

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **035688**

(13) **B1**

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

(45) Дата публикации и выдачи патента
2020.07.27

(51) Int. Cl. **C07K 14/575 (2006.01)**
C07K 14/435 (2006.01)

(21) Номер заявки
201690629

(22) Дата подачи заявки
2014.11.06

(54) **СОЕДИНЕНИЯ, КОТОРЫЕ ПРЕДСТАВЛЯЮТ СОБОЙ ТРОЙНЫЕ АГОНИСТЫ ГЛЮКАГОНА, GLP-1 И GIP**

(31) **61/900,933**

(56) **WO-A2-2012150503**

(32) **2013.11.06**

(33) **US**

(43) **2016.10.31**

(86) **PCT/EP2014/073971**

(87) **WO 2015/067716 2015.05.14**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
ЗИЛЭНД ФАРМА А/С (DK)

(72) Изобретатель:
**Юст Расмус, Рибер Дитте, Шелтон
Анне Перниль Тофтенг (DK),
Остерлунд Торбен (SE), Хансен Кейт,
Йессен Лене (DK)**

(74) Представитель:
Нилова М.И. (RU)

(57) Изобретение относится к соединениям, обладающим агонистической активностью в отношении рецепторов глюкагона, GIP и GLP-1, и к их применению для лечения нарушений метаболизма.

B1

035688

035688

B1

Область техники

Настоящее изобретение относится к соединениям, обладающим агонистической активностью в отношении рецепторов глюкагона, GIP и GLP-1, и к их применению для лечения нарушений метаболизма.

Уровень техники

Диабет и ожирение - все более распространенные во всем мире проблемы со здоровьем, связанные с различными другими заболеваниями, в частности с сердечно-сосудистыми заболеваниями (ССЗ), синдромом обструктивного апноэ во сне, инсультом, заболеванием периферических артерий, микрососудистыми осложнениями и остеоартритом. 246 млн человек в мире страдают диабетом, и к 2025 году согласно оценкам, 380 миллионов будут больны диабетом. Многие имеют дополнительные факторы риска в отношении сердечно-сосудистых заболеваний, включая высокие/абнормальные уровни липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) и триглицеридов, и низкий уровень липопротеинов высокой плотности (ЛПВП). Сердечно-сосудистое заболевание приблизительно в 50% случаев является причиной смертности у людей, страдающих диабетом, и показатели заболеваемости и смертности, связанные с ожирением и диабетом, подчеркивают потребность медицины в разработке эффективных вариантов лечения.

Препроглюкагон представляет собой полипептид-предшественник из 158 аминокислот, который процессируется в разных тканях с образованием ряда различных пептидов, образующихся из проглюкагона, в том числе глюкагона, глюкагоноподобного пептида 1 (GLP-1 или GLP1), глюкагоноподобного пептида 2 (GLP-2) и оксинтомодулина (ОХМ), которые вовлечены в широкий спектр физиологических функций, включая гомеостаз глюкозы, секрецию инсулина, опорожнение желудка и рост кишечника, а также регуляцию потребления пищи. Глюкагон представляет собой пептид из 29 аминокислот, соответствующий аминокислотам препроглюкагона с 33 по 61, тогда как GLP-1 образуется в виде пептида из 37 аминокислот, соответствующего аминокислотам препроглюкагона с 72 по 108.

Когда уровень глюкозы в крови начинает падать, глюкагон, гормон, вырабатываемый поджелудочной железой, посылает сигнал печени о необходимости расщепления гликогена и высвобождения глюкозы, в результате чего уровни глюкозы в крови повышаются до нормального уровня. В дополнение к контролю гомеостаза глюкозы, глюкагон снижает массу тела, вероятно, путем подавления потребления пищи и стимуляции расхода энергии и/или липолиза. GLP-1 обладает другими видами биологической активности по сравнению с глюкагоном. Его действие включает стимуляцию синтеза и секреции инсулина, ингибирование секреции глюкагона и подавление потребления пищи. Было показано, что GLP-1 уменьшает гипергликемию (повышенные уровни глюкозы) у пациентов, страдающих диабетом. Эксендин-4, пептид из яда ящерицы, имеющий последовательность аминокислот, приблизительно на 50% идентичную последовательности аминокислот GLP-1, активирует рецептор GLP-1 и, как было показано, также уменьшает гипергликемию у пациентов, страдающих диабетом.

Глюкозозависимый инсулинотропный полипептид (GIP) представляет собой регуляторный пептид желудочно-кишечного тракта, состоящий из 42 аминокислот, который подобно GLP-1 стимулирует секрецию инсулина β (бета) клетками поджелудочной железы в присутствии повышенных уровней глюкозы в крови. Он образуется в результате протеолитического процессинга из предшественника из 133 аминокислот, препро-GIP.

Интересно, что новые агонисты, оказывающие двойное действие на рецепторы глюкагона и GLP-1, в настоящее время находятся на стадии доклинических исследований (см., например, WO2011/006497). По сравнению с аналогами GLP-1 двойные агонисты глюкагона-GLP-1 связаны с более значительной и устойчивой потерей массы тела в моделях у животных наряду с улучшением гликемического контроля. Таким образом, лекарственные средства на основе глюкагона могут быть перспективны для лечения сахарного диабета 2 типа и/или ожирения.

Инкретины представляют собой гормоны желудочно-кишечного тракта, которые регулируют уровень глюкозы в крови путем усиления секреции инсулина, стимулируемой глюкозой (Drucker, D.J. and Nauck, M.A., *Lancet* 368: 1696-705 (2006)). Два из пептидов, упомянутых выше, известны как инкретины: GLP-1 и GIP. Обнаружение инкретинов привело к разработке двух новых классов лекарственных средств для лечения сахарного диабета. Таким образом, в настоящее время на рынке присутствуют агонисты рецептора GLP-1 в форме для инъекций и соединения с малыми молекулами (ингибиторы DPP-4 для перорального введения), которые ингибируют ферментативную инактивацию как эндогенного GLP-1, так и GIP (агонисты рецептора GLP-1: Баета™, Бидуреон™, Ликсизенатид™ и Лираглутид™, и ингибиторы DPP-4: Янувия™, Галвус™, Онглиза™ и Тражента™). Помимо сильного влияния GLP-1 и GIP на секрецию инсулина, указанные два пептида также оказывают долговременное действие. Данные, полученные из нескольких лабораторий, показывают, что агонисты рецептора GLP-1 (GLP-1R) защищают β -клетки поджелудочной железы путем ингибирования апоптоза и усиления пролиферации.

Например, исследование, проведенное Farilla et al., показало, что GLP-1 оказывал антиапоптотические эффекты в островках у людей (Farilla, L., *Endocrinology* 144: 5149-58 (2003)). О таких эффектах GIP не сообщали до недавнего времени. В 2010 г. Weidenmaier et al. сообщили, что DPP-4-резистентный аналог GIP оказывает антиапоптотическое действие (Weidenmaier, S.D., *PLoS One* 5(3): e9590 (2010)). Интересно, что в модели диабета и ожирения у мышей комбинация агониста рецептора GLP-1 Лираглутида и ацили-

рованного аналога GIP демонстрирует превосходный эффект по сравнению с лечением одним Лираглутидом или аналогом GIP (Gault, V.A., Clinical Science 121: 107-117 (2011)).

Длительное лечение агонистами рецептора GLP-1 вызывает значительную потерю массы тела у людей, страдающих диабетом. Интересно, что длительное применение ингибиторов DPP-4 у аналогичных пациентов не вызывало соответственного изменения массы тела. Данные позволяют предположить (устное выступление Matthias Tschöb в Американской диабетической ассоциации (ADA), 2011), что потеря массы тела, связанная с лечением агонистом GLP-1, усиливается при совместном введении GLP-1 и GIP. У грызунов совместное введение GLP-1 и GIP приводит к большей потере массы тела, чем лечение одним GLP-1 (Finan, Sci Transl Med. 2013; 5(209):209ra151. Irwin N. et al., 2009, Regul Pept; 153: 70-76. Gault et al., 2011, Clin Sci; 121:107-117). Таким образом, в дополнение к улучшению уровня глюкозы в крови GIP может также усиливать GLP-1-опосредуемую потерю массы тела. На этом же выступлении было также показано, что комбинация агонистического действия в отношении рецепторов глюкагона, GLP-1 и GIP приводила к дополнительной потере массы тела у мышей DIO.

Путем комбинирования агонистического действия в отношении рецепторов глюкагона, GLP-1 и GIP в новых пептидах согласно настоящему изобретению, ожидают, что можно добиться лучшего гликемического контроля и достигать большей потери массы тела. Такие пептиды, вероятно, демонстрируют сильное действие инкретина и улучшенное сохранение β -клеток благодаря GLP-1- и GIP-компонентам, а также увеличение потери массы тела благодаря всем трем компонентам за счет стимуляции расхода энергии, липолиза и снижения потребления пищи.

Краткое описание изобретения

В широком смысле настоящее изобретение относится к тройным агонистам глюкагона-GLP-1-GIP (называемым в настоящем описании "тройными агонистами"), которые содержат одну или более замен по сравнению с глюкагоном дикого типа и которые могут обладать свойством измененной, предпочтительно повышенной активности в отношении рецепторов GIP и GLP-1, например, оцененной в анализах эффективности *in vitro*. Согласно настоящему изобретению было обнаружено, что агонисты рецепторов глюкагона-GLP-1-GIP тройного действия превосходят существующие продаваемые аналоги GLP-1, поскольку указанные тройные агонисты обеспечивают улучшенный гликемический контроль, возможное сохранение островков и β -клеток и усиленную потерю массы тела. Тройные агонисты глюкагона-GLP-1-GIP можно применять в качестве лекарственных средств для лечения как сахарного диабета 2 типа, ожирения, так и связанных с ними нарушений.

Согласно настоящему изобретению предложен тройной агонист, имеющий общую формулу (I)
 R^1 -Tyr-X2-Gln-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-X10-Ser-X12-X13-Leu-X15-X16-X17-Ala-X19-X20-X21-Phe-X23-X24-Trp-Leu-X27-X28-X29-X30-Y1-R² (I),

где R¹ представляет собой H- (т.е. водород), C₁-алкил, ацетил, формил, бензоил, трифторацетил или pGlu;

X2 представляет собой Aib, Gly, Ala, D-Ala, Ser, N-Me-Ser, Ac3c, Ac4c или Ac5c;

X10 представляет собой Tyr или Leu;

X12 представляет собой Lys, Ile или Ψ ;

X13 представляет собой Ala, Tyr или Aib;

X15 представляет собой Asp или Glu;

X16 представляет собой Ser, Glu, Lys или Ψ ;

X17 представляет собой Lys или Ψ ;

X19 представляет собой Gln или Ala;

X20 представляет собой Lys, His, Arg или Ψ ;

X21 представляет собой Ala, Asp или Glu;

X23 представляет собой Val или Ile;

X24 представляет собой Asn, Glu или Ψ ;

X27 представляет собой Leu, Glu или Val;

X28 представляет собой Ala, Ser, Arg или Ψ ;

X29 представляет собой Aib, Ala, Gln или Lys;

X30 представляет собой Lys, Gly или отсутствует;

Y1 представляет собой Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser, Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Ser, Lys-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser, Lys-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Ser, Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser or Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Ser или отсутствует;

Ψ представляет собой остаток Lys, Arg, Orn или Cys, в котором боковая цепь конъюгирована с липофильным заместителем; и

R² представляет собой -NH₂ или -OH;

или фармацевтически приемлемая соль или сольват указанного соединения.

В некоторых вариантах реализации Ψ присутствует в одном из положений X12, X16 и X17.

В некоторых вариантах реализации соединение содержит только один остаток Ψ , который может присутствовать в любом из положений X12, X16, X17, X20, X24 или X28. Например, он может присут-

воват в одном из X12, X16 и X17.

В некоторых вариантах реализации соединения может содержать один или более следующих наборов остатков:

K12 и Y13; I12 и Y13; K12 и A13; I12 и A13 или Ψ12 и Y13;
 D15 и S16; D15 и E16; E15 и K16; D15 и Ψ16; E15 и S16 или E15 и Ψ16;
 A19, H20 и D21; A19, K20 и D21; A19, R20 и D21; Q19, K20 и E21; A19, K20 и E21 или Q19, R20 и A21; но особенно A19, H20 и D21; A19, R20 и D21 или Q19, R20 и A21;
 I23 и E24; V23 и E24 или V23 и N24;
 L27, R28 и A29; L27, S28 и A29; L27, A28 и Q29; E27, S28 и A29 или V27 и A28, и Aib29;
 E15 и K17;
 E15 и Ψ17;
 E15 и Ψ17 и Q19;
 Q19 и E24;
 E16 и Ψ17 и Q19 и/или
 K16 и Ψ17 и Q19.

Любой из данных наборов остатков или их комбинации можно комбинировать с Aib2, Ser2 или Ac4c2, особенно Aib2; и/или Tug10 или Leu10, особенно Tug10.

Положения с 1 по 29 могут иметь последовательность

YSQGTFTSDYSKYLD SKAAHDFVEWLLRA;

YSQGTFTSDYSKYLDΨKAAHDFVEWLLRA;

Y-Aib-QGTFTSDYSIYLD SKAAHDFVEWLLSA;

Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDEKAAHDFVEWLLSA;

Y-Aib-QGTFTSDYSIYLEKAAHDFVEWLLSA;

Y-Aib-QGTFTSDYSIYLESKAAHDFVEWLLSA;

Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDKKAHDFVEWLLSA;

Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDEΨAAHDFVEWLLSA;

Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDSPAAHDFVEWLLSA;

Y-Aib-QGTFTSDYSKYLDSPAAHDFVEWLLSA;

Y-Aib-QGTFTSDYSKALDSKAAHDFVEWLLSA;

Y-Aib-QGTFTSDYSKYLESKAAHDFVEWLLSA;

Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDSKAAKDFVEWLLSA;

Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDKAAKDFVEWLLSA;

Y-Aib-QGTFTSDYSKYLDSKAARDVEWLLSA;

Y-Aib-QGTFTSDYSIYLEKKAQKEFVEWLLSA;

Y-Aib-QGTFTSDYSKYLEKKAQKEFVEWLLSA;

Y-Aib-QGTFTSDYSIYLEKKAKEFVEWLLSA;

Y-Aib-QGTFTSDYSKALDEKAAKEFVEWLLSA;

Y-Aib-QGTFTSDYSIYLEKSPAAKEFVEWLLSA;

Y-Aib-QGTFTSDYSIYLEKSPAAKEFVEWLLSA;

Y-Aib-QGTFTSDYSIYLEKKAKEFVEWLLSA;

Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDSKAAHDFVNWLLSA;

Y-Aib-QGTFTSDLIALEKSPAQRAFVEWLLAQ;

Y-Aib-QGTFTSDYSKYLDSPAAKDFIEWLESA;

Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDSPAAKDFIEWLESA;

Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDSPAAKDFIEWLESA;

Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDSPAAKEFIEWLESA;

Y-Aib-QGTFTSDYSKYLDSKAAHDFVEWLLRA;

Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDSKAAHDFVEWLLRA;

Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDSPAAHDFVEWLLRA;

Y-Aib-QGTFTSDYSIYLEKSPAQRAFVEWLLRA;

Y-Aib-QGTFTSDYSIALDKSPAQRAFVNWLVA-Aib;

Y-Ac4c-QGTFTSDYSIYLDSPAAKEFIEWLESA;

Y-Ac4c-QGTFTSDYSIALEKSPAQRAFVEWLLAQ; или

Y-Ac4c-QGTFTSDYSIYLDKSPAQRAFVEWLLAQ.

В качестве альтернативы до 4 положений, например 1, 2, 3 или 4 положения, из положений с 1 по 29 могут отличаться от любой из конкретных последовательностей, представленных выше, в рамках формулы (I).

Например, в положениях с 1 по 29 могут отличаться до 4 положений, например отличаться 1, 2, 3 или 4 положения от одной из следующих последовательностей:

Y-Aib-QGTFTSDYSIYLEKSPAAKEFVEWLLSA;

Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDSPAAHDFVEWLLSA; или

Y-Aib-QGTFTSDYSIALEKSPAQRAFVEWLLAQ.

