

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(11) 039333

(13) B1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2022.01.14

(51) Int. Cl. *A61K 9/08* (2006.01)
A61K 47/34 (2017.01)
A61K 38/28 (2006.01)

(21) Номер заявки
201892736

(22) Дата подачи заявки
2017.06.07

(54) ИНЪЕКЦИОННЫЙ РАСТВОР ИНСУЛИНА, СОДЕРЖАЩИЙ
СОПОЛИАМИНОКИСЛОТУ

(31) 1655222

(56) US-A1-2013178415

(32) 2016.06.07

(33) FR

(43) 2019.05.31

(86) PCT/EP2017/063886

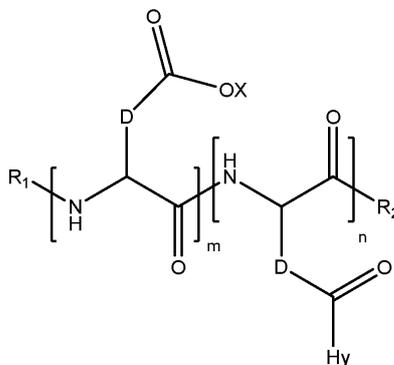
(87) WO 2017/211916 2017.12.14

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
АДОСИА (FR)

(72) Изобретатель:
Жесслер Александр, Лааж Сеголен,
Шарве Ришар, Сула Оливье (FR)

(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(57) Изобретение относится к физически стабильным композициям в форме инъекционного водного раствора, pH которого составляет от 6,0 до 8,0, включающего, по меньшей мере, а) базальный инсулин, имеющий значение изоэлектрической точки (pI) от 5,8 до 8,5, b) прандиальный инсулин или желудочно-кишечный гормон и c) сополиаминокислоту, несущую карбоксилатные заряды и по меньшей мере один гидрофобный радикал, при этом указанная сополиаминокислота состоит из глутаминовых или аспарагиновых звеньев, выбранных из сополиаминокислот формул VII



Формула VII.

039333 B1

039333 B1

Изобретение относится к терапиям с использованием инъекции инсулина(инсулинов) для лечения диабета.

Изобретение относится к физически стабильным композициям в форме инъекционного водного раствора, рН которого составляет от 6,0 до 8,0, включающего по меньшей мере один базальный инсулин, изоэлектрическая точка которого (pI) имеет значение от 5,8 до 8,5, в комбинации с прандиальным инсулином или желудочно-кишечным инсулиновым гормоном, или прандиальным инсулином и желудочно-кишечным гормоном, и сополиаминокислоту, несущую карбоксилатные заряды и гидрофобные радикалы.

Инсулинотерапия, или терапия диабета путем инъекции инсулина, существенно продвинулась за последние годы, в частности, благодаря разработке новых инсулинов, которые обеспечивают возможность лучшей коррекции гликемии у пациентов по сравнению с человеческим инсулином, и которые обеспечивают возможность лучшей стимуляции физиологической активности поджелудочной железы.

Когда у пациента диагностируют диабет II типа, назначается постепенное лечение. Сначала пациент принимает пероральные антидиабетические средства (OAD), такие как метформин. Когда применение только OAD больше недостаточно для регуляции уровня глюкозы в крови, необходимо изменить лечение, и в зависимости от индивидуальных особенностей пациента могут назначаться различные комбинации лечений. Например, пациент может принимать лечение на основе базального инсулина, такого как инсулин гларгин или инсулин детемир, в дополнение к OAD, а затем, в зависимости от развития патологии, лечение на основе базального инсулина и прандиального инсулина.

Кроме того, в настоящее время, чтобы обеспечить переход от лечений с использованием OAD к лечению базальным инсулином/прандиальным инсулином, когда прежние лечения больше не способны контролировать уровень глюкозы в крови, рекомендуются инъекции аналогов GLP-1 RA.

GLP-1 RA, агонисты рецептора глюкагоноподобного пептида-1, представляют собой инсулинотропные пептиды или инкретины и относятся к семейству желудочно-кишечных гормонов (или кишечных гормонов), которые стимулируют секрецию инсулина при слишком высокой гликемии, например, после еды.

Желудочно-кишечные гормоны (кишечные гормоны) также называют гормонами сытости. Они включают, в частности, GLP-1 RA (агонист рецептора глюкагоноподобного пептида-1) и GIP (глюкозо-зависимый инсулинотропный пептид), оксинтомодулин (производное проглюкагона), пептид YY, амилин, холецистокинин, панкреатический полипептид (PP), грелин и энтеростатин, которые имеют пептидные или белковые структуры. Они также стимулируют секрецию инсулина в ответ на глюкозу и жирные кислоты, и как таковые они являются потенциальными кандидатами для лечения диабета.

Среди указанных желудочно-кишечных гормонов GLP-1 RA являются такими, которые к настоящему времени привели к наилучшим результатам при разработке лекарственных средств. Они обеспечили возможность для пациентов, страдающих диабетом II типа, снижать массу тела и при этом иметь лучший контроль их гликемии.

Аналоги или производные GLP-1 RA также были разработаны, в частности, для улучшения их стабильности.

Кроме того, для диабетического пациента, чтобы покрыть его/ее ежедневные потребности в инсулине упрощенным образом, в настоящее время доступны два типа инсулинов, обладающих комбинированными действиями: прандиальные инсулины (или так называемые быстродействующие инсулины) и базальные инсулины (или так называемые инсулины кратковременного действия).

Прандиальные инсулины обеспечивают быстрый контроль (метаболизация и/или накопление) глюкозы, потребленной с пищей и перекусами. Пациент должен самостоятельно вводить инъекцию прандиального инсулина перед каждым приемом пищи, т.е. примерно от 2 до 3 инъекций в день. Прандиальные инсулины, наиболее часто используемые, представляют собой человеческий рекомбинантный инсулин, Новолог® (инсулин аспарт от NOVO NORDISK), Хумалог® (инсулин лизпро от ELI LILLY) и Апидра® (инсулин глуглизин от SANOFI).

Назальные инсулины обеспечивают поддержание гликемического гомеостаза пациента вне периодов приема пищи. Они действуют, по существу, блокируя эндогенную выработку глюкозы (печеночная глюкоза). Ежедневная доза базального инсулина обычно соответствует 40-50% от общей ежедневной потребности в инсулине. В зависимости от используемого базального инсулина эту дозу вводят в виде 1 или 2 инъекций, распределенных равномерно в течение дня. Назальные инсулины, наиболее часто используемые, представляют собой Левемир® (инсулин детемир от NOVO NORDISK) и Лантус® (инсулин гларгин от SANOFI).

Для полноты картины следует отметить, что NPH (инсулин NPH, что означает нейтральный протамин-инсулин Хагедорна; Хумалин NPH®, Инсулатард®) является самым старым базальным инсулином. Этот препарат получают в результате осаждения человеческого инсулина (анионный при нейтральном рН) катионным белком протамином. Образовавшиеся таким образом микрокристаллы диспергируются в водной суспензии и медленно растворяются после подкожной инъекции. Это медленное растворение обеспечивает пролонгированное высвобождение инсулина. Однако это высвобождение не обеспечивает

постоянную концентрацию инсулина в течение некоторого времени. Профиль высвобождения колоколообразный и продолжается только 12-16 ч. Поэтому указанный инсулин вводят два раза в день. Этот базальный инсулин NPH значительно менее эффективен, чем современные базальные инсулины Левемир® и Лантус®. NPH представляет собой базальный инсулин средней продолжительности действия.

Принцип NPH развился с появлением быстрых аналогов инсулина, дающих начало так называемым "премиксным" продуктам, которые предлагают быстрое действие и среднюю продолжительность действия одновременно. Novolog Mix® (NOVO NORDISK) и Humalog Mix® (ELI LILLY) представляют собой препараты, содержащие быстрый аналог инсулина, Новолог® и Хумалог®, частично связанный в комплекс протамином. Таким образом, эти препараты содержат микрокристаллы аналога инсулина, действие которых называют средним по продолжительности, и часть инсулина, которая остается растворимой, действие которой является быстрым. Эти препараты действительно предлагают преимущество быстрого инсулина, но они также имеют недостаток NPH, т.е. продолжительность действия, ограниченную 12-16 ч, и колокообразный профиль высвобождения инсулина. Однако эти продукты позволяют пациенту самостоятельно вводить базальный инсулин средней продолжительности действия вместе с быстродействующим прандиальным инсулином в виде одной инъекции. Однако многие пациенты хотят уменьшить количество инъекций.

В настоящее время поставляемые на рынок базальные инсулины можно классифицировать на основании технического решения, которое делает возможным получение пролонгированного действия, и в настоящее время используют два подхода.

Первый подход с использованием инсулина детемира включает *in vivo* связывание с альбумином. Это предполагает аналог, растворимый при pH 7, который включает боковую цепь жирной кислоты (тетрадеcanoил), связанную в положении B29, что позволяет *in vivo* этому инсулину объединяться с альбумином. Его пролонгированное действие преимущественно получают за счет этой аффинности в отношении альбумина после подкожной инъекции.

Однако его фармакокинетический профиль не может охватывать весь день, и как результат его обычно используют в виде двух инъекций ежедневно.

Другой инсулин, который растворим при pH 7, представляет собой инсулин деглудек, поставляемый на рынок под названием Тресиба®^d. Он также включает боковую цепь жирной кислоты, связанную с инсулином (гексадекандиоил- γ -L-Glu).

Второй подход с использованием инсулина гларгина включает осаждение при физиологическом pH. Инсулин гларгин представляет собой аналог человеческого инсулина, полученный путем удлинения C-концевой части В цепи человеческого инсулина двумя аргининовыми остатками и путем замены аспарагинового остатка A21 глициновым остатком (US 5656722). Добавление двух аргининовых остатков было предназначено для регулирования pI (изоэлектрическая точка) инсулина гларгина при физиологическом pH, чтобы, таким образом, сделать аналог человеческого инсулина нерастворимым в физиологической среде.

Кроме того, замена A21 предназначена для того, чтобы сделать инсулин гларгин стабильным при кислотном pH и чтобы его можно было формулировать в виде раствора, который представляет собой инъекционный раствор при кислотном pH. В процессе подкожной инъекции переход инсулина гларгина от кислотного pH (pH 4-4,5) до физиологического pH (нейтральный pH) вызывает его осаждение под кожей. Медленное повторное растворение микрочастиц инсулина гларгина обеспечивает медленное и пролонгированное действие.

Гипогликемический эффект инсулина гларгина является практически постоянным на протяжении 24 ч, что позволяет большинству пациентов ограничиваться одной инъекцией в день.

Инсулин гларгин сегодня считается наиболее часто используемым базальным инсулином.

Однако обязательно кислотный pH композиций базальных инсулинов, изоэлектрическая точка которых имеет значение от 5,8 до 8,5, для инсулина гларгинового типа может быть реальным недостатком, поскольку этот кислотный pH препарата инсулина гларгина иногда вызывает боль у пациентов в процессе инъекции, и особенно потому, что он делает невозможным формулирование с другими белками, особенно с прандиальными инсулинами, поскольку последние нестабильны при кислотном pH. Невозможность формулирования прандиального инсулина при кислотном pH возникает из-за того, что в этих условиях прандиальный инсулин подвергается побочной реакции дезамидирования в положении A21, что не позволяет ему соответствовать требованиям стабильности, предъявляемым к инъекционным лекарственным препаратам.

К настоящему времени в заявках WO 2013/021143 A1, WO 2013/104861 A1, WO 2014/124994 A1 и WO 2014/124993 A1 было продемонстрировано, что можно сделать растворимыми эти базальные инсулины типа инсулина гларгина, имеющего изоэлектрическую точку от 5,8 до 8,5, при нейтральном pH, одновременно поддерживая при этом разницу растворимости между *in-vitro* средой (которая его содержит) и *in-vivo* средой (под кожей) независимо от pH.

В частности, заявка WO 2013/104861 A1 описывает композиции в форме инъекционного водного раствора, pH которого составляет от 6,0 до 8,0, включающего, по меньшей мере, (а) базальный инсулин,

имеющий изоэлектрическую точку pI от 5,8 до 8,5, и (b) сополиаминокислоту, которая несет карбоксилатные заряды и которая замещена гидрофобными радикалами.

Основным недостатком этих композиций предшествующего уровня техники является то, что они недостаточно стабильны, чтобы соответствовать требованиям, предъявляемым к фармацевтическим композициям.

В примерах в экспериментальной части настоящей патентной заявки продемонстрировано, что композиции, описанные, в частности, в WO 2013/104861 A1, демонстрируют неудовлетворительную стабильность с течением времени.

Поэтому необходимо найти раствор, который позволяет растворять базальный инсулин, имеющий значение изоэлектрической точки (pI) от 5,8 до 8,5, сохраняя при этом его базальный профиль после инъекции, но который также позволяет соответствовать стандартным условиям физической стабильности для фармацевтических продуктов на основе инсулина.

К удивлению заявителем было обнаружено, что сополиаминокислоты, несущие карбоксилатные заряды и гидрофобные радикалы, в соответствии с изобретением позволяют получить композиции в форме растворов, которые не только соответствуют требованиям, описанным в WO 2013/104861 A1, но которые также способны придавать улучшенную физическую стабильность указанной композиции, без необходимости увеличения количества используемых эксципиентов.

Эти технические характеристики, никогда не достигаемые а priori, кроме того, поддерживаются, когда базальный инсулин, имеющий значение изоэлектрической точки от 5,8 до 8,5, объединяют в композицию с прандиальным инсулином и/или желудочно-кишечным гормоном.

Таким образом, к удивлению, аффинность сополиаминокислот в соответствии с изобретением в отношении инсулина гларгина повышалась, что делает возможным достижение солиubilизации и стабилизации растворов инсулина гларгина при отношении [Ну]/[базальный инсулин] ниже, чем известное из предшествующего уровня техники; кроме того, эти результаты получены без изменения, и даже при улучшении, склонности инсулина гларгина к осаждению, как продемонстрировано в экспериментальной части.

Это улучшение аффинности также позволяет ограничить уровень воздействия указанных эксципиентов в контексте длительных лечений.

Сополиаминокислоты, несущие карбоксилатные заряды и гидрофобные радикалы Ну, в соответствии с изобретением демонстрируют отличную устойчивость к гидролизу. Это может быть показано, в частности, в ускоренных условиях, например, путем испытаний на гидролиз при щелочном pH (pH 12).

Кроме того, испытания на ускоренное окисление, например, окисление по Фентону, показывают, что сополиаминокислоты, несущие карбоксилатные заряды и гидрофобные радикалы Ну, демонстрируют хорошую устойчивость к окислению.

Изобретение, таким образом, относится к физически стабильным композициям в форме инъекционного водного раствора, pH которого составляет от 6,0 до 8,0, включающего по меньшей мере

- a) один базальный инсулин, изоэлектрическая точка (pI) которого имеет значение от 5,8 до 8,5,
- b) прандиальный инсулин и/или желудочно-кишечный гормон и
- c) сополиаминокислоту, несущую карбоксилатные заряды и по меньшей мере один гидрофобный радикал формулы I.

В одном варианте осуществления изобретение относится к композиции в форме инъекционного водного раствора, pH которого составляет от 6,0 до 8,0, включающего по меньшей мере

- a) один базальный инсулин, изоэлектрическая точка (pI) которого имеет значение от 5,8 до 8,5,
- b) прандиальный инсулин и
- c) сополиаминокислоту, несущую карбоксилатные заряды и по меньшей мере один гидрофобный радикал формулы I.

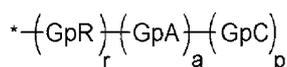
В одном варианте осуществления изобретение относится к композиции в форме инъекционного водного раствора, pH которого составляет от 6,0 до 8,0, включающего по меньшей мере

- a) один базальный инсулин, изоэлектрическая точка (pI) которого имеет значение от 5,8 до 8,5,
- b) желудочно-кишечный гормон и
- c) сополиаминокислоту, несущую карбоксилатные заряды и по меньшей мере один гидрофобный радикал формулы I.

В одном варианте осуществления изобретение относится к композиции в форме инъекционного водного раствора, pH которого составляет от 6,0 до 8,0, включающего по меньшей мере

- a) один базальный инсулин, изоэлектрическая точка (pI) которого имеет значение от 5,8 до 8,5,
- b) прандиальный инсулин и желудочно-кишечный гормон и
- c) сополиаминокислоту, несущую карбоксилатные заряды и по меньшей мере один гидрофобный радикал формулы I.

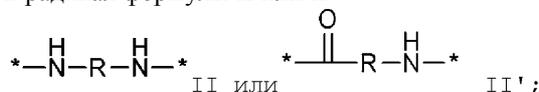
В одном варианте осуществления указанная сополиаминокислота, несущая карбоксилатные заряды и гидрофобные радикалы Ну, состоит из глутаминовых или аспарагиновых звеньев, и указанные гидрофобные радикалы Ну представляют собой радикалы следующей формулы I:



Формула I

в которой

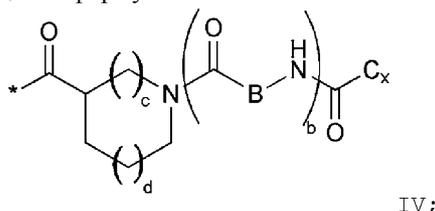
-GrR представляет собой радикал формулы II или II'



-GrA представляет собой радикал формулы III или III'



-GrC представляет собой радикал формулы IV



IV;

Ну включает больше чем 30 атомов углерода;

* указывает места присоединения различных групп, связанных амидными функциями;

a представляет собой целое число, имеющее значение 0 или 1;

b представляет собой целое число, имеющее значение 0 или 1;

p представляет собой целое число, имеющее значение 1 или 2, и

когда p равен 1, тогда a равен 0 или 1, и GrA представляет собой радикал формулы III', и когда p равен 2, тогда a равен 1, и GrA представляет собой радикал формулы III;

c представляет собой целое число, имеющее значение 0 или 1, и

когда c равен 0, тогда d равен 1 или 2;

d представляет собой целое число, имеющее значение 0, до 1 или 2;

g представляет собой целое число, имеющее значение 0 или 1, и

когда g равен 0, тогда гидрофобный радикал формулы I связан с полиаминокислотой через ковалентную связь между карбонилем гидрофобного радикала и атомом азота в N-концевом положении сополиаминокислоты, с образованием, таким образом, амидной функции, образующейся в результате взаимодействия аминной функции в N-концевом положении предшественника сополиаминокислоты и кислотной функции, происходящей из предшественника гидрофобного радикала, и

когда g равен 1, тогда гидрофобный радикал формулы I связан с сополиаминокислотой

через ковалентную связь между атомом азота гидрофобного радикала и карбонилем сополиаминокислоты с образованием, таким образом, амидной функции, образующейся в результате взаимодействия аминной функции предшественника гидрофобного радикала и кислотной функции, происходящей из предшественника сополиаминокислоты, или

через ковалентную связь между карбонилем гидрофобного радикала и атомом азота в N-концевом положении сополиаминокислоты с образованием, таким образом, амидной функции, образующейся в результате взаимодействия кислотной функции предшественника гидрофобного радикала и аминной функции в N-концевом положении, происходящей из предшественника сополиаминокислоты;

R представляет собой радикал, выбранный из группы, состоящей из

линейного или разветвленного двухвалентного алкильного радикала, включающего, когда GrR представляет собой радикал формулы II, от 2 до 12 атомов углерода, или когда GrR представляет собой радикал формулы II', от 1 до 11 атомов углерода;

линейного или разветвленного двухвалентного алкильного радикала, включающего, когда GrR представляет собой радикал формулы II, от 2 до 11 атомов углерода, или когда GrR представляет собой радикал формулы II', от 1 до 11 атомов углерода, где указанный алкильный радикал несет одну или несколько -CONH₂ функции, и

незамещенного эфирного или полиэфирного радикала, включающего от 4 до 14 атомов углерода и от 1 до 5 атомов кислорода;

A представляет собой линейный или разветвленный алкильный радикал, включающий от 1 до 6 атомов углерода;

B представляет собой линейный или разветвленный алкильный радикал, необязательно, включающий ароматическое кольцо, включающее от 1 до 9 атомов углерода;

C_x представляет собой линейный или разветвленный одновалентный алкильный радикал, где x указывает количество атомов углерода, и

когда p равен 1, x имеет значение от 11 до 25 ($11 \leq x \leq 25$);
 когда p равен 2, x имеет значение от 9 до 15 ($9 \leq x \leq 15$),
 соотношение i между количеством гидрофобных радикалов и количеством глутаминовых или аспарагиновых звеньев находится между $0 < i \leq 0,5$;
 когда сополиаминокислота несет несколько гидрофобных радикалов, тогда они являются одинаковыми или отличными друг от друга,
 степень полимеризации DP в глутаминовых или аспарагиновых звеньях составляет от 5 до 250;
 свободные кислотные функции находятся в форме соли щелочного катиона, выбранного из группы, состоящей из Na^+ и K^+ .
 pH композиций в соответствии с изобретением составляет от 6,0 до 8,0, предпочтительно от 6,6 до 7,8 или более предпочтительно от 6,8 до 7,6.

