> Тройной агонист

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)
<223> Хаа представляет собой 4-имидазоацетил (CA)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)
<223> Хаа представляет собой аминокислоту (Aib)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (16)..(20)
<223> аминокислоты в положениях 16 и 20 образуют кольцо

<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> Artificial Sequence

<220>
<223> Тройной агонист

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)
<223> Хаа представляет собой 4-имидазоацетил (CA)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)
<223> Хаа представляет собой аминокислоту (Aib)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (16)..(20)
<223> аминокислоты в положениях 16 и 20 образуют кольцо

<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> Artificial Sequence

<220>
<223> Тройной агонист

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)
<223> Хаа представляет собой 4-имидазоацетил (CA)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)
<223> Хаа представляет собой аминокислоту (Aib)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (16)..(20)
<223> аминокислоты в положениях 16 и 20 образуют кольцо

<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> Artificial Sequence

<220>
<223> Тройной агонист

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)
<223> Хаа представляет собой 4-имидазоацетил (CA)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)
<223> Хаа представляет собой аминокислоту (Aib)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (16)..(20)
<223> аминокислоты в положениях 16 и 20 образуют кольцо

<400> 89
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 Lys Cys
20 25 30

<210> 90
<211> 31
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Тройной агонист

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)
<223> Хаа представляет собой 4-имидазоацетил (CA)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)
<223> Хаа представляет собой аминокислоту (Aib)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (16)..(20)
<223> аминокислоты в положениях 16 и 20 образуют кольцо

<400> 90
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 Lys Cys
20 25 30

<210> 91
 <211> 31
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Тройной агонист

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)
 <223> Хаа представляет собой 4-имидазоацетил (CA)

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (2)
 <223> Хаа представляет собой аминокислоту (Aib)

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (16)..(20)
 <223> аминокислоты в положениях 16 и 20 образуют кольцо

<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> Artificial Sequence

<220>
 <223> Тройной агонист

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)
 <223> Хаа представляет собой 4-имидазоацетил (CA)

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (2)
 <223> Хаа представляет собой аминокислоту (Aib)

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (16)..(20)
 <223> аминокислоты в положениях 16 и 20 образуют кольцо

<400> 92
 Xaa Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Ile Ala Met Asp Glu
 1 5 10 15

046413

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> Artificial Sequence

<220>
 <223> Тройной агонист

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)
 <223> Хаа представляет собой 4-имидазоацетил (CA)

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (2)
 <223> Хаа представляет собой аминокислоту (Aib)

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (16)..(20)
 <223> аминокислоты в положениях 16 и 20 образуют кольцо

<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> Artificial Sequence

<220>
 <223> Тройной агонист

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)
 <223> Хаа представляет собой 4-имидазоацетил (CA)

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (2)
 <223> Хаа представляет собой аминокислоту (Aib)

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (16)..(20)
 <223> аминокислоты в положениях 16 и 20 образуют кольцо

046413

<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> Artificial Sequence

<220>
 <223> Тройной агонист

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (2)
 <223> Xaa представляет собой аминокислоту (Aib)

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (16)..(20)
 <223> аминокислоты в положениях 16 и 20 образуют кольцо

<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> Artificial Sequence

<220>
 <223> Тройной агонист

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (2)
 <223> Xaa представляет собой аминокислоту (Aib)

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (16)..(20)
 <223> аминокислоты в положениях 16 и 20 образуют кольцо

<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> Artificial Sequence

<220>
<223> Тройной агонист

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)
<223> Хаа представляет собой аминокислоту (Aib)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (16)..(20)
<223> аминокислоты в положениях 16 и 20 образуют кольцо

<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> Artificial Sequence

<220>
<223> Тройной агонист

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)
<223> Хаа представляет собой аминокислоту (Aib)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (16)..(20)
<223> аминокислоты в положениях 16 и 20 образуют кольцо

<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> Artificial Sequence

<220>
<223> Тройной агонист

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)
<223> Хаа представляет собой аминокислоту (Aib)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (16)..(20)
<223> аминокислоты в положениях 16 и 20 образуют кольцо

<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> Artificial Sequence

<220>
<223> Тройной агонист

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)
<223> Хаа представляет собой аминокислоту (Aib)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (16)..(20)
<223> аминокислоты в положениях 16 и 20 образуют кольцо

<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> Artificial Sequence

<220>
<223> Тройной агонист

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (2)
 <223> Хаа представляет собой аминокислоту (Aib)

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (16)..(20)
 <223> аминокислоты в положениях 16 и 20 образуют кольцо

<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> Artificial Sequence

<220>
 <223> Тройной агонист

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (2)
 <223> Хаа представляет собой аминокислоту (Aib)