Положения с 1 по 29 могут иметь последовательность

YSQGTFTSDYSKYLD-K(Гексадеканойл-изоGlu)-KAAHDFVEWLLRA;

Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDE-K(Гексадеканойл-изоGlu)-AAHDFVEWLLSA;

Y-Aib-QGTFTSDYSIYLD-K(Гексадеканойл-изоGlu)-AAHDFVEWLLSA;

Y-Aib-QGTFTSDYSKYLDS-K(Гексадеканойл-изоGlu)-AAHDFVEWLLSA;

Y-Aib-QGTFTSDYSIYLEK-K(Гексадеканойл-изоGlu)-AAKEFVEWLLSA;

Y-Aib-QGTFTSDYSIYLE-K(Гексадеканойл-изоGlu)-KAAKEFVEWLLSA;

Y-Aib-QGTFTSDYS-K(Гексадеканойл-изоGlu)-YLEKKAKEFVEWLLSA;

Y-Aib-QGTFTSDYSIYLEK-K(Гексадеканойл-изоGlu)-AAKEFVEWLLSA;

Y-Aib-QGTFTSDYSIYLEK-K(Октадеканойл-изоGlu-Peg3-Peg3)-AAKEFVEWLLSA;

Y-Aib-QGTFTSDYSIYLEK-K([17-карбоксигептадеканойл]-изоGlu-Peg3-Peg3)-AAKEFVEWLLSA;

Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDK-K([17-карбоксигептадеканойл]-изоGlu-Peg3-Peg3)-

AQRAFVEWLLAQ;

Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDK-K([17-карбоксигептадеканойл]-изоGlu)-AQRAFVEWLLAQ;

Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDK-K(Октадеканойл-изоGlu-Peg3-Peg3)-AQRAFVEWLLAQ;

Y-Aib-QGTFTSDYSIYLD-K(эйкозаноил-изоGlu-Peg3-Peg3)-AQRAFVEWLLAQ;

Y-Aib-QGTFTSDYSIALEK-K([17-карбоксигептадеканойл]-изоGlu-Peg3-Peg3)-

AQRAFVEWLLAQ;

Y-Aib-QGTFTSDYSIALEK-K(Октадеканойл-изоGlu-Peg3-Peg3)-AQRAFVEWLLAQ;

Y-Aib-QGTFTSDYSIALE-K([19-карбоксивонадеканойл]-изоGlu-Peg3-Peg3)-

AQRAFVEWLLAQ;

Y-Aib-QGTFTSDLSIALE-K(Октадеканойл-изоGlu-Peg3-Peg3)-AQRAFVEWLLAQ;

Y-Aib-QGTFTSDYSKYLDE-K(Гексадеканойл-изоGlu)-AAKDFIEWLESA;

Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDE-K(Гексадеканойл-изоGlu)-AAKDFIEWLESA;

Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDE-K(Гексадеканойл-изоGlu)-AAKDFIEWLESA;

Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDE-K(Октадеканойл-изоGlu-Peg3-Peg3)-AAKEFIEWLESA;

Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDE-K([17-карбоксигептадеканойл]-изоGlu-Peg3-Peg3)-

AAKEFIEWLESA;

Y-Aib-QGTFTSDYSIYLD-K(Гексадеканойл-изоGlu)-AAHDFVEWLLRA;

Y-Aib-QGTFTSDYSIYLE-K(Октадеканойл-изоGlu-Peg3-Peg3)-AQRAFVEWLLRA;

Y-Aib-QGTFTSDYSIYLE-K([17-карбоксигептадеканойл]-изоGlu-Peg3-Peg3)-

AQRAFVEWLLRA;

Y-Aib-QGTFTSDYSIALD-K(Октадеканойл-изоGlu-Peg3-Peg3)-AQRAFVNWLVA-Aib;

Y-Aib-QGTFTSDYSIALD-K(Октадеканойл-Dара-Peg3-Peg3)-AQRAFVNWLVA-Aib;

Y-Aib-QGTFTSDYSIALDK-K([19-карбоксивонадеканойл]-изоGlu-Peg3-Peg3)-

AQRAFVNWLVA-Aib;

Y-Ac4c-QGTFTSDYSIYLDE-K([19-карбоксивонадеканойл]-изоGlu-Peg3-Peg3)-

AAKEFIEWLESA;

Y-Ac4c-QGTFTSDYSIALE-K([19-карбоксивонадеканойл]-изоGlu-Peg3-Peg3)-

AQRAFVEWLLAQ, или

Y-Ac4c-QGTFTSDYSIYLDK-K(19-карбоксигептадеканойл-изоGlu-Peg3-

Peg3)AQRAFVEWLLAQ.

Пептидный остов формулы (I) может иметь последовательность
 YSQGTFTSDYSKYLDSKAAHDFVEWLLRA;
 YSQGTFTSDYSKYLDΨKAAHDFVEWLLRA;

Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDKAAHDFVEWLLSA;
 Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDEKAAHDFVEWLLSA;
 Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDKAAHDFVEWLLSAGPSSGAPPPS;
 Y-Aib-QGTFTSDYSIYLEKKAHDFVEWLLSA;
 Y-Aib-QGTFTSDYSIYLESKAAHDFVEWLLSA;
 Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDKAAHDFVEWLLSA;
 Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDEΨAAHDFVEWLLSA;
 Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDKAAHDFVEWLLSAGPSSGAPPPS;

Y-Aib-QGTFTSDYSKYLDKAAHDFVEWLLSA;
 Y-Aib-QGTFTSDYSKALDSKAAHDFVEWLLSA;
 Y-Aib-QGTFTSDYSKYLESKAAHDFVEWLLSA;

Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDKAAKDFVEWLLSA;
 Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDEKAAKDFVEWLLSA;
 Y-Aib-QGTFTSDYSKYLDKAAKDFVEWLLSA;

Y-Aib-QGTFTSDYSIYLEKKAQKEFVEWLLSA;
 Y-Aib-QGTFTSDYSKYLEKKAQKEFVEWLLSA;

Y-Aib-QGTFTSDYSIYLEKKAKEFVEWLLSA;
 Y-Aib-QGTFTSDYSKALDEKAAKEFVEWLLSA;
 Y-Aib-QGTFTSDYSIYLEKΨAAKEFVEWLLSA;
 Y-Aib-QGTFTSDYSIYLEΨKAAKEFVEWLLSA;
 Y-Aib-QGTFTSDYSIYLEKKAKEFVEWLLSA;
 Y-Aib-QGTFTSDYSIYLEKΨAAKEFVEWLLSAGPSSGAPPPS;

Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDKAAHDFVNWLLSA;

Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDKΨAQRAFVEWLLAQGPSSGAPPPS;
 Y-Aib-QGTFTSDYSIALEKΨAQRAFVEWLLAQK;
 Y-Aib-QGTFTSDLSIALEKΨAQRAFVEWLLAQK;

Y-Aib-QGTFTSDYSKYLDKAAKDFIEWLESA;
 Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDEΨAAKDFIEWLESA;
 Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDEΨAAKDFIEWLESA;
 Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDEΨAAKEFIEWLESA;
 Y-Aib-QGTFTSDYSKYLDKAAHDFVEWLLRA;
 Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDKAAHDFVEWLLRA;
 Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDKAAHDFVEWLLRA;
 Y-Aib-QGTFTSDYSIYLEKΨAQRAFVEWLLRA;

Y-Aib-QGTFTSDYSIALDKΨAQRAFVNWLV-Aib-KPSSGAPPPS;

Y-Ac4c-QGTFTSDYSIYLDEΨAAKEFIEWLESA;
 Y-Ac4c-QGTFTSDYSIALEKΨAQRAFVEWLLAQK; Y
 Y-Ac4c-QGTFTSDYSIYLDKΨAQRAFVEWLLAQGPSSGAPPPS; или

Y-Ac4c-QGTFTSDYSIYLDKΨAQRAFVEWLLAQGPSSGAPPPS.

В качестве альтернативы до 5 положений в последовательности пептидного остова могут отличаться от одной из последовательностей, представленных выше, в рамках формулы (I). Во избежание неопределенности, последовательность, удовлетворяющая определению Y1, считается одним положением. Как правило, соединение отличается от эталонной последовательности только в 4 положениях в рамках X1-X29. Таким образом, если соединение отличается от эталонной последовательности в 5 положениях, одно из данных положений, как правило, представляет собой X30 или Y1.

В частности, до 5 положений в последовательности пептидного остова может отличаться от одной из последовательностей:

Y-Aib-QGTFTSDYSIYLEKΨAAKEFVEWLLSAGPSSGAPPPS;

Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDEΨAAHDFVEWLLSA, или

Y-Aib-QGTFTSDYSIALEKΨAQRAFVEWLLAQK.

Пептидный остов формулы (I) может иметь последовательность
YSQGTFTSDYSKYLD-K(Гексадеканойл-изоGlu)-KAAHDFVEWLLRA;

Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDE-K(Гексадеканойл-изоGlu)-AAHDFVEWLLSA;

Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDS-K(Гексадеканойл-изоGlu)-AAHDFVEWLLSAGPSSGAPPPS;

Y-Aib-QGTFTSDYSKYLDS-K(Гексадеканойл-изоGlu)-AAHDFVEWLLSA;

Y-Aib-QGTFTSDYSIYLEK-K(Гексадеканойл-изоGlu)-AAKEFVEWLLSA;

Y-Aib-QGTFTSDYSIYLE-K(Гексадеканойл-изоGlu)-KAAKEFVEWLLSA;

Y-Aib-QGTFTSDYS-K(Гексадеканойл-изоGlu)-YLEKKAAKEFVEWLLSA;

Y-Aib-QGTFTSDYSIYLEK-K(Гексадеканойл-изоGlu)-AAKEFVEWLLSAGPSSGAPPPS;
 Y-Aib-QGTFTSDYSIYLEK-K(Октадеканойл-изоGlu-Peg3-Peg3)-
 AAKEFVEWLLSAGPSSGAPPPS;
 Y-Aib-QGTFTSDYSIYLEK-K([17-карбоксигептадеканойл]-изоGlu-Peg3-Peg3)-
 AAKEFVEWLLSAGPSSGAPPPS;

Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDK-K([17-карбоксигептадеканойл]-изоGlu-Peg3-Peg3)-
 AQRAFVEWLLAQGPSSGAPPPS;
 Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDK-K([17-карбоксигептадеканойл]-изоGlu)-
 AQRAFVEWLLAQGPSSGAPPPS;
 Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDK-K(Октадеканойл-изоGlu-Peg3-Peg3)-
 AQRAFVEWLLAQGPSSGAPPPS;
 Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDK-K(эйкозаноил-изоGlu-Peg3-Peg3)-
 AQRAFVEWLLAQGPSSGAPPPS;
 Y-Aib-QGTFTSDYSIALEK-K([17-карбоксигептадеканойл]-изоGlu-Peg3-Peg3)-
 AQRAFVEWLLAQK;
 Y-Aib-QGTFTSDYSIALEK-K(Октадеканойл-изоGlu-Peg3-Peg3)-AQRAFVEWLLAQK;

Y-Aib-QGTFTSDYSIALEK-K([19-карбоксинонадеканойл]-изоGlu-Peg3-Peg3)-
 AQRAFVEWLLAQK;
 Y-Aib-QGTFTSDLSIALEK-K(Октадеканойл-изоGlu-Peg3-Peg3)-AQRAFVEWLLAQK;

Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDE-K(Гексадеканойл-изоGlu)-AAKDFIEWLESA;
 Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDE-K(Гексадеканойл-изоGlu)-AAKDFIEWLESA;
 Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDE-K(Гексадеканойл-изоGlu)-AAKDFIEWLESA;
 Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDE-K(Октадеканойл-изоGlu-Peg3-Peg3)-AAKEFIEWLESA;
 Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDE-K([17-карбоксигептадеканойл]-изоGlu-Peg3-Peg3)-
 AAKEFIEWLESA;

Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDK-K(Гексадеканойл-изоGlu)-AAHDFVEWLLRA;
 Y-Aib-QGTFTSDYSIYLEK-K(Октадеканойл-изоGlu-Peg3-Peg3)-AQRAFVEWLLRA;
 Y-Aib-QGTFTSDYSIYLEK-K([17-карбоксигептадеканойл]-изоGlu-Peg3-Peg3)-
 AQRAFVEWLLRA;
 Y-Aib-QGTFTSDYSIALD-K(Октадеканойл-изоGlu-Peg3-Peg3)-AQRAFVNWLVA-Aib-
 KPSSGAPPPS;
 Y-Aib-QGTFTSDYSIALD-K(Октадеканойл-Dapa-Peg3-Peg3)-AQRAFVNWLVA-Aib-
 KPSSGAPPPS;
 Y-Aib-QGTFTSDYSIALDK-K([19-карбоксинонадеканойл]-изоGlu-Peg3-Peg3)-
 AQRAFVNWLVA-Aib-KPSSGAPPPS;

Y-Ac4c-QGTFTSDYSIYLDE-K([19-карбоксинонадеканойл]-изоGlu-Peg3-Peg3)-
 AAKEFIEWLESA;
 Y-Ac4c-QGTFTSDYSIALEK-K([19-карбоксинонадеканойл]-изоGlu-Peg3-Peg3)-
 AQRAFVEWLLAQK; или
 Y-Ac4c-QGTFTSDYSIYLDK-K(19-карбоксигептадеканойл-изоGlu-Peg3-Peg3)-
 AQRAFVEWLLAQGPSSGAPPPS

Некоторые из групп Y1, когда присутствуют, могут обеспечивать повышенную стабильность in vivo, например, в сыворотке и таким образом могут вносить вклад в период полувыведения аналога GIP.

Без конкретного теоретического обоснования, полагают, что данные группы могут способствовать стабилизации трехмерной конформации молекулы и/или обеспечивать устойчивость к протеолитическому распаду.

Например, последовательности Y1: Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser, Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Ser, Lys-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser, Lys-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Ser, Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser и Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Ser обладают гомологией с С-концевой частью молекулы эксендина-4 и, по-видимому, вносят вклад в стабильность молекулы без сопутствующего обеспечения значительных уровней агонистической активности GLP-1.

Согласно настоящему изобретению также предложена нуклеиновая кислота, кодирующая пептид, имеющий последовательность X1-X30 формулы (I). Также предложена экспрессионная конструкция (также известная как вектор экспрессии), содержащая нуклеиновую кислоту согласно настоящему изобретению, функционально связанную с подходящими регуляторными элементами для направления экспрессии пептида, например транскрипции и трансляции. Согласно настоящему изобретению также предложена клетка-хозяин, содержащая нуклеиновую кислоту или конструкцию экспрессии и способная экспрессировать и возможно секретировать пептид.

Пептид может сам представлять собой соединение согласно настоящему изобретению, например, когда указанный пептид содержит только встречающиеся в природе аминокислоты (т.е. протеиногенные аминокислоты), не содержит остатка Ψ , и в котором R^1 и R^2 представляют собой H- и -ОН соответственно. В качестве альтернативы, пептид может представлять собой предшественник соединения согласно настоящему изобретению.

Согласно настоящему изобретению также предложена фармацевтическая композиция, содержащая тройной агонист, описанный в настоящем документе, или его фармацевтически приемлемую соль, или сольват в смеси с носителем, предпочтительно с фармацевтически приемлемым носителем. Указанный тройной агонист может, например, представлять собой фармацевтически приемлемую соль присоединения кислоты.

Фармацевтическая композиция может быть представлена в виде жидкости, подходящей для введения путем инъекции или инфузии, или получена таким образом, чтобы вызывать медленное высвобождение указанного тройного агониста.

Согласно настоящему изобретению также предложен терапевтический набор, содержащий тройной агонист, описанный в настоящем документе, и устройство, содержащее тройной агонист, описанный в настоящем документе.

Согласно настоящему изобретению также предложен тройной агонист, описанный в настоящем документе, или его фармацевтически приемлемая соль или сольват для применения в способе лечения, например для применения для лечения и/или предотвращения нарушения метаболизма.

Согласно настоящему изобретению также предложено применение тройного агониста, описанного в настоящем документе, или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата для получения лекарственного средства для лечения и/или предотвращения нарушения метаболизма.

Согласно настоящему изобретению также предложен способ предотвращения и/или лечения нарушения метаболизма у субъекта, включающий введение тройного агониста, описанного в настоящем документе, или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата указанному субъекту.

Указанное нарушение метаболизма может представлять собой диабет или связанное с диабетом нарушение, или ожирение, или связанное с ожирением нарушение. Связь между ожирением и диабетом хорошо известна, поэтому данные состояния не обязательно являются отдельными или взаимоисключающими.

Связанные с диабетом нарушения включают резистентность к инсулину, нарушение толерантности к глюкозе, повышение уровня глюкозы натощак, преддиабет, диабет 1 типа, диабет 2 типа, гипертензию при гестационном диабете, дислипидемию, связанные с костями нарушения и их комбинации.

Связанные с диабетом нарушения также включают атеросклероз, артериосклероз, ишемическую болезнь сердца, заболевание периферических артерий и инсульт; или состояния, связанные с атерогенной дислипидемией, нарушения уровней жиров крови, повышенное кровяное давление, гипертензию, протромботическое состояние и провоспалительное состояние.

Связанные с костями нарушения включают, но не ограничиваются ими, остеопороз и повышенный риск перелома кости.

Нарушение уровней жиров крови может быть выбрано из высоких уровней триглицеридов, низкого уровня холестерина ЛПВП, высокого уровня холестерина ЛПНП и образования бляшек на стенках артерий или их комбинации.

Протромботическое состояние может быть выбрано из высоких уровней фибриногена в крови и высоких уровней ингибитора активатора плазминогена-1 в крови.

Провоспалительное состояние может представлять собой повышенный уровень С-реактивного белка в крови.

Связанные с ожирением нарушения включают воспаление, связанное с ожирением, заболевание желчного пузыря, связанное с ожирением, и апноэ во сне, индуцированное ожирением, или могут быть

связаны с состоянием, выбранным из атерогенной дислипидемии, нарушений уровней жиров крови, повышенного кровяного давления, гипертензии, протромботического состояния и провоспалительного состояния или их комбинации.

Подробное описание изобретения

Если в настоящем описании не определено иное, научные и технические термины, используемые в настоящей заявке, имеют значения, обычно понятные специалисту в данной области техники. Как правило, используемая терминология и методики химии, молекулярной биологии, биологии клетки и рака, иммунологии, микробиологии, фармакологии и химии белков и нуклеиновых кислот, описанных в настоящем документе, являются хорошо известными и обычно используемыми в данной области техники.

Определения.

Если не указано иное, для конкретных терминов, употребляемых в описании выше, приведены следующие определения.

На всем протяжении настоящего описания термин "содержать (включать)" или такие вариации, как "содержит (включает)" или "содержащий (включающий)", означает включение указанного целого числа (или компонентов) или группы целых чисел (или компонентов), но не исключение какого-либо другого целого числа (или компонентов) или группы целых чисел (или компонентов).

Формы единственного числа включают множественное число, если в контексте явным образом не указано иное.

Термин "включая" означает "включая, но не ограничиваясь ими". Термины "включая" и "включая, но не ограничиваясь ими" являются взаимозаменяемыми.

Термины "пациент", "субъект" и "индивидуум" являются взаимозаменяемыми и относятся к животному, либо относящемуся к человеку, либо не относящемуся к человеку. Данные термины включают млекопитающих, таких как люди, приматы, сельскохозяйственные животные (например, коровы, свиньи), животные-компаньоны (например, собаки, кошки) и грызуны (например, мыши и крысы).

