



(12) **Oversettelse av
europeisk patentskrift**

(11) **NO/EP 2525807 B1**

NORGE

(19) NO
(51) Int Cl.

A61K 38/18 (2006.01)
A61K 38/26 (2006.01)
A61P 3/00 (2006.01)

Patentstyret

(21)	Oversettelse publisert	2015.04.20
(80)	Dato for Den Europeiske Patentmyndighets publisering av det meddelte patentet	2014.11.12
(86)	Europeisk søknadsnr	11700669.2
(86)	Europeisk innleveringsdag	2011.01.21
(87)	Den europeiske søknadens Publiseringsdato	2012.11.28
(30)	Prioritet	2010.01.21, EP, 10305070
(84)	Utpekte stater	AL AT BE BG CH CY CZ DE DK EE ES FI FR GB GR HR HU IE IS IT LI LT LU LV MC MK MT NL NO PL PT RO RS SE SI SK SM TR
	Utpekte samarbeidende stater	BA ME
(73)	Innehaver	SANOFI, 54, rue La Boétie, 75008 Paris, FR-Frankrike
(72)	Oppfinner	SOMMERFELD, Mark, Sanofi-Aventis Deutschland GmbH, 65926 Frankfurt am Main, DE-Tyskland SCHAEFER, Hans-Ludwig, Sanofi-Aventis Deutschland GmbH, 65926 Frankfurt am Main, DE-Tyskland BOSCHENIN, Oliver, Sanofi-Aventis Deutschland GmbH, 65926 Frankfurt am Main, DE-Tyskland HABERMANN, Paul, Sanofi-Aventis Deutschland GmbH, 65926 Frankfurt am Main, DE-Tyskland RAO, Ercole, Sanofi-Aventis Deutschland GmbH, 65926 Frankfurt am Main, DE-Tyskland DREYER, Matthias, Sanofi-Aventis Deutschland GmbH, 65926 Frankfurt am Main, DE-Tyskland
(74)	Fullmektig	Tandbergs Patentkontor AS, Postboks 1570 Vika, 0118 OSLO, Norge

(54)	Benevnelse	Farmasøytisk sammensetning for å behandle et metabolsk syndrom
(56)	Anførte publikasjoner	WO-A1-98/19698, WO-A2-03/011213, WO-A2-2009/020802, JP-A- 2002 112 772 US-A1- 2008 255 045 WENTE WOLF ET AL: "Fibroblast growth factor-21 improves pancreatic beta-cell function and survival by activation of extracellular signal-regulated kinase 1/2 and Akt signaling pathways.", September 2006 (2006-09), DIABETES SEP 2006 LNKD- PUBMED:16936195, VOL. 55, NR. 9, PAGE(S) 2470 - 2478, XP002584862, ISSN: 0012-1797 * abstract

Beskrivelse

[0001] Den foreliggende oppfinnelsen er rettet mot en farmasøytisk sammensetning som inneholder minst én FGF-21-forbindelse (fibroblast-vekstfaktor 21) i henhold til
5 SEKV ID 2, minst én GLP-1 R-agonist (glukagon-liknende peptid-1-reseptor) og opsjonelt minst ett anti-diabetisk legemiddel og/eller minst én DPP-4-hemmer (dipeptidylpeptidase-4) for behandlingen av minst ett metabolisk syndrom og/eller aterosklerose, særlig diabetes, dyslipidemi, fedme og/eller adipositas.

[0002] Diabetes mellitus er karakterisert ved sine kliniske manifestasjoner, nemlig den ikke-insulin-avhengige eller modne utbruddsformen, også kjent som type 2-diabetes, og den insulin-avhengige eller juvenile utbruddsformen, også kjent som type 1-diabetes. Manifestasjonene av kliniske symptomer på type 2-diabetes og den underliggende fedmen oppstår vanligvis ved en alder over 40. Til forskjell fra dette
10 oppviser type 1-diabetes vanligvis et raskt utbrudd av sykdommen ofte før 30. Sykdommen er en metabolisk lidelse hos mennesker med en utbredelse på rundt én prosent i befolkningen generelt, der en firedel av disse er type 1- og tre firedeler av disse er type 2-diabetes. Type 2-diabetes er en sykdom karakterisert av høysirkulerende blodglukose-, insulin- og kortikosteroidnivåer.

[0003] Det finnes for tiden ulike farmakologiske tilnærminger til behandlingen av type 2-diabetes som kan anvendes individuelt eller i kombinasjon, og som virker via ulike virkemåter:

1) sulfonylurea stimulerer utskillelsen av insulin;

25 2) biguanider (metformin) virker ved å fremme glukoseforbruket, redusere glukoseproduksjon i leveren, og redusere glukoseutsendelse i tarmene;

3) oc-glukosidase-hemmere (akarbose, miglitol) bremser ned fordøyelsen av karbohydrater og dermed absorpsjon fra tarmene, og reduserer postprandial hyperglykemi;

30 4) tiazolidindioner (troglitazon) forsterker insulinvirkningen, og fremmer dermed glukoseforbruket i periferalt vev; og

5) insulin stimulerer vevets glukoseforbruk og hemmer glukoseutsendelse i leveren.

[0004] De fleste av legemidlene har imidlertid begrenset virkningsgrad og løser ikke de viktigste problemene, den avtakende β -cellefunksjonen og den tilknyttede fedmen.

Fedme er en kronisk sykdom som er svært utbredt i det moderne samfunnet og er assosiert med mange medisinske problemer, inkludert diabetes mellitus,

5 insulinresistens, hypertensjon, hyperkolesterolemi og koronar hjertesykdom. Den er videre nært korrelert med diabetes og insulinresistens, der det siste generelt er ledsaget av hyperinsulinemi eller hyperglykemi, eller begge. I tillegg er type 2-diabetes assosiert med en to- til firedoblet risiko for koronararteriesykdom.

10 **[0005]** Type 1-diabetikere oppviser karakteristisk svært lavt eller umålbart plasmainsulin med forhøyd glukagon. En immunrespons spesifikt rettet mot β -celler fører til type 1-diabetes, ettersom β -celler skiller ut insulin. Eksisterende terapeutiske regimer for type 1-diabetes prøver å minimere hyperglykemi som følger av mangelen på naturlig insulin.

15

[0006] Fibroblast-vekstfaktor 21 (FGF21) er en ny metabolisk regulator som primært er produsert av leveren, som gir virkningsfulle antidiabetiske og lipid-reduserende effekter i dyremodeller for fedme og type 2-diabetes mellitus. Dette hormonet bidrar til å regulere kroppsvekten og er involvert i responsen på fravær av næring og ketogen
20 tilstand hos mus. De viktigste setene for metaboliske virkninger av FGF21 er fettvev, lever og pankreas. Eksperimentelle studier har vist forbedringer i diabetes-kompensasjon og dyslipidemi etter administrering av FGF21 hos diabetiske mus og primater (Dostalova *et al.* 2009). FGF21 er blitt vist å stimulere glukoseopptak i mus' 3T3-L1-adipocytter i nærvær og fravær av insulin, og å redusere matet og fastende
25 blodglukose, triglyserider og glukagonnivåer hos ob/ob- og db/db-mus og 8 uker gamle ZDF-rotter på en doseavhengig måte, slik at det tilveiebringes et grunnlag for bruken av FGF-21 som en terapi for å behandle diabetes og fedme (se f.eks. WO03/011213).

[0007] Fibroblast-vekstfaktorer (FGF-er) er polypeptider som er vidtgående eksprimert
30 i utviklende og voksent vev. FGF-familien består for tiden av tjueto medlemmer, FGF-1 til FGF-23. Medlemmene av FGF-familien er i høy grad konserverv i både genstruktur og aminosyresekvens mellom vertebratarter. Det finnes 18 fibroblast-

vekstfaktorer hos pattedyr (FGF1-FGF10 og FGF16-FGF23) som er gruppert i 6 underfamilier på grunnlag av forskjeller i sekvenshomologi og fylogeni. De nummererte 'FGF-ene' som ikke er tilordnet til underfamilier - de FGF-homologe faktorene (tidligere kjent som FGF11-FGF14) - har høy sekvensidentitet med FGF-familien, men aktiverer ikke FGF-reseptorer (FGFR-er) og regnes derfor generelt ikke som medlemmer av FGF-familien.