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (16)..(20)
 <223> аминокислоты в положениях 16 и 20 образуют кольцо

<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> 30
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Общая формула 1

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)
 <223> Хаа представляет собой His (H), 4-имидазоацетил (CA) или Tyr (Y)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)
<223> Хаа представляет собой Gly (G), альфа-метилглутаминовую кислоту или Aib (аминоизомаляновая кислота)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)
<223> Хаа представляет собой Glu (E) или Gln (Q)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (7)
<223> Хаа представляет собой Thr (T) или Ile (I)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (10)
<223> Хаа представляет собой Leu (L), Tyr (Y), Lys (K), Cys (C) или Val (V)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (12)
<223> Хаа представляет собой Lys (K), Ser (S) или Ile (I)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (13)
<223> Хаа представляет собой Gln (Q), Tyr (Y), Ala (A) или Cys (C)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (14)
<223> Хаа представляет собой Leu (L), Met (M) или Tyr (Y)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (15)
<223> Хаа представляет собой Cys (C), Asp (D), Glu (E) или Leu (L)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (16)
<223> Хаа представляет собой Gly (G), Glu (E) или Ser (S)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (17)
<223> Хаа представляет собой Gln (Q), Arg (R), Ile (I), Glu (E), Cys (C) или Lys (K)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (18)
<223> Хаа представляет собой Ala (A), Gln (Q), Arg (R) или His (H)

<220>

<221> MISC_FEATURE
 <222> (19)
 <223> Хаа представляет собой Ala (A), Gln (Q), Cys (C) или Val (V)

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (20)
 <223> Хаа представляет собой Lys (K), Gln (Q) или Arg (R)

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (21)
 <223> Хаа представляет собой Glu (E), Gln (Q), Leu (L), Cys (C) или Asp (D)

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (23)
 <223> Хаа представляет собой Ile (I) или Val (V)

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (24)
 <223> Хаа представляет собой Ala (A), Gln (Q), Cys (C), Asn (N), Asp (D) или Glu (E)

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (27)
 <223> Хаа представляет собой Val (V), Leu (L), Lys (K) или Met (M)

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (28)
 <223> Хаа представляет собой Cys (C), Lys (K), Ala (A), Asn (N) или Asp (D)

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (29)
 <223> Хаа представляет собой Cys (C), Gly (G), Gln (Q), Thr (T), Glu (E) или His (H)

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (30)
 <223> Хаа представляет собой Cys (C), Gly (G), Lys (K) или His (H), или отсутствует; и
 Хаа может быть дополнительно связана с R1, где R1 представляет собой Cys (C), GKKNDWKHNIT, m-SSGAPPPS-n или m-SSGQPPPS-n, или отсутствует, и
 где m представляет собой -Cys-, -Pro- или -Gly-Pro-, и n представляет собой -Cys-,
 -Gly-,
 -Ser- или -His

<400> 103
 Хаа Хаа Хаа Gly Thr Phe Хаа Ser Asp Хаа Ser Хаа Хаа Хаа Хаа Хаа
 1 5 10 15

Хаа Хаа Хаа Хаа Хаа Phe Хаа Хаа Trp Leu Хаа Хаа Хаа Хаа
 20 25 30

<210> 104

<211> 40
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Общая формула 2

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)
<223> Хаа представляет собой His (H), 4-имидазоацетил (CA) или Tyr (Y)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)
<223> Хаа представляет собой Gly (G), альфа-метилглутаминовую кислоту или Aib (аминоизомасляная кислота)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (10)
<223> Хаа представляет собой Tyr (Y) или Cys (C)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (13)
<223> Хаа представляет собой Gln (Q), Tyr (Y), Ala (A) или Cys (C)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (14)
<223> Хаа представляет собой Leu (L), Met (M) или Tyr (Y)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (15)
<223> Хаа представляет собой Asp (D), Glu (E) или Leu (L)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (16)
<223> Хаа представляет собой Gly (G), Glu (E) или Ser (S)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (17)
<223> Хаа представляет собой Gln (Q), Arg (R), Ile (I), Glu (E), Cys (C) или Lys (K)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (18)
<223> Хаа представляет собой Ala (A), Gln (Q), Arg (R) или His (H)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (19)
<223> Хаа представляет собой Ala (A), Gln (Q), Cys (C) или Val (V)

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (20)
 <223> Хаа представляет собой Lys (K), Gln (Q) или Arg (R)

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (21)
 <223> Хаа представляет собой Glu (E), Gln (Q), Leu (L), Cys (C) или Asp (D)

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (23)
 <223> Хаа представляет собой Ile (I) или Val (V)

