

**USO DE UN AGONISTA DUAL DEL RECEPTOR DE GLP-1/GLUCAGÓN DE
ACCIÓN PROLONGADA PARA EL TRATAMIENTO DE LA ENFERMEDAD DEL
HÍGADO GRASO NO ALCHÓLICO**

CAMPO DE LA INVENCIÓN

La presente invención se refiere a una composición farmacéutica para la prevención o tratamiento de la enfermedad del hígado graso no alcohólico, que incluyen un agonista dual del receptor de péptido 1 tipo glucagón (GLP-1)/glucagón de acción prolongada, y un método para prevenir o tratar la enfermedad del hígado graso no alcohólico que incluye administrar la composición.

ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

La enfermedad del hígado graso no alcohólico (NAFLD) es un tipo de una enfermedad, que muestra organización histológica similar a la de la enfermedad hepática alcohólica, aunque no está asociada con el consumo de alcohol, y es un tipo de síndrome metabólico asociado con el hígado graso no alcohólico (NAFL), esteatohepatitis no alcohólica (NASH), cirrosis hepática, y carcinomas hepatocelulares. La aparición de las enfermedades de hígado graso no alcohólico aumenta con un aumento en la población con obesidad y diabetes. En Corea, la incidencia anual ha alcanzado aproximadamente el 16%.

La enfermedad del hígado graso no alcohólico se sabe que es causada por diversas etiologías, tales como resistencia a la insulina, lipotoxicidad y respuestas inflamatorias. Entre estas, la etiología más común es la resistencia a la insulina.

Se ha hecho mucho esfuerzo para mejorar la resistencia a la insulina para prevenir/tratar la enfermedad del hígado graso no alcohólico. Por ejemplo, los ensayos clínicos actualmente para tiazolidinedinonas (TZD) o metformina, una especie de sensibilizador de la insulina, se han realizado de forma activa (ver, Hepatology (2003) 38: 1008-1017, J Clin Invest (2001) 108: 1167-1174).

Sin embargo, en el caso del tratamiento con los fármacos a base de TZD, hay desventajas de una gran ganancia de peso y flujo de fluido lento, y por lo tanto el uso de tal tratamiento se ha conocido que es imposible para los pacientes con una enfermedad cardíaca. Además de los fármacos a base de TZD, las pruebas clínicas que usan agonistas del receptor de GLP-1 tales como Victoza o Byetta para la enfermedad del hígado graso no alcohólico se han realizado de forma activa. Sin embargo, en estos casos, la vida media *in vivo* es extremadamente corta, y por lo tanto las administraciones repetidas se deben hacer una vez o al menos dos veces por día, como otras hormonas polipeptídicas. Por lo tanto, hay una desventaja debido a

molestias a los pacientes. Tales administraciones frecuentes causan un gran dolor y molestias a los pacientes. Es decir, el simple uso de agentes terapéuticos generales para la diabetes como un agente terapéutico para la enfermedad del hígado graso no alcohólico, a través del mecanismo de la mejora de resistencia a la insulina tiene desventajas tales como varios efectos secundarios o incomodidad del paciente. Debido a estos factores, cuando un fármaco conocido por ser eficaz en el tratamiento de la diabetes, tal como un fármaco para mejorar la resistencia a la insulina, se usa directamente como un agente terapéutico para la enfermedad del hígado graso no alcohólico, se han conocido en la técnica varios factores que pueden dar lugar a problemas tales como efectos secundarios. Por lo tanto, si un fármaco conocido para ser eficaz en el tratamiento de la diabetes, tal como un fármaco para mejorar la resistencia a la insulina, sin duda se puede usar como un agente terapéutico para la enfermedad del hígado graso no alcohólico, es controvertido. Por lo tanto, todavía existe una necesidad de desarrollar fármacos capaces de tratar la enfermedad del hígado graso no alcohólico asegurando al mismo tiempo la comodidad del paciente sin efectos secundarios.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

Problema Técnico

Los presentes inventores han hecho muchos esfuerzos para desarrollar un fármaco para la prevención o tratamiento de la enfermedad del hígado graso no alcohólico, lo que maximiza el cumplimiento del paciente al tiempo que aumenta la vida media sin efectos secundarios tal como la ganancia de peso corporal. Como resultado, los inventores han descubierto que la vida media *in vivo* de agonista dual del receptor de GLP-1/glucagón de acción prolongada enlazado al fragmento Fc se mejora en gran medida y también tiene un resultado eficaz de pérdida de peso, y además los triglicéridos hepáticos y el colesterol de la sangre se reducen. La presente invención se ha completado sobre la base de tal descubrimiento.

15

Solución al Problema

Un objetivo de la presente invención es proporcionar una composición farmacéutica para la prevención o tratamiento de la enfermedad del hígado graso no alcohólico que incluye un agonista dual del receptor de péptido 1 tipo glucagón (GLP-1)/glucagón de acción prolongada.

Otro objetivo de la presente invención es proporcionar un método para prevenir o tratar la enfermedad del hígado graso no alcohólico que incluye administrar la composición a un sujeto que se sospecha o que tiene la

25

enfermedad del hígado no alcohólico.

Efectos Ventajosos de la Invención

El agonista dual del receptor de GLP-1/glucagón de acción prolongada de acuerdo con la presente invención puede ampliar las opciones de los pacientes expandiendo la categoría de fármacos que habían sido aplicables a la enfermedad del hígado graso no alcohólico, y aumentar la comodidad del paciente aumentando significativamente la vida media en la sangre. Además, la presente invención proporciona una nueva alternativa que se puede aplicar sin peligro a los pacientes con enfermedades distintas de la enfermedad del hígado graso no alcohólico a través de la reducción de efectos secundarios tal como la ganancia de peso.

15

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

La Fig. 1 es una gráfica que muestra los cambios en el peso corporal y el peso del hígado del agonista dual del receptor de GLP-1/glucagón de acción prolongada en el modelo de ratón ob/ob con ingesta de alimento de alto contenido de grasas trans que contiene alto contenido de grasa, fructosa y colesterol.

La Fig. 2 es una gráfica que muestra los resultados de la medición de colágeno-1a, TNF- α , ARNm de SREBP-1c del agonista dual del receptor de GLP-1/glucagón de acción

25

prolongada en el modelo de ratón ob/ob con ingesta de alimento de alto contenido de grasas trans que contiene alto contenido de grasa, fructosa y colesterol.

La Fig. 3 es una gráfica que muestra la reducción del contenido de triglicéridos hepáticos y colesterol en suero del agonista dual del receptor de GLP-1/glucagón de acción prolongada en el modelo de ratón DIO con ingesta de alimento de alto contenido de grasas trans.