Указанная сополиаминокислота, несущая карбоксилатные заряды и гидрофобные радикалы Hu , растворима в водном растворе при pH от 6 до 8, при температуре $25^\circ C$ и при концентрации меньше чем 60 мг/мл.

Термин "физически стабильная композиция" следует понимать как означающий композиции, которые удовлетворяют критериям визуального контроля, описанным в европейской, американской и международных Фармакопеях, т.е. композиции, которые являются прозрачными и не содержат никаких видимых частиц, но которые также являются бесцветными.

Термин "инъекционный водный раствор" следует понимать как означающий растворы, где растворителем является вода, которые удовлетворяют условиям EP и US Фармакопеи.

Термин "сополиаминокислота, состоящая из глутаминовых или аспарагиновых звеньев" следует понимать как означающий нециклические линейные цепи из звеньев глутаминовой кислоты или аспарагиновой кислоты, которые связаны друг с другом пептидными связями, при этом указанные цепи имеют C-концевую часть, соответствующую карбоновой кислоте, на одном конце и N-концевую часть, соответствующую амину, на другом конце цепи.

"Растворимый" следует понимать как способный обеспечить получение прозрачного раствора, который не содержит частицы, при концентрации меньше чем 60 мг/мл в дистиллированной воде при $25^\circ C$.

"Алкильный радикал" следует понимать как означающий линейную или разветвленную углеродную цепь, которая не включает никаких гетероатомов.

Сополиаминокислота представляет собой статистическую сополиаминокислоту в цепи из глутаминовых и/или аспарагиновых звеньев.

В формулах * указывает места присоединения различных представленных элементов.

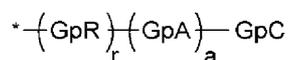
В одном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением отличается тем, что Hu включает больше чем 30 атомов углерода.

В одном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением отличается тем, что Hu включает от 30 до 70 атомов углерода.

В одном варианте осуществления, когда $p=1$, x имеет значение от 11 до 25 ($11 \leq x \leq 25$). В частности, когда x имеет значение от 15 до 16 ($x=15$ или 16), тогда $r=1$ и R представляет собой эфирный или полиэфирный радикал, и, когда x больше чем 17 ($x \geq 17$), тогда $r=1$ и R представляет собой эфирный или полиэфирный радикал.

В одном варианте осуществления, когда $p=2$, x имеет значение от 9 до 15 ($9 \leq x \leq 15$).

В одном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением отличается тем, что указанные гидрофобные радикалы выбраны из гидрофобных радикалов формулы I, в которой $p=1$, представленных следующей формулой V:



формула V

GpR , GpA , GpC , r и a имеют значения, определенные выше.

В одном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением отличается тем, что гидрофобный радикал представляет собой радикал формулы V, в которой r равен 1 ($r=1$) и a равен 0 ($a=0$).

В одном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением отличается тем, что гидрофобный радикал представляет собой радикал формулы V, в которой r равен 1 ($r=1$) и a равен 1 ($a=1$).

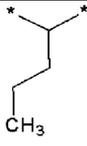
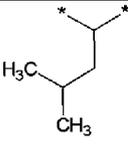
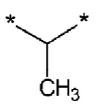
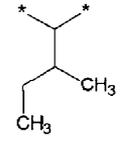
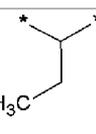
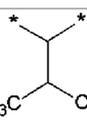
В одном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением отличается тем, что гидрофобный радикал представляет собой радикал формулы V, в которой GpR представляет собой радикал формулы II.

В одном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением отличается тем, что гидрофобный радикал представляет собой радикал формулы V, в которой GpR представляет собой радикал формулы II, в которой R представляет собой двухвалентный линейный алкильный радикал, вклю-

В одном варианте осуществления композиция отличается тем, что гидрофобный радикал представляет собой радикал формулы V, в которой GrR представляет собой радикал формулы II, в которой R представляет собой полиэфирный радикал формулы X6.

В одном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением отличается тем, что гидрофобный радикал представляет собой радикал формулы V, в которой a равен 0 (a=0) и r равен 0 (r=0).

В одном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением отличается тем, что гидрофобный радикал представляет собой радикал формулы V, в которой a равен 1 (a=1), и радикал GrA формулы III' выбран из группы, состоящей из радикалов, представленных формулами ниже

 Формула Y1	 Формула Y2	 Формула Y3
 Формула Y4	 Формула Y5	 Формула Y6
 Формула Y7	 Формула Y8	

В одном варианте осуществления композиция отличается тем, что гидрофобный радикал представляет собой радикал формулы V, в которой a равен 1 (a=1), и радикал GrA формулы III' представляет собой радикал формулы Y1.

В одном варианте осуществления композиция отличается тем, что гидрофобный радикал представляет собой радикал формулы V, в которой a равен 1 (a=1), и радикал GrA формулы III' представляет собой радикал формулы Y2.

В одном варианте осуществления композиция отличается тем, что гидрофобный радикал представляет собой радикал формулы V, в которой a равен 1 (a=1), и радикал GrA формулы III' представляет собой радикал формулы Y3.

В одном варианте осуществления композиция отличается тем, что гидрофобный радикал представляет собой радикал формулы V, в которой a равен 1 (a=1), и радикал GrA формулы III' представляет собой радикал формулы Y4.

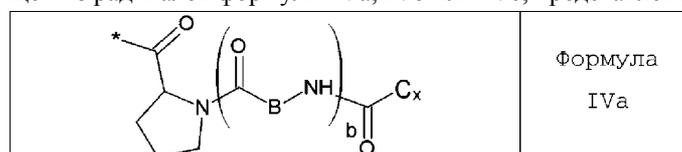
В одном варианте осуществления композиция отличается тем, что гидрофобный радикал представляет собой радикал формулы V, в которой a равен 1 (a=1), и радикал GrA формулы III' представляет собой радикал формулы Y5.

В одном варианте осуществления композиция отличается тем, что гидрофобный радикал представляет собой радикал формулы V, в которой a равен 1 (a=1), и радикал GrA формулы III' представляет собой радикал формулы Y6.

В одном варианте осуществления композиция отличается тем, что гидрофобный радикал представляет собой радикал формулы V, в которой a равен 1 (a=1), и радикал GrA формулы III' представляет собой радикал формулы Y7.

В одном варианте осуществления композиция отличается тем, что гидрофобный радикал представляет собой радикал формулы V, в которой a равен 1 (a=1), и радикал GrA формулы III' представляет собой радикал формулы Y8.

В одном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением отличается тем, что гидрофобный радикал представляет собой радикал формулы V, в которой радикал GrC формулы IV выбран из группы, состоящей из радикалов формулы IVa, IVb или IVc, представленных ниже



	Формула IVb
	Формула IVc

В одном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением отличается тем, что гидрофобный радикал представляет собой радикал формулы V, в которой радикал GrC имеет формулу IVa.

В одном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением отличается тем, что гидрофобный радикал представляет собой радикал формулы V, в которой радикал GrC формулы IV выбран из группы, состоящей из радикалов формулы IVa, IVb или IVc, в которой b равен 0, имеющих формулы IVd, IVe и IVf, соответственно, представленные ниже

	Формула IVd
	Формула IVe
	Формула IVf

В одном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением отличается тем, что гидрофобный радикал представляет собой радикал формулы V, в которой радикал GrC соответствует формуле IV или IVa, в которой b=0, и соответствует формуле IVd.

В одном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением отличается тем, что гидрофобный радикал представляет собой радикал формулы V, в которой радикал GrC формулы IV, в которой b=1, выбран из группы, состоящей из радикалов, в которых В представляет собой аминокислотный остаток, выбранный из группы, состоящей из радикалов, представленных формулами ниже

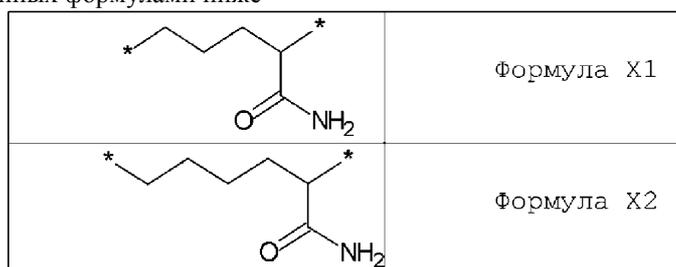
В одном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением отличается тем, что

В одном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением отличается тем, что гидрофобный радикал представляет собой радикал формулы VI, в которой GpR представляет собой радикал формулы II', в которой R представляет собой двухвалентный алкильный радикал, включающий от 1 до 6 атомов углерода.

В одном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением отличается тем, что гидрофобный радикал представляет собой радикал формулы VI, в которой GpR представляет собой радикал формулы II или II', в которой R представляет собой двухвалентный алкильный радикал, включающий от 2 до 5 атомов углерода и несущий одну или несколько амидных функций (-CONH₂).

В одном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением отличается тем, что гидрофобный радикал представляет собой радикал формулы VI, в которой GpR представляет собой радикал формулы II или II', в которой R представляет собой двухвалентный линейный алкильный радикал, включающий от 2 до 5 атомов углерода и несущий одну или несколько амидных функций (-CONH₂).

В одном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением отличается тем, что гидрофобный радикал представляет собой радикал формулы VI, в которой GpR представляет собой радикал формулы II или II', в которой R представляет собой радикал, выбранный из группы, состоящей из радикалов, представленных формулами ниже



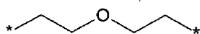
В одном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением отличается тем, что гидрофобный радикал представляет собой радикал формулы VI, в которой аминную функцию GpR радикала, вовлеченную в образование амидной функции, которая связывает указанный GpR радикал с сополиаминокислотой, несет углерод в дельта или эpsilon положении (или в положении 4 или 5) относительно амидной функции (-CONH₂).

В одном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением отличается тем, что гидрофобный радикал представляет собой радикал формулы VI, в которой GpR представляет собой радикал формулы II или II', в которой R представляет собой незамещенный линейный эфирный или полиэфирный радикал, включающий от 4 до 14 атомов углерода и от 1 до 5 атомов кислорода.

В одном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением отличается тем, что гидрофобный радикал представляет собой радикал формулы VI, в которой GpR представляет собой радикал формулы II или II', в которой R представляет собой эфирный радикал.

В одном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением отличается тем, что эфирный радикал R представляет собой радикал, включающий от 4 до 6 атомов углерода.

В одном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением отличается тем, что

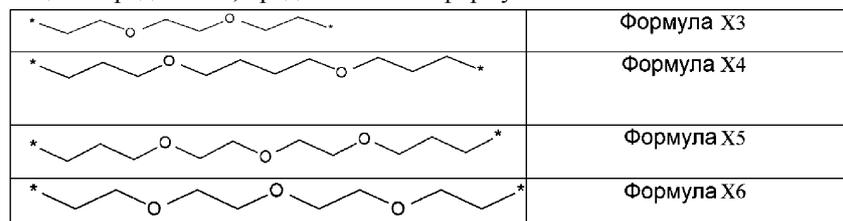


эфирный радикал представляет собой / формулы X7.

В одном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением отличается тем, что гидрофобный радикал представляет собой радикал формулы VI, в которой GpR представляет собой радикал формулы II или II', в которой R представляет собой полиэфирный радикал.

В одном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением отличается тем, что гидрофобный радикал представляет собой радикал формулы VI, в которой GpR представляет собой радикал формулы II или II', в которой R представляет собой линейный полиэфирный радикал, включающий от 6 до 10 атомов углерода и от 2 до 3 атомов кислорода.

В одном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением отличается тем, что гидрофобный радикал представляет собой радикал формулы VI, в которой GpR представляет собой радикал формулы II или II', в которой R представляет собой линейный полиэфирный радикал, выбранный из группы, состоящей из радикалов, представленных формулами ниже



В одном варианте осуществления композиция отличается тем, что гидрофобный радикал представ-

ляет собой радикал формулы VI, в которой GrR представляет собой радикал формулы II или II', в которой R представляет собой линейный полиэфирный радикал формулы X3.

В одном варианте осуществления композиция отличается тем, что гидрофобный радикал представляет собой радикал формулы VI, в которой GrR представляет собой радикал формулы II или II', в которой R представляет собой линейный полиэфирный радикал формулы X4.

В одном варианте осуществления композиция отличается тем, что гидрофобный радикал представляет собой радикал формулы VI, в которой GrR представляет собой радикал формулы II или II', в которой R представляет собой линейный полиэфирный радикал формулы X5.

В одном варианте осуществления композиция отличается тем, что гидрофобный радикал представляет собой радикал формулы VI, в которой GrR представляет собой радикал формулы II или II', в которой R представляет собой линейный полиэфирный радикал формулы X6.

В одном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением отличается тем, что гидрофобный радикал представляет собой радикал формулы VI, в которой радикал GrA формулы III выбран из группы, состоящей из радикалов формул IIIa и IIIb, представленных ниже

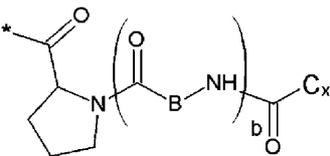
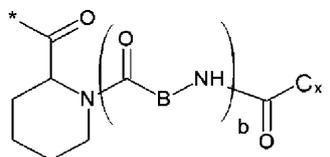
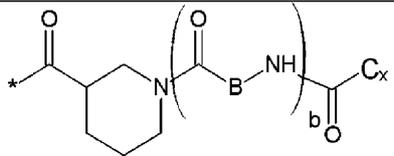
	Формула IIIa
	Формула IIIb
	Формула IIIc

В одном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением отличается тем, что гидрофобный радикал представляет собой радикал формулы VI, в которой радикал GrA формулы III представляет собой радикал формулы IIIb, представленной ниже

	Формула IIIb
--	-----------------

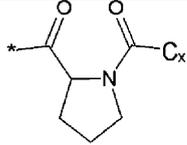
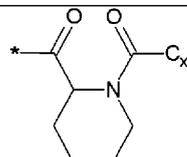
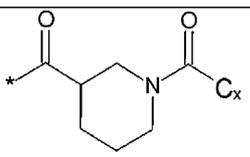
В одном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением отличается тем, что гидрофобный радикал представляет собой радикал формулы VI, в которой радикал GrA формулы III представляет собой радикал формулы IIIc.

В одном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением отличается тем, что гидрофобный радикал представляет собой радикал формулы VI, в которой радикал GrC формулы IV выбран из группы, состоящей из радикалов формул IVa, IVb и IVc, представленных ниже

	Формула IV _a
	Формула IV _b
	Формула IV _c

В одном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением отличается тем, что гидрофобный радикал представляет собой радикал формулы VI, в которой радикал GrC имеет формулу IV_a.

В одном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением отличается тем, что гидрофобный радикал представляет собой радикал формулы VI, в которой радикал GrC формулы IV выбран из группы, состоящей из радикалов формулы IV_a, IV_b или IV_c, в которой b равен 0, соответствующих формулам IVd, IVe и IVf, соответственно, представленным ниже

	Формула IV _d
	Формула IV _e
	Формула IV _f

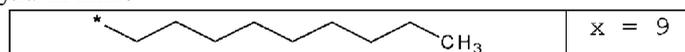
В одном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением отличается тем, что гидрофобный радикал представляет собой радикал формулы VI, в которой радикал GrC соответствует формуле IV или IV_a, в которой b=0, и он соответствует формуле IVd.

В одном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением отличается тем, что гидрофобный радикал представляет собой радикал формулы VI, в которой радикал GrC формулы IV выбран из группы, состоящей из радикалов, в которых S_x выбран из группы, состоящей из линейных алкильных радикалов, включающих от 9 до 15 атомов углерода.

В одном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением отличается тем, что гидрофобный радикал представляет собой радикал формулы VI, в которой радикал GrC формулы IV выбран из группы, состоящей из радикалов, в которых S_x выбран из группы, состоящей из разветвленных алкильных радикалов, включающих от 9 до 15 атомов углерода.

В одном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением отличается тем, что гидрофобный радикал представляет собой радикал формулы VI, в которой радикал GrC формулы IV выбран из группы, состоящей из радикалов, в которых S_x выбран из группы, состоящей из алкильных радикалов, включающих 9 или 10 атомов углерода.

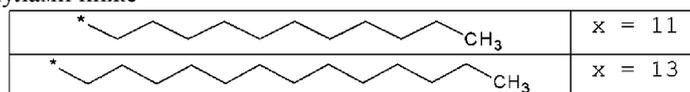
В одном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением отличается тем, что гидрофобный радикал представляет собой радикал формулы VI, в которой радикал GrC формулы IV выбран из группы, состоящей из радикалов, в которых S_x выбран из группы, состоящей из радикалов, представленных формулами ниже



В одном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением отличается тем, что гидрофобный радикал представляет собой радикал формулы VI, в которой радикал GrC формулы IV выбран из группы, состоящей из радикалов, в которых Sx выбран из группы, состоящей из алкильных радикалов, включающих от 11 до 15 атомов углерода.

В одном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением отличается тем, что гидрофобный радикал представляет собой радикал формулы VI, в которой радикал GrC формулы IV выбран из группы, состоящей из радикалов, в которых Sx выбран из группы, состоящей из алкильных радикалов, включающих от 11 до 13 атомов углерода.

В одном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением отличается тем, что гидрофобный радикал представляет собой радикал формулы VI, в которой радикал GrC формулы IV выбран из группы, состоящей из радикалов, в которых Sx выбран из группы, состоящей из радикалов, представленных формулами ниже



В одном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением отличается тем, что гидрофобный радикал представляет собой радикал формулы VI, в которой радикал GrC формулы IV выбран из группы, состоящей из радикалов, в которых Sx выбран из группы, состоящей из алкильных радикалов, включающих 14 или 15 атомов углерода.

В одном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением отличается тем, что гидрофобный радикал представляет собой радикал формулы VI, в которой радикал GrC формулы IV выбран из группы, состоящей из радикалов, в которых Sx выбран из группы, состоящей из радикалов, представленных формулами ниже



В формулах I, V и VI звездочка * указывает места присоединения гидрофобных радикалов к сополиаминокислоте. Радикалы Ну присоединены к сополиаминокислоте через амидные функции.

В формулах II и II' звездочка * указывает, слева направо, соответственно, места присоединения GrR к сополиаминокислоте и к GrA, если a=1, или к GrC, если a=0.

В формулах III и III' звездочка * указывает, слева направо, соответственно, места присоединения GrA

к GrR, если r=1, или к сополиаминокислоте, если r=0, и к GrC.

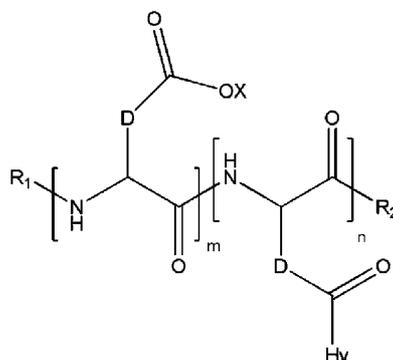
В формуле IV звездочка * указывает место присоединения GrC к GrA, если a=1, GrR, если r=1 и a=0, или к сополиаминокислоте, если r=0 и a=0.

Все присоединения между различными группами GrR, GrA и GrC представляют собой амидные функции.

Радикалы Ну, GrR, GrA, GrC и D, каждый независимо, являются одинаковыми или различаются от одного остатка к другому.

Когда сополиаминокислота включает одно аспарагиновое звено или несколько аспарагиновых звеньев, оно/они могут подвергаться структурным перегруппировкам.

В одном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением отличается тем, что сополиаминокислота, которая несет карбоксилатные заряды и гидрофобные радикалы, выбрана из сополиаминокислоты следующей формулы VII:



Формула VII

в которой

D представляет собой, независимо, либо -CH₂-группу (аспарагиновое звено), либо -CH₂-CH₂-группу (глутаминовое звено),

Ну представляет собой гидрофобный радикал, выбранный из гидрофобных радикалов формулы I, V или VI, в которой $r=1$ и GrR представляет собой радикал формулы II,

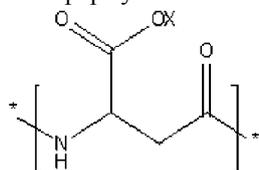
R_1 представляет собой гидрофобный радикал, выбранный из гидрофобных радикалов формулы I, V или VI, в которой $r=0$ или $r=1$ и GrR представляет собой радикал формулы II', или радикал, выбранный из группы, состоящей из H, C_2-C_{10} линейной ацильной группы, C_4-C_{10} разветвленной ацильной группы, бензила, концевое "аминокислотного" звена и пироглутамата,

R_2 представляет собой гидрофобный радикал, выбранный из гидрофобных радикалов формулы I, V или VI, в которой $r=1$ и GrR представляет собой радикал формулы II, или $-NR'R''$ радикал, R' и R'' , которые являются одинаковыми или отличными друг от друга, выбраны из группы, состоящей из H, C_2-C_{10} линейных или разветвленных или циклических алкилов, бензила, и при этом указанный алкил R' и R'' вместе необязательно образуют одно или несколько насыщенных, ненасыщенных и/или ароматических углеродных колец и/или необязательно включают гетероатомы, выбранные из группы, состоящей из O, N и S;

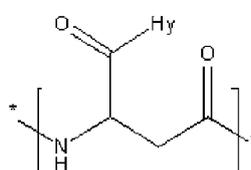
X представляет собой катионную группу, выбранную из группы, включающей щелочные катионы;

$n+m$ представляет собой степень полимеризации DP сополиаминокислоты, которая означает среднее количество мономерных звеньев на цепь сополиаминокислоты, и $5 \leq n+m \leq 250$.