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (24)
 <223> Хаа представляет собой Ala (A), Gln (Q), Cys (C), Asn (N) или Glu (E)

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (28)
 <223> Хаа представляет собой Cys (C), Lys (K), Asn (N) или Asp (D)

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (29)
 <223> Хаа представляет собой Cys (C), Gly (G), Gln (Q) или His (H)

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (30)
 <223> Хаа представляет собой Cys (C), Gly (G), Lys (K) или His (H)

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (31)
 <223> Хаа представляет собой Pro (P) или Cys (C)

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (40)
 <223> Хаа представляет собой Cys (C) или отсутствует

<400> 104
 Хаа Хаа Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Хаа Ser Lys Хаа Хаа Хаа Хаа
 1 5 10 15
 Хаа Хаа Хаа Хаа Хаа Phe Хаа Хаа Trp Leu Leu Хаа Хаа Хаа Хаа Ser
 20 25 30
 Ser Gly Gln Pro Pro Pro Ser Хаа
 35 40

<210> 105
 <211> 40
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
<223> Общая формула 3

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)
<223> Хаа представляет собой His (H) или Tyr (Y)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)
<223> Хаа представляет собой альфа-метилглутаминовую кислоту или Aib (аминоизомасляная кислота)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (13)
<223> Хаа представляет собой Tyr (Y), Ala (A) или Cys (C)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (17)
<223> Хаа представляет собой Arg (R), Cys (C) или Lys (K)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (18)
<223> Хаа представляет собой Ala (A) или Arg (R)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (19)
<223> Хаа представляет собой Ala (A) или Cys (C)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (21)
<223> Хаа представляет собой Glu (E) или Asp (D)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (24)
<223> Хаа представляет собой Gln (Q) или Asn (N)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (28)
<223> Хаа представляет собой Cys (C) или Asp (D)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (29)
<223> Хаа представляет собой Cys (C), Gln (Q) или His (H)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (30)
<223> Хаа представляет собой Cys (C) или His (H)

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (31)
 <223> Xaa представляет собой Pro (P) или Cys (C)

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (40)
 <223> Xaa представляет собой Cys (C) или отсутствует

<400> 105
 Xaa Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Xaa Leu Asp Glu
 1 5 10 15
 Xaa Xaa Xaa Lys Xaa Phe Val Xaa Trp Leu Leu Xaa Xaa Xaa Xaa Ser
 20 25 30
 Ser Gly Gln Pro Pro Pro Ser Xaa
 35 40

<210> 106
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> R1

<400> 106
 Gly Lys Lys Asn Asp Trp Lys His Asn Ile Thr
 1 5 10

<210> 107
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> R1

<400> 107
 Ser Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser
 1 5

<210> 108
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> R1

<400> 108
 Ser Ser Gly Gln Pro Pro Pro Ser
 1 5

<210> 109
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>

<223> R1

<400> 109

Cys Ser Ser Gly Gln Pro Pro Pro Ser
1 5

<210> 110

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> R1

<400> 110

Gly Pro Ser Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser
1 5 10

<210> 111

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> R1

<400> 111

Gly Pro Ser Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Cys
1 5 10

<210> 112

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> R1

<400> 112

Pro Ser Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser
1 5

<210> 113

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> R1

<400> 113

Pro Ser Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Gly
1 5 10

<210> 114

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> R1

<400> 114

Pro Ser Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser His Gly
 1 5 10

<210> 115

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> R1

<400> 115

Pro Ser Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Ser
 1 5 10

<210> 116

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> R1

<400> 116

Pro Ser Ser Gly Gln Pro Pro Pro Ser
 1 5

<210> 117

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> R1

<400> 117

Pro Ser Ser Gly Gln Pro Pro Pro Ser Cys
 1 5 10

<210> 118

<211> 29

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 118

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

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

<210> 119

<211> 12

<212> PRT

<213> HOMO SAPIENS

<400> 119
 Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro
 1 5 10

<210> 120
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Вариант шарнирной области

<400> 120
 Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Pro Ser Cys Pro
 1 5 10

<210> 121
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Вариант шарнирной области

<400> 121
 Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Pro
 1 5 10

<210> 122
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Вариант шарнирной области

<400> 122
 Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser
 1 5 10

<210> 123
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Вариант шарнирной области

<400> 123
 Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro
 1 5 10

<210> 124
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Вариант шарнирной области

<400> 124
Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser
1 5

<210> 125
<211> 8
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Вариант шарнирной области

<400> 125
Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys
1 5

<210> 126
<211> 7
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Вариант шарнирной области

<400> 126
Glu Lys Tyr Gly Pro Pro Cys
1 5

<210> 127
<211> 6
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Вариант шарнирной области