10

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

Con el fin de lograr los objetivos, un aspecto de la presente invención proporciona una composición farmacéutica para la prevención o tratamiento de la enfermedad del hígado graso no alcohólico que comprende un agonista dual del receptor de péptido 1 tipo glucagón (GLP-1)/glucagón de acción prolongada.

15

El agonista dual del receptor de GLP-1/glucagón de acción prolongada puede ser un agonista dual del receptor de GLP-1/glucagón de acción prolongada que está en una forma conjugada, en donde un material biocompatible o un portador capaz de aumentar la duración de la actividad del agonista dual se enlaza al agonista por un enlace covalente o un enlazante.

20

En el caso del tratamiento con fármacos a base de TZD, que son fármacos para mejorar la respuesta de la

25

insulina que es un mecanismo para mejorar la resistencia a la insulina, y agentes terapéuticos convencionales para la enfermedad del hígado graso no alcohólico, hay desventajas porque no fue posible que el tratamiento se aplicara a

5 pacientes con enfermedades del corazón debido a efectos secundarios tales como gran ganancia de peso y flujo de fluido lento. En el caso de fármacos de proteínas tal como la hormona peptídica, hay desventajas porque la vida media *in vivo* es corta y por lo tanto es necesaria la administración

10 repetida. Los presentes inventores han descubierto que el agonista dual del receptor de GLP-1/glucagón de acción prolongada ya sea no tiene efectos secundarios de ganancia de peso o reduce el efecto secundario de la ganancia de peso en diversos modelos animales de enfermedad del hígado no

15 alcohólico y que el agonista dual del receptor de GLP-1/glucagón de acción prolongada puede tratar la enfermedad del hígado graso no alcohólico en una forma en la que se incrementa drásticamente la sostenibilidad en la sangre. De acuerdo con ello, la presente invención se ha completado para

20 proporcionar el uso del agonista dual del receptor de GLP-1/glucagón de acción prolongada para la prevención o tratamiento de la enfermedad del hígado graso no alcohólico.

La composición de la presente invención se distingue ya sea por no tener efecto secundario de ganancia

25 de peso o reducir el efecto secundario de ganancia de peso.

Además, la composición de la presente invención puede prevenir o tratar la enfermedad del hígado graso no alcohólico realizando al menos una de las siguientes funciones: (a) reducir la expresión o actividad de colágeno-1a, que es un marcador de fibrosis; (b) reducir la expresión o actividad del factor de necrosis tumoral- α (TNF- α), que es un marcador pro-inflamatorio; (c) reducir la expresión o actividad de proteína de unión al elemento regulatorio de esterol-1c (SREBP-1c), que es un marcador de la lipogénesis; (d) reducir los triglicéridos hepáticos; y (e) reducir el colesterol en la sangre.

En una modalidad de la presente invención, el agonista dual del receptor de GLP-1/glucagón de acción prolongada de la presente invención se administró a diversos modelos animales de enfermedad del hígado graso no alcohólico. Como resultado, se confirmó que el peso corporal y peso del hígado se redujeron significativamente en comparación con los de un grupo no tratado (Fig. 1) y que no había efecto secundario tal como la ganancia de peso como en el uso de un agente terapéutico convencional. Además, se confirmó que la expresión de colágeno-1a, TNF- α , SREBP-1c disminuyó notablemente en comparación con la del grupo no tratado, evitando así la fibrosis, es decir, fibrosis hepática, inhibiendo la inflamación, e inhibiendo la inhibición de la acumulación de grasa (Figura 2). Por lo

tanto, se confirmó que el agonista dual del receptor de GLP-1/glucagón de acción prolongada de la presente invención se puede usar como un fármaco para la prevención y tratamiento de diversas enfermedades del hígado no alcohólico. Además, se
5 confirmó que los triglicéridos hepáticos y colesterol en la sangre se redujeron significativamente en comparación con los del grupo no tratado y que se redujeron de manera significativa a un nivel de animal normal (Fig. 3). Por lo tanto, se confirmó que el agonista dual del receptor de GLP-10 1/glucagón de acción prolongada de la presente invención se puede usar como un fármaco excelente para la prevención y tratamiento de diversas enfermedades del hígado no alcohólico.

Como se usa en la presente, el término "Agonista
15 dual del receptor de GLP-1/glucagón" se puede usar de forma intercambiable con un "agonista dual de GLP-1/glucagón". El agonista dual del receptor de GLP-1/glucagón incluye todos los péptidos, o fragmentos, precursores, derivados o variantes de los mismos que tienen actividad dual de GLP-20 1/glucagón, como oxintomodulina, un agonista dual del receptor de GLP-1/glucagón nativo, y también materiales que puede activar el receptor del GLP-1 y glucagón al mismo tiempo, pero no se limita a estos. En la presente invención, el agonista del receptor de GLP-1/glucagón puede ser un
25 agonista dual-dual del receptor que aplica la técnica de

acción prolongada para superar la corta vida media, y preferiblemente un agonista dual del receptor de acción prolongada que se puede administrar una vez a la semana, pero no se limita a este. Los ejemplos específicos del agonista dual del receptor de GLP-1/glucagón de acuerdo con la presente invención parcialmente pueden incluir, por ejemplo, el agonista dual del receptor de GLP-1/glucagón, un derivado del mismo, y un tipo de acción prolongada del mismo como se describe en las Publicaciones de Solicitud de Patente Coreana Nos. 10-2012-0137271 y 10-2012-0139579, cuyos contenidos completos se incorporan en la presente como referencia.

En una modalidad de la presente invención, el agonista dual del receptor de GLP-1/glucagón de acción prolongada puede estar en una forma conjugada, en donde un material biocompatible o un portador se enlaza con el agonista por un enlace covalente o un enlazante. En otra modalidad, tal tipo de acción prolongada puede estar en una forma, en donde un material biocompatible o un portador se puede enlazar directamente al agonista dual del receptor de GLP-1/glucagón por un enlace covalente mediante una técnica de recombinación genética conocida. El tipo de acción prolongada del mencionado agonista dual del receptor de GLP-1/glucagón puede mejorar la vida media o biodisponibilidad en comparación con una forma en la que la secuencia del agonista dual del receptor de GLP-1/glucagón no es el tipo de acción

prolongada pero de otro modo es la misma. De acuerdo con una modalidad de la presente invención, como un ejemplo del agonista dual del receptor de GLP-1/glucagón de acción prolongada, una composición en la que la región Fc de inmunoglobulina se enlaza al aminoácido 30 del agonista dual del receptor de GLP-1/glucagón por el enlazante de polímero no peptídico, preferiblemente PEG, se puede usar, pero no se limita a este.

