

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 201992562 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2020.07.01(22) Дата подачи заявки
2018.05.04

(51) Int. Cl. A61K 38/00 (2006.01)
A61K 38/12 (2006.01)
A61P 3/00 (2006.01)
A61P 3/06 (2006.01)
A61P 3/10 (2006.01)
C07K 14/47 (2006.01)

(54) ПЕПТИДЫ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ САХАРНОГО ДИАБЕТА

(31) 17169500.0

(32) 2017.05.04

(33) EP

(86) PCT/EP2018/061547

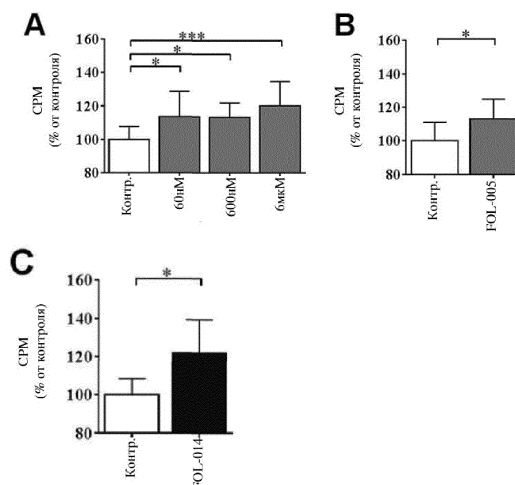
(87) WO 2018/202870 2018.11.08

(71) Заявитель:
ФОЛЛИКУМ АБ (SE)

(72) Изобретатель:
Аленфалл Ян, Дунер Понтус,
Хультгардх Нильссон Анна, Вальсе
Бьорн (SE)

(74) Представитель:
Гизатуллина Е.М., Строкова О.В.,
Лебедев В.В., Гизатуллин Ш.Ф.,
Угрюмов В.М., Глухарёва А.О. (RU)

(57) Настоящее раскрытие относится к средствам и их применению для лечения эндокринных, связанных с питанием и/или метаболических заболеваний у млекопитающего. Раскрытие, кроме того, касается новых пептидов.



A1

201992562

201992562

A1

ПЕПТИДЫ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ САХАРНОГО ДИАБЕТА

ОПИСАНИЕ

Область техники, к которой относится настоящее изобретение

Настоящее раскрытие относится к пептидам, применимым для лечения сахарного диабета и связанных с ним нарушений.

Предшествующий уровень техники настоящего изобретения

Пептидный гормон инсулин, который вырабатывается β -клетками островков Лангерганса в поджелудочной железе, высвобождается в ответ на повышение содержания глюкозы в крови. Таким образом, глюкоза удаляется из крови путем инсулинозависимой стимуляции транспортеров глюкозы, расположенных на клеточных мембранах тканей-мишени, например, жировой ткани, скелетной мышцы и печени. Инсулин оказывает свое биологическое действие, посредством связывания и активации мембраносвязанного рецептора инсулина (IR), тем самым инициируя каскад внутриклеточных сигнальных событий, которые регулируют множественные биологические процессы, такие как метаболизм глюкозы и липидов.

В настоящее время лечение сахарного диабета, как сахарного диабета типа 1, так и типа 2, основывается, главным образом, на лечении инсулином. Дополнением к лечению инсулином являются агонисты рецептора глюкагоноподобного пептида-1 (GLP-1) длительного действия, т.е. производные, которые действуют на тот же рецептор, что и GLP-1. GLP-1 представляет собой метаболический гормон, который стимулирует секрецию инсулина. Известно, что помимо повышения секреции инсулина поджелудочной железой зависимым от глюкозы образом, GLP-1 повышает чувствительность к инсулину как в α -, так и в β -клетках; увеличивает массу β -клеток и экспрессию инсулина, посттрансляционную модификацию и секрецию и уменьшает секрецию глюкагона из поджелудочной железы. Другие лекарственные средства, используемые в дополнение к лечению инсулином с целью снижения содержания глюкозы в плазме, включают в себя ингибиторы DPP-IV, метформин, ингибиторы SGLT-2 и сульфонилмочевину.

Определенные недостатки связаны с длительным применением инсулина, такие как увеличение массы и повышенный риск развития рака и гипогликемии. Таким образом, существует растущая потребность в новых неинсулиновых соединениях, способных не только лечить сахарный диабет, путем влияния на инсулинорезистентность и

гипергликемию, но также уменьшать ассоциированные с этим заболеванием и являющиеся его следствием осложнения.

Таким образом, идентификация новых соединений, которые могут восстанавливать метаболизм глюкозы и лечить сахарный диабет и связанные с ним нарушения, является очень актуальной. Можно рассматривать несколько подходов, хотя ни один из них не очевиден для специалиста в настоящей области техники.

Краткое раскрытие настоящего изобретения

Авторы настоящего изобретения обнаружили пептиды, которые стимулируют пролиферацию β -клеток, обладают способностью спасать β -клетки от апоптоза, вызванного глюкотоксическими условиями, и стимулировать секрецию инсулина из β -клеток INS-1 крысы, а также из выделенных островков поджелудочной железы мыши. Кроме того, авторы настоящего изобретения обнаружили, что в пробе на толерантность к глюкозе пептиды снижали содержание глюкозы в плазме *in vivo* и задерживали начало заболевания сахарным диабетом у крыс BB *lup/lup*, модели сахарного диабета 1 типа. Следовательно, пептиды по настоящему изобретению являются подходящими для применения при лечении эндокринных, связанных с питанием и метаболических заболеваний и нарушений.

Согласно одному аспекту настоящее раскрытие относится к средству, содержащему или состоящему из:

а) пептида или аналога пептида, причем пептид или аналог пептида содержит аминокислотную последовательность общей формулы:

KX₂LAX₅X₆X₇X₈IX₁₀LX₁₂YGIK (SEQ ID NO: 140),

где:

X₂ представляет собой C, P или G;

X₅ представляет собой E или G;

X₆ представляет собой C, D или I;

X₇ представляет собой D, I, S или G;

X₈ представляет собой S, D или G;

X₁₀ представляет собой E или G;

X₁₂ представляет собой S или T;

при условии, что если X₁₂ представляет собой T, тогда пептид содержит не более чем 25 аминокислот; а также

при условии, что если X₂ представляет собой P, X₅ представляет собой E, X₆ представляет собой I, X₇ представляет собой D, X₈ представляет собой S, X₁₀ представляет

собой E и X₁₂ представляет собой S, пептид содержит не более чем 85 аминокислотных остатков;

или его биологически активного фрагмента и/или варианта, причем указанный биологически активный фрагмент и/или вариант выбран из группы, состоящей из CLAEIDSC (SEQ ID NO: 142), CFKPLAEIDSIECSYGIK (SEQ ID NO: 143), KPLAEGDIELSYGIK (SEQ ID NO: 147), KPLAEIELSYGIK (SEQ ID NO: 148), KCLAEIDSCELSYGIK (SEQ ID NO: 155) и CFKPLAEIDSIEC (SEQ ID NO: 156);

b) полинуклеотида, кодирующего при экспрессии, пептид по а);

c) вектора, содержащего полинуклеотид по b); а также

d) клетки, содержащей полинуклеотид по b) или вектор по c).

Согласно одному аспекту настоящее раскрытие относится к средству, содержащему:

a) пептид или аналог пептида, содержащий или состоящий из аминокислотной последовательности GDPNDGRGDSVVYGLR (SEQ ID NO: 137), VDTYDGGISVVYGLR (SEQ ID NO: 138) и VDTYDGDGSVVYGLR (SEQ ID NO: 139). VDVPEGDISLAYGLR (SEQ ID NO: 157), LDGLVRAYDNISPVG (SEQ ID NO: 158), GDPNGDISVVYGLR (SEQ ID NO: 159), VDVPNGDISLAYRLR (SEQ ID NO: 160), VDVPEGDISLAYRR NO: 16 (SEQ ID NO: 160), TYDGDISVVYGLR (SEQ ID NO: 167), VDTY(бета-D)GDISVVYGLR (SEQ ID NO: 168), VDTYDG(бета-D)ISVVYGLR (SEQ ID NO: 169);

b) полинуклеотид, кодирующий при экспрессии, пептид по а);

c) вектор, содержащий полинуклеотид по b); а также

d) клетку, содержащую полинуклеотид по b) или вектор по c).

Согласно одному аспекту настоящее раскрытие относится к композиции, содержащей средство, описанное в настоящем документе выше.

Согласно одному аспекту настоящее раскрытие относится к средству или композиции, содержащей указанное средство, для применения в качестве лекарственного средства.

Согласно одному аспекту настоящее раскрытие относится к средству, содержащему:

a) (i) пептид или аналог пептида, причем пептид или аналог пептида содержит или состоит из аминокислотной последовательности общей формулы:

KX₂LAX₅X₆X₇X₈IX₁₀LX₁₂YGIK (SEQ ID NO: 140),

где:

X₂ представляет собой C, P или G;

X₅ представляет собой E или G;

X₆ представляет собой C, D или I;

X₇ представляет собой D, I, S или G;

X₈ представляет собой S, D или G;

X₁₀ представляет собой E или G;

X₁₂ представляет собой S или T;

при условии, что если X₁₂ представляет собой T, пептид содержит не более чем 25 аминокислотных остатков;

(ii) пептид, причем пептид содержит аминокислотную последовательность общей формулы: VDZ₃Z₄Z₅GZ₇Z₈SZ₁₀Z₁₁YGLR (SEQ ID NO: 68),

где:

Z₃ представляет собой T или V;

Z₄ представляет собой Y или P;

Z₅ представляет собой D или N;

Z₇ представляет собой D или G;

Z₈ представляет собой I или G;

Z₁₀ представляет собой V или L;

Z₁₁ представляет собой V или A;

(iii) пептид, причем пептид содержит или состоит из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из KCLAECDSIELSYGIK (SEQ ID NO: 141), CLAEIDSC (SEQ ID NO: 142), CFKPLAEIDSIECSYGIK (SEQ ID NO: 143), KPLAEIELSYGIK (SEQ ID NO: 148), KCLAEIDSCIELSYGIK (SEQ ID NO: 155) и CFKPLAEIDSIEC (SEQ ID NO: 156);

b) полинуклеотид, кодирующий при экспрессии, пептид по a);

c) вектор, содержащий полинуклеотид по b); а также

d) клетку, содержащую полинуклеотид по b) или вектор по c).

для применения при лечении эндокринного заболевания, связанного с питанием заболевания и/или метаболического заболевания у млекопитающего.

Согласно одному аспекту настоящее раскрытие относится к способу лечения эндокринного заболевания, связанного с питанием заболевания и/или метаболического заболевания, причем способ предусматривает введение терапевтически эффективного количества описанного в настоящем документе средства нуждающемуся в этом индивидууму.

Согласно одному аспекту настоящее раскрытие относится к применению описанного в настоящем документе средства для изготовления лекарственного средства для лечения эндокринного заболевания, связанного с питанием заболевания и/или метаболического заболевания.

Согласно одному аспекту настоящее раскрытие относится к способу задержки начала сахарного диабета, причем способ предусматривает введение терапевтически эффективного количества описанного в настоящем документе средства нуждающемуся в этом индивидууму.

Согласно одному аспекту настоящее раскрытие относится к способу снижения содержания глюкозы в крови, причем способ предусматривает введение терапевтически эффективного количества описанного в настоящем документе средства нуждающемуся в этом индивидууму.

Согласно одному аспекту настоящее раскрытие относится к способу, например, способу *in vitro*, улучшения морфологии бета-клеток, предусматривающему введение терапевтически эффективного количества описанного в настоящем документе средства нуждающемуся в этом индивидууму.

Согласно одному аспекту настоящее раскрытие относится к способу повышения жизнеспособности бета-клеток, предусматривающему введение терапевтически эффективного количества описанного в настоящем документе средства нуждающемуся в этом индивидууму.

Согласно одному аспекту настоящее раскрытие относится к применению описанного в настоящем документе средства для приготовления диагностической композиции для диагностики заболевания, нарушения или повреждения поджелудочной железы у индивидуума.

Описание графических материалов

Фиг. 1. *FOL-005 и FOL-014 индуцировали пролиферацию β -клеток*

Добавление увеличивающихся концентраций FOL-005 в раствор вызывало увеличение пролиферации клеток INS-1 через 48 часов (фиг. 1A). Лунки, покрытые FOL-005 и заблокированные бычьим сывороточным альбумином (BSA), индуцировали большую пролиферацию β -клеток по сравнению с контрольными лунками, покрытыми только BSA (ctrl) (фиг. 1B). Лунки, предварительно покрытые FOL-014 и заблокированные BSA, вызывали большую пролиферацию по сравнению с лунками, покрытыми только BSA (фиг. 1C). Данные представлены в виде числа импульсов в минуту (CPM) относительно нестимулированных контрольных (ctrl) клеток. Среднее $\pm$ SD представлено для 10-12 различных наблюдений в каждой группе.

Фиг. 2. *FOL-005 защищали β -клетки от глюкотоксичности*

Клетки INS-1, инкубированные в течение 48 часов в глюкозе с концентрацией 20 mM, содержали больше апоптических клеток (аннексин V-положительных) по сравнению с

клетками, инкубированными в глюкозе с концентрацией 5 мМ. Добавление FOL-005 к клеткам, инкубированным с глюкозой в концентрации 20 мМ, снижало содержание апоптических клеток по сравнению только с глюкозой в концентрации 20 мМ (фиг. 2А). Апоптоз, измеренный посредством активности каспазы-3, был повышен в клетках INS-1 при концентрации глюкозы 20 мМ по сравнению с 5 мМ глюкозой. Добавление FOL-005 уменьшало скорость индуцированной глюкоотоксичностью активности каспазы-3 (фиг. 2В). Среднее $\pm$ SD представлено для 4–8 различных наблюдений в каждой группе.

Фиг. 3. *Секреция инсулина была увеличена из островков и β -клеток после стимуляции FOL-005*

FOL-005 стимулировал секрецию инсулина из β -клеток и островков. Высвобождение инсулина из клеток INS-1 увеличивалось после стимуляции FOL-005 (6 мкМ) в не содержащей глюкозу среде по сравнению с нестимулированным контролем (ctrl) и рандомизированным контрольным пептидом (FOL-015) (фиг. 3А). FOL-005 стимулировал высвобождение инсулина из INS-1 как при низкой (5 мМ), так и при высокой (20 мМ) концентрации глюкозы (фиг. 3В). Выделенные островки поджелудочной железы мыши, стимулированные FOL-005 (6 мкМ) или GLP-1 (100 нМ), секретировали больше инсулина по сравнению с нестимулированными контрольными островками (фиг. 3С). Среднее $\pm$ SD представлены для 5–6 различных наблюдений в каждой группе.

Фиг. 4. *Секреция инсулина была увеличена из островков и β -клеток после стимуляции FOL-014.*

FOL-014 стимулировал секрецию инсулина из β -клеток и островков поджелудочной железы. Клетки INS-1, стимулированные FOL-014 (6 мкМ), секретировали больше инсулина по сравнению с нестимулированными контрольными клетками (фиг. 4А). Выделенные островки поджелудочной железы мыши, стимулированные FOL-014 (6 мкМ), выделяли больше инсулина по сравнению с контрольными островками (фиг. 4В). Добавление GLP-1 (100 нМ) или FOL-014 (0,6 мкМ) не влияло на секрецию инсулина. Среднее $\pm$ SD представлены для 5–6 различных наблюдений в каждой группе.

Фиг. 5. *Влияние FOL-014 на секрецию инсулина зависело от дозы.* Стимуляция клеток INS-1 увеличивающимися дозами FOL-014 приводила к значительному увеличению секреции инсулина для всех исследованных концентраций. Секреция инсулина линейно возрастала в присутствии FOL-014 в диапазоне от 0,6 нМ до 60 нМ. По-видимому, более высокие концентрации приводят к менее выраженному влиянию на секрецию инсулина. Кроме того, секреция инсулина, индуцированная FOL-014, была сравнима с эффектом GLP-1 в концентрации 100 нМ. Столбцы представляют средние значения и стандартную ошибку среднего (SEM).

Фиг. 6. *Влияние FOL-014 на секрецию инсулина зависело от концентрации глюкозы.*

Секрецию инсулина от необработанных или подвергшихся воздействию FOL-014 клеток INS-1 измеряли в присутствии возрастающих концентраций глюкозы. При содержании глюкозы 5,5 мМ или выше секреция инсулина была значительно выше в клетках, обработанных FOL-014, по сравнению с необработанными контрольными клетками. Столбцы представляют средние значения и стандартную ошибку среднего (SEM).

Фиг. 7. *FOL-005 и FOL-014, дозированно вводимые вместе с нативным GLP-1, вызывали аддитивное влияние на секрецию инсулина.* Высвобождение инсулина из клеток INS-1 измеряли после комбинированного воздействия GLP-1 вместе с FOL-005 и FOL-014 (все три пептида в концентрации 100 нМ), соответственно, и сравнивали с влиянием каждого пептида отдельно. Комбинация GLP-1 и FOL-014 значительно увеличивала секрецию инсулина по сравнению с каждым отдельным пептидом. Увеличение также наблюдалось для комбинации FOL-005 и GLP-1. Столбцы представляют средние значения и стандартную ошибку среднего (SEM).

Фиг. 8. *FOL-014 влияет на секрецию инсулина и глюкагона в островках поджелудочной железы.* Исследовали две разные концентрации FOL-014 и сравнивали с влиянием GLP-1 в концентрации 100 нМ на выделенные островки мыши при низких (2,8 мМ) (A, C) и высоких (16,7 мМ) (B, D) концентрациях глюкозы. В образцах с низким содержанием глюкозы присутствие FOL-014 не увеличивало секрецию инсулина, но уменьшало секрецию глюкагона по сравнению с контролем и GLP-1. В образцах с высоким содержанием глюкозы FOL-014 в концентрации 600 нМ и GLP-1, но не FOL-014 в концентрации 6 мкМ, значительно увеличивали секрецию инсулина (B), а GLP-1, а также обе концентрации FOL-014 эффективно снижали секрецию глюкагона (D). Столбцы представляют средние значения и стандартную ошибку среднего (SEM).

Фиг. 9. *FOL-014 снижал содержание глюкозы в плазме in vivo после инъекции глюкозы.* Интраперитонеальную пробу толерантности к глюкозе (IPGTT) проводили на мышах C57bl/6 дикого типа. FOL-014, дозированно введенный в дозе 200 нмоль/кг, значительно снижал содержание глюкозы в плазме по сравнению с контролем через 15 минут, 30 минут и 45 минут ($p=0,0027$). При дозе 30 нмоль/кг FOL-014 снижал содержание глюкозы со значительным эффектом через 45 минут после введения глюкозы. Пунктирная линия соответствует среднему содержанию глюкозы в крови натощак. Данные представляют собой средние значения и стандартную ошибку среднего (SEM). Статистический анализ проводили с использованием критерия Стьюдента.

Фиг. 10. *FOL-014 задерживал начало сахарного диабета типа 1 у крыс BB lyp/lyp.* У крыс BB lyp/lyp, получавших FOL-014, наблюдалась значительная задержка начала

сахарного диабета, определяемая как содержание глюкозы в плазме $<11,1$ ммоль/л. Возраст начала сахарного диабета для каждой крысы изображали в (А) со значительным различием между необработанными и обработанными группами. Процент животных, у которых развивался сахарный диабет 1-го типа, каждый день изображали на (В), со значительной разницей между группами. Столбики ошибок в (А) представляют стандартную ошибку среднего (SEM).

Фиг. 11. *Влияние на секрецию инсулина аналогов пептидов, полученных из FOL-005 или FOL-014.* Новые аналоги пептидов исследовали в двух отдельных клеточных линиях INS-1 (А и В) на их способность индуцировать секрецию инсулина в условиях высокого содержания глюкозы (16,7 мМ). Эффект сравнивали с эффектом нативного GLP-1, FOL-005 и FOL-014, а также с эффектом одного только высокого содержания глюкозы. Аналоги, индуцирующие высвобождение инсулина ниже среднего уровня контроля высокого содержания глюкозы, считались нефункциональными (не показано). Уровень секреции инсулина показан черными закрашенными столбцами для новых аналогов и контрастными рисунками для веществ сравнения. Столбцы представляют средние значения и стандартную ошибку среднего (SEM).

Фиг. 12. *FOL-005 и FOL-014 отображали конкретные профили распределения после инъекции у мыши.* После подкожного введения ^3H -FOL-005 самые высокие общие уровни радиоактивности присутствовали в поджелудочной железе и в месте инъекции через 1 час (А) и 2 часа (В) после инъекции. Накопление ^3H -FOL-005 также видно в печени, почках, слюнных железах. Используя систему визуализации мелких животных Pearl Trilogy *in vivo*, исследовали биораспределение и локализацию в тканях меченных $\text{Cy}7.5$ FOL-005 (С) и FOL-014 (D) у голых мышей NMRI посредством подкожной инъекции. После первоначальной контрольной визуализации вводили дозу 10 нмоль на мышь, а визуализацию в реальном времени проводили через 5 мин, 20 мин, 50 мин, 60 мин, 2 часа, 4 часа, 6 часов, 24 часа и 48 часов. Высокая аккумуляция обоих пептидов была очевидна в области поджелудочной железы, а также в месте инъекции.

Подробное описание настоящего изобретения

Раскрытие является таким, как определено в формуле изобретения.

Согласно одному аспекту настоящее раскрытие относится к пептиду или аналогу пептида, содержащему аминокислотную последовательность общей формулы:

а) $KX_2LAX_5X_6X_7X_8IX_{10}LX_{12}YGIK$ (**SEQ ID NO: 140**),

где:

X_2 представляет собой C, P или G;

X_5 представляет собой E или G;

X_6 представляет собой C, D или I;

X_7 представляет собой D, I, S или G;

X_8 представляет собой S, D или G;

X_{10} представляет собой E или G;

X_{12} представляет собой S или T;

при условии, что если X_{12} представляет собой T, пептид содержит не более чем 25 аминокислот; а также

при условии, что если X_2 представляет собой P, X_5 представляет собой E, X_6 представляет собой I, X_7 представляет собой D, X_8 представляет собой S, X_{10} представляет собой E и X_{12} представляет собой S, пептид содержит не более чем 85 аминокислотных остатков;

b) полинуклеотиду, кодирующему при экспрессии пептид по а);

c) вектору, содержащему полинуклеотид по b); а также

d) клетке, содержащей полинуклеотид по b) или вектор по c).

Согласно одному варианту осуществления настоящее раскрытие относится к пептиду или аналогу пептида, содержащему аминокислотную последовательность общей формулы:

$KX_2LAX_5X_6X_7X_8IX_{10}LSYGIK$ (**SEQ ID NO: 162**),

где:

X_2 представляет собой C, P или G;

X_5 представляет собой E или G;

X_6 представляет собой C, I или отсутствует;

X_7 представляет собой D, G или отсутствует;

X_8 представляет собой S, G или отсутствует;

X_{10} представляет собой E или G;

причем отсутствует означает, что аминокислота X_5 связана с аминокислотой X_{10} .

Согласно одному варианту осуществления настоящее раскрытие относится к пептиду, содержащему аминокислотную последовательность общей формулы:

KX₂LAX₅IX₁₀LSYGIK (SEQ ID NO: 163),

где:

X₂ представляет собой C, P или G;

X₅ представляет собой E или G;

X₁₀ представляет собой E или G.

Согласно одному варианту осуществления настоящее раскрытие относится к средству, содержащему:

- a) пептид, причем пептид выбран из группы, состоящей из следующего:
 - i) пептид, содержащий или состоящий из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 136, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155 и 156;
 - ii) биологически активный вариант последовательности любого из пептидов по i), причем любая одна аминокислота была заменена на другую протеиногенную или непротеиногенную аминокислоту, при условии, что изменено не более пяти аминокислот;
 - iii) биологически активный фрагмент пептида по любому из i) или ii), причем этот фрагмент содержит по меньшей мере 10 последовательных аминокислот по любому из i) или ii);
- b) полинуклеотид, кодирующий при экспрессии пептид по a);
- c) вектор, содержащий полинуклеотид по b); а также
- d) клетку, содержащую полинуклеотид по b) или вектор по c).

Согласно одному варианту осуществления настоящее раскрытие относится к средству, содержащему:

- a) пептид, причем пептид содержит или состоит из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из GDPNDGRGDSVVYGLR (SEQ ID NO: 137), VDTYDGGISVVYGLR (SEQ ID NO: 138) и VDTYDGDGSVVYGLR (SEQ ID NO: 139). VDVPEGDISLAYGLR (SEQ ID NO: 157), LDGLVRAYDNISPVG (SEQ ID NO: 158), GDPNGDISVVYGLR (SEQ ID NO: 159), VDVPNGDISLAYRLR (SEQ ID NO: 160) VDVPEGDISLAYRLR (SEQ ID NO: 160);
- b) полинуклеотид, кодирующий при экспрессии, пептид по a);
- c) вектор, содержащий полинуклеотид по b); а также
- d) клетку, содержащую полинуклеотид по b) или вектор по c).

Согласно одному варианту осуществления настоящее раскрытие относится к пептиду, содержащему аминокислотную последовательность общей формулы:

VDVPZ₅GDISLAYZ₁₃LR (SEQ ID NO: 164),

где:

Z₅ представляет собой E или N;

Z₁₃ представляет собой R или G.

Согласно одному варианту осуществления настоящее раскрытие относится к пептиду, содержащему аминокислотную последовательность общей формулы:

VDTYDGZ₇Z₈SVVYGLR (SEQ ID NO: 165),

где:

Z₇ представляет собой D или G;

Z₈ представляет собой I или G.

Согласно одному варианту осуществления настоящее раскрытие относится к пептиду, содержащему аминокислотную последовательность общей формулы:

GDPNZ₅Z₆Z₇Z₈Z₉SVVYGLR (SEQ ID NO: 166),

где:

Z₅ представляет собой D или G;

Z₆ представляет собой D или G

Z₇ представляет собой I или R;

Z₈ представляет собой G или отсутствует;

Z₉ представляет собой D или отсутствует.

Используемый в настоящем документе термин «отсутствует», например, «X₆ представляет собой C, I или отсутствует» следует понимать как то, что аминокислотные остатки, непосредственно примыкающие к отсутствующей аминокислоте, непосредственно связаны друг с другом посредством обычной амидной связи.

Описанный в настоящем документе термин «аналог пептида» относится к пептиду, содержащему или состоящему из не встречающегося в природе пептида.

Используемый в настоящем документе термин «аминокислота» включает в себя стандартные двадцать генетически кодируемых аминокислот и их соответствующие стереоизомеры в форме «D» (по сравнению с природной формой «L»), омега-аминокислоты и другие встречающиеся в природе аминокислоты, нестандартные аминокислоты (например, α,α-дизамещенные аминокислоты, N-алкильные аминокислоты и т.д.) и химически дериватизированные аминокислоты (смотрите ниже).