<400> 127
Glu Ser Pro Ser Cys Pro
1 5

<210> 128
<211> 5
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Вариант шарнирной области

<400> 128
Glu Pro Ser Cys Pro
1 5

<210> 129
<211> 4
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Вариант шарнирной области

<400> 129
Pro Ser Cys Pro
1

<210> 130
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Вариант шарнирной области

<400> 130
Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Ser Cys Pro
1 5 10

<210> 131
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Вариант шарнирной области

<400> 131
Lys Tyr Gly Pro Pro Pro Ser Cys Pro
1 5

<210> 132
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Вариант шарнирной области

<400> 132
Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Ser Cys Pro
1 5

<210> 133
<211> 8
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Вариант шарнирной области

<400> 133
Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys
1 5

<210> 134
<211> 7
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Вариант шарнирной области

<400> 134
 Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro
 1 5

<210> 135
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Вариант шарнирной области

<400> 135
 Glu Ser Lys Pro Ser Cys Pro
 1 5

<210> 136
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Вариант шарнирной области

<400> 136
 Glu Ser Pro Ser Cys Pro
 1 5

<210> 137
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Вариант шарнирной области

<400> 137
 Glu Pro Ser Cys
 1

<210> 138
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Вариант шарнирной области

<400> 138
 Ser Cys Pro
 1

<210> 139
 <211> 221
 <212> PRT
 <213> homo sapiens

<400> 139
 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
 100 105 110
 Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
 115 120 125
 Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
 130 135 140
 Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
 145 150 155 160
 Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
 165 170 175
 Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
 180 185 190
 Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
 195 200 205
 His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
 210 215 220

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Применение фармацевтической композиции для предупреждения или лечения заболевания печени, сопровождаемого или вызванного воспалением печени или стеатозом, содержащей:

фармацевтически приемлемый эксципиент; и

пептид, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 21, 22, 31, 32, 37, 43, 50, 53, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 75, 76, 77, 79, 96, 97, 98, 99, 100, 101 и 102, в фармацевтически эффективном количестве,

где заболевание печени представляет собой по меньшей мере одно заболевание, выбранное из группы, состоящей из простого стеатоза, неалкогольного ожирения печени (NAFL), воспаления печени, неалкогольного стеатогепатита (NASH), метаболического заболевания печени, холестатического заболевания печени, фиброза печени, цирроза печени, печеночной недостаточности и рака печени.

2. Применение по п.1, где пептид содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 21, 22, 43, 50, 64, 65, 66, 67, 70, 71, 76, 77, 96, 97, 100, 101 и 102.

3. Применение по п.1, где пептид содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 66, 67, 97 и 100.

4. Применение по любому из пп.1-3, где пептид находится в форме конъюгата длительного действия, и конъюгат длительного действия представлен формулой 1, приведенной ниже:

[Формула 1]

X-L-F,

где в формуле 1, приведенной выше,

X представляет собой пептид, описанный выше;

L представляет собой линкер, содержащий повторяющееся звено этиленгликоля;

F представляет собой Fc-фрагмент иммуноглобулина или его производное; и

"-" представляет ковалентную связь между X и L, и между L и F.

5. Применение по п.1, где C-конец пептида амидирован.

6. Применение по п.1, где заболевание печени представляет собой воспаление печени.

7. Применение по п.6, где фармацевтическая композиция снижает экспрессию по меньшей мере одного из TNF- α (фактор некроза опухолей- α), MCP-1 (моноцитарный хемотаксический белок-1) и IL-6 (интерлейкин-6) в ткани печени при введении.

8. Применение по п.1, где заболевание печени представляет собой метаболическое заболевание печени.

9. Применение по п.8, где фармацевтическая композиция уменьшает количество триглицеридов и/или холестерина в ткани печени при введении.

10. Применение по п.1, где заболевание печени представляет собой по меньшей мере одно заболевание, выбранное из группы, состоящей из простого стеатоза, неалкогольного ожирения печени (NAFL), воспаления печени, неалкогольного стеатогепатита (NASH), холестатического заболевания печени, фиброза печени, цирроза печени, печеночной недостаточности и рака печени.

11. Применение по п.10, где холестатическое заболевание печени представляет собой любое заболевание, выбранное из группы, состоящей из первичного билиарного цирроза, первичного склерозирующего холангита и их комбинации.

12. Применение по п.10, где заболевание печени представляет собой неалкогольный стеатогепатит (NASH), сопровождающий жировое перерождение печени, фиброз печени или цирроз.

