

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **036406**

(13) **B1**

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

(45) Дата публикации и выдачи патента
2020.11.06

(51) Int. Cl. **C07K 14/605** (2006.01)

(21) Номер заявки
201690606

(22) Дата подачи заявки
2014.10.17

(54) **АНАЛОГИ ГЛЮКАГОНА**

(31) **61/892,250**

(32) **2013.10.17**

(33) **US**

(43) **2016.10.31**

(86) **РСТ/ЕР2014/072294**

(87) **WO 2015/055802 2015.04.23**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**ЗИЛЭНД ФАРМА А/С (ДК);
БЁРИНГЕР ИНГЕЛЬХАЙМ
ИНТЕРНАЦИОНАЛЬ ГМБХ (ДЕ)**

(56) **WO-A2-2012150503
WO-A1-2010070251
WO-A1-2011088837
WO-A1-2011006497
WO-A1-2012098462
WO-A1-9946283
WO-A1-0104156
WO-A1-2014041195
WO-A2-2013092703
WO-A1-2010070253**

(72) Изобретатель:
**Рибер Дитте, Толборг Якоб Линд
(ДК), Хампрехт Дитер Вольфганг (ДЕ)**

(74) Представитель:
Нилова М.И. (RU)

(57) Согласно изобретению предложены вещества и способы для лечения ожирения и избыточной массы тела, диабета и других связанных с ним нарушений метаболизма. В частности, согласно изобретению предложены новые пептиды-аналоги глюкагона, эффективные в таких способах. Действие указанных пептидов может быть опосредовано наличием повышенной селективности в отношении рецептора GLP-1 по сравнению с глюкагоном человека.

B1

036406

036406

B1

Область техники

Изобретение относится к аналогам глюкагона и их применению в медицине, например, для лечения ожирения и избыточной массы тела, диабета и других нарушений метаболизма.

Уровень техники

Препроглюкагон представляет собой полипептид-предшественник из 158 аминокислот, который подвергается дифференциальному процессингу в тканях с образованием ряда структурно родственных пептидов, образующихся из проглюкагона, в том числе глюкагона (Glu), глюкагоноподобного пептида 1 (GLP-1), глюкагоноподобного пептида 2 (GLP-2) и оксинтомодулина (ОХМ). Данные молекулы 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 53 по 81. Оксинтомодулин (ОХМ) представляет собой пептид из 37 аминокислот, содержащий полную последовательность глюкагона из 29 аминокислот с дополнением на С-конце в виде октапептида (представляющего собой аминокислоты препроглюкагона с 82 по 89, и называемые "промежуточным пептидом 1" или IP-1). Основной биологически активный фрагмент GLP-1 образуется в виде пептида из 30 аминокислот, амидированного по С-концу, который соответствует аминокислотам препроглюкагона с 98 по 127.

Глюкагон помогает поддерживать уровень глюкозы в крови путем связывания с рецепторами глюкагона на гепатоцитах, в результате чего печень высвобождает глюкозу, запасаемую в форме гликогена, путем гликогенолиза. По мере истощения этих запасов глюкагон стимулирует синтез печенью дополнительного количества глюкозы путем глюконеогенеза. Данная глюкоза высвобождается в кровоток, предотвращая развитие гипогликемии.

GLP-1 снижает повышенные уровни глюкозы в крови путем улучшения секреции инсулина, стимулируемой глюкозой, и способствует потере массы тела, главным образом благодаря уменьшению потребления пищи.

ОХМ высвобождается в кровь в ответ на прием пищи пропорционально содержанию калорий в еде. Было показано, что ОХМ подавляет аппетит и потребление пищи у людей (Cohen et al., *Journal of Endocrinology and Metabolism*, 88, 4696-4701, 2003; WO 2003/022304). В дополнение к данным анорексигенным эффектам, схожим с такими эффектами GLP-1, ОХМ также, должно быть, влияет на массу тела по другому механизму, поскольку крысы, получавшие лечение оксинтомодулином, демонстрировали меньшее увеличение массы тела, чем крысы, получавшие одинаковое кормление (Bloom, *Endocrinology* 2004, 145, 2687). Лечение грызунов с ожирением оксинтомодулином (ОХМ) также повышает их толерантность к глюкозе (Parlevliet et al., *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 294, E142-7, 2008) и подавляет увеличение массы тела (WO 2003/022304).

ОХМ активирует как рецепторы глюкагона, так и рецепторы GLP-1 с в два раза большей активностью в отношении рецепторов глюкагона, чем в отношении рецепторов GLP-1, но является менее активным, чем нативный глюкагон и GLP-1 в отношении соответствующих рецепторов. Глюкагон человека также способен активировать оба рецептора, хотя и с большим предпочтением в отношении рецептора глюкагона, чем в отношении рецептора GLP-1. С другой стороны, GLP-1 не способен активировать рецепторы глюкагона. Механизм действия оксинтомодулина не до конца изучен. В частности, неизвестно, опосредуются ли вне печени некоторые эффекты указанного гормона рецепторами GLP-1 и глюкагона, или одним или более неидентифицированными рецепторами.

Было показано, что другие пептиды связываются и активируют как рецептор глюкагона, так и рецептор GLP-1 (Hjort et al., *Journal of Biological Chemistry*, 269, 30121-30124, 1994), и подавляют увеличение массы тела, и уменьшают потребление пищи (см., например, WO 2006/134340, WO 2007/100535, WO 2008/10101, WO 2008/152403, WO 2009/155257, WO 2009/155258, WO 2010/070252, WO 2010/070253, WO 2010/070255, WO 2010/070251, WO 2011/006497, WO 2011/160630, WO 2011/160633, WO 2013/092703, WO 2014/041195).

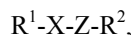
Ожирение представляет собой все более распространенную во всем мире проблему со здоровьем, связанную с различными заболеваниями, в частности, с сердечно-сосудистым заболеванием (ССЗ), диабетом 2 типа, синдромом обструктивного апноэ во сне, некоторыми видами рака и остеоартритом. В результате, было обнаружено, что ожирение уменьшает ожидаемую продолжительность жизни. По прогнозам 2005 года Всемирной организации здравоохранения 400 миллионов взрослых (в возрасте > 15) по всему миру классифицированы как страдающие ожирением. В настоящее время в США ожирение считается после курения второй по распространенности причиной предотвратимой смертности.

Рост заболеваемости ожирением приводит к увеличению заболеваемости диабетом, и приблизительно 90% людей, страдающих диабетом 2 типа, можно классифицировать как страдающих ожирением. 246 миллионов человек в мире страдают диабетом, и к 2025 году согласно оценкам, 380 миллионов будут больны диабетом. Многие имеют дополнительные факторы риска сердечно-сосудистых заболеваний, включая высокие/абнормальные уровни липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) и триглицеридов, и низкий уровень липопротеинов высокой плотности (ЛПВП).

Краткое описание изобретения

Первый аспект.

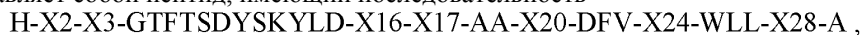
В соответствии с первым аспектом настоящего изобретения предложено соединение, имеющее формулу



где R^1 представляет собой H (т.е. водород), C_{1-4} алкил, ацетил, формил, бензоил или трифторацетил;

R^2 представляет собой OH или NH_2 ;

X представляет собой пептид, имеющий последовательность



где X2 выбран из Ala, D-Ala, Ser, N-Me-Ser, Ac3c, Ac4c и Ac5c;

X3 выбран из Gln и His;

X16 выбран из Ser и Ψ ;

X17 выбран из Lys и Ψ ;

X20 выбран из His и Ψ ;

X24 выбран из Glu и Ψ ; и

X28 выбран из Ser и Ψ ;

где X3 представляет собой His, когда X2 представляет собой Ser;

где каждый Ψ представляет собой остаток, независимо выбранный из Lys, Arg, Orn и Cys,

и где боковая цепь каждого остатка Ψ конъюгирована с липофильным заместителем;

и где Z отсутствует или представляет собой последовательность 1-20 аминокислот, независимо выбранных из группы, состоящей из Ala, Leu, Ser, Thr, Tyr, Cys, Glu, Lys, Arg, Dbu, Dpr и Orn; или фармацевтически приемлемая соль или сольват указанного соединения.

В некоторых вариантах реализации X17 представляет собой Ψ . В некоторых вариантах реализации только X17 представляет собой Ψ , т.е. соединение содержит один и только один остаток Ψ , присутствующий в положении 17. Пептид X может иметь последовательность, выбранную из

HAQGTFTSDYSKYLDSKAAHDFVEWLLSA

H-NMeSer-QGTFTSDYSKYLDSKAAHDFVEWLLSA

H-Ac3c-QGTFTSDYSKYLDSKAAHDFVEWLLSA

H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDSKAAHDFVEWLLSA

HSHGTFTSDYSKYLDSKAAHDFVEWLLSA

HANGTFTSDYSKYLDSKAAHDFVEWLLSA

H-DAla-HGTFTSDYSKYLDSKAAHDFVEWLLSA

H-Ac3c-HGTFTSDYSKYLDSKAAHDFVEWLLSA и

H-Ac4c-HGTFTSDYSKYLDSKAAHDFVEWLLSA

или

HAQGTFTSDYSKYLDS Ψ AHDFVEWLLSA

H-NMeSer-QGTFTSDYSKYLDS Ψ AHDFVEWLLSA

H-Ac3c-QGTFTSDYSKYLDS Ψ AHDFVEWLLSA

H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDS Ψ AHDFVEWLLSA

HSHGTFTSDYSKYLDS Ψ AHDFVEWLLSA

HANGTFTSDYSKYLDS Ψ AHDFVEWLLSA

H-DAla-HGTFTSDYSKYLDS Ψ AHDFVEWLLSA

H-Ac3c-HGTFTSDYSKYLDS Ψ AHDFVEWLLSA и

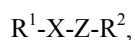
H-Ac4c-HGTFTSDYSKYLDS Ψ AHDFVEWLLSA

Соединение согласно настоящему изобретению может быть выбрано из

H-HAQGTFTSDYSKYLDSKAAHDFVEWLLSA-NH₂
 H-H-NMeSer-QGTFTSDYSKYLDSKAAHDFVEWLLSA-NH₂
 H-H-Ac3c-QGTFTSDYSKYLDSKAAHDFVEWLLSA-NH₂
 H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDSKAAHDFVEWLLSA-NH₂
 H-HSHGTFTSDYSKYLDSKAAHDFVEWLLSA-NH₂
 H-HAHGTFTSDYSKYLDSKAAHDFVEWLLSA-NH₂
 H-H-DA1a-HGTFTSDYSKYLDSKAAHDFVEWLLSA-NH₂
 H-H-Ac3c-HGTFTSDYSKYLDSKAAHDFVEWLLSA-NH₂ и
 H-H-Ac4c-HGTFTSDYSKYLDSKAAHDFVEWLLSA-NH₂
 или
 H-HAQGTFTSDYSKYLDSΨAAHDFVEWLLSA-NH₂
 H-H-NMeSer-QGTFTSDYSKYLDSΨAAHDFVEWLLSA-NH₂
 H-H-Ac3c-QGTFTSDYSKYLDSΨAAHDFVEWLLSA-NH₂
 H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDSΨAAHDFVEWLLSA-NH₂
 H-HSHGTFTSDYSKYLDSΨAAHDFVEWLLSA-NH₂
 H-HAHGTFTSDYSKYLDSΨAAHDFVEWLLSA-NH₂
 H-H-DA1a-HGTFTSDYSKYLDSΨAAHDFVEWLLSA-NH₂
 H-H-Ac3c-HGTFTSDYSKYLDSΨAAHDFVEWLLSA-NH₂ и
 H-H-Ac4c-HGTFTSDYSKYLDSΨAAHDFVEWLLSA-NH₂

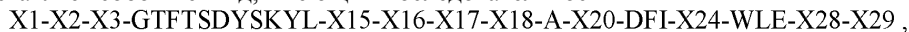
Второй аспект.