Когда аминокислота конкретно перечисляется, такая как «аланин» или «Ala» или «A», термин относится как к L-аланину, так и к D-аланину, если явно не указано иное. Другие нестандартные аминокислоты также могут быть подходящими компонентами для пептидов по настоящему изобретению, если пептид сохраняет желаемое функциональное свойство. Для показанных пептидов каждый кодированный аминокислотный остаток, где

это уместно, представлен однобуквенным обозначением, соответствующим тривиальному названию обычной аминокислоты.

Химические производные одной или нескольких аминокислот могут быть достигнуты путем реакции с функциональной боковой группой. Такие производные включают в себя, например, те молекулы, в которых свободные аминогруппы были дериватизированы с образованием гидрохлоридов амина, *n*-толуолсульфонильных групп, карбоксибензоксигрупп, *трет*-бутилоксикарбонильных групп, хлорацетильных групп или формильных групп. Свободные карбоксильные группы могут быть дериватизированы с образованием солей, метиловых и этиловых сложных эфиров или других типов сложных эфиров и гидразидов. Свободные гидроксильные группы могут быть дериватизированы с образованием О-ацильных или О-алкильных производных. В качестве химических производных также включены те пептиды, которые содержат природные производные аминокислот из двадцати стандартных аминокислот. Например: 4-гидроксипролин может заменять пролин; 5-гидроксилизин может заменять лизин; 3-метилгистидин может заменять гистидин; гомосерин может заменять серин, а орнитин - лизин. Производные также включают в себя пептиды, содержащие одно или несколько добавлений или делеций, при условии сохранения необходимой активности. Другими включенными модификациями являются амидирование, аминотерминальное ацилирование (например, ацетилирование или амидирование тиогликолевой кислотой), терминальное карбоксиамидирование (например, аммиаком или метиламином) и подобные терминальные модификации.

Некоторые из пептидов по настоящему изобретению характеризуются сходством аминокислотной последовательности с подобластью природных белков остеопонтина. Согласно некоторым вариантам осуществления указанный пептид может рассматриваться как активный фрагмент встречающегося в природе белка остеопонтина или его вариант, такой как фрагмент.

Некоторые из пептидов по настоящему изобретению характеризуются сходством аминокислотной последовательности с подобластью природных белков тенасцинов. Согласно некоторым вариантам осуществления указанный пептид может рассматриваться как активный фрагмент встречающегося в природе белка тенасцина или его вариант, такой как фрагмент.

«Фрагмент» включает в себя по меньшей мере 5 смежных аминокислот аминокислотной последовательности, например, по меньшей мере 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 или 15 смежных аминокислот аминокислотной последовательности. Таким образом, длина фрагмента может составлять 15 или менее аминокислот, например, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6 или 5 аминокислот.

Согласно одному варианту осуществления указанный пептид составляет в длину не более чем 85, например, не более чем 80, например, не более чем 75, например, не более чем 70, например, не более чем 65, например, не более чем 60, например, не более чем 55, например, не более чем 50, например, не более чем 55, например, не более чем 40 аминокислот, например, не более чем 35, например, не более чем 30, например, не более чем 28, например, не более чем 26, например, не более чем 24, например, не более чем 22, например, не более чем 20, например, не более чем 19, например, не более чем 18, например, не более чем 17, например, не более чем 16, например, не более чем 15, например, не более чем 14, например, не более чем 13, например, не более чем 12, например, не более чем 11, например, не более чем 10 аминокислот.

Согласно другому варианту осуществления указанный пептид составляет в длину от 5 до 30 аминокислот, например, от 5 до 20, например, от 8 до 20, например, от 8 до 16, например, от 10 до 15 аминокислот.

Согласно еще одному варианту осуществления указанный фрагмент составляет в длину 15 или менее аминокислот в длину, например, менее чем 14 аминокислот, например, менее чем 13 аминокислот, например, менее чем 12 аминокислот, например, менее чем 11 аминокислот, например, менее чем 10 аминокислот, например, менее чем 9 аминокислот, например, менее чем 8 аминокислот, например, менее чем 7 аминокислот, например, менее чем 6 аминокислот, например, менее чем 5 аминокислот.

Термин «вариант» относится к пептиду, который не обладает 100% идентичностью аминокислотной последовательности по отношению к исходному пептиду, т.е. одна или несколько аминокислот должны быть мутированы. «Мутированный» относится к изменению аминокислоты в указанном положении в исходном пептиде. Например, аминокислота в указанном положении может быть удалена, изменена, замещена или может быть сайтом вставки/добавления одной или нескольких аминокислот. Специалистам в настоящей области техники будет понятно, что замены могут быть консервативными или неконсервативными.

Согласно одному варианту осуществления указанный пептидный вариант содержит или состоит из последовательности, в которой не более чем пять аминокислот заменены на другую протеиногенную или непротеиногенную аминокислоту, например, не более чем 4 аминокислоты, например, не более чем 3 аминокислоты, например, не более чем 2 аминокислоты, например, не более чем 1 аминокислота. Согласно одному варианту осуществления одна или несколько аминокислот являются консервативно замещенными. «Консервативно замещенный» относится к замене одной аминокислоты другой с подобными свойствами (размером, гидрофобностью и т.д.), так что функция пептида

существенно не изменяется. Таким образом, под «консервативными заменами» подразумеваются такие комбинации, как Gly, Ala; Val, Ile, Leu; Asp, Glu; Asn, Gln; Ser, Thr; Lys, Arg и Phe, Tyr.

Согласно другому варианту осуществления указанный пептид содержит или состоит из одной или нескольких дополнительных аминокислот, вставленных в N- и/или C-конец и/или внутри последовательности. Согласно одному варианту осуществления вставлены по меньшей мере 2 дополнительные аминокислоты, например, по меньшей мере 3, например, по меньшей мере 4, например, по меньшей мере 5, например, по меньшей мере 6, например, по меньшей мере 7, например, по меньшей мере 8, например, по меньшей мере 9, например, по меньшей мере 10, например, по меньшей мере 15 или, например, по меньшей мере 20 дополнительных аминокислот. Дополнительные аминокислоты могут представлять собой аминокислоты из соответствующих положений человеческого остеопонтина дикого типа (SEQ ID NO: 66) или из соответствующих положений мышинного остеопонтина дикого типа (SEQ ID NO: 134). Под термином «соответствующие положения» остеопонтина дикого типа авторы настоящего изобретения подразумевают, что дополнительные аминокислоты являются такими же, как те, которые присутствуют в эквивалентном положении в остеопонтине дикого типа выше (если представить, что аминокислотная последовательность SEQ ID NO: 1 заменяет последовательность, подчеркнутую курсивом в SEQ ID NO: 66)

Согласно другому варианту осуществления пептид выбран из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1, 136, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 67, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 135, 137, 138, 139, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 167, 168 и 169;

i. Пептиды из 15 аминокислот:

VDTYDGD¹ISVVYGLR

SEQ ID NO: 1

VDTYDGD¹ISVVYGLS

SEQ ID NO: 2

ii. Пептиды из 14 аминокислот:

VDTYDGD¹ISVVYGL

SEQ ID NO: 3

DTYDGD <u>ISVVYGLR</u>	SEQ ID NO: 4
TYDGD <u>ISVVYGLRS</u>	SEQ ID NO: 5
iii. <u>Пептиды из 13 аминокислот:</u>	
VDTYDGD <u>ISVVYG</u>	SEQ ID NO: 6
DTYDGD <u>ISVVYGL</u>	SEQ ID NO: 7
TYDGD <u>ISVVYGLR</u>	SEQ ID NO: 8
YDGD <u>ISVVYGLRS</u>	SEQ ID NO: 9
iv. <u>Пептиды из 12 аминокислот:</u>	
VDTYDGD <u>ISVVY</u>	SEQ ID NO: 10
DTYDGD <u>ISVVYG</u>	SEQ ID NO: 11
TYDGD <u>ISVVYGL</u>	SEQ ID NO: 12
YDGD <u>ISVVYGLR</u>	SEQ ID NO: 13
DGD <u>ISVVYGLRS</u>	SEQ ID NO: 14
v. <u>Пептиды из 11 аминокислот:</u>	
VDTYDGD <u>ISVV</u>	SEQ ID NO: 15
DTYDGD <u>ISVVY</u>	SEQ ID NO: 16
TYDGD <u>ISVVYG</u>	SEQ ID NO: 17
YDGD <u>ISVVYGL</u>	SEQ ID NO: 18
DGD <u>ISVVYGLR</u>	SEQ ID NO: 19
G <u>ISVVYGLRS</u>	SEQ ID NO: 20
vi. <u>Пептиды из 10 аминокислот:</u>	
VDTYDGD <u>ISV</u>	SEQ ID NO: 21
DTYDGD <u>ISVV</u>	SEQ ID NO: 22
TYDGD <u>ISVVY</u>	SEQ ID NO: 23
YDGD <u>ISVVYG</u>	SEQ ID NO: 24
DGD <u>ISVVYGL</u>	SEQ ID NO: 25
G <u>ISVVYGLR</u>	SEQ ID NO: 26
<u>ISVVYGLRS</u>	SEQ ID NO: 27
vii. <u>Пептиды из 9 аминокислот:</u>	
VDTYDGD <u>IS</u>	SEQ ID NO: 28
DTYDGD <u>ISV</u>	SEQ ID NO: 29
TYDGD <u>ISVV</u>	SEQ ID NO: 30
YDGD <u>ISVVY</u>	SEQ ID NO: 31
DGD <u>ISVVYG</u>	SEQ ID NO: 32

<u>GDISVVYGL</u>	SEQ ID NO: 33
<u>DISVVYGLR</u>	SEQ ID NO: 34
<u>ISVVYGLRS</u>	SEQ ID NO: 35
viii. <u>Пептиды из 8 аминокислот:</u>	
VDTYDGD <u>I</u>	SEQ ID NO: 36
DTYDGD <u>IS</u>	SEQ ID NO: 37
TYDGD <u>ISV</u>	SEQ ID NO: 38
YDGD <u>ISVV</u>	SEQ ID NO: 39
DGD <u>ISVVY</u>	SEQ ID NO: 40
G <u>DISVVY</u> G	SEQ ID NO: 41
<u>DISVVYGL</u>	SEQ ID NO: 42
<u>ISVVYGLR</u>	SEQ ID NO: 43
ix. <u>Пептиды из 7 аминокислот:</u>	
VDTYDGD <u>D</u>	SEQ ID NO: 44
DTYDGD <u>I</u>	SEQ ID NO: 45
TYDGD <u>IS</u>	SEQ ID NO: 46
YDGD <u>ISV</u>	SEQ ID NO: 47
DGD <u>ISVV</u>	SEQ ID NO: 48
G <u>DISVVY</u>	SEQ ID NO: 49
<u>DISVVY</u> G	SEQ ID NO: 50
<u>ISVVYGL</u>	SEQ ID NO: 51
x. <u>Пептиды из 6 аминокислот:</u>	
DTYDGD <u>D</u>	SEQ ID NO: 52
TYDGD <u>I</u>	SEQ ID NO: 53
YDGD <u>IS</u>	SEQ ID NO: 54
DGD <u>ISV</u>	SEQ ID NO: 55
G <u>DISVV</u>	SEQ ID NO: 56
<u>DISVVY</u>	SEQ ID NO: 57
<u>ISVVY</u> G	SEQ ID NO: 58
xi. <u>Пептиды из 5 аминокислот:</u>	
TYDGD <u>D</u>	SEQ ID NO: 59
YDGD <u>I</u>	SEQ ID NO: 60
DGD <u>IS</u>	SEQ ID NO: 61
G <u>DISV</u>	SEQ ID NO: 62

<u>DISVV</u>	SEQ ID NO: 63
<u>ISVVY</u>	SEQ ID NO: 64
<u>SVVYG</u>	SEQ ID NO: 65
xii. <u>Пептид из 16 аминокислот:</u>	
VDTYDGRGDSVVYGLR	SEQ ID NO: 67
xiii. <u>Пептиды из 15 аминокислот:</u>	
VDVPNGDISLAYGLR	SEQ ID NO: 69
DVPNGDISLAYGLRS	SEQ ID NO: 70
xiv. <u>Пептиды из 14 аминокислот:</u>	
VDVPNG <u>DISLAYGL</u>	SEQ ID NO: 71
DVPNG <u>DISLAYGLR</u>	SEQ ID NO: 72
VPNG <u>DISLAYGLRS</u>	SEQ ID NO: 73
xv. <u>Пептиды из 13 аминокислот:</u>	
VDVPNG <u>DISLAYG</u>	SEQ ID NO: 74
DVPNG <u>DISLAYGL</u>	SEQ ID NO: 75
VPNG <u>DISLAYGLR</u>	SEQ ID NO: 76
PNG <u>DISLAYGLRS</u>	SEQ ID NO: 77
xvi. <u>Пептиды из 12 аминокислот:</u>	
VDVPNG <u>DISLAY</u>	SEQ ID NO: 78
DVPNG <u>DISLAYG</u>	SEQ ID NO: 79
VPNG <u>DISLAYGL</u>	SEQ ID NO: 80
PNG <u>DISLAYGLR</u>	SEQ ID NO: 81
NG <u>DISLAYGLRS</u>	SEQ ID NO: 82
xvii. <u>Пептиды из 11 аминокислот:</u>	
VDVPNG <u>DISLA</u>	SEQ ID NO: 83
DVPNG <u>DISLAY</u>	SEQ ID NO: 84
VPNG <u>DISLAYG</u>	SEQ ID NO: 85
PNG <u>DISLAYGL</u>	SEQ ID NO: 86
NG <u>DISLAYGLR</u>	SEQ ID NO: 87
G <u>DISLAYGLRS</u>	SEQ ID NO: 88
xviii. <u>Пептиды из 10 аминокислот:</u>	
VDVPNG <u>DISL</u>	SEQ ID NO: 89
DVPNG <u>DISLA</u>	SEQ ID NO: 90
VPNG <u>DISLAY</u>	SEQ ID NO: 91

<u>PNGDISLAYG</u>	SEQ ID NO: 92
<u>NGDISLAYGL</u>	SEQ ID NO: 93
<u>GDISLAYGLR</u>	SEQ ID NO: 94
<u>DISLAYGLRS</u>	SEQ ID NO: 95
xix. <u>Пептиды из 9 аминокислот:</u>	
<u>VDVPNGDIS</u>	SEQ ID NO: 96
<u>DVPNGDISL</u>	SEQ ID NO: 97
<u>VPNGDISLA</u>	SEQ ID NO: 98
<u>PNGDISLAY</u>	SEQ ID NO: 99
<u>NGDISLAYG</u>	SEQ ID NO: 100
<u>GDISLAYGL</u>	SEQ ID NO: 101
<u>DISLAYGLR</u>	SEQ ID NO: 102
<u>ISLAYGLRS</u>	SEQ ID NO: 103
xx. <u>Пептиды из 8 аминокислот:</u>	
<u>VDVPNGDI</u>	SEQ ID NO: 104
<u>DVPNGDIS</u>	SEQ ID NO: 105
<u>VPNGDISL</u>	SEQ ID NO: 106
<u>PNGDISLA</u>	SEQ ID NO: 107
<u>NGDISLAY</u>	SEQ ID NO: 108
<u>GDISLAYG</u>	SEQ ID NO: 109
<u>DISLAYGL</u>	SEQ ID NO: 110
<u>ISLAYGLR</u>	SEQ ID NO: 111
xxi. <u>Пептиды из 7 аминокислот:</u>	
<u>VDVPNGD</u>	SEQ ID NO: 112
<u>DVPNGDI</u>	SEQ ID NO: 113
<u>VPNGDIS</u>	SEQ ID NO: 114
<u>PNGDISL</u>	SEQ ID NO: 115
<u>NGDISLA</u>	SEQ ID NO: 116
<u>GDISLAY</u>	SEQ ID NO: 117
<u>DISLAYG</u>	SEQ ID NO: 118
<u>ISLAYGL</u>	SEQ ID NO: 119
xxii. <u>Пептиды из 6 аминокислот:</u>	
<u>DVPNGD</u>	SEQ ID NO: 120
<u>VPNGDI</u>	SEQ ID NO: 121

PNGDIS	SEQ ID NO: 122
NGDISL	SEQ ID NO: 123
GDISLA	SEQ ID NO: 124
DISLAY	SEQ ID NO: 125
ISLAYG	SEQ ID NO: 126
xxiii. <u>Пептиды из 5 аминокислот:</u>	
VPNGD	SEQ ID NO: 127
PNGDI	SEQ ID NO: 128
NGDIS	SEQ ID NO: 129
GDISL	SEQ ID NO: 130
DISLA	SEQ ID NO: 131
ISLAY	SEQ ID NO: 132
SLAYG	SEQ ID NO: 133
xxiv. <u>Пептиды из 16 аминокислот:</u>	
KPLAEIDSIELSYGIK	SEQ ID NO: 136
GDPNDGRGDSVVYGLR	SEQ ID NO: 137
xxv. <u>Пептиды из 15 аминокислот:</u>	
VDTYDGGISVVYGLR	SEQ ID NO: 138
VDTYDGDGSVVYGLR	SEQ ID NO: 139
xxvi. <u>Пептиды из 16 аминокислот:</u>	
KCLAECDSIELSYGIK	SEQ ID NO: 141
xxvii. <u>Пептиды из 8 аминокислот:</u>	
CLAEIDSC	SEQ ID NO: 142
xxviii. <u>Пептиды из 18 аминокислот:</u>	
CFKPLAEIDSIECSYGIK	SEQ ID NO: 143
xxix. <u>Пептиды из 16 аминокислот:</u>	
KPLAEDISIELSYGIK	SEQ ID NO: 144
KPLAEISDIELSYGIK	SEQ ID NO: 145
KPLAEIGDIELSYGIK	SEQ ID NO: 146
xxx. <u>Пептиды из 15 аминокислот:</u>	
KPLAEGDIELSYGIK	SEQ ID NO: 147
xxxi. <u>Пептиды из 13 аминокислот:</u>	
KPLAEIELSYGIK	SEQ ID NO: 148
xxxii. <u>Пептиды из 16 аминокислот:</u>	

KPLAEIDSIELTYGIK	SEQ ID NO: 149
KPLAEIDGIELSYGIK	SEQ ID NO: 150
KPLAEIDGIELTYGIK	SEQ ID NO: 151
KPLAEIGSIELSYGIK	SEQ ID NO: 152
KGLAEIDSIELSYGIK	SEQ ID NO: 153
KPLAGIDSIGLSYGIK	SEQ ID NO: 154
KCLAEIDSCELSYGIK	SEQ ID NO: 155
xxxiii. <u>Пептиды из 13 аминокислот:</u>	
CFKPLAEIDSIEC	SEQ ID NO: 156
xxxiv. <u>Пептиды из 15 аминокислот:</u>	
VDVPEGDISLAYGLR	SEQ ID NO: 157
LDGLVRAYDNISPVG	SEQ ID NO: 158
xxxv. <u>Пептиды из 14 аминокислот:</u>	
GDPNGDISVVYGLR	SEQ ID NO: 159
xxxvi. <u>Пептиды из 15 аминокислот:</u>	
VDVPNGDISLAYRLR	SEQ ID NO: 160
VDVPEGDISLAYRLR	SEQ ID NO: 161
V(бета-D)TYDGDISVVYGLR	SEQ ID NO: 162
VDTY(бета-D)GDISVVYGLR	SEQ ID NO: 163
VDTYDG(бета-D)ISVVYGLR	SEQ ID NO: 164

Согласно одному варианту осуществления указанный пептид происходит от остеопонтина, такого как вариант и/или фрагмент остеопонтина млекопитающего.

Согласно одному варианту осуществления указанный пептид не встречается в природе, например, пептид, содержащий непротеиногенные аминокислотные остатки.

Согласно некоторым вариантам осуществления указанный пептид дополнительно конъюгирован с фрагментом, который может быть выбран из группы, состоящей из ПЭГ, моносахаридов, флуорофоров, хромофоров, радиоактивных соединений и проникающих в клетки пептидов. Согласно одному варианту осуществления флуорофор выбран из группы, состоящей из люцифера желтого, биотина, 5,6-карбоксилтетраметилродамина (TAMRA), индодикарбоцианина (C5), Alexa Fluor® 488, Alexa Fluor® 532, Alexa Fluor® 647, ATTO 488, ATTO 532, 6-карбоксифлуоресцеина (6-FAM), Alexa Fluor® 350, DY-415, ATTO 425, ATTO 465, Bodipy® FL, изотиоцианат флуоресцеина, Oregon Green® 488, Oregon Green® 514, Rhodamine Green™, 5'-тетрахлор-флуоресцеина, ATTO 520, 6-карбокси-4',5'-дихлор-2',7'-диметоксифлуоресцеина, красителей Yakima Yellow™, Bodipy® 530/550,

гексахлорфлуоресцеина, Alexa Fluor® 555, DY-549, Bodipy® TMR-X, цианиновых фосфорамидитов (цианин 3, цианин 3.5, цианин 5, цианин 5.5, цианин 7.5), ATTO 550, Rhodamine Red™, ATTO 565, карбокси-X-родамина, тexasского красного (хлорид кислоты сульфородамина 101), LightCycler® Red 610, ATTO 594, DY-480-XL, DY-610, ATTO 610, LightCycler® Red 640, Bodipy 630/650, ATTO 633, Bodipy 650/665, ATTO 647N, DY-649, LightCycler® Red 670, ATTO 680, Light Cycler® Red 705, DY-682, ATTO 700, ATTO 740, DY-782, IRD 700, IRD 800, CAL Fluor® Gold 540 нм, CAL Fluor® Gold 522 нм, CAL Fluor® Gold 544 нм, CAL Fluor® Orange 560 нм, CAL Fluor® Orange 538 нм, CAL Fluor® Orange 559 нм, CAL Fluor® Red 590 нм, CAL Fluor® Red 569 нм, CAL Fluor® Red 591 нм, CAL Fluor® Red 610 нм, CAL Fluor® Red 590 нм, CAL Fluor® Red 610 нм, CAL Fluor® Red 635 нм, Quasar® 570 нм, Quasar® 548 нм, Quasar® 566 нм (Cy 3), Quasar® 670 нм, Quasar® 647 нм, Quasar® 670 нм, Quasar® 705 нм, Quasar® 690 нм, Quasar® 705 нм (Cy 5.5), красителей Pulsar® 650, красителей SuperRox®).

Согласно другому варианту осуществления указанный пептид дополнительно модифицирован, например, гликозилирован или посредством пегилирования, амидирования, этерификации, ацилирования, ацетилирования и/или алкилирования.

Согласно одному варианту осуществления указанный пептид содержит или состоит из tandemных повторов, которые могут содержать или состоять из аминокислотной последовательности любой одной или нескольких описанных в настоящем документе последовательностей.

Согласно одному варианту осуществления указанный пептид является циклическим. Циклическая структура может быть достигнута любым подходящим способом синтеза. Таким образом, гетеродетные связи могут включать в себя, без ограничения, образование через дисульфидные, цистеиновые, алкиленовые или сульфидные мостики.

Согласно дополнительному варианту осуществления пептид включает в себя или состоит из слияния. Например, пептид может содержать слияние аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 1 или 136.

Термин «слияние» пептида относится к аминокислотной последовательности, соответствующей, например, SEQ ID NO: 1 или 136 (или их фрагменту или варианту), слитой с любым другим пептидом. Например, указанный пептид может быть слит с полипептидом, таким как глутатион-S-трансфераза (GST) или белок А, чтобы облегчить очистку указанного пептида. Примеры таких слияний хорошо известны специалистам в настоящей области техники. Аналогичным образом, указанный пептид может быть слит с олигогистидиновой меткой, такой как His₆, или с эпитопом, распознаваемым антителом,

таким как хорошо известный эпитоп Мус-метка. Слияния с любым вариантом или производным указанного пептида также включены в объем настоящего изобретения.

Альтернативно, слитая часть может представлять собой липофильную молекулу или пептидный домен, который способен стимулировать клеточное поглощение полипептида, как известно специалистам в настоящей области техники.

Новые пептиды

Согласно одному варианту осуществления настоящее раскрытие относится к пептиду, содержащему или состоящему из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из KPLAEIDSIELSYGIK (SEQ ID NO: 136), GDPNDGRGDSVVYGLR (SEQ ID NO: 137), VDTYDGGISVVYGLR (SEQ ID NO: 138) и VDTYDGDGSVVYGLR (SEQ ID NO: 139), VDVPEGDISLAYGLR (SEQ ID NO: 157), LDGLVRAYDNISPVG (SEQ ID NO: 158), GDPNGDISVVYGLR (SEQ ID NO: 159), VDVPNGDISLAYRLR (SEQ ID NO: 160) VDVPEGDISLAYRLR (SEQ ID NO: 161) или их варианта или фрагмента.

Согласно другому варианту осуществления настоящее раскрытие относится к пептиду, содержащему или состоящему из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из KCLAECDIELSYGIK (SEQ ID NO: 141), CLAEIDSC (SEQ ID NO: 142), CFKPLAEIDSIECSYGIK (SEQ ID NO: 143), KPLAEDISIELSYGIK (SEQ ID NO: 145), KPLAEIGDIELSYGIK (SEQ ID NO: 146), KPLAEGDIELSYGIK (SEQ ID NO: 147), KPLAEIELSYGIK (SEQ ID NO: 148), KPLAEIDSIELTYGIK (SEQ ID NO: 149), KPLAEIDGIELSYGIK (SEQ ID NO: 150), KPLAEIDGIELTYGIK (SEQ ID NO: 151), KPLAEIGSIELSYGIK (SEQ ID NO: 152), KGLAEIDSIELSYGIK (SEQ ID NO: 153), KPLAGIDSIGLSYGIK (SEQ ID NO: 154), KCLAEIDSCELSYGIK (SEQ ID NO: 155) и CFKPLAEIDSIEC (SEQ ID NO: 156) или их варианта или фрагмента.

Согласно одному варианту осуществления настоящее раскрытие относится к средству, содержащему пептид, причем пептид содержит или состоит из аминокислотной последовательности KPLAEIDSIELSYGIK (SEQ ID NO: 136) или ее варианта или фрагмента.

Согласно одному варианту осуществления настоящее раскрытие относится к средству, содержащему пептид, причем пептид содержит или состоит из аминокислотной последовательности KPLAGIDSIGLSYGIK (SEQ ID NO: 154) или ее варианта или фрагмента.

Согласно одному варианту осуществления настоящее раскрытие относится к средству, содержащему пептид, причем пептид содержит или состоит из аминокислотной

последовательности KGLAEIDSIELSYGIK (SEQ ID NO: 153) или ее варианта или фрагмента.