Como se usa en la presente, el término "material biocompatible" o "portador" se refiere a materiales que pueden aumentar la duración de la actividad del agonista dual del receptor de GLP-1/glucagón cuando el material biocompatible y el portador se enlazan covalente o no covalentemente al agonista dual del receptor de GLP-1/glucagón de la presente invención directa o indirectamente para formar un conjugado. Por ejemplo, cuando se forma el conjugado, un material que puede aumentar la vida media *in vivo* del agonista dual del receptor de GLP-1/glucagón puede ser un material biocompatible o portador de acuerdo con la presente invención. El tipo de material biocompatible o portador que se puede usar para aumentar la vida media varía, y ejemplos del mismo pueden incluir polietilenglicol, ácidos grasos, colesterol, albúmina y un fragmento de la misma, una sustancia de unión a la albúmina, un polímero de unidades de repetición de una secuencia específica de aminoácidos, un

anticuerpo, un fragmento de anticuerpo, un material de unión al receptor neonatal de Fc (FcRn), un tejido conectivo *in vivo*, un nucleótido, fibronectina, transferrina, un sacárido, un polímero, etc. Por supuesto, los portadores o materiales biocompatibles pueden usarse en combinación de al menos dos de los mismos. El material biocompatible o portador incluye un material biocompatible que extiende la vida media *in vivo* a través de un enlace covalente o no covalente.

En la presente invención, los métodos en los que el material biocompatible o el portador se enlaza al agonista dual del receptor de GLP-1/glucagón incluyen un método de recombinación genética y un enlace *in vitro* usando polímeros o productos químicos de bajo peso molecular, pero no se limitan a los mismos. El material de unión a FcRn puede ser una región Fc de inmunoglobulina. Por ejemplo, cuando el polietilenglicol se usa como el portador, se puede incluir una técnica Recode por Ambrx Inc., que puede unir a la específicamente a la posición al polietilenglicol. Los métodos pueden incluir una técnica de glicopegilación por la compañía Neose que se puede unir específicamente a la porción glicosilada. Además, los métodos pueden incluir una técnica de PEG liberable en la que se remueve el polietilenglicol, pero no se limita a esta. Los métodos pueden incluir técnicas que pueden aumentar la biodisponibilidad usando PEG. Además, polímeros tales como polietilenglicol, polipropilenglicol,

copolímero de etilenglicol-propilenglicol, poliol polioxietilado, alcohol polivinílico, polisacáridos, dextrano, éter polivinil etílico, polímero biodegradable, polímero de lípido, quitinas, o ácido hialurónico pueden ser
5 incluidos.

Cuando la albúmina se usa como un portador, los métodos pueden incluir una tecnología en la que las albúminas o fragmentos de albúmina directamente se pueden enlazar covalentemente a los péptidos del agonista dual del receptor de GLP-1/glucagón para aumentar la estabilidad *in vivo*.
10 Incluso si la albúmina no se enlaza directamente, se puede incluir una técnica en la que los materiales de unión a la albúmina, por ejemplo, anticuerpo de unión específica a la albúmina o un fragmento de anticuerpo se unen a los péptidos para unirse a la albúmina y una técnica en la que un cierto
15 péptido/proteína que tiene una afinidad de unión a la albúmina se une a los péptidos. Además, los métodos pueden incluir una técnica en la que un ácido graso, etc., que tiene una afinidad de unión a la albúmina se une a los péptidos, pero no se limita a esta. Cualquier técnica o método de unión
20 que puede aumentar la estabilidad *in vivo* usando albúmina se puede incluir en la presente.

La técnica para la unión al péptido usando el anticuerpo o fragmento de anticuerpo como un portador para
25 aumentar la vida media *in vivo* se puede incluir también en la

presente invención. El anticuerpo o fragmento de anticuerpo que tiene un sitio de unión a FcRn se puede usar, y cualquier fragmento de anticuerpo que no contiene el sitio de unión a FcRn tal como Fab se puede usar. La técnica CovX-body de la compañía CovX que usa un anticuerpo catalítico se puede incluir en la presente, y la técnica que aumenta la vida media *in vivo* usando fragmentos de Fc se puede incluir en la presente invención. Cuando se usa el fragmento de Fc, el enlazante que une al fragmento de Fc y el péptido y su método de unión pueden incluir un enlace peptídico o un polietilenglicol o similar, pero no se limita a este y cualquier método de unión química puede ser aplicable. Además, la relación de unión de los agonistas agonista dual del receptor de GLP-1/glucagón de la presente invención puede ser 1:1 o 1:2, pero no se limita a esta, y cualquier relación que puede aumentar la vida media *in vivo* se puede incluir sin limitación alguna.

Además, el portador que se usa para aumentar la vida media *in vivo* puede ser un material no peptídico tal como un polisacárido o un ácido graso.

El enlazante que se une al portador que se usa para aumentar la vida media *in vivo* puede incluir péptidos, polietilenglicoles, ácidos grasos, azúcares, polímeros, compuestos de bajo peso molecular, nucleótidos, y una combinación de los mismos, y puede ser cualquier enlace

químico tal como un enlace químico no covalente, un enlace químico covalente, etc., sin limitación.

La formulación que puede aumentar la biodisponibilidad o continuamente mantener la actividad puede
5 incluir una formulación de liberación sostenida por micropartículas, nanopartículas y similares usando PLGA, ácido hialurónico, quitosano, etc.

Además, la formulación de los diferentes aspectos que puede aumentar la biodisponibilidad o continuamente
10 mantener la actividad puede ser una formulación tales como implantes, inhalantes, formulaciones transnasales o parches.

En una modalidad ejemplar de la invención, los ejemplos del agonista dual del receptor de GLP-1/glucagón pueden incluir un agonista dual del receptor de GLP-
15 1/glucagón nativo tal como oxintomodulina y los derivados de la misma, la formulación de acción prolongada de la misma, y similares también pueden ser incluidos.

Como se usa en la presente, el término "oxintomodulina" significa un péptido derivado de un
20 precursor de glucagón, pre-glucagón, e incluye una oxintomodulina nativa, precursores, derivados, fragmentos de la misma, y variantes de la misma. Preferiblemente, puede tener la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO. 1 (HSQGTFTSDYSKYLDNRRAQDFVQWLMNTRNRNNIA).