В соответствии со вторым аспектом настоящего изобретения предложено соединение, имеющее формулу



где R¹ представляет собой H (т.е. водород), C₁₋₄алкил, ацетил, формил, бензоил или трифторацетил; R² представляет собой OH или NH₂;

X представляет собой пептид, имеющий последовательность



где X1 выбран из His и Tyr;

X2 выбран из Aib, D-Ser, Ala, D-Ala, Abu, Pro, Ac3c, Ac4c и Ac5c;

X3 выбран из Gln и His;

X15 выбран из Asp и Glu;

X16 выбран из Glu, Lys и Ψ;

X17 выбран из Lys, Arg и Ψ;

X18 выбран из Ala и Arg;

X20 выбран из Lys, His и Ψ;

X24 выбран из Glu, Lys и Ψ;

X28 выбран из Ser, Glu, Lys и Ψ;

X29 выбран из Ala и Glu;

где каждый Ψ представляет собой остаток, независимо выбранный из Lys, Arg, Orn и Cys,

и где боковая цепь каждого остатка Ψ конъюгирована с липофильным заместителем;

и где Z отсутствует или представляет собой последовательность 1-20 аминокислотных единиц, независимо выбранных из группы, состоящей из Ala, Leu, Ser, Thr, Tyr, Cys, Glu, Lys, Arg, Dbu, Dpg и Orn; или фармацевтически приемлемая соль или сольват указанного соединения.

В некоторых вариантах реализации второго аспекта Ψ присутствует в одном из X16, X17, X20, X24 и X28. Возможно, Ψ присутствует не более чем в одном из X16, X17, X20, X24 и X28. Может быть желательным, чтобы он был единственным остатком Ψ, присутствующим в молекуле.

Аспект 2.1.

В некоторых вариантах второго аспекта

X1 представляет собой His;

X2 выбран из D-Ser, Ala, D-Ala, Abu, Pro, Ac3c, Ac4c и Ac5c;

X3 выбран из Gln и His;

X16 выбран из Glu, Lys и Ψ;

X17 выбран из Lys, Arg и Ψ;

X18 выбран из Ala и Arg;

X20 выбран из Lys и Ψ;

X24 выбран из Glu, Lys и Ψ;

X28 выбран из Ser, Lys и Ψ;

X29 представляет собой Ala.

В некоторых вариантах второго аспекта Ψ присутствует в одном из X16, X17, X24 и X28. Возможно, Ψ присутствует не более чем в одном из X16, X17, X24 и X28. Может быть желательным, чтобы он был единственным остатком Ψ, присутствующим в молекуле.

Аспект 2.1.1.

В некоторых примерах

X1 представляет собой His;

X2 выбран из Ala, D-Ala, Abu и Pro;

X3 представляет собой Gln;

X16 выбран из Glu и Ψ;

X17 выбран из Lys и Ψ;

X18 представляет собой Ala;

X20 выбран из Lys и Ψ;

X24 выбран из Glu и Ψ;

X28 выбран из Ser и Ψ;

X29 представляет собой Ala.

Пептид X может иметь последовательность, выбранную из

H-Abu-QGTFTSDYSKYLDEKAAKDFIEWLESA

HAQGTFTSDYSKYLDEKAAKDFIEWLESA

H-DAla-QGTFTSDYSKYLDEKAAKDFIEWLESA и

HPQGTFTSDYSKYLDEKAAKDFIEWLESA

или

H-Abu-QGTFTSDYSKYLDEΨAAKDFIEWLESA

HAQGTFTSDYSKYLDEΨAAKDFIEWLESA

H-DAla-QGTFTSDYSKYLDEΨAAKDFIEWLESA и

HPQGTFTSDYSKYLDEΨAAKDFIEWLESA

Соединение согласно настоящему изобретению может быть выбрано из

H-H-Abu-QGTFTSDYSKYLDEKAAKDFIEWLESA-NH₂

H-HAQGTFTSDYSKYLDEKAAKDFIEWLESA-NH₂

H-H-DAla-QGTFTSDYSKYLDEKAAKDFIEWLESA-NH₂ и

H-HPQGTFTSDYSKYLDEKAAKDFIEWLESA-NH₂

или

H-H-Abu-QGTFTSDYSKYLDEΨAAKDFIEWLESA-NH₂

H-HAQGTFTSDYSKYLDEΨAAKDFIEWLESA-NH₂

H-H-DAla-QGTFTSDYSKYLDEΨAAKDFIEWLESA-NH₂ и

H-HPQGTFTSDYSKYLDEΨAAKDFIEWLESA-NH₂

Аспект 2.1.2.

В альтернативных примерах

X1 представляет собой His;

X2 выбран из Ac3c, Ac4c и Ac5c;

X3 выбран из Gln и His;

X16 выбран из Glu, Lys и Ψ;

X17 выбран из Lys, Arg и Ψ;

X18 выбран из Ala и Arg;

X20 выбран из Lys и Ψ;

X24 выбран из Glu, Lys и Ψ;

X28 выбран из Ser, Lys и Ψ;

X29 представляет собой Ala.

Пептид X может иметь последовательность, выбранную из

H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDEKAAKDFIEWLESA
 H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDEKRAKDFIEWLESA
 H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDKRAAKDFIEWLESA
 H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDEKRAKDFIEWLESA
 H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAAKDFIKWLESA
 H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAKDFIKWLESA
 H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAAKDFIEWLEKA
 H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAKDFIEWLEKA
 H-Ac4c-HGTFTSDYSKYLDEKAAKDFIEWLESA и
 H-Ac4c-HGTFTSDYSKYLDEKRAKDFIEWLESA

или

H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDEΨAAKDFIEWLESA
 H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDEΨRAKDFIEWLESA
 H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDΨRAAKDFIEWLESA
 H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDEΨRAKDFIEWLESA
 H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAAKDFIΨWLESA
 H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAKDFIΨWLESA
 H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAAKDFIEWLEΨA
 H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAKDFIEWLEΨA
 H-Ac4c-HGTFTSDYSKYLDEΨAAKDFIEWLESA и
 H-Ac4c-HGTFTSDYSKYLDEΨRAKDFIEWLESA

Соединение согласно настоящему изобретению может быть выбрано из

H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDEKAAKDFIEWLESA-NH₂
 H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDEKRAKDFIEWLESA-NH₂
 H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDKRAAKDFIEWLESA-NH₂
 H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDEKRAKDFIEWLESA-NH₂
 H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAAKDFIKWLESA-NH₂
 H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAKDFIKWLESA-NH₂
 H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAAKDFIEWLEKA-NH₂
 H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAKDFIEWLEKA-NH₂
 H-H-Ac4c-HGTFTSDYSKYLDEKAAKDFIEWLESA-NH₂ и
 H-H-Ac4c-HGTFTSDYSKYLDEKRAKDFIEWLESA-NH₂

или

H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDEΨAAKDFIEWLESA-NH₂
 H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDEΨRAKDFIEWLESA-NH₂
 H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDΨRAAKDFIEWLESA-NH₂
 H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDEΨRAKDFIEWLESA-NH₂
 H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAAKDFIΨWLESA-NH₂
 H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAKDFIΨWLESA-NH₂
 H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAAKDFIEWLEΨA-NH₂
 H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAKDFIEWLEΨA-NH₂
 H-H-Ac4c-HGTFTSDYSKYLDEΨAAKDFIEWLESA-NH₂ и
 H-H-Ac4c-HGTFTSDYSKYLDEΨRAKDFIEWLESA-NH₂

Аспект 2.2.

В альтернативных вариантах реализации второго аспекта

X1 представляет собой His;

X2 представляет собой Aib;

X3 представляет собой Gln;

X15 выбран из Asp и Glu;
 X16 выбран из Glu, Lys и Ψ;
 X17 представляет собой Arg;
 X18 представляет собой Ala;
 X20 выбран из Lys, His и Ψ;
 X24 выбран из Glu, Lys и Ψ;
 X28 выбран из Ser и Ψ;
 X29 представляет собой Ala.

В некоторых вариантах реализации один из X16 и X24 представляет собой Lys или Ψ, а другой представляет собой Glu.

В дополнение или в качестве альтернативы, X15 представляет собой Glu, и X16 представляет собой Lys или Ψ.

Пептид X может иметь последовательность, выбранную из

H-Aib-QGTFTSDYSKYLDKRAAKDFIEWLESA

H-Aib-QGTFTSDYSKYLDERAAKDFIKWLESA

H-Aib-QGTFTSDYSKYLEKRAAKDFIEWLESA и

H-Aib-QGTFTSDYSKYLEKRAAHDFIEWLESA

или

H-Aib-QGTFTSDYSKYLDΨRAAKDFIEWLESA

H-Aib-QGTFTSDYSKYLDERAAKDFIΨWLESA

H-Aib-QGTFTSDYSKYLEΨRAAKDFIEWLESA и

H-Aib-QGTFTSDYSKYLEΨRAAHDFIEWLESA

Соединение согласно настоящему изобретению может быть выбрано из

H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLDKRAAKDFIEWLESA-NH₂

H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLDERAAKDFIKWLESA-NH₂

H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLEKRAAKDFIEWLESA-NH₂ и

H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLEKRAAHDFIEWLESA-NH₂

или

H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLDΨRAAKDFIEWLESA-NH₂

H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLDERAAKDFIΨWLESA-NH₂

H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLEΨRAAKDFIEWLESA-NH₂ и

H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLEΨRAAHDFIEWLESA-NH₂

Аспект 2.3.

В альтернативных вариантах второго аспекта

X1 представляет собой Tyr;

X2 представляет собой Aib;

X3 представляет собой Gln;

X16 выбран из Glu и Ψ;

X17 выбран из Lys и Ψ;

X18 представляет собой Ala;

X20 выбран из Lys и Ψ;

X24 выбран из Glu и Ψ;

X28 выбран из Ser и Ψ;

X29 представляет собой Ala.

Пептид X может иметь последовательность

Y-Aib-QGTFTSDYSKYLDEKAAKDFIEWLESA

или

Y-Aib-QGTFTSDYSKYLDEΨAAKDFIEWLESA

Соединение согласно настоящему изобретению может представлять собой

H-Y-Aib-QGTFTSDYSKYLDEKAAKDFIEWLESA-NH₂

или

H-Y-Aib-QGTFTSDYSKYLDEΨAAKDFIEWLESA-NH₂

Аспект 2.4.

В альтернативных вариантах реализации второго аспекта X28 и X29 оба представляют собой Glu.

Например

X1 представляет собой His;
 X2 представляет собой Aib;
 X3 представляет собой Gln;
 X16 выбран из Glu и Ψ;
 X17 выбран из Lys и Ψ;
 X18 выбран из Ala и Ψ;
 X20 выбран из Lys и Ψ;
 X24 выбран из Glu и Ψ;
 X28 представляет собой Glu;
 X29 представляет собой Glu.

Пептид X может иметь последовательность

H-Aib-QGTFTSDYSKYLDEKAAKDFIEWLEEE

или

H-Aib-QGTFTSDYSKYLDEΨAAKDFIEWLEEE

Соединение согласно настоящему изобретению может представлять собой

H-N-Aib-QGTFTSDYSKYLDEKAAKDFIEWLEEE-NH₂

или

H-N-Aib-QGTFTSDYSKYLDEΨAAKDFIEWLEEE-NH₂

Во избежание неопределенности, в соответствии со всеми аспектами настоящего изобретения те положения, для которых явным образом не указано, что допускается вариабельность, являются фиксированными и, таким образом, могут включать только указанный остаток.

В соответствии со всеми аспектами соединения согласно настоящему изобретению может содержать один или более остатков Ψ. Каждый остаток Ψ независимо выбран из Lys, Arg, Orn и Cys, и боковая цепь каждого остатка Ψ конъюгирована с липофильным заместителем, более подробно описанным ниже.