Согласно одному варианту осуществления настоящее раскрытие относится к средству, содержащему пептид, причем пептид содержит или состоит из аминокислотной последовательности KCLAECDSELSYGIK (SEQ ID NO: 141) или ее варианта или фрагмента.

Согласно одному варианту осуществления настоящее раскрытие относится к средству, содержащему пептид, причем пептид содержит или состоит из аминокислотной последовательности KPLAEIDGIELTYGIK (SEQ ID NO: 151) или ее варианта или фрагмента.

Согласно одному варианту осуществления настоящее раскрытие относится к средству, содержащему пептид, причем пептид содержит или состоит из аминокислотной последовательности KPLAEIGSELSYGIK (SEQ ID NO: 152) или ее варианта или фрагмента.

Согласно одному варианту осуществления настоящее раскрытие относится к средству, содержащему пептид, причем пептид содержит или состоит из аминокислотной последовательности KPLAEIELSYGIK (SEQ ID NO: 148) или ее варианта или фрагмента.

Согласно одному варианту осуществления настоящее раскрытие относится к средству, содержащему:

b) пептид или аналог пептида, содержащий или состоящий из аминокислотной последовательности GDPNDGRGDSVVYGLR (SEQ ID NO: 137), VDTYDGGISVVYGLR (SEQ ID NO: 138) и VDTYDGDGSVVYGLR (SEQ ID NO: 139). VDVPEGDISLAYGLR (SEQ ID NO: 157), LDGLVRAYDNISPVG (SEQ ID NO: 158), GDPNGDISVVYGLR (SEQ ID NO: 159), VDVPNGDISLAYRLR (SEQ ID NO: 160), VDVPEGDISLAYRLR (SEQ ID NO: 161), V(бета-D)TYDGDISVVYGLR (SEQ ID NO: 167), VDTY(бета-D)GDISVVYGLR (SEQ ID NO: 168), VDTYDG(бета-D)ISVVYGLR (SEQ ID NO: 169);

b) полинуклеотид, кодирующий при экспрессии, пептид по а);

с) вектор, содержащий полинуклеотид по b); а также

d) клетку, содержащую полинуклеотид по b) или вектор по c).

Согласно некоторым вариантам осуществления указанный вариант содержит или состоит из последовательности, в которой любая одна аминокислота была изменена на другую протеиногенную или непротеиногенную аминокислоту, при условии, что изменено не более чем пять аминокислот, например, изменено не более чем 4 аминокислоты, например, не более чем 3 аминокислоты, например, не более чем 2 аминокислоты,

например, не более чем 1 аминокислота. Согласно некоторым вариантам осуществления одна или несколько аминокислот являются консервативно замещенными.

Согласно некоторым вариантам осуществления указанный пептид содержит или состоит из одной или нескольких дополнительных аминокислот, вставленных в N- и/или C-конец и/или внутри последовательности. Согласно одному варианту осуществления вставлены по меньшей мере 2 дополнительные аминокислоты, например, по меньшей мере 3, например, по меньшей мере 4, например, по меньшей мере 5, например, по меньшей мере 6, например, по меньшей мере 7, например, по меньшей мере 8, например, по меньшей мере 9, например, по меньшей мере 10, например, по меньшей мере 15 или, например, по меньшей мере 20 дополнительных аминокислот.

Согласно некоторым вариантам осуществления указанный пептид составляет в длину не более чем 85, например, не более чем 80, например, не более чем 75, например, не более чем 70, например, не более чем 65, например, не более чем 60, например, не более чем 55, например, не более чем 50, например, не более чем 45, например, не более чем 40 аминокислот, например, не более чем 35, например, не более чем 30, например, не более чем 28, например, не более чем 26, например, не более чем 24, например, не более чем 22, например, не более чем 20, например, не более чем 19, например, не более чем 18, например, не более чем 17, например, не более чем 16, например, не более чем 15, например, не более чем 14, например, не более чем 13, например, не более чем 12, например, не более чем 11, например, не более чем 10 аминокислот.

Согласно некоторым вариантам осуществления указанный пептид дополнительно конъюгирован с фрагментом, который может быть выбран из группы, состоящей из ПЭГ, моносахаридов, флуорофоров, хромофоров, радиоактивных соединений и проникающих в клетки пептидов.

Согласно одному варианту осуществления указанный пептид дополнительно модифицирован, например, гликозилирован или посредством пегилирования, амидирования, этерификации, ацилирования, ацетилирования и/или алкилирования.

Согласно некоторым вариантам осуществления указанный пептид содержит или состоит из тандемных повторов, которые могут содержать или состоять из аминокислотной последовательности любой одной или нескольких описанных в настоящем документе выше последовательностей.

Согласно одному варианту осуществления указанный пептид является циклическим. Циклическая структура может быть достигнута любым подходящим способом синтеза. Таким образом, гетеродетные связи могут включать в себя, без ограничения, образование через цистеиновый, дисульфидный, алкиленовый или сульфидный мостики.

Показания к применению

Средства по настоящему изобретению являются подходящими для применения при лечении эндокринных, связанных с питанием и метаболических заболеваний и нарушений.

Согласно одному варианту осуществления вскармливаемое, нуждающееся в лечении эндокринного заболевания, связанного с питанием заболевания и/или метаболического заболевания, представляет собой человека.

Согласно некоторым вариантам осуществления эндокринное заболевание, связанное с питанием заболевание и/или метаболическое заболевание выбрано из группы, состоящей из сахарного диабета, сахарного диабета 1 типа, сахарного диабета 2 типа, связанного с нарушением питания сахарного диабета, нарушений регуляции глюкозы и внутренней секреции поджелудочной железы, синдрома инсулинорезистентности, нарушения толерантности к глюкозе, гипергликемии, гиперинсулинемии и любых их комбинаций.

Согласно некоторым вариантам осуществления эндокринное заболевание, связанное с питанием заболевание и/или метаболическое заболевание выбрано из группы, состоящей из сахарного диабета, нарушений щитовидной железы, нарушений регуляции глюкозы и внутренней секреции поджелудочной железы, нарушений эндокринных желез, нарушений питания, дефицита питательных веществ, ожирения, гипералиментации и нарушения обмена веществ.

Согласно одному варианту осуществления сахарный диабет выбран из группы, состоящей из сахарного диабета 1 типа, сахарного диабета 2 типа, связанного с недостаточностью питания сахарного диабета, уточненного сахарного диабета и неуточненного сахарного диабета.

Согласно одному варианту осуществления нарушения регуляции глюкозы и внутренней секреции поджелудочной железы выбраны из группы, состоящей из недиабетической гипогликемической комы и нарушений внутренней секреции поджелудочной железы.

Согласно одному варианту осуществления такие нарушения, как ожирение и гипералиментация выбраны из группы, состоящей из локализованного ожирения, гипералиментации и последствий гипералиментации.

Согласно одному варианту осуществления нарушения в виде дефицита питательных веществ выбраны из группы, состоящей из нарушений метаболизма ароматических аминокислот, нарушений метаболизма аминокислот с разветвленной цепью и метаболизма жирных кислот, нарушений метаболизма аминокислот, непереносимости лактозы, нарушений метаболизма углеводов, нарушения метаболизма сфинголипидов, нарушения

накопления липидов, нарушения метаболизма гликозаминогликанов, нарушений метаболизма гликопротеинов, нарушений метаболизма липопротеинов, липидемии, нарушений метаболизма пуринов и пиримидинов, нарушений метаболизма порфирина и билирубина, нарушений метаболизма минералов, муковисцидоза, амилоидоза, уменьшения объема межклеточной жидкости, нарушений жидкостного, электролитного и кислотно-щелочного баланса, а также постпроцедурных эндокринных и метаболических нарушений.

Композиции

Согласно одному аспекту настоящее раскрытие относится к композиции, содержащей описанное в настоящем документе средство.

Согласно одному аспекту настоящее раскрытие относится к средству, выбранному из группы, состоящей из:

а) пептида или аналога пептида, выбранного из группы, состоящей из

(i) пептида, содержащего или состоящего из аминокислотной последовательности общей формулы:

$KX_2LAX_5X_6X_7X_8IX_{10}LX_{12}YGIK$ (SEQ ID NO: 140),

где:

X_2 представляет собой C, P или G;

X_5 представляет собой E или G;

X_6 представляет собой C, D или I;

X_7 представляет собой D, I, S или G;

X_8 представляет собой S, D или G;

X_{10} представляет собой E или G;

X_{12} представляет собой S или T

при условии, что если X_{12} представляет собой T, пептид содержит не более чем 25 аминокислотных остатков; а также

(ii) пептида, содержащего или состоящего из аминокислотной последовательности общей формулы:

$VDZ_3Z_4Z_5GZ_7Z_8SZ_{10}Z_{11}YGLR$ (SEQ ID NO: 68),

где:

Z_3 представляет собой T или V;

Z_4 представляет собой Y или P;

Z_5 представляет собой D или N;

Z_7 представляет собой D или G;

Z_8 представляет собой I или G;

Z₁₀ представляет собой V или L;

Z₁₁ представляет собой V или A; а также

(iii) пептида, содержащего или состоящего из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из KCLAECDSIELSYGIK (SEQ ID NO: 141), CLAEIDSC (SEQ ID NO: 142), CFKPLAEIDSIECSYGIK (SEQ ID NO: 143), KPLAEIELSYGIK (SEQ ID NO: 148), KCLAEIDSCIELSYGIK (SEQ ID NO: 155) и CFKPLAEIDSIEC (SEQ ID NO: 156);

b) полинуклеотида, кодирующего при экспрессии, пептид по а);

c) вектора, содержащего полинуклеотид по b); а также

d) клетки, содержащей полинуклеотид по b) или вектор по c);

для применения при лечении эндокринного заболевания, связанного с питанием заболевания и/или метаболического заболевания у млекопитающего.

Согласно одному аспекту настоящее раскрытие относится к композиции для применения при лечении эндокринного заболевания, связанного с питанием заболевания и/или метаболического заболевания, содержащей описанное в настоящем документе средство. Согласно одному варианту осуществления указанная композиция представляет собой фармацевтическую композицию.

Согласно одному варианту осуществления средство дополнительно содержит второй активный ингредиент. Указанный второй активный ингредиент может быть выбран из группы, состоящей из инсулина, глюкагоноподобного пептида-1 (GLP-1), бигуанидов, соединений форсколина, сульфонилмочевины, ингибитора дипептидилпептидазы-4 (DPP4), ингибитора альфа-глюкозидазы, тиазолидиндиона, меглитидина и ингибитора котранспортера-2 натрия-глюкозы (SGLT2).

Другие способы

Согласно одному аспекту настоящее раскрытие относится к способу лечения эндокринного заболевания, связанного с питанием заболевания и/или метаболического заболевания, причем способ предусматривает введение описанного в настоящем документе средства нуждающемуся в этом субъекту.

Согласно одному аспекту настоящее раскрытие относится к применению средства для производства лекарственного средства для применения при лечении эндокринного заболевания, связанного с питанием заболевания и/или метаболического заболевания у млекопитающего.

Согласно одному аспекту настоящее раскрытие относится к полинуклеотиду, кодирующему при экспрессии описанный в настоящем документе пептид. Согласно одному аспекту настоящее раскрытие относится к вектору, содержащему указанный

полинуклеотид, кодирующий при экспрессии описанный в настоящем документе пептид. Согласно одному аспекту настоящее раскрытие относится к клетке, содержащей указанный полинуклеотид или указанный вектор, кодирующий при экспрессии описанный в настоящем документе пептид.

Согласно одному аспекту настоящее раскрытие относится к способу увеличения секреции инсулина, предусматривающему введение терапевтически эффективного количества описанного в настоящем документе пептида нуждающемуся в этом индивидууму. Согласно одному варианту осуществления указанный способ представляет собой способ *in vitro*.

Согласно одному аспекту настоящее раскрытие относится к способу снижения содержания глюкозы в крови, предусматривающему введение терапевтически эффективного количества описанного в настоящем документе пептида нуждающемуся в этом индивидууму. Согласно одному варианту осуществления указанный способ представляет собой способ *in vitro*. Согласно одному варианту осуществления секреция инсулина увеличивается. Согласно другому варианту осуществления клеточное поглощение глюкозы увеличивается. Согласно еще одному варианту осуществления производство инсулина увеличивается. Согласно другому варианту осуществления производство глюкагона уменьшается.

Согласно одному аспекту настоящее раскрытие относится к способу, например, способу *in vitro*, улучшения морфологии β -клеток, предусматривающему введение терапевтически эффективного количества описанного в настоящем документе пептида нуждающемуся в этом индивидууму.

Согласно одному аспекту настоящее раскрытие относится к способу улучшения жизнеспособности β -клеток, предусматривающему введение терапевтически эффективного количества описанного в настоящем документе пептида нуждающемуся в этом индивидууму.

Согласно одному аспекту настоящее раскрытие относится к способу задержки начала сахарного диабета и связанных с сахарным диабетом нарушений и заболеваний, причем способ предусматривает введение терапевтически эффективного количества описанного в настоящем документе пептида нуждающемуся в этом индивидууму.

Согласно одному варианту осуществления настоящего раскрытия средство может дополнительно содержать обнаруживаемый фрагмент. Например, обнаруживаемый фрагмент может содержать или состоять из радиоизотопа, такого как радиоизотоп, выбранный из группы, состоящей из ^{99m}Tc , ^{111}In , ^{67}Ga , ^{68}Ga , ^{72}As , ^{89}Zr , ^{123}I и ^{201}Tl . Связывающие фрагменты, таким образом, могут быть связаны с наночастицами, которые

обладают способностью к множественной визуализации (например, SPECT, PET, MRI, Optical или Ultrasound). Альтернативно, обнаруживаемый фрагмент может содержать или состоять из парамагнитного изотопа, такого как парамагнитный изотоп, выбранный из группы, состоящей из ^{157}Gd , ^{55}Mn , ^{162}Dy , ^{52}Cr и ^{56}Fe .

В случае, когда средство содержит обнаруживаемый фрагмент, тогда обнаруживаемый фрагмент может быть обнаружен с помощью технологии визуализации, такой как SPECT, PET, MRI, оптическая или ультразвуковая визуализация.

Согласно одному аспекту настоящее раскрытие относится к применению описанного в настоящем документе средства для приготовления диагностической композиции для диагностики заболевания, нарушения или повреждения поджелудочной железы у индивидуума.

Объекты

1. Средство, содержащее:

а) пептид, причем пептид или аналог пептида содержит аминокислотную последовательность общей формулы:

$\text{KX}_2\text{LAX}_5\text{X}_6\text{X}_7\text{X}_8\text{IX}_{10}\text{LX}_{12}\text{YGIK}$ (SEQ ID NO: 140),

где:

X_2 представляет собой C, P или G;

X_5 представляет собой E или G;

X_6 представляет собой C, D или I;

X_7 представляет собой D, I, S или G;

X_8 представляет собой S, D или G;

X_{10} представляет собой E или G;

X_{12} представляет собой S или T;

при условии, что если X_{12} представляет собой T, пептид содержит не более чем 25 аминокислотных остатков; а также

при условии, что если X_2 представляет собой P, X_5 представляет собой E, X_6 представляет собой I, X_7 представляет собой D, X_8 представляет собой S, X_{10} представляет собой E и X_{12} представляет собой S, пептид содержит не более чем 85 аминокислотных остатков;

или биологически активный фрагмент и/или вариант SEQ ID NO: 140;

б) полинуклеотид, кодирующий при экспрессии, пептид по а);

с) вектор, содержащий полинуклеотид по б); а также

д) клетку, содержащую полинуклеотид по б) или вектор по с).

2. Средство, содержащее пептид, причем пептид содержит аминокислотную последовательность общей формулы:

VDVPZ₅GDISLAYZ₁₃LR (SEQ ID NO: 164),

где:

Z₅ представляет собой E или N;

Z₁₃ представляет собой R или G.

3. Средство, содержащее пептид, причем пептид содержит аминокислотную последовательность общей формулы:

VDTYDGZ₇Z₈SVVYGLR (SEQ ID NO: 165),

где:

Z₇ представляет собой D или G;

Z₈ представляет собой I или G.

4. Средство, содержащее пептид, причем пептид содержит аминокислотную последовательность общей формулы:

GDPNZ₅Z₆Z₇Z₈Z₉SVVYGLR (SEQ ID NO: 166),

где:

Z₅ представляет собой D или G;

Z₆ представляет собой D или G

Z₇ представляет собой I или R;

Z₈ представляет собой G или отсутствует;

Z₉ представляет собой D или отсутствует.

5. Средство по пп. 2-4, причем средство содержит:

а) пептид, причем пептид содержит или состоит из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из GDPNDGRGDSVVYGLR (SEQ ID NO: 137), VDTYDGGISVVYGLR (SEQ ID NO: 138) и VDTYDGDGSVVYGLR (SEQ ID NO: 139). VDVPEGDISLAYGLR (SEQ ID NO: 157), LDGLVRAYDNISPG (SEQ ID NO: 158), GDPNGDISVVYGLR (SEQ ID NO: 159), VDVPNGDISLAYRLR (SEQ ID NO: 160), VDVPEGDISLAYRLR (SEQ ID NO: 161);

b) полинуклеотид, кодирующий при экспрессии, пептид по а);

c) вектор, содержащий полинуклеотид по b); а также

d) клетку, содержащую полинуклеотид по b) или вектор по c).

6. Средство по п. 1, в котором пептид содержит или состоит из аминокислотной последовательности общей формулы:

KX₂LAX₅X₆X₇X₈IX₁₀LSYGIK (SEQ ID NO: 162),

где:

X₂ представляет собой C, P или G;

X₅ представляет собой E или G;

X₆ представляет собой C, I или отсутствует;

X₇ представляет собой D, G или отсутствует;

X₈ представляет собой S, G или отсутствует;

X₁₀ представляет собой E или G.

7. Средство по п. 6, в котором пептид содержит аминокислотную последовательность общей формулы:

KX₂LAX₅IX₁₀LSYGIK (SEQ ID NO: 163),

где:

X₂ представляет собой C, P или G;

X₅ представляет собой E или G;

X₁₀ представляет собой E или G.

8. Средство, содержащее:

а) пептид или аналог пептида, содержащий или состоящий из аминокислотной последовательности GDPNDGRGDSVVYGLR (SEQ ID NO: 137), VDTYDGGISVVYGLR (SEQ ID NO: 138) и VDTYDGDGSVVYGLR (SEQ ID NO: 139). VDVPEGDISLAYGLR (SEQ ID NO: 157), LDGLVRAYDNISPVG (SEQ ID NO: 158), GDPNGDISVVYGLR (SEQ ID NO: 159), VDVPNGDISLAYRLR (SEQ ID NO: 160), VDVPEGDISLAYRLR (SEQ ID NO: 161), V(бета-D)TYDGDISVVYGLR (SEQ ID NO: 167), VDTY(бета-D)GDISVVYGLR (SEQ ID NO: 168), VDTYDG(бета-D)ISVVYGLR (SEQ ID NO: 169);

б) полинуклеотид, кодирующий при экспрессии, пептид по а);

с) вектор, содержащий полинуклеотид по б); а также

д) клетку, содержащую полинуклеотид по б) или вектор по с).

9. Средство по любому из предшествующих пунктов, причем средство содержит не встречающиеся в природе, например, непротеиногенные, аминокислотные остатки.

10. Средство по любому из предшествующих пунктов, причем средство конъюгировано с фрагментом.

11. Средство по любому из предшествующих пунктов, в котором фрагмент выбран из группы, состоящей из полиэтиленгликоля (ПЭГ), моносахаридов, флуорофоров, хромофоров, радиоактивных соединений и проникающих в клетку пептидов.

12. Средство по любому из предшествующих пунктов, причем средство дополнительно модифицировано, например, гликозилировано или посредством пегилирования, амидирования, этерификации, ацилирования, ацетилирования и/или алкилирования.

13. Средство по любому из предшествующих пунктов, причем средство содержит или состоит из тандемных повторов.

14. Средство по любому из предшествующих пунктов, в котором тандемные повторы содержат или состоят из аминокислотной последовательности любой одной или нескольких последовательностей, как описано в предыдущих пунктах.

15. Средство по любому из предшествующих пунктов, причем средство слито с другим полипептидом.

16. Средство по любому из предшествующих пунктов, причем указанный полипептид выбран из группы, состоящей из глутатион-S-трансферазы (GST) и белка A.

17. Средство по любому из предшествующих пунктов, причем средство слито с меткой.

18. Средство по любому из предшествующих пунктов, причем указанная метка представляет собой олигогистидиновую метку.

19. Средство по любому из предшествующих пунктов, причем средство является циклическим, например, причем пептид является циклическим.

20. Средство по любому из предшествующих пунктов, в котором пептид или аналог пептида способен образовывать по меньшей мере один внутримолекулярный цистеиновый мостик, например, с образованием циклического или частично циклического пептида.

21. Средство по любому из предшествующих пунктов, в котором пептид или аналог пептида содержит или состоит из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из KCLAECDSIELSYGIK (SEQ ID NO: 141), CLAEIDSC (SEQ ID NO: 142), CFKPLAEIDSIECSYGIK (SEQ ID NO: 143), KPLAEDISIELSYGIK (SEQ ID NO: 145), KPLAEIGDIELSYGIK (SEQ ID NO: 146), KPLAEGDIELSYGIK (SEQ ID NO: 147), KPLAEIELSYGIK (SEQ ID NO: 148), KPLAEIDSIELTYGIK (SEQ ID NO: 149), KPLAEIDGIELSYGIK (SEQ ID NO: 150), KPLAEIDGIELTYGIK (SEQ ID NO: 151), KPLAEIGSIELSYGIK (SEQ ID NO: 152), KGLAEIDSIELSYGIK (SEQ ID NO: 153), KPLAGIDSIGLSYGIK (SEQ ID NO: 154), KCLAEIDSCIELSYGIK (SEQ ID NO: 155) и CFKPLAEIDSIEC (SEQ ID NO: 156) или их варианта или фрагмента.

22. Средство по любому из предшествующих пунктов, в котором пептид или аналог пептида содержит или состоит из аминокислотной последовательности KPLAEIDSIELSYGIK (SEQ ID NO: 136) или ее варианта или фрагмента.

23. Средство по любому из предшествующих пунктов, в котором пептид или аналог пептида содержит или состоит из аминокислотной последовательности KPLAGIDSIGLSYGIK (SEQ ID NO: 154) или ее варианта или фрагмента.

24. Средство по любому из предшествующих пунктов, в котором пептид или аналог пептида содержит или состоит из аминокислотной последовательности KGLAEIDSIELSYGIK (SEQ ID NO: 153) или ее варианта или фрагмента.

25. Средство по любому из предшествующих пунктов, в котором пептид или аналог пептида содержит или состоит из аминокислотной последовательности KCLAECDSIELSYGIK (SEQ ID NO: 141) или ее варианта или фрагмента.

26. Средство по любому из предшествующих пунктов, в котором пептид или аналог пептида содержит или состоит из аминокислотной последовательности KPLAEIDGIELTYGIK (SEQ ID NO: 151) или ее варианта или фрагмента.

27. Средство по любому из предшествующих пунктов, в котором пептид или аналог пептида содержит или состоит из аминокислотной последовательности KPLAEIGSIELSYGIK (SEQ ID NO: 152) или ее варианта или фрагмента.

28. Средство по любому из предшествующих пунктов, в котором пептид или аналог пептида содержит или состоит из аминокислотной последовательности KPLAEIELSYGIK (SEQ ID NO: 148) или ее варианта или фрагмента.

29. Средство по любому из предшествующих пунктов, в котором вариант содержит или состоит из последовательности, в которой любая одна аминокислота была заменена на другую протеиногенную или непротеиногенную аминокислоту, при условии, что не более чем пять аминокислот изменены таким образом.

30. Средство по любому из предшествующих пунктов, в котором вариант содержит или состоит из последовательности, в которой не более чем пять аминокислот заменено на другую протеиногенную или непротеиногенную аминокислоту, например, заменены не более чем 4 аминокислоты, например, не более чем 3 аминокислоты, например, не более чем 2 аминокислоты, например, не более чем 1 аминокислота.

31. Средство по любому из предшествующих пунктов, в котором одна или несколько аминокислот являются консервативно замещенными.

32. Средство по любому из предшествующих пунктов, в котором пептид или аналог пептида содержит или состоит из одной или нескольких дополнительных аминокислот, вставленных на N- и/или C-конце и/или внутри последовательности.

33. Средство по любому из предшествующих пунктов, в котором пептид или аналог пептида содержит 1 дополнительную аминокислоту, конъюгированную с N- или C-концом.

34. Средство по любому из предшествующих пунктов, в котором средство содержит не более чем 85, например, не более чем 80, например, не более чем 75, например, не более чем 70, например, не более чем 65, например, не более чем 60, например, не более чем 55, например, не более чем 50, например, не более чем 55, например, не более чем 40 аминокислот, например, не более чем 35, например, не более чем 30, например, не более чем 28, например, не более чем 26, например, не более чем 24, например, не более чем 22,

например, не более чем 20, например, не более чем 19, например, не более чем 18, например, не более чем 17, например, не более чем 16, например, не более чем 15, например, не более чем 14, например, не более чем 13, например, не более чем 12, например, не более чем 11, например, не более чем 10 аминокислот.

35. Средство по любому из предшествующих пунктов, причем средство содержит по меньшей мере 2 дополнительные аминокислоты, например, по меньшей мере 3, например, по меньшей мере 4, например, по меньшей мере 5, например, по меньшей мере 6, например, по меньшей мере 7, например, по меньшей мере 8, например, по меньшей мере 9, например, по меньшей мере 10, например, по меньшей мере 15 или, например, по меньшей мере 20 аминокислот, конъюгированных с N- или C-концом пептида.

36. Средство по любому из предшествующих пунктов, причем средство дополнительно содержит обнаруживаемый фрагмент.

37. Средство по любому из предшествующих пунктов, в котором обнаруживаемый фрагмент содержит или состоит из радиоизотопа.

38. Средство по любому из предшествующих пунктов, в котором радиоизотоп выбран из группы, состоящей из ^{99m}Tc , ^{111}In , ^{67}Ga , ^{68}Ga , ^{72}As , ^{89}Zr , ^{123}I и ^{201}Tl .

39. Средство по любому из предшествующих пунктов, в котором обнаруживаемый фрагмент обнаруживается с помощью технологии визуализации, такой как SPECT, PET, MRI, оптическая или ультразвуковая визуализация.

40. Применение средства по любому из предшествующих пунктов для приготовления диагностической композиции для диагностики заболевания, нарушения или повреждения поджелудочной железы у индивидуума.

41. Композиция, содержащая средство по любому из предшествующих пунктов.