В одном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением отличается тем, что когда сополиаминокислота включает аспартатные звенья, тогда сополиаминокислота, кроме того, может включать мономерные звенья формулы VIII и/или VIII'



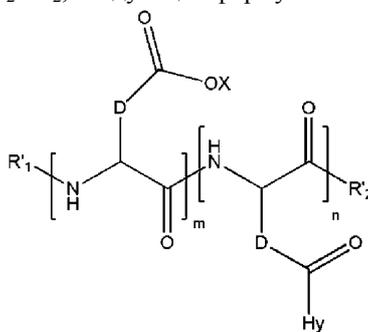
Формула VIII



Формула VIII'

Термин "сополиаминокислота с статистической прививкой" используется для обозначения сополиаминокислоты, несущей карбоксилатные заряды и по меньшей мере один гидрофобный радикал, сополиаминокислоты формулы VIIa.

В одном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением отличается тем, что сополиаминокислота, несущая карбоксилатные заряды и гидрофобные радикалы, выбрана из сополиаминокислот формул VII, где $R_1=R'_1$ и $R_2=R'_2$, следующей формулы VIIa:



Формула VIIa

в которой

m , n , X, D и Hy имеют значения, определенные выше,

R'_1 представляет собой радикал, выбранный из группы, состоящей из H, C_2-C_{10} линейной ацильной группы, C_4-C_{10} разветвленной ацильной группы, бензила, концевое "аминокислотного" звена и пироглутамата,

R'_2 представляет собой $-NR'R''$ радикал,

R' и R'' , которые являются одинаковыми или отличными друг от друга, выбраны из группы, состоящей из H, C_2-C_{10} линейных или разветвленных или циклических алкилов, бензила, и при этом указанный алкил R' и R'' вместе необязательно образуют одно или несколько насыщенных, ненасыщенных и/или ароматических углеродных колец и/или необязательно включают гетероатомы, выбранные из группы, состоящей из O, N и S.

В одном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением отличается тем, что сополиаминокислота, несущая карбоксилатные заряды и гидрофобные радикалы, выбрана из сополиаминокислот формулы VIIa, в которой Hy представляет собой радикал формулы V.

В одном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением отличается тем, что сополиаминокислота, несущая карбоксилатные заряды и гидрофобные радикалы, выбрана из сополиаминокислот формулы VIIa, в которой Hy имеет формулу V и GrC представляет собой радикал формулы IVd.

В одном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением отличается тем, что сополиаминокислота, несущая карбоксилатные заряды и гидрофобные радикалы, выбрана из сополиаминокислот формулы VIIa, в которой Nu имеет формулу V и GrC представляет собой радикал формулы IVd, в которой $x=19$.

В одном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением отличается тем, что сополиаминокислота, несущая карбоксилатные заряды и гидрофобные радикалы, выбрана из сополиаминокислот формулы VIIa, в которой Nu представляет собой радикал формулы VI.

В одном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением отличается тем, что сополиаминокислота, несущая карбоксилатные заряды и гидрофобные радикалы, выбрана из сополиаминокислот формулы VIIa, в которой Nu представляет собой радикал формулы VI, в которой $r=1$.

В одном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением отличается тем, что сополиаминокислота, несущая карбоксилатные заряды и гидрофобные радикалы, выбрана из сополиаминокислот формулы VIIa, в которой Nu представляет собой радикал формулы VI, в которой $r=1$, и для GrC, $b=0$.

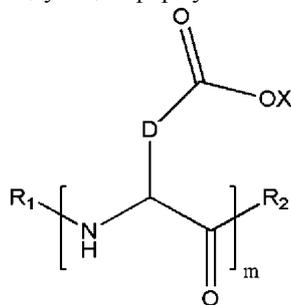
В одном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением отличается тем, что сополиаминокислота, несущая карбоксилатные заряды и гидрофобные радикалы, выбрана из сополиаминокислот формулы VIIa, в которой Nu имеет формулу VI и GrC представляет собой радикал формулы IVd.

В одном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением отличается тем, что сополиаминокислота, несущая карбоксилатные заряды и гидрофобные радикалы, выбрана из сополиаминокислот формулы VIIa, в которой Nu имеет формулу VI, и GrC представляет собой радикал формулы IVd и $r=1$.

В одном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением отличается тем, что сополиаминокислота, несущая карбоксилатные заряды и гидрофобные радикалы, выбрана из сополиаминокислот формулы VIIa, в которой Nu имеет формулу VI, и GrC представляет собой радикал формулы IVd, в которой x составляет от 11 до 15.

"Сополиаминокислота с заданной прививкой" означает сополиаминокислоту, несущую карбоксилатные заряды и по меньшей мере один гидрофобный радикал, сополиаминокислоту формулы VIIb.

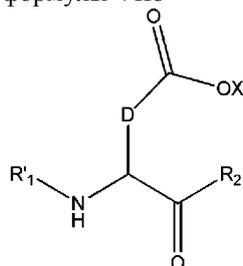
В одном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением отличается тем, что сополиаминокислота, несущая карбоксилатные заряды и гидрофобные радикалы, выбрана из сополиаминокислот формулы VII, в которой $n=0$, следующей формулы VIIb:



Формула VIIb

в которой m , X , D , R_1 и R_2 имеют значения, определенные выше, и по меньшей мере R_1 или R_2 представляет собой гидрофобный радикал формулы I, V или VI.

В одном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением отличается тем, что сополиаминокислота, несущая карбоксилатные заряды и гидрофобные радикалы, выбрана из сополиаминокислот формулы VIIb, в которой $R_1=R_1'$ формулы VIIb'



Формула VIIb'

в которой m , X , D , R_1' и R_2 имеют значения, определенные выше, и по меньшей мере R_2 представляет собой гидрофобный радикал формулы I, V или VI.

В одном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением отличается тем, что сополиаминокислота, несущая карбоксилатные заряды и гидрофобные радикалы, выбрана из сополиами-

В одном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением отличается тем, что сополиаминокислота, несущая карбоксилатные заряды и гидрофобные радикалы, выбрана из сополиаминокислот формулы VIIb', в которой R_2 представляет собой гидрофобный радикал формулы V, в которой $r=1$, GrR имеет формулу II и $a=0$ и GrC имеет формулу IVf.

В одном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением отличается тем, что сополиаминокислота, несущая карбоксилатные заряды и гидрофобные радикалы, выбрана из сополиаминокислот формулы VIIb', в которой R_2 представляет собой гидрофобный радикал формулы VI, в которой $r=1$ и GrR имеет формулу II и $a=1$.

В одном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением отличается тем, что сополиаминокислота, несущая карбоксилатные заряды и гидрофобные радикалы, выбрана из сополиаминокислот формулы VIIb', в которой R_2 представляет собой гидрофобный радикал формулы VI, в которой $r=1$, GrR имеет формулу II, $a=1$ и GrC имеет формулу IVa или IVd.

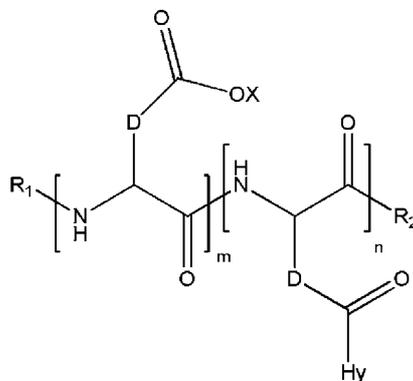
В одном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением отличается тем, что сополиаминокислота, несущая карбоксилатные заряды и гидрофобные радикалы, выбрана из сополиаминокислот формулы VIIb', в которой R_2 представляет собой гидрофобный радикал формулы VI, в которой $r=1$, GrR имеет формулу II, $a=1$ и GrC имеет формулу IVd.

В одном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением отличается тем, что сополиаминокислота, несущая карбоксилатные заряды и гидрофобные радикалы, выбрана из сополиаминокислот формулы VIIb', в которой R_2 представляет собой гидрофобный радикал формулы VI, в которой $r=1$, GrR имеет формулу II, $a=1$ и GrC имеет формулу IVd, где $x=11$.

В одном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением отличается тем, что сополиаминокислота, несущая карбоксилатные заряды и гидрофобные радикалы, выбрана из сополиаминокислот формулы VIIb', в которой R_2 представляет собой гидрофобный радикал формулы VI, в которой $r=1$, GrR имеет формулу II, $a=1$ и GrC имеет формулу IVd, где $x=13$.

В одном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением отличается тем, что сополиаминокислота, несущая карбоксилатные заряды и гидрофобные радикалы, выбрана из сополиаминокислот формулы VIIb', в которой R_2 представляет собой гидрофобный радикал формулы VI, в которой $r=1$, GrR имеет формулу II, $a=1$ и GrC имеет формулу IVd, где $x=15$.

В одном варианте осуществления композиция отличается тем, что сополиаминокислота, несущая карбоксилатные заряды и гидрофобные радикалы, выбрана из сополиаминокислоты следующей формулы XX:



формула XX

в которой

D представляет собой, независимо, либо $-CH_2-$ группу (аспарагиновое звено), либо $-CH_2-CH_2-$ группу (глутаминовое звено),

Hу представляет собой гидрофобный радикал, выбранный из гидрофобных радикалов формулы I, V или VI, в которой $r=1$ и GrR представляет собой радикал формулы II,

R_1 представляет собой гидрофобный радикал, выбранный из гидрофобных радикалов формулы I, V или VI, в которой $r=0$ или $r=1$ и GrR представляет собой радикал формулы II', или радикал, выбранный из группы, состоящей из H, C_2-C_{10} линейной ацильной группы, C_3-C_{10} разветвленной ацильной группы, бензила, концевое "аминокислотного" звена и пироглутамата,

R_2 представляет собой гидрофобный радикал, выбранный из гидрофобных радикалов формулы I, V или VI, в которой $r=1$ и GrR представляет собой радикал формулы II, или $-NR'R''$ радикала, где R' и R'' , которые являются одинаковыми или отличными друг от друга, выбранными из группы, состоящей из H, C_2-C_{10} линейных или разветвленных или циклических алкилов, бензила, и при этом указанный алкил R' и R'' вместе необязательно образуют одно или несколько насыщенных, ненасыщенных и/или ароматических углеродных колец и/или необязательно включают гетероатомы, выбранные из группы, состоящей из O, N и S,

по меньшей мере один из R_1 или R_2 представляет собой гидрофобный радикал, определенный выше,

X представляет собой H или катионную группу, выбранную из группы, включающей металлические катионы;

$n+m$ представляет собой степень полимеризации DP сополиаминокислоты, которая означает среднее количество мономерных звеньев на цепь сополиаминокислоты, и $5 \leq n+m \leq 250$.

В одном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением отличается тем, что R_1 представляет собой радикал, выбранный из группы, состоящей из C_2-C_{10} линейной ацильной группы, C_4-C_{10} разветвленной ацильной группы, бензила, концевой "аминокислотной" группы и пироглутамата.

В одном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением отличается тем, что R_1 представляет собой радикал, выбранный из группы, состоящей из C_2-C_{10} линейной ацильной группы или C_4-C_{10} разветвленной ацильной группы.

В одном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением отличается тем, что сополиаминокислота, несущая карбоксилатные заряды и гидрофобные радикалы, выбрана из сополиаминокислот формулы VII, VIIa или VIIb, в которой сополиаминокислота выбрана из сополиаминокислот, в которых группа D представляет собой $-CH_2$ -группу (аспарагиновое звено).

В одном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением отличается тем, что сополиаминокислота, несущая карбоксилатные заряды и гидрофобные радикалы, выбрана из сополиаминокислот формулы VII, VIIa или VIIb, в которой сополиаминокислота выбрана из сополиаминокислот, в которых группа D представляет собой $-CH_2-CH_2$ -группу (глутаминовое звено).

Отношение гидрофобного радикала к базальному инсулину определено как отношение их соответствующих молярных концентраций: $[Hu]/[\text{базальный инсулин}]$ (моль/моль) до получения ожидаемых свойств, т.е. солюбилизации базального инсулина при pH от 6,0 до 8,0, осаждения базального инсулина и стабильности композиций в соответствии с изобретением.

Минимальное измеренное значение отношения гидрофобного радикала к базальному инсулину $[Hu]/[\text{базальный инсулин}]$, представляет собой значение, при котором базальный инсулин солюбилизирован, поскольку солюбилизация является минимальным эффектом, который должен быть получен; эта солюбилизация определяет все другие технические эффекты, которые могут наблюдаться, если только базальный инсулин солюбилизирован при pH от 6,0 до 8,0.

В композициях в соответствии с изобретением отношение гидрофобного радикала к базальному инсулину $[Hu]/[\text{базальный инсулин}]$ может быть больше, чем минимальное значение, определенное по предельной солюбилизации.

В одном варианте осуществления отношение гидрофобного радикала к базальному инсулину $[Hu]/[\text{базальный инсулин}] \leq 2$.

В одном варианте осуществления отношение гидрофобного радикала к базальному инсулину $[Hu]/[\text{базальный инсулин}] \leq 1,75$.

В одном варианте осуществления отношение гидрофобного радикала к базальному инсулину $[Hu]/[\text{базальный инсулин}] \leq 1,5$.

В одном варианте осуществления отношение гидрофобного радикала к базальному инсулину $[Hu]/[\text{базальный инсулин}] \leq 1,25$.

В одном варианте осуществления отношение гидрофобного радикала к базальному инсулину $[Hu]/[\text{базальный инсулин}] \leq 1,00$.

В одном варианте осуществления отношение гидрофобного радикала к базальному инсулину $[Hu]/[\text{базальный инсулин}] \leq 0,75$.

В одном варианте осуществления отношение гидрофобного радикала к базальному инсулину $[Hu]/[\text{базальный инсулин}] \leq 0,5$.

В одном варианте осуществления отношение гидрофобного радикала к базальному инсулину $[Hu]/[\text{базальный инсулин}] \leq 0,25$.

В одном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением отличается тем, что отношение i между количеством гидрофобных радикалов и количеством глутаминовых или аспарагиновых звеньев составляет от 0,007 до 0,3.

В одном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением отличается тем, что отношение i между количеством гидрофобных радикалов и количеством глутаминовых или аспарагиновых звеньев составляет от 0,01 до 0,3.

В одном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением отличается тем, что отношение i между количеством гидрофобных радикалов и количеством глутаминовых или аспарагиновых звеньев составляет от 0,02 до 0,2.

В одном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением отличается тем, что гидрофобный радикал соответствует формуле VI, и отношение i между количеством гидрофобных радикалов и количеством глутаминовых или аспарагиновых звеньев составляет от 0,007 до 0,15.

В одном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением отличается тем, что гидрофобный радикал соответствует формуле VI, и отношение i между количеством гидрофобных радикалов и количеством глутаминовых или аспарагиновых звеньев составляет от 0,01 до 0,1.

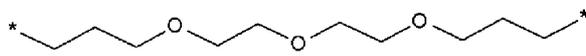
В одном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением отличается тем, что $n+m$ составляет от 20 до 60.

В одном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением отличается тем, что $n+m$ составляет от 20 до 50.

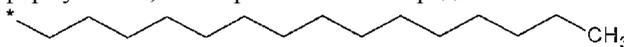
В одном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением отличается тем, что $n+m$ составляет от 20 до 40.

В одном варианте осуществления по меньшей мере один гидрофобный радикал формулы I выбран из радикалов формулы I, в которой $r=1$, $a=0$, $p=1$, GrR соответствует формуле II, в которой

R представляет собой

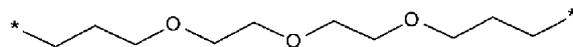


GrC соответствует формуле IVd, в которой $x=15$ и Cx представляет собой

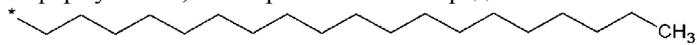


В одном варианте осуществления по меньшей мере один гидрофобный радикал формулы I выбран из радикалов формулы I, в которой $r=1$, $a=0$, $p=1$, GrR соответствует формуле II, в которой

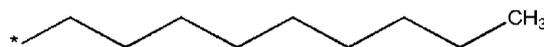
R представляет собой



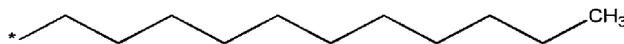
GrC соответствует формуле IVd, в которой $x=19$ и Cx представляет собой



В одном варианте осуществления по меньшей мере один гидрофобный радикал формулы I выбран из радикалов формулы I, в которой $r=1$, $a=1$, $p=2$, GrR соответствует формуле II, в которой R представляет собой $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$, GrA соответствует формуле IIIb, GrC соответствует формуле IVd, в которой $x=9$ и Cx представляет собой



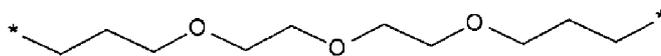
В одном варианте осуществления по меньшей мере один гидрофобный радикал формулы I выбран из радикалов формулы I, в которой $r=1$, $a=1$, $p=2$, GrR соответствует формуле II, в которой R представляет собой $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$, GrA соответствует формуле IIIb, GrC соответствует формуле IVd, в которой $x=11$ и Cx представляет собой



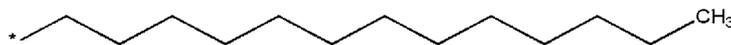
В одном варианте осуществления по меньшей мере один гидрофобный радикал формулы I выбран из радикалов формулы I, в которой $r=1$, $a=1$, $p=2$, GrR соответствует формуле II, в которой R представляет собой $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$, GrA соответствует формуле IIIb, GrC соответствует формуле IVd, в которой $x=13$ и Cx представляет собой



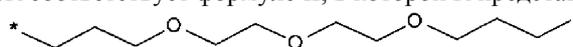
В одном варианте осуществления по меньшей мере один гидрофобный радикал формулы I выбран из радикалов формулы I, в которой $r=1$, $a=1$, $p=2$, GrR соответствует формуле II, в которой R представляет собой



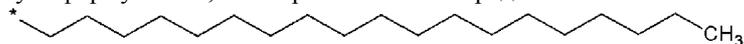
GrA соответствует формуле IIIb, GrC соответствует формуле IVd, в которой $x=13$ и Cx представляет собой



В одном варианте осуществления сополиаминокислота, несущая карбоксилатные заряды и гидрофобные радикалы, представляет собой сополиаминокислоту формулы VII или VIIa, в которой $DP=22\pm 5$, $i=0,05\pm 0,02$, и по меньшей мере один гидрофобный радикал формулы I выбран из радикалов формулы I, в которой $r=1$, $a=0$, $p=1$, GrR соответствует формуле II, в которой R представляет собой



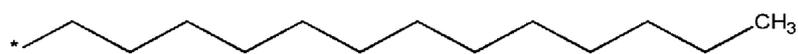
GrC соответствует формуле IVd, в которой $x=19$ и Cx представляет собой



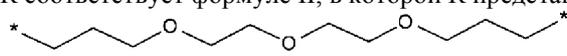
Значения степени полимеризации DP и соотношения i определяют при помощи ^1H ЯМР в D_2O путем сравнения интеграции сигналов, исходящих из гидрофобных групп, с интеграцией сигналов, исходящих из основной цепи сополиаминокислоты.