Может быть желательным, чтобы соединение согласно настоящему изобретению содержало не более трех остатков Ψ или не более двух остатков Ψ. В частности, может быть желательным, чтобы соединение содержало не более одного остатка Ψ, т.е. не содержало остатков Ψ или содержало ровно один остаток Ψ.

Липофильный заместитель, как правило, конъюгирован с функциональной группой на дальнем конце боковой цепи от α-углеродного атома. Таким образом, присутствие липофильного заместителя может снижать или полностью устранять способность боковой цепи 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 Ψ представлял собой Lys.

В случае, когда остаток Ψ присутствует, боковая цепь остатка Lys, Arg, Orn или Cys конъюгирована с липофильным заместителем.

Липофильный заместитель может иметь формулу Z¹, при этом Z¹ представляет собой липофильный фрагмент, конъюгированный (ковалентно связанный) непосредственно с боковой цепью соответствующего остатка Lys, Arg, Orn или Cys, или Z¹Z², где Z¹ представляет собой липофильный фрагмент, Z² представляет собой спейсер, и Z¹ конъюгирован с боковой цепью соответствующего остатка через Z².

В соответствии с любым аспектом настоящего изобретения R¹ может быть выбран из H и C₁₋₄алкила (например, метила).

Для тех пептидных последовательностей X или X-Z, которые состоят исключительно из встречающихся в природе аминокислот, согласно настоящему изобретению также предложена нуклеиновая кислота (которая может представлять собой ДНК или РНК), кодирующая пептид X или X-Z, определенный в настоящем описании. Для соединений, содержащих остаток Ψ, который состоит из липофильного фрагмента, конъюгированного с остатком Lys, Arg или Cys, указанная нуклеиновая кислота может кодировать соответствующий Lys, Arg или Cys в соответствующем положении.

Также предложен вектор экспрессии, содержащий такую нуклеиновую кислоту, и клетка-хозяин, содержащая такую нуклеиновую кислоту или вектор экспрессии. Указанная клетка-хозяин, как правило, способна экспрессировать и возможно секретировать кодированный пептид X или X-Z.

Соединения согласно настоящему изобретению представляют собой пептиды-аналоги глюкагона. В настоящем описании ссылки на пептид-аналог глюкагона следует рассматривать как ссылки на соединение согласно настоящему изобретению или на пептид X или X-Z в зависимости от контекста. Ссылка на соединение согласно настоящему изобретению включает любую фармацевтически приемлемую соль (например, ацетатную или хлоридную соль) или сольват указанного соединения, если не указано иное или если контекст не исключает.

Согласно настоящему изобретению предложена композиция, содержащая соединение согласно настоящему изобретению, определенное в настоящем документе (включая его фармацевтически приемлемые соли или сольваты, как уже описано), нуклеиновую кислоту, кодирующую пептид X или X-Z, вектор экспрессии, содержащий такую нуклеиновую кислоту, или клетку-хозяина, содержащую такую нуклеиновую кислоту или вектор экспрессии, в смеси с носителем. В предпочтительных вариантах реализации указанная композиция представляет собой фармацевтическую композицию, а указанный носитель представляет собой фармацевтически приемлемый носитель. Пептид-аналог глюкагона может иметь форму фармацевтически приемлемой соли аналога глюкагона.

Соединения, описанные в настоящем документе, находят применение, среди прочего, для предотвращения увеличения массы тела или стимуляции потери массы тела. Термин "предотвращение" означает ингибирование или уменьшение по сравнению с отсутствием лечения, и необязательно означает полное прекращение увеличения массы тела. Пептиды могут являться причиной снижения потребления пищи и/или увеличения расхода энергии, в результате чего наблюдается влияние на массу тела. Независимо от их влияния на массу тела соединения согласно настоящему изобретению могут оказывать благоприятное влияние на контроль глюкозы и/или уровни циркулирующего холестерина благодаря способности снижать уровни циркулирующего ЛПНП и увеличивать соотношение ЛПВП/ЛПНП. Таким образом, соединения согласно настоящему изобретению можно применять для прямой или опосредованной терапии любого состояния, вызванного или характеризующегося избыточной массой тела, такой как лечение и/или предотвращение ожирения, морбидного ожирения, воспаления, связанного с ожирением, заболевания желчного пузыря, связанного с ожирением, апноэ во сне, индуцированного ожирением. Указанные соединения можно также применять для предотвращения состояний, вызываемых или характеризующихся недостаточным контролем глюкозы или дислипидемией (например, повышенные уровни ЛПНП или уменьшенное соотношение ЛПВП/ЛПНП), диабета (особенно диабета 2 типа), метаболического синдрома, гипертензии, атерогенной дислипидемии, атеросклероза, артериосклероза, ишемической болезни сердца, заболевания периферических артерий, инсульта или заболевания мелких сосудов. Действие указанных соединений при данных состояниях может являться результатом или быть связано с их влиянием на массу тела, или может не зависеть от него.

Согласно настоящему изобретению также предложено соединение согласно настоящему изобретению для применения в способе лечения, в частности, для применения в способе лечения состояния, описанного выше.

Согласно настоящему изобретению также предложено применение соединения согласно настоящему изобретению для получения лекарственного средства для лечения состояния, описанного выше.

Соединение по настоящему изобретению можно вводить в рамках комбинированной терапии совместно с 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 согласно настоящему изобретению можно применять в комбинации с противодиабетическим агентом, включая, но не ограничиваясь ими, бигуанид (например, метформин), сульфонилмочевину, меглитинид или глинид (например, натеглинид), ингибитор DPP-IV, глитазон, ингибитор SGLT2, инсулин или аналог инсулина. Примеры аналогов инсулина включают, но не ограничиваются ими, Лантус™, Новорапид™, Хумалог™, Новомикс™, Актрафан НМ™, Левемир™ и Апидра™.

Соединение можно также применять в комбинации с агентом 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 меланокортина 4, антагонист рецептора меланиноконцентрирующего гормона 1, фентермин (отдельно или в комбинации с топираматом), комбинацию ингибитора обратного захвата норэпинефрина/допамина и антагониста опиоидных рецепторов (например, комбинацию бупропиона и налтрексона) или серотонинергический агент (например, лоркасерин).

Соединение можно также применять в комбинации с антигипертензивным агентом, включая, но не ограничиваясь ими, ингибитор ангиотензинпревращающего фермента, блокатор рецепторов ангиотензина II, диуретическое средство, β-блокатор или блокатор кальциевых каналов.

Соединение можно применять в комбинации с антидислипидемическим агентом, включая, но не ограничиваясь ими, статины, фибрат, ниацин или ингибитор абсорбции холестерина.

Таким образом, согласно настоящему изобретению также предложена композиция или терапевтический набор, содержащий соединение согласно настоящему изобретению и, например, противодиабетический агент, агент против ожирения, антигипертензивный агент или антидислипидемический агент, описанный выше. Также предложена такая композиция или терапевтический набор для применения в способе лечения, особенно для лечения состояния, описанного выше.

Соединение согласно настоящему изобретению может быть получено посредством синтетической химии. Соответственно, согласно настоящему изобретению предложен способ синтеза соединения согласно настоящему изобретению.

Как описано выше, настоящее изобретение распространяется на нуклеиновые кислоты, кодирующие пептидную последовательность X или XZ, а также векторы экспрессии, содержащие вышеописанную последовательность нуклеиновой кислоты (возможно функционально связанную с последовательностями для направления экспрессии), и клетки-хозяева, содержащие указанные нуклеиновые кислоты или векторы экспрессии. Предпочтительно, клетки-хозяева способны экспрессировать и возможно секретировать соединение согласно настоящему изобретению.

Согласно настоящему изобретению предложен способ получения соединения согласно настоящему изобретению, при этом указанный способ включает культивацию клеток-хозяев в условиях, подходящих для экспрессии пептидной последовательности X или X-Z, и очистку соединения, полученного таким образом. Данный способ особенно подходит в случае, когда пептид содержит только встречающиеся в природе аминокислоты.

В случае, когда соединение согласно настоящему изобретению содержит одну или более не встречающихся в природе аминокислот и/или остаток Ψ, указанный способ может включать экспрессию пептидной последовательности, содержащей одно или более отличий от последовательности X или XZ, возможно очистку соединения, полученного таким образом, и присоединение или модификацию (например, химическую модификацию) одной или более аминокислот с получением соединения согласно настоящему изобретению или соединения, содержащего аминокислотную последовательность X или XZ.

Независимо от способа, применяемого для получения соединения согласно настоящему изобретению, он может включать один или более дополнительных этапов модификации (например, химической модификации) последовательности X или X-Z, в частности, для введения одного или более липофильных фрагментов, определенных в иных местах настоящего описания.

Согласно настоящему изобретению также предложена нуклеиновая кислота согласно настоящему изобретению, вектор экспрессии согласно настоящему изобретению или клетка-хозяин, способная экспрессировать и возможно секретировать соединение согласно настоящему изобретению, для применения в способе лечения. Очевидно, что указанную нуклеиновую кислоту, вектор экспрессии и клетки-хозяева можно применять для лечения любого из нарушений, описанных в настоящем документе, которые можно лечить самими соединениями согласно настоящему изобретению. Следовательно, ссылки на терапевтическую композицию, содержащую соединение согласно настоящему изобретению, введение соединения согласно настоящему изобретению или его любое терапевтическое применение включают эквивалентное применение нуклеиновой кислоты, вектора экспрессии или клетки-хозяина согласно настоящему изобретению за исключением случаев, когда контекст указывает на иное.

Подробное описание изобретения

На протяжении всего настоящего описания используются традиционные однобуквенные и трехбуквенные обозначения для встречающихся в природе аминокислот, а также общепринятые сокращения для остальных аминокислот, такие как D-Ala или DAla (D-аланин), Aib (α -аминоизомасляная кислота), Orn (орнитин), NMeSer или N-Me-Ser (N-метилсерин), Ac3c (1-аминоциклопропанкарбоновая кислота), Ac4c (1-аминоциклобутанкарбоновая кислота), Ac5c (1-аминоциклопентанкарбоновая кислота), Abu ((S) -2-аминомасляная кислота).

Ac3c, Ac4c и Ac5c имеют схожие структуры и в некоторой степени являются взаимозаменяемыми, хотя Ac4c может быть предпочтительным.

Глюкагон представляет собой пептид из 29 аминокислот, соответствующий аминокислотам препроглюкагона с 53 по 81, и имеет последовательность His-Ser-Gln-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Tyr-Ser-Lys-Tyr-Leu-Asp-Ser-Arg-Arg-Ala-Gln-Asp-Phe-Val-Gln-Trp-Leu-Met-Asn-Thr. Оксинтомодулин (ОХМ) представляет собой пептид из 37 аминокислот, содержащий полную последовательность глюкагона из 29 аминокислот с карбоксиконцевым дополнением в виде октапептида (аминокислоты препроглюкагона с 82 по 89, имеющие последовательность Lys-Arg-Asn-Arg-Asn-Asn-Ile-Ala и называемые "промежуточным пептидом 1" или IP-1; таким образом полноразмерная последовательность оксинтомодулина человека представляет собой His-Ser-Gln-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Tyr-Ser-Lys-Tyr-Leu-Asp-Ser-Arg-Arg-Ala-Gln-Asp-Phe-Val-Gln-Trp-Leu-Met-Asn-Thr-Lys-Arg-Asn-Arg-Asn-Asn-Ile-Ala). Основным биологически активным фрагментом GLP-1 образуется в виде пептида из 30 аминокислот, амидированного по С-концу, который соответствует аминокислотам препроглюкагона с 98 по 127.

Таким образом, термин "нативный глюкагон" относится к нативному глюкагону человека, имеющему последовательность H-His-Ser-Gln-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Tyr-Ser-Lys-Tyr-Leu-Asp-Ser-Arg-Arg-Ala-Gln-Asp-Phe-Val-Gln-Trp-Leu-Met-Asn-Thr-OH.