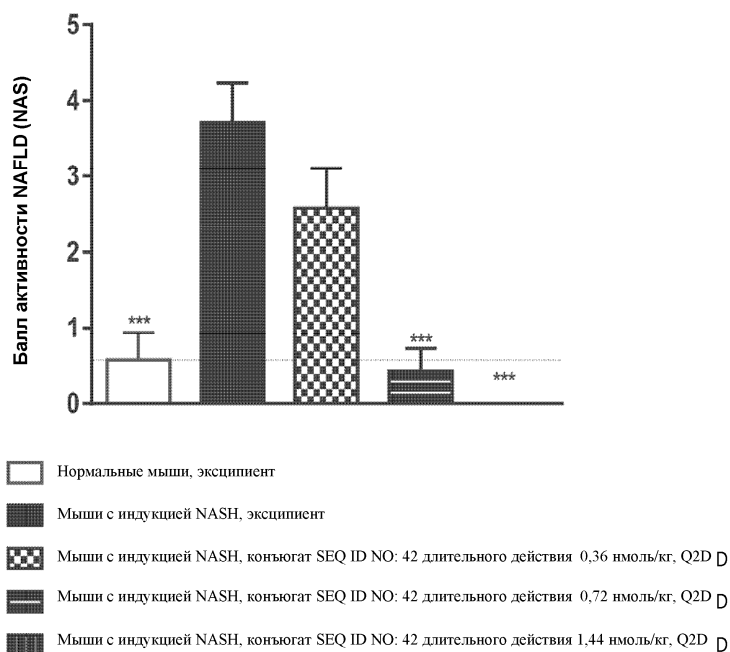
13. Применение по п.10, где заболевание печени представляет собой рак печени, вызванный неалкогольным стеатогепатитом (NASH).

14. Применение по п.1, где заболевание печени представляет собой по меньшей мере одно заболевание, выбранное из группы, состоящей из простого стеатоза, неалкогольного ожирения печени (NAFL) и цирроза печени.

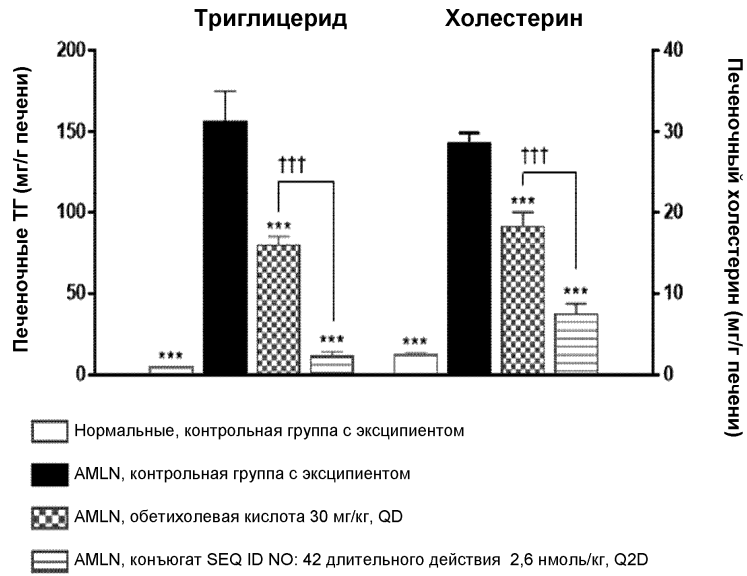
15. Применение по п.1, где заболевание печени представляет собой по меньшей мере одно заболевание, выбранное из группы, состоящей из воспаления печени, неалкогольного стеатогепатита (NASH) и фиброза печени.

16. Применение по п.15, где заболевание печени представляет собой фиброз печени, и фармацевтическая композиция при введении уменьшает концентрацию в крови TIMP-1 (тканевой ингибитор металлопротеиназ-1) и/или гиалуроновой кислоты у субъекта, которому вводили данную фармацевтическую композицию.

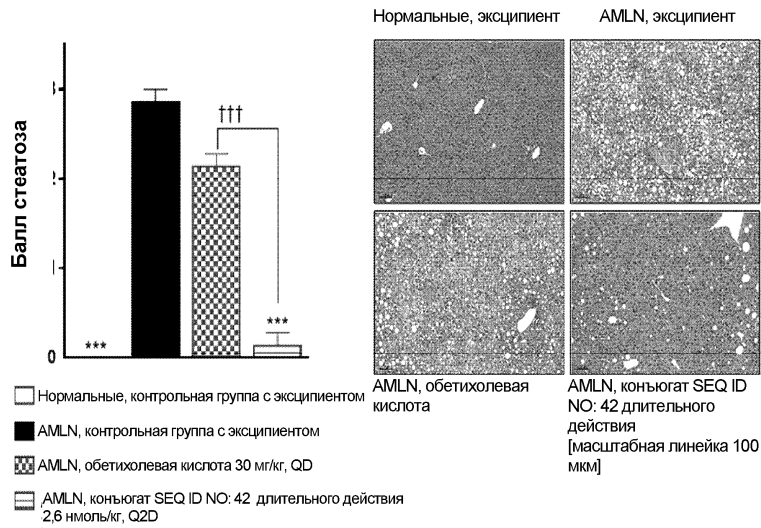
17. Применение по п.4, где молекулярная масса по формуле повторяющегося звена этиленгликоля в L находится в интервале от 1 до 100 кДа.