Selv om de fleste av FGF-ene fungerer som lokale regulatorer av cellevekst og -differensiering, har nylige studier indikert at medlemmer av FGF19-underfamilien, inkludert FGF15/19, FGF21 og FGF23, gir viktige metaboliske virkninger på en endokrin måte. Medlemmene av FGF19-underfamilien regulerer diverse fysiologiske prosesser som ikke er påvirket av klassiske FGF-er. Det store mangfoldet i metabolisk aktivitet hos disse endokrine faktorene omfatter reguleringen av gallesyre-, karbohydrat- og lipidmetabolismen samt fosfat-, kalsium- og vitamin D-homeostasen (Tomlinson *et al.* 2002, Holt *et al.* 2003, Shimada *et al.* 2004, Kharitononkov *et al.* 2005, Inagaki *et al.* 2005, Lundasen *et al.* 2006).

[0008] FGF21 ble opprinnelig isolert fra museembryoer. FGF21-mRNA ble mest rikelig eksprimert i leveren, og i mindre grad i thymus (Nishimura *et al.* 2000). Menneskelig FGF21 er i høy grad identisk (ca. 75 % aminosyreidentitet) med mus' FGF21. Blant menneskelige medlemmer av FGF-familien er FGF21 det som likner mest (ca. 35 % aminosyreidentitet) på FGF19 (Nishimura *et al.* 2000). FGF21 er fri for de proliferative og tumorigene virkningene (Kharitononkov *et al.* 2005, Huang *et al.* 2006, Wente *et al.* 2006) som er typiske for majoriteten av medlemmene i FGF-familien (Ornitz and Itoh 2001, Nicholes *et al.* 2002, Eswarakumar *et al.* 2005).

[0009] Administreringen av FGF21 til overvektige leptin-maglende *ob/ob*- og leptinreseptor-maglende *db/db*-mus og overvektige ZDF-rotter reduserte signifikant blodglukose og triglyserider, reduserte fastende insulin-nivåer og forbedret glukoseutskillelse under en oral glukosetoleransetest. FGF21 påvirket ikke matinntak eller kroppsvekt/komposisjon hos diabetiske eller slanke mus og rotter i løpet av 2 uker med administrering. Av viktighet var det at FGF21 ikke induserte mitogenisitet, hypoglykemi eller vektøkning ved noen dose testet hos diabetiske eller friske dyr, eller

når det ble overeksprimert hos transgene mus (Kharitononkov *et al.* 2005). FGF21-overeksprimerende transgene mus var resistente mot kostholdindusert fedme.

[0010] Administreringen av FGF21 til diabetiske rhesus-aper i 6 uker reduserte fastende plasmaglukose, fruktosamin, triglyserid, insulin og glukagonnivåer. Av viktighet var det at hypoglykemi ikke ble observert under studien til tross for signifikante glukosereduserende virkninger. Administrering av FGF21 reduserte også signifikant LDL-kolesterol og økte HDL-kolesterol, og til forskjell fra hos mus (Kharitononkov *et al.* 2005) reduserte det noe, men signifikant kroppsvekt (Kharitononkov *et al.* 2007).

Ytterlig informasjon kan finnes fra følgende referanser:

1. DOSTALOVA I. et al.: Fibroblast Growth Factor 21: A Novel Metabolic Regulator With Potential Therapeutic Properties in Obesity/Type 2 Diabetes Mellitus. *Physiol Res* 58: 1-7, 2009.

2. ESWARAKUMAR V.P. et al.: Cellular signaling by fibroblast growth factor receptors. *Cytokine Growth Factor Rev* 16: 139-149, 2005.

3. HOLT J.A. et al.: Definition of a novel growth factor-dependent signal cascade for the suppression of bile acid biosynthesis. *Genes Dev* 17: 1581-1591, 2003.

4. HUANG X. et al.: Forced expression of hepatocytespecific fibroblast growth factor 21 delays initiation of chemically induced hepatocarcinogenesis. *Mol Carcinog* 45: 934-942, 2006.

5. INAGAKI T. et al.: Endocrine regulation of the fasting response by PPAR α -mediated induction of fibroblast growth factor 21. *Cell Metab* 5: 415-425, 2007.

6. KHARITONENKOV A. et al.: FGF-21 as a novel metabolic regulator. *J Clin Invest* 115: 1627-1635, 2005.

7. KHARITONENKOV A. et al.: The metabolic state of diabetic monkeys is regulated by fibroblast growth factor-21. *Endocrinology* 148: 774-781, 2007.

8. LUNDÅSEN T. et al.: Circulating intestinal fibroblast growth factor 19 has a pronounced diurnal variation and modulates hepatic bile acid synthesis in man. *J Intern Med* 260: 530-536, 2006.

9. NICHOLAS K. et al.: A mouse model of hepatocellular carcinoma: ectopic expression of fibroblast growth factor 19 in skeletal muscle of transgenic mice. *Am J Pathol* 160: 2295-2307, 2002.

10. NISHIMURA T. et al.: Identification of a novel FGF, FGF-21, preferentially expressed in the liver. *Biochim Biophys Acta* 1492: 203-206, 2000.

11. ORNITZ D.M. et al.: Fibroblast growth factors. *Genome Biol* 2: REVIEWS3005, 2001.

12. SHIMADA T. et al.: FGF-23 is a potent regulator of vitamin D metabolism and phosphate homeostasis. *J Bone Miner Res* 19: 429-435, 2004.

13. TOMLINSON E. et al.: Transgenic mice expressing human fibroblast growth factor-19 display increased metabolic rate and decreased adiposity. *Endocrinology* 143: 1741-1747, 2002.

14. WENTE W. et al.: Fibroblast growth factor-21 improves pancreatic beta-cell function and survival by activation of extracellular signal-regulated kinase 1/2 and Akt signaling pathways. *Diabetes* 55: 2470-2478, 2006.

[0011] Det glukagonliknende tarmpeptidet peptid-1 (GLP-1) er et inkretinhormon som skilles ut på en næringsavhengig måte. Det stimulerer glukoseavhengig insulin-utskillelse. GLP-1 fremmer også β -celleprolifisering og kontrollerer glykemi via ytterligere virkninger på glukosesensorer, hemming av gastrisk tømming, matinntak og glukagonutskillelse. Videre stimulerer GLP-1 insulinutskillelse og reduserer blodglukose hos personer med type 2-diabetes. Eksogen administrering av bioaktivt GLP-1, GLP-1 (7-27) eller GLP-1 (7-36-amid), i doser som forhøyer plasma-konsentrasjoner til rundt 3-4 ganger de fysiologiske postprandiale nivåene, normaliserer fullt ut fastende hyperglykemi hos type 2-diabetiske pasienter (Nauck, M. A. et al. (1997) *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, 105, 187-197). Den humane GLP-1-reseptoren (GLP-1 R) er en 463 aminosyrer stor heptahelik G-protein-koplet reseptor som er vidtgående eksprimert i pankreatiske øyer, nyre, lunge, hjerte og flere regioner i det perifere og sentrale nervesystemet. Innenfor øyene er GLP-1 R hovedsakelig lokalisert i β -øyceller. Aktivisering av GLP-1 R-signalisering initierer et program med differensiering mot en mer endokrin-liknende fenotype, særlig differensieringen av

forløpere derivert fra humane øyer til fungerende β -celler (Drucker, D. J. (2006) Cell Metabolism, 3, 153-165).