42. Композиция по любому из предшествующих пунктов, причем композиция представляет собой фармацевтическую композицию.

43. Средство или композиция по любому из предшествующих пунктов для применения в качестве лекарственного средства.

44. Средство, выбранное из группы, состоящей из:

а) пептида, выбранного из группы, состоящей из

(i) пептида, содержащего или состоящего из аминокислотной последовательности общей формулы:

$KX_2LAX_5X_6X_7X_8IX_{10}LX_{12}YGIK$ (SEQ ID NO: 140),

где:

X_2 представляет собой C, P или G;

X_5 представляет собой E или G;

X_6 представляет собой C, D или I;

X_7 представляет собой D, I, S или G;

X_8 представляет собой S, D или G;

X_{10} представляет собой E или G;

X_{12} представляет собой S или T;

при условии, что если X_{12} представляет собой T, пептид содержит не более чем 25 аминокислотных остатков;

или биологически активного фрагмента и/или варианта SEQ ID NO: 140;

(ii) пептида, содержащего или состоящего из аминокислотной последовательности общей формулы:

$VDZ_3Z_4Z_5GZ_7Z_8SZ_{10}Z_{11}YGLR$ (SEQ ID NO: 68),

где:

Z_3 представляет собой T или V;

Z_4 представляет собой Y или P;

Z_5 представляет собой D или N;

Z_7 представляет собой D или G;

Z_8 представляет собой I или G;

Z_{10} представляет собой V или L;

Z_{11} представляет собой V или A; а также

b) полинуклеотида, кодирующего при экспрессии, пептид по а);

c) вектора, содержащего полинуклеотид по b); а также

d) клетку, содержащую полинуклеотид по b) или вектор по c);

для применения при лечении эндокринного заболевания, связанного с питанием заболевания и/или метаболического заболевания у млекопитающего.

45. Средство или композиция для применения по п. 44, причем пептид содержит или состоит из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из KCLAECDSIELSYGIK (SEQ ID NO: 141), CLAEIDSC (SEQ ID NO: 142), CFKPLAEIDSIECSYGIK (SEQ ID NO: 143), KPLAEIELSYGIK (SEQ ID NO: 148), KCLAEIDSCIELSYGIK (SEQ ID NO: 155) и CFKPLAEIDSIEC (SEQ ID NO: 156);

46. Средство или композиция для применения по любому из предшествующих пунктов, причем пептид выбран из группы, состоящей из SEQ ID NO: 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155 и 156.

47. Средство или композиция для применения по любому из предшествующих пунктов, причем пептид выбран из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1, 136, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 67, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 135, 137, 138, 139, 157, 158, 159, 160, 161, 167, 168 и 169.

48. Средство или композиция для применения по любому из предшествующих пунктов, причем указанное средство содержит второй или дополнительный активный ингредиент.

49. Средство или композиция для применения по п. 43, причем второй или дополнительный активный ингредиент выбран из группы, состоящей из инсулина, глюкагоноподобного пептида-1 (GLP-1), сульфонилмочевины, дипептидил-пептидазы-4 (ингибитор DPP4), ингибитора альфа-глюкозидазы, ингибитора тиазолидиндиона, меглитидина и котранспортера-2 натрия-глюкозы (SGLT2).

50. Средство или композиция по любому из предшествующих пунктов для применения при лечении эндокринного заболевания, связанного с питанием заболевания и/или метаболического заболевания у млекопитающего.

51. Средство или композиция для применения по п. 45, причем млекопитающее представляет собой человека.

52. Средство или композиция для применения по любому из предшествующих пунктов, причем эндокринное заболевание, связанное с питанием заболевание и/или метаболическое заболевание выбраны из группы, состоящей из сахарного диабета, сахарного диабета 1 типа, сахарного диабета 2 типа, связанного с недоеданием сахарного диабета, нарушения регуляции глюкозы и внутренней секреции поджелудочной железы, синдрома резистентности к инсулину, нарушения толерантности к глюкозе, гипергликемии, гиперинсулинемии и любых их комбинаций.

53. Средство или композиция для применения по любому из предшествующих пунктов, причем эндокринное заболевание, связанное с питанием заболевание и/или метаболическое заболевание выбрано из группы, состоящей из сахарного диабета, нарушений щитовидной железы, нарушений регуляции глюкозы и внутренней секреции поджелудочной железы, нарушений желез внутренней секреции, недоедания, дефицита питательных веществ, ожирения, гипералиментации и метаболических нарушений.

54. Средство или композиция для применения по любому из предшествующих пунктов, причем сахарный диабет выбран из группы, состоящей из сахарного диабета 1 типа, сахарного диабета 2 типа, связанного с недоеданием сахарного диабета, уточненного сахарного диабета и неуточненного сахарного диабета.

55. Средство или композиция для применения по любому из предшествующих пунктов, причем нарушение регуляции глюкозы и внутренней секреции поджелудочной железы выбрано из группы, состоящей из недиабетической гипогликемической комы и нарушений внутренней секреции поджелудочной железы.

56. Средство или композиция для применения по любому из предшествующих пунктов, причем такое нарушение, как ожирение и гипералиментация, выбрано из группы, состоящей из локализованного ожирения, гипералиментации и последствий гипералиментации.

57. Средство или композиция для применения по любому из предшествующих пунктов, причем нарушение в виде дефицита питательных веществ выбрано из группы,

состоящей из нарушений метаболизма ароматических аминокислот, нарушений метаболизма аминокислот с разветвленной цепью и метаболизма жирных кислот, нарушений метаболизма аминокислот, непереносимости лактозы, нарушений метаболизма углеводов, нарушений метаболизма сфинголипидов, нарушений накопления липидов, нарушений метаболизма гликозаминогликанов, нарушений метаболизма гликопротеинов, нарушений метаболизма липопротеинов, липидемии, нарушений метаболизма пуринов и пиримидинов, нарушений метаболизма порфирина и билирубина, нарушений метаболизма минералов, муковисцидоза, амилоидоза, уменьшения объема межклеточной жидкости, нарушений жидкостного, электролитного и кислотно-щелочного баланса, а также постпроцедурных эндокринных и метаболических нарушений.

58. Способ лечения эндокринного заболевания, связанного с питанием заболевания и/или метаболического заболевания, причем способ предусматривает введение средства по любому из предшествующих пунктов нуждающемуся в этом субъекту.

59. Применение средства по любому из предшествующих пунктов для изготовления лекарственного средства для применения при лечении эндокринного заболевания, связанного с питанием заболевания и/или метаболического заболевания у млекопитающего.

60. Способ задержки начала сахарного диабета и связанных с сахарным диабетом нарушений и заболеваний, предусматривающий введение терапевтически эффективного количества определенного в любом из предыдущих пунктов средства нуждающемуся в этом индивидууму.

61. Способ снижения содержания глюкозы в крови, предусматривающий введение терапевтически эффективного количества средства по любому из предшествующих пунктов нуждающемуся в этом индивидууму.

62. Способ по п. 61, при котором секреция инсулина повышается.

63. Способ по п. 61, при котором клеточное поглощение глюкозы повышается.

64. Способ по п. 61, при котором выработка инсулина повышается.

65. Способ по п. 61, при котором производство глюкагона снижается.

66. Способ повышения жизнеспособности бета-клеток, предусматривающий введение терапевтически эффективного количества средства по любому из предшествующих пунктов нуждающемуся в этом индивидууму.

67. Способ улучшения морфологии бета-клеток, предусматривающий введение терапевтически эффективного количества средства по любому из предшествующих пунктов нуждающемуся в этом индивидууму.

68. Способ стабилизации или улучшения жизнеспособности и/или морфологии островков поджелудочной железы, предусматривающий введение терапевтически эффективного количества средства по любому из предшествующих пунктов нуждающемуся в этом индивидууму.

ПРИМЕРЫ

Раскрытие дополнительно иллюстрируется следующими примерами, которые, однако, не должны рассматриваться как ограничивающие настоящее раскрытие. Эти примеры демонстрируют, что иллюстративные пептиды по настоящему изобретению стимулируют пролиферацию β -клеток и обладают способностью защищать и спасать β -клетки от апоптоза, вызванного глюкотоксическими условиями. Также продемонстрировано, что иллюстративные пептиды обладают способностью стимулировать секрецию инсулина из β -клеток крысы, а также из выделенных островков поджелудочной железы мыши, где также показано, что пептиды снижают содержание глюкагона. Кроме того, примеры демонстрируют, что пептиды снижают содержание глюкозы в плазме *in vivo* в пробе на толерантность к глюкозе и что пептиды задерживают начало сахарного диабета типа 1 у крыс BB *lpr/lpr*.

Пример 1: Разработка пептидов

Новые пептиды разрабатывали после исследований рациональной структурной активности. Для FOL-005 (SEQ ID NO: 1) пептиды разрабатывали вокруг сайта RGD, но подвергали мутации для того, чтобы получить разные структуры, которые потенциально могут взаимодействовать с разными интегринами. Последовательность, сходную с FOL-005, идентифицировали в третьем повторном домене фибронектина типа III (TNfn3) в

тенасцине-С, и было обнаружено, что она достаточно похожа на мутированный сайт RGD FOL-005. Пептид разрабатывали из этой последовательности, обозначенной FOL-014. Анализировали рентгеновскую кристаллическую структуру домена тенасцина-3 TNfn3 (код PDB 1TEN, Leahy et al. (1992) Science 258(5084):987-91). Последовательность FOL-014 (SEQ ID NO: 136) охватывает предшествующий бета-оборот и весь третий бета-лист. Варианты FOL-014 разрабатывали для обеспечения структурной модификации и стабилизации трехмерной молекулярной структуры. В частности, варианты пептидов покрывали область бета-поворота с открытыми боковыми цепями и некоторые циклизированные варианты для сохранения геометрии.

Все пептиды синтезировали путем твердофазного пептидного синтеза с использованием нескольких производителей пептидов. Преимущественно, варианты пептидов были предоставлены Biopexide Inc., California.

Пример 2: FOL-005 и FOL-014 индуцировали пролиферацию клеток INS-1

Чтобы исследовать, могут ли FOL-005 и FOL-014 индуцировать пролиферацию β -клеток, авторы настоящего изобретения использовали клетки INS-1. Клетки INS-1 крысы высевали в 96-луночные планшеты в среду RPMI с добавкой и через 2 часа среду заменяли на RPMI без добавки. Во время эксперимента по пролиферации клетки инкубировали в различных исследуемых условиях (FOL-005, FOL-014, с покрытием или в растворе, 48-часовая инкубация), и в течение последних 20 часов периода культивирования к клеткам вводили [метил-3H]тимидин в дозе 1 мКи/лунку. Затем клетки собирали на фильтры из стекловолокна с использованием коллектора FilterMate. Фильтры сушили на воздухе, и связанную радиоактивность измеряли с использованием жидкостного сцинтилляционного счетчика. Чтобы исследовать, влияет ли FOL-005 на пролиферацию β -клеток, клетки INS-1 обрабатывали увеличивающимися количествами растворимого FOL-005 (0,06-6 мкМ) в течение 48 часов и измеряли пролиферацию с включением меченного радиоактивной меткой тимидина во вновь синтезированную ДНК. FOL-005 стимулировал пролиферацию клеток INS-1 (фиг. 1A). Лунки, покрытые либо FOL-005, либо FOL-014, а затем блокированные бычьим сывороточным альбумином (BSA) перед добавлением клеток INS-1, также стимулировали пролиферацию по сравнению с покрытыми контрольными (ctrl) лунками (фиг. 1B-C).

Это продемонстрировало, что FOL-005 и FOL-014 взаимодействовали с β -клетками и вызывали пролиферацию.

Пример 3: FOL-005 защищал β -клетки от глюкотоксичности

Поскольку глюкотоксичность в β -клетках поджелудочной железы является общепризнанным процессом при сахарном диабете 2 типа, авторы настоящего изобретения затем исследовали защитное действие FOL-005 на β -клетки во время глюкотоксических состояний. Сначала авторы настоящего изобретения подтвердили, что 20 мМ глюкоза индуцировала апоптоз клеток в клетках INS после 48 ч воздействия. Среда с высоким содержанием глюкозы (20 мМ), содержащая RPMI, индуцировала больше аннексин-V-позитивных клеток и большую активность каспазы-3 в клетках INS по сравнению с клетками, инкубированными со средой, содержащей глюкозу в концентрации 5 мМ (фиг. 2А-В). Воздействие на клетки INS-1 глюкозой в концентрации 20 мМ одновременно с FOL-005 уменьшало апоптоз клеток, что определялось с помощью как окрашивания аннексином V, так и активностью каспазы-3 (фиг. 2 А-В). Скорость апоптоза в клетках INS-1 измеряли либо с помощью набора для анализа каспазы-3, либо с помощью окрашивания посредством набора для определения апоптоза с аннексином V и 7-AAD. Активность каспазы-3 измеряли по флуоресценции при длине волны возбуждения 380 нм и длине волны излучения 440 нм. Затем активность каспазы-3 нормировали по концентрации белка в каждой лунке. Измерения окрашенных аннексином V клеток проводили с использованием проточного цитометра CyAn ADP и анализировали с помощью программного обеспечения Summit V4.3.

В заключение, хорошо известно, что глюкотоксичность индуцирует апоптоз β -клеток, однако в присутствии FOL-005 индуцированный глюкотоксичностью апоптоз уменьшался.

Пример 4: Индуцированная FOL-005 секреция инсулина из клеток INS-1

Чтобы исследовать стимулирующее действие FOL-005 на секрецию инсулина, в следующих экспериментах использовали β -клетки INS-1. Клетки высевали в течение ночи в cRPMI и затем промывали PBS перед предварительной инкубацией в течение 60 мин при температуре 37°C в бикарбонатном буфере Кребса-Рингера (KRB), pH 7,4, с добавлением 10 мМ HEPES, 0,1% бычьего сывороточного альбумина. После предварительной инкубации буфер заменяли, и клетки INS-1 инкубировали в различных исследуемых условиях (0 мМ, 5 мМ или 20 мМ глюкозы) и стимулировали пептидом FOL-005 или FOL-015 (SEQ ID NO: 158) или оставляли необработанными в течение 60 мин при температуре 37°C. Сразу же после инкубации аликвоту буфера удаляли и замораживали для последующего анализа инсулина с помощью набора для радиоиммуноанализа инсулина.

Результаты показали, что β -клетки, стимулированные пептидом FOL-005, секретировали больше инсулина по сравнению с нестимулированными контрольными

клетками или клетками, стимулированными контрольным пептидом FOL-015 (фиг. 3А), в условиях без глюкозы. β -клетки INS-1, подвергнутые воздействию глюкозы (5 мМ или 20 мМ), отвечали секрецией инсулина после стимуляции пептидом FOL-005 (6 мкМ) (фиг. 3В). Клетки INS-1, стимулированные пептидом FOL-005 в концентрации 6 мкМ в присутствии глюкозы в концентрации 20 мМ, отвечали большей секрецией инсулина по сравнению с клетками, стимулированными FOL-005, инкубированными с глюкозой в концентрации 5 мМ (фиг. 3В).

Пример 5: Индуцированная FOL-005 секреция инсулина из островков поджелудочной железы мыши

Островки поджелудочной железы мыши выделяли от самцов мышей C57BL/6J в возрасте 8 недель (Taconic). Мышей умерщвляли путем передозировки изофлурана и цервикальной дислокации. 3 мл коллагеназы Р в дозе 0,9 Ед/мл вводили в проток поджелудочной железы для раздувания поджелудочной железы. Затем поджелудочную железу удаляли и расщепляли коллаген в течение 19 минут при температуре 37°C. Образцы энергично встряхивали для разрушения ткани. Лизат переносили в ледяной сбалансированный солевой раствор Хенкса (HBSS) с Ca^{2+} и Mg^{2+} . Суспензии давали отстояться в течение 10 мин, чтобы дать островку опуститься, и островки промывали четыре раза в свежем HBSS. Затем островки собирали вручную и сортировали по размеру. Островки (n=3 на лунку в 96-луночной планшете) предварительно инкубировали в буфере KRB в течение 10 мин при температуре 37°C, pH 7,4, с добавлением 10 мМ HEPES, 0,1% бычьего сывороточного альбумина. После предварительной инкубации буфер заменяли и инкубировали островки при различных исследуемых условиях в новом буфере KRB с 0,1% бычьим сывороточным альбумином (необработанный контроль, пептид FOL-005 или GLP-1) в течение 60 минут при температуре 37°C. Сразу после инкубации аликвоту буфера удаляли и замораживали для последующего анализа инсулина.

Результаты показали, что выделенные островки поджелудочной железы мыши, стимулированные GLP-1 (100 нМ) или FOL-005 (6 мкМ), секретировали больше инсулина по сравнению с нестимулированными контрольными островками (фиг. 3С).

Пример 6: Индуцированная FOL-014 секреция инсулина из клеток INS-1

β -клетки INS-1 использовали для исследования стимулирующего действия FOL-014 на секрецию инсулина. Клетки высевали в течение ночи и затем промывали PBS перед предварительной инкубацией в течение 60 мин при температуре 37°C в бикарбонатном буфере Кребса-Рингера (KRB), pH 7,4, с добавлением 10 мМ HEPES, 0,1% бычьего

сывороточного альбумина. После предварительной инкубации буфер заменяли и клетки INS-1 инкубировали в новом буфере KRB с добавлением 10 mM HEPES, 0,1% бычьего сывороточного альбумина и стимулировали пептидом FOL-014 или оставляли необработанным в течение 60 минут при температуре 37°C. Сразу после инкубации аликвоту буфера удаляли и замораживали для последующего анализа инсулина.

Результаты показали, что β -клетки, стимулированные пептидом FOL-014, секретировали больше инсулина по сравнению с нестимулированными контрольными клетками (фиг. 4A).

Пример 7: Индуцированная FOL-014 секреция инсулина из островков поджелудочной железы мыши.

Островки поджелудочной железы мыши выделяли от самцов мышей C57BL/6J в возрасте 8 недель, как описано в примере 5. Затем островки собирали вручную и сортировали по размеру. Островки (n=5 на лунку в 96-луночной планшете) предварительно инкубировали в 200 мкл буфера KRB в течение 10 мин при температуре 37°C, pH 7,4, с добавлением 10 mM HEPES, 0,1% бычьего сывороточного альбумина. После предварительной инкубации буфер заменяли и островки инкубировали в различных исследуемых условиях в новом буфере KRB с 0,1% бычьим сывороточным альбумином (необработанный контроль, пептид FOL-014 и GLP-1) в течение 60 минут при температуре 37°C. Сразу после инкубации аликвоту буфера удаляли и замораживали для последующего анализа инсулина.

Результат показывает, что островки поджелудочной железы мыши, стимулированные FOL-014 (6 мкМ), выделяют больше инсулина по сравнению с нестимулированными контрольными островками (фиг. 4B). GLP-1 (100 нМ) или FOL-014 (0,6 мкМ) не влияли на секрецию инсулина (фиг. 4B).

Пример 8-11: Стимуляция секреции инсулина из клеточных линий INS-1 с помощью FOL-014, FOL-005 и родственных пептидов

Материалы и способы: β -клетки INS-1 крысы (пассажи 60–70) культивировали при температуре 37°C и 5% CO₂ в среде cRPMI (RPMI 1640 с добавлением 10% эмбриональной бычьей сыворотки, 50 МЕ/мл пенициллина, 50 мг/л стрептомицина, 10 mM HEPES, 2 mM L-глутамина, 1 mM пирувата натрия и 50 мкМ бета-меркаптоэтанола), если не указано иное. Клетки INS-1 высевали в 96-луночные планшеты (2×10³ клеток/лунку) в среду cRPMI и после инкубации в течение ночи клетки промывали в PBS перед предварительной инкубацией в течение 120 мин при температуре 37°C в бикарбонатном буфере Krebs-Ringer,

pH 7,4, дополненном HEPES в концентрации 10 mM, бычьим сывороточным альбумином в концентрации 0,1% и глюкозой в концентрации 2,8 mM. После предварительной инкубации буфер заменяли свежим буфером Кребса-Рингера, как описано выше, и в него добавляли конкретные концентрации глюкозы и пептиды для отдельных экспериментов, как описано ниже. Сразу же через 60 минут инкубации при температуре 37°C аликвоту буфера удаляли и замораживали для последующего анализа ELIZA на инсулин.

Пример 8: Индуцированная FOL-014 секреция инсулина зависит от дозы нелинейным образом

Высвобождение инсулина из клеток INS-1 измеряли после воздействия повышенных концентраций FOL-014 и сравнивали со стимулирующим действием GLP-1 и необработанного контроля во время высокой концентрации глюкозы (16,7 mM). Все концентрации исследуемого FOL-014 вызывали значительно более высокое выделение инсулина по сравнению с необработанным контролем. При 6 nM или выше FOL-014 запускает высвобождение инсулина в том же диапазоне, что и 100 mM GLP-1. При концентрациях от 0,6 до 60 nM секреция инсулина линейно возрастала по отношению к увеличению концентрации FOL-014. Воздействие концентраций FOL-014 ≥ 600 nM не увеличивало секрецию инсулина (фиг. 5).

Результаты показали, что FOL-014 значительно увеличивал секрецию инсулина из INS-1-клеток *in vitro* нелинейным зависимым от дозы образом.

Пример 9. Способность FOL-014 индуцировать секрецию инсулина зависит от глюкозы.

Высвобождение инсулина из клеток INS-1 измеряли после воздействия FOL-014 в концентрации 60 nM при повышении концентрации глюкозы. В необработанных контрольных образцах повышенные концентрации глюкозы увеличивали секрецию инсулина при содержании глюкозы 11,1 mM или выше. В присутствии FOL-014 секреция инсулина значительно повышалась в зависимости от глюкозы уже с концентрацией глюкозы 5,5 mM. (фиг. 6).

Результаты показали, что присутствие FOL-014 значительно увеличивало секрецию инсулина из INS-1-клеток *in vitro* зависимым от концентрации глюкозы образом и что FOL-014 был эффективен также при незначительно повышенном содержании глюкозы.

Пример 10. FOL-014 или FOL-005 в сочетании с GLP-1 увеличивали секрецию инсулина по сравнению с одним из пептидов.

Секрецию инсулина из клеток INS-1 измеряли после воздействия FOL-005, FOL-014, GLP-1 или их комбинаций, выраженных в процентах от необработанного контроля. Комбинированный эффект GLP-1 и FOL-014 приводил к значительно более высокому выделению инсулина, чем один GLP-1 или FOL-014. Аддитивный эффект комбинации FOL-005 и GLP-1 был менее выраженным, но, тем не менее, увеличивал секрецию инсулина по сравнению с одним GLP-1. Эксперименты проводили в присутствии глюкозы в концентрации 16,7 мМ (фиг. 7).

Результаты показали, что комбинация GLP-1 и FOL-014 может дополнительно усиливать секрецию инсулина из клеток INS-1 *in vitro* по сравнению с каждым отдельным пептидом. Кроме того, комбинация FOL-005 и GLP-1 характеризовалась тенденцией к увеличению секреции инсулина.

Пример 11. Исследование способности новых аналогов пептидов индуцировать секрецию инсулина в линиях β -клеток поджелудочной железы.

Новые аналоги пептидов, полученные из FOL-005 или FOL-014, исследовали на их способность индуцировать секрецию инсулина в двух отдельных клеточных линиях INS-1 в присутствии глюкозы в концентрации 16,7 мМ. FOL-005, FOL-014 и GLP-1, а также контроль с высоким содержанием глюкозы (16,7 мМ) и низким содержанием глюкозы (2,8 мМ) (не показан) включали в каждый эксперимент, и концентрация пептида составляла 100 нМ. Чтобы скорректировать дисперсию между экспериментами, все значения нормировали и выражали в процентах от среднего значения высокого содержания контроля глюкозы в отдельных экспериментах. Впоследствии аналоги ранжировали в соответствии с характеристиками (фиг. 11А и 11В). Аналоги пептидов, вызывающие инсулиновый ответ ниже среднего значения контрольного высокого содержания глюкозы, считались нефункциональными и, следовательно, были исключены (не показаны).

Результаты продемонстрировали способность нескольких новых аналогов пептидов усиливать секрецию инсулина из β -клеток INS-1 *in vitro*.

Пример 12. FOL-014 увеличивает секрецию инсулина из островков поджелудочной железы, полученных от мышей

Самцов мышей C57/bl6 в возрасте двенадцати недель подвергали эвтаназии изофлураном и цервикальной дислокацией. После зажатия печеночных протоков в желчный проток вводили 3 мл коллагеназы Р в дозе 0,9 Ед/мл для раздувания поджелудочной железы. Затем поджелудочную железу удаляли и расщепляли в течение 19 мин при температуре 37°C. Образцы энергично встряхивали для разрушения ткани. Лизат

быстро переносили в ледяной сбалансированный солевой раствор Хенкса с Ca^{2+} и Mg^{2+} . Суспензии давали отстояться в течение 8 мин, чтобы дать островку опуститься, и островки промывали одинаковым образом четыре раза. Затем островки собирали вручную и сортировали по размеру.

Свежевыделенные островки высевали группами по 5 в 96-луночный планшет и предварительно инкубировали в течение 1 часа при температуре 37°C в бикарбонатном буфере Кребса-Рингера (pH 7,4). Островки инкубировали в течение 1 ч при температуре 37°C в забуференном растворе Кребса-Рингера с добавлением FOL-014 в концентрации 0,6 или 6 мкМ или GLP-1 в концентрации 100 нМ или оставляли без добавок для контроля. Сразу после инкубации среду удаляли для анализа инсулина и глюкагона с использованием наборов ELISA от Mercodia. Влияние FOL-014 на секрецию инсулина (фиг. 8А и В) и глюкагона (фиг. 8С и D) из выделенных островков мыши измеряли в присутствии низкой концентрации глюкозы (2,8 мМ; фиг. 8А и С) или высокой концентрации глюкозы (16,7 мМ; фиг. 8В и D). Значительный эффект FOL-014 наблюдался в присутствии высокой концентрации глюкозы для инсулина и в присутствии как высокой, так и низкой концентрации глюкозы для глюкагона. Эффект FOL-014 отличается от эффекта GLP-1, который усиливает секрецию инсулина также в образцах с низким содержанием глюкозы, но не способен ингибировать секрецию глюкагона в условиях низкого содержания глюкозы.

Результаты показали, что FOL-014 усиливает секрецию инсулина и ингибирует секрецию глюкагона в островках поджелудочной железы.