Термин "сольват" в контексте настоящего изобретения относится к комплексу определенной стехиометрии, образованному между растворенным веществом (в данном случае пептидным конъюгатом или его фармацевтически приемлемой солью согласно настоящему изобретению) и растворителем. В этой связи растворитель может, например, представлять собой воду, этанол или другие фармацевтически приемлемые, как правило, органические вещества с малыми молекулами, такие как, но не ограничиваясь ими, уксусная кислота или молочная кислота. Когда рассматриваемый растворитель представляет собой воду, такой сольват обычно называется гидратом.

Термин "агонист", употребляемый в контексте настоящего изобретения, относится к веществу (лиганду), которое активирует рассматриваемый тип рецепторов.

На всем протяжении настоящего описания и формулы изобретения используются традиционные однобуквенные и трехбуквенные обозначения для природных (или протеиногенных) аминокислот, а также общепринятые трехбуквенные обозначения для остальных (неприродных или "непротеиногенных") α -аминокислот, такие как Aib (α -аминоизомасляная кислота), Orn (орнитин) и D-Ala (D-аланин). Все аминокислотные остатки в пептидах согласно настоящему изобретению предпочтительно находятся в L-конфигурации, за исключением случаев с точным указанием.

К числу последовательностей, описанных в настоящем документе, относятся последовательности, содержащие группу "H-" на аминоконце (N-конце) последовательности, и либо группу "-OH", либо группу "-NH₂" на карбоксиконце (C-конце) последовательности. В таких случаях и если не указано иное, группа "H-" на N-конце рассматриваемой последовательности обозначает атом водорода (т.е. R¹ = H-), что соответствует наличию свободной первичной или вторичной аминогруппы на N-конце, в то время как группа "-OH" или "-NH₂" на C-конце последовательности (т.е. R² = -OH или -NH₂) обозначает карбоксигруппу (-COOH) или амидогруппу (-CONH₂) на C-конце соответственно.

На N-конце возможны другие группы R¹, включая пироглутаминовую кислоту (pGlu; (S)-(-)-2-пирролидон-5-карбоновая кислота), C₁₋₄алкил, ацетил, формил, бензоил и трифторацетил.

Агонистическая активность в отношении рецепторов.

Как упомянуто выше, соединения, описанные в настоящем документе, представляют собой тройные агонисты глюкагона-GIP-GLP 1. То есть они обладают агонистической активностью в отношении всех трех рецепторов: рецептора глюкагона, рецептора GIP и рецептора GLP-1.

В контексте настоящего изобретения термин "агонист" относится к веществу (лиганду), которое способно связываться с конкретным рецептором и активировать передачу сигнала данным рецептором. Таким образом, агонист рецептора GIP способен связываться с рецептором GIP (обозначаемым GIP-R) и активировать передачу сигнала данным рецептором, например, путем образования цАМФ или индукции высвобождения Ca²⁺. Таким образом, агонистическая активность в отношении рецептора GIP может быть измерена путем оценки передачи сигнала рецептором GIP, которая может быть измерена, например, по образованию цАМФ или высвобождению Ca²⁺.

Последовательность кДНК, кодирующая рецептор GIP человека, имеет номер доступа Genbank BC101673.1 (GL75516688). Указанная кодируемая аминокислотная последовательность (включая сигнальный пептид) представляет собой:

1 MTTSPILQLL LRLSLCGLLL QRAETGSKGQ TAGELYQRWE RYRRECQETL
 AAAEPPSGLA
 61 CNGSFDMYVC WDYAAPNATA RASCPWYLPW HHHVAAGFVL RQCGSDGQWG
 LWRDHTQCEN
 121 PEKNEAFLDQ RLILERLQVM YTVGYSLSLA TLLLALLILS LFRRLHCTR
 N YIHINLFTSF
 181 MLRAAAILSR DRLLPRPGPY LGDQALALWN QALAACRTAQ IVTQYCVGAN
 YTWLLVEGVY
 241 LHSLLVLVGG SEEGHFRYYL LLGWGAPALF VIPWVIVRYL YENTQCWERN
 EVKAIWUIR
 301 TPILMTILIN FLIFIRILGI LLSKLRTRQM RCRDYRLRLA RSTLTLVPLL
 GVHEVVFAPV
 361 TEEQARGALR FAKLGFEIFL SSFQGLVSV LYCFINKEVQ SEIRRGWHHC
 RLRRSLGEEQ
 421 RQLPERAFRA LPSGSGPGEV PTSRGLSSGT LPGPGNEASR ELESYC

(GenBank AAI01674.1 GI:75516689). Ее можно использовать в любых анализах для определения передачи сигнала GIP.

Подобным образом, соединения обладают агонистической активностью в отношении рецептора GLP-1 (GLP-1-R), т.е. они способны связываться с рецептором GLP-1 и активировать передачу сигнала данным рецептором, например, путем образования цАМФ или индукции высвобождения Ca^{2+} . Таким образом, агонистическая активность в отношении рецептора GLP-1 может быть измерена путем оценки передачи сигнала рецептором GLP-1, которая может быть измерена, например, по образованию цАМФ или высвобождению Ca^{2+} .

Рецептор GLP-1 может иметь последовательность рецептора глюкагоноподобного пептида 1 человека (GLP-1R), имеющую первичный номер доступа P43220. Белок-предшественник (включая сигнальный пептид) имеет первичный номер доступа NP_002053.3; GI:166795283 и имеет последовательность:

1 MAGAPGPLRL ALLLLGMVGR AGPRPQATV SLWETVQKWR EYRRQCQRSL
 TEDPPPATDL
 61 FCNRTFDEYA CWPDGEPGSF VNVSCPWYLP WASSVPQGHV YRFCTAEGW
 LQKDNSSLPW
 121 RDLSECEESK RGERSSPEEQ LLFLYIITV GYALSFSALV IASAILLGR
 HLHCTRNYIH
 181 LNLFASFILR ALSVFIKDAAL KWMYSTAAQ QHQWDGLLSY QDSLSCRLVF
 LLMQYCVAAAN
 241 YYWLLVEGVY LYTLAFAVSL SEQWIFRLYV SIGWGVPLLF VVPWGIVKYL
 YEDEGCWTRN
 301 SNMNYWLIIR LPILFAIGVN FLIFVRVICI VVSKLKANLM CKTDIKCRLA
 KSTLTLIPLL
 361 GTHEVIFAFV MDEHARGTLR FIKLFTLSF TSFQGLMVAI LYCFVNNEVQ
 LEFRKSWERW
 421 RLEHLHIQRD SSMKPLKCPT SSLSSGATAG SSMYTATCQA SCS.

Подобным образом, соединения обладают агонистической активностью в отношении рецептора глюкагона (Glu-R), т.е. они способны связываться с рецептором глюкагона и активировать передачу сигнала данным рецептором, например, путем образования цАМФ или индукции высвобождения Ca^{2+} . Таким образом, агонистическая активность в отношении рецептора глюкагона может быть измерена путем оценки передачи сигнала рецептором глюкагона, которая может быть измерена, например, по образованию цАМФ или высвобождению Ca^{2+} .

Рецептор глюкагона может иметь последовательность рецептора глюкагона человека (Glu-R), имеющую первичный номер доступа P47871. Белок-предшественник (включая сигнальный пептид) имеет первичный номер доступа NP_000151.1; GI:4503947 и имеет последовательность:

1 MPPCQQRPL LLLLLLACQ PQVPSAQVMD FLFEKWKLYG DQCHHNSLL
PPPTLVCNR
61 TFDKYSCWPD TPANTTANIS CPWYLPWHHK VQHRFVFKRC GPDGQWVRGP
RGQPWRDASQ
121 CQMDGEEIEV QKEVAKMYSS FQVMYTVGYS LSLGALLAL AILGGLSKLH
CTRNAIHANL
181 FASVVKASS VLVIDGLLRT RYSQKIGDDL SVSTWLSGGA VAGCRVAAVF
MQYGIVANYC
241 WLLVEGLYLH NLLGLATLPE RSFFSLYLG I GWGAPMLFVV PWAVVKCLFE
NVQCWTSNDN
301 MGFWWILRFP VFLAILNFF IFVRIVQLLV AKLRARQMHH TDYKFRLLAKS
TLTLIPLLVG
361 HEVVFAFVTD EHAQGTLRSA KLFFDLFLSS FQGLLVAVLY CFLNKEVQSE
LRRRWHRWRL
421 GKVLWEERNT SNHRASSSPG HGPPSKELQF GRGGGSQDSS AETPLAGGLP
RLAESPF

Во всех случаях, когда указаны последовательности белков-предшественников, конечно, следует понимать, что в анализах может быть использован зрелый белок, в котором отсутствует сигнальная последовательность.

Соединения согласно настоящему изобретению обладают биологической активностью по меньшей мере одного GIP, одного глюкагона и одного GLP-1, в частности, для лечения метаболических заболеваний, таких как диабет и ожирение. Ее можно оценить, например, в анализах *in vivo*, например, описанных в примерах, в которых уровень глюкозы в крови или другую биологическую активность определяют после лечения или подвергания тестируемого животного действию тройного агониста. В частности, соединения согласно настоящему изобретению могут быть способны улучшать гликемический контроль при введении субъекту, страдающему диабетом. В дополнение или в качестве альтернативы, они могут быть способны снижать массу тела при введении субъекту с избыточной массой тела или ожирением. В любом случае эффект может превосходить эффект, получаемый в случае эквивалентного количества (по массе или молярному соотношению) GIP или GLP-1 человека дикого типа у сопоставимых субъектов при введении в соответствии с сопоставимым режимом дозирования.

Активность в анализах *in vitro* можно также использовать в качестве меры активности соединений. Как правило, соединения обладают активностью в отношении рецепторов глюкагона, GLP-1 и GIP (обозначаемых GCG-R, GLP-1-R и GIP-R соответственно). Значения EC_{50} можно использовать в качестве численной меры агонистической активности в отношении конкретного рецептора. Значение EC_{50} представляет собой меру концентрации соединения, необходимой для достижения половины максимальной активности данного соединения в конкретном анализе. Таким образом, например, можно считать, что соединение, демонстрирующее EC_{50} [GLP-1R] ниже EC_{50} [GLP-1R] нативного GIP в конкретном анализе, обладает более высокой активностью в отношении GLP-1R, чем GIP. В некоторых вариантах реализации настоящего изобретения EC_{50} GLP-1-R и/или EC_{50} GIP-R, и/или EC_{50} GCG-R ниже 1,0, 0,9, 0,8, 0,7, 0,6, 0,5, 0,4, 0,3, 0,2, 0,1, 0,09, 0,08, 0,07, 0,06, 0,05, 0,04, 0,03, 0,02, 0,01, 0,009, 0,008, 0,007, 0,006 или 0,005 нМ, например, при оценке с использованием анализа, описанного в примере 2.

Липофильная группа.

Соединение согласно настоящему изобретению может содержать остаток Ψ , т.е. остаток, выбранный из Lys, Arg, Orn и Cys, в котором боковая цепь конъюгирована с липофильным заместителем.

Без конкретного теоретического обоснования, полагают, что указанный заместитель связывает белки плазмы (например, альбумин) в кровотоке, таким образом защищая соединения согласно настоящему изобретению от ферментативного расщепления и почечного клиренса и тем самым увеличивая период полувыведения соединений. Он может также модулировать активность соединения, например, в отношении рецептора GIP, рецептора глюкагона и/или рецептора GLP-1.

Заместитель конъюгирован с функциональной группой на дальнем конце боковой цепи от альфа-углеродного атома. Таким образом, присутствие заместителя может снижать или полностью устранять обычную способность боковой цепи Lys, Arg, Orn или Cys участвовать во взаимодействиях, опосредуемых данной функциональной группой (например, внутри- и межмолекулярные взаимодействия). Таким образом, общие свойства соединения могут быть относительно нечувствительны к изменениям фактической аминокислоты, присутствующей в виде остатка Ψ . Следовательно, полагают, что любой из остатков Lys, Arg, Orn и Cys может присутствовать в любом положении, где допускается Ψ . Однако в некоторых вариантах реализации может быть предпочтительным, чтобы аминокислотный компонент Ψ представлял собой Lys.

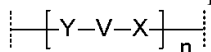
Таким образом, Ψ представляет собой остаток Lys, Arg, Orn или Cys, в котором боковая цепь конъюгирована с заместителем, имеющим формулу $-Z^1$ или $-Z^2-Z^1$.

$-Z^1$ представляет собой жирную цепь, содержащую на конце соединение $-X$ с Ψ или с Z^2 ;

где $-X$ представляет собой связь, $-CO-$, $-SO-$ или $-SO_2-$;

и возможно Z^1 содержит полярную группу на конце цепи, дальнем от соединения $-X$;- при этом указанная полярная группа содержит группу, представляющую собой карбоновую кислоту или биоизоэстер карбоновой кислоты, фосфоновую кислоту или сульфоновую кислоту; и

где $-Z^2$ -, если присутствует, представляет собой спейсер формулы



соединяющий Z^1 с Ψ ;

где каждый Y независимым образом представляет собой $-NH$, $-NR$, $-S$ или $-O$, где R представляет собой алкил, защитную группу или образует связь с другой частью спейсера Z^2 ;

каждый X независимым образом представляет собой связь, $CO-$, $SO-$ или SO_2- ;

при этом, если Y представляет собой $-S$, X, с которым он связан, представляет собой связь;

каждый V независимым образом представляет собой двухвалентную органическую группу, связывающую Y и X; и

n равен 1-10.

Группа Z^1 .

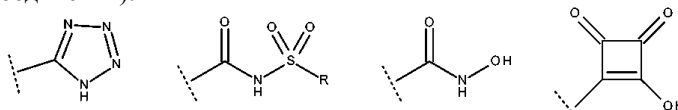
Z^1 представляет собой жирную цепь, содержащую соединение с Ψ или с Z^2 , обозначаемое в настоящем описании $-X$ -. $-X$ - может представлять собой, например, связь, ацил ($-CO-$), сульфинил ($-SO-$) или сульфонил ($-SO_2-$). В случае, когда Z^1 связан непосредственно с Ψ , т.е. когда Z^2 не присутствует, предпочтительно $-X$ - представляет собой ацил ($-CO-$), сульфинил ($-SO-$) или сульфонил ($-SO_2-$). Наиболее предпочтительно, $-X$ - представляет собой ацил ($-CO-$).

Z^1 может дополнительно содержать полярную группу, при этом указанная полярная группа расположена на конце цепи, дальнем от соединения $-X$ -. Другими словами, указанное соединение расположено в ω -положении по отношению к полярной группе. Полярная группа может быть связана непосредственно с концом жирной цепи или может быть связана через линкер.

Предпочтительно, полярная группа представляет собой кислотную или слабокислотную группу, например карбоновую кислоту или биоизоэстер карбоновой кислоты, фосфонат или сульфонат. Полярная группа может иметь pK_a от -2 до 12 в воде, более предпочтительно от 1 до 7, более предпочтительно от 3 до 6. Некоторые предпочтительные полярные группы имеют pK_a от 4 до 5.

В качестве примера и без ограничения полярная группа может содержать группу, представляющую собой карбоновую кислоту ($-COOH$) или биоизоэстер карбоновой кислоты, фосфоновую кислоту ($-P(O)(OH)_2$) или сульфоновую кислоту ($-SO_2OH$).

Предпочтительно, полярная группа, если присутствует, содержит карбоновую кислоту или биоизоэстер карбоновой кислоты. Подходящие биоизоэстеры карбоновых кислот известны в данной области техники. Предпочтительно, биоизоэстер содержит протон, имеющий pK_a , аналогичный соответствующей карбоновой кислоте. Примеры подходящих биоизоэстеров могут включать, без ограничения, тетразол, ацилсульфомида, ацилгидроксиламин и производные квадратной кислоты, представленные ниже (--- показывает точку присоединения):



R представляет собой, например, Me, CF_3

В настоящем описании термин "жирная цепь" относится к фрагменту, содержащему цепь атомов углерода, при этом указанные атомы углерода преимущественно содержат в качестве заместителей водород или водородоподобные атомы, например углеводородную цепь. Такие жирные цепи часто называются липофильными, хотя очевидно, что замещение может изменять липофильные свойства молекулы в целом.

Жирная цепь может алифатической. Она может быть полностью насыщенной или может содержать одну или более двойных или тройных связей. Каждая двойная связь, если присутствует, может находиться в E- или Z-конфигурации. Жирная цепь может также содержать одну или более циклоалкиленовых или гетероциклоалкиленовых групп по длине, и в дополнение или в качестве альтернативы может содержать одну или более ариленовых или гетероариленовых групп по длине. Например, жирная цепь может содержать фениленовую или пиперазиниленовую группу по длине, например, представленную ниже (где --- показывает точки присоединения в цепи).

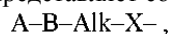


Жирная цепь может быть получена из жирной кислоты, например она может быть получена из среднецепочечной жирной кислоты (MCFAs) с алифатическим хвостом из 6-12 атомов углерода, длинно-

цепочечной жирной кислоты (LCFA) с алифатическим хвостом из 13-21 атомов углерода или жирной кислоты с очень длинной цепью (LCFA) с алифатическим хвостом из 22 атомов углерода или больше. Примеры линейных насыщенных жирных кислот, из которых могут быть получены подходящие жирные цепи, включают тридециловую (тридекановую) кислоту, миристиновую (тетрадекановую) кислоту, пентадециловую (пентадекановую) кислоту, пальмитиновую (гексадекановую) кислоту и маргариновую (гептадекановую) кислоту. Примеры линейных ненасыщенных жирных кислот, из которых могут быть получены подходящие жирные цепи, включают миристолеиновую кислоту, пальмитолеиновую кислоту, сапиеновую кислоту и олеиновую кислоту.