[0012] Dessverre har både FGF-21 og bioaktivt GLP-1, samt andre kjente legemidler, begrenset virkningsgrad i seg selv når det gjelder de komplekse og multifaktorielle metaboliske dysfunksjonene som kan observeres i type 2-diabetes eller andre metaboliske lidelser. Dette gjelder også for virkningsgraden når det gjelder å redusere blodglukosenivåene ved hjelp av de nevnte forbindelsene selv.

[0013] Ifølge den foreliggende oppfinnelsen er det overraskende blitt funnet at kombinasjonen av FGF-21 i henhold til SEKV ID 2 og en GLP-1 R-agonist signifikant reduserte blodglukosenivåer på en synergistisk måte opp til normale glykemiske nivåer.

[0014] Én utførelsesform av den foreliggende oppfinnelsen er derfor rettet mot en farmasøytisk sammensetning som inneholder minst én FGF-21-forbindelse (fibroblast-vekstfaktor 21) i henhold til SEKV ID 2 og minst én GLP-1 R-agonist (glukagon-liknende peptid-1-reseptor).

[0015] En «FGF-21-forbindelse» er definert som en forbindelse som oppviser FGF-21-aktivitet, som spesielt omfatter (i) nativt FGF-21, særlig humant FGF-21, spesielt humant FGF-21 som vist i SEKV ID NR: 1, eller (ii) en FGF-21-etterlikning med FGF-21-aktivitet.

[0016] «FGF-21-aktivitet» er vanligvis målt i en FGF-21-aktivitetsundersøkelse som er generelt kjent for fagpersonen. En FGF-21-aktivitetsundersøkelse er f.eks. en «glukoseopptaksundersøkelse» som beskrevet i Kharitononkov, A. et al. (2005), 115; 1627, No. 6. Som et eksempel på glukoseopptaksundersøkelse sultes adipocytter i 3 timer i DMEM/0,1 % BSA, stimuleres med FGF-21 i 24 timer, og vaskes to ganger med KRP-buffer (15 mM HEPES, pH 7,4, 118 mM NaCl, 4,8 mM KCl, 1,2 mM MgSO₄, 1,3 mM CaCl₂, 1,2 mM KH₂PO₄, 0,1 % BSA), og 100 μ l KRP-buffer som inneholder 2-deoksy-D-[¹⁴C]glukose (2-DOG) (0,1 μ Ci, 100 μ M) tilsettes til hver

brønn. Kontrollbrønner inneholder 100 µl KRP-buffer med 2-DOG (0,1 µCi, 10 mM) for å overvåke for ikke-spesifisitet. Opptaksreaksjonen utføres i 1 time ved 37 °C, termineres ved å tilsette cytokalasin B (20 µM), og måles ved hjelp av Wallac 1450 MicroBeta-teller (PerkinElmer, USA).

5

[0017] Eksempler på FGF-21-etterlikninger er (a) proteiner som har minst ca. 96 %, spesielt 99 % aminosyresekvensidentitet med aminosyresekvensen vist i SEKV ID NR: 1 og har FGF-21-aktivitet, (b) et FGF-21-fusjonsprotein eller et (c) FGF-21-konjugat, f.eks. et FGF-21-mutein, et FGF-21-Fc-fusjonsprotein, et FGF-21-HSA-fusjonsprotein eller en PEGylert FGF-21.

10

[0018] Eksempler på FGF-21-muteiner er beskrevet i f.eks. WO2005/061712, WO2006/028595, WO2006/028714, WO2006/065582 eller WO2008/121563.

15

Eksemplariske muteiner er muteiner som har en redusert kapasitet for O-glykosylering når de f.eks. eksprimeres i gjær sammenliknet med humant FGF-21 av vill type, f.eks. humant FGF-21 med en substitusjon ved posisjon 167 (serin), f.eks. humant FGF-21 med én av følgende substitusjoner: Ser167Ala, Ser167Glu, Ser167Asp, Ser167Asn, Ser167Gln, Ser167Gly, Ser167Val, Ser167His, Ser167Lys eller Ser167Tyr. Et annet eksempel er et mutein som oppviser redusert deamidasjon sammenliknet med humant

20

FGF-21 av vill type, f.eks. et mutein med en substitusjon ved posisjon 121 (asparagin) i humant FGF-21, f.eks. Asn121Ala, Asn121Val, Asn121Ser, Asn121Asp eller

Asn121Glu. Et alternativt mutein er humant FGF-21 som har én eller flere ikke-naturlig kodede aminosyrer, f.eks. som beskrevet av den generelle formelen i krav 29 i WO2008/121563. Andre muteiner omfatter en substitusjon av en ladet (f.eks. aspartat,

25

glutamat) eller polar men uladet aminosyrer (f.eks. serin, treonin, asparagin, glutamin) for f.eks. en polar men henholdsvis uladet eller ladet aminosyre. Eksempler er

Leu139Glu, Ala145Glu, Leu146Glu, Ile152Glu, Gln156Glu, Ser163Glu, Ile152Glu, Ser163Glu eller Gln54Glu. Et annet mutein er et mutein som oppviser en redusert

30

følsomhet for proteolytisk nedbrytning når det eksprimeres i f.eks. gjær sammenliknet med humant FGF-21, spesielt humant FGF-21 med en substitusjon av Leu153 med en aminosyre valgt blant Gly, Ala, Val, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Asn, Asp, Gln, Glu, Cys eller Met. Et foretrukket FGF-21-mutein er det muterte FGF-21 i henhold til

SEKV ID NR: 2 som bærer en sletting av aminosyrene 1-28 hos humant FGF-21 (SEKV ID NR: 1) og inneholder et ekstra glysin ved N-terminus.

[0019] Eksempler på FGF-21-fusjonsproteiner er beskrevet i f.eks. WO2004/110472 eller WO2005/113606, for eksempel et FGF-21-Fc-fusjonsprotein eller et FGF-21-HAS-fusjonsprotein. «Fc» vil si Fc-delen av et immunoglobulin, f.eks. Fc-delen av IgG4. «HSA» vil si humant serum albumin.

[0020] Eksempler på FGF-21-konjugater er beskrevet i f.eks. WO2005/091944, WO2006/050247 eller WO2009/089396, for eksempel glykol-forbundne FGF-21-forbindelser. Slike glykol-forbundne FGF-21-forbindelser bærer vanligvis et polyetylenglykol (PEG), f.eks. ved en cystein- eller lysin-aminosyrerest eller ved et introdusert N-forbundet eller O-forbundet glykosyleringssete, (her omtalt som «PEGylert FGF-21»). Slike PEGylerte FGF-21-forbindelser oppviser generelt en forlenget virkningstid sammenliknet med humant FGF-21. Egnede PEG-er har en molekylvekt på ca. 20 000 til 40 000 dalton.

[0021] En «GLP-1 R-agonist» er definert som en forbindelse som binder seg til og aktiverer GLP-1-reseptoren, som GLP-1 (glukagon-liknende peptid 1). Fysiologiske virkninger av GLP-1 og/eller av GLP-1 R-agonisten er beskrevet f.eks. i Nauck, M. A. et al. (1997) Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes, 105, 187-195. Disse fysiologiske virkningene hos normale individer, spesielt mennesker, omfatter f.eks. glukose-avhengig stimulering av insulinutskillelse, undertrykkelse av glukagonutskillelse, stimulering av (pro)insulin-biosyntese, reduksjon av matinntak, nedbremsning av gastrisk tømming og/eller flertydig insulinfølsomhet.