В одном варианте осуществления сополиаминокислота, несущая карбоксилатные заряды и гидро-

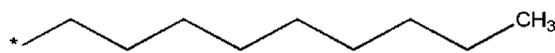
GrA соответствует формуле IIIb, GrC соответствует формуле IVd, в которой $x=13$ и Cx представляет собой



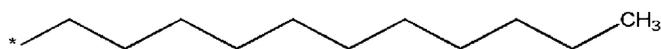
В одном варианте осуществления сополиаминокислота, несущая карбоксилатные заряды и гидрофобные радикалы, представляет собой сополиаминокислоту формулы VII или VIIa, в которой $DP=22\pm 5$, $i=0,07\pm 0,02$, и по меньшей мере один гидрофобный радикал формулы I выбран из радикалов формулы I, в которой $r=1$, $a=1$, $p=2$, GrR соответствует формуле II, в которой R представляет собой



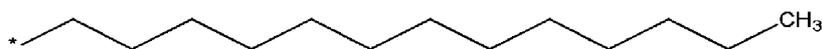
GrA соответствует формуле IIIb, GrC соответствует формуле IVd, в которой $x=9$ и Cx представляет собой



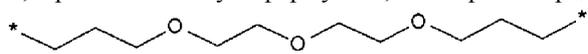
В одном варианте осуществления сополиаминокислота, несущая карбоксилатные заряды и гидрофобные радикалы, представляет собой сополиаминокислоту формулы VII или VIIb, в которой $DP=27\pm 5$, $0,031 \leq i \leq 0,045$, и по меньшей мере один гидрофобный радикал формулы I выбран из радикалов формулы I, в которой $r=1$, $a=1$, $p=2$, GrR соответствует формуле II, в которой R представляет собой $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$, GrA соответствует формуле IIIb, GrC соответствует формуле IVd, в которой $x=11$ и Cx представляет собой



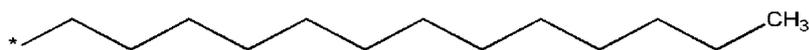
В одном варианте осуществления сополиаминокислота, несущая карбоксилатные заряды и гидрофобные радикалы, представляет собой сополиаминокислоту формулы VII или VIIb, в которой $DP=22\pm 5$, $0,037 \leq i \leq 0,055$, и по меньшей мере один гидрофобный радикал формулы I выбран из радикалов формулы I, в которой $r=1$, $a=1$, $p=2$, GrR соответствует формуле II, в которой R представляет собой $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$, GrA соответствует формуле IIIb, GrC соответствует формуле IVd, в которой $x=13$ и Cx представляет собой



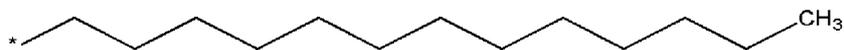
В одном варианте осуществления сополиаминокислота, несущая карбоксилатные заряды и гидрофобные радикалы, представляет собой сополиаминокислоту формулы VII или VIIb, в которой $DP=22\pm 5$, $0,037 \leq i \leq 0,055$, и по меньшей мере один гидрофобный радикал формулы I выбран из радикалов формулы I, в которой $r=1$, $a=1$, $p=2$, GrR соответствует формуле II, в которой R представляет собой



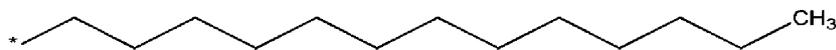
GrA соответствует формуле IIIb, GrC соответствует формуле IVd, в которой $x=13$ и Cx представляет собой



В одном варианте осуществления сополиаминокислота, несущая карбоксилатные заряды и гидрофобные радикалы, представляет собой сополиаминокислоту формулы VII или VIIb, в которой $DP=60\pm 10$, $0,014 \leq i \leq 0,02$, и по меньшей мере один гидрофобный радикал формулы I выбран из радикалов формулы I, в которой $r=1$, $a=1$, $p=2$, GrR соответствует формуле II, в которой R представляет собой $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$, GrA соответствует формуле IIIb, GrC соответствует формуле IVd, в которой $x=13$ и Cx представляет собой

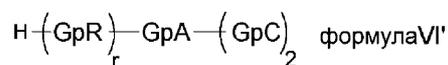
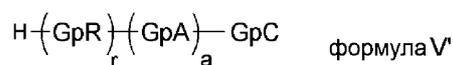
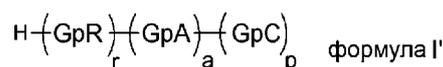


В одном варианте осуществления сополиаминокислота, несущая карбоксилатные заряды и гидрофобные радикалы, представляет собой сополиаминокислоту формулы VII или VIIb, в которой $DP=40\pm 5$, $0,022 \leq i \leq 0,029$, и по меньшей мере один гидрофобный радикал формулы I выбран из радикалов формулы I, в которой $r=1$, $a=1$, $p=2$, GrR соответствует формуле II, в которой R представляет собой $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$, GrA соответствует формуле IIIb, GrC соответствует формуле IVd, в которой $x=13$ и Cx представляет собой



Изобретение также относится к указанным сополиаминокислотам, несущим карбоксилатные заряды и гидрофобные радикалы формулы I, V или VI.

В одном варианте осуществления изобретение также относится к предшественникам указанных гидрофобных радикалов формул I', V' и VI'



GpR, GpA, GpC, r, a, p имеют значения, определенные выше.

Изобретение также относится к способу для получения стабильных инъекционных растворов.

В одном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением отличается тем, что сополиаминокислота образуется из полиаминокислоты, полученной путем полимеризации.

В одном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением отличается тем, что сополиаминокислота образуется из полиаминокислоты, полученной путем полимеризации с раскрытием кольца N-карбоксиянгидридного производного глутаминовой кислоты или N-карбоксиянгидридного производного аспарагиновой кислоты.

В одном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением отличается тем, что сополиаминокислота образуется из полиаминокислоты, полученной путем полимеризации N-карбоксиянгидридного производного глутаминовой кислоты или N-карбоксиянгидридного производного аспарагиновой кислоты, описанных в обзорной статье Adv. Polym. Sci. 2006, 202, 1-18 (Deming, T.J.).

В одном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением отличается тем, что сополиаминокислота образуется из полиаминокислоты, полученной путем полимеризации N-карбоксиянгидридного производного глутаминовой кислоты.

В одном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением отличается тем, что сополиаминокислота образуется из полиаминокислоты, полученной путем полимеризации N-карбоксиянгидридного производного глутаминовой кислоты, выбранного из группы, состоящей из метилполиглютамат N-карбоксиянгидрида (GluOMe-NCA), бензилполиглютамат N-карбоксиянгидрида (GluOBzl-NCA) и трет-бутилполиглютамат N-карбоксиянгидрида (GluOtBu-NCA).

В одном варианте осуществления N-карбоксиянгидридное производное глутаминовой кислоты представляет собой метилполи-L-глютамат N-карбоксиянгидрид (L-GluOMe-NCA).

В одном варианте осуществления N-карбоксиянгидридное производное глутаминовой кислоты представляет собой бензилполи-L-глютамат N-карбоксиянгидрид (L-GluOBzl-NCA).

В одном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением отличается тем, что сополиаминокислота образуется из полиаминокислоты, полученной путем полимеризации N-карбоксиянгидридного производного глутаминовой кислоты или N-карбоксиянгидридного производного аспарагиновой кислоты с использованием в качестве инициатора металлоорганического комплекса переходного металла, как описано в публикации Nature 1997, 390, 386-389 (Deming, T.J.).

В одном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением отличается тем, что сополиаминокислота образуется из полиаминокислоты, полученной путем полимеризации N-карбоксиянгидридного производного глутаминовой кислоты или N-карбоксиянгидридного производного аспарагиновой кислоты с использованием в качестве инициатора аммиака или первичного амина, как описано в патенте FR 2801226 (Touraud, F.; et al.) и в ссылочных документах, цитируемых в этом патенте.

В одном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением отличается тем, что сополиаминокислота образуется из полиаминокислоты, полученной путем полимеризации N-карбоксиянгидридного производного глутаминовой кислоты или N-карбоксиянгидридного производного аспарагиновой кислоты с использованием в качестве инициатора гексаметилдисилазана, как описано в публикации J. Am. Chem. Soc. 2007, 129, 14114-14115 (Lu H.; et al.), или силилированного амина, как описано в публикации J. Am. Chem. Soc. 2008, 130, 12562-12563 (Lu H.; et al.).

В одном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением отличается тем, что способ синтеза полиаминокислоты, получаемой путем полимеризации N-карбоксиянгидридного производного глутаминовой кислоты или N-карбоксиянгидридного производного аспарагиновой кислоты, из которой образуется сополиаминокислота, включает стадию гидролиза сложноэфирных функций.

В одном варианте осуществления эта стадия гидролиза сложноэфирных функций может состоять из гидролиза в кислотной среде или гидролиза в щелочной среде, или ее можно осуществить путем гидрирования.

В одном варианте осуществления эта стадия гидролиза сложноэфирных групп представляет собой гидролиз в кислотной среде.

В одном варианте осуществления эту стадию гидролиза сложноэфирных групп осуществляют путем гидрирования.

В одном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением отличается тем, что сополиаминокислота образуется из полиаминокислоты, полученной путем деполимеризации полиаминокислоты с более высокой молекулярной массой.

В одном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением отличается тем, что сополиаминокислота образуется из полиаминокислоты, полученной путем ферментативной деполимеризации полиаминокислоты с более высокой молекулярной массой.

В одном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением отличается тем, что сополиаминокислота образуется из полиаминокислоты, полученной путем химической деполимеризации полиаминокислоты с более высокой молекулярной массой.

В одном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением отличается тем, что сополиаминокислота образуется из полиаминокислоты, полученной путем ферментативной и химической деполимеризации полиаминокислоты с более высокой молекулярной массой.

В одном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением отличается тем, что сополиаминокислота образуется из полиаминокислоты, полученной путем деполимеризации полиаминокислоты с более высокой молекулярной массой, выбранной из группы, состоящей из полиглутамата натрия и полиаспартата натрия.

В одном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением отличается тем, что сополиаминокислота образуется из полиаминокислоты, полученной путем деполимеризации полиглутамата натрия с более высокой молекулярной массой.

В одном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением отличается тем, что сополиаминокислота образуется из полиаминокислоты, полученной путем деполимеризации полиаспартата натрия с более высокой молекулярной массой.

В одном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением отличается тем, что сополиаминокислоту получают путем прививки гидрофобной группы на поли-L-глутаминовую кислоту или поли-L-аспарагиновую кислоту с использованием способов образования амидных связей, которые хорошо известны специалистам в данной области.

В одном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением отличается тем, что сополиаминокислоту получают путем прививки гидрофобной группы на поли-L-глутаминовую кислоту или поли-L-аспарагиновую кислоту с использованием способов образования амидных связей, используемых для пептидного синтеза.

В одном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением отличается тем, что сополиаминокислоту получают путем прививки гидрофобной группы на поли-L-глутаминовую кислоту или поли-L-аспарагиновую кислоту, как описано в патенте FR 2840614 (Chan, Y.P.; et al.).

Представленные ниже единицы, используемые для инсулинов, являются такими, которые рекомендованы фармакопеями; соответствующие соотношения в мг/мл представлены в таблице ниже

Инсулин	ЕР Фармакопея (2014)	ЕР 8,0	US Фармакопея - USP38 (2015)
Аспарт	1 Ед.=0,0350 мг	мг	1 USP=0,0350 мг инсулина аспарта
Лизпро	1 Ед.=0,0347 мг	мг	1 USP=0,0347 мг инсулина
	инсулина лизпро		лизпро
Человеческий	1 МЕд.=0,0347 мг	мг	1 USP=0,0347 мг
	человеческого инсулина		человеческого инсулина
Гларгин	1 Ед.=0,0364 мг	мг	1 USP=0,0364 мг инсулина
	инсулина гларгина		гларгина
Свиной	1 МЕд.=0,0345 мг	мг	1 USP=0,0345 мг свиного
	свиного инсулина		инсулина
Бычий	1 МЕд.=0,0342 мг	мг	1 USP=0,0342 мг бычьего
	бычьего инсулина		инсулина

Базальный инсулин, имеющий значение изоэлектрической точки от 5,8 до 8,5, следует понимать как означающий инсулин, который нерастворим при рН 7 и продолжительность действия которого составляет от 8 до 24 ч или больше в стандартных моделях диабета.

Эти базальные инсулины, имеющие значение изоэлектрической точки от 5,8 до 8,5, представляют собой рекомбинантные инсулины, первичная структура которых была модифицирована преимущественно путем введения щелочных аминокислот, таких как аргинин или лизин. Они описаны, например, в сле-

дующих патентах, патентных заявках или публикациях WO 2003/053339, WO 2004/096854, US 5656722 и US 6100376, содержание которых включено посредством ссылки.

В одном варианте осуществления базальный инсулин, имеющий значение изоэлектрической точки от 5,8 до 8,5, представляет собой инсулин гларгин. Инсулин гларгин поставляется на рынок под торговым названием Лантус® (100 Ед./мл) или Туджео® (300 Ед./мл) компанией SANOFI.

В одном варианте осуществления базальный инсулин, имеющий значение изоэлектрической точки от 5,8 до 8,5, представляет собой биоподобный инсулин гларгин.

Биоподобный инсулин гларгин в настоящее время поступает в продажу под торговым названием Абасаглар® или Басаглар® от ELI LILLY.

В одном варианте осуществления композиции в соответствии с изобретением включают от 40 до 500 Ед./мл базального инсулина, имеющего значение изоэлектрической точки от 5,8 до 8,5.

В одном варианте осуществления композиции в соответствии с изобретением включают 40 Ед./мл базального инсулина, имеющего значение изоэлектрической точки от 5,8 до 8,5.

В одном варианте осуществления композиции в соответствии с изобретением включают 100 Ед./мл (или примерно 3,6 мг/мл) базального инсулина, имеющего значение изоэлектрической точки от 5,8 до 8,5.

В одном варианте осуществления композиции в соответствии с изобретением включают 150 Ед./мл базального инсулина, имеющего значение изоэлектрической точки от 5,8 до 8,5.

В одном варианте осуществления композиции в соответствии с изобретением включают 200 Ед./мл базального инсулина, имеющего значение изоэлектрической точки от 5,8 до 8,5.

В одном варианте осуществления композиции в соответствии с изобретением включают 225 Ед./мл базального инсулина, имеющего значение изоэлектрической точки от 5,8 до 8,5.

В одном варианте осуществления композиции в соответствии с изобретением включают 250 Ед./мл базального инсулина, имеющего значение изоэлектрической точки от 5,8 до 8,5.

В одном варианте осуществления композиции в соответствии с изобретением включают 300 Ед./мл базального инсулина, имеющего значение изоэлектрической точки от 5,8 до 8,5.

В одном варианте осуществления композиции в соответствии с изобретением включают 400 Ед./мл базального инсулина, имеющего значение изоэлектрической точки от 5,8 до 8,5.

В одном варианте осуществления композиции в соответствии с изобретением включают 500 Ед./мл базального инсулина, имеющего значение изоэлектрической точки от 5,8 до 8,5.

В одном варианте осуществления массовое отношение между базальным инсулином, имеющим значение изоэлектрической точки от 5,8 до 8,5, и сополиаминокислотой, или сополиаминокислота/базальный инсулин, составляет от 0,2 до 8.

В одном варианте осуществления массовое отношение составляет от 0,2 до 6.

В одном варианте осуществления массовое отношение составляет от 0,2 до 5.

В одном варианте осуществления массовое отношение составляет от 0,2 до 4.

В одном варианте осуществления массовое отношение составляет от 0,2 до 3.

В одном варианте осуществления массовое отношение составляет от 0,2 до 2.

В одном варианте осуществления массовое отношение составляет от 0,2 до 1.

В одном варианте осуществления концентрация сополиаминокислоты, несущей карбоксилатные заряды и гидрофобные радикалы, составляет не более 60 мг/мл.

В одном варианте осуществления концентрация сополиаминокислоты, несущей карбоксилатные заряды и гидрофобные радикалы, составляет не более 40 мг/мл.

В одном варианте осуществления концентрация сополиаминокислоты, несущей карбоксилатные заряды и гидрофобные радикалы, составляет не более 20 мг/мл.

В одном варианте осуществления концентрация сополиаминокислоты, несущей карбоксилатные заряды и гидрофобные радикалы, составляет не более 10 мг/мл.

В одном варианте осуществления концентрация сополиаминокислоты, несущей карбоксилатные заряды и гидрофобные радикалы, составляет не более 5 мг/мл.

В одном варианте осуществления концентрация сополиаминокислоты, несущей карбоксилатные заряды и гидрофобные радикалы, составляет не более 2,5 мг/мл.

В одном варианте осуществления композиции в соответствии с изобретением включают прандиальный инсулин. Прандиальные инсулины растворимы при рН 7.

Термин "прандиальный инсулин" следует понимать как означающий так называемый быстрый или "регулярный" инсулин.

Так называемые быстрые прандиальные инсулины представляют собой инсулины, которые должны отвечать потребностям, вызванным потреблением белков и сахаридов во время еды; они должны действовать менее чем в течение 30 мин.

В одном варианте осуществления так называемый "регулярный" прандиальный инсулин представляет собой человеческий инсулин.

В одном варианте осуществления прандиальный инсулин представляет собой рекомбинантный че-

ловеческий инсулин, описанный в европейской Фармакопее и американской Фармакопее.

Человеческий инсулин поставляется на рынок под торговыми названиями Хумулин® (ELI LILLY) и Новолин® (NOVO NORDISK), например.

Так называемые очень быстрые (быстродействующие) прандиальные инсулины представляют собой инсулины, которые получены путем рекомбинации, и первичная структура которых была модифицирована для уменьшения их времени действия.

В одном варианте осуществления так называемые очень быстрые (быстродействующие) прандиальные инсулины выбраны из группы, включающей инсулин лизпро (Хумалог®), инсулин глулизин (Апидра®) и инсулин аспарт (Новолог®).

В одном варианте осуществления прандиальный инсулин представляет собой инсулин лизпро.

В одном варианте осуществления прандиальный инсулин представляет собой инсулин глулизин.

В одном варианте осуществления прандиальный инсулин представляет собой инсулин аспарт.

В одном варианте осуществления композиции в соответствии с изобретением включают в общей сложности от 60 до 800 Ед./мл инсулина, с комбинацией прандиального инсулина и базального инсулина, имеющего значение изоэлектрической точки от 5,8 до 8,5.

В одном варианте осуществления композиции в соответствии с изобретением включают в общей сложности от 100 до 500 Ед./мл инсулина, с комбинацией прандиального инсулина и базального инсулина, имеющего значение изоэлектрической точки от 5,8 до 8,5.

В одном варианте осуществления композиции в соответствии с изобретением включают в общей сложности 800 Ед./мл инсулина, с комбинацией прандиального инсулина и базального инсулина, имеющего значение изоэлектрической точки от 5,8 до 8,5.

В одном варианте осуществления композиции в соответствии с изобретением включают в общей сложности 700 Ед./мл инсулина, с комбинацией прандиального инсулина и базального инсулина, имеющего значение изоэлектрической точки от 5,8 до 8,5.

В одном варианте осуществления композиции в соответствии с изобретением включают в общей сложности 600 Ед./мл инсулина, с комбинацией прандиального инсулина и базального инсулина, имеющего значение изоэлектрической точки от 5,8 до 8,5.

В одном варианте осуществления композиции в соответствии с изобретением включают в общей сложности 500 Ед./мл инсулина, с комбинацией прандиального инсулина и базального инсулина, имеющего значение изоэлектрической точки от 5,8 до 8,5.

В одном варианте осуществления композиции в соответствии с изобретением включают в общей сложности 400 Ед./мл инсулина, с комбинацией прандиального инсулина и базального инсулина, имеющего значение изоэлектрической точки от 5,8 до 8,5.

В одном варианте осуществления композиции в соответствии с изобретением включают в общей сложности 300 Ед./мл инсулина, с комбинацией прандиального инсулина и базального инсулина, имеющего значение изоэлектрической точки от 5,8 до 8,5.

В одном варианте осуществления композиции в соответствии с изобретением включают в общей сложности 266 Ед./мл инсулина, с комбинацией прандиального инсулина и базального инсулина, имеющего значение изоэлектрической точки от 5,8 до 8,5.

В одном варианте осуществления композиции в соответствии с изобретением включают в общей сложности 200 Ед./мл инсулина, с комбинацией прандиального инсулина и базального инсулина, имеющего значение изоэлектрической точки от 5,8 до 8,5.

В одном варианте осуществления композиции в соответствии с изобретением включают в общей сложности 100 Ед./мл инсулина, с комбинацией прандиального инсулина и базального инсулина, имеющего значение изоэлектрической точки от 5,8 до 8,5.

Соотношения между базальным инсулином, имеющим значение изоэлектрической точки от 5,8 до 8,5, и прандиальным инсулином, например, выражены в процентах 25/75, 30/70, 40/60, 50/50, 60/40, 63/37, 70/30, 75/25, 80/20, 83/17, 90/10 для композиций, описанных выше, включающих 60 до 800 Ед./мл. Однако можно использовать любое другое соотношение.

В одном варианте осуществления композиции в соответствии с изобретением включают желудочно-кишечный гормон.

Термин "желудочно-кишечные гормоны" следует понимать как означающий гормоны, выбранные из группы, состоящей из GLP-1 RA (агонист рецептора глюкагонподобного пептида-1) и GIP (глюкозависимый инсулилотропный пептид), оксинтомодулина (проглюкагоновое производное), пептида YY, амилина, холецистокинина, панкреатического полипептида (PP), грелина и энтеростатина, их аналогов или производных и/или их фармацевтически приемлемых солей.

В одном варианте осуществления желудочно-кишечные гормоны представляют собой аналоги или производные GLP-1 RA, выбранные из группы, состоящей из эксенатида или Баета® (ASTRA-ZENECA), лираглутида или Виктоза® (NOVO NORDISK), ликсисенатида или Ликсумия® (SANOFI), албиглутида или Танзеум® (GSK) или дулаглутида или Трулисита® (ELI LILLY & CO), их аналогов или производных и/или их фармацевтически приемлемых солей.