Пример 13. FOL-014 снижал содержание глюкозы в плазме во внутрибрюшинной пробе на толерантность к глюкозе (IPGTT) у мышей

Цельную кровь собирали для измерения содержания глюкозы и инсулина у мышей C57bl/6 дикого типа в возрасте 10 недель. После 4-часового голодания мышей делили на три группы и делали внутрибрюшинную инъекцию (ip) физиологического раствора, пептида в дозе 30 нмоль/кг (фиг. 9А) или пептида в дозе 200 нмоль/кг (фиг. 9В). Через 15 минут после инъекции FOL-014 или физиологического раствора (контроль) мышам вводили 2 г глюкозы/кг внутрибрюшинно. Концентрации глюкозы в крови измеряли через 5, 15, 30, 45 и 60 минут после введения глюкозы. Статистические расчеты выполняли с использованием критерия Стьюдента. FOL-014, введенный в дозе 200 нмоль/кг, значительно снижал содержание глюкозы в плазме по сравнению с контролем при измерении как площадь под кривой. Кроме того, разница была значительной через 15, 30 и

45 минут. При дозе 30 нмоль/кг FOL-014 снижал содержание глюкозы в плазме со значительным эффектом через 45 минут после введения глюкозы.

Результаты показали, что FOL-014 может снижать содержание глюкозы в плазме в пробе на толерантность к глюкозе, проводимом на здоровых мышах дикого типа.

Пример 14. FOL-014 задерживал начало сахарного диабета типа 1 у крыс BB *lpr/lpr*

Крыс BB *lpr/lpr* рандомизировали для лечения плацебо (хлорид натрия, 9 мг/мл) или FOL-014 3 раза в неделю с 40-го дня до начала сахарного диабета 1 типа, определяемого как содержание глюкозы в плазме $\geq 11,1$ mM. Дозу 100 нмоль/кг пептида FOL-014 в физиологическом растворе или плацебо (физиологический раствор) вводили подкожно, и животных умерщвляли сразу после превышения критического содержания глюкозы в плазме. Разница между животными, получавшими FOL-014, и животными, получавшими лечение плацебо, была значимой как при выражении в виде среднего возраста начала сахарного диабета типа 1 (фиг. 10A), так и при описании в процентах от животных, у которых развился сахарный диабет типа 1, на день (фиг. 10B).

Результаты показали, что лечение FOL-014 значительно задерживало начало сахарного диабета типа 1 у крыс BB *lpr/lpr*.

Пример 15. FOL-005 и FOL-014 демонстрировали органоспецифические профили распределения у мышей.

Мышам C57Bl/6 подкожно инъецировали меченный H^3 FOL-005 и подвергали эвтаназии через 1 ч (фиг. 12A) или через 2 ч (фиг. 12B) после инъекции. После получения срезов всего тела визуализировали распределение меченого пептида. Сильное связывание было очевидно в поджелудочной железе и в месте инъекции. С использованием системы визуализации мелких животных Pearl Trilogy исследовали биораспределение *in vivo* и локализацию в тканях двух меченных $Cy7.5$ пептидов, FOL-005 (фиг. 12C) и FOL-014 (фиг. 12D), у мышей NMRI nude с помощью подкожной инъекции. Высокое накопление пептида было очевидно в области ткани поджелудочной железы. Такая же схема распределения была обнаружена после внутривенного введения (не показана). Доза каждого пептида составляла 10 нмоль на мышь. Мышей визуализировали перед инъекцией, через 5 минут, 20 минут, 50 минут, 60 минут, 2 часа, 4 часа, 6 часов, 24 часа и 48 часов после введения меченого пептида.

Пример 16. Тканеспецифическая визуализация для диагностического применения

Средства, полученные, как определено в настоящем документе выше, помечают путем конъюгирования с подходящим зондом или фрагментом визуализации с использованием способов, известных специалистам в настоящей области техники. Конъюгированные пептидно-зондовые средства впоследствии вводят субъекту, а затем отслеживают биораспределение, например до 48 часов после введения. Таким образом, конъюгированное средство используют в качестве диагностического или прогностического инструмента для исследования состояния поджелудочной железы. Как таковые, конъюгированные средства пригодны для выявления, диагностики или мониторинга заболевания, процессов и прогрессирования заболевания, восприимчивости, а также для определения эффективности лечения. Средства особенно подходят для мониторинга диабетического статуса субъекта. Конъюгированные средства также используются для мониторинга и/или прогнозирования риска развития заболевания, в частности сахарного диабета. Исследование используется отдельно или в сочетании с другими исследованиями, известными специалистам в настоящей области техники, такими как анализы крови, генетическое исследование, анализ мочи и биопсия.

Пример 17: Обзор последовательностей

SEQ ID NO	Последовательность	Примечания
1	VDTYDGDISVVYGLR	FOL-005
2	VDTYDGDISVVYGLS	
3	VDTYDGDISVVYGL	FOL-025
4	DTYDGDISVVYGLR	
5	TYDGDISVVYGLRS	
6	VDTYDGDISVVYG	FOL-024
7	DTYDGDISVVYGL	
8	TYDGDISVVYGLR	
9	YDGDISVVYGLRS	
10	VDTYDGDISVVY	
11	DTYDGDISVVYG	
12	TYDGDISVVYGL	
13	YDGDISVVYGLR	

14	DGDISVVYGLRS	
15	VDTYDGDISVV	
16	DTYDGDISVVY	
17	TYDGDISVVYG	
18	YDGDISVVYGL	
19	DGDISVVYGLR	
20	GDISVVYGLRS	
21	VDTYDGDISV	
22	DTYDGDISVV	
23	TYDGDISVVY	
24	YDGDISVVYG	
25	DGDISVVYGL	
26	GDISVVYGLR	FOL-009h
27	DISVVYGLRS	
28	VDTYDGDIS	FOL-019h
29	DTYDGDISV	
30	TYDGDISVV	
31	YDGDISVVY	
32	DGDISVVYG	
33	GDISVVYGL	
34	DISVVYGLR	
35	ISVVYGLRS	
36	VDTYDGDI	
37	DTYDGDIS	
38	TYDGDISV	
39	YDGDISVV	
40	DGDISVVY	
41	GDISVVYG	
42	DISVVYGL	
43	ISVVYGLR	
44	VDTYDGD	
45	DTYDGDI	
46	TYDGDIS	
47	YDGDISV	

48	DGDISVV	
49	GDISVYV	
50	DISVVYG	
51	ISVVYGL	
52	DTYDGD	
53	TYDGDI	
54	YDGDIS	
55	DGDISV	
56	GDISVV	
57	DISVVY	
58	ISVVYG	
59	TYDGD	
60	YDGDI	
61	DGDIS	
62	GDISV	
63	DISVV	
64	ISVVY	
65	SVVYG	
66	MRIAVICFCLLGITCAIPVKQADSGSSEE KQLYNKYPD AVATWLNPDPSQKQNLLA PQTLPSKSNESHDMDDMDEDDDDHV DSQDSIDSNDSDDVDDTDDSHQSDESHH SDESDELVTDFPTDLPATEVFTPVVPT <u>VD</u> <u>TYDGRGDSVVYGLRSKSKKFRRPDIQYPD</u> ATDEDITSHMESEELNGAYKAIPVAQDL NAPSDWDSRGKDSYETSQ LDDQSAETH SHKQSRLYKRKANDESNEHSDVIDSQEL SKVSREFHSHEFHSHEDMLVVDPKSKEE DKHLKFRISHELDSASSEVN	Человеческий остеопонтин дикого типа, т.е. GenBank: AAA59974.1
67	VD TYDGRGDSVVYGLR	FOL-002
68	VDZ ₃ Z ₄ Z ₅ GZ ₇ Z ₈ SZ ₁₀ Z ₁₁ YGLR	Z₃ представляет собой Т или V; Z₄ представляет собой Y или Р; Z₅ представляет собой D или N; Z₇ представляет собой D или G;

		Z_8 представляет собой I или G; Z_{10} представляет собой V или L; Z_{11} представляет собой V или A
69	VDVPNGDISLAYGLR	FOL-004
70	DVPNGDISLAYGLRS	
71	VDVPNGDISLAYGL	FOL-016
72	DVPNGDISLAYGLR	FOL-007
73	VPNGDISLAYGLRS	
74	VDVPNGDISLAYG	FOL-017
75	DVPNGDISLAYGL	
76	VPNGDISLAYGLR	
77	PNGDISLAYGLRS	
78	VDVPNGDISLAY	
79	DVPNGDISLAYG	
80	VPNGDISLAYGL	
81	PNGDISLAYGLR	FOL-008
82	NGDISLAYGLRS	
83	VDVPNGDISLA	FOL-018
84	DVPNGDISLAY	
85	VPNGDISLAYG	
86	PNGDISLAYGL	
87	NGDISLAYGLR	
88	GDISLAYGLRS	
89	VDVPNGDISL	
90	DVPNGDISLA	
91	VPNGDISLAY	
92	PNGDISLAYG	
93	NGDISLAYGL	
94	GDISLAYGLR	FOL-009
95	DISLAYGLRS	
96	VDVPNGDIS	FOL-019
97	DVPNGDISL	
98	VPNGDISLA	
99	PNGDISLAY	

100	NGDISLAYG	
101	GDISLAYGL	
102	DISLAYGLR	
103	ISLAYGLRS	
104	VDVPNGDI	
105	DVPNGDIS	
106	VPNGDISL	
107	PNGDISLA	
108	NGDISLAY	
109	GDISLAYG	
110	DISLAYGL	
111	ISLAYGLR	
112	VDVPNGD	
113	DVPNGDI	
114	VPNGDIS	
115	PNGDISL	
116	NGDISLA	
117	GDISLAY	
118	DISLAYG	
119	ISLAYGL	
120	DVPNGD	
121	VPNGDI	
122	PNGDIS	
123	NGDISL	
124	GDISLA	
125	DISLAY	
126	ISLAYG	
127	VPNGD	
128	PNGDI	
129	NGDIS	
130	GDISL	
131	DISLA	
132	ISLAY	
133	SLAYG	

134	MRLAVICFCLFGIASSLPVKVTDSGSSEE KLYSLHPDIATWLVPDPSQKQNLLAPQ NAVSSEEKDDFKQETLPSNSNESHDMMD DDDDDDDDDDGDHAESEDSVDSDESDES HHSDESDETVTASTQADTFTPIVPT <u>VDVP</u> <u>NGRGDSLAYGLR</u> SKSRSFQVSDEQYPDAT DEDLTSHMKSGESKESLDVIPVAQLLSM PSDQDNNGKGSHESSQLDEPSLETHRLE HSKESQESADQSDVIDSQASSKASLEHQ SHKFHSHKDKLVLDPKSKEDDRYLKFRI SHELESSSSEVN	Мышиный остеопонтин дикого типа, <i>m.e.</i> эталонная последовательность NCBI: NP_001191162.1
135	VDVPNGRGDSLAYGLR	FOL-001
136	KPLAEIDSIELSYGIK	FOL-014
137	GDPNDGRGDSVVYGLR	FOL-003
138	VDTYDGGISVVYGLR	FOL-026
139	VDTYDGDGSVVYGLR	FOL-027
140	KX ₂ LAX ₅ X ₆ X ₇ X ₈ IX ₁₀ LX ₁₂ YGIK	X ₂ представляет собой C, P или G; X ₅ представляет собой E или G; X ₆ представляет собой C, D или I; X ₇ представляет собой D, I, S или G; X ₈ представляет собой S, D или G; X ₁₀ представляет собой E или G; X ₁₂ представляет собой S или T;
141	KCLAECDSIELSYGIK (Cyclic)	FOL-032
142	CLAEIDSC (Cyclic)	FOL-033
143	CFKPLAEIDSIECSYGIK (Cyclic)	FOL-036
144	KPLAEDISIELSYGIK	FOL-037
145	KPLAEISDIELSYGIK	FOL-038
146	KPLAEIGDIELSYGIK	FOL-039
147	KPLAEGDIELSYGIK	FOL-040

148	KPLAEIELSYGIK	FOL-041
149	KPLAEIDSIELTYGIK	FOL-042
150	KPLAEIDGIELSYGIK	FOL-043
151	KPLAEIDGIELTYGIK	FOL-044
152	KPLAEIGSIELSYGIK	FOL-045
153	KGLAEIDSIELSYGIK	FOL-046
154	KPLAGIDSIGLSYGIK	FOL-047
155	Cyclic KCLAEIDSCIELSYGIK	FOL-034
156	Cyclic CFKPLAEIDSIEC	FOL-035
157	VDVPEGDISLAYGLR	FOL-010
158	LDGLVRAYDNISPVG	FOL-015
159	GDPNGDISVVYGLR	FOL-006
160	VDVPNGDISLAYRLR	FOL-011
161	VDVPEGDISLAYRLR	FOL-012
162	KX ₂ LAX ₅ X ₆ X ₇ X ₈ IX ₁₀ LSYGIK	X ₂ представляет собой C, P или G; X ₅ представляет собой E или G; X ₆ представляет собой C, I или отсутствует; X ₇ представляет собой D, G или отсутствует; X ₈ представляет собой S, G или отсутствует; X ₁₀ представляет собой E или G;
163	KX ₂ LAX ₅ IX ₁₀ LSYGIK	X ₂ представляет собой C, P или G; X ₅ представляет собой E или G; X ₁₀ представляет собой E или G.
164	VDVPZ ₅ GDISLAYZ ₁₃ LR	Z ₅ представляет собой E или N; Z ₁₃ представляет собой R или G.
165	VDTYDGZ ₇ Z ₈ SVVYGLR	Z ₇ представляет собой D или G; Z ₈ представляет собой I или G.
166	GDPNZ ₅ Z ₆ Z ₇ Z ₈ Z ₉ SVVYGLR	Z ₅ представляет собой D или G; Z ₆ представляет собой D или G

		Z_7 представляет собой I или R; Z_8 представляет собой G или отсутствует; Z_9 представляет собой D или отсутствует.
167	VZ ₂ TYDGDISVVYGLR	Z_2 представляет собой бета D FOL-005 (2betaAsp)
168	VDTY Z ₅ GDISVVYGLR	Z_5 представляет собой бета D FOL-005 (5betaAsp)
169	VDTYDG Z ₇ ISVVYGLR	FOL-005 (7betaAsp) Z_7 представляет собой бета D

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Средство, содержащее:

а) пептид или аналог пептида, причем пептид или аналог пептида содержит аминокислотную последовательность общей формулы:

$KX_2LAX_5X_6X_7X_8IX_{10}LX_{12}YGIK$ (SEQ ID NO: 140),

где:

X_2 представляет собой C, P или G;

X_5 представляет собой E или G;

X_6 представляет собой C, D или I;

X_7 представляет собой D, I, S или G;

X_8 представляет собой S, D или G;

X_{10} представляет собой E или G;

X_{12} представляет собой S или T;

при условии, что если X_{12} представляет собой T, пептид содержит не более чем 25 аминокислотных остатков; а также

при условии, что если X_2 представляет собой P, X_5 представляет собой E, X_6 представляет собой I, X_7 представляет собой D, X_8 представляет собой S, X_{10} представляет собой E и X_{12} представляет собой S, пептид содержит не более чем 85 аминокислотных остатков;

или биологически активный фрагмент и/или его вариант, выбранный из группы, состоящей из CLAEIDSC (SEQ ID NO: 142), CFKPLAEIDSIECSYGIK (SEQ ID NO: 143), KPLAEGDIELSYGIK (SEQ ID NO: 147), KPLAEIELSYGIK (SEQ ID NO: 148), KCLAEIDSCELSYGIK (SEQ ID NO: 155) и CFKPLAEIDSIEC (SEQ ID NO: 156);

б) полинуклеотид, кодирующий при экспрессии пептид по а);

с) вектор, содержащий полинуклеотид по б); а также

д) клетку, содержащую полинуклеотид по б) или вектор по с).

2. Средство по п. 1, в котором пептид или аналог пептида содержит аминокислотную последовательность общей формулы:

$KX_2LAX_5X_6X_7X_8IX_{10}LSYGIK$ (SEQ ID NO: 162),

где:

X_2 представляет собой C, P или G;

X_5 представляет собой E или G;

X_6 представляет собой C, I или отсутствует;

X₇ представляет собой D, G или отсутствует;

X₈ представляет собой S, G или отсутствует;

X₁₀ представляет собой E или G.

3. Средство по любому из предшествующих пунктов, причем средство содержит не более чем 85, например, не более чем 80, например, не более чем 75, например, не более чем 70, например, не более чем 65, например, не более чем 60, например, не более чем 55, например, не более чем 50, например, не более чем 55, например, не более чем 40 аминокислот, например, не более чем 35, например, не более чем 30, например, не более чем 28, например, не более чем 26, например, не более чем 24, например, не более чем 22, например, не более чем 20, например, не более чем 19, например, не более чем 18, например, не более чем 17, например, не более чем 16, например, не более чем 15, например, не более чем 14, например, не более чем 13, например, не более чем 12, например, не более чем 11, например, не более чем 10 аминокислот.

4. Средство по любому из предшествующих пунктов, причем средство содержит по меньшей мере 2 дополнительные аминокислоты, например, по меньшей мере 3, например, по меньшей мере 4, например, по меньшей мере 5, например, по меньшей мере 6, например, по меньшей мере 7, например, по меньшей мере 8, например, по меньшей мере 9, например, по меньшей мере 10, например, по меньшей мере 15 или, например, по меньшей мере 20 аминокислот, конъюгированных с N- или C-концом пептида.

5. Средство по любому из предшествующих пунктов, причем средство не встречается в природе.

6. Средство по любому из предшествующих пунктов, причем средство конъюгировано с фрагментом.

7. Средство по п. 6, в котором фрагмент выбран из группы, состоящей из полиэтиленгликоля (ПЭГ), моносахаридов, флуорофоров, хромофоров, радиоактивных соединений и проникающих в клетку пептидов.

8. Средство по любому из предшествующих пунктов, причем средство дополнительно модифицируют, например, гликозилируют или посредством

пегилирования, амидирования, этерификации, ацилирования, ацетилирования и/или алкилирования.

9. Средство по любому из предшествующих пунктов, причем средство содержит или состоит из тандемных повторов.

10. Средство по п. 9, в котором тандемные повторы содержат или состоят из аминокислотной последовательности любой одной или нескольких последовательностей, как описано в предыдущих пунктах формулы изобретения.

11. Средство по любому из предшествующих пунктов, причем средство слито с другим полипептидом.

12. Средство по п. 11, в котором указанный полипептид выбран из группы, состоящей из глутатион-S-трансферазы (GST) и белка A.

13. Средство по любому из предшествующих пунктов, причем средство слито с меткой.

14. Средство по п. 13, в котором указанная метка представляет собой метку олигогистидина.

15. Средство по любому из предшествующих пунктов, причем средство является циклическим.

16. Средство по любому из предшествующих пунктов, в котором пептид или аналог пептида способен образовывать по меньшей мере один внутримолекулярный цистеиновый мостик.

17. Средство по любому из предшествующих пунктов, в котором пептид или аналог пептида содержит или состоит из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из KCLAECDSIELSYGIK (SEQ ID NO: 141), CLAEIDSC (SEQ ID NO: 142), CFKPLAEIDSIECSYGIK (SEQ ID NO: 143), KPLAEDISIELSYGIK (SEQ ID NO: 145), KPLAEIGDIELSYGIK (SEQ ID NO: 146), KPLAEGDIELSYGIK (SEQ ID NO: 147), KPLAEIELSYGIK (SEQ ID NO: 148), KPLAEIDSIELTYGIK (SEQ ID NO: 149),

KPLAEIDGIELSYGIK (SEQ ID NO: 150), KPLAEIDGIELTYGIK (SEQ ID NO: 151), KPLAEIGSIELSYGIK (SEQ ID NO: 152), KGLAEIDSIELSYGIK (SEQ ID NO: 153), KPLAGIDSIGLSYGIK (SEQ ID NO: 154), KCLAEIDSCELSYGIK (SEQ ID NO: 155) и CFKPLAEIDSIEC (SEQ ID NO: 156) или их варианта или фрагмента.

18. Средство по любому из предшествующих пунктов, в котором пептид или аналог пептида содержит или состоит из аминокислотной последовательности KPLAEIDSIELSYGIK (SEQ ID NO: 136) или ее варианта или фрагмента.

19. Средство по любому из предшествующих пунктов, в котором пептид или аналог пептида содержит или состоит из аминокислотной последовательности KPLAGIDSIGLSYGIK (SEQ ID NO: 154) или ее варианта или фрагмента.

20. Средство по любому из предшествующих пунктов, в котором пептид или аналог пептида содержит или состоит из аминокислотной последовательности KGLAEIDSIELSYGIK (SEQ ID NO: 153) или ее варианта или фрагмента.

21. Средство по любому из предшествующих пунктов, в котором пептид или аналог пептида содержит или состоит из аминокислотной последовательности KCLAECDSELSYGIK (SEQ ID NO: 141) или ее варианта или фрагмента.

22. Средство по любому из предшествующих пунктов, в котором пептид или аналог пептида содержит или состоит из аминокислотной последовательности KPLAEIDGIELTYGIK (SEQ ID NO: 151) или ее варианта или фрагмента.

23. Средство по любому из предшествующих пунктов, в котором пептид или аналог пептида содержит или состоит из аминокислотной последовательности KPLAEIGSIELSYGIK (SEQ ID NO: 152) или ее варианта или фрагмента.

24. Средство по любому из предшествующих пунктов, в котором пептид или аналог пептида содержит или состоит из аминокислотной последовательности KPLAEIELSYGIK (SEQ ID NO: 148) или ее варианта или фрагмента.

25. Средство по любому из предшествующих пунктов, в котором вариант содержит или состоит из последовательности, в которой любая одна аминокислота была изменена на

другую протеиногенную или непротеиногенную аминокислоту, при условии, что изменено не более пяти аминокислот.

26. Средство по любому из предшествующих пунктов, в котором вариант содержит или состоит из последовательности, в которой не более чем пять аминокислот заменено на другую протеиногенную или непротеиногенную аминокислоту, например, не более чем 4 аминокислоты, например, не более чем 3 аминокислоты, например, не более чем 2 аминокислоты, например, не более чем 1 аминокислота.

27. Средство по любому из предшествующих пунктов, в котором одна или несколько аминокислот являются консервативно замещенными.

28. Средство по любому из предшествующих пунктов, в котором пептид или аналог пептида содержит или состоит из одной или нескольких дополнительных аминокислот, встроенных в N- и/или C-конец и/или внутри последовательности.

29. Средство по любому из предшествующих пунктов, в котором пептид или аналог пептида содержит 1 дополнительную аминокислоту.

30. Средство по любому из предшествующих пунктов, причем средство дополнительно содержит обнаруживаемый фрагмент.

31. Средство по любому из предшествующих пунктов, в котором обнаруживаемый фрагмент содержит или состоит из радиоизотопа.

32. Средство по любому из предшествующих пунктов, в котором радиоизотоп выбран из группы, состоящей из ^{99m}Tc , ^{111}In , ^{67}Ga , ^{68}Ga , ^{72}As , ^{89}Zr , ^{123}I и ^{201}Tl .

33. Средство по любому из предшествующих пунктов, в котором обнаруживаемый фрагмент обнаруживается с помощью технологии визуализации, такой как SPECT, PET, MRI, оптическая или ультразвуковая визуализация.

34. Применение средства по любому из предшествующих пунктов для приготовления диагностической композиции для диагностики заболевания, нарушения или повреждения поджелудочной железы у индивидуума.

35. Композиция, содержащая средство по любому из предшествующих пунктов.

36. Композиция по п. 30, причем композиция представляет собой фармацевтическую композицию.

37. Средство, содержащее:

с) пептид или аналог пептида, содержащий или состоящий из аминокислотной последовательности GDPNDGRGDSVVYGLR (SEQ ID NO: 137), VDTYDGGISVVYGLR (SEQ ID NO: 138) и VDTYDGDGSVVYGLR (SEQ ID NO: 139). VDVPEGDISLAYGLR (SEQ ID NO: 157), LDGLVRAYDNISPVG (SEQ ID NO: 158), GDPNGDISVVYGLR (SEQ ID NO: 159), VDVPNGDISLAYRLR (SEQ ID NO: 160), VDVPEGDISLAYRLR (SEQ ID NO: 161), V(бета-D)TYDGDISVVYGLR (SEQ ID NO: 167), VDTY(бета-D)GDISVVYGLR (SEQ ID NO: 168), VDTYDG(бета-D)ISVVYGLR (SEQ ID NO: 169);

b) полинуклеотид, кодирующий при экспрессии пептид по а);

с) вектор, содержащий полинуклеотид по b); а также

d) клетку, содержащую полинуклеотид по b) или вектор по с).

38. Средство или композиция по любому из предшествующих пунктов для применения в качестве лекарственного средства.

39. Средство, содержащее:

а) пептид или аналог пептида, выбранный из группы, состоящей из:

(i) пептида, содержащего или состоящего из аминокислотной последовательности общей формулы:

KX₂LAX₅X₆X₇X₈IX₁₀LX₁₂YGIK (SEQ ID NO: 140),

где:

X₂ представляет собой C, P или G;

X₅ представляет собой E или G;

X₆ представляет собой C, D или I;

X₇ представляет собой D, I, S или G;

X₈ представляет собой S, D или G;

X₁₀ представляет собой E или G;

X₁₂ представляет собой S или T;

при условии, что если X_{12} представляет собой Т, пептид содержит не более чем 25 аминокислотных остатков;

(ii) пептида, содержащего или состоящего из аминокислотной последовательности общей формулы:

VDZ₃Z₄Z₅GZ₇Z₈SZ₁₀Z₁₁YGLR (SEQ ID NO: 68),

где:

Z₃ представляет собой Т или V;

Z₄ представляет собой Y или P;

Z₅ представляет собой D или N;

Z₇ представляет собой D или G;

Z₈ представляет собой I или G;

Z₁₀ представляет собой V или L;

Z₁₁ представляет собой V или A; а также

(iii) пептида, содержащего или состоящего из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из KCLAECDSIELSYGIK (SEQ ID NO: 141), CLAEIDSC (SEQ ID NO: 142), CFKPLAEIDSIECSYGIK (SEQ ID NO: 143), KPLAEGDIELSYGIK (SEQ ID NO: 147), KPLAEIELSYGIK (SEQ ID NO: 148), KCLAECDSIELSYGIK (SEQ ID NO: 155) и CFKPLAEIDSIEC (SEQ ID NO: 156);

b) полинуклеотид, кодирующий при экспрессии пептид по а);

c) вектор, содержащий полинуклеотид по b); а также

d) клетку, содержащую полинуклеотид по b) или вектор по c);

для применения при лечении эндокринного заболевания, связанного с питанием заболевания и/или метаболического заболевания у млекопитающего.

40. Средство или композиция для применения по любому из предшествующих пунктов, причем указанное средство содержит второй или дополнительный активный ингредиент.