25 El término "variante de oxintomodulina" es un

péptido que tiene una o más secuencias de aminoácidos diferentes de las de la oxintomodulina nativa, y significa un péptido que conserva la función de la activación de los receptores de GLP-1 y glucagón, y se puede preparar por cualquiera de sustitución, adición, supresión y modificación o por una combinación de los mismos en una parte de las secuencias de aminoácidos de la oxintomodulina nativa.

El término "derivado de oxintomodulina" incluye péptidos, derivados de péptidos o miméticos de péptidos que se preparan mediante la adición, supresión o sustitución de aminoácidos de oxintomodulina para activar tanto el receptor de GLP-1 como el receptor de glucagón a un nivel alto, en comparación con la oxintomodulina nativa. Preferiblemente, el derivado de oxintomodulina tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID No. 25 y, más preferiblemente, sus aminoácidos 16 y 20 forman un anillo.

El término "fragmento de oxintomodulina" significa un fragmento que tiene uno o más aminoácidos añadidos o suprimidos en el extremo N-terminal o el extremo C-terminal de la oxintomodulina nativa, en el que los aminoácidos de origen no natural (por ejemplo, aminoácido tipo D) se pueden añadir, y tiene una función de activación tanto del receptor de GLP-1 como el receptor de glucagón.

Cada uno de los métodos de preparación para las variantes, derivados, y fragmentos de oxintomodulina se puede

usar individualmente o en combinación. Por ejemplo, la presente invención incluye un péptido que tiene uno o más aminoácidos diferentes de los del péptido nativo y desaminación del residuo aminoácido N-terminal, y tiene una
5 función de activación tanto del receptor de GLP-1 como del receptor de glucagón.

El extremo C-terminal de las variantes, derivados, y fragmentos de oxintomodulina de la presente invención se puede amidar.

10 El material portador que se puede usar en la presente invención se puede seleccionar del grupo que consiste de un anticuerpo, una región Fc de inmunoglobulina, una albúmina, un ácido graso, un carbohidrato, un polímero que tiene una unidad de repetición de un péptido, una
15 transferrina, y un PEG, y preferiblemente una región Fc de inmunoglobulina. En una modalidad ejemplar de la presente invención, el agonista dual del receptor de GLP-1/glucagón de acción prolongada se enlaza a un portador por el polímero no peptidilo como un enlazante. En una modalidad más ejemplar,
20 un portador enlazado a un polímero no peptidilo es un fragmento Fc de inmunoglobulina.

En la presente invención, el agonista dual del receptor de GLP-1/glucagón de acción prolongada es una forma en la que el agonista dual del receptor de GLP-1/glucagón se
25 enlaza a una región Fc de inmunoglobulina, y muestra la

sostenibilidad y seguridad. La unión de la región Fc de inmunoglobulina y el agonista dual del receptor de GLP-1/glucagón puede ser una fusión en armazón sin un enlazante o se puede enlazar usando un enlazante de polímero no peptídico. En la presente invención, la inmunoglobulina Fc se puede usar de forma intercambiable con fragmentos de inmunoglobulina.

Como se usa en la presente, el término "polímero no peptidilo" se refiere a un polímero biocompatible que incluye al menos dos unidades de repetición enlazadas entre sí por cualquier enlace covalente excluyendo un enlace peptídico. En la presente invención, el polímero no peptidilo se puede usar indistintamente con el enlazante no peptidilo.

El polímero no peptidilo que se puede usar en la presente invención se puede seleccionar del grupo que consiste de un polímero biodegradable, tal como polietilenglicol, polipropilenglicol, copolímero de etilenglicol-propilenglicol, poliol polioxietilado, alcohol polivinílico, polisacárido, dextrano, éter polivinil etílico, ácido poliláctico (PLA) o ácido poliláctico-glicólico (PLGA), un polímero de lípido, quitina, ácido hialurónico, y una combinación de los mismos, y preferiblemente, el polímero biodegradable es polietilenglicol. Además, los derivados de los mismos conocidos en la técnica y derivados preparados fácilmente por un método conocido en la técnica se pueden

incluir en el alcance de la presente invención.

El enlazante peptídico que se usa en la proteína de fusión obtenida por un método de fusión en armazón convencional tiene la desventaja de que es fácilmente escindido *in vivo* por una proteasa, y por lo tanto un efecto suficiente de aumentar la vida media en suero del fármaco activo por un portador no se puede obtener como se esperaba. Sin embargo, en la presente invención, el polímero que tiene resistencia a la proteasa se puede usar para mantener la vida media en suero de un péptido de manera similar como el portador. Por lo tanto, cualquier polímero no peptidilo se puede usar sin limitación, siempre que sea un polímero que tiene la función mencionada, es decir, un polímero que tiene resistencia a la proteasa *in vivo*. El polímero no peptidilo tiene un peso molecular en el rango de 1 a 100 kDa, y preferiblemente de 1 a 20 kDa. Además, el polímero no peptidilo de la presente invención, enlazado a la región Fc de inmunoglobulina, puede ser un polímero o una combinación de diferentes tipos de polímeros.

El polímero no peptidilo usado en la presente invención tiene un grupo reactivo capaz de unirse a la región Fc de inmunoglobulina y fármaco de proteína. El grupo reactivo en ambos extremos de los polímeros no peptidilo se selecciona preferiblemente del grupo que consiste de un grupo aldehído reactivo, un propionaldehído, un grupo

butiraldehído, un grupo maleimida, y un derivado de succinimida. El derivado de succinimida puede ser propionato de succinimidilo, hidroxí succinimidilo, succinimidil carboximetilo, o carbonato de succinimidilo. En particular, cuando el polímero no peptidilo tiene un grupo reactivo del grupo aldehído reactivo en ambos extremos del mismo, es eficaz para minimizar las reacciones no específicas y enlazar un polipéptido fisiológicamente activo y una inmunoglobulina en ambos extremos del polímero no peptidilo. Un producto final producido por alquilación reductora por un enlace de aldehído es mucho más estable que el enlazado por un enlace de amida. El grupo reactivo aldehído se une selectivamente a un extremo N-terminal a un pH bajo, y se une a un residuo de lisina para formar un enlace covalente a un pH alto, tal como pH 9.0. Los grupos reactivos en ambos extremos del polímero no peptidilo pueden ser los mismos o diferentes entre sí. Por ejemplo, el polímero no peptidilo puede poseer un grupo maleimida en un extremo, y un grupo aldehído, un grupo propionaldehído, o un grupo butiraldehído en el otro extremo. Cuando se usa un polietilenglicol que tiene un grupo hidroxí reactivo en ambos extremos como el polímero no peptidilo, el grupo hidroxí se puede activar para diversos grupos reactivos por reacciones químicas conocidas, o un polietilenglicol disponible comercialmente que tiene un grupo reactivo modificado se puede usar para preparar el conjugado de

agonista dual del receptor de GLP-1/glucagón de acción prolongada de la presente invención.