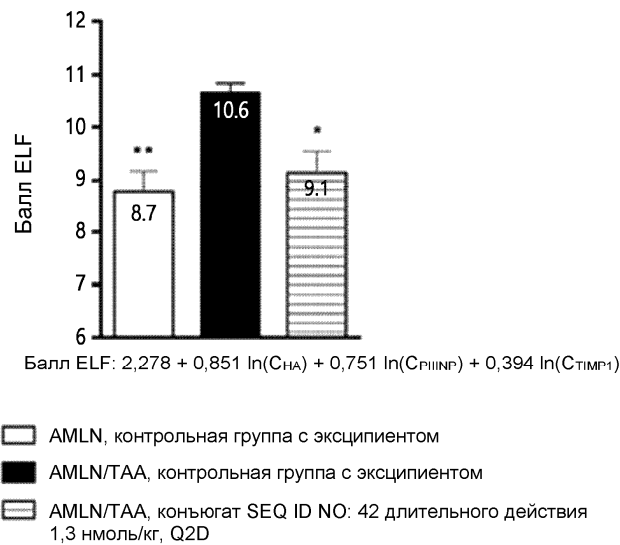
Фиг. 1



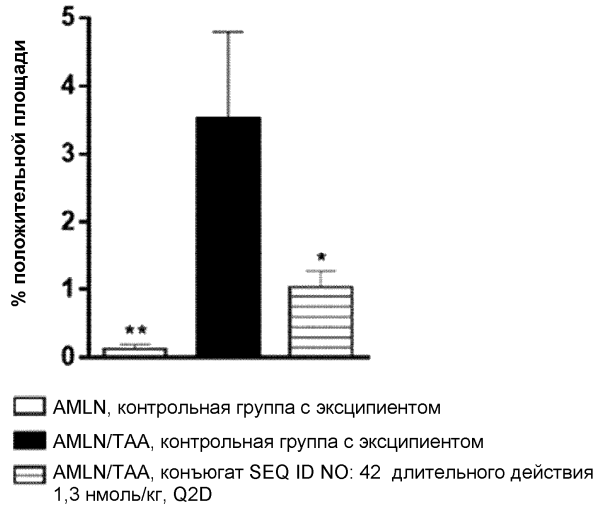
Фиг. 2



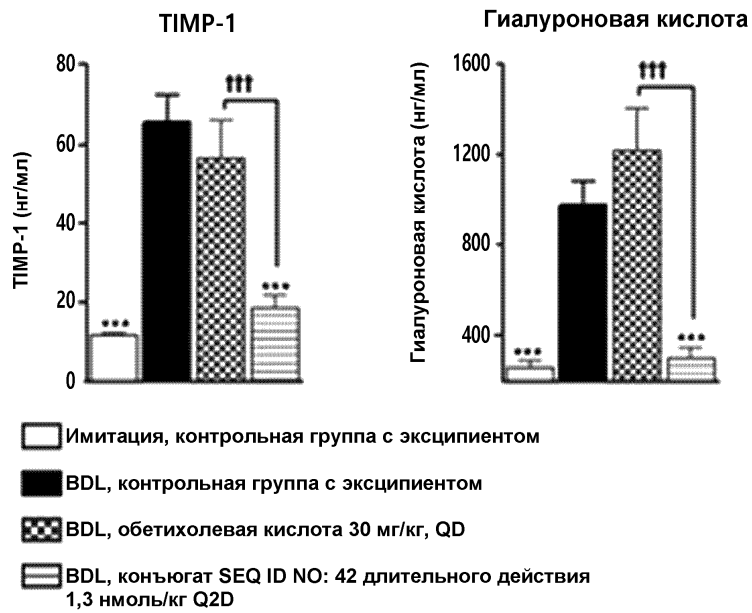
Фиг. 3



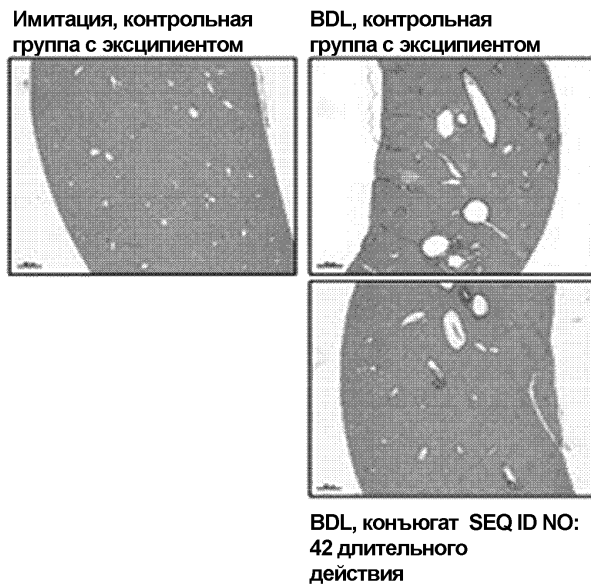
Фиг. 4