Предполагается, что аминокислоты в последовательности X соединений согласно настоящему изобретению пронумерованы последовательно с 1 по 29 в традиционном направлении от N-конца к С-концу. Ссылку на "положение" в пределах X следует рассматривать соответствующим образом, как и ссылку на положения в пределах нативного глюкагона человека и других молекул.

Соединение согласно настоящему изобретению может содержать С-концевую пептидную последовательность Z из 1-20 аминокислот, например, для стабилизации конформации и/или вторичной структуры пептида-аналога глюкагона, и/или для надления пептида-аналога глюкагона большей устойчивостью

к ферментативному гидролизу, например, как описано в WO 99/46283.

В случае присутствия, Z представляет собой пептидную последовательность из 1-20 аминокислотных остатков, например, в диапазоне 1-15, более предпочтительно в диапазоне 1-10, в частности, в диапазоне 1-7 аминокислотных остатков, например, 1, 2, 3, 4, 5, 6 или 7 аминокислотных остатков, например, 6 аминокислотных остатков. Каждый из аминокислотных остатков в пептидной последовательности Z может быть независимо выбран из Ala, Leu, Ser, Thr, Tyr, Cys, Glu, Lys, Arg, Dbu (2,4 диаминомасляной кислоты), Dpr (2,3-диаминопропановой кислоты) и Orn (орнитина). Предпочтительно, аминокислотные остатки выбраны из Ser, Thr, Tyr, Glu, Lys, Arg, Dbu, Dpr и Orn, более предпочтительно выбраны исключительно из Glu, Lys и Cys. Вышеупомянутые аминокислоты могут иметь либо D-, либо L-конфигурацию, и в некоторых вариантах реализации имеют L-конфигурацию. Наиболее предпочтительными последовательностями Z являются последовательности из четырех, пяти, шести или семи следующих друг за другом остатков лизина (т.е. Lys₃, Lys₄, Lys₅, Lys₆ или Lys₇) и, в частности, пяти или шести следующих друг за другом остатков лизина. Другие типичные последовательности Z представлены в WO 01/04156. В качестве альтернативы C-концевой остаток последовательности Z может представлять собой остаток Cys. Он может способствовать модификации (например, пегилированию или конъюгации с альбумином) соединения. В таких вариантах реализации длина последовательности Z может, например, составлять только одну аминокислоту (т.е. Z = Cys), или длина может составлять две, три, четыре, пять, шесть или даже более аминокислот. Таким образом, другие аминокислоты служат спейсером между пептидом X и концевым остатком Cys.

Пептидная последовательность Z обладает не более чем 25% идентичностью соответствующей последовательности IP-1-части ОХМ человека (которая имеет последовательность Lys-Arg-Asn-Arg-Asn-Asn-Ile-Ala).

"Процент (%) идентичности аминокислотной последовательности" для конкретной пептидной или полипептидной последовательности относительно другой полипептидной последовательности (например, IP-1) рассчитывают как процент аминокислотных остатков в конкретной пептидной последовательности, которые идентичны аминокислотным остаткам в соответствующих положениях в соответствующей последовательности указанного другого полипептида при выравнивании двух последовательностей друг с другом, при необходимости с введением гэпов для оптимального выравнивания. Значения % идентичности могут быть определены с использованием WU-BLAST-2 (Altschul et al., Methods in Enzymology, 266:460-480 (1996)). WU-BLAST-2 использует несколько параметров поиска, большинство из которых установлены на значения по умолчанию. Регулируемые параметры устанавливаются со следующими значениями: длина перекрытия = 1, доля перекрытия = 0,125, пороговая длина слова (T) = 11. Значение % идентичности аминокислотной последовательности определяют как количество совпадающих идентичных остатков, определенных WU-BLAST-2, деленное на общее количество остатков эталонной последовательности (при этом гэпы, введенные WU-BLAST-2 в эталонную последовательность для максимального увеличения счета выравнивания, не учитывают), умноженное на 100.

Таким образом, при оптимальном выравнивании Z с 8 аминокислотами IP-1 он содержит не более двух аминокислот, идентичных соответствующим аминокислотам IP-1.

В некоторых вариантах реализации Z отсутствует.

Если соединение согласно настоящему изобретению содержит остаток Ψ, то Ψ содержит остаток Lys, Arg, Orn или Cys, боковая цепь которого конъюгирована с липофильным заместителем. Lys может быть предпочтителен. Указанный липофильный заместитель может быть ковалентно связан с атомом в боковой цепи аминокислоты или, в качестве альтернативы, может быть конъюгирован с боковой цепью аминокислоты посредством спейсера.

Без конкретного теоретического обоснования, полагают, что липофильный заместитель связывается с белками плазмы (например, альбумином) в кровотоке, таким образом защищая соединения согласно настоящему изобретению от ферментативного расщепления и тем самым увеличивая время полужизни соединений. Он может также модулировать активность соединения, например, в отношении рецептора глюкагона и/или рецептора GLP-1.

В некоторых вариантах реализации боковая цепь только одной аминокислоты конъюгирована с липофильным заместителем. В других вариантах реализации каждая из боковых цепей двух аминокислот конъюгирована с липофильным заместителем. В других вариантах реализации каждая из боковых цепей трех или даже более аминокислот конъюгирована с липофильным заместителем. В случае, когда соединение содержит два или более липофильных заместителей, они могут быть одинаковыми или разными.

Липофильный заместитель может содержать или состоять из липофильного фрагмента Z¹, который может быть ковалентно связан непосредственно с атомом в боковой цепи аминокислоты или, в качестве альтернативы, может быть конъюгирован с боковой цепью аминокислоты посредством спейсера Z².

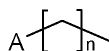
В настоящем описании термин "конъюгированный" употребляется для описания физического присоединения одного идентифицируемого химического фрагмента к другому и структурной связи между такими фрагментами. Данный термин не подразумевает какой-либо конкретный способ синтеза.

Липофильный фрагмент может быть присоединен к боковой цепи аминокислоты или к спейсеру через сложный эфир, сульффонильный эфир, тиоэфир, амид, карбамат, мочевины или сульфонамид. Соот-

ветственно, понятно, что липофильный заместитель предпочтительно содержит ацильную группу, сульфонильную группу, атом N, атом O или атом S, который составляет часть сложного эфира, сульфонильного эфира, тиоэфира, амида или сульфонида. Предпочтительно, ацильная группа в липофильном заместителе образует часть амида или сложного эфира с боковой цепью аминокислоты или спейсером.

Липофильный фрагмент может содержать углеводородную цепь, содержащую от 4 до 30 атомов C. Предпочтительно, она содержит по меньшей мере 8 или 12 атомов C, и предпочтительно она содержит 24 атома C или меньше, или 20 атомов C или меньше. Углеводородная цепь может быть линейной или разветвленной и может быть насыщенной или ненасыщенной. Понятно, что углеводородная цепь предпочтительно содержит в качестве заместителей группу, которая образует часть присоединения к боковой цепи аминокислоты или спейсеру, например, ацильную группу, сульфонильную группу, атом N, атом O или атом S. Наиболее предпочтительно, углеводородная цепь содержит в качестве заместителей ацил, и, соответственно, углеводородная цепь может являться частью алканоильной группы, например, пальмитоила, капроила, лауроила, миристоила или стеароила.

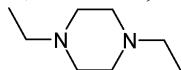
Соответственно, липофильный фрагмент может иметь формулу, представленную ниже:



A может представлять собой, например, ацильную группу, сульфонильную группу, NH, N-алкил, атом O или атом S, предпочтительно ацил; n представляет собой целое число от 3 до 29, предпочтительно от 7 до 25, более предпочтительно от 11 до 21, еще более предпочтительно от 15 до 19.

Углеводородная цепь может дополнительно содержать заместители. Например, она может дополнительно содержать до трех заместителей, выбранных из NH₂, OH и COOH, особенно на свободном конце молекулы, дальнем от спейсера или пептида. Например, она может содержать группу, представляющую собой свободную карбоновую кислоту.

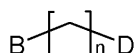
Если углеводородная цепь дополнительно содержит заместители, предпочтительно она дополнительно содержит только один заместитель. В качестве альтернативы или в дополнение, углеводородная цепь может содержать циклоалкан или гетероциклоалкан, например, как показано ниже:



Предпочтительно, указанный циклоалкан или гетероциклоалкан представляет собой шестичленное кольцо. Наиболее предпочтительно, он представляет собой пиперидин.

В качестве альтернативы, в основе липофильного фрагмента может лежать циклопентанофенантревный остов, который может быть частично или полностью ненасыщенным, или насыщенным. Каждый атом углерода в указанном остове может содержать в качестве заместителей Me или OH. Например, липофильный заместитель может представлять собой холил, дезоксихолил или литохолил.

Как упомянуто выше, липофильный фрагмент может быть конъюгирован с боковой цепью аминокислоты посредством спейсера. В случае присутствия, спейсер присоединен к липофильному фрагменту и к боковой цепи аминокислоты. Спейсер может быть присоединен к липофильному фрагменту и к боковой цепи аминокислоты независимо посредством сложного эфира, сульфонильного эфира, тиоэфира, амида, карбамата, мочевины или сульфонида. Соответственно, он может содержать два фрагмента, независимо выбранных из ацила, сульфонила, атома N, атома O или атома S. Спейсер может иметь формулу



где B и D каждый независимо выбран из ацила, сульфонила, NH, N-алкила, атома O и атома S, предпочтительно из ацила и NH. Предпочтительно, n представляет собой целое число от 1 до 10, предпочтительно от 1 до 5. Спейсер может дополнительно содержать один или более заместителей, выбранных из C₀₋₆алкила, C₀₋₆алкиламина, C₀₋₆алкилгидрокси и C₀₋₆алкилкарбоксии.

В качестве альтернативы, спейсер может содержать два или более повторяющихся блоков формулы, представленной выше. B, D и n каждый независимо выбран для каждого повторяющегося блока. Смежные повторяющиеся блоки могут быть ковалентно присоединены друг к другу через соответствующие группы B и D. Например, группы B и D смежных повторяющихся блоков могут вместе образовывать сложный эфир, сульфонильный эфир, тиоэфир, амид или сульфонида. Свободные блоки B и D на каждом конце спейсера присоединены к боковой цепи аминокислоты и липофильному фрагменту, описанному выше.

Предпочтительно, спейсер содержит пять или меньше, четыре или меньше, или три или меньше повторяющихся блока. Наиболее предпочтительно, спейсер содержит два повторяющихся блока или представляет собой один блок.

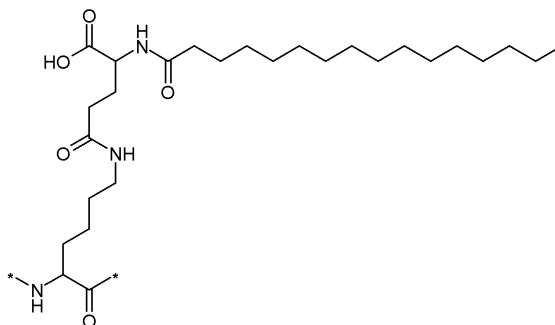
Спейсер (или один или более повторяющихся блоков спейсера, если он содержит повторяющиеся блоки) может представлять собой, например, природную или неприродную аминокислоту. Очевидно, что для аминокислот, имеющих функционализированные боковые цепи, B и/или D могут представлять собой группу в пределах боковой цепи аминокислоты. Спейсер может представлять собой любую встречающуюся в природе или неприродную аминокислоту. Например, спейсер (или один или более повторяю-

щихся блоков спейсера, если он содержит повторяющиеся блоки) может представлять собой Gly, Pro, Ala, Val, Leu, Ile, Met, Cys, Phe, Tyr, Trp, His, Lys, Arg, Gln, Asn, α -Glu, γ -Glu, Asp, Ser, Thr, Gaba, Aib, β -Ala, 5-аминопентаноил, 6-аминогексаноил, 7-аминогептаноил, 8-аминооктаноил, 9-аминононаноил или 10-аминодеканоил.