Además, la región Fc de inmunoglobulina es ventajosa en términos de la preparación, purificación, y
5 rendimiento del conjugado, ya que no sólo el peso molecular es relativamente pequeño en comparación con toda la molécula, sino la homogeneidad de los materiales también se incrementa en gran medida y el potencial de inducir antigenicidad en la sangre se reduce, debido a que las secuencias de aminoácidos
10 son diferentes en cada anticuerpo, y por lo tanto se remueve la porción de Fab que muestra una alta no homogeneidad.

Como se usa en la presente, el término "región Fc de inmunoglobulina" se refiere a la región constante de cadena pesada 2 (CH2) y la región constante de cadena pesada
15 3 (CH3) de una inmunoglobulina, excluyendo las regiones variables de las cadenas pesada y ligera, la región constante de cadena pesada 1 (CH1), y el región constante de cadena ligera 1 (CL1) de la inmunoglobulina. Puede incluir además una región de bisagra en la región constante de cadena
20 pesada. Además, la región Fc de inmunoglobulina de la presente invención puede contener una parte o la totalidad de la región Fc que incluye la región constante de cadena pesada 1 (CH1) y/o la región constante de cadena ligera 1 (CL1), excepto las regiones variables de las cadenas pesada y ligera
25 de la inmunoglobulina, siempre que tenga un efecto

sustancialmente equivalente o mejor que la proteína nativa. Además, la región Fc de inmunoglobulina puede ser un fragmento que tiene una supresión de una porción relativamente larga de la secuencia de aminoácidos que corresponde a CH2 y/o CH3. Es decir, la región Fc de inmunoglobulina de la presente invención puede comprender 1) un dominio de CH1, un dominio de CH2, un dominio de CH3 y un dominio de CH4, 2) un dominio de CH1 y un dominio de CH2, 3) un dominio de CH1 y un dominio de CH3, 4) un dominio de CH2 y un dominio de CH3, 5) una combinación de uno o más dominios y una región de bisagra de inmunoglobulina (o una porción de la región de bisagra), y 6) un dímero de cada dominio de las regiones constantes de cadena pesada y la región constante de cadena ligera.

Además, la región Fc de inmunoglobulina de la presente invención incluye una secuencia de aminoácidos nativa, así como un derivado de secuencia (mutante) de la misma. Un derivado de la secuencia de aminoácidos tiene una secuencia diferente debido a una supresión, una inserción, una sustitución no conservadora o conservadora, o combinaciones de los mismos de uno o más residuos de aminoácidos de las secuencias de aminoácidos nativas. Por ejemplo, en un Fc de IgG, los residuos de aminoácidos en las posiciones 214 a 238, 297 a 299, 318 a 322, o 327 a 331, se sabe que son importantes en la unión, se pueden usar como un

objetivo adecuado para la modificación.

Además, son posibles varios tipos de derivados, incluyendo una en el que se suprime una región capaz de formar un enlace de disulfuro, ciertos residuos de aminoácidos son eliminados en el extremo N-terminal de un Fc nativo, un residuo de metionina se añade al extremo N-terminal de un Fc nativo, etc. Además, para remover funciones efectoras, se puede suprimir un sitio de unión de complemento, tal como un sitio de unión a Clq, y un sitio de citotoxicidad mediada por células dependientes de anticuerpo (ADDC). Las técnicas de preparación de tales derivados de secuencia de la región Fc de inmunoglobulina se describen en las Publicaciones Internacionales Nos.: WO 97/34631, WO 96/32478, etc. Los intercambios de aminoácidos en proteínas y péptidos, que no alteran totalmente la actividad de las moléculas, son conocidos en la técnica (H. Neurath, R.L. Hill, The Proteins, Academic Press, New York, 1979). Los intercambios que ocurren con más frecuencia son 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, y Asp/Gly, en ambas direcciones. Además, la región Fc, si se desea, se puede modificar por fosforilación, sulfatación, acrilación, glicosilación, metilación, farnesilación, acetilación, amidación, y similares.

Los derivados de Fc son derivados que tienen una actividad biológica idéntica a la región Fc de la presente invención, con estabilidad estructural mejorada de la región Fc, por ejemplo, contra el calor, pH o similares.

5 Además, estas regiones Fc se pueden obtener de formas nativas aisladas de seres humanos y otros animales, incluyendo vacas, cabras, cerdos, ratones, conejos, hámsteres, ratas, cobayos, etc., o pueden ser recombinantes o
10 células animales transformadas. En la presente, se pueden obtener de una forma nativa aislando las inmunoglobulinas completas de organismos humanos o animales y luego tratándolas con una proteasa. Cuando la papaína es tratada, la papaína digiere la inmunoglobulina nativa en regiones Fab
15 y Fc, y cuando la pepsina es tratada, la inmunoglobulina nativa se corta en pF'c y F(ab)2. Fc o pF'c se pueden aislar por cromatografía de exclusión por tamaño, etc. Preferiblemente, una región Fc derivada de humanos es una
20 región Fc de inmunoglobulina recombinante que se obtiene de un microorganismo.

 Además, la región Fc de inmunoglobulina puede estar en la forma que tiene cadenas de azúcar nativo, o aumenta o disminuye de cadenas de azúcar en comparación con una forma nativa, o puede estar en una forma desglicosilada. El
25 aumento, disminución o remoción de las cadenas de azúcar de

Fc de inmunoglobulina se puede lograr por métodos comunes en la técnica, tales como un método químico, un método enzimático y un método de ingeniería genética que usa un microorganismo. La remoción de las cadenas de azúcar de una
5 región Fc resulta en una notable disminución de la afinidad de unión a la parte C1q y una disminución o pérdida de la citotoxicidad mediada por células dependientes de anticuerpo o citotoxicidad dependiente del complemento, por lo cual no se inducen respuestas inmunes innecesarias in-vivo. En este
10 sentido, una región Fc de inmunoglobulina en una forma desglicosilada o aglicosilada puede ser más adecuada para el objetivo de la presente invención como un portador de fármaco.

Como se usa en la presente, el término
15 "desglicosilación" se refiere a la remoción enzimática de porciones de azúcar de una región Fc, y el término "aglicosilación" se refiere a una región Fc que se produce en un procariota, preferentemente E. coli, y no es glicosilada.