41. Средство или композиция для применения по п. 35, в котором второй или дополнительный активный ингредиент выбран из группы, состоящей из инсулина, глюкагоноподобного пептида-1 (GLP-1), сульфонилмочевина, дипептидил-пептидазы-4 (ингибитор DPP4), ингибитора альфа-глюкозидазы, ингибитора тиазолидиндиона, меглитидина и котранспортера-2 натрия-глюкозы (SGLT2).

42. Средство или композиция по любому из предшествующих пунктов для применения при лечении эндокринного заболевания, связанного с питанием заболевания и/или метаболического заболевания у млекопитающего.

43. Средство или композиция для применения по п. 37, причем млекопитающее представляет собой человека.

44. Средство или композиция для применения по любому из предшествующих пунктов, причем эндокринное заболевание, связанное с питанием заболевание и/или метаболическое заболевание выбраны из группы, состоящей из сахарного диабета, сахарного диабета 1 типа, сахарного диабета 2 типа, связанного с недоеданием сахарного диабета, нарушения регуляции глюкозы и внутренней секреции поджелудочной железы, синдрома резистентности к инсулину, нарушения толерантности к глюкозе, гипергликемии, гиперинсулинемии и любых их комбинаций.

45. Средство или композиция для применения по любому из предшествующих пунктов, причем эндокринное заболевание, связанное с питанием заболевание и/или метаболическое заболевание выбраны из группы, состоящей из сахарного диабета, нарушений щитовидной железы, нарушений регуляции глюкозы и внутренней секреции поджелудочной железы, нарушений желез внутренней секреции, недоедания, дефицита питательных веществ, ожирения, гипералиментации и метаболических нарушений.

46. Средство или композиция для применения по любому из предшествующих пунктов, причем сахарный диабет выбран из группы, состоящей из сахарного диабета 1 типа, сахарного диабета 2 типа, связанного с недоеданием сахарного диабета, уточненного сахарного диабета и неуточненного сахарного диабета.

47. Средство или композиция для применения по любому из предшествующих пунктов, причем нарушение регуляции глюкозы и внутренней секреции поджелудочной железы выбрано из группы, состоящей из недиабетической гипогликемической комы и нарушений внутренней секреции поджелудочной железы.

48. Средство или композиция для применения по любому из предшествующих пунктов, причем нарушение в виде ожирения и гипералиментации выбрано из группы,

состоящей из локализованного ожирения, гипералиментации и последствий гипералиментации.

49. Средство или композиция для применения по любому из предшествующих пунктов, причем нарушение в виде дефицита питательных веществ выбрано из группы, состоящей из нарушений метаболизма ароматических аминокислот, нарушений метаболизма аминокислот с разветвленной цепью и метаболизма жирных кислот, нарушений метаболизма аминокислот, непереносимости лактозы, нарушений метаболизма углеводов, нарушений метаболизма сфинголипидов, нарушений накопления липидов, нарушений метаболизма гликозаминогликанов, нарушений метаболизма гликопротеинов, нарушений метаболизма липопротеинов, липидемии, нарушений метаболизма пуринов и пиримидинов, нарушений метаболизма порфирина и билирубина, нарушений метаболизма минералов, муковисцидоза, амилоидоза, уменьшения объема межклеточной жидкости, нарушений жидкостного, электролитного и кислотно-щелочного баланса, а также постпроцедурных эндокринных и метаболических нарушений.

50. Способ лечения эндокринного заболевания, связанного с питанием заболевания и/или метаболического заболевания, предусматривающий введение средства по любому из предшествующих пунктов нуждающемуся в этом субъекту.

51. Применение средства по любому из предшествующих пунктов для изготовления лекарственного средства для применения при лечении эндокринного заболевания, связанного с питанием заболевания и/или метаболического заболевания у млекопитающего.

52. Способ задержки начала сахарного диабета и/или связанного с сахарным диабетом нарушения или заболевания, предусматривающий введение терапевтически эффективного количества средства по любому из предшествующих пунктов нуждающемуся в этом индивидууму.

53. Способ снижения содержания глюкозы в крови, предусматривающий введение терапевтически эффективного количества средства по любому из предшествующих пунктов нуждающемуся в этом индивидууму.

54. Способ по п. 53, при котором секреция инсулина повышается.

55. Способ по п. 53, при котором клеточное поглощение глюкозы повышается.

56. Способ по п. 53, при котором производство инсулина повышается.

57. Способ по п. 53, при котором производство глюкагона снижается.

58. Способ повышения жизнеспособности бета-клеток, предусматривающий введение терапевтически эффективного количества средства по любому из предшествующих пунктов нуждающемуся в этом индивидууму.

59. Способ улучшения морфологии бета-клеток, предусматривающий введение терапевтически эффективного количества средства по любому из предшествующих пунктов нуждающемуся в этом индивидууму.

60. Способ стабилизации или улучшения жизнеспособности и/или морфологии островков поджелудочной железы, предусматривающий введение терапевтически эффективного количества средства по любому из предшествующих пунктов нуждающемуся в этом индивидууму.

ИЗМЕНЕННАЯ ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Средство, содержащее:

а) пептид или аналог пептида,

содержащий или состоящий из аминокислотной последовательности KPLAEIDSIELSYGIK (SEQ ID NO: 136), KCLAECDSIELSYGIK (SEQ ID NO: 141), KPLAEDISIELSYGIK (SEQ ID NO: 145), KPLAEIGDIELSYGIK (SEQ ID NO: 146), KPLAEIDSIELTYGIK (SEQ ID NO: 149), KPLAEIDGIELSYGIK (SEQ ID NO: 150), KPLAEIDGIELTYGIK (SEQ ID NO: 151), KPLAEIGSIELSYGIK (SEQ ID NO: 152), KGLAEIDSIELSYGIK (SEQ ID NO: 153) и KPLAGIDSIGLSYGIK (SEQ ID NO: 154); CLAEIDSC (SEQ ID NO: 142), CFKPLAEIDSIECSYGIK (SEQ ID NO: 143), KPLAEGDIELSYGIK (SEQ ID NO: 147), KPLAEIELSYGIK (SEQ ID NO: 148), KCLAEIDSCIELSYGIK (SEQ ID NO: 155) и CFKPLAEIDSIEC (SEQ ID NO: 156;

б) полинуклеотид, кодирующий при экспрессии пептид по а);

с) вектор, содержащий полинуклеотид по б); а также

д) клетку, содержащую полинуклеотид по б) или вектор по с).

2. Средство по п. 1, в котором пептид или аналог пептида содержит аминокислотную последовательность общей формулы:

KX₂LAX₅X₆X₇X₈IX₁₀LSYGIK (SEQ ID NO: 162),

где:

X₂ представляет собой C, P или G;

X₅ представляет собой E или G;

X₆ представляет собой C, I или отсутствует;

X₇ представляет собой D, G или отсутствует;

X₈ представляет собой S, G или отсутствует;

X₁₀ представляет собой E или G.

3. Средство по любому из предшествующих пунктов, причем средство содержит не более чем 85, например, не более чем 80, например, не более чем 75, например, не более чем 70, например, не более чем 65, например, не более чем 60, например, не более чем 55, например, не более чем 50, например, не более чем 55, например, не более чем 40 аминокислот, например, не более чем 35, например, не более чем 30, например, не более чем 28, например, не более чем 26, например, не более чем 24, например, не более чем 22, например, не более чем 20, например, не более чем 19, например, не более чем 18, например,

не более чем 17, например, не более чем 16, например, не более чем 15, например, не более чем 14, например, не более чем 13, например, не более чем 12, например, не более чем 11, например, не более чем 10 аминокислот.

4. Средство по любому из предшествующих пунктов, причем средство содержит по меньшей мере 2 дополнительные аминокислоты, например, по меньшей мере 3, например, по меньшей мере 4, например, по меньшей мере 5, например, по меньшей мере 6, например, по меньшей мере 7, например, по меньшей мере 8, например, по меньшей мере 9, например, по меньшей мере 10, например, по меньшей мере 15 или, например, по меньшей мере 20 аминокислот, конъюгированных с N- или C-концом пептида.

5. Средство по любому из предшествующих пунктов, причем средство не встречается в природе.

6. Средство по любому из предшествующих пунктов, причем средство конъюгировано с фрагментом.

7. Средство по п. 6, в котором фрагмент выбран из группы, состоящей из полиэтиленгликоля (ПЭГ), моносахаридов, флуорофоров, хромофоров, радиоактивных соединений и проникающих в клетку пептидов.

8. Средство по любому из предшествующих пунктов, причем средство дополнительно модифицируют, например, гликозилируют или посредством пегилирования, амидирования, этерификации, ацилирования, ацетилирования и/или алкилирования.

9. Средство по любому из предшествующих пунктов, причем средство содержит или состоит из тандемных повторов.

10. Средство по п. 9, в котором тандемные повторы содержат или состоят из аминокислотной последовательности любой одной или нескольких последовательностей, как описано в предыдущих пунктах формулы изобретения.

11. Средство по любому из предшествующих пунктов, причем средство слито с другим полипептидом.

12. Средство по п. 11, в котором указанный полипептид выбран из группы, состоящей из глутатион-S-трансферазы (GST) и белка A.

13. Средство по любому из предшествующих пунктов, причем средство слито с меткой.

14. Средство по п. 13, в котором указанная метка представляет собой метку олигогистидина.

15. Средство по любому из предшествующих пунктов, причем средство является циклическим.

16. Средство по любому из предшествующих пунктов, в котором пептид или аналог пептида способен образовывать по меньшей мере один внутримолекулярный цистеиновый мостик.

17. Средство по любому из предшествующих пунктов, в котором одна или несколько аминокислот являются консервативно замещенными.

18. Средство по любому из предшествующих пунктов, в котором пептид или аналог пептида содержит или состоит из одной или нескольких дополнительных аминокислот, встроенных в N- и/или C-конец и/или внутри последовательности.

19. Средство по любому из предшествующих пунктов, в котором пептид или аналог пептида содержит 1 дополнительную аминокислоту.

20. Средство по любому из предшествующих пунктов, причем средство дополнительно содержит обнаруживаемый фрагмент.

21. Средство по любому из предшествующих пунктов, в котором обнаруживаемый фрагмент содержит или состоит из радиоизотопа.

22. Средство по любому из предшествующих пунктов, в котором радиоизотоп выбран из группы, состоящей из ^{99m}Tc , ^{111}In , ^{67}Ga , ^{68}Ga , ^{72}As , ^{89}Zr , ^{123}I и ^{201}Tl .

23. Средство по любому из предшествующих пунктов, в котором обнаруживаемый фрагмент обнаруживается с помощью технологии визуализации, такой как SPECT, PET, MRI, оптическая или ультразвуковая визуализация.

24. Применение средства по любому из предшествующих пунктов для приготовления диагностической композиции для диагностики заболевания, нарушения или повреждения поджелудочной железы у индивидуума.

25. Композиция, содержащая средство по любому из предшествующих пунктов.

26. Композиция по п. 25, причем композиция представляет собой фармацевтическую композицию.

27. Средство, содержащее:

а) пептид или аналог пептида, содержащий или состоящий из аминокислотной последовательности GDPNDGRGDSVVYGLR (SEQ ID NO: 137), VDTYDGGISVVYGLR (SEQ ID NO: 138) и VDTYDGDGSVVYGLR (SEQ ID NO: 139). VDVPEGDISLAYGLR (SEQ ID NO: 157), LDGLVRAYDNISPVG (SEQ ID NO: 158), GDPNGDISVVYGLR (SEQ ID NO: 159), VDVPNGDISLAYRLR (SEQ ID NO: 160) VDVPEGDISLAYRLR (SEQ ID NO: 161), V(бета-D)TYDGDISVVYGLR (SEQ ID NO: 167), VDTY(бета-D)GDISVVYGLR (SEQ ID NO: 168), VDTYDG(бета-D)ISVVYGLR (SEQ ID NO: 169);

б) полинуклеотид, кодирующий при экспрессии пептид по а);

с) вектор, содержащий полинуклеотид по б); а также

д) клетку, содержащую полинуклеотид по б) или вектор по с).

28. Средство или композиция по любому из предшествующих пунктов для применения в качестве лекарственного средства.

29. Средство, содержащее:

а) пептид или аналог пептида, выбранный из группы, состоящей из:

(i) пептида, содержащего или состоящего из аминокислотной последовательности общей формулы:

KX₂LAX₅X₆X₇X₈IX₁₀LX₁₂YGIK (SEQ ID NO: 140),

где:

X₂ представляет собой C, P или G;

X₅ представляет собой E или G;

X₆ представляет собой C, D или I;

X₇ представляет собой D, I, S или G;

X₈ представляет собой S, D или G;

X₁₀ представляет собой E или G;

X₁₂ представляет собой S или T;

при условии, что если X₁₂ представляет собой T, пептид содержит не более чем 25 аминокислотных остатков;

(ii) пептида, содержащего или состоящего из аминокислотной последовательности общей формулы:

VDZ₃Z₄Z₅GZ₇Z₈SZ₁₀Z₁₁YGLR (SEQ ID NO: 68),

где:

Z₃ представляет собой T или V;

Z₄ представляет собой Y или P;

Z₅ представляет собой D или N;

Z₇ представляет собой D или G;

Z₈ представляет собой I или G;

Z₁₀ представляет собой V или L;

Z₁₁ представляет собой V или A;

причем пептид выбран из группы, состоящей из VDTYDGD~~IS~~VVYGLR (SEQ ID NO: 1), VDTYDGD~~IS~~VVYGL (SEQ ID NO: 3), VDTYDGD~~IS~~VVYG (SEQ ID NO: 6), GDISVVYGLR (SEQ ID NO: 26), VDTYDGD~~IS~~ (SEQ ID NO: 28), VDTYDGRGDSVVYGLR (SEQ ID NO: 67), VDVPNGDISLAYGLR (SEQ ID NO: 69), VDVPNG~~DIS~~LAYGL (SEQ ID NO: 71), DVPNG~~DIS~~LAYGLR (SEQ ID NO: 72), VDVPNG~~DIS~~LAYG (SEQ ID NO: 74), PNG~~DIS~~LAYGLR (SEQ ID NO: 81), VDVPNG~~DIS~~LA (SEQ ID NO: 83), G~~DIS~~LAYGLR (SEQ ID NO: 94) и VDVPNG~~DIS~~ (SEQ ID NO: 96);

(iii) пептида, содержащего или состоящего из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из KCLAECD~~SI~~ELSYGIK (SEQ ID NO: 141), CLAEIDSC (SEQ ID NO: 142), CFKPLAEID~~SI~~ECSYGIK (SEQ ID NO: 143), KPLAEGDIELSYGIK (SEQ ID NO: 147), KPLAEIELSYGIK (SEQ ID NO: 148), KCLAEIDSC~~EL~~SYGIK (SEQ ID NO: 155) и CFKPLAEID~~SI~~EC (SEQ ID NO: 156);

b) полинуклеотид, кодирующий при экспрессии пептид по а);

с) вектор, содержащий полинуклеотид по b); а также

d) клетку, содержащую полинуклеотид по b) или вектор по c);

для применения при лечении эндокринного заболевания и/или метаболического заболевания у млекопитающего.

30. Средство или композиция для применения по любому из предшествующих пунктов, причем указанное средство содержит второй или дополнительный активный ингредиент.

31. Средство или композиция для применения по п. 30, в котором второй или дополнительный активный ингредиент выбран из группы, состоящей из инсулина, глюкагоноподобного пептида-1 (GLP-1), сульфонилмочевины, дипептидил-пептидазы-4 (ингибитор DPP4), ингибитора альфа-глюкозидазы, ингибитора тиазолидиндиона, меглитидина и котранспортера-2 натрия-глюкозы (SGLT2).

32. Средство или композиция по любому из предшествующих пунктов для применения при лечении эндокринного заболевания и/или метаболического заболевания у млекопитающего.

33. Средство или композиция для применения по п. 32, причем млекопитающее представляет собой человека.

34. Средство или композиция для применения по любому из предшествующих пунктов, причем эндокринное заболевание и/или метаболическое заболевание выбраны из группы, состоящей из сахарного диабета, сахарного диабета 1 типа, сахарного диабета 2 типа, связанного с недоеданием сахарного диабета, нарушения регуляции глюкозы и внутренней секреции поджелудочной железы, синдрома резистентности к инсулину, нарушения толерантности к глюкозе, гипергликемии, гиперинсулинемии и любых их комбинаций.

35. Средство или композиция для применения по любому из предшествующих пунктов, причем эндокринное заболевание и/или метаболическое заболевание выбраны из группы, состоящей из сахарного диабета, нарушений щитовидной железы, нарушений регуляции глюкозы и внутренней секреции поджелудочной железы, нарушений желез внутренней секреции, недоедания, дефицита питательных веществ, ожирения, гипералиментации и метаболических нарушений.

36. Средство или композиция для применения по любому из предшествующих пунктов, причем сахарный диабет выбран из группы, состоящей из сахарного диабета 1 типа, сахарного диабета 2 типа, связанного с недоеданием сахарного диабета, уточненного сахарного диабета и неуточненного сахарного диабета.

37. Средство или композиция для применения по любому из предшествующих пунктов, причем нарушение регуляции глюкозы и внутренней секреции поджелудочной железы выбрано из группы, состоящей из недиабетической гипогликемической комы и нарушений внутренней секреции поджелудочной железы.

38. Средство или композиция для применения по любому из предшествующих пунктов, причем нарушение в виде ожирения и гипералиментации выбрано из группы, состоящей из локализованного ожирения, гипералиментации и последствий гипералиментации.

39. Средство или композиция для применения по любому из предшествующих пунктов, причем нарушение в виде дефицита питательных веществ выбрано из группы, состоящей из нарушений метаболизма ароматических аминокислот, нарушений метаболизма аминокислот с разветвленной цепью и метаболизма жирных кислот, нарушений метаболизма аминокислот, непереносимости лактозы, нарушений метаболизма углеводов, нарушений метаболизма сфинголипидов, нарушений накопления липидов, нарушений метаболизма гликозаминогликанов, нарушений метаболизма гликопротеинов, нарушений метаболизма липопротеинов, липидемии, нарушений метаболизма пуринов и пиримидинов, нарушений метаболизма порфирина и билирубина, нарушений метаболизма минералов, муковисцидоза, амилоидоза, уменьшения объема межклеточной жидкости, нарушений жидкостного, электролитного и кислотно-щелочного баланса, а также постпроцедурных эндокринных и метаболических нарушений.

40. Способ лечения эндокринного заболевания и/или метаболического заболевания, предусматривающий введение средства по любому из предшествующих пунктов нуждающемуся в этом субъекту.

41. Применение средства по любому из предшествующих пунктов для изготовления лекарственного средства для применения при лечении эндокринного заболевания и/или метаболического заболевания у млекопитающего.

42. Способ задержки начала сахарного диабета и/или связанного с сахарным диабетом нарушения или заболевания, предусматривающий введение терапевтически эффективного количества средства по любому из предшествующих пунктов нуждающемуся в этом индивидууму.

43. Способ снижения содержания глюкозы в крови, предусматривающий введение терапевтически эффективного количества средства по любому из предшествующих пунктов нуждающемуся в этом индивидууму.

44. Способ по п. 43, при котором секреция инсулина повышается.

45. Способ по п. 43, при котором клеточное поглощение глюкозы повышается.

46. Способ по п. 43, при котором производство инсулина повышается.

47. Способ по п. 43, при котором производство глюкагона снижается.

48. Способ повышения жизнеспособности бета-клеток, предусматривающий введение терапевтически эффективного количества средства по любому из предшествующих пунктов нуждающемуся в этом индивидууму.

49. Способ улучшения морфологии бета-клеток, предусматривающий введение терапевтически эффективного количества средства по любому из предшествующих пунктов нуждающемуся в этом индивидууму.

50. Способ стабилизации или улучшения жизнеспособности и/или морфологии островков поджелудочной железы, предусматривающий введение терапевтически эффективного количества средства по любому из предшествующих пунктов нуждающемуся в этом индивидууму.

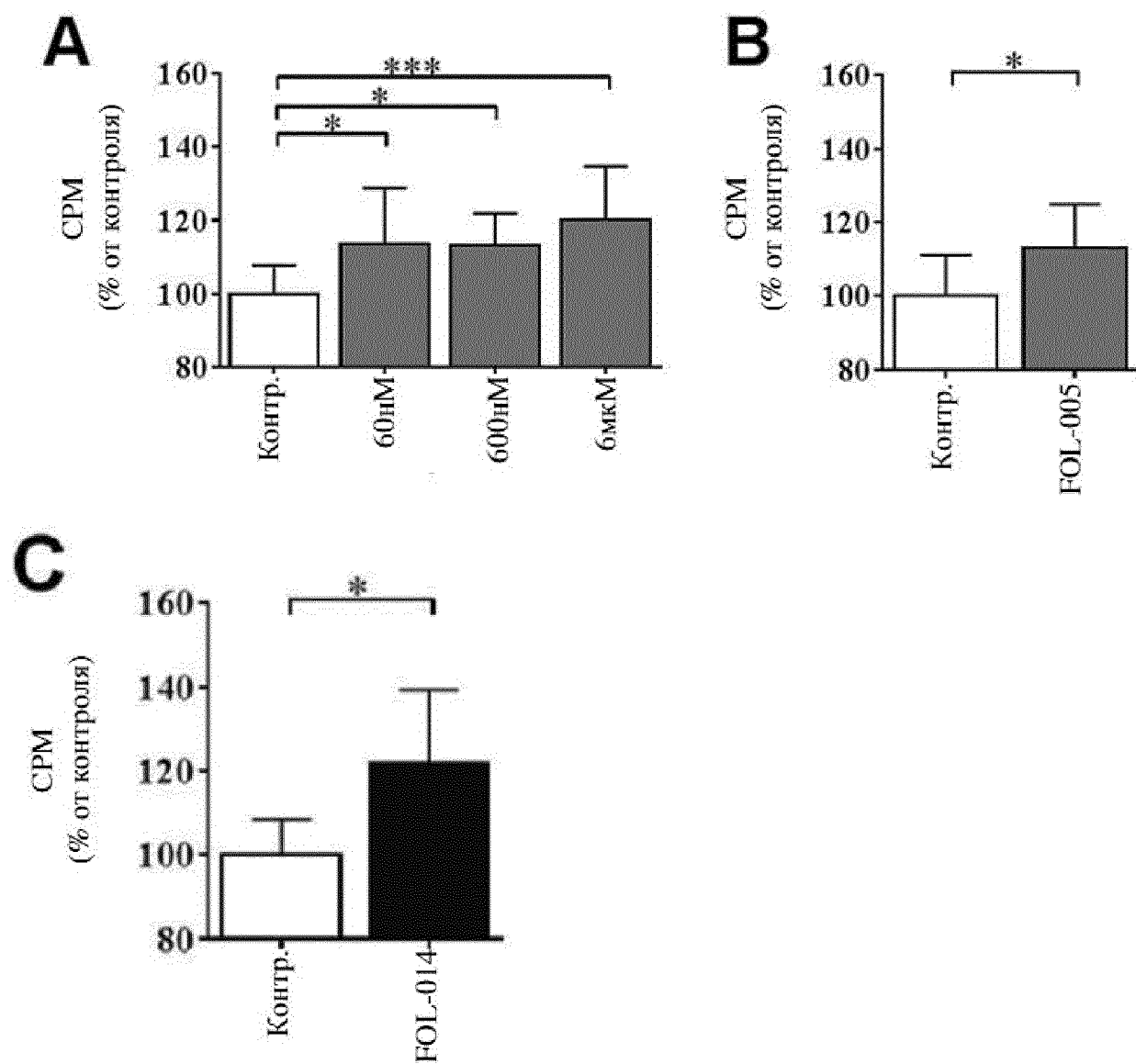
51. Средство, содержащее

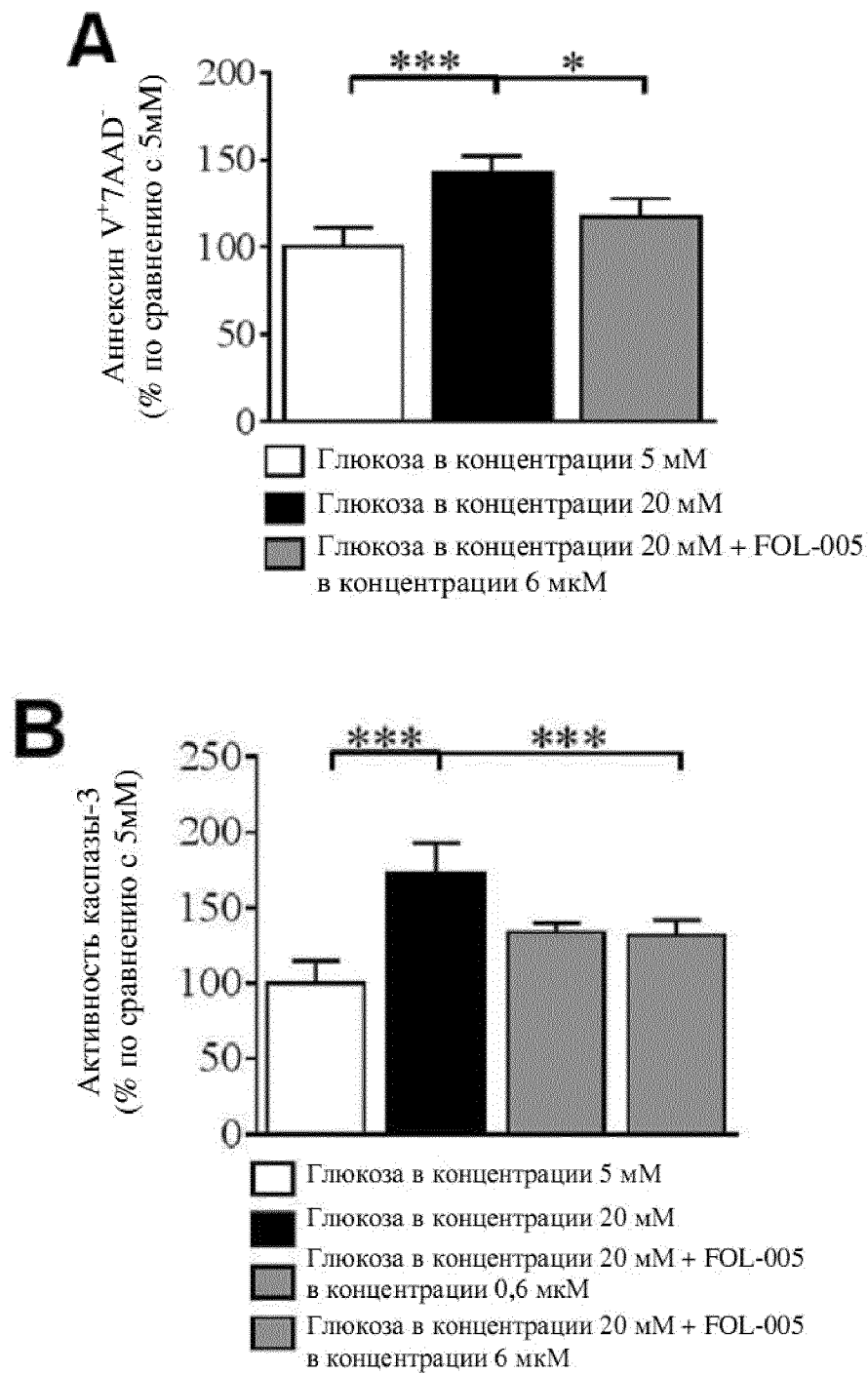
а) пептид или аналог пептида, состоящий из аминокислотной последовательности GDPNDGRGDSVVYGLR (SEQ ID NO: 137);