Например, спейсер может представлять собой одну аминокислоту, выбранную из γ -Glu, Gaba, β -Ala и α -Glu.

Аминокислоты в спейсере, имеющие стереогенные центры, могут быть рацемическими, энантио-обогащенными или энантиочистыми. В некоторых вариантах реализации аминокислота или каждая аминокислота в спейсере независимо представляет собой L-аминокислоту. В некоторых вариантах реализации аминокислота или каждая аминокислота в спейсере независимо представляет собой D-аминокислоту.

Пример липофильного заместителя, содержащего липофильный фрагмент и спейсер, представлен в формуле ниже:



Здесь остаток Lys в соединении согласно настоящему изобретению ковалентно присоединен к γ -Glu (спейсер) через амидную группу. Пальмитоил (т.е. гексадеканоил) ковалентно присоединен к спейсеру γ -Glu через амидную группу с образованием таким образом гексадеканоил-изоGlu-группы.

Данная группа может присутствовать в виде Ψ в любом соединении согласно изобретению.

В качестве альтернативы или в дополнение, одна или более боковых цепей аминокислот в соединении согласно настоящему изобретению могут быть конъюгированы с полимерной группой, например, для увеличения растворимости и/или периода полужизни *in vivo* (например, в плазме), и/или биодоступности. Также известно, что такая модификация уменьшает клиренс (например, почечный клиренс) терапевтических белков и пептидов.

Специалисту хорошо известны подходящие способы, которые могут быть использованы для проведения реакций сочетания со спейсером и липофильным фрагментом с использованием общей методики синтеза, перечисленные, например, в "Comprehensive Organic Transformations, A Guide to Functional Group Preparations", 2nd edition, Larock R.C; Wiley-VCH: New York, 1999. Такие трансформации могут происходить на любой подходящей стадии во время процесса синтеза.

Полимерная группа предпочтительно является растворимой в воде (амфифильной или гидрофильной), нетоксичной и фармацевтически инертной. Подходящие полимерные группы включают полиэтиленгликоль (ПЭГ), гомо- или сополимеры ПЭГ, метилзамещенный полимер ПЭГ (МПЭГ) или полиоксиэтиленглицерин (ПОГ). См., например, Int. J. Hematology 68:1 (1998); Bioconjugate Chem. 6:150(1995); и Crit. Rev. Therap. Drug Carrier Sys. 9:249 (1992).

Другие подходящие полимерные группы включают полиаминокислоты, такие как полилизин, полиаспарагиновая кислота и полиглутаминовая кислота (см., например, Gombotz et al. (1995), Bioconjugate Chem., vol. 6: 332-351; Hudecz et al. (1992), Bioconjugate Chem., vol. 3, 49-57; Tsukada et al. (1984), J. Natl. Cancer Inst, Vol 73,; 721-729; и Pratesi et al. (1985), Br. J. Cancer, Vol. 52: 841-848).

Полимерная группа может быть линейной или разветвленной. Она может иметь молекулярную массу 500-40000 Да, например, 500-10000 Да, 1000-5000 Да, 10000-20000 Да или 20000-40000 Да.

Соединение согласно настоящему изобретению может содержать две или более такие группы, и в этом случае общая молекулярная масса всех таких групп будет, как правило, находиться в диапазонах, приведенных выше.

Полимерная группа может быть подвергнута реакции сочетания (ковалентная связь) с амино-, карбоксильной или тиольной группой боковой цепи аминокислоты. Предпочтительными примерами являются тиольные группы остатков Cys и ϵ -аминогруппа остатков Lys. Также можно использовать карбоксильные группы остатков Asp и Glu.

Специалисту хорошо известны подходящие способы, которые могут быть использованы для проведения реакции сочетания. Например, ПЭГ-фрагмент, несущий метоксигруппу, может быть подвергнут реакции сочетания с тиольной группой Cys посредством малеимидной связи с использованием регентов, коммерчески доступных от Nektar Therapeutics. Подробное описание подходящих химических взаимодействий см. также в WO 2008/101017 и источниках, указанных выше.

Синтез пептидов.

Соединения согласно настоящему изобретению могут быть получены либо стандартными способами синтеза, с использованием рекомбинантных систем экспрессии, либо любым другим способом уровня техники. Таким образом, аналоги глюкагона могут быть синтезированы рядом способов, включая, например, способ, включающий:

(a) синтез пептида твердофазным или жидкофазным способом либо поэтапно, либо путем сборки фрагментов, и выделение и очистку конечного пептидного продукта; или

(b) экспрессию конструкции нуклеиновой кислоты, кодирующей пептид, в клетке-хозяине и выделение продукта экспрессии из указанной клетки-хозяина или культуральной среды; или

(c) осуществление бесклеточной экспрессии *in vitro* конструкции нуклеиновой кислоты, кодирующей пептид, и выделение продукта экспрессии;

или любую комбинацию способов (a), (b) и (c) с получением фрагментов пептида с последующим лигированием указанных фрагментов с получением пептида, и выделением пептида.

Предпочтительным является синтез аналогов согласно настоящему изобретению посредством твердофазного или жидкофазного синтеза пептидов. В данном контексте можно упомянуть WO 98/11125 и, среди множества других источников, Fields G.B. et al., 2002, "Principles and practice of solid-phase peptide synthesis". In: Synthetic Peptides (2nd Edition) и примеры, приведенные в настоящем описании.

Для рекомбинантной экспрессии фрагменты нуклеиновой кислоты согласно настоящему изобретению, как правило, встраивают в подходящие векторы с получением клонирующих векторов или векторов экспрессии, несущих фрагменты нуклеиновой кислоты согласно настоящему изобретению; такие новые векторы также являются частью настоящего изобретения. Указанные векторы могут, в зависимости от цели и типа применения, иметь форму плазмид, фагов, космид, минихромосом или вируса, и депротенинированная ДНК, которая лишь временно экспрессируется в некоторых клетках, также представляет собой вектор, имеющий важное значение. Предпочтительные клонирующие векторы и векторы экспрессии (плазмидные векторы) согласно настоящему изобретению способны к автономной репликации, тем самым обеспечивая высокое число копий для целей экспрессии на высоком уровне или репликации на высоком уровне для последующего клонирования.

В общих чертах, вектор экспрессии содержит следующие признаки в направлении 5'→3' и в функциональной связи: промотор для управления экспрессией фрагмента нуклеиновой кислоты согласно настоящему изобретению, возможно последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую лидерный пептид, обеспечивающий секрецию (во внеклеточную фазу или, где применимо, в периплазму), фрагмент нуклеиновой кислоты, кодирующий пептид согласно настоящему изобретению, и возможно последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую терминатор. Они могут содержать дополнительные признаки, такие как селективируемые маркеры и точки начала репликации. При работе с векторами экспрессии в штаммах-продуцентах или линиях клеток может быть предпочтительным, чтобы вектор был способен интегрироваться в геном клетки-хозяина. Специалист хорошо знаком с подходящими векторами и может создать вектор в соответствии с конкретными требованиями.

Векторы согласно настоящему изобретению применяют для трансформации клеток-хозяев для получения соединения согласно изобретению. Такие трансформируемые клетки, которые также являются частью настоящего изобретения, могут представлять собой культивируемые клетки или линии клеток, используемые для репродукции фрагментов нуклеиновой кислоты и векторов согласно настоящему изобретению, или используемые для рекомбинантного получения пептидов согласно настоящему изобретению.

Предпочтительными трансформируемыми клетками согласно настоящему изобретению являются микроорганизмы, такие как бактерии (такие как виды *Escherichia* (например, *E.coli*), *Bacillus* (например, *Bacillus subtilis*), *Salmonella* или *Mycobacterium* (предпочтительно, непатогенные, например, *M.bovis* BCG)), дрожжи (например, *Saccharomyces cerevisiae* и *Pichia pastoris*) и простейшие. В качестве альтернативы, трансформируемые клетки могут быть получены из многоклеточного организма, т.е. это может быть клетка гриба, клетка насекомого, клетка водоросли, клетка растения или клетка животного, такая как клетка млекопитающего. Для целей клонирования и/или оптимизированной экспрессии предпочтительно, чтобы трансформированная клетка была способна реплицировать фрагмент нуклеиновой кислоты согласно настоящему изобретению. Клетки, экспрессирующие фрагмент нуклеиновой кислоты, являются подходящими вариантами реализации настоящего изобретения; их можно применять для мелко-масштабного или крупномасштабного получения пептидов согласно настоящему изобретению.

При получении пептида согласно настоящему изобретению посредством трансформированных клеток удобно, хотя это отнюдь не является необходимыми, чтобы продукт экспрессии секретировался в культуральную среду.

Эффективность.

Связывание соответствующих соединений с рецепторами GLP-1 или глюкагона (Glu) можно использовать в качестве индикатора агонистической активности, но, в целом, предпочтительным является использование биологического анализа, который позволяет измерить внутриклеточную передачу сигнала, вызываемую связыванием соединения с соответствующим рецептором. Например, активация рецептора глюкагона агонистом глюкагона будет стимулировать образование клеточного циклического АМФ

(цАМФ). Подобным образом, активация рецептора GLP-1 агонистом GLP-1 будет стимулировать образование клеточного цАМФ. Таким образом, образование цАМФ в подходящих клетках, экспрессирующих один из этих двух рецепторов, можно использовать для мониторинга активности соответствующего рецептора. Следовательно, применение подходящей пары типов клеток, каждый из которых экспрессирует только один тип рецептора, можно использовать для определения агонистической активности в отношении обоих типов рецептора.

Специалисту известны подходящие форматы анализа, и примеры приведены ниже. Рецептор GLP-1 и/или рецептор глюкагона может иметь последовательность рецепторов, описанных в примерах. Например, в анализах можно использовать рецептор глюкагона человека (глюкагон-R), имеющий первичный номер доступа GL4503947, и/или рецептор глюкагоноподобного пептида 1 человека (GLP-1R), имеющий первичный номер доступа GI: 166795283 (в случае, когда указаны последовательности белков-предшественников, конечно, следует понимать, что в анализах может быть использован зрелый белок, в котором отсутствует сигнальная последовательность).

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-1] ниже EC_{50} [GLP-1] глюкагона в конкретном анализе, обладает более высокой агонистической активностью в отношении рецептора GLP-1R, чем глюкагон.

Соединения, описанные в настоящем документе, как правило, представляют собой двойные агонисты GluGLP-1 согласно наблюдению, что они способны стимулировать образование цАМФ как в случае рецептора глюкагона, так и в случае рецептора GLP-1. Стимуляция каждого рецептора может быть измерена в независимых анализах, а затем может быть проведено сравнение значений друг с другом.

Путем сравнения значения EC_{50} для рецептора GLP-1 (EC_{50} [GLP-1-R]) со значением EC_{50} для рецептора глюкагона (EC_{50} [глюкагонR]) для конкретного соединения относительная селективность в отношении GLP-1R может быть рассчитана следующим образом:

$$\text{Относительная селективность в отношении GLP-1R [соединение]} = (EC_{50} [GLP-1R])$$

$$/ (EC_{50} [\text{глюкагон-R}])$$

Термин " EC_{50} " означает полумаксимальную эффективную концентрацию, как правило, в отношении конкретного рецептора или на уровне конкретного маркера функции рецептора и может относиться к ингибирующей или антагонистической активности в зависимости от конкретного биохимического контекста.

Без конкретного теоретического обоснования, относительная селективность соединения может позволить сравнить его влияние на рецептор GLP-1 или глюкагона непосредственно с его влиянием на другой рецептор. Например, чем выше относительная GLP-1-селективность соединения, тем эффективнее может быть данное соединение в отношении рецептора GLP-1, по сравнению с рецептором глюкагона. Как правило, результаты сравнивают для рецепторов глюкагона и GLP-1 одного и того же вида, например, рецепторов глюкагона и GLP-1 человека или рецепторов глюкагона и GLP-1 мыши.