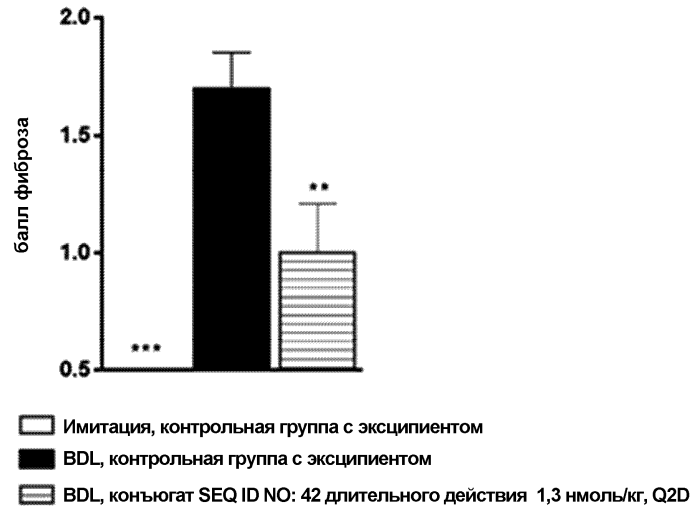
Фиг. 5



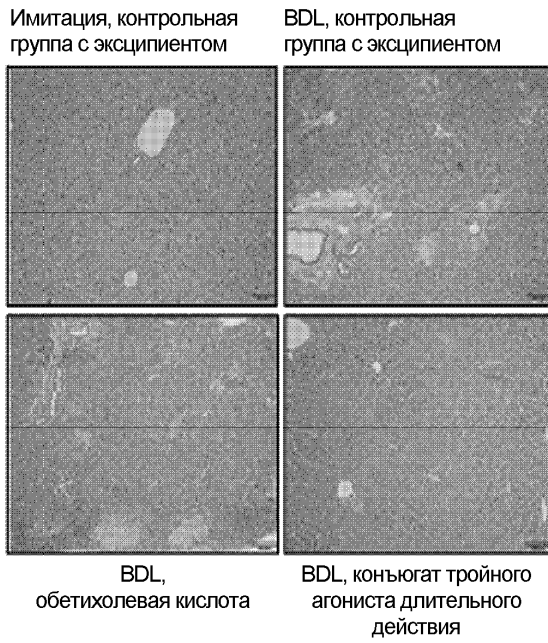
Фиг. 6



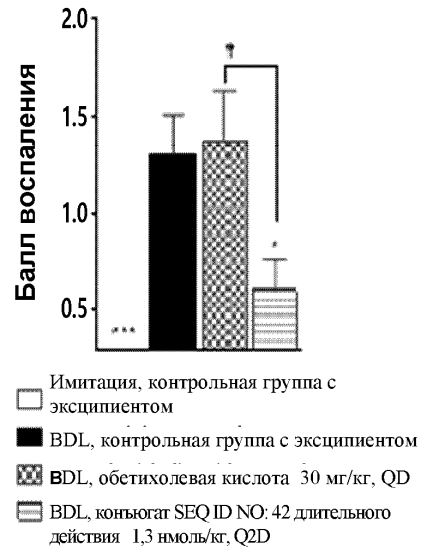
Фиг. 7а

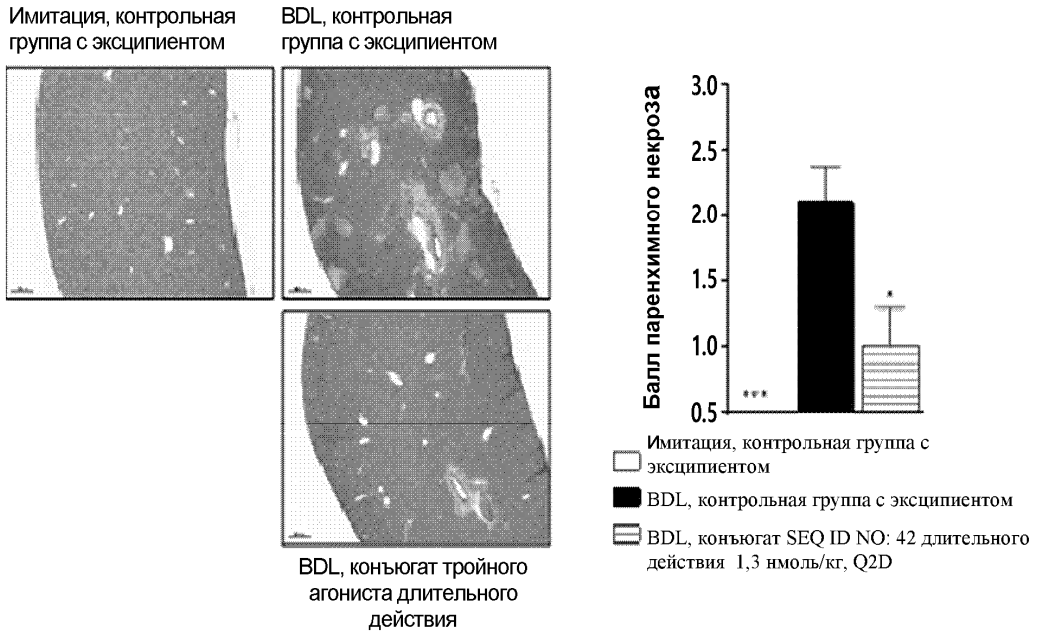