Жирная цепь может быть соединена с Ψ или с Z^2 амидной связью, сульфинамидной связью, сульфонамидной связью или сложноэфирной связью, или эфирной, тиоэфирной или аминной связью. Соответственно, жирная цепь может содержать связь с Ψ или с Z^2 или ацильную (-CO-), сульфинильную (-SO-) или сульфонильную (-SO₂-) группу. Предпочтительно, жирная цепь имеет конец, содержащий ацильную (-CO-) группу, и соединена с Ψ или Z^2 амидной или сложноэфирной связью.

В некоторых вариантах реализации Z^1 представляет собой группу формулы



где A представляет собой водород или группу, представляющую собой карбоновую кислоту, биоизостер карбоновой кислоты, фосфоновую кислоту или сульфоновую кислоту;

B представляет собой связь или линкер;

X представляет собой связь, ацил (-CO-), сульфинил (-SO-) или сульфонил (-SO₂-) и

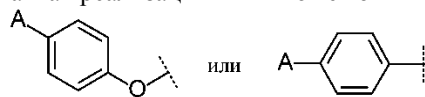
Alk представляет собой жирную цепь, которая может содержать один или более заместителей. Указанная жирная цепь предпочтительно от 6 до 28 атомов углерода в длину (например, C₆₋₂₈алкилен), более предпочтительно от 12 до 26 атомов углерода в длину (например, C₁₂₋₂₆алкилен), более предпочтительно от 16 до 22 атомов углерода в длину (например, C₁₆₋₂₂алкилен) и может быть насыщенной или ненасыщенной. Предпочтительно, Alk является насыщенной, т.е. предпочтительно Alk представляет собой алкилен.

Возможные заместители в жирной цепи могут быть независимым образом выбраны из фтора, C₁₋₄алкила, предпочтительно метила; трифторметила, гидроксиметила, amino, гидроксила, C₁₋₄алкокси, предпочтительно метокси; оксогруппы и карбоксила, и могут быть независимым образом расположены в любой точке вдоль цепи. В некоторых вариантах реализации каждый возможный заместитель выбран из фтора, метила и гидроксила. В случае, когда присутствует более одного заместителя, заместители могут быть одинаковыми или разными. Предпочтительно, количество заместителей составляет от 0 до 3; более предпочтительно жирная цепь не содержит заместителей.

B может представлять собой связь или линкер. Когда B представляет собой линкер, он может представлять собой циклоалкилен, гетероциклоалкилен, C₆арилен или C₅₋₆гетероарилен, или C₆арилен-O-, или C₅₋₆гетероарилен-O-.

В случае, когда B представляет собой фенилен, он может быть выбран, например, из 1,2-фенилена, 1,3-фенилена, 1,4-фенилена, предпочтительно 1,4-фенилена (так что A-B-представляет собой заместитель, представляющий собой 4-бензойную кислоту, или биоизостер 4-бензойной кислоты). В случае, когда B представляет собой фенилен-O-, он может быть выбран, например, из 1,2-фенилен-O-, 1,3-фенилен-O-, 1,4-фенилен-O-, предпочтительно 1,4-фенилен-O-. Каждый фенилен B может содержать один или более заместителей, выбранных из фтора, метила, трифторметила, amino, гидроксила и C₁₋₄алкокси, предпочтительно метокси. Очевидно, что идентичность и положение заместителей могут быть выбраны для незначительного изменения pK_a полярной группы. Подходящие электроноакцепторные или -донорные группы с индуктивным или мезомерным эффектом и их позиционные эффекты известны в данной области техники. В некоторых вариантах реализации B может представлять собой C₅₋₆гетероарилен, например пиридинилен или тиофуранилен, и может содержать описанные заместители.

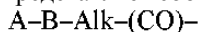
Например, в некоторых вариантах реализации A-B- может быть выбран из



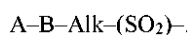
Предпочтительно, представляет собой H- или HOOC- и B представляет собой связь.

Предполагается, что когда A представляет собой водород, B представляет собой связь и Alk представляет собой не содержащий заместителей алкилен, A-B-Alk-представляет собой алкильную цепь формулы H₃C-(CH₂)_n-.

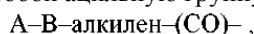
В некоторых вариантах реализации Z^1 представляет собой ацильную группу формулы



или сульфонильную группу формулы



Предпочтительно, Z^1 представляет собой ацильную группу формулы



где A и B являются такими, как определено выше.

В некоторых вариантах реализации А представляет собой -COOH и В представляет собой связь. Соответственно, некоторые предпочтительные Z^1 получены из длинноцепочечных насыщенных α,ω -дикарбоновых кислот формулы $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_{12-22}-\text{COOH}$, предпочтительно длинноцепочечных насыщенных α,ω -дикарбоновых кислот с четным числом атомов углерода в алифатической цепи. В некоторых других вариантах реализации А представляет собой Н и В представляет собой связь. Соответственно, некоторые предпочтительные Z^1 получены из длинноцепочечных насыщенных карбоновых кислот формулы $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_{12-22}-\text{CH}_3$, предпочтительно длинноцепочечных насыщенных карбоновых кислот с четным числом атомов углерода в алифатической цепи.

В качестве примера и без ограничения, Z^1 может представлять собой

А-В- C_{16-20} алкилен-(CO)-, где А представляет собой Н или -COOH и В представляет собой связь, например

17-карбоксихептадеканоил $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_{16}-(\text{CO})-$;

19-карбоксихнонадеканоил $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_{18}-(\text{CO})-$;

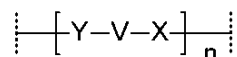
октадеканоил $\text{H}_3\text{C}-(\text{CH}_2)_{16}-(\text{CO})-$;

эйкозаноил $\text{H}_3\text{C}-(\text{CH}_2)_{18}-(\text{CO})-$;

Группа, представляющая собой карбоновую кислоту, если присутствует, может быть заменена на биоизомер, подробно описанный в настоящем документе.

Группа Z^2 .

Z^2 представляет собой возможный спейсер, который соединяет Z^1 с боковой цепью аминокислотного компонента Ψ . В наиболее общем виде, Z^2 , если присутствует, представляет собой спейсер, связанный на одном конце Y , который может представлять собой атом азота, кислорода или серы, а на другом конце X , который может представлять собой связь или ацил (-CO-), сульфинил (-SO-), сульфонил (-SO₂-), или отсутствовать. Соответственно, Z^2 может представлять собой спейсер формулы (--- показывает точки присоединения):



где Y может представлять собой -NH-, -NR-, -S или -O, где R может представлять собой алкил, защитную группу или может образовывать связь с другой частью спейсера, при этом оставшаяся валентность образует связь с Z^1 ;

X может представлять собой связь, CO-, SO- или SO₂-, при этом оставшаяся валентность образует связь с боковой цепью аминокислотного компонента Ψ ;

V представляет собой двухвалентную органическую группу, связывающую Y и X ; и

n может быть равен 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10. Когда n равен 2 или более, каждый Y , V и X не зависит от каждого другого Y , V и X .

Соответственно, Z^2 может быть связан с каждой стороны амидными, сульфинамидными, сульфонамидными или сложноэфирными связями, или аминосвязями, эфирными или тиоэфирными связями в зависимости от природы Y и X , и соответствующих связывающих групп в Z^1 и боковой цепи. Когда n равен 2 или более, каждый V может также быть связан с каждым смежным V описанными связями. Предпочтительно, связи представляют собой амиды, сложные эфиры или сульфонамиды, наиболее предпочтительно амиды. Соответственно, в некоторых вариантах реализации каждый Y представляет собой -NH или -NR и каждый X представляет собой CO- или SO₂. Наиболее предпочтительно, -X- представляет собой ацил (-CO-).

В некоторых вариантах реализации Z^2 представляет собой спейсер формулы -S_A-, -S_B-, -S_A-S_B- или -S_B-S_A-, где S_A и S_B являются такими, как определено ниже.

В некоторых вариантах реализации Z^2 выбран из -S_A- или -S_B-S_A-, т.е. [боковая цепь]- Z^2 - Z^1 представляет собой [боковая цепь]-S_A- Z^1 или [боковая цепь]-S_B-S_A- Z^1 .

Группа S_A.

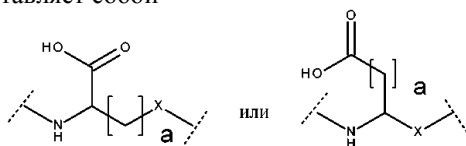
S_A может представлять собой один аминокислотный остаток или остаток производного аминокислоты, особенно остаток производного аминокислоты, содержащий сульфинил или сульфонил вместо карбоксигруппы на С-конце. В дополнение или в качестве альтернативы, указанный один аминокислотный остаток может содержать атом кислорода или серы вместо атома азота на N-конце. Предпочтительно, S_A представляет собой один аминокислотный остаток.

В некоторых вариантах реализации аминокислота может быть выбрана из γ -Glu, α -Glu, α -Asp, β -Asp, Ala, β -Ala (3-аминопропановая кислота), Dapa (2,3-диаминопропановая кислота), Dab (2,4-диаминобутановая кислота) и Gaba (4-аминобутановая кислота). Предполагается, что в случае присутствия более одной группы, представляющей собой карбоновую кислоту, или аминокислоты соединение может находиться в любой группе по необходимости. Любые остатки карбоновой кислоты или аминокислоты, несвязанные в остатке, могут быть свободными, т.е. присутствовать в виде свободной карбоновой кислоты или первичного амина, или могут быть дериватизированы. Подходящая дериватизация известна в данной области техники. Например, группы, представляющие собой карбоновую кислоту, могут присутствовать в аминокислотных остатках S_A в виде сложных эфиров, например в виде сложных метило-

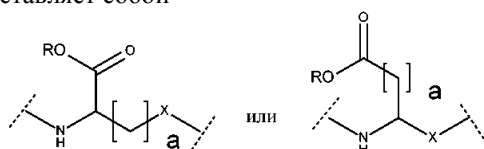
вых эфиров. Аминогруппы могут присутствовать в виде алкилированных аминов, например метилированных, или могут быть защищены в виде амидных или карбаматных групп. Другие подходящие аминокислоты включают β -Ala (3-аминопропановая кислота) и Gaba (4-аминобутановая кислота), и подобные ω -аминокислоты.

Предполагается, что аминокислоты могут представлять собой D- или L-аминокислоты, или рацемическую, или энантиобогащенную смесь. В некоторых вариантах реализации аминокислота представляет собой L-аминокислоту. В некоторых вариантах реализации аминокислота представляет собой D-аминокислоту.

В некоторых предпочтительных вариантах реализации S_A содержит заместитель, представляющий собой карбоновую кислоту, при этом его γ -Glu, α -Glu, α -Asp и β -Asp, и сульфинильные и сульфонильные производные являются предпочтительными. Соответственно, в некоторых вариантах реализации аминокислотный остаток представляет собой



где -X- представляет собой -CO-, -SO-, -SO₂-, предпочтительно -CO-, и a равен 1 или 2, предпочтительно 2. В некоторых вариантах реализации карбоновая кислота представляет собой сложный эфир, и аминокислотный остаток представляет собой



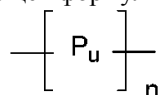
где -X- представляет собой -CO-, -SO-, -SO₂-, предпочтительно -CO-, и a равен 1 или 2, предпочтительно 2, и R представляет собой C₁₋₄алкил или C₆арил. Предпочтительно R представляет собой C₁₋₄алкил, предпочтительно метил или этил, более предпочтительно этил.

Предпочтительная группа S_A , содержащая карбоновую кислоту, представляет собой γ -Glu.

Предпочтительно S_A выбран из Dара или γ -Glu. Наиболее предпочтительно S_A представляет собой γ -Glu.

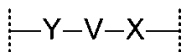
Группа S_B .

S_B может представлять собой линкер общей формулы



где P_U представляет собой полимерное звено и n равен 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10. Один конец линкера S_B представляет собой -NH-, -NR-, -S или -O, где R может представлять собой алкил, защитную группу или может образовывать связь с другой частью полимерного звена; тогда как другой конец представляет собой связь или CO-, SO- или SO₂-. Соответственно, каждое полимерное звено P_U может быть связано с каждой стороны амидными, сульфинамидными, сульфонамидными или сложноэфирными связями, или аминосвязями, эфирными или тиоэфирными связями в зависимости от природы Y и X, и соответствующих связывающих групп в Z¹, S_A и Lys.

В некоторых вариантах реализации каждый P_U может независимым образом представлять собой звено формулы



где Y может представлять собой -NH-, -NR-, -S или -O, где R может представлять собой алкил, защитную группу или может образовывать связь с другой частью спейсера, при этом оставшаяся валентность образует связь с Z¹;

X может представлять собой связь, CO-, SO- или SO₂-, при этом оставшаяся валентность образует связь с боковой цепью Ψ ; и

V представляет собой двухвалентную органическую группу, связывающую Y и X.

В некоторых вариантах реализации V представляет собой α -углерод природной или не природной аминокислоты, т.е. V представляет собой CHR^{AA}-, где R^{AA} представляет собой боковую цепь аминокислоты; или V представляет собой возможно содержащий заместители C₁₋₆алкилен, или V представляет собой цепь, содержащую одну или более последовательных звеньев этиленгликоля, также известную как PEG-цепь, например -CH₂CH₂-(OCH₂CH₂)_m-O-(CH₂)_p-, где m равен 0, 1, 2, 3, 4 или 5 и p равен 1, 2, 3, 4 или 5; когда X представляет собой CO-, p предпочтительно равен 1, 3, 4 или 5. Возможные заместители для алкилена включают фтор, метил, гидроксиль, гидроксиметил и амина.

Предпочтительные звенья P_U включают:

- (i) одиночные аминокислотные остатки: P_U^1 ;
- (ii) дипептидные остатки: P_U^{11} и
- (iii) остатки amino-(PEG) m -карбоновой кислоты: P_U^{111} ,

и могут присутствовать в любой комбинации или порядке. Например, S_B может содержать один или более каждого из P_U^1 , P_U^{11} и P_U^{111} в любом порядке, или может содержать одно или более звеньев только P_U^1 , P_U^{11} и P_U^{111} , или одно или более звеньев, выбранных из P_U^1 и P_U^{11} , P_U^1 и P_U^{111} или P_U^{11} и P_U^{111} .

- (i) Одиночные аминокислотные остатки: P_U^1 .

Каждый P_U^1 может быть независимым образом выбран из любого природного или неприродного аминокислотного остатка и, например, может быть выбран из Gly, Pro, Ala, Val, Leu, Ile, Met, Cys, Phe, Tyr, Trp, His, Lys, Arg, Gln, Asn, α -Glu, γ -Glu, Asp, Ser, Thr, Dapa, Gaba, Aib, β -Ala, 5-аминопентаноила, 6-аминогексаноила, 7-аминогептаноила, 8-аминооктаноила, 9-аминононаноила или 10-аминодеканоиала. Предпочтительно, аминокислотные остатки P_U^1 выбраны из Gly, Ser, Ala, Thr и Cys, более предпочтительно из Gly и Ser.

В некоторых вариантах реализации S_B представляет собой $-(P_U^1)_n-$, где n равен от 1 до 8, более предпочтительно от 5 до 7, наиболее предпочтительно 6. В некоторых предпочтительных вариантах реализации S_B представляет собой $-(P_U^1)_n-$, n равен 6 и каждый P_U^1 независимым образом выбран из Gly или Ser, при этом предпочтительная последовательность представляет собой -Gly-Ser-Gly-Ser-Gly-Gly-.

- (ii) Дипептидные остатки: P_U^{11} .

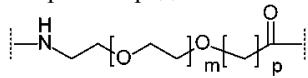
Каждый P_U^{11} может быть независимым образом выбран из любого дипептидного остатка, содержащего два природных или неприродных аминокислотных остатка, связанные амидной связью. Предпочтительные дипептидные остатки P_U^{11} включают Gly-Gly, Gly-Ser, Ser-Gly, Gly-Ala, Ala-Gly и Ala-Ala, более предпочтительно Gly-Ser и Gly-Gly.

В некоторых вариантах реализации S_B представляет собой $-(P_U^{11})_n-$, где n равен от 2 до 4, более предпочтительно 3, и каждый P_U^{11} независимым образом выбран из Gly-Ser и Gly-Gly. В некоторых предпочтительных вариантах реализации S_B представляет собой $-(P_U^{11})_n-$, n равен 3 и каждый P_U^{11} независимым образом выбран из Gly-Ser и Gly-Gly, при этом предпочтительная последовательность представляет собой $-(Gly-Ser)-(Gly-Ser)-(Gly-Gly)$.

Аминокислоты, имеющие стереогенные центры, в пределах P_U^1 и P_U^{11} могут быть рацемическими, энантиобогащенными или энантиочистыми. В некоторых вариантах реализации аминокислота или каждая аминокислота независимым образом представляет собой L-аминокислоту. В некоторых вариантах реализации аминокислота или каждая аминокислота независимым образом представляет собой D-аминокислоту.

- (iii) Остатки amino-(PEG) $_m$ -карбоновой кислоты: P_U^{111} .

Каждый P_U^{111} может независимым образом представлять собой остаток общей формулы



где m равен 0, 1, 2, 3, 4 или 5, предпочтительно 1 или 2, и p представляет собой 1, 3, 4 или 5, предпочтительно 1.

В некоторых вариантах реализации m равен 1 и p равен 1, т.е. P_U^{111} представляет собой остаток 8-амино-3,6-диоксаоктановой кислоты (также известной как {2-[2-аминоэтокси]этокси}уксусная кислота и H_2N -PEG₃-COOH). В настоящем описании данный остаток обозначается -PEG₃-.

Другие, более длинные PEG-цепи также известны в данной области техники. Например, 11-амино-3,6,9-триоксаундекановая кислота (также известная как H_2N -PEG₄-COOH или -PEG₄-).

В некоторых вариантах реализации S_B представляет собой $-(P_U^{111})_n-$, где n равен от 1 до 3, более предпочтительно 2.