В одном варианте осуществления желудочно-кишечный гормон представляет собой прамлинтид или Симлин® (ASTRA-ZENECA).

В одном варианте осуществления желудочно-кишечный гормон представляет собой эксенатид или Баета®, его аналоги или производные и их фармацевтически приемлемые соли.

В одном варианте осуществления желудочно-кишечный гормон представляет собой лираглутид или Виктоза®, его аналоги или производные и их фармацевтически приемлемые соли.

В одном варианте осуществления желудочно-кишечный гормон представляет собой ликсисенатид или Ликсумия®, его аналоги или производные и их фармацевтически приемлемые соли.

В одном варианте осуществления желудочно-кишечный гормон представляет собой албиглутид или Танзеум®, его аналоги или производные и их фармацевтически приемлемые соли.

В одном варианте осуществления желудочно-кишечный гормон представляет собой дулаглутид или Трулисити®, его аналоги или производные и их фармацевтически приемлемые соли.

В одном варианте осуществления желудочно-кишечный гормон представляет собой прамлинтид или Симлин®, его аналоги или производные и его фармацевтически приемлемые соли.

"Аналог" при использовании в отношении пептида или белка следует понимать как означающий пептид или белок, в котором один или несколько конститутивных остатков аминокислот были заменены другими остатками аминокислот, и/или в котором один или несколько конститутивных остатков аминокислот были удалены, и/или в котором один или несколько конститутивных остатков аминокислот были добавлены. Допустимый процент гомологии для данного определения аналога составляет 50%.

"Производное" при использовании в отношении пептида или белка следует понимать как означающее пептид или белок или аналог, который был химически модифицирован заместителем, который не присутствует в исходном пептиде или белке или аналоге, иначе говоря, пептид или белок, который был модифицирован путем создания ковалентных связей для введения заместителей.

В одном варианте осуществления заместитель выбран из группы, состоящей из жирных цепей.

В одном варианте осуществления концентрация желудочно-кишечного гормона находится в интервале от 0,01 до 100 мг/мл.

В одном варианте осуществления концентрация эксенатида, его аналогов или производных и их фармацевтически приемлемых солей находится в интервале от 0,04 до 0,5 мг/мл.

В одном варианте осуществления концентрация лираглутида, его аналогов или производных и их фармацевтически приемлемых солей находится в интервале от 1 до 10 мг/мл.

В одном варианте осуществления концентрация ликсисенатида, его аналогов или производных и их фармацевтически приемлемых солей находится в интервале от 0,01 до 1 мг/мл.

В одном варианте осуществления концентрация албиглутида, его аналогов или производных и их фармацевтически приемлемых солей составляет от 5 до 100 мг/мл.

В одном варианте осуществления концентрация дулаглутида, его аналогов или производных и их фармацевтически приемлемых солей составляет от 0,1 до 10 мг/мл.

В одном варианте осуществления концентрация прамлинтида, его аналогов или производных и их фармацевтически приемлемых солей составляет от 0,1 до 5 мг/мл.

В одном варианте осуществления композиции в соответствии с изобретением получают путем смешивания коммерческих растворов базального инсулина, имеющего значение изоэлектрической точки от 5,8 до 8,5, и коммерческих растворов GLP-1 RA, аналога или производного GLP-1 RA в объемных соотношениях в интервале от 10/90 до 90/10.

В одном варианте осуществления композиции в соответствии с изобретением включают суточную дозу базального инсулина и суточную дозу желудочно-кишечного гормона.

В одном варианте осуществления композиции в соответствии с изобретением включают от 40 Ед./мл до 500 Ед./мл базального инсулина, имеющего значение изоэлектрической точки от 5,8 до 8,5, и от 0,05 до 0,5 мг/мл эксенатида.

В одном варианте осуществления композиции в соответствии с изобретением включают от 40 Ед./мл до 500 Ед./мл базального инсулина, имеющего значение изоэлектрической точки от 5,8 до 8,5, и от 1 до 10 мг/мл лираглутида.

В одном варианте осуществления композиции в соответствии с изобретением включают от 40 Ед./мл до 500 Ед./мл базального инсулина, имеющего значение изоэлектрической точки от 5,8 до 8,5, и от 0,01 до 1 мг/мл ликсисенатида.

В одном варианте осуществления композиции в соответствии с изобретением включают от 40 Ед./мл до 500 Ед./мл базального инсулина, имеющего значение изоэлектрической точки от 5,8 до 8,5, и от 5 до 100 мг/мл албиглутида.

В одном варианте осуществления композиции в соответствии с изобретением включают от 40 Ед./мл до 500 Ед./мл базального инсулина, имеющего значение изоэлектрической точки от 5,8 до 8,5, и от 0,1 до 10 мг/мл дулаглутида.

В одном варианте осуществления композиции в соответствии с изобретением включают 500 Ед./мл базального инсулина, имеющего значение изоэлектрической точки от 5,8 до 8,5, и от 0,04 до 0,5 мг/мл

при концентрациях от 15 до 50 мМ.

В одном варианте осуществления композиции в соответствии с изобретением включают буфер, выбранный из группы, состоящей из фосфатного буфера, трис(трисгидроксиметиламинометан) и цитрата натрия.

В одном варианте осуществления буфер представляет собой фосфат натрия.

В одном варианте осуществления буфер представляет собой трис(трисгидроксиметиламинометан).

В одном варианте осуществления буфер представляет собой цитрат натрия.

В одном варианте осуществления композиции в соответствии с изобретением также включают консерванты.

В одном варианте осуществления консерванты выбраны из группы, состоящей из м-крезола и фенола, отдельно или в смеси.

В одном варианте осуществления концентрация консервантов составляет от 10 до 50 мМ.

В одном варианте осуществления концентрация консервантов составляет от 10 до 40 мМ.

В одном варианте осуществления композиции в соответствии с изобретением также включают поверхностно-активное вещество.

В одном варианте осуществления поверхностно-активное вещество выбрано из группы, состоящей из пропиленгликоля и полисорбата.

Композиции в соответствии с изобретением также могут включать добавки, такие как регуляторы тоничности.

В одном варианте осуществления регуляторы тоничности выбраны из группы, состоящей из глицерина, хлорида натрия, маннита и глицина.

Композиции в соответствии с изобретением могут, кроме того, включать любые эксципиенты в соответствии с фармакопеями и совместимые с инсулинами, используемые при стандартных концентрациях.

Изобретение также относится к фармацевтической композиции в соответствии с изобретением, отличающейся тем, что ее получают путем сушки и/или лиофилизации.

В случае местного и системного высвобождения рассматриваемые способы введения включают введение внутривенным, подкожным, внутрикожным или внутримышечным путем.

Также рассматриваются чрескожный, пероральный, назальный, вагинальный, внутриглазной, буккальный, пульмональный пути введения.

Изобретение также относится к композициям для однократного введения при рН от 6,0 до 8,0, включающим базальный инсулин, имеющий значение изоэлектрической точки от 5,8 до 8,5, и прандиальный инсулин.

Изобретение также относится к композициям для однократного введения при рН от 6,0 до 8,0, включающим базальный инсулин, имеющий значение изоэлектрической точки от 5,8 до 8,5, и желудочно-кишечный гормон, определенный выше.

Изобретение также относится к композициям для однократного введения при рН от 6,0 до 8,0, включающим базальный инсулин, имеющий значение изоэлектрической точки от 5,8 до 8,5, прандиальный инсулин и желудочно-кишечный гормон, определенный выше.

Изобретение также относится к композициям для однократного введения при рН от 6,6 до 7,8, включающим базальный инсулин, имеющий значение изоэлектрической точки от 5,8 до 8,5, и прандиальный инсулин.

Изобретение также относится к композициям для однократного введения при рН от 6,6 до 7,8, включающим базальный инсулин, имеющий значение изоэлектрической точки от 5,8 до 8,5, и желудочно-кишечный гормон, определенный выше.

Изобретение также относится к композициям для однократного введения при рН от 6,6 до 7,8, включающим базальный инсулин, имеющий значение изоэлектрической точки от 5,8 до 8,5, прандиальный инсулин и желудочно-кишечный гормон, определенный выше.

Изобретение также относится к композициям для однократного введения при рН от 6,6 до 7,6, включающим базальный инсулин, имеющий значение изоэлектрической точки от 5,8 до 8,5, и прандиальный инсулин.

Изобретение также относится к композициям для однократного введения при рН от 6,6 до 7,6, включающим базальный инсулин, имеющий значение изоэлектрической точки от 5,8 до 8,5, и желудочно-кишечный гормон, определенный выше.

Изобретение также относится к композициям для однократного введения при рН от 6,6 до 7,6, включающим базальный инсулин, имеющий значение изоэлектрической точки от 5,8 до 8,5, прандиальный инсулин и желудочно-кишечный гормон, определенный выше.

В одном варианте осуществления композиции для однократного введения включают, кроме того, сополиаминокислоту, определенную выше.

В одном варианте осуществления композиции находятся в форме инъекционного раствора.

В одном варианте осуществления базальный инсулин, имеющий значение изоэлектрической точки от 5,8 до 8,5, представляет собой инсулин гларгин.

В одном варианте осуществления прандиальный инсулин представляет собой человеческий инсулин.

В одном варианте осуществления инсулин представляет собой рекомбинантный человеческий инсулин, описанный в Европейской Фармакопее и Американской Фармакопее.

В одном варианте осуществления прандиальный инсулин выбран из группы, включающей инсулин лизпро (Хумалог®), инсулин глулизин (Апидра®) и инсулин аспарт (Новолог®).

В одном варианте осуществления прандиальный инсулин представляет собой инсулин лизпро.

В одном варианте осуществления прандиальный инсулин представляет собой инсулин глулизин.

В одном варианте осуществления прандиальный инсулин представляет собой инсулин аспарт.

В одном варианте осуществления GLP-1 RA, аналог или производное GLP-1 RA выбраны из группы, включающей эксенатид (Баета®), лираглутид (Виктоза®), ликсисенатид (Ликсумия®), албиглутид (Танзеум®), дулаглутид (Трулисити®) или одного из их производных.

В одном варианте осуществления желудочно-кишечный гормон представляет собой эксенатид.

В одном варианте осуществления желудочно-кишечный гормон представляет собой лираглутид.

В одном варианте осуществления желудочно-кишечный гормон представляет собой ликсисенатид.

В одном варианте осуществления желудочно-кишечный гормон представляет собой албиглутид.

В одном варианте осуществления желудочно-кишечный гормон представляет собой дулаглутид.

Солубилизацию при pH от 6,0 до 8,0 базальных инсулинов, имеющих изоэлектрическую точку от 5,8 до 8,5, при помощи сополиаминокислот, несущих карбоксилатные заряды и по меньшей мере один гидрофобный радикал в соответствии с изобретением, можно наблюдать и контролировать просто невооруженным глазом, благодаря изменению внешнего вида раствора.

Солубилизацию при pH от 6,6 до 7,8 базальных инсулинов, имеющих изоэлектрическую точку от 5,8 до 8,5, при помощи сополиаминокислот, несущих карбоксилатные заряды и по меньшей мере один гидрофобный радикал в соответствии с изобретением, можно наблюдать и контролировать просто невооруженным глазом, благодаря изменению внешнего вида раствора.

Кроме того, и что не менее важно, заявитель смог подтвердить, что базальный инсулин, имеющий значение изоэлектрической точки от 5,8 до 8,5, растворимый при pH от 6,0 до 8,0 в присутствии сополиаминокислоты, несущей карбоксилатные заряды и по меньшей мере один гидрофобный радикал в соответствии с изобретением, сохраняет свое действие медленного инсулина независимо от того, используют его отдельно или в комбинации с прандиальным инсулином или желудочно-кишечным гормоном.

Заявитель также смог подтвердить, что прандиальный инсулин, смешиваемый при pH от 6,0 до 8,0 в присутствии сополиаминокислоты, несущей карбоксилатные заряды и по меньшей мере один гидрофобный радикал в соответствии с изобретением, и базального инсулина, имеющего значение изоэлектрической точки от 5,8 до 8,5, сохраняет свое действие быстрого инсулина.

Получение композиции в соответствии с изобретением имеет такое преимущество, что его можно осуществить, просто смешивая водный раствор базального инсулина, имеющего значение изоэлектрической точки от 5,8 до 8,5, и сополиаминокислоту, несущую карбоксилатные заряды и по меньшей мере один гидрофобный радикал в соответствии с изобретением, в водном растворе или в лиофилизированной форме. Если необходимо, pH препарата доводят до pH от 6 до 8.

Получение композиции в соответствии с изобретением имеет такое преимущество, что его можно осуществить, просто смешивая водный раствор базального инсулина, имеющего значение изоэлектрической точки от 5,8 до 8,5, раствор прандиального инсулина и сополиаминокислоту, несущую карбоксилатные заряды и по меньшей мере один гидрофобный радикал в соответствии с изобретением, в водном растворе или в лиофилизированной форме. Если необходимо, pH препарата доводят до pH от 6 до 8.

Получение композиции в соответствии с изобретением имеет такое преимущество, что его можно осуществить, просто смешивая водный раствор базального инсулина, имеющего значение изоэлектрической точки от 5,8 до 8,5, раствор GLP-1 RA, аналога или производного GLP-1 RA и сополиаминокислоту, несущую карбоксилатные заряды и по меньшей мере один гидрофобный радикал в соответствии с изобретением, в водном растворе или в лиофилизированной форме. Если необходимо, pH препарата доводят до pH от 6 до 8.

Получение композиции в соответствии с изобретением имеет такое преимущество, что его можно осуществить, просто смешивая водный раствор базального инсулина, имеющего значение изоэлектрической точки от 5,8 до 8,5, раствор прандиального инсулина, раствор GLP-1 RA, аналога или производного GLP-1 RA и сополиаминокислоту, несущую карбоксилатные заряды и по меньшей мере один гидрофобный радикал в соответствии с изобретением, в водном растворе или в лиофилизированной форме. Если необходимо, pH препарата доводят до pH от 6 до 8.

В одном варианте осуществления смесь базального инсулина и сополиамида концентрируют путем ультрафильтрации перед смешиванием с прандиальным инсулином в водном растворе или в лиофилизированной форме.

Если необходимо, композицию смеси регулируют с использованием эксципиентов, таких как глицерин, м-крезол, хлорид цинка и полисорбат (Tween®), путем добавления концентрированного раствора этих эксципиентов в смесь. Если необходимо, pH препарата доводят до pH от 6 до 8.

Фиг. 1 - средние кривые отклонения базального уровня инсулина + стандартное отклонение от

среднего для одновременных введений инсулина лизпро (Хумалог®) (100 Ед./мл, 0,20 МЕд./кг) (заштрихованные кружки) и инсулина гларгина (Лантус®) (100 Ед./мл, 0,60 Ед./кг) по сравнению с введением композиции в соответствии с изобретением, описанной в примере СВ3j (266 Ед./мл, 0,8 Ед./кг) (незаштрихованные квадраты); введения осуществляли собакам (n=10) путем подкожной инъекции. (На оси абсцисс указано время после инъекций, а на оси ординат указана дельта концентрация инсулина в пмоль/л).

Фиг. 2 - средние кривые гликемии \pm стандартное отклонение от среднего для одновременных введений инсулина лизпро (Хумалог®) (100 Ед./мл, 0,20 МЕд./кг) и инсулина гларгина (Лантус®) (100 Ед./мл, 0,60 Ед./кг) (заштрихованные кружки) по сравнению с введением композиции в соответствии с изобретением, описанной в примере СВ3j (266 Ед./мл, 0,8 Ед./кг) (незаштрихованные квадраты); введения осуществляли собакам (n=10) путем подкожной инъекции. (На оси абсцисс указано время после инъекции, а на оси ординат указан уровень глюкозы в процентах).

Фиг. 3 - средние кривые отклонения базального уровня инсулина \pm стандартное отклонение от среднего для одновременных введений инсулина лизпро (Хумалог®) (100 Ед./мл, 0,20 МЕд./кг) и инсулина гларгина (Лантус®) (100 Ед./мл, 0,60 Ед./кг) (заштрихованные кружки) по сравнению с введением композиции в соответствии с изобретением (незаштрихованные квадраты), описанной в примере СВ3о (266 Ед./мл, 0,8 Ед./кг); введения осуществляли собакам (n=10) путем подкожной инъекции. (На оси абсцисс указано время после инъекции, а на оси ординат указана дельта концентрация инсулина в пмоль/л).

Фиг. 4 - средние кривые гликемии \pm стандартное отклонение от среднего для одновременных введений инсулина лизпро (Хумалог®) (100 Ед./мл, 0,20 МЕд./кг) и инсулина гларгина (Лантус®) (100 Ед./мл, 0,60 Ед./кг) (заштрихованные кружки) по сравнению с введением композиции в соответствии с изобретением (незаштрихованные квадраты), описанной в примере СВ3о (266 Ед./мл, 0,8 Ед./кг); введения осуществляли собакам (n=10) путем подкожной инъекции. (На оси абсцисс указано время после инъекции, а на оси ординат указан уровень глюкозы в процентах).

Фиг. 5 - средние кривые отклонения уровня базального инсулина \pm стандартное отклонение от среднего после введения композиции СВ2а (266 Ед./мл, 0,67 Ед./кг инсулина) (заштрихованные кружки) и композиции СВ2с (266 Ед./мл, 0,67 Ед./кг инсулина, 0,125 мкг/кг эксенатида) (незаштрихованные квадраты); введения осуществляли собакам (n=10) путем подкожной инъекции. (На оси абсцисс указано время после инъекции, а на оси ординат указана дельта концентрация инсулина в пмоль/л).

Фиг. 6 - средние кривые гликемии как процент отклонения от базального уровня \pm стандартное отклонение от среднего после введения композиции СВ2а (266 Ед./мл, 0,67 Ед./кг инсулина) (заштрихованные кружки) и композиции СВ2с (266 Ед./мл, 0,67 Ед./кг инсулина, 0,125 мкг/кг эксенатида) (незаштрихованные квадраты); введения осуществляли собакам (n=10) путем подкожной инъекции. (На оси абсцисс указано время после инъекции, а на оси ординат указан уровень глюкозы в процентах отклонения от базального уровня).

Фиг. 7 - средние кривые гликемии как процент отклонения от базального уровня \pm стандартное отклонение от среднего после введения композиции СВ2с (266 Ед./мл, 1 Ед./кг инсулина и 0,19 мкг/кг эксенатида) (незаштрихованные кружки) и отдельных и одновременных введений инсулина лизпро (Хумалог®) (100 Ед./мл, 0,25 Ед./кг), инсулина гларгина (Лантус®) (100 Ед./мл, 0,75 Ед./кг) и эксенатида (Баэта®) (0,25 мг/мл, 0,19 мкг/кг) (заштрихованные кружки); введения осуществляли собакам (n=10) путем подкожной инъекции. (На оси абсцисс указано время после инъекции, а на оси ординат указан уровень глюкозы в процентах отклонения от базального уровня).

Примеры

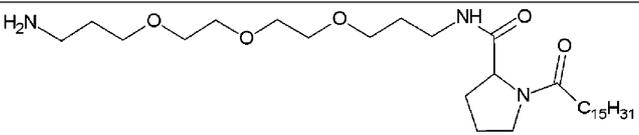
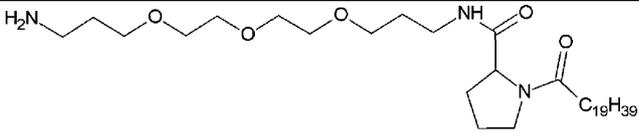
Изобретение описывается более подробно со ссылкой на следующие примеры неограничивающим образом.

Часть А.

АА. Синтез гидрофобных молекул, в которых $r=1$.

Радикалы представлены в следующей табл. 1а соответствующей гидрофобной молекулой до прививки на сополиаминокислоту.

Перечень и структура гидрофобных молекул, синтезированных в соответствии с изобретением

№	Структура гидрофобной молекулы до прививки на сополиаминокислоты
AA4	
AA7	

Пример AA4. Молекула AA4.

Молекула A1: продукт, полученный путем взаимодействия между пальмитоилхлоридом и L-пролином.

Раствор пальмитоилхлорида (23,0 г, 83,7 ммоль) в ацетоне (167 мл) добавляют по каплям в течение 90 мин к раствору L-пролина (10,6 г, 92,1 ммоль) в 1N водном растворе гидроксида натрия (230 мл; 230 ммоль). После 14 ч перемешивания при комнатной температуре гетерогенную смесь охлаждают до 0°C, затем фильтруют через спеченный фильтр с получением белого твердого вещества, которое промывают водой (2×100 мл), затем диизопропиловым эфиром (100 мл). Твердое вещество сушат при пониженном давлении. Твердое вещество затем растворяют при кипячении с обратным холодильником в 200 мл воды, затем 8 мл 37% раствора хлористоводородной кислоты добавляют до достижения pH 1. Опалесцентную реакционную среду затем охлаждают до 0°C. Полученный осадок фильтруют через спеченный фильтр, затем промывают водой (5×50 мл) до получения фильтратов с нейтральным pH, затем смесь сушат в течение ночи при 50°C в печи под вакуумом. Продукт очищают путем перекристаллизации в диизопропиловом эфире. Получают белое твердое вещество. Выход: 22,7 г (77%).