Фиг. 7б

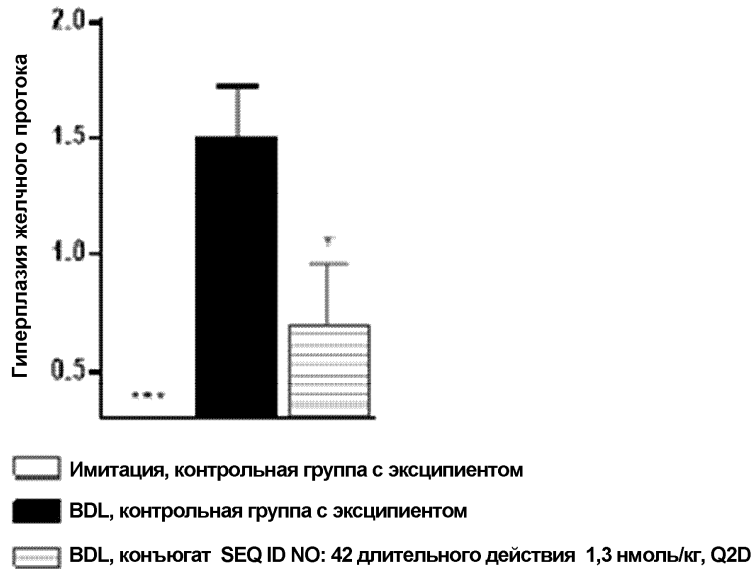


Фиг. 8





Фиг. 9

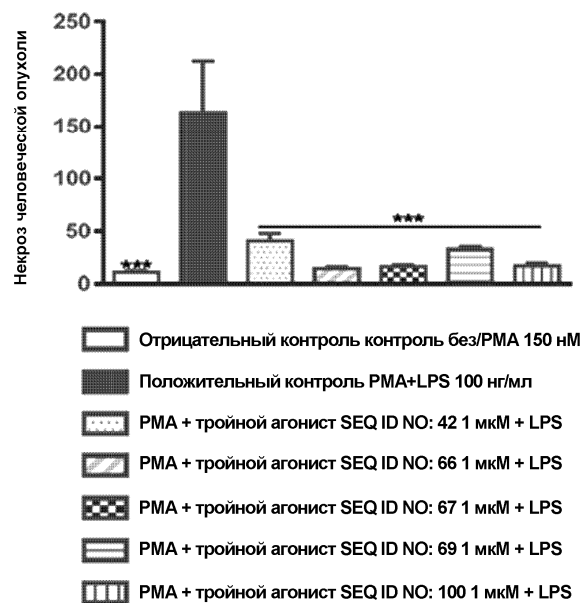


Фиг. 10



Фиг. 11

Линия клеток человеческих макрофагов (линия клеток THP-1)



Фиг. 12