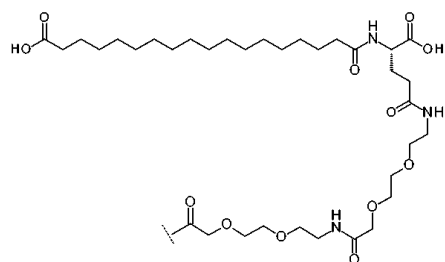
Наиболее предпочтительно S_B представляет собой -PEG₃-PEG₃-.

Предпочтительные комбинации.

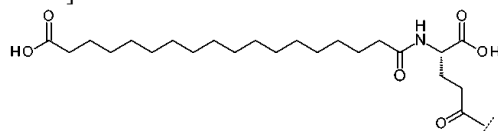
Предполагается, что вышеуказанные предпочтения можно независимым образом комбинировать с получением предпочтительных групп $-Z^1$ и $-Z^2-Z^1$.

Некоторые предпочтительные группы $-Z^1$ и $-Z^2-Z^1$ представлены ниже (в каждом случае --- показывает точку присоединения к боковой цепи аминокислотного компонента Ψ):

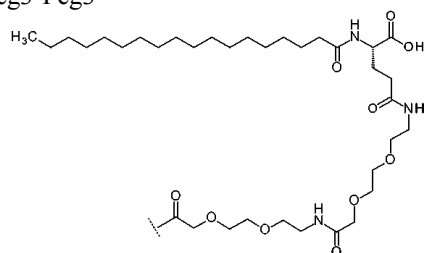
- (i) [17-карбоксихептадеканоил]-изо-Glu-Peg3-Peg3



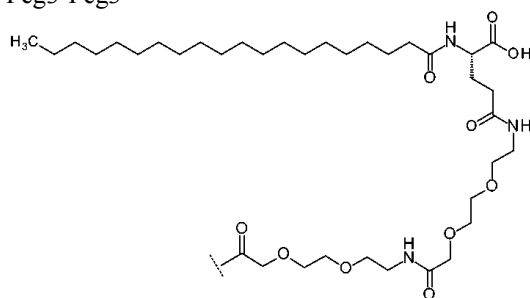
(ii) [17-карбокситептадеканоил]-изо-Glu



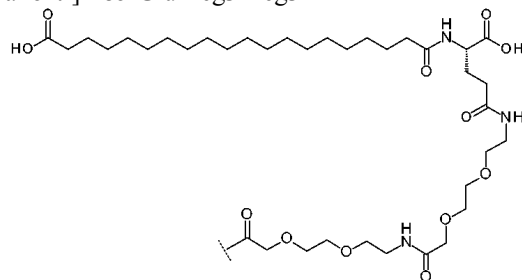
(iii) октадеканоил-изо-Glu-Peg3-Peg3



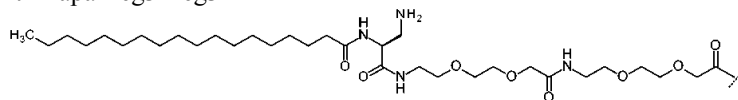
(iv) эйкозаноил-изо-Glu-Peg3-Peg3



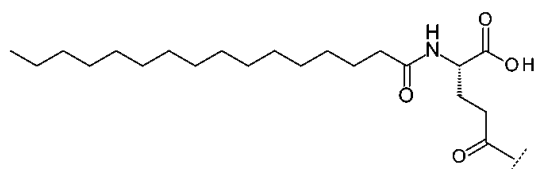
(v) [19-карбоксихекозаноил]-изо-Glu-Peg3-Peg3



(vi) октадеканоил-Dapa-Peg3-Peg3



(vii) гексадеканоил-изо-Glu



Специалисту хорошо известны подходящие методики получения соединений, используемые в контексте настоящего изобретения. Примеры подходящих химических взаимодействий см., например, в WO98/08871, WO00/55184, WO00/55119, Madsen et al. (J. Med Chem. 2007, 50, 6126-32) и Knudsen et al. 2000 (J. Med Chem. 43, 1664-1669).

Клиническое применение.

Соединения согласно настоящему изобретению могут обеспечивать перспективный вариант лече-

ния метаболических заболеваний, включая ожирение и сахарный диабет (диабет). Диабет составляет группу метаболических заболеваний, характеризующихся гипергликемией вследствие дефектов секреции инсулина, действия инсулина или того и другого. Острые признаки диабета включают чрезмерную выработку мочи, возникающую в связи с этим компенсаторную жажду и увеличение потребления жидкости, нечеткое зрение, необъяснимую потерю массы тела, вялость и изменения энергетического метаболизма. Однако симптомы зачастую являются нетяжелыми или могут отсутствовать.

Хроническая гипергликемия при диабете связана с длительным повреждением, дисфункцией и недостаточностью различных органов, особенно глаз, почек, нервов, сердца и кровеносных сосудов. Диабет делится на диабет 1 типа, диабет 2 типа и гестационный диабет на основе патогенетических характеристик. Диабет 1 типа составляет 5-10% всех случаев диабета и вызывается аутоиммунным разрушением β -клеток поджелудочной железы, секретирующих инсулин.

Диабет 2 типа составляет 90-95% случаев диабета и является результатом сложного набора нарушений метаболизма. Однако симптомы зачастую являются нетяжелыми или могут отсутствовать. Диабет 2 типа является следствием недостаточной эндогенной выработки инсулина для поддержания уровней глюкозы в плазме ниже диагностических порогов.

Гестационный диабет относится к любой степени нарушения толерантности к глюкозе, выявляемого во время беременности.

Преддиабет включает нарушение гликемии натощак и нарушение толерантности к глюкозе и относится к тем состояниям, которые возникают, когда уровни глюкозы в крови повышены, но остаются ниже уровней, установленных для постановки клинического диагноза "диабет".

Большой процент людей с диабетом 2 типа и преддиабетом подвержены повышенному риску заболеваемости и смертности из-за высокой распространенности дополнительных метаболических факторов риска, включая абдоминальное ожирение (избыток жировой ткани вокруг внутренних органов брюшной полости), атерогенную дислипидемию (нарушения уровней жиров крови, включая высокие уровни триглицеридов, низкий уровень холестерина ЛПВП и/или высокий уровень холестерина ЛПНП, способствующий образованию бляшек на стенках артерий), повышенное кровяное давление (гипертензию), протромботическое состояние (например, высокий уровень фибриногена или ингибитора активатора плазминогена-1 в крови) и/или провоспалительное состояние (например, повышенный уровень С-реактивного белка в крови).

И наоборот, ожирение обеспечивает повышение риска развития преддиабета, диабета 2 типа, а также, например, некоторых видов рака, обструктивного апноэ сна и заболевания желчного пузыря. Дислипидемия связана с повышенным риском сердечно-сосудистого заболевания. Липопротеин высокой плотности (ЛПВП) имеет важное клиническое значение, поскольку существует обратная корреляция между концентрациями ЛПВП в плазме и риском развития атеросклеротического заболевания. Большая часть холестерина, откладываемого в атеросклеротических бляшках, поступает из ЛПНП и, следовательно, повышенная концентрация липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) тесно связана с атеросклерозом. Соотношение ЛПВП/ЛПНП является клиническим показателем риска развития атеросклероза и, в частности, коронарного атеросклероза.

Соединения, применяемые в контексте настоящего изобретения, действуют как тройные агонисты глюкагона-GIP-GLP1. Тройной агонист может сочетать в себе действие глюкагона, например, на жировой метаболизм с действием GIP на улучшение гликемического контроля и действием GLP-1, например, на уровни глюкозы в крови и потребление пищи. Таким образом, указанные соединения могут действовать с ускорением устранения избытка жировой ткани, индуцированием устойчивой потери массы тела и улучшением гликемического контроля. Тройные агонисты рецепторов глюкагона-GIP-GLP1 могут также действовать со снижением факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний, таких как высокий уровень холестерина и таких как высокий уровень холестерина ЛПНП.

Таким образом, соединения согласно настоящему изобретению, представляющие собой тройные агонисты, можно применять (отдельно или в комбинации) в качестве фармацевтических агентов для предотвращения увеличения массы тела, способствования потере массы тела, уменьшения избыточной массы тела или лечения ожирения (например, путем контроля аппетита, питания, потребления пищи, потребления калорий и/или расхода энергии и липолиза), в том числе морбидного ожирения, а также связанных с ним заболеваний и состояний, включая, но не ограничиваясь ими, воспаление, связанное с ожирением, заболевание желчного пузыря, связанное с ожирением, и апноэ во сне, индуцированное ожирением. Указанные соединения можно также применять для лечения резистентности к инсулину, нарушения толерантности к глюкозе, преддиабета, повышенного уровня глюкозы в крови натощак, диабета 2 типа, гипертензии, дислипидемии (или комбинации данных метаболических факторов риска), атеросклероза, артериосклероза, ишемической болезни сердца, заболевания периферических артерий и инсульта. Они все представляют собой состояния, которые могут быть связаны с ожирением. Однако влияние соединений, применяемых в контексте настоящего изобретения, на данные состояния может быть опосредовано, полностью или частично, влиянием на массу тела или может не зависеть от него.

Таким образом, соединения, представляющие собой тройные агонисты, можно применять (отдельно или в комбинации) для лечения и/или предотвращения любого из заболеваний, нарушений или состоя-

ний, описанных в настоящем документе, в том числе резистентности к инсулину, нарушения толерантности к глюкозе, повышенного уровня глюкозы в крови натощак, преддиабета, диабета 1 типа, диабета 2 типа, гипертензии при гестационном диабете, дислипидемии или их комбинации. В некоторых вариантах реализации связанное с диабетом нарушение выбрано из атеросклероза, артериосклероза, ишемической болезни сердца, заболевания периферических артерий и инсульта; или связано с состоянием, выбранным из атерогенной дислипидемии, нарушений уровней жиров крови, повышенного кровяного давления, гипертензии, протромботического состояния и провоспалительного состояния или их комбинации. В некоторых вариантах реализации нарушение уровней жиров крови выбрано из высоких уровней триглицеридов, низкого уровня холестерина ЛПВП, высокого уровня холестерина ЛПНП, образования бляшек на стенках артерий или их комбинации. В некоторых вариантах реализации протромботическое состояние выбрано из высоких уровней фибриногена в крови и высоких уровней ингибитора активатора плазминогена-1 в крови. В некоторых вариантах реализации провоспалительное состояние представляет собой повышенный уровень С-реактивного белка в крови. В некоторых вариантах реализации связанное с ожирением нарушение выбрано из воспаления, связанного с ожирением, заболевания желчного пузыря, связанного с ожирением, и апноэ во сне, индуцированного ожирением.

Соединения, представляющие собой тройные агонисты, можно также применять для лечения и/или предотвращения любого из заболеваний, нарушений или состояний, связанных с остеопорозом, связанным с диабетом, включая повышенный риск переломов костей. Наблюдаемое повышение риска переломов, вероятно, связано со снижением качества костей, а не минеральной плотности костей. Соответствующие механизмы по меньшей мере отчасти вследствие гипергликемии, нейропатии и более высокой частоты возникновения гиповитаминоза D еще не полностью поняты.

Согласно настоящему изобретению предложено применение описанного соединения, представляющего собой тройной агонист, для получения лекарственного средства для любого из видов клинического применения, описанных в настоящем документе. Ссылку на соединение для применения в любом таком способе следует рассматривать соответствующим образом.

В некоторых вариантах реализации настоящего изобретения также предложен терапевтический набор, содержащий тройной агонист согласно настоящему изобретению, возможно в комбинации с фармацевтически приемлемым носителем. В некоторых вариантах реализации настоящего изобретения предложено устройство, содержащее тройной агонист согласно настоящему изобретению, для доставки указанного тройного агониста субъекту.

Фармацевтические композиции.

Соединения согласно настоящему изобретению, представляющие собой тройные агонисты, или их соли, или сольваты могут быть представлены в виде фармацевтических композиций, полученных для хранения или введения, которые, как правило, содержат терапевтически эффективное количество соединения, применяемого в контексте настоящего изобретения, или его соли, или сольвата в фармацевтически приемлемом носителе. В некоторых вариантах реализации фармацевтическая композиция представлена в виде жидкости, подходящей для введения путем инъекции или инфузии, или получена таким образом, чтобы вызывать медленное высвобождение соединения, представляющего собой тройной агонист.

Терапевтически эффективное количество соединения согласно настоящему изобретению будет зависеть, например, от пути введения, типа млекопитающего, которого лечат, и физических характеристик конкретного рассматриваемого млекопитающего. Эти факторы и их взаимосвязь для определения данного количества хорошо известны практикующему специалисту в области медицины. Данное количество и способ введения могут быть подобраны для достижения оптимальной эффективности, и могут зависеть от таких факторов, как масса тела, диета, сопутствующая лекарственная терапия, и других факторов, хорошо известных специалисту в области медицины. Величина дозы и режим дозирования, наиболее подходящие для применения у человека, могут быть определены на основе результатов, полученных согласно настоящему изобретению, и могут быть подтверждены в разработанных соответствующим образом клинических исследованиях.

Эффективная доза и протокол лечения могут быть определены традиционными способами, начиная с низкой дозы у лабораторных животных, а затем увеличивая дозу с одновременным мониторингом эффектов, а также путем систематического варьирования режима дозирования. При определении оптимальной дозы для конкретного субъекта клиницист может учитывать многочисленные факторы. Такие факторы, которые необходимо учитывать, известны специалисту. Термин "фармацевтически приемлемый носитель" включает любой из стандартных фармацевтических носителей. Фармацевтически приемлемые носители для терапевтического применения хорошо известны в области фармации и описаны, например, в Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co. (A.R. Gennaro edit. 1985). Например, можно использовать стерильный физиологический раствор и фосфатный буферный раствор со слабощелочным или физиологическим pH. Подходящие pH-буферные агенты могут представлять собой, например, фосфат, цитрат, ацетат, лактат, малеат, трис-(гидроксиметил)аминометан (ТРИС), N-трис-(гидроксиметил)метил-3-аминопропансульфоновою кислоту (ТАПС), бикарбонат аммония, диэтанолламин, гистидин, который в некоторых вариантах реализации представляет собой предпочтительный буфер, аргинин, лизин или ацетат, или смеси указанных веществ. Данный термин также включает любые

агенты, перечисленные в Фармакопее США для применения у животных, включая людей.

Термин "фармацевтически приемлемая соль" относится к соли соединения. Соли включают фармацевтически приемлемые соли, такие как, например, соли присоединения кислоты и основные соли. Примеры солей присоединения кислоты включают гидрохлоридные соли, цитратные соли и ацетатные соли. Примеры основных солей включают соли, в которых катион выбран из щелочных металлов, таких как натрий и калий, щелочно-земельных металлов, таких как кальций, и ионов аммония $^+N(R^3)_3(R^4)$, где R^3 и R^4 независимо обозначают возможно содержащий заместители C_{1-6} алкил, возможно содержащий заместители C_{2-6} алкенил, возможно содержащий заместители арил или возможно содержащий заместители гетероарил. Другие примеры фармацевтически приемлемых солей описаны в "Remington's Pharmaceutical Sciences", 17th edition. Ed. Alfonso R. Gennaro (Ed.), Mark Publishing Company, Easton, PA, U.S.A., 1985 и в более поздних изданиях, а также в Энциклопедии фармацевтической технологии (Encyclopaedia of Pharmaceutical Technology).

"Лечение" представляет собой подход для получения полезных или желаемых клинических результатов. Для целей настоящего изобретения полезные или желаемые клинические результаты включают, но не ограничиваются ими, облегчение симптомов, уменьшение степени заболевания, стабилизацию (т.е. не ухудшение) течения заболевания, отсрочивание или замедление прогрессирования заболевания, уменьшение интенсивности или ослабление болезненного состояния и ремиссию (будь то частичная или полная), независимо от того, являются они детектируемыми или недетектируемыми. Термин "лечение" может также означать увеличение выживаемости по сравнению с ожидаемой выживаемостью в случае неполучения лечения. "Лечение" представляет собой вмешательство, осуществляемое с целью предотвращения развития или изменения патологии нарушения. Соответственно, в некоторых вариантах реализации термин "лечение" относится как к терапевтическому лечению, так и к профилактическим или превентивным мерам. Те, кто нуждаются в лечении, включают тех, кто уже страдает нарушением, а также тех, у которых необходимо предотвратить указанное нарушение. Термин "лечение" означает ингибирование или ослабление увеличения патологии или симптомов (например, увеличение массы тела, гипергликемия) по сравнению с отсутствием лечения, и не обязательно подразумевает полную отмену соответствующего состояния.

Фармацевтические композиции согласно настоящему изобретению могут быть представлены в единичной лекарственной форме. В такой форме композиция разделена на единичные дозы, содержащие соответствующие количества активного компонента.

Единичная лекарственная форма может представлять собой препарат в упаковке, при этом указанная упаковка содержит дискретные количества препаратов, например упакованные таблетки, капсулы и порошки во флаконах или ампулах. Единичная лекарственная форма может также представлять собой капсулу, облатку или таблетку, или она может представлять собой подходящее количество любой из данных упакованных форм. Она может быть представлена в форме для инъекций, содержащей однократную дозу, например, в виде шприца-ручки. Композиции могут быть представлены в форме для любого подходящего пути и способа введения. Фармацевтически приемлемые носители или разбавители включают те, которые используют в составах, подходящих для перорального, ректального, назального или парентерального (включая подкожное, внутримышечное, внутривенное, внутрикожное и трансдермальное) введения. Составы могут быть удобно представлены в единичной лекарственной форме и могут быть получены любым из способов, хорошо известных в области фармации. Для некоторых соединений, описанных в настоящем документе, могут особенно подходить подкожные или трансдермальные способы введения.

Комбинированная терапия.

В некоторых вариантах реализации соединение согласно настоящему изобретению можно вводить в рамках комбинированной терапии совместно по меньшей мере с одним другим агентом для лечения диабета, ожирения, дислипидемии или гипертензии.