¹H ЯМР (CDCl₃, м.д.): 0,88 (3H); 1,19-1,45 (24H); 1,58-1,74 (2H); 1,88-2,14 (3H); 2,15-2,54 (3H); 3,47 (1H); 3,58 (1H); 4,41 (0,1H); 4,61 (0,9H); 6,60-8,60 (1H).

Молекула A2: продукт, полученный путем взаимодействия между молекулой A1 и Вос-1-амино-4,7,10-триокса-13-тридеканамином.

N,N-диизопропилэтиламин (DIPEA) (4,1 г, 31,8 ммоль), 1-гидроксибензотриазол (HOBT) (2,2 г, 16,4 ммоль), затем N-(3-диметиламинопропил)-N'-этилкарбодиимид (EDC) (3,2 г, 16,6 ммоль) добавляют последовательно при комнатной температуре к раствору молекулы A1 (4,5 г, 12,7 ммоль) в 90 мл хлороформа. После 15 мин перемешивания при комнатной температуре добавляют раствор Вос-1-амино-4,7,10-триокса-13-тридеканамин (4,5 г, 14,0 ммоль) в 5 мл хлороформа. После 18 ч перемешивания при комнатной температуре добавляют 0,1N раствор HCl (100 мл), затем насыщенный раствор NaCl (50 мл). Фазы разделяют, затем органическую фазу промывают последовательно 0,1N раствором HCl/насыщенным раствором NaCl (100 мл/50 мл), насыщенным раствором NaCl (100 мл), насыщенным раствором NaHCO₃ (100 мл), затем насыщенным раствором NaCl (100 мл). Органическую фазу сушат над безводным сульфатом натрия, фильтруют, затем концентрируют при пониженном давлении. Получают желтое масло после очистки флэш-хроматографией (метанол, дихлорметан). Выход: 7,7 г (92%).

¹H ЯМР (CDCl₃, м.д.): 0,88 (3H); 1,22-1,37 (24H); 1,44 (9H); 1,59-1,67 (2H); 1,67-2,00 (6H); 2,06-2,45 (4H); 3,18-3,76 (18H); 4,28 (0,2H); 4,52 (0,8H); 4,69-5,04 (1H); 6,77 (0,2H); 7,20 (0,8H).

Молекула AA4.

При 0°C 4M раствор хлористоводородной кислоты в диоксане (29,5 мл, 118 ммоль) добавляют по каплям к раствору молекулы A2 (7,7 г, 11,8 ммоль) в 90 мл дихлорметана. После перемешивания в течение 3 ч 30 мин при комнатной температуре раствор концентрируют при пониженном давлении. Остаток очищают флэш-хроматографией (метанол, дихлорметан) с получением желтого масла. Совместное упаривание с диизопропиловым эфиром и сушка при 50°C под вакуумом позволяют получить молекулу AA4 в форме гидрохлоридной соли.

Выход: 5,4 г (76%).

¹H ЯМР (CDCl₃, м.д.): 0,88 (3H); 1,08-1,40 (24H); 1,49-1,65 (2H); 1,76-2,39 (10H); 3,07-3,28 (3H); 3,34-3,80 (15H); 4,34 (0,05H); 4,64 (0,95H); 7,35 (0,05H); 7,66-8,58 (3,95H).

ЖХ/МС (ESI): 556,7; (рассчитано ([M+H]⁺): 556,5).

Пример AA7: молекула AA7.

Молекула A3: продукт, полученный путем взаимодействия между арахидоновой кислотой и L-пролином.

Дидецилгексилкарбодиимид (DCC) (10,45 г, 50,6 ммоль) и N-гидроксисукцинимид (NHS) (5,83 г,

50,6 ммоль) добавляют последовательно к раствору арахидоновой кислоты (15,51 г, 49,63 ммоль) в ТГФ (500 мл) при 0°C. После 17 ч перемешивания при комнатной температуре среду охлаждают до 0°C в течение 20 мин, фильтруют через спеченный фильтр. К фильтрату добавляют L-пролин (6 г, 52,11 ммоль), DIPEA (60,5 мл) и воду (50 мл). После 48 ч перемешивания при комнатной температуре смесь обрабатывают 1N водным раствором HCl до pH 1 и полученное твердое вещество фильтруют через спеченный фильтр, промывают водой до доведения pH маточных жидкостей до нейтрального, затем сушат под вакуумом с получением желтоватого твердого вещества. После очистки хроматографией на силикагеле (циклогексан, этилацетат) получают белое твердое вещество.

Выход: 10,96 г (54%).

¹H ЯМР (CDCl₃, м.д.): 0,88 (3H); 1,28 (34H); 1,66 (2H); 1,95-2,15 (2H); 2,34 (2H); 2,45 (1H); 3,47 (1H); 3,56 (1H); 4,60 (1H).

ЖХ/МС (ESI): 410,4; (рассчитано ([M+H]⁺): 410,6).

Молекула А4: продукт, полученный путем взаимодействия между молекулой А3 и Вос-1-амино-4,7,10-триокса-13-тридеканом.

DIPEA (9,32 мл) и тетрафторборат 2-(1H-бензотриазол-1-ил)-1,1,3,3-тетраметилуруния (ТВТУ) (9,45 г, 29,4 ммоль) при комнатной температуре добавляют к раствору молекулы А3 (10,96 г, 26,75 ммоль) в ТГФ (135 мл). После 30 мин перемешивания добавляют Вос-1-амино-4,7,10-триокса-13-тридекан (10,29 г, 32,11 ммоль). После перемешивания при комнатной температуре в течение 18 ч растворитель выпаривают при пониженном давлении и остаток разбавляют этилацетатом (400 мл). Органическую фазу промывают насыщенным раствором NaHCO₃, 1N водным раствором HCl, водой, насыщенным водным раствором NaCl, затем сушат над Na₂SO₄, фильтруют и концентрируют под вакуумом. Остаток очищают флэш-хроматографией (циклогексан, этилацетат, метанол) с получением бесцветного масла, которое отверждается. Получают твердое вещество.

Выход: 14,2 г (75%).

¹H ЯМР (CDCl₃, м.д.): 0,88 (3H); 1,24 (32H); 1,43 (9H); 1,57-2,00 (8H); 2,10-2,45 (4H); 3,20-3,75 (18H); 4,30 (0,20H); 4,55 (0,80H); 5,03 (1H); 6,75 (0,20H); 7,20 (0,80H).

ЖХ/МС (ESI): 712,8; (рассчитано ([M+H]⁺): 713,1).

Молекула АА7.

4N раствор HCl в диоксане (25 мл) добавляют к раствору молекулы А4 (14,25 г, 20,01 ммоль) в дихлорметане (100 мл) при 0°C. После 20 ч перемешивания при 0°C и 4 ч перемешивания при 25°C среду концентрируют под вакуумом. Остаток четыре раза растворяют в метаноле и упаривают при пониженном давлении с получением белого твердого вещества, молекулы АА7 в форме гидрохлоридной соли.

Выход: 12,7 г (98%).

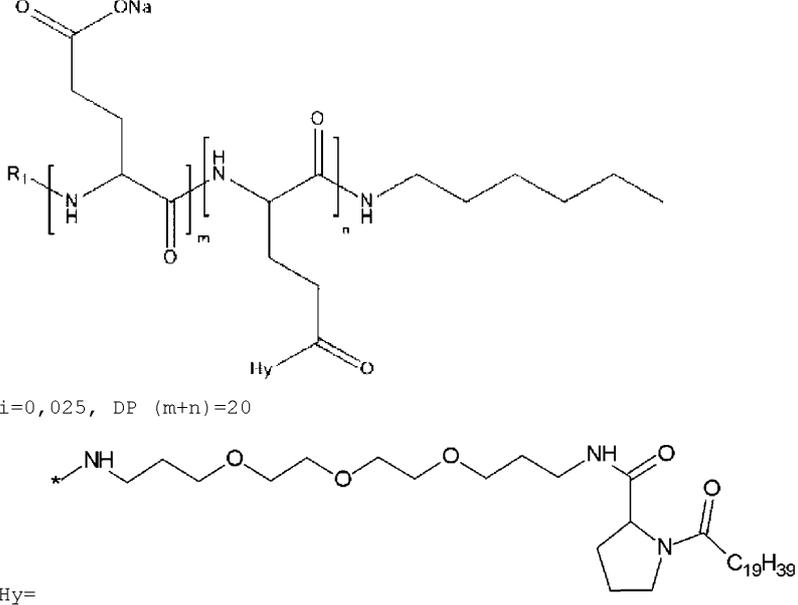
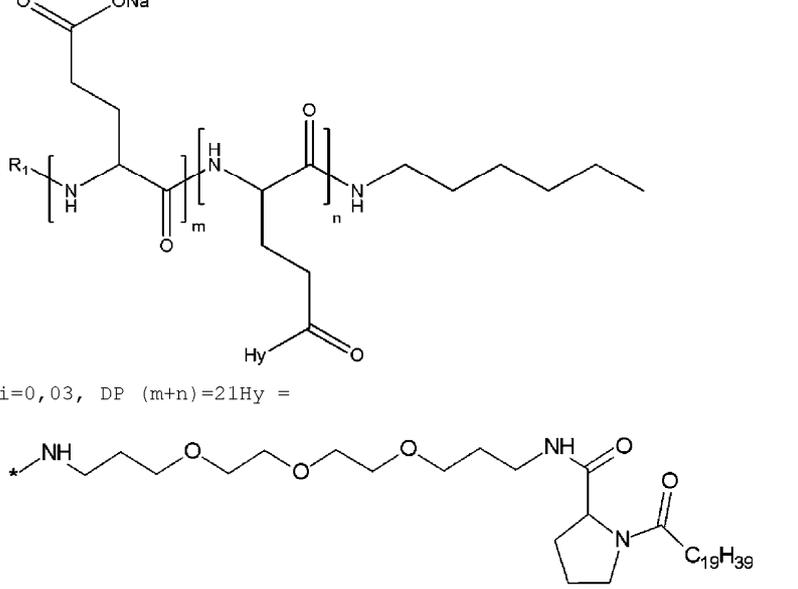
¹H ЯМР (DMSO-d₆, м.д.): 0,85 (3H); 1,23 (32H); 1,45 (2H); 1,64 (2H); 1,70-2,05 (6H); 2,10-2,30 (2H); 2,82 (2H); 3,08 (2H); 3,30-3,60 (14H); 4,15-4,30 (1H); 7,73-8,13 (4H).

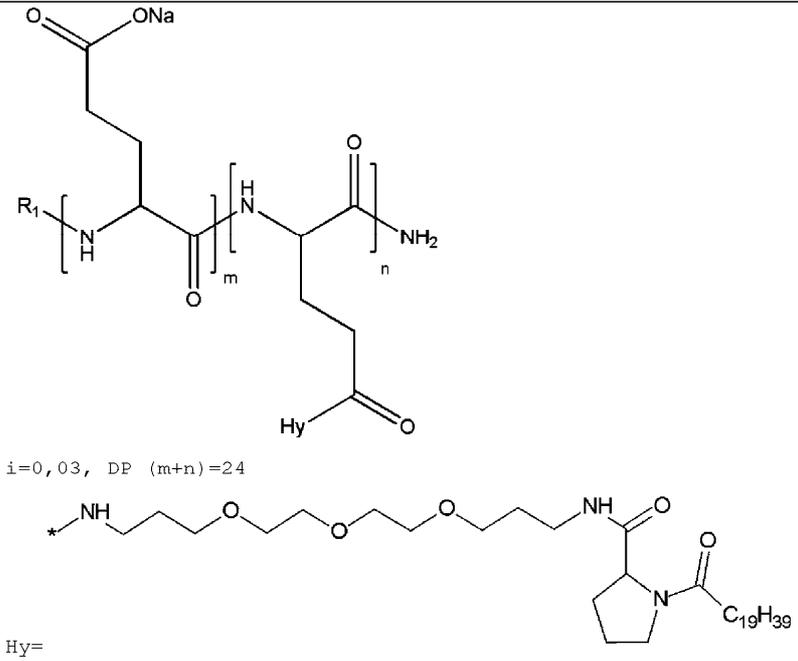
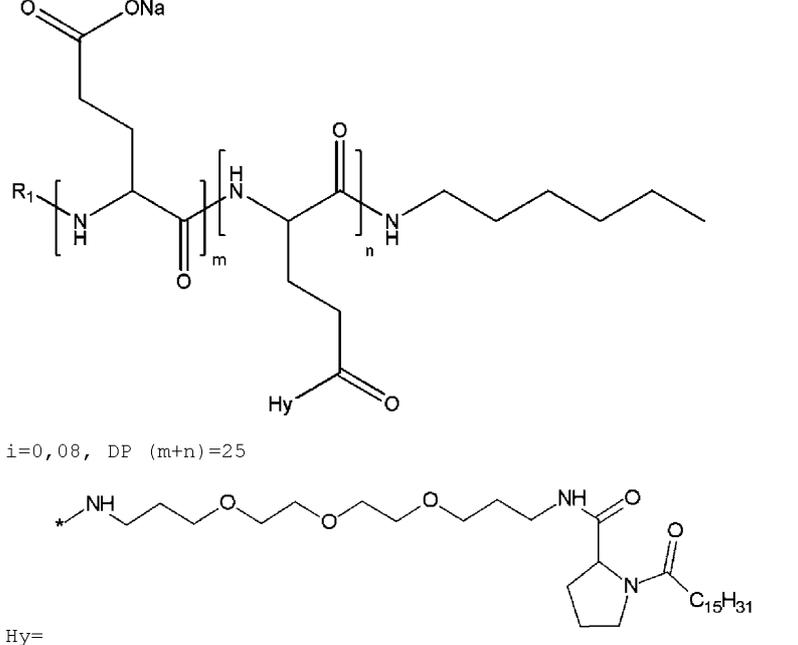
ЖХ/МС (ESI): 612,7; (рассчитано ([M+H]⁺): 612,9).

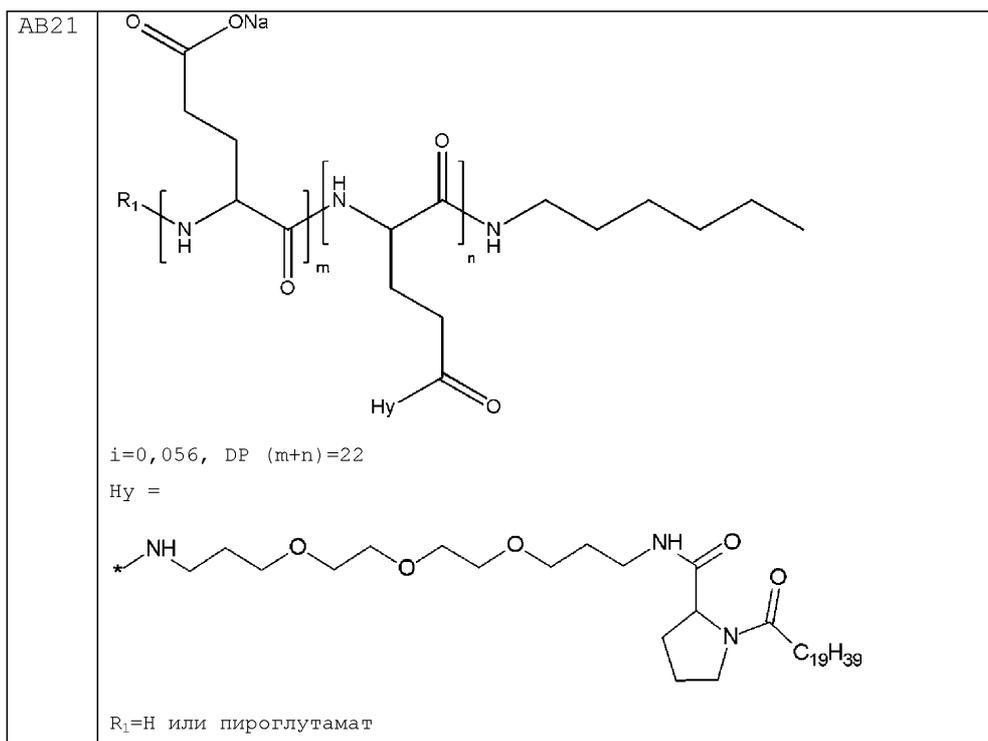
АВ: синтез сополиаминокислот.

Сополиаминокислоты с статистической прививкой (формула VII или VIIa).

Перечень сополиаминокислот, синтезированных в соответствии с изобретением

№	сополиаминокислоты, несущие карбоксилатные заряды и гидрофобные радикалы
AB6	 <p>$i=0,025$, DP $(m+n)=20$</p> <p>Hy=</p> <p>R₁=H или пироглутамат</p>
AB7	 <p>$i=0,03$, DP $(m+n)=21$Hy =</p> <p>Hy =</p> <p>R₁=CH₃-C(O)-, H или пироглутамат</p>

AB8	 <p>$i=0,03$, DP $(m+n)=24$</p> <p>Hy=</p> <p>$R_1=H$ или пироглутамат</p>
AB10	 <p>$i=0,08$, DP $(m+n)=25$</p> <p>Hy=</p> <p>$R_1=H$ или пироглутамат</p>



Сополиаминокислоты с заданной прививкой (формула VII или VIIIb).

Таблица 1с

Перечень сополиаминокислот, синтезированных в соответствии с изобретением

№	сополиаминокислоты, несущие карбоксилатные заряды и гидрофобные радикалы,
AB17	<p>$i=0,038$, DP $(m)=26$ $R_1=H$ или пироглутамат</p>
AB18	<p>$i=0,045$, DP $(m)=22$ $R_1=H$ или пироглутамат</p>

Пример АВ6: сополиаминокислота АВ6 - поли-L-глутамат натрия, модифицированный молекулой АА7 и имеющий среднечисленную молекулярную массу (Mn) 4000 г/моль.

Сополиаминокислота АВ6-1: поли-L-глутаминовая кислота, имеющая относительную среднечисленную молекулярную массу (Mn) 3500 г/моль, образующаяся в результате полимеризации N-карбоксихидрида γ -бензил-L-глутамата, инициируемой гексиламином.

В круглодонную колбу, предварительно высушенную в печи, загружают N-карбоксиянгидрид γ -бензил-L-глутамата (89,9 г, 341 ммоль) в течение 30 мин под вакуумом, затем вводят безводный DMF (200 мл). Смесь затем перемешивают в атмосфере аргона до полного растворения, охлаждают до 4°C, затем быстро вводят гексилламин (2,05 мл, 15,5 ммоль). Смесь перемешивают при температуре между 4°C и комнатной температурой в течение 2 дней. Реакционную смесь затем нагревают при 65°C в течение 2 ч, охлаждают до комнатной температуры, затем выливают по каплям в диизопропиловый эфир (3 л) при перемешивании. Белый осадок выделяют фильтрованием, промывают диизопропиловым эфиром (2×200 мл), затем сушат под вакуумом при 30°C с получением поли(γ -бензил-L-глутаминовой) кислоты (PBLG).

33% раствор бромистоводородной кислоты (HBr) в уксусной кислоте (240 мл, 1,37 моль) добавляют по каплям к раствору PBLG (74,8 г) в трифторуксусной кислоте (TFA, 340 мл) при 4°C. Смесь перемешивают при комнатной температуре в течение 2 ч, затем выливают по каплям на 1:1 (об/об) смесь диизопропилового эфира и воды при перемешивании (4 л). После 2 ч перемешивания гетерогенную смесь оставляют выстаиваться в течение ночи. Белый осадок выделяют фильтрованием, промывают 1:1 (об/об) смесью диизопропилового эфира и воды (340 мл), затем водой (340 мл).

Полученное твердое вещество затем растворяют в воде (1,5 л) путем доведения pH до 7 путем добавления 10N водного раствора гидроксида натрия, затем 1N водного раствора гидроксида натрия. После солубилизации теоретическую концентрацию доводят до 20 г/л теоретического значения путем добавления воды до получения конечного объема 2,1 л.

Раствор фильтруют через 0,45-мкм фильтр, затем очищают путем ультрафильтрации против 0,9% раствора NaCl, затем воды до тех пор, пока электропроводность фильтрата не будет меньше чем 50 мкСм/см. Раствор сополиаминокислоты затем концентрируют до получения конечного объема 1,8 л.

Водный раствор затем подкисляют путем добавления 37% раствора хлористоводородной кислоты до достижения pH 2. После 4 ч перемешивания полученный осадок фильтруют, промывают водой (2×340 мл), затем сушат под вакуумом при 30°C с получением поли-L-глутаминовой кислоты, имеющей среднечисленную молекулярную массу (Mn) 3500 г/моль относительно полиоксиэтиленового (ПЭГ) стандарта.

Сополиаминокислота АВ6.