[0022] Egnede undersøkelsesmåter for å oppdage GLP-1 R-agonister er beskrevet i f.eks. Thorkildsen, Chr. et al. (2003), Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 307, 490-496; Knudsen, L. B. et al. (2007), PNAS, 104, 937-942, No. 3; Chen, D. et al. (2007), PNAS, 104, 943-948, No. 3; eller US2006/0003417 A1 (se f.eks. eksempel 8). Kort sagt inkuberes i en «reseptorbindingsundersøkelse» en rensset membranfraksjon av eukaryote celler som huser f.eks. den humane rekombinante GLP-

1-reseptoren, f.eks. CHO-, BHK- eller HEK293-celler, med testforbindelsen eller -forbindelsene i nærvær av f.eks. humant GLP-1, f.eks. GLP-1 (7-36)-amid som er markert med f.eks. ^{125}I (f.eks. 80 kBq/pmol). Vanligvis benyttes ulike konsentrasjoner av testforbindelsen eller -forbindelsene, og IC_{50} -verdiene bestemmes som de konsentrasjonene som minsker den spesifikke bindingen av humant GLP-1. I en «reseptorfunksjonell undersøkelse» ble isolerte plasmamembraner fra eukaryote celler, som f.eks. beskrevet ovenfor, som eksprimerer f.eks. den humane GLP-1-reseptoren, preparert og inkubert med en testforbindelse. Den funksjonelle undersøkelsen utføres ved å måle cAMP som en respons på stimulering ved testforbindelsen. I en «rapportørgenundersøkelse» dyrkes eukaryote celler, som f.eks. beskrevet ovenfor, som eksprimerer f.eks. den humane GLP-1-reseptoren og inneholder f.eks. et multippelt responselement/cAMP-responselement-drevet luciferaserapportørplasmid, i nærvær av en testforbindelse. cAMP-responselement-drevne luciferaseaktiviteter måles som en respons på stimulering ved testforbindelsen.

[0023] Egnede GLP-1R-agonister er valgt fra et bioaktivt GLP-1, en GLP-1-analog eller et GLP-1-substitutt, som f.eks. beskrevet i Drucker, D. J. (2006) Cell Metabolism, 3, 153-165; Thorkildsen, Chr. (2003; supra); Chen, D. et al. (2007; supra); Knudsen, L. B. et al. (2007; supra); Liu, J. et al. (2007) Neurochem Int., 51, 361-369, No. 6-7; Christensen, M. et al. (2009), Drugs, 12, 503-513; Maida, A. et al. (2008) Endocrinology, 149, 5670-5678, No. 11 og US2006/0003417. Eksemplariske forbindelser er GLP-1 (7-37), GLP-1 (7-36)amid, ekstendin-4, liraglutid, CJC-1131, *albugon*, *albiglutid*, *eksenatid*, *eksenatid-LAR*, oksyntomodulin, liksisenatid, geniprosid, *AVE-0010*, et kort peptid med GLP-1 R-agonistisk aktivitet og/eller en liten organisk forbindelse med GLP-1 R-agonistisk aktivitet.

[0024] I detalj innehar humant GLP-1 (7-37) aminosyresekvensen hos SEKV ID NR: 3. Humant GLP-1 (7-36)amid innehar aminosyresekvensen hos SEKV ID NR: 4. Ekstendin-4 innehar aminosyresekvensen hos SEKV ID NR: 5. Eksenatid innehar aminosyresekvensen hos SEKV ID NR: 6 og oksyntomodulin aminosyresekvensen hos SEKV ID NR: 7. Aminosyresekvensen hos liksisenatid er vist i SEKV ID NR: 8. Strukturen i liksisenatid er basert på eksendin-4(1-39) modifisert C-terminalt med seks

ytterligere lysinrester for å motstå umiddelbar fysiologisk nedbrytning ved DPP-4 (dipeptidylpeptidase-4). Aminosyresekvensen hos AVE0010 er vist i SEKV ID NR: 9

[0025] Den kjemiske strukturen av liraglutid er vist i fig. 1. Liraglutid ble tilveiebrakt ved å substituere Lys 34 hos GLP-1(7-37) til Arg, og ved å addere en C16-fettsyre ved posisjon 26 ved hjelp av en γ -glutamisk syrebuffer. Det kjemiske navnet er [N-epsilon(gamma-L-glutamoyl(N-alfa-heksadekanoyl)-Lys²⁶,Arg³⁴-GLP-1 (7-37)].

[0026] Den kjemiske strukturen av CJC-1131 er vist i fig. 2. Albumin er festet i C-terminalen av GLP-1 med en d-alanin-substitusjon ved posisjon 8. CJC-1131 oppviser en svært god kombinasjon av stabilitet og bioaktivitet.

[0027] Andre peptider med GLP-1 R-agonistisk aktivitet er eksemplarisk beskrevet i US 2006/0003417, og små organiske forbindelser med GLP-1 R-agonistisk aktivitet er eksemplarisk beskrevet i Chen et al., 2007, PNAS, 104, 943-948, No. 3 eller Knudsen et al., 2007, PNAS, 104, 937-942.

[0028] I en ytterligere utførelsesform av den foreliggende oppfinnelsen inneholder den farmasøytiske sammensetningen i tillegg minst ett anti-diabetisk legemiddel og/eller minst én DPP-4-hemmer.

[0029] Eksemplariske anti-diabetiske legemidler er

a) insulin,

b) tiazolidindion, f.eks. rosiglitazon eller pioglitazon (se f.eks. WO2005/072769),

metformin (*N,N*-dimetylimidodikarbonimidamid), eller

c) sulfonylurea, så som klorpropamid (4-klor-*N*-(propylkarbamoyl)-

benzensulfonamid), tolazamid (*N*-[(azepan-1-yl)amino]karbonyl]-4-metyl-

benzensulfonamid), gliklazid (*N*-(heksahydrosyklopenta[*c*]pyrrol-2(1*H*)-yl-

karbamoyl)-4-metylbenzensulfonamid), eller glimepirid (3-etyl-4-metyl-*N*-(4-[*N*-

((1*r*,4*r*)-4-metylsykloheksylkarbamoyl)-sulfamoyl]fenetyl)-2-okso-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-karboksamid).

[0030] Ifølge den foreliggende oppfinnelsen vil «insulin» si naturlig forekommende insulin, modifisert insulin eller en insulinanalog, inkludert salter av dette, og kombinasjoner av dette, f.eks. kombinasjoner av et modifisert insulin og en insulinanalog, for eksempel insuliner som har aminosyrebytter/-slettinger/-addisjoner samt ytterligere modifikasjoner så som acylation eller annen kjemisk modifikasjon. Ett eksempel på denne typen forbindelser er insulin detemir, dvs. LysB29-tetradekanoyl/des(B30) humant insulin. Et annet eksempel kan være insuliner der unaturlige aminosyrer eller aminosyrer som normalt er ikke-kodende hos eukaryoter, så som D-aminosyrer, er blitt inkorporert (Geiger, R. et al., Hoppe Seylers Z. Physiol. Chem. (1976) 357, 1267-1270; Geiger, R. et al., Hoppe Seylers Z. Physiol. Chem. (1975) 356, 1635-1649, No. 10; Krail, G. et al., Hoppe Seylers Z. Physiol. Chem. (1971) 352, 1595-1598, No. 11). Ytterligere eksempler er insulinanaloger der den C-terminale karboksylsyren i enten A-kjeden eller B-kjeden, eller begge, byttes ut med et amid.

[0031] «Modifisert insulin» er fortrinnsvis valgt blant acylert insulin med insulinaktivitet, spesielt der én eller flere aminosyrer i insulinets A- og/eller B-kjede er acylert, fortrinnsvis humant insulin acylert ved posisjon B29 (Tsai, Y. J. et al. (1997) Journal of Pharmaceutical Sciences, 86, 1264-1268, No. 11). Andre acetylerter insuliner er desB30 humant insulin eller B01 bovint insulin (Tsai, Y. J. et al., supra). Andre eksempler på acylerte insuliner er f.eks. beskrevet i US 5 750 497 og US 6 011 007. En oversikt over struktur-aktivitets-forholdene for modifiserte insuliner er gitt i Mayer, J. P. et al. (2007) Biopolymers, 88, 687-713, No. 5. Modifiserte insuliner er typisk preparert ved kjemisk og/eller enzymatisk manipulasjon av insulin, eller en egnet insulinforløper så som preproinsulin, proinsulin eller trunkerte analoger av dette.