Соединения согласно настоящему изобретению могут обладать более высокой относительной селективностью в отношении GLP-1R, чем глюкагон человека; таким образом, при конкретном уровне агонистической активности в отношении глюкагон-R соединение может демонстрировать более высокий уровень агонистической активности в отношении GLP-1R (т.е. большую активность в отношении рецептора GLP-1), чем глюкагон. Очевидно, что абсолютное значение активности конкретного соединения в отношении рецепторов глюкагона и GLP-1 может быть выше, ниже или приблизительно равно значению для нативного глюкагона человека, если достигается соответствующая относительная селективность в отношении GLP-1R.

Тем не менее, соединения согласно настоящему изобретению могут демонстрировать более низкое значение EC_{50} [GLP-1R], чем глюкагон человека. Соединения могут демонстрировать более низкое значение EC_{50} [GLP-1R], чем глюкагон при сохранении значения EC_{50} [глюкагон-R], которое менее чем в 10 раз выше, чем у глюкагона человека, менее чем в 5 раз выше, чем у глюкагона человека, или менее чем в 2 раза выше, чем у глюкагона человека.

Соединения согласно настоящему изобретению могут демонстрировать значение EC_{50} [глюкагон-R], которое менее чем в 2 раза отличается от значения для глюкагона человека. Соединения могут демонстрировать значение EC_{50} [глюкагон-R], которое менее чем в 2 раза отличается от значения для глюкагона человека, и значение EC_{50} [GLP-1R], которое составляет менее половины от значения для глюкагона человека, менее пятой части от значения для глюкагона человека или менее десятой части от значения для глюкагона человека.

Относительная селективность соединений в отношении GLP-1R может составлять от 0,05 до 20. Например, соединения могут обладать относительной селективностью, составляющей 0,05-0,20, 0,1-0,30, 0,2-0,5, 0,3-0,7 или 0,5-1,0; 1,0-2,0, 1,5-3,0, 2,0-4,0 или 2,5-5,0; или 0,05-20, 0,075-15, 0,1-10, 0,15-5, 0,75-2,5 или 0,9-1,1.

В некоторых вариантах реализации может быть желательным, чтобы EC_{50} любого конкретного соединения как в отношении глюкагон-R, так и в отношении GLP-1R, например, в отношении рецепторов глюкагона и GLP-1 человека составляла менее 1 нМ.

Виды терапевтического применения.

Соединения согласно настоящему изобретению могут обеспечивать перспективные варианты лечения и/или предотвращения, среди прочего, ожирения и метаболических заболеваний, в том числе диабета, рассмотренных ниже.

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. 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. 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 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, повышенные концентрации липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) тесно связаны с атеросклерозом. Соотношение ЛПВП/ЛПНП является клиническим показателем риска развития атеросклероза и, в частности, коронарного атеросклероза.

Метаболический синдром характеризуется группой метаболических факторов риска у одного человека. Они включают 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), резистентность к инсулину и нарушение толерантности к глюкозе, протромботическое состояние (например, высокий уровень фибриногена или ингибитора активатора плазминогена-1 в крови) и провоспалительное состояние (например, повышенный уровень С-реактивного белка в крови).

Индивидуумы с метаболическим синдромом подвержены повышенному риску ишемической болезни сердца и других заболеваний, связанных с другими проявлениями атеросклероза (например, инсульта и заболевания периферических сосудов). Доминирующим основным фактором риска для данного синдрома, по-видимому, является абдоминальное ожирение.

Без конкретного теоретического обоснования, полагают, что соединения согласно настоящему изобретению действуют как двойные агонисты в отношении как рецептора глюкагона человека, так и GLP1-рецептора человека, и сокращенно обозначены в настоящем описании как двойные агонисты GluGLP-1. Двойной агонист может сочетать в себе действие глюкагона, например, на жировой метаболизм с 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. Двойные агонисты GluGLP-1 могут

также действовать со снижением факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний, таких как высокий уровень холестерина, высокий уровень холестерина ЛПНП или низкие соотношения ЛПВП/ЛПНП.

Таким образом, соединения согласно настоящему изобретению можно применять у нуждающегося в этом субъекта 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), 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. Соединения согласно изобретению можно также применять для лечения состояний, вызываемых или связанных с нарушением контроля глюкозы, включая метаболический синдром, резистентность к инсулину, нарушение толерантности к глюкозе, преддиабет, повышенный уровень глюкозы в крови натощак, диабет 2 типа, гипертензию, атеросклероз, артериосклероз, ишемическую болезнь сердца, заболевание периферических артерий и инсульт, у нуждающегося в этом субъекта. Некоторые из данных состояний могут быть связаны с ожирением. Однако влияние соединений согласно настоящему изобретению на данные состояния может быть опосредовано, полностью или частично, влиянием на массу тела или может не зависеть от него.

Синергетическое действие двойных агонистов GluGLP-1 может также приводить к снижению факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний, таких как высокий уровень холестерина и ЛПНП, которые могут полностью не зависеть от их влияния на массу тела.

Таким образом, согласно изобретению предложено применение соединения согласно настоящему изобретению для лечения состояния, описанного выше, у нуждающегося в этом индивидуума.

Согласно настоящему изобретению также предложено соединение согласно настоящему изобретению для применения в способе лечения, в частности, для применения в способе лечения состояния, описанного выше.

В соответствии с предпочтительным аспектом описанные соединения можно применять для лечения диабета, особенно диабета 2 типа.

Конкретный вариант реализации настоящего изобретения включает применение соединения для лечения диабета, особенно диабета 2 типа у нуждающегося в этом индивидуума.

В соответствии с не менее предпочтительным аспектом описанные соединения можно применять для предотвращения увеличения массы тела или стимуляции потери массы тела.

Конкретный вариант реализации настоящего изобретения включает применение соединения для предотвращения увеличения массы тела или стимуляции потери массы тела у нуждающегося в этом индивидуума.

Конкретный вариант реализации настоящего изобретения включает применение соединения в способе лечения состояния, вызванного или характеризующегося избыточной массой тела, например, лечения и/или предотвращения ожирения, морбидного ожирения, морбидного ожирения перед оперативным вмешательством, воспаления, связанного с ожирением, заболевания желчного пузыря, связанного с ожирением, апноэ во сне, индуцированного ожирением, преддиабета, диабета, особенно диабета 2 типа, гипертензии, атерогенной дислипидемии, атеросклероза, артериосклероза, ишемической болезни сердца, заболевания периферических артерий, инсульта или заболевания мелких сосудов у нуждающегося в этом индивидуума.

В соответствии с другим аспектом описанные соединения можно применять в способе снижения уровней циркулирующего ЛПНП и/или увеличения соотношения ЛПВП/ЛПНП.

Конкретный вариант реализации настоящего изобретения включает применение соединения в способе снижения уровней циркулирующего ЛПНП и/или увеличения соотношения ЛПВП/ЛПНП у нуждающегося в этом индивидуума.

В соответствии с другим аспектом описанные соединения можно применять в способе снижения уровней циркулирующих триглицеридов.

Фармацевтические композиции.

Соединения согласно настоящему изобретению могут быть представлены в виде фармацевтических композиций, полученных для хранения или введения. Такая композиция, как правило, содержит терапевтически эффективное количество соединения согласно настоящему изобретению в соответствующей форме в фармацевтически приемлемом носителе.

Терапевтически эффективное количество соединения согласно настоящему изобретению будет зависеть 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 клини-

ческих исследованиях. Соединения согласно настоящему изобретению могут особенно подходить для лечения людей.

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 слабнокислым или физиологическим pH. pH-буферные агенты могут представлять собой фосфат, цитрат, ацетат, трис(гидроксиметил)аминометан (ТРИС), N-трис(гидроксиметил)метил-3-аминопропансульфоновую кислоту (ТАПС), бикарбонат аммония, диэтанолламин, гистидин, который 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 любого из соединений согласно настоящему изобретению. Соли включают фармацевтически приемлемые соли, такие как 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 нуждается 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 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 ручки. В некоторых вариантах реализации упакованные формы включают этикетку или вкладыш с инструкциями по применению. 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, топического (включая трансбуккальное и сублингвальное), вагинального или парентерального (включая подкожное, внутримышечное, внутривенное, внутрикожное и трансдермальное) введение. Составы могут быть удобно представлены в единичной лекарственной форме и могут быть получены любым из способов, хорошо известных в области фармации.

Для соединений, описанных в настоящем документе, могут особенно подходить подкожные или трансдермальные способы введения.

Композиции согласно настоящему изобретению также могут быть смешаны или присоединены, например, путем ковалентных, гидрофобных и электростатических взаимодействий, к носителю лекарст-

венного средства, системе доставки лекарственного средства и усовершенствованной системе доставки лекарственного средства для дополнительного повышения стабильности соединения, увеличения биодоступности, повышения растворимости, уменьшения побочных эффектов, осуществления хронотерапии, хорошо известной специалисту в данной области техники, и улучшения соблюдения пациентом режима и схемы лечения, или достижения их любой комбинации. Примеры носителей, систем доставки лекарственного средства и усовершенствованных систем доставки лекарственного средства включают, но не ограничиваются ими, полимеры, например, целлюлозу и производные, полисахариды, например, декстран и производные, крахмал и производные, поли(виниловый спирт), акрилатные и метакрилатные полимеры, полимолочную и полигликолевую кислоту и их блок-сополимеры, полиэтиленгликоли, белки-носители, например, альбумин, гели, например, термогелевые системы, например, блок-сополимерные системы, хорошо известные специалисту в данной области техники, мицеллы, липосомы, микросферы, наночастицы, жидкие кристаллы и их дисперсии, L2-фазу и ее дисперсии, хорошо известные специалисту в области фазового поведения в липидно-водных системах, полимерные мицеллы, множественные эмульсии, самоэмульгирующиеся системы, системы с самопроизвольным образованием микроэмульсии, циклодекстрины и их производные и дендримеры.

Комбинированная терапия.

Соединение или композицию согласно изобретению можно вводить в рамках комбинированной терапии совместно с агентом для лечения ожирения, гипертензии, дислипидемии или диабета.

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 согласно настоящему изобретению можно также применять в комбинации с агентом 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 меланокортина 4, антагонист рецептора меланиноконцентрирующего гормона 1, фентермин (отдельно или в комбинации с топираматом), комбинацию ингибитора обратного захвата норэпинефрина/допамина и антагониста опиоидных рецепторов (например, комбинацию бупропиона и налтрексона) или серотонинергический агент (например, лоркасерин).

Соединение или композицию согласно настоящему изобретению можно применять в комбинации с антигипертензивным агентом, включая, но не ограничиваясь ими, ингибитор ангиотензинпревращающего фермента, блокатор рецепторов ангиотензина II, диуретические средства, β -блокатор или блокатор кальциевых каналов.

Соединение или композицию согласно настоящему изобретению можно применять в комбинации с антидислипидемическим агентом, включая, но не ограничиваясь ими, статин, фибрат, ниацин и/или ингибитор абсорбции холестерина.

Более того, соединение или композицию согласно настоящему изобретению можно применять в комбинации с противодиабетическим агентом, включая, но не ограничиваясь ими, бигуанид (например, метформин), сульфонилмочевину, меглитинид или глинид (например, натеглинид), ингибитор DPP-IV, ингибитор SGLT2, глитазон, другой агонист GLP-1, инсулин или аналог инсулина. В предпочтительном варианте реализации соединение или его соль применяют в комбинации с инсулином или аналогом инсулина, ингибитором DPP-IV, сульфонилмочевинной или метформинном, особенно с сульфонилмочевинной или метформинном, для осуществления достаточного гликемического контроля. Примеры аналогов инсулина включают, но не ограничиваются ими, Лантус, Новорапид, Хумалог, Новомикс и Актрафан НМ, Левемир и Апидра.