Сополиаминокислоту АВ6-1, имеющую среднечисленную молекулярную массу (Mn) 3500 г/моль (10,0 г), растворяют в DMF (420 мл) при 30-40°C, затем поддерживают при этой температуре. Параллельно гидрохлоридную соль молекулы AA7 (1,47 г, 2,3 ммоль) суспендируют в DMF (12 мл) и добавляют триэтиламин (0,23 г, 2,3 ммоль), затем смесь слегка нагревают при перемешивании до полного растворения. NMM (7,6 г, 75 ммоль), раствор AA7, затем 2-гидроксипиридин N-оксид (НОРО, 0,84 г, 7,5 ммоль) добавляют последовательно к раствору сополиаминокислоты в DMF. Реакционную среду затем охлаждают до 0°C, затем добавляют EDC (1,44 г, 7,5 ммоль) и среду снова доводят до комнатной температуры в течение 2 ч. Реакционную среду фильтруют через 0,2-мм тканевый фильтр и выливают по каплям при перемешивании на 3,5 л воды, содержащей NaCl при 15 мас.% и HCl (pH 2). По завершении добавления pH снова доводят до 237% раствором HCl и суспензии дают выстаиваться в течение ночи. Осадок собирают фильтрованием, затем промывают при помощи 100 мл воды. Полученное белое твердое вещество растворяют в 500 мл воды путем медленного добавления при перемешивании 1N водного раствора NaOH до доведения до pH 7, затем раствор фильтруют через 0,45-мкм фильтр. Полученный прозрачный раствор очищают путем ультрафильтрации против 0,9% раствора NaCl, затем воды до тех пор, пока электропроводность фильтрата не будет меньше чем 50 мкСм/см. Раствор фильтруют через 0,2-мкм фильтр и хранят при 2-8°C.

Сухой экстракт: 21,6 мг/г.

DP (определенная на основании ¹H ЯМР): 20.

На основании ¹H ЯМР: $i=0,025$.

Рассчитанная средняя молекулярная масса сополиаминокислоты АВ6=3369 г/моль.

ВЭЖХ - водная эксклюзионная хроматография (калибрующее вещество ПЭГ): $M_n=4000$ г/моль.

Пример АВ7: сополиаминокислота АВ7 - поли-L-глутамат натрия кэппированный на одном из его концов ацетильной группой при помощи молекулы AA7 и имеющий среднечисленную молекулярную массу (Mn) 3300 г/моль.

Сополиаминокислота АВ7-1: поли-L-глутаминовая кислота, имеющая относительную среднечисленную молекулярную массу (Mn) 3600 моль и DP=21, образующаяся в результате полимеризации N-карбоксиянгидрида γ -бензил-L-глутамата, инициируемой гексилламином, и кэппированная на одном из ее концов ацетильной группой.

В круглодонную колбу, предварительно высушенную в печи, загружают под вакуумом N-карбоксиянгидрид γ -бензил-L-глутамата (Glu(OBn)-NCA, 100,0 г, 380 ммоль) в течение 30 мин, затем вводят безводный DMF (225 мл). Смесь затем перемешивают в атмосфере аргона до полного растворения, охлаждают до 4°C, затем быстро вводят гексилламин (1,78 г, 17 ммоль). Смесь перемешивают при температуре между 4°C и комнатной температурой в течение 2 дней, затем осаждают в диизопропиловом эфире (3,4 л). Осадок выделяют фильтрованием, промывают два раза диизопропиловым эфиром (225 мл), затем сушат с получением белого твердого вещества, которое растворяют в 450 мл ТГФ. К этому раство-

ру добавляют последовательно DIPEA (31 мл, 176 ммоль), затем уксусный ангидрид (17 мл, 176 ммоль). После перемешивания в течение ночи при комнатной температуре раствор выливают медленно в диизопропиловый эфир (3 л) при перемешивании. После перемешивания в течение 1 ч осадок фильтруют, промывают два раза диизопропиловым эфиром (250 мл), затем сушат под вакуумом при 30°C с получением поли(γ -бензил-L-глутаминовой) кислоты, кэппированной на одном из ее концов ацетильной группой.

33% раствор бромистоводородной кислоты (HBr) в уксусной кислоте (235 мл) добавляют по каплям к раствору сополиаминокислоты, указанному выше (72 г), в трифторуксусной кислоте (TFA, 335 мл) при 4°C. Смесь перемешивают при комнатной температуре в течение 3 ч 30 мин, затем выливают по каплям на 1:1 (об/об) смесь диизопропилового эфира и воды при перемешивании (4 л). После 2 ч перемешивания гетерогенной смеси дают выстояться в течение ночи. Белый осадок выделяют фильтрованием, промывают 1:1 (об/об) смесью диизопропилового эфира и воды (340 мл), затем водой (340 мл).

Полученное твердое вещество затем растворяют в воде (1,5 л) путем доведения pH до 7 путем добавления 10N водного раствора гидроксида натрия, затем 1N водного раствора гидроксида натрия. После солубилизации раствор разбавляют путем добавления воды до получения конечного объема 2,1 л. Раствор фильтруют через 0,45-мкм фильтр, затем очищают путем ультрафильтрации против 0,9% раствора NaCl, затем воды до тех пор, пока электропроводность фильтрата не будет меньше чем 50 мкСм/см. Раствор сополиаминокислоты затем концентрируют до конечного объема 1,8 л.

Водный раствор затем подкисляют путем добавления 37% раствора хлористоводородной кислоты до достижения pH 2. После 4 ч перемешивания полученный осадок фильтруют, промывают водой (330 мл), затем сушат под вакуумом при 30°C с получением поли-L-глутаминовой кислоты, имеющей среднечисленную молекулярную массу (Mn) 3600 г/моль относительно полиоксиэтиленового стандарта (ПЭГ) и среднюю степень полимеризации 21.

Сополиаминокислота АВ7.

Способом, аналогичным используемому для получения сополиаминокислоты АВ6, в применении к гидрохлоридной соли молекулы АА7 (1,43 г, 2,2 ммоль) и к сополиаминокислоте АВ7-1 (10,0 г), получают натриевую соль поли-L-глутаминовой кислоты, модифицированную молекулой АА7.

Сухой экстракт: 24,3 мг/г.

DP (определенная на основании ^1H ЯМР): 21.

На основании ^1H ЯМР: $i=0,03$.

Рассчитанная средняя молекулярная масса сополиаминокислоты АВ7 составляет 3677 г/моль.

ВЭЖХ - водная эксклюзионная хроматография (калибрующее вещество ПЭГ): $M_n=3300$ г/моль.

Пример АВ8: сополиаминокислота АВ8 - поли-L-глутамат натрия, модифицированный молекулой АА7 и имеющий среднечисленную молекулярную массу (Mn) 3600 г/моль.

Сополиаминокислота АВ8-1: поли-L-глутаминовая кислота, имеющая среднечисленную молекулярную массу (Mn) 3800 г/моль, образующаяся в результате полимеризации N-карбоксиянгидрида γ -метил-L-глутамата, инициируемой аммиаком.

Способом, аналогичным описанному в патентной заявке FR-A-2801226, в применении к N-карбоксиянгидриду γ -метил-L-глутаминовой кислоты (25,0 г, 133,6 ммоль) и к 0,5N раствору аммиака в диоксане (12,1 мл, 6,05 ммоль) получают поли-L-глутаминовую кислоту.

Сополиаминокислота АВ8.

Способом, аналогичным используемому для получения сополиаминокислоты АВ6, в применении к гидрохлоридной соли молекулы АА7 (2,1 г, 3,24 ммоль) и к сополиаминокислоте АВ8-1 (14,3 г) получают поли-L-глутамат натрия, модифицированный молекулой АА7.

Сухой экстракт: 25,2 мг/г.

DP (определенная на основании ^1H ЯМР): 24.

На основании ^1H ЯМР: $i=0,03$.

Рассчитанная средняя молекулярная масса сополиаминокислоты АВ8 составляет 4099 г/моль.

ВЭЖХ - водная эксклюзионная хроматография (калибрующее вещество ПЭГ): $M_n=3600$ г/моль.

Пример АВ10: сополиаминокислота АВ10 - поли-L-глутамат натрия, модифицированный молекулой АА4 и имеющий среднечисленную молекулярную массу (Mn) 2600 г/моль.

Способом, аналогичным используемому для получения сополиаминокислоты АВ7, в применении к гидрохлоридной соли молекулы АА4 и к поли-L-глутаминовой кислоте, полученной способом, аналогичным используемому для получения сополиаминокислоты АВ6-1, получают поли-L-глутамат натрия, модифицированный молекулой АА4.

Сухой экстракт: 18,3 мг/г.

DP (определенная на основании ^1H ЯМР): 25.

На основании ^1H ЯМР: $i=0,08$.

Рассчитанная средняя молекулярная масса сополиаминокислоты АВ10 составляет 4870 г/моль.

ВЭЖХ - водная эксклюзионная хроматография (калибрующее вещество ПЭГ): $M_n=2600$ г/моль.

Пример АВ21: сополиаминокислота АВ21 - поли-L-глутамат натрия, модифицированный молеку-

лой АА7 и имеющий среднечисленную молекулярную массу (M_n) 3400 г/моль.

Способом, аналогичным используемому для получения сополиаминокислоты АВ6, в применении к гидрохлоридной соли молекулы АА7 (2,44 г, 2,4 ммоль) и к поли-L-глутаминовой кислоте (10 г), полученной способом, аналогичным используемому для получения сополиаминокислоты АВ6-1, получают поли-L-глутамат натрия, модифицированный молекулой АА7.

Сухой экстракт: 22,7 мг/г.

DP (определенная на основании ^1H ЯМР): 22.

На основании ^1H ЯМР: $i=0,056$.

Рассчитанная средняя молекулярная масса сополиаминокислоты АВ21 составляет 4090 г/моль.

ВЭЖХ - водная эксклюзионная хроматография (калибрующее вещество ПЭГ): $M_n=3400$ г/моль.

Пример АВ17: сополиаминокислота АВ17 - поли-L-глутамат натрия, модифицированный по одному из его концов молекулой АА7 и имеющий среднечисленную молекулярную массу (M_n) 3500 г/моль.

Гидрохлоридную соль молекулы АА7 (2,80 г, 4,32 ммоль), хлороформ (5 мл), молекулярные сита 4Å (1,3 г), а также ионообменную смолу Amberlite IRN 150 (1,3 г) последовательно вводят в соответствующий контейнер. После перемешивания в течение 1 ч на роликах среду фильтруют и смолу промывают хлороформом. Смесь упаривают, затем совместно упаривают с толуолом. Остаток растворяют в безводном DMF (30 мл) для непосредственного использования в реакции полимеризации.

N-карбоксиянгидрид γ -бензил-L-глутамата (25,0 г, 94,9 ммоль) загружают под вакуумом в течение 30 мин в круглодонную колбу, предварительно высушенную в печи, затем вводят безводный DMF (140 мл). Смесь перемешивают в атмосфере аргона до полного растворения, охлаждают до 4°C, затем быстро вводят раствор молекулы АА7, полученный как описано выше. Смесь перемешивают при температуре между 4°C и комнатной температурой в течение 2 дней, затем нагревают при 65°C в течение 2 ч. Реакционную смесь затем охлаждают до комнатной температуры, затем выливают по каплям в диизопропиловый эфир (1,7 л) при перемешивании. Белый осадок выделяют фильтрованием, промывают два раза диизопропиловым эфиром (140 мл), затем сушат под вакуумом при 30°C с получением белого твердого вещества. Твердое вещество разбавляют в TFA (160 мл) и затем добавляют по каплям 33% раствор бромоводородной кислоты (HBr) в уксусной кислоте (62 мл, 354 ммоль) и при 0°C. Раствор перемешивают в течение 2 ч при комнатной температуре, затем выливают по каплям на 1:1 (об/об) смесь диизопропиловый эфир/вода и при перемешивании (1,9 л). После 2 ч перемешивания гетерогенной смеси дают выстояться в течение ночи. Белый осадок выделяют фильтрованием, промывают последовательно 1:1 (об/об) смесью диизопропилового эфира и воды (280 мл), затем водой (140 мл). Полученное твердое вещество растворяют в воде (530 мл) путем доведения pH до 7 путем добавления 10N водного раствора гидроксида натрия, затем 1N водного раствора гидроксида натрия. После сольubilизации теоретическую концентрацию доводят до теоретического значения 20 г/л путем добавления воды до получения конечного объема 800 мл. Смесь фильтруют через 0,45-мкм фильтр, затем очищают путем ультрафильтрации против 0,9% раствора NaCl, затем воды до тех пор, пока электропроводность фильтрата не будет меньше чем 50 мкСм/см. Раствор сополиаминокислоты затем концентрируют до теоретической концентрации примерно 30 г/л и pH доводят до 7,0. Водный раствор фильтруют через 0,2 мкм и хранят при 4°C.

Сухой экстракт: 25,2 мг/г.

DP (определенная методом ^1H ЯМР)=26, поэтому $i=0,038$.

Рассчитанная средняя молекулярная масса сополиаминокислоты АВ17 составляет 4500 г/моль.

ВЭЖХ - водная эксклюзионная хроматография (калибрующее вещество ПЭГ): $M_n=3500$ г/моль.

Пример АВ18: сополиаминокислота АВ18 - поли-L-глутамат натрия, модифицированный по одному из его концов молекулой АА7, имеющий среднечисленную молекулярную массу (M_n) 3700 г/моль.

Поли-L-глутамат натрия, модифицированный по одному из его концов молекулой АА7, получают путем полимеризации N-карбоксиянгидрида γ -метил-глутаминовой кислоты (25,0 г, 133,6 ммоль) с использованием гидрохлоридной соли молекулы АА7 (2,80 г, 4,32 ммоль) в качестве инициатора, и осуществляя удаление защитных групп сложных метиловых эфиров с использованием 37% раствора хлороводородной кислоты в соответствии со способом, описанным в патентной заявке FR-A-2801226.

Сухой экстракт: 44,3 мг/г.

DP (определенная методом ^1H ЯМР)=22, поэтому $i=0,045$.

Рассчитанная средняя молекулярная масса сополиаминокислоты АВ18 составляет 3896 г/моль.

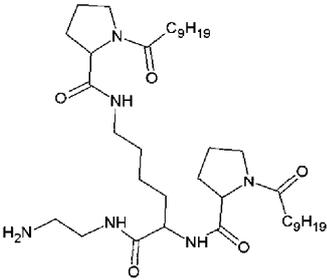
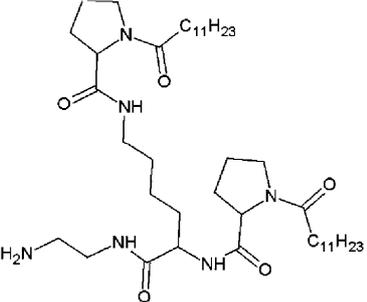
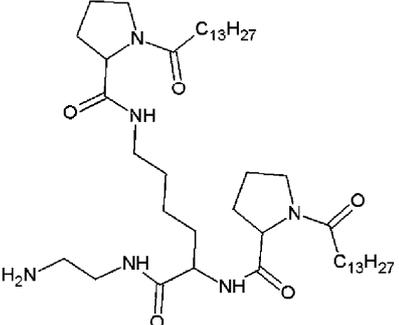
ВЭЖХ - водная эксклюзионная хроматография (калибрующее вещество ПЭГ): $M_n=3700$ г/моль.

Часть В. Гидрофобные радикалы.

ВВ. Синтез гидрофобных молекул, в которых $p=2$.

Радикалы представлены в следующей табл. 1с' соответствующей гидрофобной молекулой до прививки на сополиаминокислоту.

Перечень гидрофобных молекул, синтезированных в соответствии с изобретением

№	Структура гидрофобной молекулы до прививки на сополиаминокислоту
BA1	
BA2	
BA3	

Молекула В2: продукт, полученный путем взаимодействия между молекулой В1 и L-лизинном.

Способом, аналогичным используемому для получения молекулы В1, в применении к молекуле В1 (14,57 г, 54,07 ммоль) и к L-лизину (4,15 г, 28,39 ммоль), получают желтое масло.

Выход: 16,4 г (93%).

¹H ЯМР (CDCl₃, м.д.): 0,88 (6H); 1,26 (24H); 1,35-1,65 (8H); 1,85-2,35 (12H); 2,53 (0,2H); 2,90 (0,8H); 3,45-3,75 (5H); 4,50-4,70 (3H); 7,82 (1H).

ЖХ/МС (ESI): 649,6; (рассчитано ([M+H]⁺): 649,9).

Молекула В3: продукт, полученный путем взаимодействия между молекулой В2 и Вос-этилендиаминилом.

DIPEA (8,80 мл) и тетрафторборат 2-(1H-бензотриазол-1-ил)-1,1,3,3-тетраметилурония (ТВТУ, 8,52 г, 26,54 ммоль) при комнатной температуре добавляют к раствору молекулы В2 (16,4 г, 25,27 ммоль) в ТГФ (170 мл). После 30 мин перемешивания добавляют Вос-этилендиамин (4,45 г, 27,8 ммоль). После перемешивания при комнатной температуре в течение 2 ч растворитель выпаривают при пониженном давлении и остаток разбавляют этилацетатом (400 мл). Органическую фазу промывают водой (250 мл), насыщенным водным раствором NaHCO₃ (250 мл), 1N водным раствором HCl (250 мл), насыщенным водным раствором NaCl (250 мл) и сушат над Na₂SO₄. После фильтрования и концентрирования под вакуумом полученный остаток очищают хроматографией на силикагеле (этилацетат, метанол) с получением бесцветного масла.

Выход: 12,8 г (64%).

¹H ЯМР (CDCl₃, м.д.): 0,87 (6H); 1,25-1,60 (42H); 1,80-2,05 (4H); 2,15-2,45 (9H); 3,10-3,75 (10H); 4,30 (1H); 4,50 (2H); 5,50 (0,6H); 5,89 (0,2H); 6,15 (0,2H); 7,03 (1H); 7,47 (1H).

ЖХ/МС (ESI): 791,8; (рассчитано ([M+H]⁺): 792,1).

Молекула ВА1.

4N раствор HCl в диоксане (20,2 мл) добавляют к раствору молекулы В3 (12,78 г, 16,15 ммоль) в дихлорметане (110 мл) при 5°C. После 20 ч перемешивания при 5°C среду концентрируют под вакуумом. Полученный остаток растворяют в метаноле и упаривают под вакуумом, эту процедуру повторяют 4 раза с получением белого твердого вещества молекулы ВА1 в форме гидрохлоридной соли.

Выход: 11,4 г (97%).

¹H ЯМР (DMSO-d₆, м.д.): 0,85 (6H); 1,25-1,50 (33H); 1,57 (1H); 1,70-2,40 (12H); 2,82 (2H); 3,00 (2H); 3,25-3,70 (6H); 4,05-4,50 (3H); 7,75-8,45 (6H).

ЖХ/МС (ESI): 691,6; (рассчитано ([M+H]⁺): 692,0).

Пример ВА2: молекула ВА2.

Молекула В4: продукт, полученный путем взаимодействия между лауриновой кислотой и L-пролином.

Способом, аналогичным используемому для получения молекулы В1, в применении к лауриновой кислоте (31,83 г, 157,9 ммоль) и к L-пролину (20 г, 173,7 ммоль) получают желтое масло.

Выход: 34,3 г (73%).

¹H ЯМР (CDCl₃, м.д.): 0,87 (3H); 1,26 (16H); 1,70 (2H); 1,90-2,10 (3H); 2,35 (2H); 2,49 (1H); 3,48 (1H); 3,56 (1H); 4,60 (1H).

ЖХ/МС (ESI): 298,2; (рассчитано ([M+H]⁺): 298,4).

Молекула В5: продукт, полученный путем взаимодействия между молекулой В4 и L-лизинном.

Способом, аналогичным используемому для получения молекулы В1, в применении к молекуле В4 (33,72 г, 113,36 ммоль) и к L-лизину (8,70 г, 59,51 ммоль) получают белое твердое вещество.

Выход: 26,2 г (66%).

¹H ЯМР (CDCl₃, м.д.): 0,88 (6H); 1,26 (32H); 1,35-1,65 (8H); 1,85-2,35 (15H); 2,87 (1H); 3,40-3,75 (5H); 4,50-4,75 (3H); 7,87 (1H).

ЖХ/МС (ESI): 705,6; (рассчитано ([M+H]⁺): 706,0).

Молекула В6: продукт, полученный путем взаимодействия между Вос-этилендиамином и молекулой В5.

Способом, аналогичным используемому для получения молекулы В3, в применении к молекуле В5 (25,74 г, 36,51 ммоль) и к Вос-этилендиамину (6,43 г, 40,16 ммоль) получают бесцветное масло.

Выход: 30,9 г (количественный).

¹H ЯМР (CDCl₃, м.д.): 0,88 (6H); 1,35-1,65 (50H); 1,85-2,35 (13H); 3,05-3,75 (10H); 4,25-4,65 (3H); 5,50 (0,4H); 5,88 (0,2H); 6,16 (0,2H); 7,08 (1H); 7,26 (1H); 7,49 (0,2H).