[0032] En «insulinanalog» er fortrinnsvis valgt blant insulin med insulinaktivitet som har én eller flere mutasjoner, substitusjoner, slettinger og/eller addisjoner, spesielt et insulin med en C- og/eller N-terminal trunkering eller utvidelse i A- og/eller B-kjeden, fortrinnsvis des(B30)-insulin, PheB1-insulin, B1-4-insulin, AspB28 humant insulin (insulin aspart), LysB28/ProB29 humant insulin (insulin lispro), LysB03/GluB29 humant insulin (insulin glulisin) eller GlyA21/ArgB31/ArgB32 humant insulin (insulin

glargin). Det eneste vilkåret til en insulinanalog er at den har en tilstrekkelig insulinaktivitet. En oversikt over struktur-aktivitets-forholdene for insulinanaloger, med diskusjon av hvilke aminosyrebytter, -slettinger og/eller -addisjoner som tolereres, er gitt i Mayer, J. P. et al. (2007; supra). Insulinanalogene er fortrinnsvis slike der én eller flere av de naturlig forekommende aminosyrerestene, fortrinnsvis én, to eller tre av dem, er blitt substituert med en annen aminosyrerest. Ytterligere eksempler på insulinanaloger er C-terminale trunkerte derivater så som des(B30) humant insulin; B-kjede N-terminale trunkerte insulinanaloger så som des PheB1-insulin eller des B1-4-insulin; insulinanaloger der A-kjeden og/eller B-kjeden har en N-terminal utvidelse, inkludert såkalte «pre-insuliner» der B-kjeden har en N-terminal utvidelse; og insulinanaloger der A-kjeden og/eller B-kjeden har C-terminal utvidelse. For eksempel kan én eller to Arg adderes til posisjon B1. Eksempler på insulinanaloger er beskrevet i de følgende patentene og ekvivalenter til dette: US 5,618,913, EP 0 254 516 A2 og EP 0 280 534 A2. En oversikt over insulinanaloger i klinisk bruk er gitt i Mayer J. P. et al. (2007, supra). Insulinanaloger eller deres forløpere er typisk preparert ved hjelp av genteknologiteknikker som er velkjent for fagpersonen, typisk i bakterier eller gjær, med påfølgende enzymatisk eller syntetisk manipulasjon ved behov. Alternativt kan insulinanaloger være preparert kjemisk (Cao, Q. P. et al. (1986) Biol. Chem. Hoppe Seyler, 367, 135-140, No. 2). Eksempler på spesifikke insulinanaloger er insulin aspart (dvs. AspB28 humant insulin); insulin lispro (dvs. LysB28, ProB29 humant insulin); insulin glulisin (dvs. LysB03, GluB29 humant insulin); og insulin glargin (dvs. GlyA21, ArgB31, ArgB32 humant insulin).

[0033] Eksemplariske DPP-4-hemmere er

sitagliptin: (R)-4-okso-4-[3-(trifluormetyl)-5,6-dihydro[1,2,4]triazol[4,3-a]-pyrazin-7(8H)-yl]-1-(2,4,5-trifluorfenyl)butan-2-amin,
vildagliptin: (S)-1-[N-(3-hydroksy-1-adamantyl)glycyl]pyrrolidin-2-karbonitril,
saksagliptin: (1S,3S,5S)-2-[(2S)-2-amino-2-(3-hydroksy-1-adamantyl)-acetyl]-2-azabisyklo[3.1.0]heksan-3-karbonitril,
linagliptin 8-[(3R)-3-aminopiperidin-1-yl]-7-(but-2-yn-1-yl)-3-metyl-1-[(4-metyl-kvinazolin-2-yl)metyl]-3,7-dihydro-1H-purin-2,6-dion) adogliptin (2-({6-[(3R)-3-

aminopiperidin-1-yl]-3-metyl-2,4-diokso-3,4-dihydropyrimidin-1(2*H*)-yl}metyl)-benzonitril, og

berberin, som er et kvaternært ammoniumsalt fra gruppen av isokvinoline alkaloider som finnes i røttene, rotstokkene, stammene og barken på planter så som *Berberis*,
5 kanadisk gulsymre (*Hydrastis canadensis*), og *Coptis chinensis*.

[0034] De enkelte forbindelsene i den foreliggende oppfinnelsens farmasøytiske sammensetning kan kombineres i én formulering eller inneholdes i flere formuleringer for f.eks. simultan eller påfølgende, dvs. sekvensiell administrering, eller
10 kombinasjoner av dette.

[0035] Ifølge den foreliggende oppfinnelsen førte kombinasjonen av minst én FGF-21-forbindelse og minst én GLP-1 R-agonist overraskende til en synergieffekt ved å redusere plasmaglukosenivåer som vist med dyremodellene i eksemplene. Dyre-
15 modellene er en ob/ob- eller overvektig mus og en db/db-mus. Ob/ob-musen er en mutantmus som ikke kan produsere hormonet leptin som regulerer appetitten. Følgelig spiser ob/ob-musen for mye og blir ekstremt overvektig. Det er en standard dyremodell for hyperglykemi, insulinresistens og fedme. En annen standard dyremodell for diabetes er db/db-musen som bærer en manglende leptinreseptoraktivitet. Også denne
20 musen er karakterisert av fedme, hyperglykemi og insulinresistens.

[0036] Den foreliggende oppfinnelsens farmasøytiske sammensetning inneholder terapeutisk effektive mengder av de enkelte forbindelsene og generelt en akseptabel farmasøytisk bærer, fortynningsmiddel eller hjelpestoff, f.eks. sterilt vann, fysiologisk
25 saltvann, bakteriostatisk saltvann, dvs. saltvann som inneholder ca. 0,9 % mg/ml benzylalkohol, fosfat-bufrer saltvann, Hanks løsning, Ringers laktat, laktose, dekstrose, sukrose, trehalose, sorbitol, Mannitol, og liknende. Sammensetningen er generelt en løsning eller suspensjon. Den kan administreres oralt, subkutant, intramuskulært, pulmonært, ved inhalasjon og/eller gjennom depotadministrering. Fortrinnsvis
30 administreres sammensetningen subkutant.

[0037] Termen «terapeutisk effektiv mengde» vil generelt si den mengden av en

forbindelse som fører til den ønskede terapeutiske og/eller profylaktiske virkningen uten å forårsake uønskede bivirkninger. Et typisk doseringsintervall er fra ca. 0,01 mg per dag til ca. 1000 mg per dag. Et foretrukket doseringsintervall for hver terapeutisk effektiv forbindelse er fra ca. 0,1 mg per dag til ca. 100 mg per dag, og et mest
5 foretrukket doseringsintervall er fra ca. 1,0 mg/dag til ca. 10 mg/dag, spesielt ca. 1-5 mg/dag.

[0038] Ved påfølgende administrering administreres de enkelte forbindelsene i den farmasøytiske sammensetningen over en tidsperiode der synergieffekten av FGF-21-
10 forbindelsen og GLP-1 R-agonisten fortsatt er målbar, f.eks. i en «glukosetoleranstest», som f.eks. vist i eksemplene. Glukosetoleranstanden er en test som skal bestemme hvor raskt glukose utskilles fra blodet etter administrering av glukose. Glukosen gis som oftest oralt («oral glukosetoleranstest» eller «OGTT»). Tidsperioden for den påfølgende administreringen av de enkelte forbindelsene, spesielt av FGF-21-
15 forbindelsen og GLP-1 R-agonisten, er vanligvis innen én time, fortrinnsvis innen en halv time, mest foretrukket innen 15 minutter, spesielt innen 5 minutter.