В таких случаях два активных агента можно вводить вместе или по отдельности, и в составе одного фармацевтического состава или в виде отдельных составов. Таким образом, соединение (или его соль, или сольват), представляющее собой тройной агонист, можно применять в комбинации с противодиабетическим агентом, включая, но не ограничиваясь ими, метформин, сульфонилмочевину, глинид, ингибитор DPP-IV, глитазон или инсулин. В некоторых вариантах реализации соединение или его соль, или сольват применяют в комбинации с инсулином, ингибитором DPP-IV, сульфонилмочевинной или метформином, особенно с сульфонилмочевинной или метформином, для осуществления достаточного гликемического контроля. В некоторых предпочтительных вариантах реализации соединение или его соль, или сольват применяют в комбинации с инсулином или аналогом инсулина для осуществления достаточного гликемического контроля. Примеры аналогов инсулина включают, но не ограничиваются ими, Лантус®, Новорапид®, Хумалог®, Новомикс®, Актрафан НМ®, Левемир® и Апидра®.

В некоторых вариантах реализации соединение или его соль, или сольват, представляющий собой тройной агонист, можно также применять в комбинации с одним или более агентами против ожирения, включая, но не ограничиваясь ими, агонист рецептора глюкагоноподобного пептида 1, пептид YY или его аналог, антагонист каннабиноидного рецептора 1, ингибитор липазы, агонист рецептора меланокор-

тина 4 или антагонист рецептора меланиноконцентрирующего гормона 1.

В некоторых вариантах реализации соединение или его соль, или сольват, представляющий собой тройной агонист, можно применять в комбинации с антигипертензивным агентом, включая, но не ограничиваясь ими, ингибитор ангиотензинпревращающего фермента, блокатор рецепторов ангиотензина II, диуретические средства, бета-блокатор или блокатор кальциевых каналов.

В некоторых вариантах реализации соединение или его соль, представляющую собой тройной агонист, можно применять в комбинации с антидислипидемическим агентом, включая, но не ограничиваясь ими, статин, фибрат, ниацин и/или ингибитор абсорбции холестерина.

Нуклеиновые кислоты, векторы и клетки-хозяева.

Согласно настоящему изобретению предложена нуклеиновая кислота, кодирующая пептид, имеющий последовательность X1-X30 формулы (I). Также предложена конструкция экспрессии (также известная как вектор экспрессии), содержащая нуклеиновую кислоту согласно настоящему изобретению, функционально связанную с подходящими регуляторными элементами для направления экспрессии пептида, например транскрипции и трансляции. Согласно настоящему изобретению также предложена клетка-хозяин, содержащая нуклеиновую кислоту или конструкцию экспрессии и способная экспрессировать и возможно секретировать пептид.

В некоторых вариантах реализации настоящего изобретения предложен способ получения соединения согласно настоящему изобретению, при этом указанный способ включает культивацию клеток-хозяев, описанных выше, в условиях, подходящих для экспрессии указанного соединения, и очистку соединения, полученного таким образом.

Согласно настоящему изобретению также предложена молекула нуклеиновой кислоты, вектор экспрессии или клетка-хозяин, описанная выше, для применения в способе лечения и, в частности, для лечения нарушений метаболизма, рассмотренных в иных местах настоящего описания.

Синтез соединений согласно настоящему изобретению.

Молекула нуклеиновой кислоты может кодировать соединение согласно настоящему изобретению, пептид, имеющий аминокислотную последовательность X1-X30 формулы (I), или пептид, который является предшественником соединения согласно настоящему изобретению.

Как правило, такие последовательности нуклеиновой кислоты будут получены в виде конструкций экспрессии, в которых кодирующая нуклеиновая кислота функционально связана с соответствующими контрольными последовательностями для направления экспрессии. Указанная конструкция экспрессии может быть получена в случае клетки-хозяина, способной экспрессировать (и возможно также секретировать) предшественник, или в системе бесклеточной экспрессии.

Согласно настоящему изобретению предложен способ получения тройного агониста согласно настоящему изобретению, при этом указанный способ включает экспрессию аминокислотного предшественника тройного агониста и модификацию указанного предшественника с получением тройного агониста. Указанная модификация может включать химическую модификацию остатка Lys, Arg или Cys, присутствующего в положении Ψ, для введения липофильного фрагмента, модификацию N- или C-конца и/или модификацию любых других боковых цепей аминокислот в молекуле (например, для введения остатка не встречающейся в природе аминокислоты).

Соединения согласно настоящему изобретению также могут быть получены стандартными способами синтеза пептидов, например стандартным твердофазным или жидкофазным способом либо поэтапно, либо путем сборки фрагментов, с выделением и очисткой конечного продукта, представляющего собой пептидное соединение; или любыми комбинациями рекомбинантных способов и способов синтеза.

Может быть предпочтительным синтез пептидных соединений согласно настоящему изобретению посредством твердофазного или жидкофазного синтеза пептидов. В данном контексте можно упомянуть WO 98/11125 или, среди прочего, Fields, G.B. et al., "Principles and Practice of Solid-Phase Peptide Synthesis"; in: Synthetic Peptides, Gregory A. Grant (ed.), Oxford University Press (2nd edition, 2002) и примеры синтеза, приведенные в настоящем описании.

Примеры

Следующие примеры демонстрируют некоторые варианты реализации настоящего изобретения. Однако следует понимать, что данные примеры не подразумевают и не определяют полностью условия и объем настоящего изобретения. Данные примеры выполняли с использованием стандартных методик, хорошо известных и рутинных для специалиста в данной области техники, за исключением случаев, когда подробно описано иное. Следующие примеры представлены только в целях иллюстрации и никоим образом не ограничивают объем настоящего изобретения.

Содержание всех публикаций, патентов и заявок на патент, указанных в настоящем описании, полностью включено в настоящее описание посредством ссылки так же, как если бы полное содержание каждой индивидуальной публикации, патента или заявки на патент было специально включено отдельно.

Пример 1.

Способы, применяемые согласно настоящему изобретению, описаны ниже, за исключением случаев, когда явно указано иное.

Общий синтез ацилированных тройных агонистов.

Твердофазный синтез пептидов осуществляли на синтезаторе SEM Liberty Peptide Synthesizer с использованием стандартной Fmoc-химии. Смолу TentaGel S Ram (1 г; 0,25 ммоль/г) подвергали разбуханию в NMP (10 мл) перед применением и переносили из пробирки в реакционный сосуд с использованием ДХМ и NMP.

Реакция сочетания.

Fmoc-аминокислоту в NMP/ДМФА/ДХМ (1:1:1; 0,2 М; 5 мл) добавляли к смоле в микроволновом блоке SEM Discover совместно с COMU/NMP (0,5 М; 2 мл) и DIPEA/ДМФА (2,0 М; 1 мл). Смесь для реакции сочетания нагревали до 75°C в течение 5 мин при одновременном барботировании смеси азотом. Затем смолу промывали ДМФА (4×10 мл).

Снятие защиты.

К смоле добавляли пиперидин/NMP (20%; 10 мл) для первоначального снятия защиты и смесь нагревали с помощью микроволн (30 с; 40°C). Реакционный сосуд опустошали и добавляли вторую часть смеси пиперидин/ДМФА (20%; 10 мл) и снова нагревали (75°C; 3 мин). Затем смолу промывали NMP (6×10 мл).

Ацилирование боковой цепи.

В положение ацилирования вводили Fmoc-Lys(ivDde)-OH или, в качестве альтернативы, другую аминокислоту с ортогональной защитной группой боковой цепи. Затем проводили Boc-защиту N-конца пептидного остова с использованием Boc₂O или, в качестве альтернативы, путем использования Boc-защищенной аминокислоты в последней реакции сочетания. В то время как пептид был еще связан со смолой, ортогональную защитную группу боковой цепи селективно отщепляли с использованием свежеприготовленного гидразина гидрата (2-4%) в NMP в течение 2×15 мин. Незащищенную боковую цепь лизина сначала подвергали реакции сочетания с Fmoc-Glu-OtBu или другой спейсерной аминокислотой, с которой снимали защиту пиперидином, и ацилировали липофильным фрагментом с использованием методики сочетания пептидов, описанной выше. Используемые сокращения являются следующими:

COMU: 1-[(1-(циано-2-этокси-2-оксоэтилиденаминоокси)-диметиламино-морфолинометилен)]метанамина гексафторфосфат,

ivDde: 1-(4,4-диметил-2,6-диоксоциклогексиден)-3-метилбутил,

Dde: 1-(4,4-диметил-2,6-диоксоциклогексиден)этил,

ДХМ: дихлорметан,

ДМФА: N,N-диметилформамид,

DIPEA: диизопропилэтиламин,

EtOH: этанол,

Et₂O: диэтиловый эфир,

HATU: N-[(диметиламино)-1H-1,2,3-триазол[4,5-b]пиридин-1-илметилен]-N-метилметанаминий гексафторфосфат N-оксид,

MeCN: ацетонитрил,

NMP: N-метилпирролидон,

ТФУ: трифторуксусная кислота,

TIS: триизопропилсилан.

Отщепление.

Смолу промывали EtOH (3×10 мл) и Et₂O (3×10 мл), и сушили до постоянной массы при комнатной температуре (r.t.). Неочищенный пептид отщепляли от смолы путем обработки смесью ТФУ/TIS/вода (95/2,5/2,5; 40 мл; 2 ч; комнатная температура). Большую часть ТФУ удаляли при пониженном давлении, и неочищенный пептид осаждали и три раза промывали диэтиловым эфиром, и сушили до постоянной массы при комнатной температуре.

Очистка неочищенного пептида путем ВЭЖХ.

Неочищенный пептид очищали до более 90% путем препаративной обращенно-фазовой ВЭЖХ с использованием PerSeptive Biosystems VISION Workstation, оснащенной колонкой C-18 (5 см; 10 мкм) и коллектором фракций, и пропускали со скоростью 35 мл/мин, с градиентом буфера А (0,1% ТФУ, водн.) и буфера В (0,1% ТФУ, 90% MeCN, водн.). Фракции анализировали путем аналитической ВЭЖХ и МС, и соответствующие фракции объединяли в пул и лиофилизировали. Конечный продукт характеризовали путем ВЭЖХ и МС.

Синтезированные соединения представлены в табл. 1.

Таблица 1

№ соединения	Последовательность
1	H-YSQGTFTSDYSKYLDSKAAHDFVEWLLRA-NH ₂
2	H-Y-Aib-QGTFTSDYSKYLDS-K(Гексадеканоил-изоGlu)-AAHDFVEWLLSA-NH ₂
3	H-Y-Aib-QGTFTSDYSKYLDSKAAHDFVEWLLRA-NH ₂
4	H-YSQGTFTSDYSKYLD-K(Гексадеканоил-изоGlu)-KAAHDFVEWLLRA-NH ₂
5	H-Y-Aib-QGTFTSDYSIYLSKAAHDFVEWLLSA-NH ₂
6	H-Y-Aib-QGTFTSDYSKYLDSKAAARDFVEWLLSA-NH ₂
7	H-Y-Aib-QGTFTSDYSKALDSKAAHDFVEWLLSA-NH ₂
8	H-Y-Aib-QGTFTSDYSKYLESKAAHDFVEWLLSA-NH ₂
9	H-Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDEKAAHDFVEWLLSA-NH ₂
10	H-Y-Aib-QGTFTSDYSIYLSKAAKDFVEWLLSA-NH ₂
11	H-Y-Aib-QGTFTSDYSIYLSKAAHDFVNWLLSA-NH ₂
12	H-Y-Aib-QGTFTSDYSIYLSKAAHDFVEWLLRA-NH ₂
13	H-Y-Aib-QGTFTSDYSIYLSKAAHDFVEWLLSAGPSSGAPPS-NH ₂
14	H-Y-Aib-QGTFTSDYSIYLE-KKAAHDFVEWLLSA-NH ₂
15	H-Y-Aib-QGTFTSDYSIYLE-KKAAHDFVEWLLSA-NH ₂
16	H-Y-Aib-QGTFTSDYSIYLEKKAQKEFVEWLLSA-NH ₂
17	H-Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDEKAAKDFVEWLLSA-NH ₂
18	H-Y-Aib-QGTFTSDYSIYLESKAAHDFVEWLLSA-NH ₂
19	H-Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDKKAHDFVEWLLSA-NH ₂
20	H-Y-Aib-QGTFTSDYSIYLEKKAKEFVEWLLSA-NH ₂
21	H-Y-Aib-QGTFTSDYSKALDEKAAKEFVEWLLSA-NH ₂
22	H-Y-Aib-QGTFTSDYSKYLEKKAQKEFVEWLLSA-NH ₂
23	H-Y-Aib-QGTFTSDYSIYLEK-K(Гексадеканоил-изоGlu)-AAKEFVEWLLSA-NH ₂
24	H-Y-Aib-QGTFTSDYSIYLE-K(Гексадеканоил-изоGlu)-KAAKEFVEWLLSA-NH ₂
25	H-Y-Aib-QGTFTSDYS-K(Гексадеканоил-изоGlu)-YLEKKAKEFVEWLLSA-NH ₂

26	H-Y-Aib-QGTFTSDYSKYLDE-K(Гексадеканойл-изоGlu)-AAKDFIEWLESA-NH ₂
27	H-Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDK-K(Гексадеканойл-изоGlu)-AAHDFVEWLLRA-NH ₂
28	H-Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDE-K(Гексадеканойл-изоGlu)-AAHDFVEWLLSA-NH ₂
29	H-Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDK-K(Гексадеканойл-изоGlu)-AAHDFVEWLLSAGPSSGAPPPS-NH ₂
30	H-Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDE-K(Гексадеканойл-изоGlu)-AAKDFIEWLESA-NH ₂
31	H-Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDE-K(Гексадеканойл-изоGlu)-AAKDFIEWLESA-NH ₂
32	H-Y-Aib-QGTFTSDYSIYLEK-K(изоGlu-Гексадеканойл)-AAKEFVEWLLSAGPSSGAPPPS-NH ₂
33	H-Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDK-K([17-карбоксигептадеканойл]-изоGlu-Peg3-Peg3)-AQRAFVEWLLAQGPSSGAPPPS-NH ₂
34	H-Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDK-K([17-карбоксигептадеканойл]-изоGlu)-AQRAFVEWLLAQGPSSGAPPPS-NH ₂
35	H-Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDK-K(Октадеканойл-изоGlu-Peg3-Peg3)-AQRAFVEWLLAQGPSSGAPPPS-NH ₂
36	H-Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDK-K(эйкозаноил-изоGlu-Peg3-Peg3)-AQRAFVEWLLAQGPSSGAPPPS-NH ₂
37	H-Y-Aib-QGTFTSDYSIYLEK-K(Октадеканойл-изоGlu-Peg3-Peg3)-AAKEFVEWLLSAGPSSGAPPPS-NH ₂
38	H-Y-Aib-QGTFTSDYSIYLEK-K([17-карбоксигептадеканойл]-изоGlu-Peg3-Peg3)-AAKEFVEWLLSAGPSSGAPPPS-NH ₂
39	H-Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDE-K(Октадеканойл-изоGlu-Peg3-Peg3)-AAKEFIEWLESA-NH ₂
40	H-Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDE-K([17-карбоксигептадеканойл]-изоGlu-Peg3-Peg3)-AAKEFIEWLESA-NH ₂
41	H-Y-Ac4c-QGTFTSDYSIYLDE-K([19-карбоксонадеканойл]-изоGlu-Peg3-Peg3)-AAKEFIEWLESA-NH ₂
42	H-Y-Aib-QGTFTSDYSIALDK-K(Октадеканойл-изоGlu-Peg3-Peg3)-AQRAFVNWLVA-Aib-KPSSGAPPPS-NH ₂

43	H-Y-Aib-QGTFTSDYSIALDK-K(Октадеканонил-Dара-Peg3-Peg3)-AQRAFVNWLVA-Aib-KPSSGAPPPS-NH ₂
44	H-Y-Aib-QGTFTSDYSIALDK-K[19-карбоксинонадеканонил]-изоGlu-Peg3-Peg3)-AQRAFVNWLVA-Aib-KPSSGAPPPS-NH ₂
45	H-Y-Aib-QGTFTSDYSIALEK-K([17-карбоксихептадеканонил]-изоGlu-Peg3-Peg3)-AQRAFVEWLLAQK-NH ₂
46	H-Y-Aib-QGTFTSDYSIALEK-K(Октадеканонил-изоGlu-Peg3-Peg3)-AQRAFVEWLLAQK-NH ₂
47	H-Y-Aib-QGTFTSDYSIALEK-K[19-карбоксинонадеканонил]-изоGlu-Peg3-Peg3)-AQRAFVEWLLAQK-NH ₂
48	H-Y-Aib-QGTFTSDLSIALEK-K(Октадеканонил-изоGlu-Peg3-Peg3)-AQRAFVEWLLAQK-NH ₂
49	H-Y-Ac4c-QGTFTSDYSIALEK-K([19-карбоксинонадеканонил]-изоGlu-Peg3-Peg3)-AQRAFVEWLLAQK-NH ₂
50	H-Y-Aib-QGTFTSDYSIYLEK-K(Октадеканонил-изоGlu-Peg3-Peg3)-AQRAFVEWLLRA-NH ₂
51	H-Y-Aib-QGTFTSDYSIYLEK-K([17-карбоксихептадеканонил]-изоGlu-Peg3-Peg3)-AQRAFVEWLLRA-NH ₂
52	H-Y-Ac4c-QGTFTSDYSIYLDK-K(19-карбоксихептадеканонил)-изоGlu-Peg3-Peg3)-AQRAFVEWLLAQGPSSGAPPPS-NH ₂

Пример 2. Анализ активности в отношении рецептора GIP (GIP-R), рецептора GLP-1 (GLP-1-R) и рецептора глюкагона (GCG-R) человека.