Mientras tanto, la región Fc de inmunoglobulina se
20 puede derivar de seres humanos u otros animales, incluyendo vacas, cabras, cerdos, ratones, conejos, hámsteres, ratas, cobayos, etc., y preferiblemente de seres humanos.

Además, la región Fc de inmunoglobulina puede ser una región Fc que se deriva de IgG, IgA, IgD, IgE e IgM, una
25 combinación de las mismas, o sus híbridos. Preferiblemente,

se deriva de IgG o IgM que son los más abundantes en la sangre humana, y muy preferiblemente de IgG, que se sabe que mejora la vida media de las proteínas de unión al ligando, pero no se limita a estas.

5 Como se usa en la presente, el término "combinación" se refiere a polipéptidos que codifican regiones Fc de inmunoglobulina de cadena única del mismo origen que se enlazan a un polipéptido de cadena única de un origen diferente para formar un dímero o multímero. Es decir,
10 un dímero o multímero se puede formar de dos o más fragmentos seleccionados del grupo que consiste de Fc de IgG, Fc de IgA, Fc de IgM, Fc de IgD, y fragmentos Fc de IgE.

 Como se usa en la presente, el término "híbrido" se refiere a que una secuencia correspondiente a al menos dos
15 fragmentos Fc de un origen diferente está presente en una región Fc de inmunoglobulina de cadena única. En la presente invención, son posibles varios tipos de híbrido. Es decir, el híbrido que consiste de 1 a 4 dominios seleccionados del grupo que consiste de CH1, CH2, CH3 y CH4 de Fc de IgG, Fc de
20 IgM, Fc de IgA, Fc de IgE y Fc de IgD es posible, y puede incluir una bisagra.

 Por otro lado, IgG también se puede clasificar en subclases IgG1, IgG2, IgG3, e IgG4, y en la presente invención, una combinación o hibridación de las mismas es
25 posible. Son preferibles las subclases IgG2 e IgG4, y la más

preferible es una región Fc de IgG4 que sustancialmente no tiene una función efectora tal como una citotoxicidad dependiente del complemento (CDC).

Es decir, la región Fc de inmunoglobulina para el portador del fármaco de la presente invención puede ser, por ejemplo, región Fc aglicosilada derivada de IgG4 humana, pero no se limita a esta. La región Fc derivada de humanos se prefiere sobre la región Fc derivada de no humanos que puede causar respuestas inmunes indeseables, por ejemplo, que pueden actuar como un antígeno en el cuerpo humano para producir un nuevo anticuerpo.

El método para preparar un agonista dual del receptor de GLP-1/glucagón de acción prolongada de la presente invención no está particularmente limitado. Por ejemplo, los detalles del método de preparación y sus efectos se describen, por ejemplo, en la Publicación de Solicitud de Patente Coreana No. 10-2012-0139579.

El uso del agonista dual del receptor de GLP-1/glucagón de acción prolongada tiene enormes ventajas de que el número de administración a un paciente crónico que necesita la administración diaria se puede reducir drásticamente debido a un aumento de la vida media en sangre y sostenibilidad *in vivo*, por lo cual se mejora la calidad de vida del paciente. Por lo tanto, es muy útil en el tratamiento de la enfermedad del hígado graso no alcohólico.

Como se usa en la presente, el término “enfermedad del hígado graso no alcohólico” se refiere a casos de hígado graso en los que no hay historial de consumo de alcohol o en los cuales el consumo de alcohol no está relacionado con la ocurrencia. El hígado graso se refiere a un fenómeno en el que hay una acumulación anormal de triglicéridos en las células del hígado, en comparación con los niveles normales de triglicéridos. Aproximadamente el 5% de hígado normal consiste de tejido adiposo y los principales componentes de la grasa son triglicéridos, ácidos grasos, fosfolípidos, colesterol y ésteres de colesterol. Sin embargo, una vez que se produce el hígado graso, la mayoría de los componentes se reemplazan con triglicéridos. Si la cantidad de triglicéridos es más de 5% del peso del hígado, se diagnostica como hígado graso. El hígado graso es causado por un trastorno del metabolismo de lípidos o un defecto en el proceso de llevar exceso de grasa en las células del hígado, y es causado principalmente por trastornos del metabolismo de lípidos en el hígado. La mayor parte de la grasa acumulada en el hígado graso puede ser un triglicérido. La enfermedad del hígado graso no alcohólico incluye hígado graso no alcohólico, esteatohepatitis no alcohólica, cirrosis, cáncer de hígado, y similares, pero la enfermedad del hígado graso a prevenir o tratar con la composición de la presente invención se incluye, sin limitación.

Como se usa en la presente, el término "prevención" se refiere a todas las acciones mediante las cuales se impide o retasa la enfermedad del hígado graso no alcohólico por la administración de la composición de la presente invención. El

5 "tratamiento" se refiere a todas las acciones mediante las cuales se alivian, o se cambian positivamente, los síntomas de la enfermedad del hígado graso no alcohólico. El tratamiento de la enfermedad del hígado graso no alcohólico es aplicable a cualquier mamífero que pueda experimentar la

10 enfermedad del hígado graso no alcohólico, y los ejemplos del mismo incluyen no sólo seres humanos y primates, sino también ganado tales como vaca, cerdo, oveja, caballo, perro y gato, sin limitación, pero es preferiblemente un ser humano.

Como se usa en la presente, el término

15 "administración" se refiere a la introducción de una cantidad de una sustancia predeterminada a un paciente por un método adecuado. La composición de la presente invención se puede administrar a través de cualquiera de las rutas comunes, siempre y cuando sea capaz de llegar a un tejido deseado. Por

20 ejemplo, puede ser administración intraperitoneal, intravenosa, intramuscular, subcutánea, intradérmica, oral, tópica, intranasal, intrapulmonar, o intrarrectal, pero no se limita a estas. Sin embargo, ya que los péptidos son digeridos después de la administración oral, los ingredientes

25 activos de una composición para administración oral deben ser

revestidos o formulados para la protección contra la degradación en el estómago. Preferiblemente, la composición se puede administrar en la forma de inyecciones. Además, la formulación de acción prolongada se puede administrar por cualquier aparato en el que un material activo se puede transportar en una célula objetivo.

La dosis y frecuencia de administración de la composición farmacéutica de la presente invención se determinan por el tipo de ingrediente activo, junto con varios factores tales como la enfermedad a tratar, ruta de administración, edad del paciente, género y peso corporal y gravedad de la enfermedad.