б) полинуклеотид, кодирующий после экспрессии пептид по а);

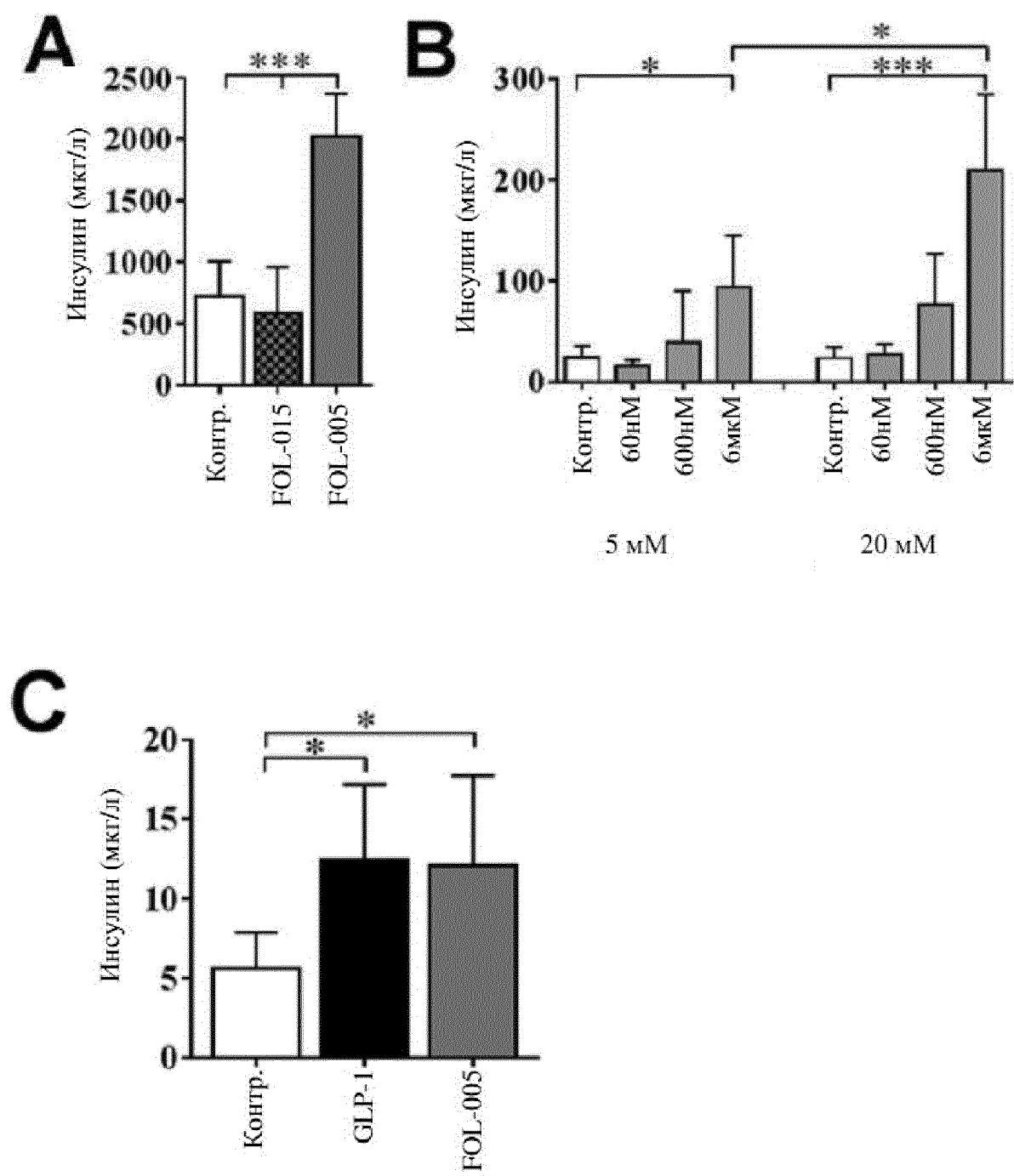
с) вектор, содержащий полинуклеотид по b), а также

d) клетку, содержащую полинуклеотид по b) или вектор по с).