Примеры

Пример 1. Общий синтез аналогов глюкагона.

Твердофазный синтез пептидов (SPPS) осуществляли на микроволновом синтезаторе с использованием стандартной Fmoc-стратегии в NMP на полистирольной смоле (TentaGel S Ram). HATU использовали в качестве реагента для реакции сочетания совместно с DIPEA в качестве основания. Пиперидин (20% в NMP) использовали для снятия защиты. Псевдопролины: Fmoc-Phe-Thr(psiMe,MeprO)-OH и Fmoc-Asp-Ser(psiMe,MeprO)-OH (от NovaBiochem) использовали, где это было применимо.

Используемые сокращения являются следующими:

Woc: трет-бутилоксикарбонил;

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;

EDT: 1,2-этандитиол;

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.

Неочищенный пептид отщепляли от смолы путем обработки 95/2,5/2,5% (об./об.) ТФУ/TIS/вода при комнатной температуре в течение 2 ч. Большую часть ТФУ удаляли при пониженном давлении, неочищенный пептид осаждали и промывали диэтиловым эфиром и оставляли сушиться до постоянной массы при температуре окружающей среды.

Синтезировали следующие соединения:

№ соединения

- 1 H-HAQGTFTSDYSKYLDS-K(Гексадеканойл-изоGlu)-AAHDFVEWLLSA-NH₂
- 2 H-H-NMeSer-QGTFTSDYSKYLDS-K(Гексадеканойл-изоGlu)-AAHDFVEWLLSA-NH₂
- 3 H-H-Ac3c-QGTFTSDYSKYLDS-K(Гексадеканойл-изоGlu)-AAHDFVEWLLSA-NH₂
- 4 H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDS-K(Гексадеканойл-изоGlu)-AAHDFVEWLLSA-NH₂
- 5 H-HSHGTFTSDYSKYLDS-K(Гексадеканойл-изоGlu)-AAHDFVEWLLSA-NH₂
- 6 H-HAHGTFTSDYSKYLDS-K(Гексадеканойл-изоGlu)-AAHDFVEWLLSA-NH₂
- 7 H-H-DA1a-HGTFTSDYSKYLDS-K(Гексадеканойл-изоGlu)-AAHDFVEWLLSA-NH₂
- 8 H-H-Ac3c-HGTFTSDYSKYLDS-K(Гексадеканойл-изоGlu)-AAHDFVEWLLSA-NH₂
- 9 H-H-Ac4c-HGTFTSDYSKYLDS-K(Гексадеканойл-изоGlu)-AAHDFVEWLLSA-NH₂
- 10 H-H-Abu-QGTFTSDYSKYLDE-K(Гексадеканойл-изоGlu)-AAKDFIEWLESA-NH₂
- 11 H-HAQGTFTSDYSKYLDE-K(Гексадеканойл-изоGlu)-AAKDFIEWLESA-NH₂
- 12 H-H-DA1a-QGTFTSDYSKYLDE-K(Гексадеканойл-изоGlu)-AAKDFIEWLESA-NH₂
- 13 H-HPQGTFTSDYSKYLDE-K(Гексадеканойл-изоGlu)-AAKDFIEWLESA-NH₂
- 14 H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDE-K(Гексадеканойл-изоGlu)-AAKDFIEWLESA-NH₂
- 15 H-H-Ac4c-HGTFTSDYSKYLDE-K(Гексадеканойл-изоGlu)-AAKDFIEWLESA-NH₂
- 16 H-Y-Aib-QGTFTSDYSKYLDE-K(Гексадеканойл-изоGlu)-AAKDFIEWLESA-NH₂
- 17 H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLDE-K(Гексадеканойл-изоGlu)-AAKDFIEWLEEE-NH₂

Модификация K(Гексадеканойл-изоGlu) описана выше.

Пример 2. Анализ эффективности в отношении рецептора глюкагона и GLP-1-рецептора.

Синтезировали кДНК, кодирующую либо рецептор глюкагона человека (глюкагон-R) (первичный номер доступа P47871), либо рецептор глюкагоноподобного пептида 1 человека (GLP-1R) (первичный номер доступа P43220), и клонировали в вектор экспрессии млекопитающего, содержащий маркер резистентности к зеоцину.

Векторы экспрессии млекопитающего, кодирующие глюкагон-R или GLP-1-R, трансфицировали в клетки яичника китайского хомяка (CHO) способом с использованием Attractene. Стабильно экспрессирующие клоны получали путем отбора по зеоцину (250 мкг/мл) при ограниченном разведении клеток, резистентных к давлению отбора. Клеточные клоны, экспрессирующие глюкагон-R и GLP-1-R, собирали, размножали и тестировали в анализах эффективности в отношении глюкагон-R и GLP-1-R, как описано ниже. Для анализа профиля соединений выбирали один клон, экспрессирующий глюкагон-R, и один клон, экспрессирующий GLP-1-R.

Клетки CHO, экспрессирующие глюкагон-R человека или GLP-1-R человека, высевали за 24 ч до анализа по 30000 клеток на лунку в 96-луночные микротитрационные планшеты в культуре в 100 мкл питательной среды. В день проведения анализа питательную среду удаляли и клетки один раз промывали 200 мкл буфера для анализа (буфер Кребса-Рингера - KRBH). Буфер удаляли и клетки инкубировали в течение 15 мин при комнатной температуре в 10 мкл KRBH (KRBH +10 mM HEPES, 5 mM NaHCO₃, 0,1% (об./об.) BSA) совместно с 0,1 mM IBMX в деионизированной воде, содержащей возрастающие концентрации тестируемых пептидов. Реакцию останавливали путем добавления буфера для лизиса (0,1% мас./об. BSA, 5 mM HEPES, 0,3% об./об. Твин-20). После лизиса клеток в течение 10 мин при комнатной температуре лизаты переносили в 384-луночные планшеты и добавляли 10 мкл смеси акцепторных/донорных гранул, содержащейся в наборе AlphaScreen™ cAMP Functional Assay Kit. После одного часа инкубации при комнатной температуре в темноте, содержание цАМФ определяли с использованием набора AlphaScreen™ cAMP Functional Assay Kit от Perkin-Elmer в соответствии с инструкциями производителя. EC₅₀ и относительную эффективность по сравнению с эталонными соединениями (глюкагон и

GLP-1) рассчитывали с использованием компьютеризированного подбора кривой. Соотношение GLP-1/глюкагон рассчитывали, как определено выше. См. табл. 1.

Таблица 1

Соединение	EC50 hGCGR CHO-K1 [нМ]	EC50 hGLP-1R CHO-K1 [нМ]	Соотношение GLP-1/Глюкагон
1	0,23 нМ	0,52 нМ	2,26
2	0,24 нМ	0,92 нМ	3,83
3	0,62 нМ	0,29 нМ	0,47
4	0,12 нМ	0,31 нМ	2,59
5	0,12 нМ	0,27 нМ	2,25
6	0,83 нМ	0,62 нМ	0,75
7	0,60 нМ	0,35 нМ	0,58
8	1,82 нМ	0,24 нМ	0,13
9	0,20 нМ	0,33 нМ	1,65
10	0,10 нМ	0,27 нМ	2,7
11	0,69 нМ	0,14 нМ	0,11
12	1,27 нМ	0,14 нМ	0,11
13	3,19 нМ	0,21 нМ	0,07
14	18,34 нМ	0,68 нМ	0,04
15	0,10 нМ	0,23 нМ	2,3
16	0,20 нМ	0,43 нМ	2,15
17	0,08 нМ	0,27 нМ	3,38

Пример 3. Агонистическая активность в отношении эндогенного рецептора GLP-1.

Агонистическую активность тестируемых соединений в отношении эндогенных рецепторов GLP-1 определяли с использованием линии клеток инсулиномы мыши. Внутриклеточный цАМФ использовали в качестве индикатора активации рецептора.

Клетки культивировали в течение 24 ч с плотностью 10000 клеток/лунка в 384-луночном планшете. Среду удаляли и в лунки добавляли 10 мкл буфера KRBH (NaCl 130 мМ, KCl 3,6 мМ, NaH₂PO₄ 0,5 мМ, MgSO₄ 0,5 мМ, CaCl₂ 1,5 мМ), содержащего тестируемое соединение или GLP-1 (в возрастающих концентрациях от 0,1 пМ до 100 нМ), или контроль растворителем (0,1% (об./об.) ДМСО), в течение 15 мин при температуре 26°C.

Содержание цАМФ в клетках измеряли с использованием набора AlphaScreen cAMP Functional Assay Kit (Perkin Elmer). Измерение осуществляли с использованием Envision (PerkinElmer) в соответствии с рекомендациями производителя.

Все измерения проводили в четырех повторностях.

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 эндогенных рецепторов GLP-1 были следующими:

рEC₅₀ (отрицательное логарифмическое значение EC₅₀, концентрация, вызывающая полумаксимальное повышение уровней цАМФ, отражающая активность тестируемого соединения);

процент контроля (%CTL) (% повышения уровня цАМФ для концентрации каждого тестируемого соединения, нормализованный на основе GLP-1-индуцируемого максимального ответа цАМФ (100% CTL)). См. табл. 2.

Таблица 2

Соединение	EC50 [нМ]
1	0,12 нМ
2	0,52 нМ
3	0,27 нМ
4	0,32 нМ
5	0,35 нМ
6	0,40 нМ
7	0,30 нМ
8	0,24 нМ
9	0,21 нМ
10	0,09 нМ
11	0,29 нМ
12	0,23 нМ
13	0,14 нМ
14	0,13 нМ
15	0,59 нМ
16	0,66 нМ
17	0,21 нМ

Пример 4. Агонистическая активность в отношении эндогенного рецептора глюкагона.

Агонистическую активность тестируемых соединений в отношении эндогенного рецептора глюкагона определяли путем измерения их влияния на скорость синтеза гликогена в первичных гепатоцитах крыс. После активации рецептора глюкагона ожидали ингибирование скорости синтеза гликогена. Скорость синтеза гликогена определяли путем подсчета количества радиоактивно меченой глюкозы, включенной в запасы гликогена в клетках за определенный период времени.

Первичные гепатоциты крысы культивировали с плотностью 40000 клеток/лунка в 24-луночном планшете в течение 24 ч при 37°C и 5% CO₂.

Среду отбрасывали и клетки промывали ФБР. Затем в лунки добавляли 180 мкл буфера на основе KRBH, содержащего 0,1% BSA и глюкозу в концентрации 22,5 мМ с последующим добавлением тестируемого соединения и 40 мкКи/мл D-[U¹⁴C]-глюкозы (20 мкл каждый). Инкубирование продолжали в течение 3 ч.

В конце периода инкубации аспирировали буфер для инкубации и клетки один раз промывали ледяным ФБР перед проведением лизиса путем инкубации в течение 30 мин при комнатной температуре с использованием 100 мкл 1 моль/л NaOH.

Клеточные лизаты переносили в 96-луночные фильтрационные планшеты и осаждали гликоген путем инкубации фильтрационных планшетов в течение 120 мин при 4°C с последующей промывкой фильтрационных планшетов 4 раза ледяным этанолом (70%). Фильтровали досуха полученный осадок и определяли количество включенной ¹⁴C-глюкозы путем использования сцинтилляционного счетчика Topcount в соответствии с рекомендациями производителя.

Лунки с контролем носителем (0,1% (об./об.) ДМСО в буфере KRBH) включали в качестве эталона для неингибируемого синтеза гликогена (100 %CTL). Лунки без добавления D-[U¹⁴C]-глюкозы включали в качестве контроля для неспецифического фонового сигнала (вычитали из всех значений). Эндогенный пептид-глюкагон использовали в качестве положительного контроля.

Все обработки выполняли по меньшей мере в трех повторностях.

Расчетные параметры для описания как эффективности, так и агонистической активности каждого тестируемого соединения в отношении эндогенного рецептора глюкагона представляли собой pEC₅₀ и %CTL.