[0039] Generelt er anvendelsen av den farmasøytiske sammensetningen på en pasient én eller flere ganger om dagen, eller én eller flere ganger i uka, eller til og med i løpet av
20 lengre tidsperioder alt etter som. Den mest foretrukne anvendelsen av den foreliggende oppfinnelsens farmasøytiske sammensetning er en subkutan anvendelse én til tre ganger per dag i en kombinert dose.

[0040] Den foreliggende oppfinnelsens farmasøytiske sammensetning reduserer
25 blodglukosenivåer opp til normale glykemiske nivåer, og øker energiforbruket ved raskere og mer effektiv glukosebruk, og er dermed nyttig for å behandle minst ett metabolsk syndrom og/eller aterosklerose, spesielt type 1- eller type 2-diabetes, dyslipidemi, fedme og/eller adipositas, spesielt type 2-diabetes.

[0041] Følgelig er den foreliggende oppfinnelsen også rettet mot bruken av de
30 beskrevne farmasøytiske sammensetningene for å preparere et medikament for å behandle minst én av de ovennevnte sykdommene eller lidelsene, og mot en

framgangsmåte for å behandle minst én av de ovennevnte sykdommene i en pasient.

Pasienten er spesielt valgt blant en type 1-diabetisk pasient, en type 2-diabetisk pasient, spesielt en kostholdsbehandlet type 2-diabetisk pasient, en sulfonylurea-behandlet type 2-diabetisk pasient, en type 2-diabetisk pasient i langt framskredet stadium, og/eller en
5 langtids insulinbehandlet type 2-diabetisk pasient. Medikamentet kan være preparert ved hjelp av framgangsmåter som er kjent for fagpersonen, f.eks. ved å blande de farmasøytisk effektive mengdene av forbindelsen eller forbindelsene med en akseptabel farmasøytisk bærer, et fortynningsmiddel eller et hjelpestoff, som beskrevet ovenfor.

10

[0042] De følgende figurene og eksemplene er bare ment for illustrasjon, og har ikke som formål å være begrensende for den foreliggende oppfinnelsen.

Figurer

15

[0043]

Fig. 1

viser den kjemiske strukturen av liraglutid.

Fig. 2

viser den kjemiske strukturen av CJC-1131.

20

Fig. 3

viser resultatene av en oral glukosetoleranstest (OGTT) etter ti dagers subkutan injeksjon av FGF-21 sammen med AVE0010 i ob/ob-mus.

Fig. 4

viser plasmaglukosenivåene over tid etter subkutan injeksjon av FGF-21 sammen med
25 AVE0010 i ob/ob-mus.

Fig. 5

viser resultatene av en OGTT etter tjueen dagers subkutan injeksjon av FGF-21 sammen med AVE0010 i db/db-mus.

Fig. 6

30

viser plasmaglukosenivåene over tid etter subkutan injeksjon av FGF-21 sammen med AVE0010 i db/db-mus.

Eksempler

1. Behandling av *ob/ob*-mus

5 **[0044]** *Ob/ob*-hunnmus (B6.V-LEP OB/J, alder 6 uker) ble anskaffet fra Charles Rivers Laboratories (Sulzfeld i Tyskland). Mus ble tilfeldig tilordnet til behandlings- eller vehikkelgrupper, og randomiseringen var lagdelt etter kroppsvekt og matede blodglukosenivåer. Dyrene ble anbrakt i grupper på 6 ved 23 °C og med en 12 t lys-mørke-syklus. Alle eksperimentelle prosedyrer ble utført i henhold til tysk
10 dyrevernlovgivning.

[0045] *Ob/ob*-mus ble behandlet med vehikkel (PBS), $0,05 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{dag}^{-1}$ AVE0010 (SEKV ID NR:9), $0,75 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{dag}^{-1}$ rekombinant humant FGF-21 (SEKV ID NR: 2) eller en kombinert dose av FGF-21 (SEKV ID NR: 2) og AVE0010 (SEKV ID NR:9),
15 $(0,75 + 0,05 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{dag}^{-1})$ subkutan én gang daglig. Musene ble matet *ad libitum* med standard gnagerfôr under legemiddelbehandlingsperiodene. Kroppsvekt ble registrert annenhver dag, og matinntaket ble målt én gang i uka gjennom hele studien. Én dag før den første behandlingen og ved studiedag 10 ble blodglukose målt ved haletipp-blodprøve under matede forhold. Som vist i figur 4 ble blodglukosenivåene
20 hos de behandlede musene normalt glykemiske. På studiedag 8 ble det utført en glukosetoleransetest (OGTT). Fastede mus ble oralt provosert med $2 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ glukose. Blodglukose ble målt ved indikerte tidspunkter ved haletipp-blodprøve uten anestesi. Resultatene av OGTT-en er vist i figur 3. Sammenliknet med administreringen av bare FGF-21 eller bare AVE0010 ble glukosetoleranse markert sterkere forbedret ved
25 kombinasjonsbehandling. De kombinasjonsbehandlede overvektige dyrene var enda mer glukosetolerante enn slanke kontroll dyr.

2. Behandling av *db/db*-mus

[0046] *Db/db*-hunnmus (BKS.Cg-m $+/+$ Leprdb /J, alder 6 uker) ble behandlet med
30 vehikkel (PBS), $0,05 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{dag}^{-1}$ AVE0010, $0,75 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{dag}^{-1}$ rekombinant humant FGF-21 (SEKV ID NR: 2) eller en kombinert dose av FGF-21 (SEKV ID NR: 2) og AVE0010 (SEKV ID NR:9), $(0,75 + 0,05 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{dag}^{-1})$ subkutan én gang

daglig. Musene ble matet *ad libitum*. Før den første behandlingen, etter én uke og 4 uker ble blodglukose og HbA1c målt under matede forhold. Etter 21 dagers behandling ble det initiert en oral glukosetoleransetest (OGTT). Fastede mus ble oralt provosert med $2 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ glukoseløsning, og blodglukose ble målt ved indikerte tidspunkter.

- 5 Resultatene er vist i figur 5 og 6. Administreringen av FGF21 pluss AVE0010-kombinasjonen fører til normalisering av blodglukose og forbedret dramatisk glukosetoleransen sammenliknet med den vehikkelbehandlede overvektige kontrollen. På den annen side fører den enkelte behandlingen med FGF21 eller AVE0010 sammenliknet med kombinasjonen bare til hemming av blodglukoseøkning og en liten
- 10 forbedring i glukosetoleranse.

Sekvenser

[0047]

Humant FGF-21 (SEKV ID NR: 1):

MDSDETGFHSGLWVSVLAGLLLGACQAHPIPDSSPLLQPGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGT
 VGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQ
 SEAHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVGPSQGRS
 PSYAS

5

Mutert FGF-21 (G + FGF21 H29-S209; SEKV ID NR: 2):

GHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILG
 VKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPAR
 FLPLPGLPPAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVGPSQGRSPSYAS

Humant GLP-1 (7-37) (SEKV ID NR: 3):

HAEGTFTSDVSSYLEGQAAKEFIAWLVKGRG-NH₂

10 Humant GLP-1(7-36)NH₂ (SEKV ID NR: 4):

HAEGTFTSDVSSYLEGQAAKEFIAWLVKGR-NH₂

Eksendin-4 (SEKV ID NR: 5):

HGEGTFTSDLSKQMEEEEAVRLFIEWLKNGGPSSGAPPPS-NH₂

Eksenatid (SEKV ID NR: 6):

15 HGEGTFTSDLSKQMEEEEAVRLFIELTKNGGPSSGAPPPS-NH₂

Oksyntomodulin (SEKV ID NR: 7):

HSQGTFTSDYSKYLDSSRAQDFVQWLMNTKRNRNNIA-NH₂

Liksisenatid (SEKV ID NR: 8)