Действие пептидных конъюгатов согласно настоящему изобретению *in vitro* оценивали путем измерения индукции цАМФ после стимуляции соответствующего рецептора глюкагоном, GIP, GLP1 или их аналогами, указанными в настоящем изобретении, с использованием набора для определения цАМФ AlphaScreen® от Perkin-Elmer в соответствии с инструкциями. Вкратце, клетки HEK293, экспрессирующие GIP-R, GLP-1R или GCG-R человека (стабильные линии клеток, полученные посредством трансфекции кДНК для GIP-R, GLP-1R или GCG-R человека и отбора стабильных клонов), высевали в количестве 30000 клеток/лунка в 96-луночные микротитрационные планшеты, покрытые 0,01% поли-L-лизинном, и выращивали в течение 1 дня в культуре в 200 мкл питательной среды (DMEM, 10% FCS, пенициллин (100 МЕ/мл), стрептомицин (100 мкг/мл)). В день проведения анализа питательную среду удаляли и клетки однократно промывали 150 мкл буфера Тироде (соли Тироде (9,6 г/л), 10 мМ HEPES, pH 7,4). Затем клетки инкубировали в 100 мкл буфера для анализа (0,1% мас./об., обработанный щелочью казеин и 100 мкМ IBMX в буфере Тироде), содержащего возрастающие концентрации контрольных и тестируемых соединений, в течение 15 мин при 37°C. Буфер для анализа удаляли и клетки лизировали в 80 мкл буфера для лизиса (0,1% мас./об. BSA, 5 мМ HEPES, 0,3% об./об. Твин-20) на лунку. Из каждой лунки 10 мкл лизированных клеток переносили в 384-луночный планшет и смешивали с 15 мкл смеси гранул (1 единица/15 мкл акцепторных гранул анти-цАМФ, 1 единица/15 мкл донорных гранул и 1 единица/15 мкл биотинилированного цАМФ в буфере для анализа). Планшеты перемешивали и инкубировали в темноте в течение 1 ч при комнатной температуре перед измерением с использованием планшет-ридера Envision™ (Perkin-Elmer).

Результаты переводили в концентрации цАМФ с использованием стандартной кривой цАМФ, полученной в буфере KRBH, содержащем 0,1% (об./об.) ДМСО. Результирующие кривые цАМФ строили в виде зависимости абсолютных концентраций цАМФ (нМ) от log (концентрация тестируемого соединения) и анализировали с использованием программы подбора кривой Xlfit.

Расчетные параметры для описания как эффективности, так и агонистической активности каждого тестируемого соединения в отношении рецепторов были следующими.

EC50, концентрация, вызывающая полумаксимальное повышение уровней цАМФ, отражающая активность тестируемого соединения. Результаты суммированы в табл. 2 и 2b. Наиболее полные данные суммированы в табл. 2b.

Таблица 2
Средние значения EC_{50} в отношении GIP-R, GLP1-R и GCG-R
соответственно по сравнению с контрольными пептидами

Соединение	GIP R (EC_{50} в нМ)	GLP1 R (EC_{50} в нМ)	GCG R (EC_{50} в нМ)
hGIP	0,0038	-	-
Эксендин-4	-	0,0043	-
глюкагон	-	-	0,010*
1	0,38	0,033	0,013
2	0,35	0,089	0,046
3	0,13	0,015	0,022
5	0,17	0,0092	0,065
6	0,34	0,0095	0,018
7	0,42	0,031	0,086
8	0,20	0,015	0,042
9	0,056	0,0055	0,097
10	0,24	0,012	0,10
11	0,28	0,020	0,11
12	0,084	0,012	0,076
13	0,083	0,0099	0,24
14	0,060	0,013	0,10
15	0,025	0,016	0,058
17	0,091	0,011	0,16
18	0,07	0,021	0,15
19	0,032	0,013	0,024
20	0,047	0,0094	0,057
21	0,18	0,014	0,10
22	0,18	0,028	0,76
23	0,13	0,11	0,14
24	0,10	0,091	0,28
25	0,25	0,28	0,30
26	0,070	0,030	0,040
27	0,12	0,16	0,070
28	0,054	0,058	0,16
29	0,060	0,050	0,15
30	0,15	0,022	0,024
31	0,087	0,013	0,011
32	0,044	0,015	0,15

Таблица 2б
Средние значения EC_{50} в отношении GIP-R, GLP1-R и GCG-R
соответственно по сравнению с контрольными пептидами

Соединение	GIP R (EC_{50} в нМ)	GLP1 R (EC_{50} в нМ)	GCG R (EC_{50} в нМ)
hGIP	0,003	>10	>10
Эксендин-4	>10	0,004	>10
глюкагон	>10	0,48	0,009
1	0,38	0,033	0,013
2	0,35	0,089	0,046
3	0,13	0,015	0,022
5	0,17	0,0092	0,065
6	0,32	0,0095	0,018
7	0,5	0,031	0,086
8	0,2	0,015	0,042
9	0,056	0,0055	0,097
10	0,2	0,012	0,1
11	0,25	0,02	0,11
12	0,084	0,012	0,076

13	0,083	0,0099	0,24
14	0,06	0,013	0,1
15	0,022	0,014	0,058
17	0,091	0,013	0,16
18	0,07	0,021	0,15
19	0,032	0,013	0,024
20	0,047	0,0093	0,057
21	0,18	0,015	0,1
22	0,18	0,03	0,76
23	0,13	0,11	0,14
24	0,097	0,11	0,28
25	0,19	0,28	0,3
26	0,07	0,03	0,04
27	0,099	0,16	0,07
28	0,054	0,058	0,16
29	0,064	0,05	0,15
30	0,15	0,022	0,024
31	0,087	0,013	0,011
32	0,04	0,015	0,15
33	0,0099	0,0093	0,58
34	0,0073	0,0066	0,11
35	0,01	0,012	0,011
37	0,018	NT	0,014
38	0,064	0,015	0,27
39	0,015	0,015	0,013
42	0,098	0,015	0,032
43	0,0098	0,014	0,036
46	0,011	0,016	0,13
48	0,013	0,013	0,19
51	0,033	0,026	1,4
52	0,016	0,0096	1,8

NT: не тестировали.

Ожидается, что приведенные в качестве примера соединения согласно настоящему изобретению будут демонстрировать активность в отношении GCG-R, близкую к активности нативного глюкагона. В то же время, ожидается, что указанные соединения будут демонстрировать сильную активацию GLP-1-R при EC₅₀ ниже 1 нМ. Аналогичным образом, ожидается, что данные пептиды будут также демонстрировать высокую активность в отношении GIP-R при EC₅₀ ниже или чуть выше 1 нМ.

Пример 3. Фармакокинетика выбранных соединений у мышей.

Способ.

Мышей C57BL/6J (самцы с массой тела приблизительно 25 г) подвергали однократному внутривенному (в/в) болюсному введению каждого тестируемого пептида.

После введения выбранных соединений (100 или 200 нмоль/кг) брали образцы крови через 0,08, 0,17, 0,5, 1, 4, 8, 16 и 24 ч после введения дозы. Образцы крови брали путем подязычного кровопускания. Носитель представлял собой фосфатный буфер, содержащий маннитол (рН 7,5).

В каждый момент взятия образцов брали образцы у двух мышей, т.е. для каждого соединения включали 16 мышей. Мышей подвергали эвтаназии путем смещения шейных позвонков сразу после взятия образцов крови. Образцы плазмы анализировали после твердофазной экстракции (SPE) или осаждения путем жидкостной хроматографии-масс-спектрометрии (ЖХ-МС/МС). Средние концентрации в плазме использовали для расчета фармакокинетических параметров с использованием некомпартментного подхода в Phoenix WinNonlin 6.3. Конечный элиминационный период полувыведения из плазмы (T_{1/2}) определяли как ln(2)/λz, где λz представляет собой величину наклона логарифмической регрессии log концентрации от времени во время конечной фазы. Результаты суммированы в табл. 3.

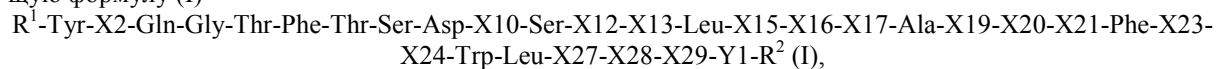
Таблица 3

Конечный элиминационный период полувыведения (ч) у мышей после внутривенного введения выбранных соединений

Соединение	T _{1/2} (ч)
28	7,8
32	4,1

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение, представляющее собой тройной агонист глюкагона-GLP-1-GIP, которое имеет общую формулу (I)



где R¹ представляет собой H-, C₁₋₄-алкил, ацетил, формил, бензоил, трифторацетил или pGlu;

X2 представляет собой Aib, Gly, Ala, D-Ala, Ser, N-Me-Ser, Ac3c, Ac4c или Ac5c;

X10 представляет собой Tyr или Leu;

X12 представляет собой Lys, Ile или Ψ;

X13 представляет собой Ala, Tyr или Aib;

X15 представляет собой Asp или Glu;

X16 представляет собой Ser, Glu, Lys или Ψ;

X17 представляет собой Lys или Ψ;

X19 представляет собой Gln или Ala;

X20 представляет собой Lys, His, Arg или Ψ;

X21 представляет собой Ala, Asp или Glu;

X23 представляет собой Val или Ile;

X24 представляет собой Asn, Glu или Ψ;

X27 представляет собой Leu, Glu или Val;

X28 представляет собой Ala, Ser, Arg или Ψ;

X29 представляет собой Aib, Ala, Gln или Lys;

Y1 представляет собой Lys;

Gly;

Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser;

Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Ser;

Lys-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser;

Lys-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Ser;

Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser;

Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Ser;

Lys-Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser;

Lys-Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Ser;

Lys-Lys-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser;

Lys-Lys-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Ser;

Lys-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser;

Lys-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Ser;

Gly-Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser;

Gly-Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Ser;

Gly-Lys-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser;

Gly-Lys-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Ser;

Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser или

Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Ser, или представляет собой связь между X29 и R2;

Ψ представляет собой остаток Lys, Arg, Orn или Cys, в котором боковая цепь конъюгирована с липофильным заместителем; и

R² представляет собой -NH₂ или -OH;

или фармацевтически приемлемая соль указанного соединения.

2. Соединение по п.1, отличающееся тем, что Ψ присутствует в одном из положений X12, X16 или X17.

3. Соединение по п.1 или 2, отличающееся тем, что содержит только один остаток Ψ.

4. Соединение по любому из пп.1-3, отличающееся тем, что содержит один или более следующих наборов остатков:

K12 и K12 и Y13; I12 и Y13; K12 и A13; I12 и A13 или Ψ12 и Y13;

D15 и S16; D15 и E16; E15 и K16; D15 и Ψ16; E15 и S16 или E15 и Ψ16;

A19, H20 и D21; A19, K20 и D21; A19, R20 и D21; Q19, K20 и E21; A19, K20 и E21 или Q19, R20 и A21;

I23 и E24; V23 и E24 или V23 и N24;

L27, R28 и A29; L27, S28 и A29; L27, A28 и Q29; E27, S28 и A29 или V27, A28 и Aib29;

E15 и K17;

E15 и Ψ17;

E15, Ψ17 и Q19;

Q19 и E24;

E16, Ψ17 и Q19 или
 K16, Ψ17 и Q19 и необязательно дополнительно содержит
 Aib2, Ser2 или Ac4c2 и/или
 Tyr10 или
 Leu10.

5. Соединение по любому из пп.1-4, отличающееся тем, что положения с 1 по 29 имеют последовательность

YSQGTFTSDYSKYLDSKAAHDFVEWLLRA;
 YSQGTFTSDYSKYLDΨKAAHDFVEWLLRA;

Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDKAAHDFVEWLLSA;
 Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDEKAAHDFVEWLLSA;
 Y-Aib-QGTFTSDYSIYLEKAAHDFVEWLLSA;
 Y-Aib-QGTFTSDYSIYLESKAAHDFVEWLLSA;
 Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDKAAHDFVEWLLSA;
 Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDEΨAAHDFVEWLLSA;
 Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDΨAAHDFVEWLLSA;

Y-Aib-QGTFTSDYSKYLDSΨAAHDFVEWLLSA;
 Y-Aib-QGTFTSDYSKALDSKAAHDFVEWLLSA;
 Y-Aib-QGTFTSDYSKYLESKAAHDFVEWLLSA;

Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDKAAKDFVEWLLSA;
 Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDEKAAKDFVEWLLSA;
 Y-Aib-QGTFTSDYSKYLDSKAAKDFVEWLLSA;

Y-Aib-QGTFTSDYSIYLEKKAQKEFVEWLLSA;
 Y-Aib-QGTFTSDYSKYLEKKAQKEFVEWLLSA;

Y-Aib-QGTFTSDYSIYLEKKAKEFVEWLLSA;
 Y-Aib-QGTFTSDYSKALDEKAAKEFVEWLLSA;
 Y-Aib-QGTFTSDYSIYLEKΨAAKEFVEWLLSA;
 Y-Aib-QGTFTSDYSIYLEΨKAAKEFVEWLLSA;
 Y-Aib-QGTFTSDYSΨYLEKKAKEFVEWLLSA;

Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDKAAHDFVNWLLSA;
 Y-Aib-QGTFTSDLSIALEKΨAQRAFVEWLLAQ;

Y-Aib-QGTFTSDYSKYLDEΨAAKDFIEWLESA;
 Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDEΨAAKDFIEWLESA;
 Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDEΨAAKDFIEWLESA;
 Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDEΨAAKEFIEWLESA;

Y-Aib-QGTFTSDYSKYLDSKAAHDFVEWLLRA;
 Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDKAAHDFVEWLLRA;
 Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDΨAAHDFVEWLLRA;
 Y-Aib-QGTFTSDYSIYLEKΨAQRAFVEWLLRA;

Y-Aib-QGTFTSDYSIALDKΨAQRAFVNWLV-Aib;

Y-Ac4c-QGTFTSDYSIYLDEΨAAKEFIEWLESA;
 Y-Ac4c-QGTFTSDYSIALEKΨAQRAFVEWLLAQ; или
 Y-Ac4c-QGTFTSDYSIYLDKΨAQRAFVEWLLAQ.

6. Соединение по п.1, которое не более чем в четырех положениях отличается от любой из последовательностей, приведенных в п.5.

7. Соединение по п.1, которое не более чем в четырех положениях отличается от одной из последовательностей

Y-Aib-QGTFTSDYSIYLEKΨAAKEFVEWLLSA;
 Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDEΨAAHDFVEWLLSA; и
 Y-Aib-QGTFTSDYSIALEKΨAQRADFVEWLLAQ.

8. Соединение по п.1, отличающееся тем, что пептидный остов формулы (I) имеет последовательность

YSQGTFTSDYSKYLDSKAAHDFVEWLLRA;
 YSQGTFTSDYSKYLDΨKAAHDFVEWLLRA;

Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDSKAAHDFVEWLLSA;
 Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDEKAAHDFVEWLLSA;
 Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDSKAAHDFVEWLLSAGPSSGAPPPS;
 Y-Aib-QGTFTSDYSIYLEKAAHDFVEWLLSA;
 Y-Aib-QGTFTSDYSIYLESKAAHDFVEWLLSA;
 Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDKAAHDFVEWLLSA;
 Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDEΨAAHDFVEWLLSA;
 Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDSΨAAHDFVEWLLSAGPSSGAPPPS;

Y-Aib-QGTFTSDYSKYLDSΨAAHDFVEWLLSA;
 Y-Aib-QGTFTSDYSKALDSKAAHDFVEWLLSA;
 Y-Aib-QGTFTSDYSKYLESKAAHDFVEWLLSA;

Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDSKAAKDFVEWLLSA;
 Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDEKAAKDFVEWLLSA;
 Y-Aib-QGTFTSDYSKYLDSKAAARDVEWLLSA;

Y-Aib-QGTFTSDYSIYLEKKAQKEFVEWLLSA;
 Y-Aib-QGTFTSDYSKYLEKKAQKEFVEWLLSA;

Y-Aib-QGTFTSDYSIYLEKKAKEFVEWLLSA;
 Y-Aib-QGTFTSDYSKALDEKAAKEFVEWLLSA;
 Y-Aib-QGTFTSDYSIYLEKΨAAKEFVEWLLSA;
 Y-Aib-QGTFTSDYSIYLEKΨKAAKEFVEWLLSA;
 Y-Aib-QGTFTSDYSΨYLEKKAKEFVEWLLSA;
 Y-Aib-QGTFTSDYSIYLEKΨAAKEFVEWLLSAGPSSGAPPPS;

Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDSKAAHDFVNWLLSA;

Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDKΨAQRADFVEWLLAQGPSSGAPPPS;
 Y-Aib-QGTFTSDYSIALEKΨAQRADFVEWLLAQK;
 Y-Aib-QGTFTSDLSIALEKΨAQRADFVEWLLAQK;

Y-Aib-QGTFTSDYSKYLDEΨAAKDFIEWLESA;
 Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDEΨAAKDFIEWLESA;
 Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDEΨAAKDFIEWLESA;
 Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDEΨAAKEFIEWLESA;
 Y-Aib-QGTFTSDYSKYLDSKAAHDFVEWLLRA;
 Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDSKAAHDFVEWLLRA;
 Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDSΨAAHDFVEWLLRA;
 Y-Aib-QGTFTSDYSIYLEKΨAQRADFVEWLLRA;

Y-Aib-QGTFTSDYSIALDKΨAQRADFVNWLV-Aib-KPSSGAPPPS;

Y-Ac4c-QGTFTSDYSIYLDEΨAAKEFIEWLESA;
 Y-Ac4c-QGTFTSDYSIALEKΨAQRADFVEWLLAQK; или
 Y-Ac4c-QGTFTSDYSIYLDKΨAQRADFVEWLLAQGPSSGAPPPS.