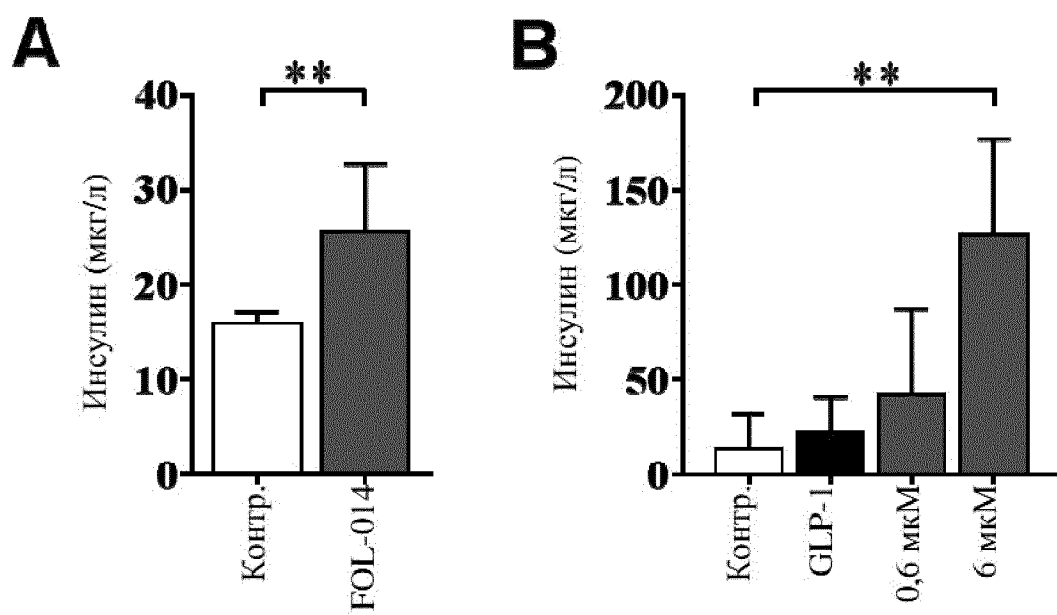




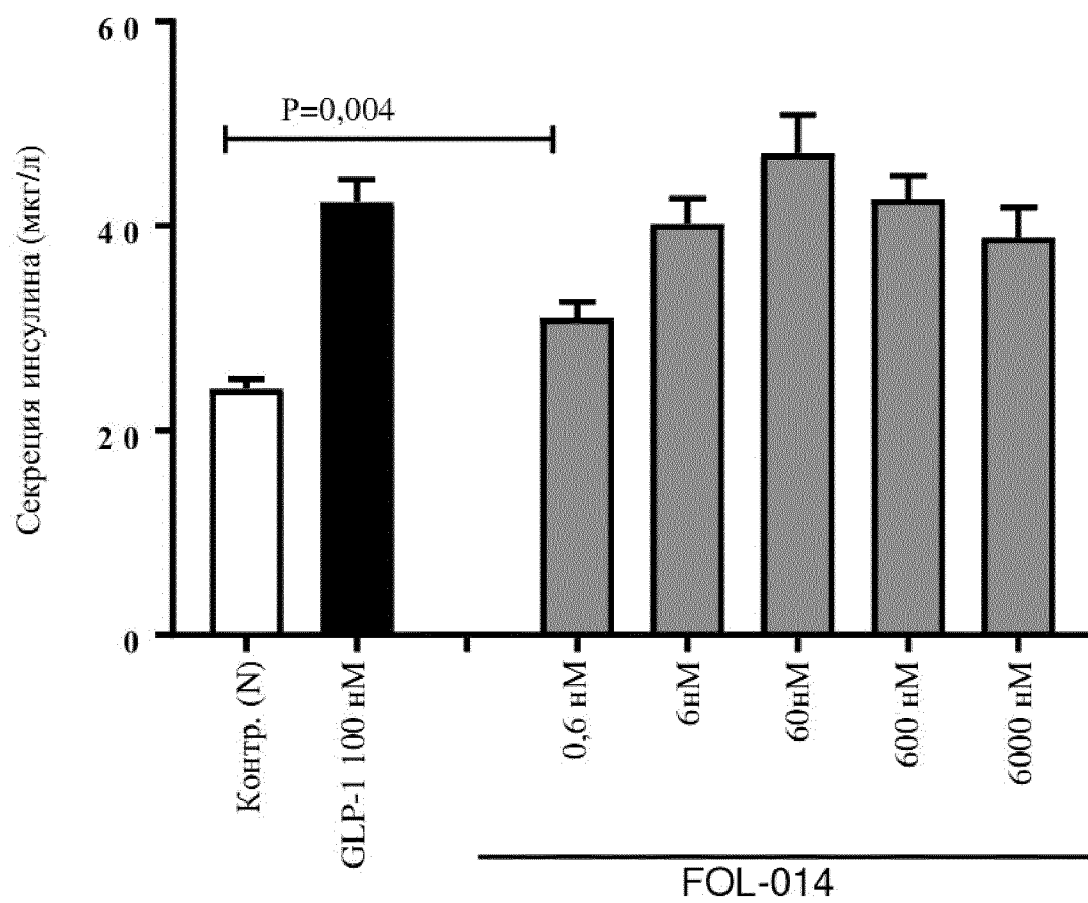
Фиг. 2



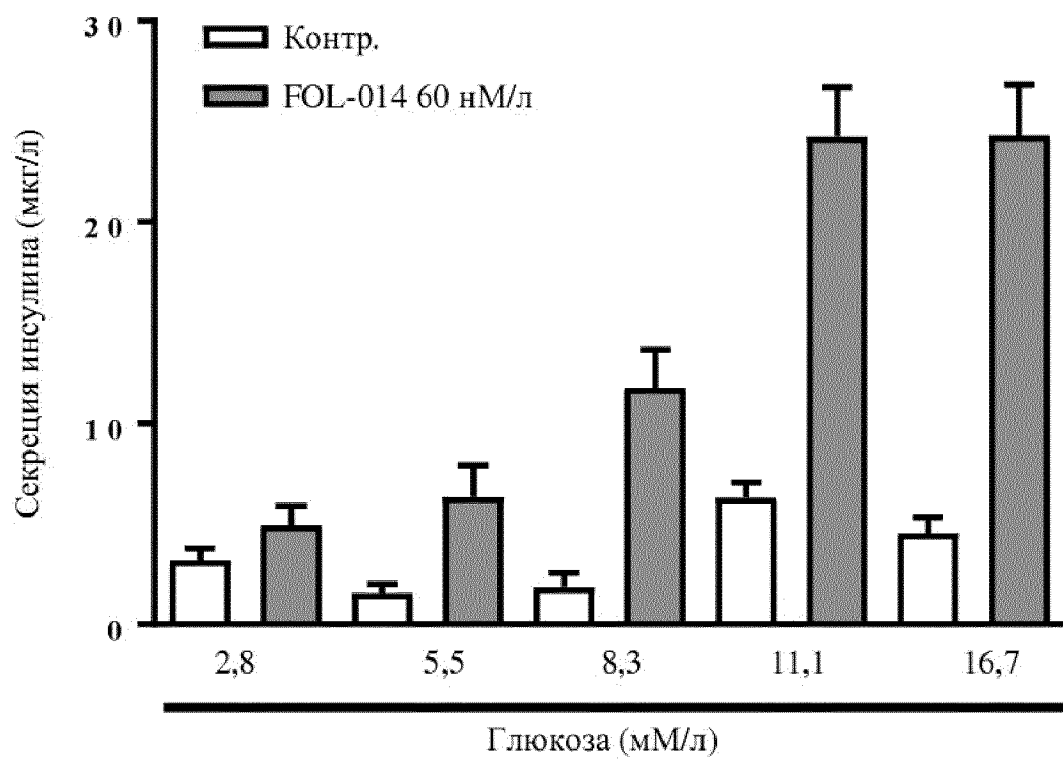
Фиг. 3

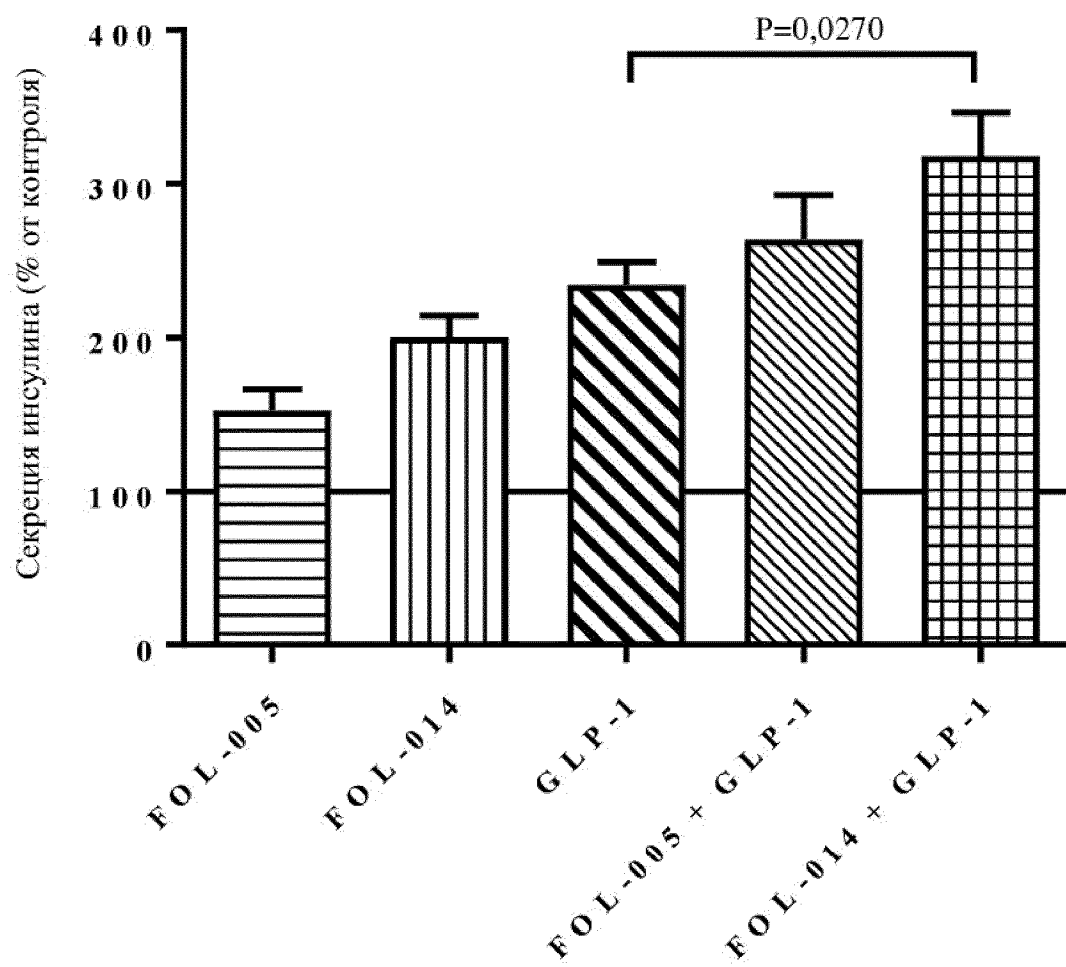


Фиг. 4

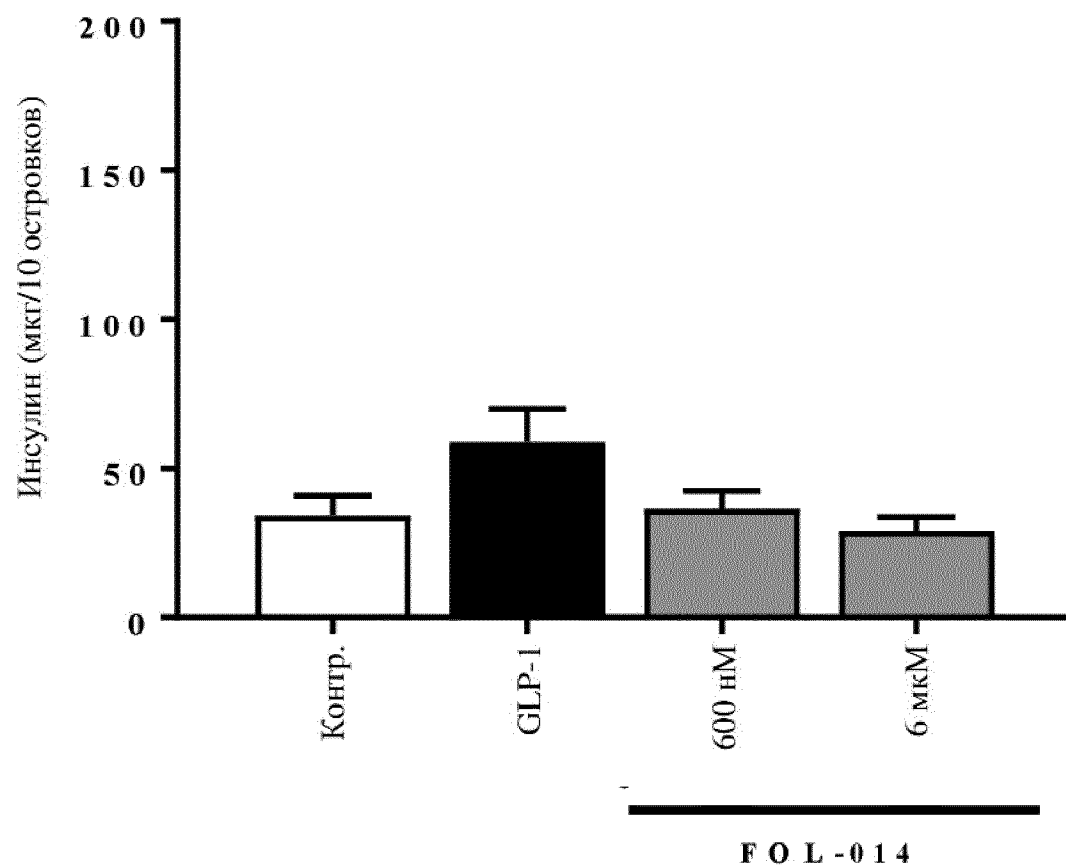


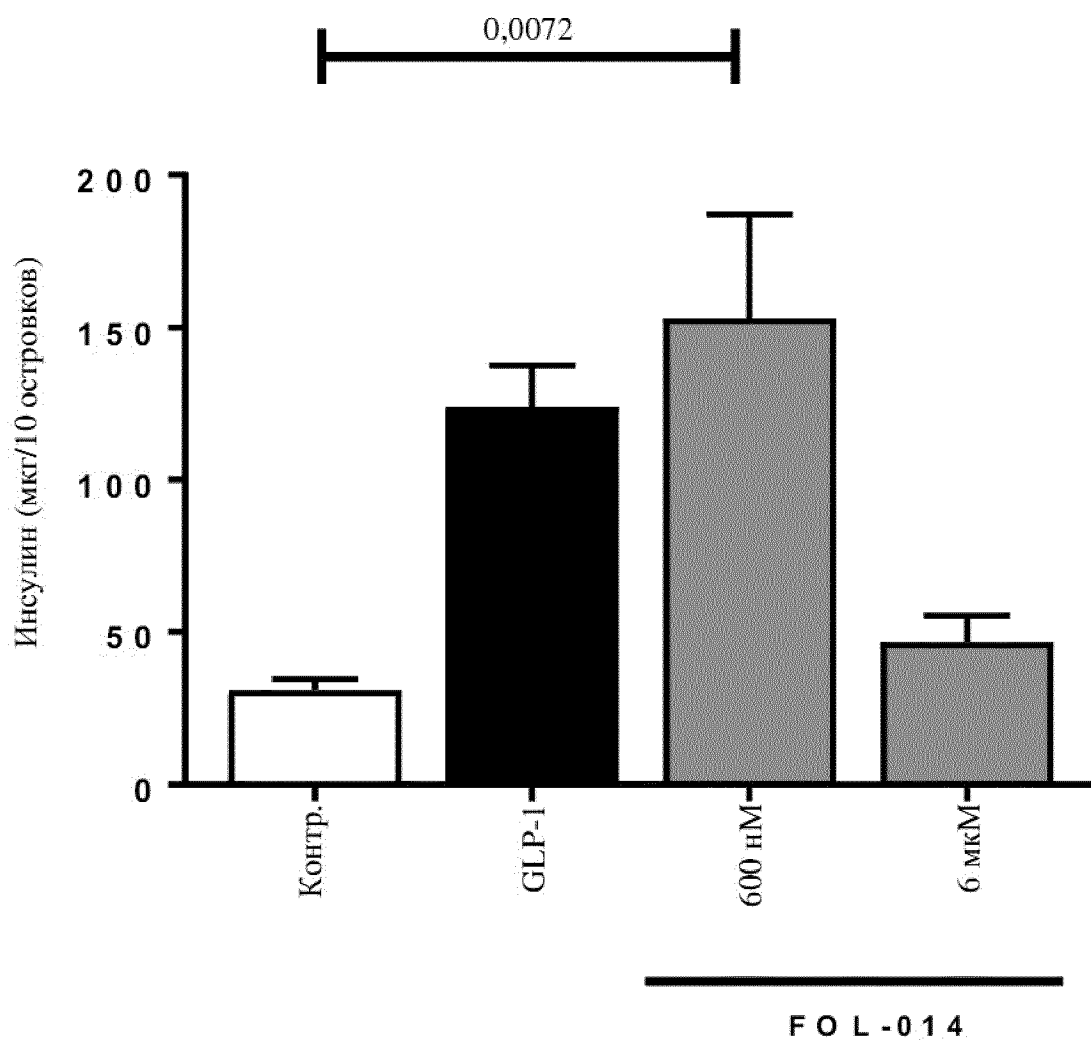
Фиг. 5

**Фиг. 6**

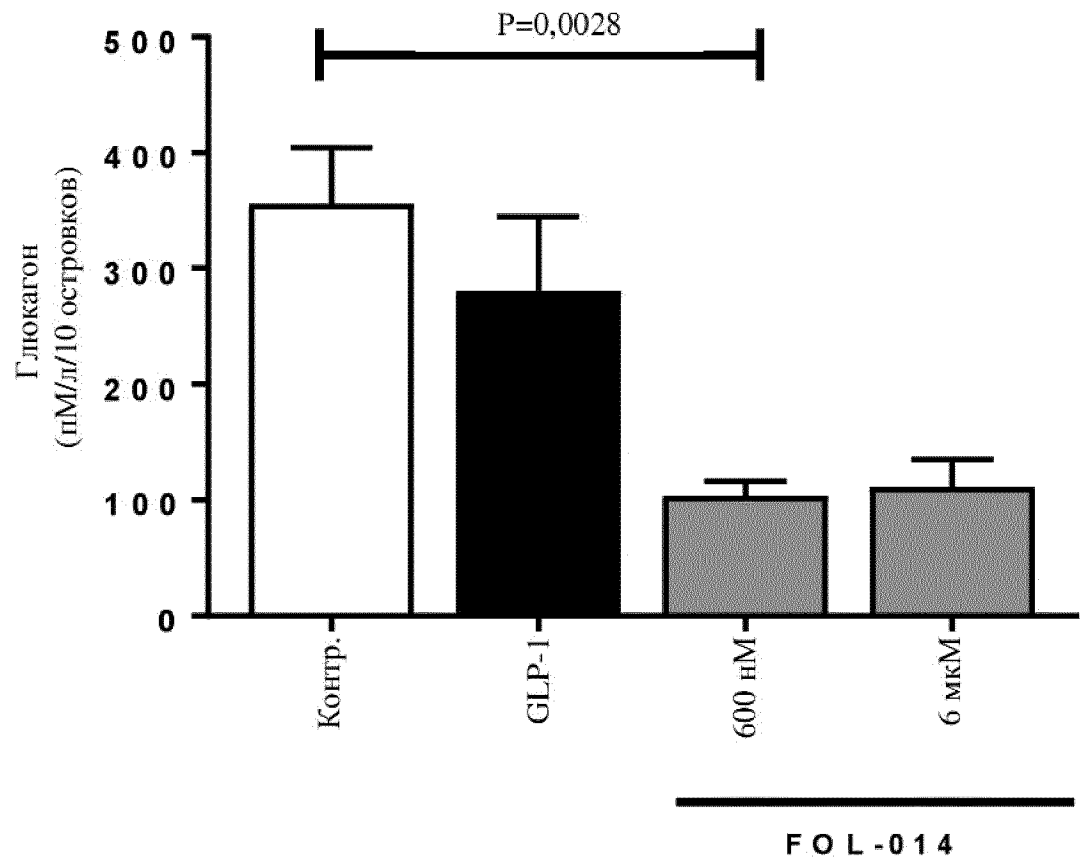


Фиг. 7

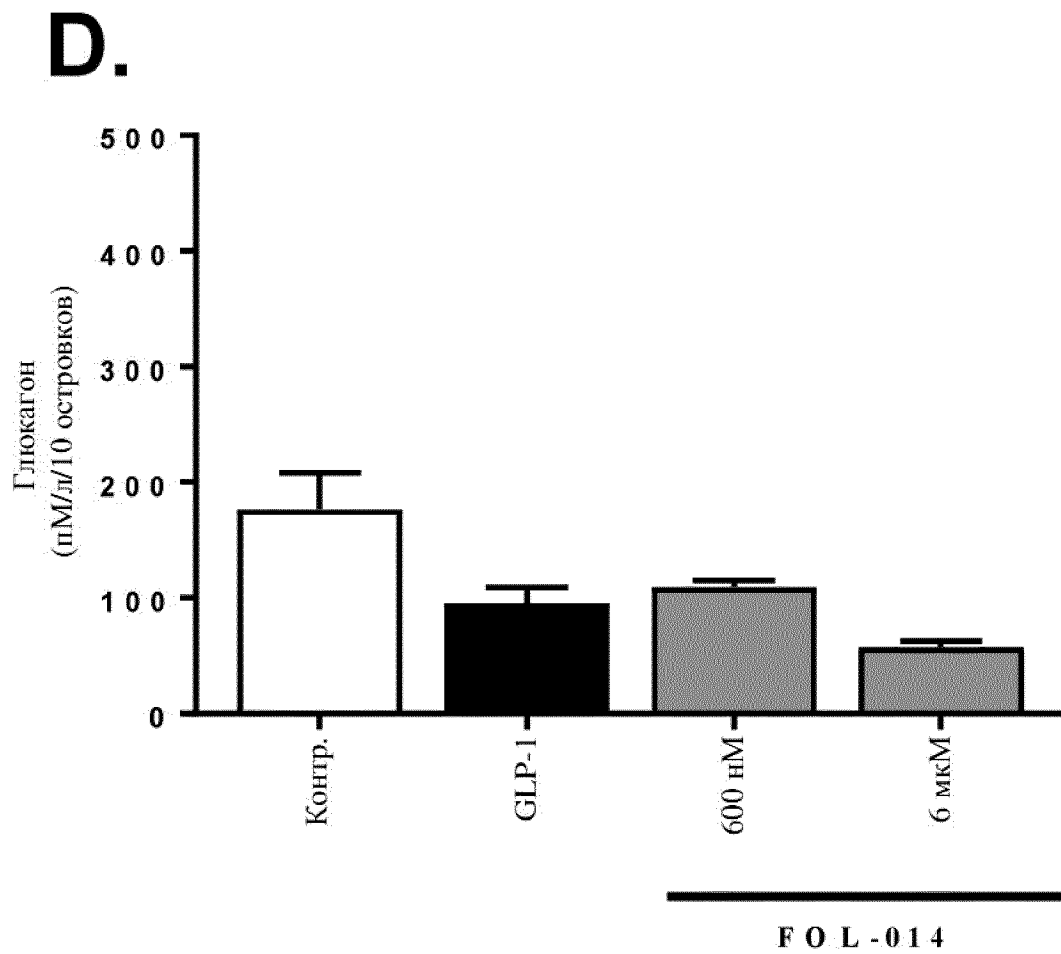
A.**Фиг. 8**

В.**Фиг. 8, продолжение**

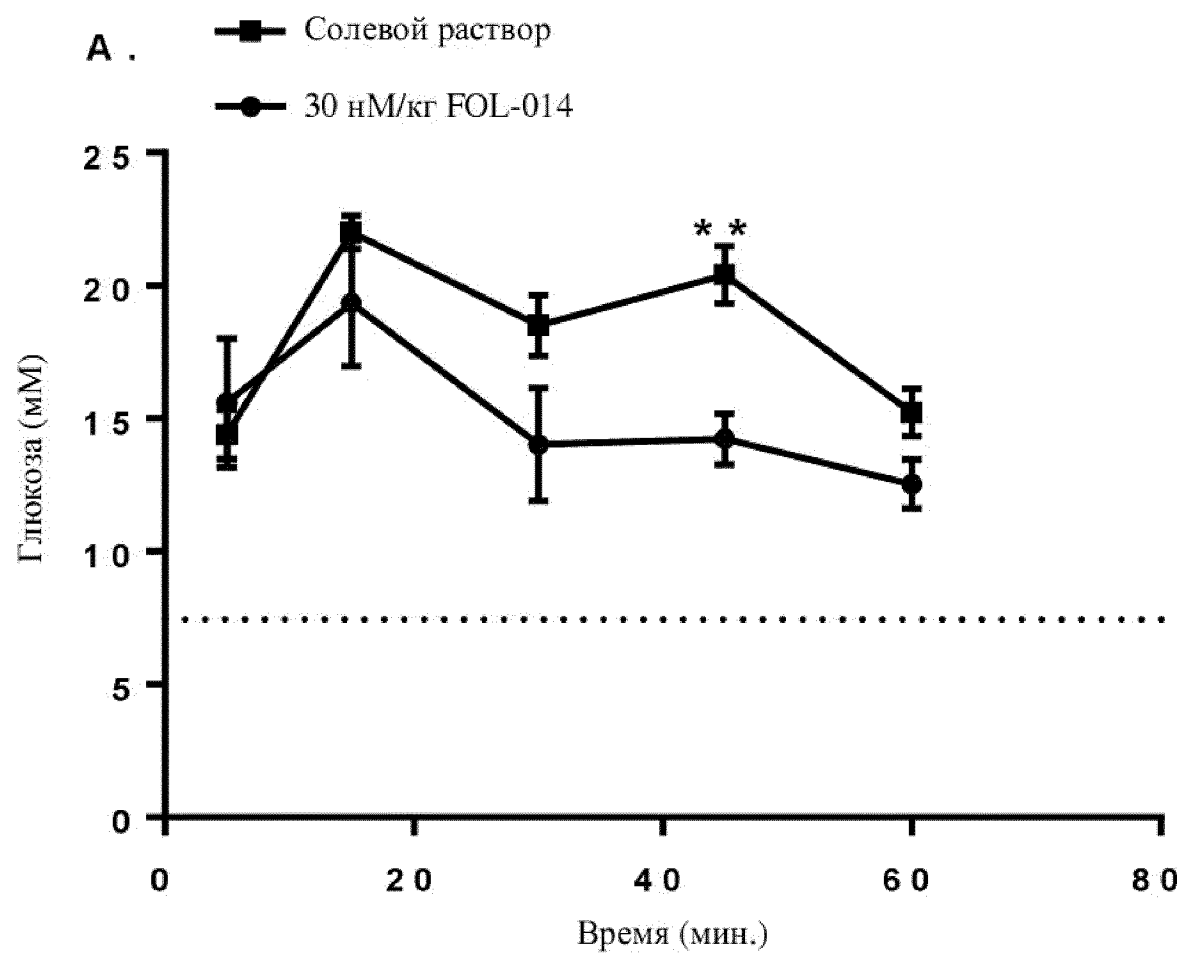
С.



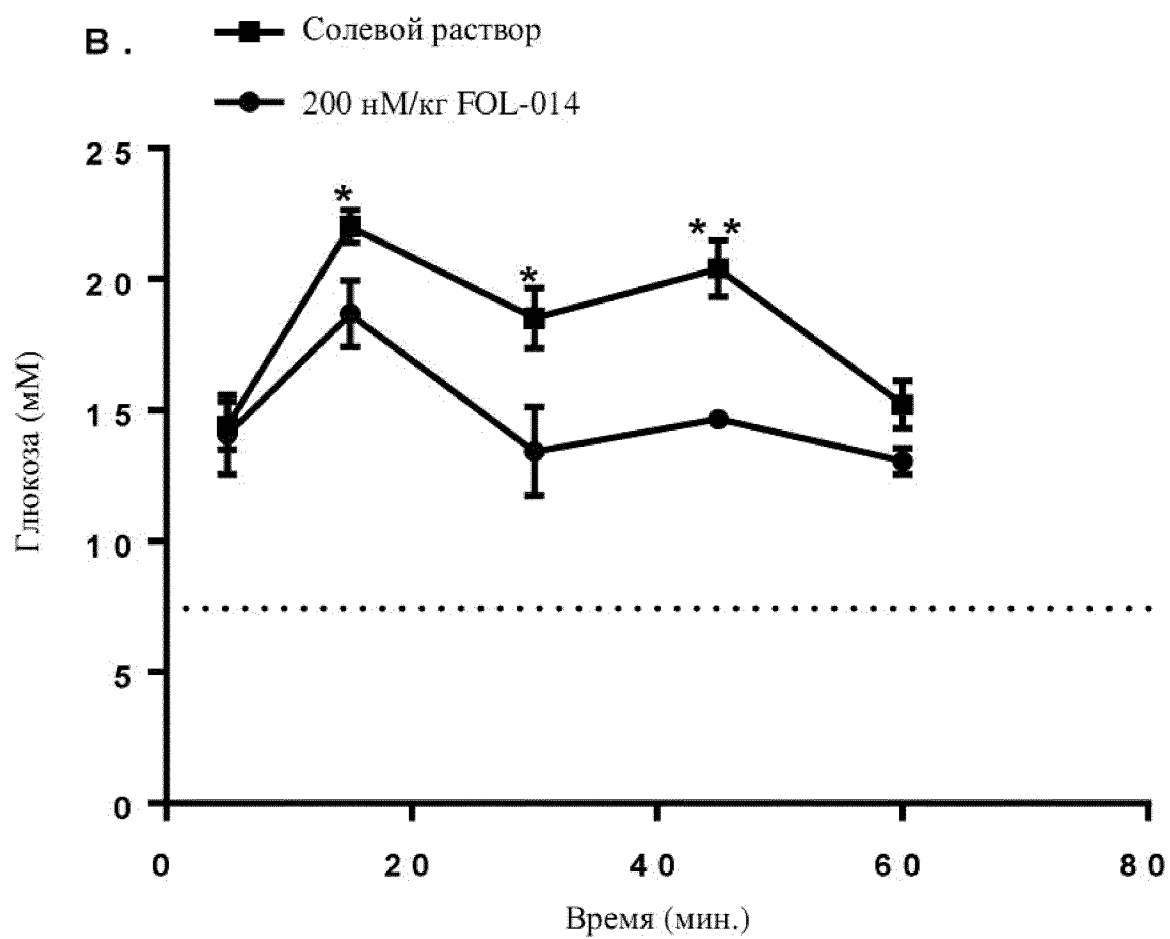
Фиг. 8, продолжение



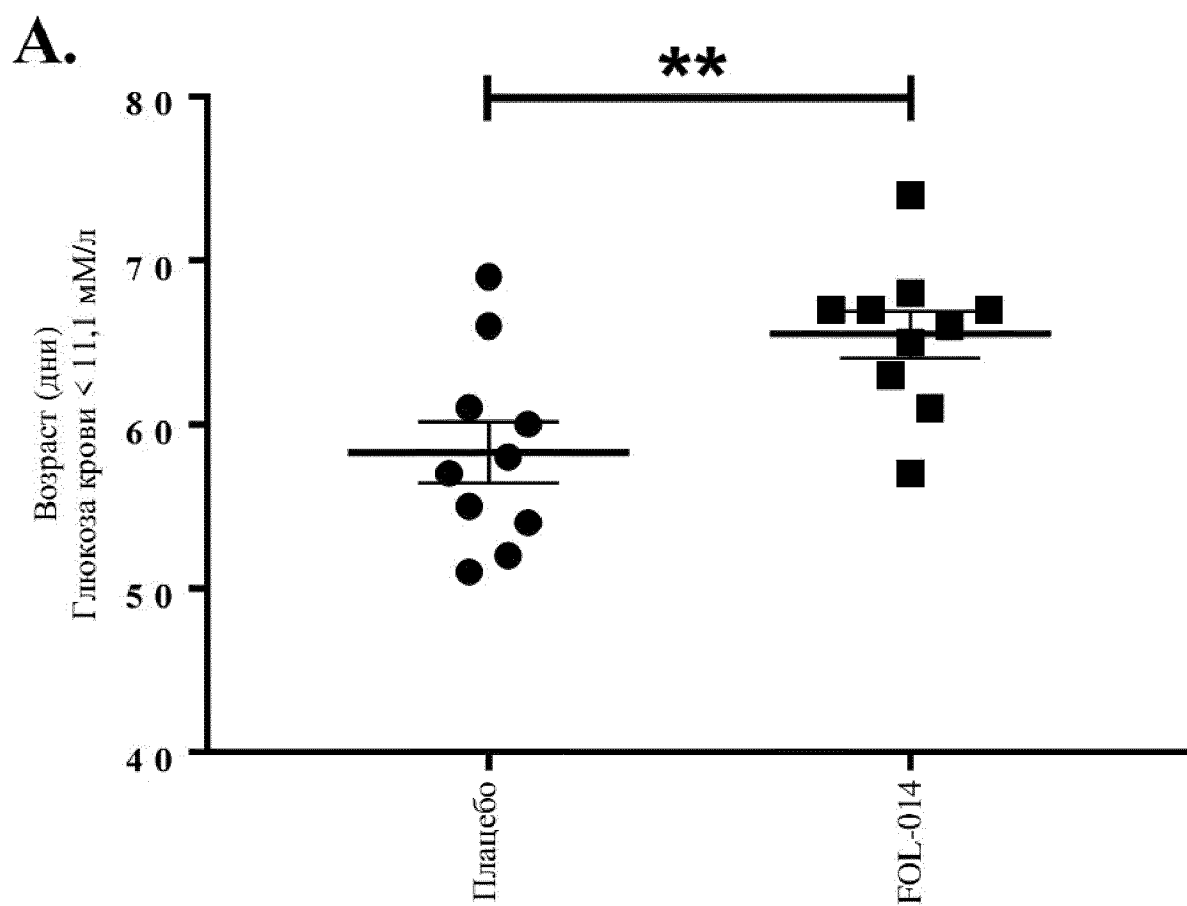
Фиг. 8, продолжение



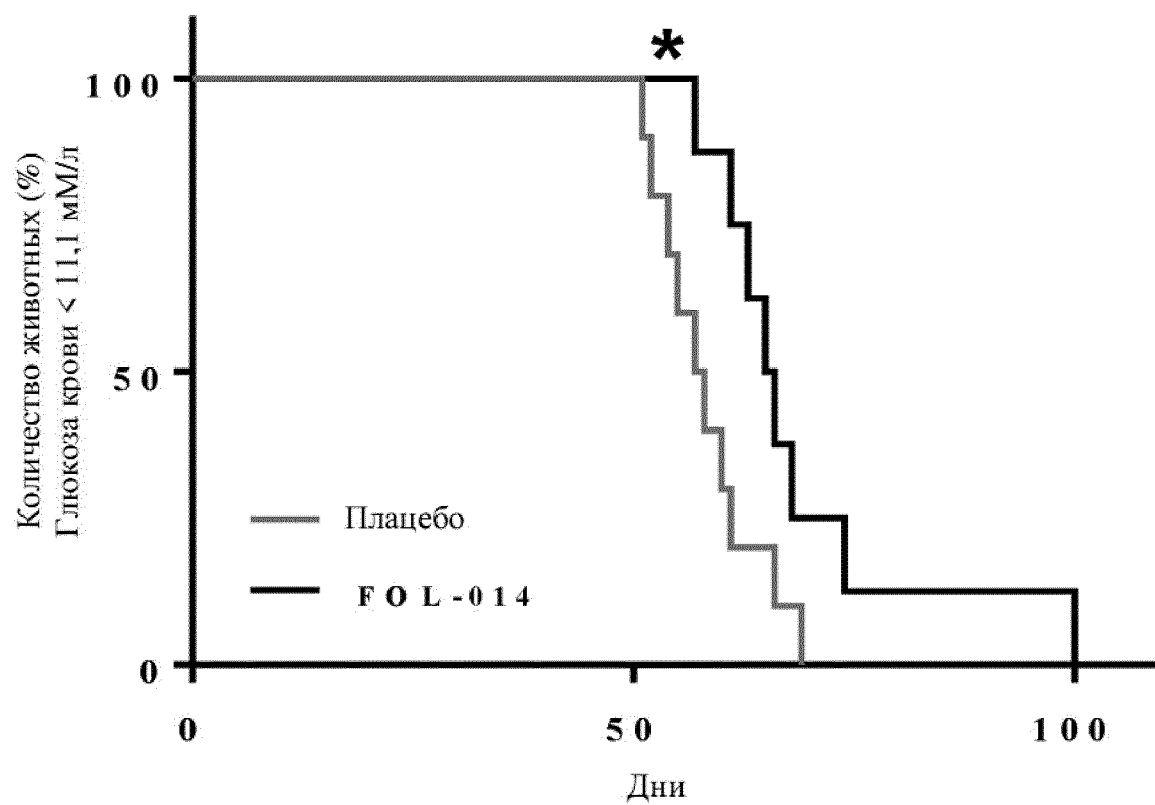
Фиг. 9

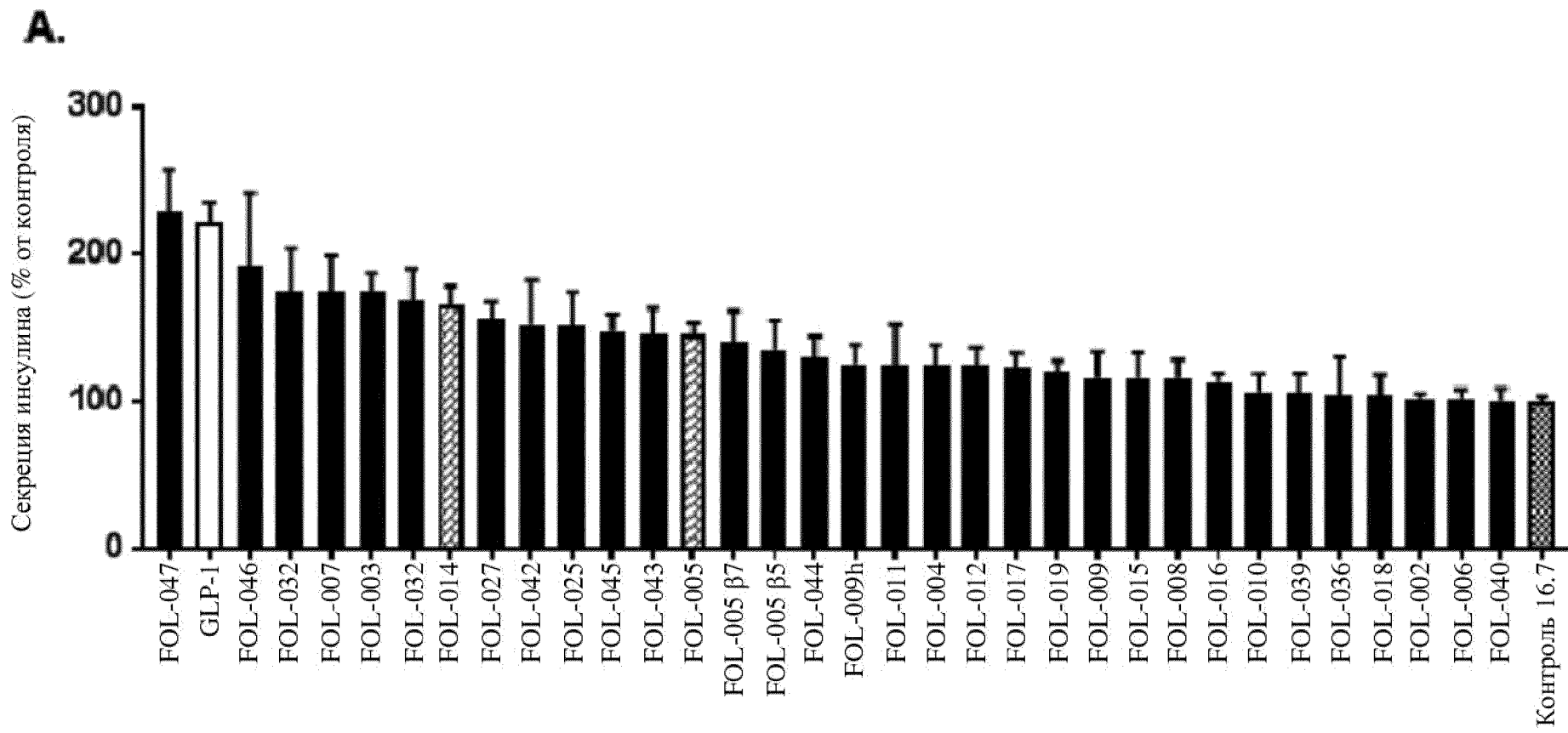


Фиг. 9, продолжение



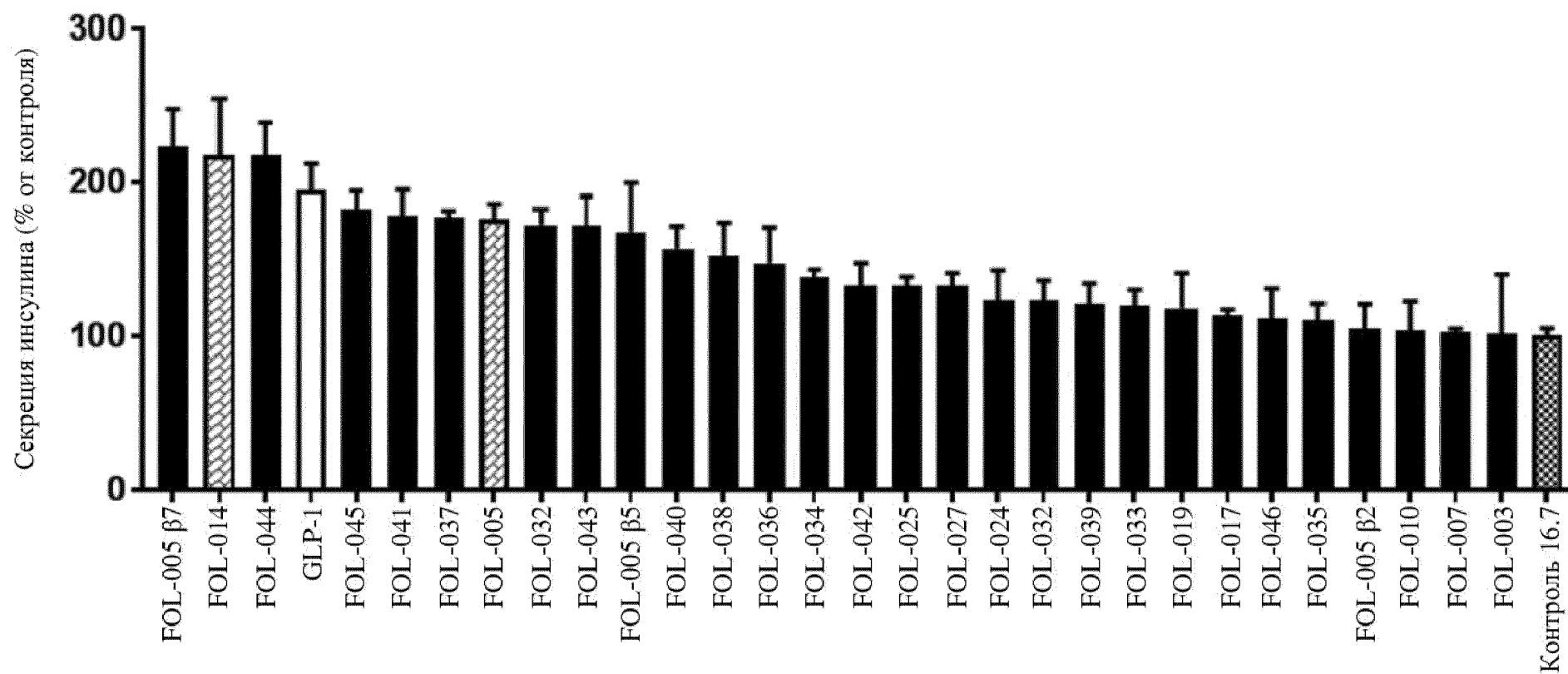
Фиг. 10

В.**Фиг. 10, продолжение**

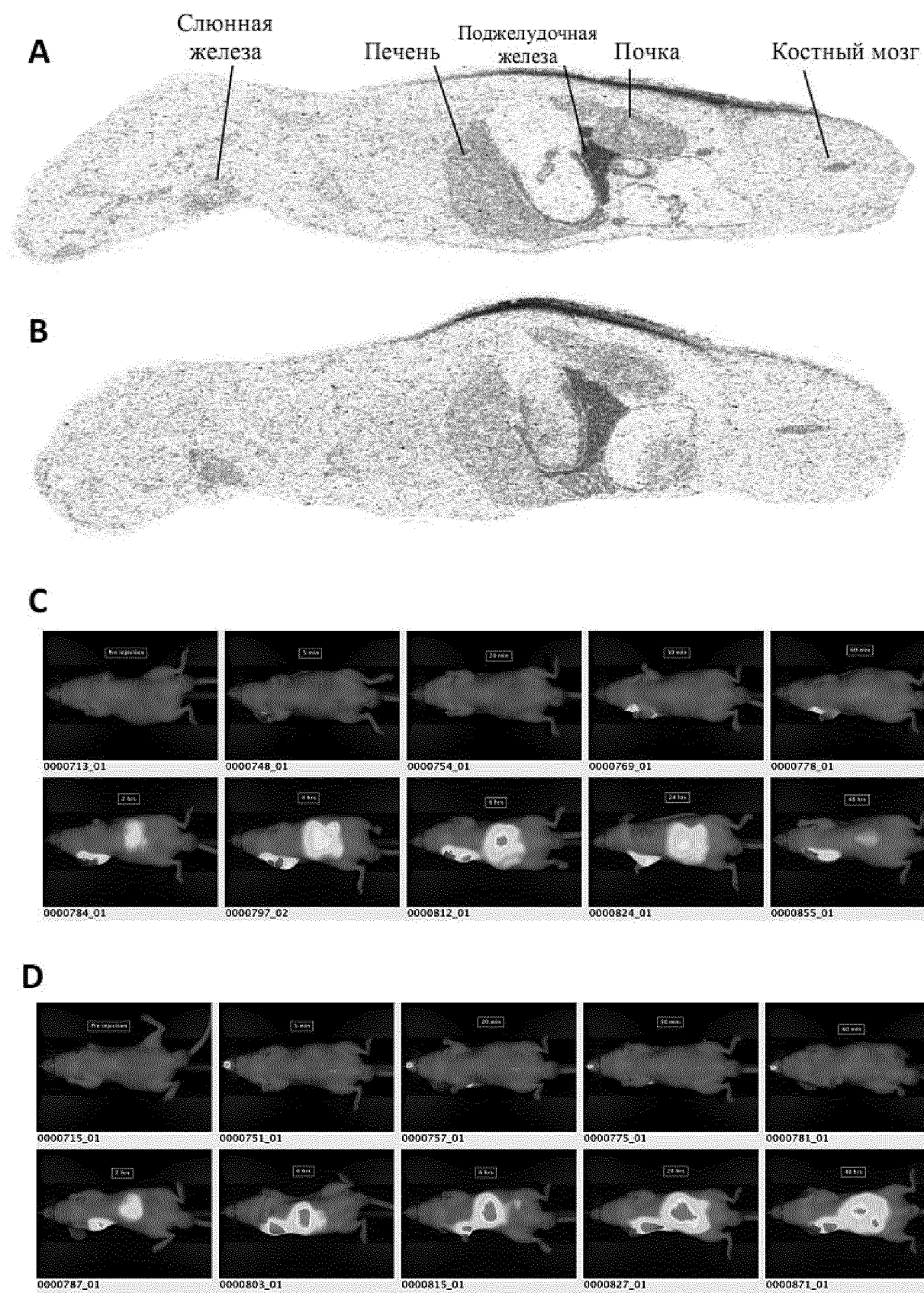


Фиг. 11

В.



Фиг. 11, продолжение



Фиг. 12