%CTL определяли путем вычисления числа импульсов в минуту (CPM)/лунка в процентах в присутствии тестируемого соединения по сравнению с CPM/лунка контроля носителем после вычитания фонового CPM/лунка

$$\frac{[\text{CPM/лунка(базальное)} - \text{CPM/лунка(образец)}] * 100}{[\text{CPM/лунка(базальное)} - \text{CPM/лунка(контроль)}]}$$

Активатор рецептора глюкагона приводит к ингибированию скорости синтеза гликогена и обеспечивает значения %CTL от 0%CTL (полное ингибирование) до 100%CTL (отсутствие наблюдаемого ингибирования).

Результирующие кривые активности строили в виде зависимости абсолютных количеств (единица

измерения: стр/образец) от log (концентрация тестируемого соединения) и анализировали с использованием программы подбора кривой XLfit.

pEC_{50} (отрицательное логарифмическое значение EC_{50}) отражает активность тестируемого соединения.

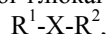
Таблица 3

Соединение	EC_{50} [нМ]
1	1,30 нМ
2	5,40 нМ
3	3,27 нМ
4	0,37 нМ
5	0,75 нМ
6	0,87 нМ
7	0,28 нМ
8	1,18 нМ
9	0,07 нМ
10	2,75 нМ
11	0,59 нМ
12	0,23 нМ
13	4,00 нМ
14	0,06 нМ
15	0,05 нМ
16	0,16 нМ
17	2,26 нМ

Термины EC_{50} и pEC_{50} , приведенные в отношении активации глюкагон-R, можно в равной степени рассматривать как IC_{50} и pIC_{50} в отношении синтеза гликогена.

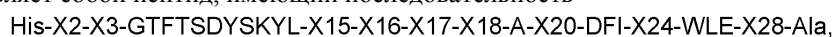
ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение, которое представляет аналог глюкагона и имеет формулу



где R^1 представляет собой H (т.е. водород), C_{1-4} алкил, ацетил, формил, бензоил или трифторацетил; R^2 представляет собой OH или NH_2 ;

X представляет собой пептид, имеющий последовательность



где X2 выбран из Ac3c, Ac4c и Ac5c;

X3 выбран из Gln и His;

X15 выбран из Asp и Glu;

X16 выбран из Glu, Lys и Ψ ;

X17 выбран из Lys, Arg и Ψ ;

X18 выбран из Ala и Arg;

X20 выбран из Lys и Ψ ;

X24 выбран из Glu, Lys и Ψ ;

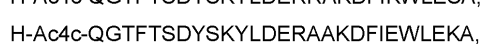
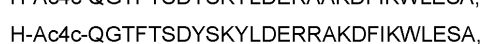
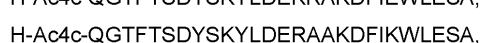
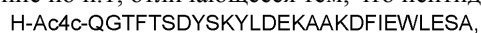
X28 выбран из Ser, Lys и Ψ ,

где каждый Ψ представляет собой остаток, независимо выбранный из Lys, Arg, Orn и Cys, и

где боковая цепь каждого остатка Ψ конъюгирована с липофильным заместителем;

или фармацевтически приемлемая соль указанного соединения.

2. Соединение по п.1, отличающееся тем, что пептид X имеет последовательность, выбранную из



- H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAKDFIEWLEKA,
H-Ac4c-HGTFTSDYSKYLDEKAAKDFIEWLESA и
H-Ac4c-HGTFTSDYSKYLDEKRAKDFIEWLESA.
3. Соединение по п.2, выбранное из
H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDEKAAKDFIEWLESA-NH₂,
H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDEKRAKDFIEWLESA-NH₂,
H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDKRAAKDFIEWLESA-NH₂,
H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDEKRAKDFIEWLESA-NH₂,
H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAAKDFIKWLESA-NH₂,
H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAKDFIKWLESA-NH₂,
H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAAKDFIEWLEKA-NH₂,
H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAKDFIEWLEKA-NH₂,
H-H-Ac4c-HGTFTSDYSKYLDEKAAKDFIEWLESA-NH₂ и
H-H-Ac4c-HGTFTSDYSKYLDEKRAKDFIEWLESA-NH₂.
4. Соединение по п.1, отличающееся тем, что пептид X имеет последовательность, выбранную из
H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDEΨAAKDFIEWLESA,
H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDEΨRAKDFIEWLESA,
H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDΨRAAKDFIEWLESA,
H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDEΨRAKDFIEWLESA,
H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAAKDFIΨWLESA,
H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAKDFIΨWLESA,
H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAAKDFIEWLEΨA,
H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAKDFIEWLEΨA,
H-Ac4c-HGTFTSDYSKYLDEΨAAKDFIEWLESA и
H-Ac4c-HGTFTSDYSKYLDEΨRAKDFIEWLESA.
5. Соединение по п.4, выбранное из
H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDEΨAAKDFIEWLESA-NH₂,
H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDEΨRAKDFIEWLESA-NH₂,
H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDΨRAAKDFIEWLESA-NH₂,
H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDEΨRAKDFIEWLESA-NH₂,
H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAAKDFIΨWLESA-NH₂,
H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAKDFIΨWLESA-NH₂,
H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAAKDFIEWLEΨA-NH₂,
H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAKDFIEWLEΨA-NH₂,
H-H-Ac4c-HGTFTSDYSKYLDEΨAAKDFIEWLESA-NH₂ и
H-H-Ac4c-HGTFTSDYSKYLDEΨRAKDFIEWLESA-NH₂.
6. Соединение по любому из предыдущих пунктов, отличающееся тем, что в случае присутствия Ψ липофильный заместитель имеет формулу Z¹, при этом Z¹ представляет собой липофильный фрагмент, конъюгированный непосредственно с боковой цепью остатка Ψ, или Z¹Z², где Z¹ представляет собой липофильный фрагмент, Z² представляет собой спейсер и Z¹ конъюгирован с боковой цепью остатка Ψ через Z².
7. Соединение по п.6, отличающееся тем, что аминокислотный компонент Ψ представляет собой Lys.
8. Соединение по п.7, отличающееся тем, что Ψ представляет собой Lys(Гексадеканоил-изоGlu).
9. Соединение по п.1, которое имеет последовательность
H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDE-K(Гексадеканоил-изоGlu)-AAKDFIEWLESA или
H-Ac4c-HGTFTSDYSKYLDE-K(Гексадеканоил-изоGlu)-AAKDFIEWLESA.
10. Соединение по п.1, выбранное из
H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDE-K(Гексадеканоил-изоGlu)-AAKDFIEWLESA-NH₂ и
H-H-Ac4c-HGTFTSDYSKYLDE-K(Гексадеканоил-изоGlu)-AAKDFIEWLESA-NH₂.
11. Фармацевтическая композиция для лечения или предотвращения нарушения метаболизма, содержащая в эффективном количестве соединение по любому из пп.1-10 в смеси с фармацевтически приемлемым носителем.
12. Применение соединения по любому из пп.1-10 при лечении или предотвращении нарушения метаболизма.
13. Применение соединения по любому из пп.1-10 при изготовлении медикамента для лечения или предотвращения нарушения метаболизма.
14. Применение по п.13, отличающееся тем, что лечение или предотвращение нарушения метаболизма включает:

- (i) предотвращение увеличения массы тела или стимуляцию потери массы тела;
- (ii) снижение уровней циркулирующего ЛПНП и/или увеличение соотношения ЛПВП/ЛПНП;
- (iii) лечение состояния, вызванного или характеризующегося избыточной массой тела; или
- (iv) предотвращение или лечение ожирения, морбидного ожирения, морбидного ожирения перед

оперативным вмешательством, воспаления, связанного с ожирением, заболевания желчного пузыря, связанного с ожирением, апноэ во сне, индуцированного ожирением, диабета, метаболического синдрома, гипертензии, атерогенной дислипидемии, атеросклероза, артериосклероза, ишемической болезни сердца, заболевания периферических артерий, инсульта или заболевания мелких сосудов.

15. Применение соединения по п.13 или 14, отличающееся тем, что указанный медикамент предназначен для введения в рамках комбинированной терапии совместно с агентом для лечения диабета, ожирения, дислипидемии или гипертензии.

16. Применение соединения по п.15, отличающееся тем, что:

(i) указанный агент для лечения диабета представляет собой бигуанид (например, метформин), сульфонилмочевину, меглитинид или глинид (например, натеглинид), ингибитор DPP-IV, ингибитор SGLT2, глитазон, другой агонист GLP-1, инсулин или аналог инсулина;

(ii) указанный агент для лечения ожирения представляет собой агонист рецептора глюкагоноподобного пептида 1, агонист рецептора пептида YY или его аналог, антагонист каннабиноидного рецептора 1, ингибитор липазы, агонист рецептора меланокортина 4, антагонист рецептора меланиноконцентрирующего гормона 1, фентермин, комбинацию фентермина и топирамата, комбинацию ингибитора обратного захвата норэпинефрина/допамина и антагониста опиоидных рецепторов (например, комбинацию бупропиона и налтрексона) или серотонинергический агент;

(iii) указанный агент для лечения гипертензии представляет собой ингибитор ангиотензинпревращающего фермента, блокатор рецепторов ангиотензина II, диуретик, β -блокатор или блокатор кальциевых каналов; или

(iv) указанный агент для лечения дислипидемии представляет собой статин, фибрат, ниацин и/или ингибитор абсорбции холестерина.

17. Способ лечения или предотвращения нарушения метаболизма, причём указанный способ включает введение эффективного количества соединения по любому из пп.1-10 нуждающемуся в этом субъекту.

18. Способ по п.17, отличающийся тем, что лечение или предотвращение нарушения метаболизма включает:

- (i) предотвращение увеличения массы тела или стимуляцию потери массы тела;
- (ii) снижение уровней циркулирующего ЛПНП и/или увеличение соотношения ЛПВП/ЛПНП;
- (iii) лечение состояния, вызванного или характеризующегося избыточной массой тела; или
- (iv) предотвращение или лечение ожирения, морбидного ожирения, морбидного ожирения перед

оперативным вмешательством, воспаления, связанного с ожирением, заболевания желчного пузыря, связанного с ожирением, апноэ во сне, индуцированного ожирением, диабета, метаболического синдрома, гипертензии, атерогенной дислипидемии, атеросклероза, артериосклероза, ишемической болезни сердца, заболевания периферических артерий, инсульта или заболевания мелких сосудов у субъекта.

19. Способ по п.17 или 18, отличающийся тем, что указанное соединение вводят в рамках комбинированной терапии совместно с агентом для лечения диабета, ожирения, дислипидемии или гипертензии.

20. Способ по п.19, отличающийся тем, что:

(i) указанный агент для лечения диабета представляет собой бигуанид (например, метформин), сульфонилмочевину, меглитинид или глинид (например, натеглинид), ингибитор DPP-IV, ингибитор SGLT2, глитазон, другой агонист GLP-1, инсулин или аналог инсулина;

(ii) указанный агент для лечения ожирения представляет собой агонист рецептора глюкагоноподобного пептида 1, агонист рецептора пептида YY или его аналог, антагонист каннабиноидного рецептора 1, ингибитор липазы, агонист рецептора меланокортина 4, антагонист рецептора меланиноконцентрирующего гормона 1, фентермин, комбинацию фентермина и топирамата, комбинацию ингибитора обратного захвата норэпинефрина/допамина и антагониста опиоидных рецепторов (например, комбинацию бупропиона и налтрексона) или серотонинергический агент;

(iii) указанный агент для лечения гипертензии представляет собой ингибитор ангиотензинпревращающего фермента, блокатор рецепторов ангиотензина II, диуретик, β -блокатор или блокатор кальциевых каналов; или

(iv) указанный агент для лечения дислипидемии представляет собой статин, фибрат, ниацин и/или ингибитор абсорбции холестерина.