9. Соединение по п.1, в котором пептидный остов формулы (I) имеет последовательность, которая отличается не более чем в пяти положениях от любой из последовательностей, приведенных в п.8.

10. Соединение по п.9, которое отличается не более чем в пяти положениях от одной из последовательностей

Y-Aib-QGTFTSDYSIYLEKΨAAKEFVEWLLSAGPSSGAPPPS;

Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDEΨAANDFVEWLLSA; или

Y-Aib-QGTFTSDYSIALEKΨAQRADFVEWLLAQK.

11. Соединение по любому из пп.1-10, отличающееся тем, что Ψ представляет собой остаток Lys, в котором боковая цепь конъюгирована с липофильным заместителем.

12. Соединение по любому из пп.1-11, отличающееся тем, что указанный липофильный заместитель имеет формулу $-Z^1$ или $-Z^2-Z^1$,

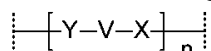
где $-Z^1$ представляет собой жирную цепь, содержащую на конце соединение $-X$ - с Ψ или с Z^2 ;

где $-X$ - представляет собой связь, $-CO-$, $-SO-$ или $-SO_2-$; и

необязательно Z^1 имеет полярную группу на конце цепи, дальнем от соединения $-X$ -;

указанная полярная группа содержит группу, представляющую собой карбоновую кислоту или биоизомер карбоновой кислоты, фосфоновую кислоту или сульфоновую кислоту; и

где $-Z^2-$, если присутствует, представляет собой спейсер формулы



соединяющий Z^1 с Ψ;

где каждый Y независимо представляет собой $-NH$, $-NR$, $-S$ или $-O$, где R представляет собой алкил, защитную группу или образует связь с другой частью спейсера Z^2 ;

каждый X независимо представляет собой связь, $CO-$, $SO-$ или SO_2- ;

при условии, что Y представляет собой $-S$, X, с которым он связан, представляет собой связь;

каждый V независимо представляет собой двухвалентную органическую группу, связывающую Y и X; и

n равен 1-10.

13. Соединение по п.12, отличающееся тем, что указанный липофильный заместитель имеет формулу $-Z^2-Z^1$.

14. Соединение по п.11 или 13, отличающееся тем, что Z^1 представляет собой A-B-алкилен-CO-, где A представляет собой H или $-COOH$ и B представляет собой связь.

15. Соединение по п.14, отличающееся тем, что Z^1 представляет собой A-B- C_{16-20} алкилен-(CO)-.

16. Соединение по любому из пп.12-15, отличающееся тем, что Z^1 представляет собой гексадеcanoил;

17-карбоксихептадеcanoил [$HOOC-(CH_2)_{16}-(CO)-$];

19-карбоксихнонадеcanoил [$HOOC-(CH_2)_{18}-(CO)-$];

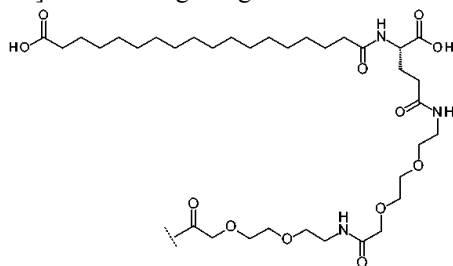
октадеcanoил [$H_3C-(CH_2)_{16}-(CO)-$] или

эйкозаноил [$H_3C-(CH_2)_{18}-(CO)-$].

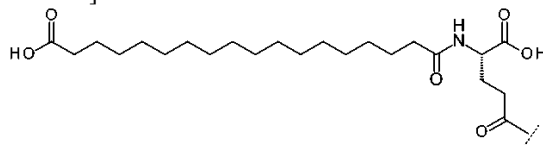
17. Соединение по любому из пп.12-16, отличающееся тем, что Z^2 содержит остаток, выбранный из изо-Glu или Dара.

18. Соединение по п.12, отличающееся тем, что $-Z^1$ или $-Z^2-Z^1$ представляет собой:

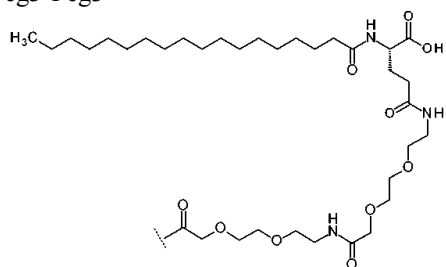
(i) [17-карбоксихептадеcanoил]-изо-Glu-Peg3-Peg3



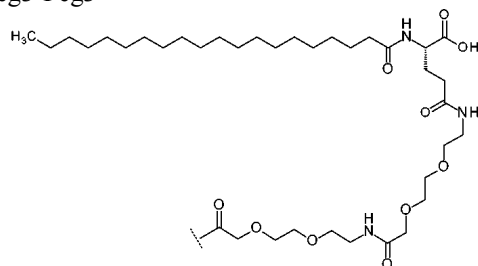
(ii) [17-карбоксихептадеcanoил]-изо-Glu



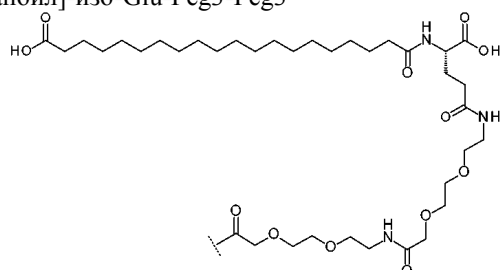
(iii) октадеcanoил-изо-Glu-Peg3-Peg3



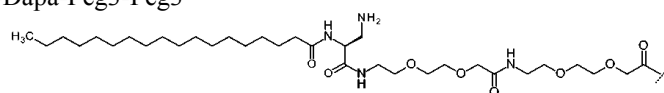
(iv) эйкозаноил-изо-Glu-Peg3-Peg3



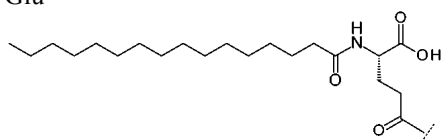
(v) [19-карбоксивонадеcanoил]-изо-Glu-Peg3-Peg3



(vi) октадеcanoил-Dapa-Peg3-Peg3



или (vii) гексадеcanoил-изо-Glu



19. Соединение по п.1, отличающееся тем, что:

(а) положения с 1 по 29 имеют последовательность

YSQGTFTSDYSKYLD-K(Гексадеканойл-изоGlu)-KAAHDFVEWLLRA;

Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDE-K(Гексадеканойл-изоGlu)-AAHDFVEWLLSA;

Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDK-K(Гексадеканойл-изоGlu)-AAHDFVEWLLSA;

Y-Aib-QGTFTSDYSKYLDS-K(Гексадеканойл-изоGlu)-AAHDFVEWLLSA;

Y-Aib-QGTFTSDYSIYLEK-K(Гексадеканойл-изоGlu)-AAKEFVEWLLSA;

Y-Aib-QGTFTSDYSIYLE-K(Гексадеканойл-изоGlu)-KAAKEFVEWLLSA;

Y-Aib-QGTFTSDYS-K(Гексадеканойл-изоGlu)-YLEKKAKEFVEWLLSA;

Y-Aib-QGTFTSDYSIYLEK-K(Гексадеканойл-изоGlu)-AAKEFVEWLLSA;

Y-Aib-QGTFTSDYSIYLEK-K(Октадеканойл-изоGlu-Peg3-Peg3)-AAKEFVEWLLSA;

Y-Aib-QGTFTSDYSIYLEK-K([17-карбоксигептадеканойл]-изоGlu-Peg3-Peg3)-

AAKEFVEWLLSA;

Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDK-K([17-карбоксигептадеканойл]-изоGlu-Peg3-Peg3)-

AQRAFVEWLLAQ;

Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDK-K([17-карбоксигептадеканойл]-изоGlu)-

AQRAFVEWLLAQ;

Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDK-K(Октадеканойл-изоGlu-Peg3-Peg3)-AQRAFVEWLLAQ;

Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDK-K(эйкозаноил-изоGlu-Peg3-Peg3)-

AQRAFVEWLLAQ;

Y-Aib-QGTFTSDYSIALEK-K([17-карбоксигептадеканойл]-изоGlu-Peg3-Peg3)-

AQRAFVEWLLAQ;

Y-Aib-QGTFTSDYSIALEK-K(Октадеканойл-изоGlu-Peg3-Peg3)-AQRAFVEWLLAQ;

Y-Aib-QGTFTSDYSIALEK-K([19-карбоксихекозадеканойл]-изоGlu-Peg3-Peg3)-

AQRAFVEWLLAQ;

Y-Aib-QGTFTSDLSIALEK-K(Октадеканойл-изоGlu-Peg3-Peg3)-AQRAFVEWLLAQ;

Y-Aib-QGTFTSDYSKYLDE-K(Гексадеканойл-изоGlu)-AAKDFIEWLESA;

Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDE-K(Гексадеканойл-изоGlu)-AAKDFIEWLESA;

Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDE-K(Гексадеканойл-изоGlu)-AAKDFIEWLESA;

Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDE-K(Октадеканойл-изоGlu-Peg3-Peg3)-AAKEFIEWLESA;

Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDE-K([17-карбоксигептадеканойл]-изоGlu-Peg3-Peg3)-

AAKEFIEWLESA;

Y-Aib-QGTFTSDYSIYLDK-K(Гексадеканойл-изоGlu)-AAHDFVEWLLRA;

Y-Aib-QGTFTSDYSIYLE-K(Октадеканойл-изоGlu-Peg3-Peg3)-AQRAFVEWLLRA;

Y-Aib-QGTFTSDYSIYLE-K([17-карбоксигептадеканойл]-изоGlu-Peg3-Peg3)-

AQRAFVEWLLRA;

Y-Aib-QGTFTSDYSIALD-K(Октадеканойл-изоGlu-Peg3-Peg3)-AQRAFVNWLVA-

Aib;

Y-Aib-QGTFTSDYSIALD-K(Октадеканойл-Dapa-Peg3-Peg3)-AQRAFVNWLVA-Aib;

Y-Aib-QGTFTSDYSIALDK-K([19-карбоксихекозадеканойл]-изоGlu-Peg3-Peg3)-

AQRAFVNWLVA-Aib;

Y-Ac4c-QGTFTSDYSIYLDE-K([19-карбоксихекозадеканойл]-изоGlu-Peg3-Peg3)-

AAKEFIEWLESA;

Y-Ac4c-QGTFTSDYSIALEK-K([19-карбоксихекозадеканойл]-изоGlu-Peg3-Peg3)-

AQRAFVEWLLAQ; или

Y-Ac4c-QGTFTSDYSIYLDK-K([19-карбоксигептадеканойл]-изоGlu-Peg3-Peg3)-

AQRAFVEWLLAQ; или

(b) пептидный остов формулы (I) имеет последовательность

YSQFTSDYSKYLD-K(Гексадеканойл-изоGlu)-KAAHDFVEWLLRA;

Y-Aib-QGFTSDYSIYLDE-K(Гексадеканойл-изоGlu)-AAHDFVEWLLSA;

Y-Aib-QGFTSDYSIYLDK-K(Гексадеканойл-изоGlu)-

AAHDFVEWLLSAGPSSGAPPPS;

Y-Aib-QGFTSDYSKYLDS-K(Гексадеканойл-изоGlu)-AAHDFVEWLLSA;

Y-Aib-QGFTSDYSIYLEK-K(Гексадеканойл-изоGlu)-AAKEFVEWLLSA;

Y-Aib-QGFTSDYSIYLE-K(Гексадеканойл-изоGlu)-KAAKEFVEWLLSA;

Y-Aib-QGFTSDYS-K(Гексадеканойл-изоGlu)-YLEKAAKEFVEWLLSA;

Y-Aib-QGFTSDYSIYLEK-K(Гексадеканойл-изоGlu)-AAKEFVEWLLSAGPSSGAPPPS;

Y-Aib-QGFTSDYSIYLEK-K(Октадеканойл-изоGlu-Peg3-Peg3)-

AAKEFVEWLLSAGPSSGAPPPS;

Y-Aib-QGFTSDYSIYLEK-K([17-карбоксигептадеканойл]-изоGlu-Peg3-Peg3)-

AAKEFVEWLLSAGPSSGAPPPS;

Y-Aib-QGFTSDYSIYLDK-K([17-карбоксигептадеканойл]-изоGlu-Peg3-Peg3)-

AQRAFVEWLLAQGPSSGAPPPS;

Y-Aib-QGFTSDYSIYLDK-K([17-карбоксигептадеканойл]-изоGlu)-

AQRAFVEWLLAQGPSSGAPPPS;

Y-Aib-QGFTSDYSIYLDK-K(Октадеканойл-изоGlu-Peg3-Peg3)-

AQRAFVEWLLAQGPSSGAPPPS;

Y-Aib-QGFTSDYSIYLDK-K(эйкозаноил-изоGlu-Peg3-Peg3)-

AQRAFVEWLLAQGPSSGAPPPS;

Y-Aib-QGFTSDYSIALEK-K([17-карбоксигептадеканойл]-изоGlu-Peg3-Peg3)-

AQRAFVEWLLAQK;

Y-Aib-QGFTSDYSIALEK-K(Октадеканойл-изоGlu-Peg3-Peg3)-

AQRAFVEWLLAQK;

Y-Aib-QGFTSDYSIALEK-K([19-карбоксихептадеканойл]-изоGlu-Peg3-Peg3)-

AQRAFVEWLLAQK;

Y-Aib-QGFTSDLSIALEK-K(Октадеканойл-изоGlu-Peg3-Peg3)-AQRAFVEWLLAQK;

Y-Aib-QGFTSDYSKYLDE-K(Гексадеканойл-изоGlu)-AAKDFIEWLESA;

Y-Aib-QGFTSDYSIYLDE-K(Гексадеканойл-изоGlu)-AAKDFIEWLESA;

Y-Aib-QGFTSDYSIYLDE-K(Гексадеканойл-изоGlu)-AAKDFIEWLESA;

Y-Aib-QGFTSDYSIYLDE-K(Октадеканойл-изоGlu-Peg3-Peg3)-AAKEFIEWLESA;

Y-Aib-QGFTSDYSIYLDE-K([17-карбоксигептадеканойл]-изоGlu-Peg3-Peg3)-

AAKEFIEWLESA;

Y-Aib-QGFTSDYSIYLDK-K(Гексадеканойл-изоGlu)-AAHDFVEWLLRA;

Y-Aib-QGFTSDYSIYLEK-K(Октадеканойл-изоGlu-Peg3-Peg3)-AQRAFVEWLLRA;

Y-Aib-QGFTSDYSIYLEK-K([17-карбоксигептадеканойл]-изоGlu-Peg3-Peg3)-

AQRAFVEWLLRA;

Y-Aib-QGFTSDYSIALD-K(Октадеканойл-изоGlu-Peg3-Peg3)-AQRAFVNWLVA-

Aib-KPSSGAPPPS;

Y-Aib-QGFTSDYSIALD-K(Октадеканойл-Dara-Peg3-Peg3)-AQRAFVNWLVA-Aib-

KPSSGAPPPS;

Y-Aib-QGFTSDYSIALDK-K([19-карбоксихептадеканойл]-изоGlu-Peg3-Peg3)-

AQRAFVNWLVA-Aib-KPSSGAPPPS;

Y-Ac4c-QGFTSDYSIYLDE-K([19-карбоксихептадеканойл]-изоGlu-Peg3-Peg3)-

AAKEFIEWLESA;

Y-Ac4c-QGFTSDYSIALEK-K([19-карбоксихептадеканойл]-изоGlu-Peg3-Peg3)-

AQRAFVEWLLAQK; или

Y-Ac4c-QGFTSDYSIYLDK-K([19-карбоксигептадеканойл]-изоGlu-Peg3-Peg3)-

AQRAFVEWLLAQGPSSGAPPPS

20. Фармацевтическая композиция для лечения и/или предотвращения нарушения метаболизма, содержащая соединение-тройной агонист по любому из пп.1-19 или его фармацевтически приемлемую соль в смеси с носителем.

21. Фармацевтическая композиция по п.20, отличающаяся тем, что указанная композиция приготовлена в виде жидкости, подходящей для введения путем инъекции или инфузии, или получена таким образом, чтобы вызывать медленное высвобождение указанного соединения-тройного агониста.

22. Применение соединения-тройного агониста по любому из пп.1-19 или его фармацевтически приемлемой соли в способе лечения и/или предотвращения нарушения метаболизма.

23. Применение соединения-тройного агониста по любому из пп.1-19 или его фармацевтически приемлемой соли в способе лечения и/или предотвращения диабета или связанного с диабетом нарушения, или ожирения, или связанного с ожирением нарушения.

24. Применение соединения-тройного агониста по п.22, отличающееся тем, что:

(а) указанное связанное с диабетом нарушение представляет собой резистентность к инсулину, нарушение толерантности к глюкозе, повышение уровня глюкозы натощак, преддиабет, диабет 1 типа, диабет 2 типа, гипертензию при гестационном диабете, дислипидемию, связанное с костями нарушение, остеопороз или их комбинацию;

(b) указанное связанное с диабетом нарушение представляет собой атеросклероз, артериосклероз, ишемическую болезнь сердца, заболевание периферических артерий, инсульт или представляет собой состояние, связанное с атерогенной дислипидемией, нарушением уровней жиров крови (таким как высокий уровень триглицеридов, низкий уровень холестерина ЛПВП, высокий уровень холестерина ЛПНП, образование бляшек на стенках артерий или их комбинацию), повышенным кровяным давлением, гипертензией, протромботическим состоянием или провоспалительным состоянием; или

(с) указанное связанное с ожирением нарушение представляет собой воспаление, связанное с ожирением, заболевание желчного пузыря, связанное с ожирением, или апноэ во сне, индуцированное ожирением, или может быть связано с состоянием, выбранным из атерогенной дислипидемии, нарушений уровней жиров крови, повышенного кровяного давления, гипертензии, протромботического состояния и провоспалительного состояния или их комбинации.