La composición farmacéutica de la presente invención puede incluir además un portador, excipiente o diluyente farmacéuticamente aceptable. Como se usa en la presente, el término "portador farmacéuticamente aceptable" se refiere a un portador o un diluyente que no estimula el organismo e inhibe la actividad biológica o características de un compuesto administrado. Para la administración oral, el portador puede incluir un aglutinante, un lubricante, un desintegrante, un excipiente, un solubilizante, un agente dispersante, un estabilizante, un agente de suspensión, un colorante, y un agente saborizante. Para las preparaciones inyectables, el portador puede incluir un agente amortiguador, un agente conservador, un analgésico, un

solubilizante, un agente isotónico, un estabilizante, etc. Para las preparaciones para administración tópica, el portador puede incluir una base, un excipiente, un lubricante, un agente conservador, etc.

5 La composición de la presente invención se puede formular en una variedad de formas de dosificación en combinación con los portadores farmacéuticamente aceptables anteriormente mencionados. Por ejemplo, para la administración oral, la composición farmacéutica se puede
10 formular en tabletas, trociscos, cápsulas, elixires, suspensiones, jarabes u obleas. Para preparaciones inyectables, la composición farmacéutica se puede formular en una ampolleta como una forma de dosificación única o un envase multidosis. La composición farmacéutica también se
15 puede formular en soluciones, suspensiones, tabletas, píldoras, cápsulas y preparaciones de acción prolongada.

 Por otra parte, los ejemplos del portador, el excipiente, y el diluyente adecuados para las formulaciones farmacéuticas incluyen lactosa, dextrosa, sacarosa, sorbitol,
20 manitol, xilitol, eritritol, maltitol, almidón, goma de acacia, alginato, gelatina, fosfato de calcio, silicato de calcio, celulosa, metilcelulosa, celulosa microcristalina, polivinilpirrolidona, agua, metilhidroxibenzoato, propilhidroxibenzoato, talco, estearato de magnesio y aceites
25 minerales. Además, las formulaciones farmacéuticas pueden

incluir adicionalmente rellenos, agentes anti-coagulantes, lubricantes, humectantes, saborizantes y antisépticos.

En otro aspecto, la presente invención proporciona un método para prevenir o tratar una enfermedad del hígado no alcohólico, que comprende una etapa de administrar la composición que comprende el agonista dual del receptor de GLP-1/glucagón de acción prolongada a un sujeto, exclusivo de seres humanos, en alto riesgo de o que tienen la enfermedad del hígado no alcohólico.

La descripción de la composición y enfermedad del hígado no alcohólico es la misma que la anterior.

Modo de la Invención

En lo sucesivo, la presente invención se describirá en más detalle a modo de ejemplos. Estos ejemplos sólo pretenden ilustrar la presente invención, y el alcance de la presente invención no se interpreta como limitada a estos ejemplos.

20

Ejemplo 1: Síntesis de derivados de oxintomodulina

En los ejemplos, se sintetizaron los derivados de oxintomodulina que tienen las siguientes secuencias de aminoácidos (Tabla 1).

25

Tabla 1

Oxintomodulina y derivados de oxintomodulina

SEQ ID NO.	Secuencia de aminoácidos
SEQ ID NO. 1	HSQGTFTSDYSKYLD ~~SR~~ RAQDFVQWLMNTKRNRNNIA
SEQ ID NO. 2	CA-SQGTFTSDYSKYLD ~~EE~~ AVRLFIEWLMNTKRNRNNIA
SEQ ID NO. 3	CA-SQGTFTSDYSKYLD ~~ERR~~ RAQDFVAWLKNTGPSSGAPPPS
SEQ ID NO. 4	CA-GQGTFTSDYSRYL ~~EEEE~~ AVRLFIEWLKNGGPSSGAPPPS
SEQ ID NO. 5	CA-GQGTFTSDYSRQME ~~EEEE~~ AVRLFIEWLKNGGPSSGAPPPS
SEQ ID NO. 6	CA-GEGTFTSDLSRQME ~~EEEE~~ AVRLFIEWAAHSQGTFTSDYSKYLD
SEQ ID NO. 7	CA-SQGTFTSDYSRYL ~~DEE~~ AVRLFIEWLMNTK
SEQ ID NO. 8	CA-SQGTFTSDLSRQLE ~~EEEE~~ AVRLFIEWLMNK
SEQ ID NO. 9	CA-GQGTFTSDYSRYL ~~DEE~~ AVXLFIEWLMNTKRNRNNIA
SEQ ID NO. 10	CA-SQGTFTSDYSRQME ~~EEEE~~ AVRLFIEWLMNGGPSSGAPPPSK
SEQ ID NO. 11	CA-GEGTFTSDLSRQME ~~EEEE~~ AVRLFIEWAAHSQGTFTSDYSRYL ~~DK~~
SEQ ID NO. 12	CA-SQGTFTSDYSRYLDGGGGHGE ~~GT~~ FTSDLSKQME ~~EEEE~~ AVK
SEQ ID NO. 13	CA-SQGTFTSDYSRYLDXEAVXLFIEWLMNTK
SEQ ID NO. 14	CA-GQGTFTSDYSRYL ~~DEE~~ AVXLFIXWLMNTKRNRNNIA
SEQ ID NO. 15	CA-GQGTFTSDYSRYL ~~DEE~~ AVRLFIXWLMNTKRNRNNIA
SEQ ID NO. 16	CA-SQGTFTSDLSRQLEGGGHSQGTFTSDLSRQLEK
SEQ ID NO. 17	CA-SQGTFTSDYSRYL ~~DEE~~ AVRLFIEWIRNTKRNRNNIA
SEQ ID NO. 18	CA-SQGTFTSDYSRYL ~~DEE~~ AVRLFIEWIRNGGPSSGAPPPSK
SEQ ID NO. 19	CA-SQGTFTSDYSRYL ~~DEE~~ AV ~~K~~ LFIIEWIRNTKRNRNNIA
SEQ ID NO. 20	CA-SQGTFTSDYSRYL ~~DEE~~ AV ~~K~~ LFIIEWIRNGGPSSGAPPPSK