HGEGTFTSDLSKQMEEEEAVRLFIEWLKNGGPSSGAPPSKKKKKKK-NH₂

20 AVE0010 (SEKV ID NR: 9):

HGEGTFTSDLSKQNIEEEEAVRLFIEWLKNGGPSSGAPPSKKKKKKK-NH₂

LISTE OVER SEKVENSER**[0048]**

<110> Sanofi Aventis

5 <120> Farmasøytisk sammensetning for å behandle et metabolsk syndrom

<130> DE2010/012

<160> 9

<170> PatentIn versjon 3.3

<210> 1

10 < 211> 209

< 212> PRT

< 213> Homo sapiens

<400> 1

Met Asp Ser Asp Glu Thr Gly Phe Glu His Ser Gly Leu Trp Val Ser
 1 5 10 15

Val Leu Ala Gly Leu Leu Leu Gly Ala Cys Gln Ala His Pro Ile Pro
 20 25 30

Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Pro Gly Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr
 35 40 45

Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg
 50 55 60

Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu
 65 70 75 80

Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val
 85 90 95

Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly
 100 105 110

Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu
 115 120 125

Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu
 130 135 140

His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly
 145 150 155 160

Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu
 165 170 175

Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp
 180 185 190

Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala
 195 200 205

Ser

5 <210> 2

< 211> 182

< 212> PRT

< 213> ukjent

<220>

10 < 223> G forbundet til fragment av humant FGF21 fra H29 til S209

<400> 2

Gly His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
 1 5 10 15
 Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
 20 25 30
 His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
 35 40 45
 Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile
 50 55 60
 Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
 65 70 75 80
 Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
 85 90 95
 Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
 100 105 110
 His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp
 115 120 125
 Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro
 130 135 140
 Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp
 145 150 155 160
 Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg
 165 170 175
 Ser Pro Ser Tyr Ala Ser

180

5 <210> 3

< 211> 31

< 212> PRT

< 213> ukjent

<220>

10 < 223> Fragment av humant GLP-1 (7 til 37)

<220>

< 221> MOD_RES

< 222> (31)..(31)

< 223> AMIDERING

<400> 3

```
His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Gly
1          5          10          15
```

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

5 <210> 4

< 211> 30

< 212> PRT

< 213> ukjent

<220>

10 < 223> fragment av humant GLP-1 (7-36)

<220>

< 221> MOD_RES

< 222> (30)..(30)

< 223> AMIDERING

15 <400> 4

```
His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Gly
1          5          10          15
```

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

<210> 5

< 211> 39

< 212> PRT

20 < 213> Heloderma suspectum

<220>

< 221> MOD_RES

< 222> (39) .. (39)