5	SEQ ID NO. 21	CA-SQGTFTSDYSRQLEEEAVRLFIEWVRNTKRNRNNIA
	SEQ ID NO. 22	DA-SQGTFTSDYSKYLDE KRAKE FEVQWLMNTK
	SEQ ID NO. 23	HAibQGTFTSDYSKYLDEKRAKEFVCWLMNT
	SEQ ID NO. 24	HAibQGTFTSDYSKYLDEKRAKEFEVQWLMNTC
	SEQ ID NO. 25	HAibQGTFTSDYSKYLDE KRAKE FEVQWLMNTC
10	SEQ ID NO. 26	HAibQGTFTSDYS KYLDE KRAKEFEVQWLMNTC
	SEQ ID NO. 27	HAibQGTFTSDYSKYLDE QA KEFICWLMNT
	SEQ ID NO. 28	HAibQGTFTSDYSKYLDEKRAKEFEVQWLMNT
	SEQ ID NO. 29	H(d)SQGTFTSDYSKYLD SRRAQ DFVQWLMNTKRNRNNIA
	SEQ ID NO. 30	CA-SQGTFTSDYSKYLDSRRAQDFVQWLMNTKRNRNNIA
15	SEQ ID NO. 31	CA-(d)SQGTFTSDYSKYLD SRRAQ DFVQWLMNTKRNRNNIA
	SEQ ID NO. 32	CA-AibQGTFTSDYSKYLDEKRAKEFEVQWLMNTC
	SEQ ID NO. 33	HAibQGTFTSDYAKYLDEKRAKEFEVQWLMNTC
	SEQ ID NO. 34	YAibQGTFTSDYSKYLDEKRAKEFEVQWLMNTC

En la Tabla 1, los aminoácidos en negritas y subrayados representan la formación de anillos, y los aminoácidos representados por X significan un aminoácido no nativo, ácido alfa-metil-glutámico. Además, CA representa 4-imidazoacetilo, y DA representa desamino-histidilo.

En lo sucesivo, un agonista dual del receptor de GLP-1/glucagón de acción prolongada representativo, es decir, el agonista dual del receptor de GLP-1/glucagón de acción prolongada en el que Fc se enlaza al aminoácido 30 del agonista dual del receptor de GLP-1/glucagón por el polímero no peptidilo, PEG (polietilenglicol), se preparó y se utilizó

en los Ejemplos 2-3 a continuación.

Ejemplo 2: Confirmación de los efectos del agonista dual del receptor de GLP-1/glucagón de acción prolongada en la enfermedad del hígado graso no alcohólico en el modelo de ratón ob/ob con ingesta de alimento de alto contenido de grasas trans que contiene alto contenido de grasa, fructosa y colesterol

Con el fin de confirmar los efectos del agonista dual del receptor de GLP-1/glucagón de acción prolongada en la enfermedad del hígado graso no alcohólico, una dieta con alto contenido de grasas trans (dieta HTF) que contiene alto contenido de grasa (40% de kcal), fructosa (22%) y colesterol (2%) se administró al modelo de ratón ob/ob durante 8 semanas para preparar un modelo animal de enfermedad del hígado graso no alcohólico. Luego, el agonista dual del receptor de GLP-1/glucagón de acción prolongada se administró por vía subcutánea al ratón una vez cada dos días (Q2D) con 0.7 y 1.4 nmol/kg y la administración se repitió durante 4 semanas. El peso de los animales se comparó con el del grupo tratado con vehículo durante la prueba de 4 semanas. Después de la terminación de la prueba de 4 semanas, los pesos del hígado se midieron y compararon. Además, después de la terminación de la prueba de 4 semanas, se confirmaron los ARNm de colágeno-1a que es un marcador de fibrosis; TNF- α que es un

marcador pro-inflamatorio; y SREBP-1c que es un marcador de la lipogénesis.

Como resultado, la medición del peso corporal y el peso del hígado después de la administración durante 4 semanas ha mostrado que, con el agonista dual del receptor de GLP-1/glucagón de acción prolongada, el peso se redujo significativamente en comparación con el del grupo tratado con vehículo (Fig. 1). Tales resultados sugieren que el agonista dual del receptor de GLP-1/glucagón de acción prolongada de la presente invención puede suprimir la ganancia de peso que se produce en el modelo animal para la enfermedad del hígado graso no alcohólico y que puede reducir los efectos secundarios de los fármacos convencionales para mejorar la resistencia a la insulina.

Además, la comparación de ARNm de colágeno-1a, TNF- α , SREBP-1c ha mostrado que en el grupo tratado con agonista dual del receptor de GLP-1/glucagón de acción prolongada, estos ARNm se redujeron significativamente (Fig. 2). Tales resultados sugieren que el agonista dual del receptor de GLP-1/glucagón de acción prolongada de la presente invención reduce la fibrosis, la pro-inflamación y similares en el modelo animal de la enfermedad del hígado graso no alcohólico e inhibe la producción de grasa, siendo así efectivo para la prevención y tratamiento de la enfermedad del hígado graso no alcohólico.

Ejemplo 3: Confirmación de los efectos del agonista dual del receptor de GLP-1/glucagón de acción prolongada en la enfermedad del hígado graso no alcohólico en el modelo de ratón DIO con ingesta de alimento de alto contenido de grasas trans

Con el fin de confirmar los efectos del agonista dual del receptor de GLP-1/glucagón de acción prolongada en la enfermedad del hígado graso no alcohólico, una dieta de 60% alto contenido de grasas trans se administró a un modelo de ratón normal (C57BL/6) durante 12 semanas para preparar un modelo animal de enfermedad del hígado graso no alcohólico. Luego, 3 nmol/kg del agonista dual del receptor de GLP-1/glucagón de acción prolongada se administraron por vía subcutánea al ratón una vez cada semana (QW) y la administración se repitió durante 4 semanas. Después de la terminación de la prueba de 4 semanas, se midieron los triglicéridos hepáticos (TG hepáticas) y colesterol en suero.

Como resultado, la medición de los triglicéridos hepáticos y colesterol en suero después de la administración durante 4 semanas ha mostrado que, en el caso de la administración del agonista dual del receptor de GLP-1/glucagón de acción prolongada, se redujeron significativamente en comparación con los del grupo tratado con vehículo y también que se redujeron de manera significativa al nivel de un animal normal que ha sido

sometido a una dieta de pienso (Fig. 3). Tales resultados sugieren que el agonista dual del receptor de GLP-1/glucagón de acción prolongada de la presente invención puede reducir los triglicéridos hepáticos y colesterol en suero a niveles normales de los animales en el modelo animal de la enfermedad del hígado graso no alcohólico, siendo así efectivo para la prevención y tratamiento de la enfermedad del hígado graso no alcohólico.

De la descripción anterior, un experto en la técnica apreciará que la invención se puede realizar en otras formas específicas sin cambiar el espíritu técnico o características esenciales. En este sentido, las modalidades descritas anteriormente deben entenderse como ilustrativas en lugar de restrictivas en todos los aspectos. El alcance de la invención se debe interpretar como el significado y alcance de las reivindicaciones adjuntas antes que la descripción detallada y todos los cambios o variaciones derivadas de los conceptos equivalentes caen dentro del alcance de la presente invención.