< 223> AMIDERING

25 <400> 5

```
His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu 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
 35

<210> 6

< 211> 39

5 < 212> PRT

< 213> Heloderma suspectum

<220>

< 221> MOD_RES

< 222> (39) .. (39)

10 < 223> AMIDERING

<400> 6

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

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

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser
 35

<210> 7

< 211> 37

15 < 212> PRT

< 213> Homo sapiens

<220>

< 221> MOD_RES

< 222> (37)..(37)

20 < 223> AMIDERING

<400> 7

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	Lys	Arg	Asn
		20						25					30		

Arg	Asn	Asn	Ile	Ala
	35			

<210> 8

< 211> 44

5 < 212> PRT

< 213> ukjent

<220>

< 223> GLP-1-liknende peptid

<220>

10 < 221> MOD_RES

< 222> (44)..(44)

<400> 8

His	Gly	Glu	Gly	Thr	Phe	Thr	Ser	Asp	Leu	Ser	Lys	Gln	Met	Glu	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	Ser	Lys	Lys	Lys	Lys	Lys	Lys
		35					40				

<210> 9

15 < 211> 44

< 212> PRT

< 213> ukjent

<220>

< 223> GLP-1-liknende peptid

20 <220>

< 221> MOD_RES

< 222> (44)..(44)

< 223> AMIDERING

<400> 9

His	Gly	Glu	Gly	Thr	Phe	Thr	Ser	Asp	Leu	Ser	Lys	Gln	Met	Glu	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	Ser	Lys	Lys	Lys	Lys	Lys	Lys
		35					40				

Patentkrav

1. Farmasøytisk sammensetning som inneholder minst én FGF-21-forbindelse (fibroblast-vekstfaktor 21) i henhold til SEKV ID NR: 2 og minst én GLP-1 R-agonist (glukagon-liknende peptid-1-reseptor).

2. Farmasøytisk sammensetning ifølge krav 1, der sammensetningen videre inneholder minst ett anti-diabetisk legemiddel og/eller minst én DPP-4-hemmer (dipeptidylpeptidase-4).

3. Farmasøytisk sammensetning ifølge krav 1 eller 2, der FGF-21-forbindelsen i henhold til SEKV ID NR: 2, GLP-1 R-agonistene, opsjonelt de anti-diabetiske legemidlene og opsjonelt DPP-4-hemmeren er kombinert i én formulering eller inneholdt i flere formuleringer.

4. Farmasøytisk sammensetning ifølge krav 3, der formuleringene av FGF-21-forbindelsen i henhold til SEKV ID NR: 2, GLP-1 R-agonistene, opsjonelt de anti-diabetiske legemidlene og opsjonelt DPP-4-hemmeren egner seg til simultan eller påfølgende administrering.

5. Farmasøytisk sammensetning ifølge minst ett av kravene 1-4, der GLP-1R-agonisten er valgt blant et bioaktivt GLP-1, en GLP-1-analog og et GLP-1-substitutt.

6. Farmasøytisk sammensetning ifølge krav 5, der GLP-1 R-agonisten er valgt blant GLP-1 (7-37), GLP-1 (7-36)amid, eksendin-4, liraglutid, CJC-1131, albugon, albiglutid, eksenatid, eksenatid-LAR, oksyntomodulin, liksisenatid, geniprosid, AVE-0010 (SEKV ID NR: 9), et kort peptid med GLP-1 R-agonistisk aktivitet og/eller en liten organisk forbindelse med GLP-1 R-agonistisk aktivitet.

7. Farmasøytisk sammensetning ifølge minst ett av kravene 2-6, der det anti-diabetiske legemiddelet er valgt blant metformin, et tiazolidindion, et sulfonylurea, og/eller insulin.

8. Farmasøytisk sammensetning ifølge minst ett av kravene 2-7, der DPP-4-hemmeren er valgt blant sitagliptin, vildagliptin, saksagliptin, linagliptin, adogliptin og/eller berberin.

5 **9.** Farmasøytisk sammensetning ifølge minst ett av kravene 1-8 for bruk i behandling av minst ett metabolisk syndrom og/eller aterosklerose.

10. Farmasøytisk sammensetning ifølge krav 9, der det metaboliske syndromet er valgt blant diabetes, dyslipidemi, fedme og/eller adipositas, spesielt type 2-diabetes.

10

11. Bruk av en farmasøytisk sammensetning som definert i minst ett av kravene 1-10 for preparasjon av et medikament for å behandle minst ett metabolisk syndrom og/eller aterosklerose hos en pasient.

15 **12.** Bruk ifølge krav 11, der det metaboliske syndromet er valgt blant diabetes, dyslipidemi, fedme og/eller adipositas, spesielt type 2-diabetes.

13. Bruk ifølge krav 11 eller 12, der pasienten er valgt blant en type 1-diabetisk pasient, en type 2-diabetisk pasient, spesielt en kostholdsbehandlet type 2-diabetisk pasient, en sulfonylurea-behandlet type 2-diabetisk pasient, en type 2-diabetisk pasient i langt framskredet stadium, og/eller en langtids insulinbehandlet type 2-diabetisk pasient.

20

Fig. 1

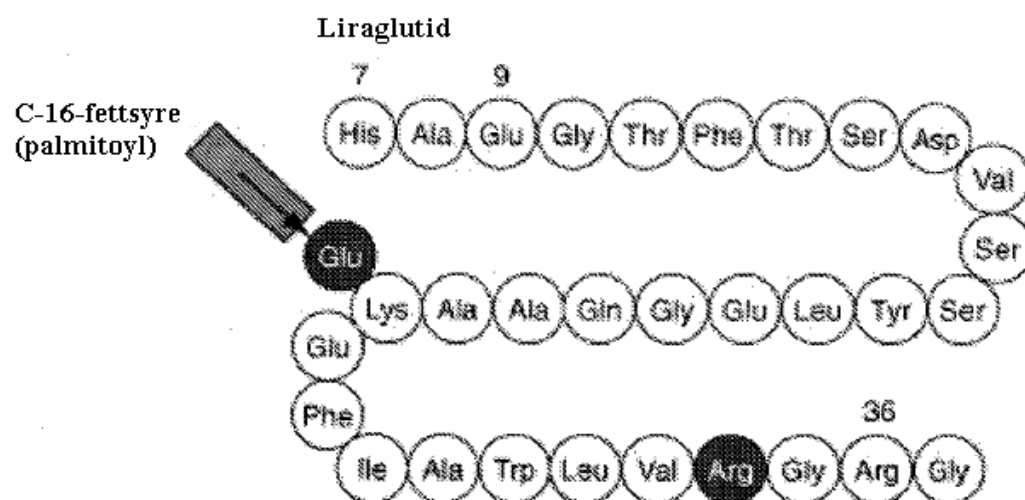


Fig. 2

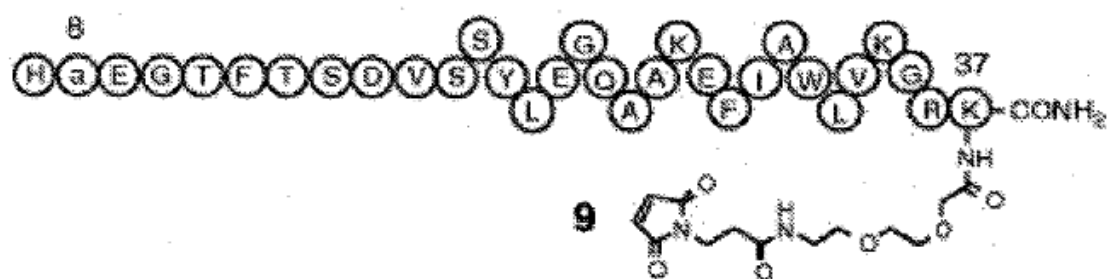


Fig. 3

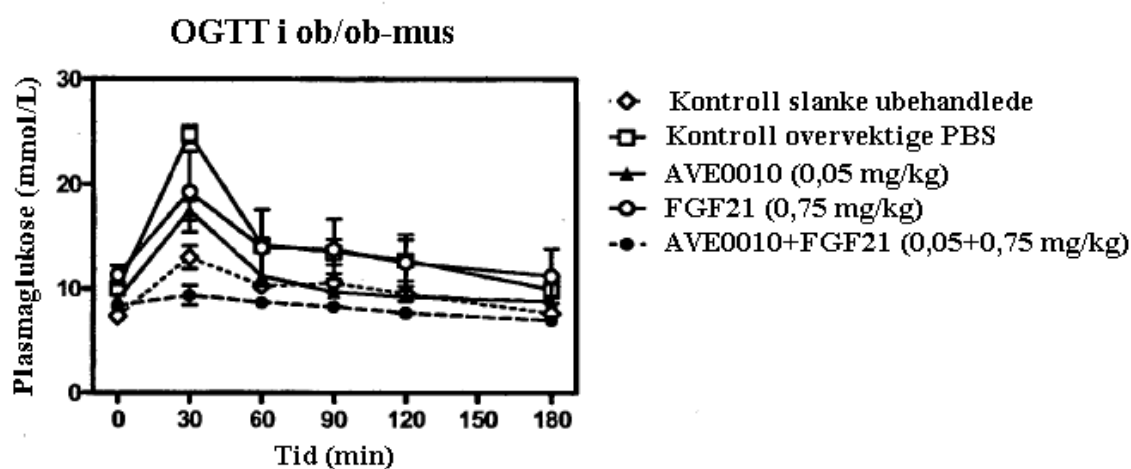


Fig. 4

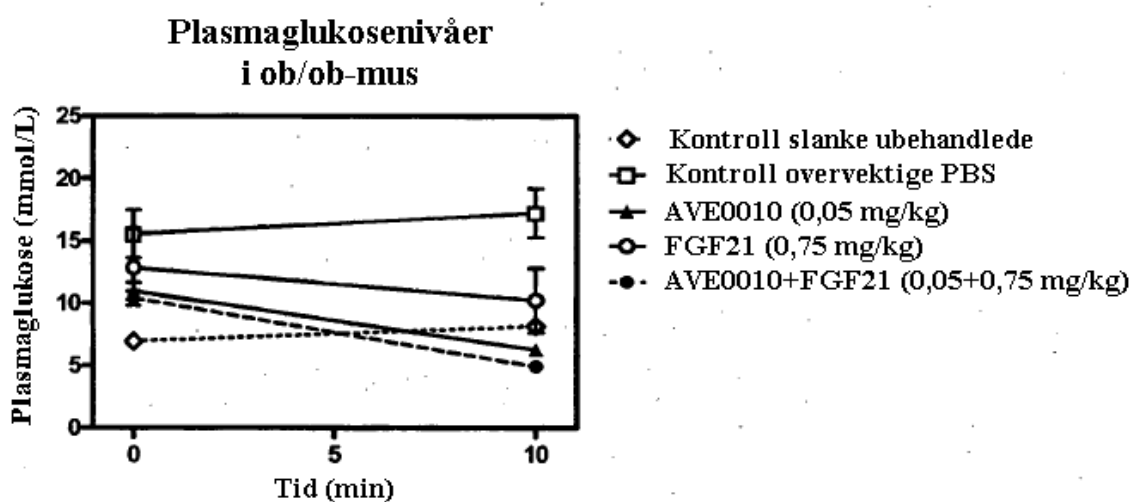


Fig. 5

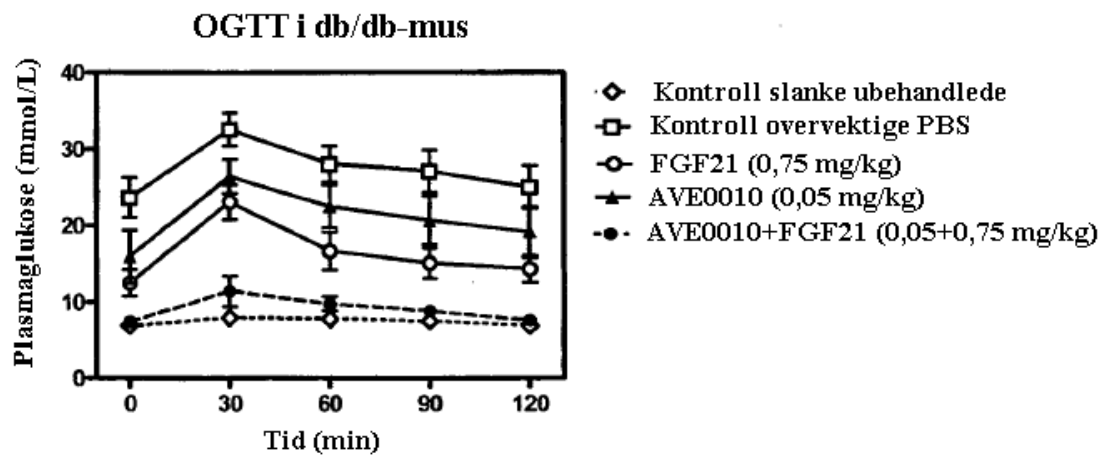


Fig. 6