ЖХ/МС (ESI): 847,8; (рассчитано ([M+H]⁺): 848,2).

Молекула ВА2.

Способом, аналогичным используемому для получения молекулы ВА1, в применении к молекуле В6 (30,9 г, 36,47 ммоль) остаток, полученный после концентрирования под вакуумом, растворяют в метаноле и упаривают под вакуумом, эту процедуру повторяют 4 раза с получением белого твердого вещества, представляющего собой молекулу ВА2 в форме гидрохлоридной соли, после сушки при пониженном давлении.

Выход: 27,65 г (97%).

^1H ЯМР (DMSO- d_6 , м.д.): 0,85 (6H); 1,10-2,40 (54H); 2,75-3,15 (4H); 3,25-3,60 (6H); 4,05-4,50 (3H); 7,50-8,50 (6H).

ЖХ/МС (ESI): 747,6; (рассчитано ($[\text{M}+\text{H}]^+$): 748,1).

Пример ВА3: молекула ВА3.

Молекула В7: продукт, полученный путем взаимодействия между миристиновой кислотой и L-пролином.

Способом, аналогичным используемому для получения молекулы В1, в применении к миристиновой кислоте (18,93 г, 82,91 ммоль) и к L-пролину (10 г, 8 6,86 ммоль) получают желтоватое масло.

Выход: 20 г (78%).

^1H ЯМР (CDCl_3 , м.д.): 0,88 (3H); 1,28 (20H); 1,70 (2H); 1,90-2,10 (3H); 2,36 (2H); 2,51 (1H); 3,47 (1H); 3,56 (1H); 4,61 (1H).

ЖХ/МС (ESI): 326,2; (рассчитано ($[\text{M}+\text{H}]^+$): 326,6).

Молекула В8: продукт, полученный путем взаимодействия между молекулой В7 и L-лизинном.

Способом, аналогичным используемому для получения молекулы В1, в применении к молекуле В7 (20,02 г, 61,5 ммоль) и к L-лизину (4,72 г, 32,29 ммоль) получают белое твердое вещество.

Выход: 12,3 г (53%).

^1H ЯМР (DMSO- d_6 , м.д.): 0,85 (6H); 1,26 (40H); 1,35-1,50 (6H); 1,50-2,10 (10H); 2,10-2,25 (4H); 3,01 (2H); 3,31-3,55 (4H); 4,10-4,40 (3H); 7,68 (0,6H); 7,97 (1H); 8,27 (0,4H); 12,50 (1H).

ЖХ/МС (ESI): 761,8; (рассчитано ($[\text{M}+\text{H}]^+$): 762,1).

Молекула В9: продукт, полученный путем взаимодействия между Вос-этилендиамином и молекулой В8.

Способом, аналогичным используемому для получения молекулы В3, в применении к молекуле В8 (12 г, 15,77 ммоль) и к Вос-этилендиамину (3,03 г, 18,92 ммоль) получают бесцветное масло после очистки колоночной хроматографией на силикагеле (этилацетат, метанол).

Выход: 12,5 г (88%).

^1H ЯМР (DMSO- d_6 , м.д.): 0,85 (6H); 1,20-1,55 (55H); 1,50-2,25 (14H); 2,95-3,10 (6H); 3,31-3,55 (4H); 4,10-4,40 (3H); 6,74 (1H); 7,60-8,25 (3H).

ЖХ/МС (ESI): 904,1; (рассчитано ($[\text{M}+\text{H}]^+$): 904,3).

Молекула ВА3.

В соответствии со способом, аналогичным используемому для получения молекулы ВА1, в применении к молекуле В9 (12,5 г, 13,84 ммоль), остаток, полученный после концентрирования под вакуумом, растворяют в метаноле и упаривают под вакуумом, эту процедуру повторяют 4 раза с получением белого твердого вещества, представляющего собой молекулу ВА3 в форме гидрохлоридной соли, после сушки при пониженном давлении.

Выход: 9,2 г (79%).

^1H ЯМР (DMSO- d_6 , м.д.): 0,85 (6H); 1,10-1,65 (48H); 1,70-2,35 (12H); 2,85 (2H); 3,01 (2H); 3,25-3,65 (6H); 4,10-4,50 (3H); 7,70-8,40 (6H).

ЖХ/МС (ESI): 803,9; (рассчитано ($[\text{M}+\text{H}]^+$): 804,2).

Пример ВА4: молекула ВА4.

Молекула В10: продукт, полученный путем взаимодействия между молекулой В8 и Вос-1-амино-4,7,10-триокса-13-тридеканом.

Способом, аналогичным используемому для получения молекулы В3, в применении к молекуле В8 (29,80 г, 39,15 ммоль) и к Вос-1-амино-4,7,10-триокса-13-тридекану (15,05 г, 49,96 ммоль) получают бесцветное вязкое масло.

Выход: 25,3 г (61%).

^1H ЯМР (DMSO- d_6 , м.д.): 0,85 (6H); 1,25-2,35 (75H); 2,85-3,20 (6H); 3,25-3,65 (16H); 4,10-4,45 (3H); 6,38 (0,1H); 6,72 (0,9H); 7,50-8,25 (3H).

ЖХ/МС (ESI): 1064,2; (рассчитано ($[\text{M}+\text{H}]^+$): 1064,5).

Молекула ВА4.

В соответствии со способом, аналогичным используемому для получения молекулы ВА1, в применении к молекуле В10 (25,3 г, 23,8 ммоль), остаток, полученный после концентрирования под вакуумом, растворяют в метаноле и упаривают под вакуумом, эту процедуру повторяют 4 раза с получением белого твердого вещества, представляющего собой молекулу ВА4 в форме гидрохлоридной соли, после сушки при пониженном давлении.

Выход: 20,02 г (84%).

^1H ЯМР (DMSO- d_6 , м.д.): 0,85 (6H); 1,15-2,35 (66H); 2,80-3,20 (6H); 3,30-3,65 (16H); 4,10-4,45 (3H); 7,55-8,60 (6H).

ЖХ/МС (ESI): 964,9; (рассчитано ($[\text{M}+\text{H}]^+$): 964,6).

Молекула В12: продукт, полученный путем взаимодействия между молекулой А1 и L-лизинном.

Способом, аналогичным используемому для получения молекулы В1, в применении к молекуле А1 (19,10 г, 54,02 ммоль) и к L-лизину (4,15 г, 28,36 ммоль) получают маслянистый остаток после концентрирования реакционной среды при пониженном давлении. Этот остаток разбавляют в воде (150 мл), про-

мывают этилацетатом (2×75 мл), затем водную фазу подкисляют до pH 1 путем медленного добавления 6N HCl. Продукт экстрагируют 3 раза дихлорметаном, органическую фазу сушат над Na₂SO₄, затем фильтруют и концентрируют при пониженном давлении с получением 11,2 г желтого маслянистого остатка. Параллельно предыдущую этилацетатную органическую фазу промывают 2N водным раствором HCl (2×75 мл), насыщенным водным раствором NaCl (75 мл), сушат над Na₂SO₄, фильтруют и концентрируют с получением 10,2 г желтого маслянистого остатка. Белый остаток получают путем перекристаллизации каждого из этих остатков в ацетоне.

Выход: 11,83 г (54%).

¹H ЯМР (CDCl₃, м.д.): 0,87 (6H); 1,06-2,44 (70H); 2,78-2,96 (1H); 3,35-3,75 (5H); 4,28-4,43 (0,1H); 4,43-4,52 (0,2H); 4,52-4,61 (1,8H); 4,61-4,75 (0,9H); 7,74-8,02 (2H).

ЖХ/МС (ESI): 818,0; (рассчитано ([M+H]⁺): 818,7).

Молекула В13: продукт, полученный путем взаимодействия между молекулой В12 и Вос-этилендиамином.

DIPEA (3,42 г, 26,43 ммоль) добавляют к раствору молекулы В12 (18,00 г, 22,02 ммоль) при комнатной температуре в ТГФ (110 мл). Реакционную среду охлаждают до 0°C, затем последовательно добавляют НОВт (337 мг, 2,20 ммоль, EDC (4,64 г, 24,23 ммоль) и затем Вос-этилендиамин (4,23 г, 26,43 ммоль). Реакционную смесь перемешивают в течение 1 ч при 0°C, затем в течение 24 ч при комнатной температуре и концентрируют при пониженном давлении. Остаток растворяют в этилацетате (250 мл) и дихлорметане (40 мл), органическую фазу промывают 1N водным раствором HCl (2×125 мл), насыщенным водным раствором NaCl (2×125 мл), сушат над Na₂SO₄ и концентрируют при пониженном давлении. После перекристаллизации два раза в ацетонитриле получают белое твердое вещество.

Выход: 17,5 г (83%).

¹H ЯМР (DMSO-d₆, м.д.): 0,85 (6H); 1,15-2,29 (79H); 2,92-3,12 (6H); 3,30-3,59 (4H); 4,06-4,13 (0,65H); 4,16-4,29 (2H); 4,38-4,42 (0,35H); 6,71-6,76 (1H); 7,60-7,69 (1,3H); 7,76-7,81 (0,65H); 7,93-7,97 (0,35H); 8,00-8,04 (0,35H); 8,10-8,17 (0,35H).

ЖХ/МС (ESI): 960,4; (рассчитано ([M+H]⁺): 960,8).

Молекула ВА5.

Способом, аналогичным используемому для получения молекулы ВА1, в применении к молекуле В13 (24,4 г, 25,43 ммоль), остаток, полученный после концентрирования под вакуумом, растворяют в дихлорметане (150 мл), органическую фазу промывают 2 раза 2M водным раствором гидроксида натрия (90 мл). Добавляют ацетонитрил (12 0 мл) и дихлорметан удаляют путем концентрирования при пониженном давлении. Среду затем оставляют выстаиваться в течение 72 ч и после фильтрования и промывки ацетонитрилом, затем сушки при пониженном давлении получают белое твердое вещество. Эту процедуру повторяют 4 раза.

Выход: 14,28 г (65%).

¹H ЯМР (DMSO-d₆, м.д.): 0,85 (6H); 1,06-2,32 (70H); 2,53-2,63 (2H); 2,89-3,61 (10H); 4,04-4,43 (3H); 7,55-7,62 (0,65H); 7,65-7,72 (0,65H); 7,80 (0,65H); 7,91 (0,35H); 8,03 (0,35H); 8, 14-8,23 (0,35H).

ЖХ/МС (ESI): 860,0; (рассчитано ([M+H]⁺): 860,8).

Пример ВА6: молекула ВА6.

Молекула В14: продукт, полученный путем взаимодействия между молекулой В7 и 2,3-диаминопропионой кислотой.

Способом, аналогичным используемому для получения молекулы В1, в применении к молекуле В7 (80,00 г, 245,78 ммоль) и к дигидрохлориду 2,3-диаминопропионой кислоты (22,84 г, 129,04 ммоль), получают белое твердое вещество после перекристаллизации в ацетонитриле.

Выход: 69 г (78%).

¹H ЯМР (DMSO-d₆, м.д.): 0,86 (6H); 1,08-1,38 (40H); 1,40-1,55 (4H); 1,68-2,30 (12H); 3,16-3,66 (6H); 4,20-4,39 (3H); 7,67-8,31 (2H); 12,70 (1H).

ЖХ/МС (ESI): 719,4; 741,5; (рассчитано ([M+H]⁺): 719,6; ([M+Na]⁺): 741,6).

Молекула В15: продукт, полученный путем взаимодействия между В14 и Вос-этилендиамином.

Способом, аналогичным используемому для получения молекулы В13, в применении к молекуле В14 (32,00 г, 44,50 ммоль) в растворе в дихлорметане и к Вос-этилендиамину (8,56 г, 53,40 ммоль), получают бесцветное масло после очистки хроматографией на силикагеле (этилацетат, метанол).

Выход: 24,5 г (64%).

¹H ЯМР (DMSO-d₆, м.д.): 0,85 (6H); 1,16-2,42 (65H); 2,89-3,14 (4H); 3,17-3,66 (6H); 4,11-4,43 (3H); 6,77 (1H); 7,38-8,23 (3H).

ЖХ/МС (ESI): 861,7; (рассчитано ([M+H]⁺): 861,7).

Молекула ВА6.

Способом, аналогичным используемому для получения молекулы ВА5, в применении к молекуле В15 (24,50 г, 28,45 ммоль), получают белое твердое вещество после перекристаллизации в ацетонитриле.

Выход: 19,7 г (91%).

¹H ЯМР (DMSO-d₆, м.д.): 0,85 (6H); 1,10-2,40 (58H); 2,51-2,62 (2H); 2,90-3,16 (2H); 3,16-3,67 (6H);

4,04-4,47 (3H); 7,33-8,27 (3H).

ЖХ/МС (ESI): 761,5; (рассчитано $([M+H]^+)$: 761,6).

Пример ВА7: молекула ВА7.

Молекула В16: продукт, полученный путем взаимодействия между N-(трет-бутоксикарбонил-1,6-диаминогексаном и молекулой В8.

Способом, аналогичным используемому для получения молекулы В13, в применении к молекуле В8 (10 г, 13,14 ммоль) и к N-(трет-бутоксикарбонил-1,6-диаминогексану (3,41 г, 15,77 ммоль) в дихлорметане, получают белое твердое вещество после перекристаллизации в ацетонитриле.

Выход: 10,7 г (85%).

^1H ЯМР (CDCl_3 , м.д.): 0,88 (6H); 1,17-2,40 (79H); 3,00-3,71 (10H); 4,26-4,58 (3H); 4,67 (1H); 6,74 (1H); 7,34-7,49 (2H).

ЖХ/МС (ESI): 969,9; (рассчитано $([M+H]^+)$: 959,8).

Молекула ВА7.

В соответствии со способом, аналогичным используемому для получения молекулы ВА1, в применении к молекуле В16 (10,5 г, 10,94 ммоль), 2N водный раствор NaOH добавляют по каплям к реакционной смеси, охлажденной до 0°C. Водную фазу экстрагируют дихлорметаном, затем органическую фазу промывают 3 раза 5% водным раствором NaCl. После сушки над Na_2SO_4 органическую фазу фильтруют, концентрируют под вакуумом и остаток перекристаллизовывают в ацетонитриле.

Выход: 5,4 г (58%).

^1H ЯМР (CDCl_3 , м.д.): 0,88 (6H); 1,19-2,40 (72H); 2,67 (2H); 3,03-3,70 (8H); 4,26-4,57 (3H); 6,71 (1H); 7,39-7,49 (2H).

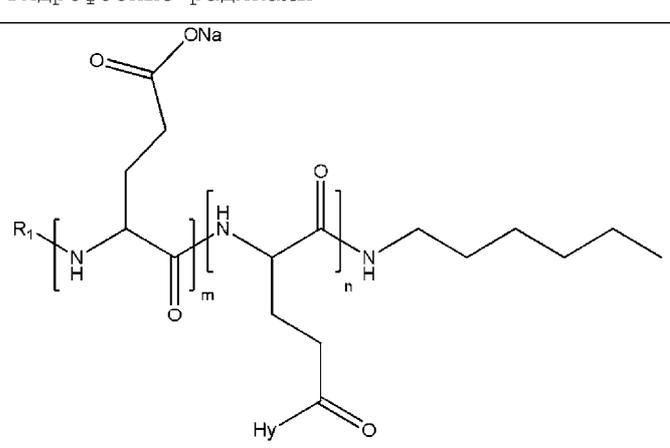
ЖХ/МС (ESI): 859,8; (рассчитано $([M+H]^+)$: 859,7).

ВВ. Синтез сополиаминокислот.

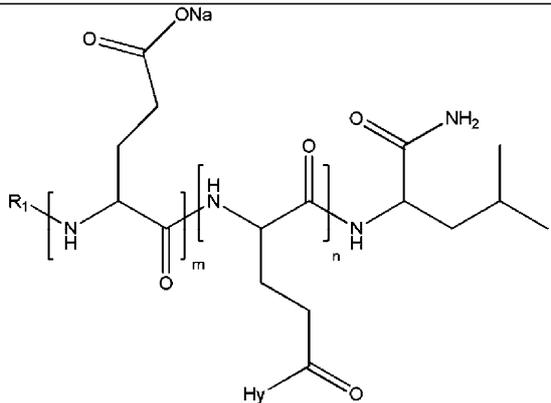
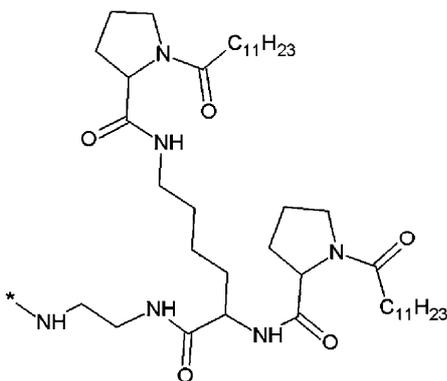
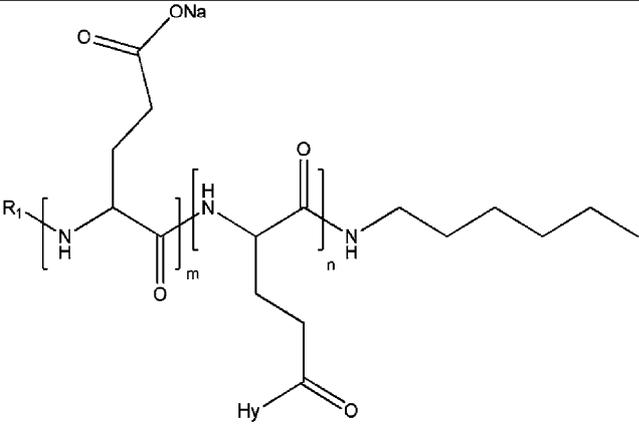
Сополиаминокислоты с статистической прививкой (формулы VII и VIIa).

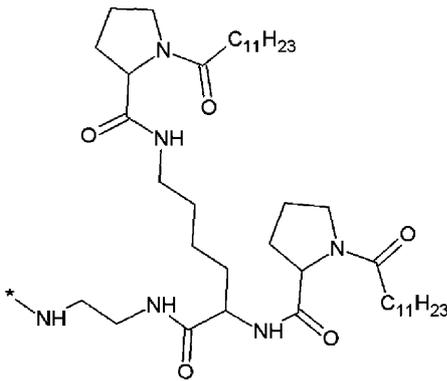
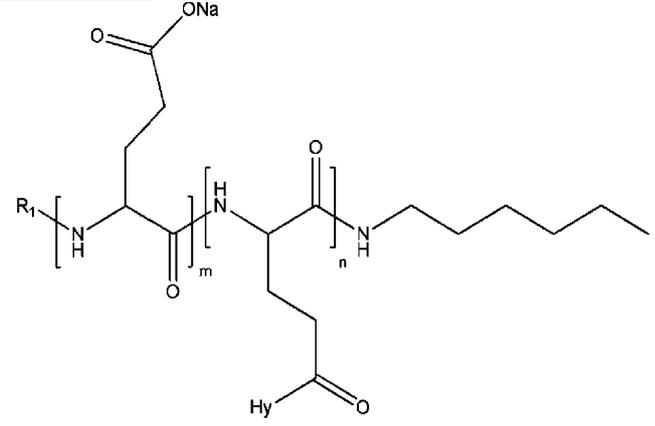
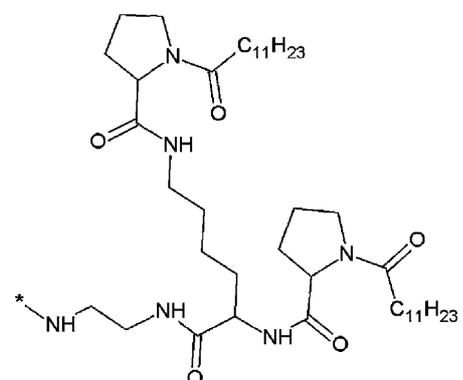
Таблица 1d

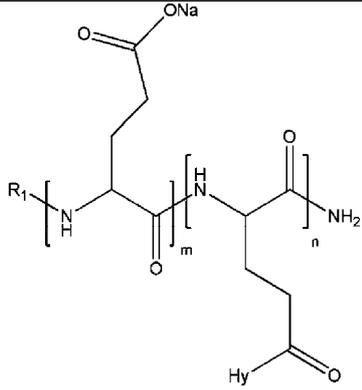
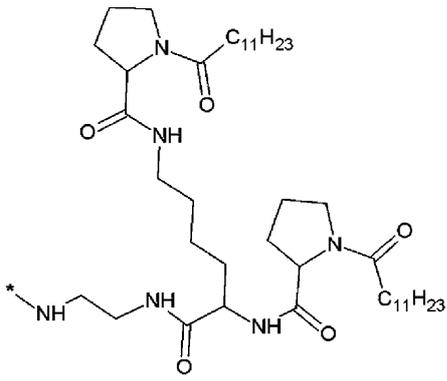
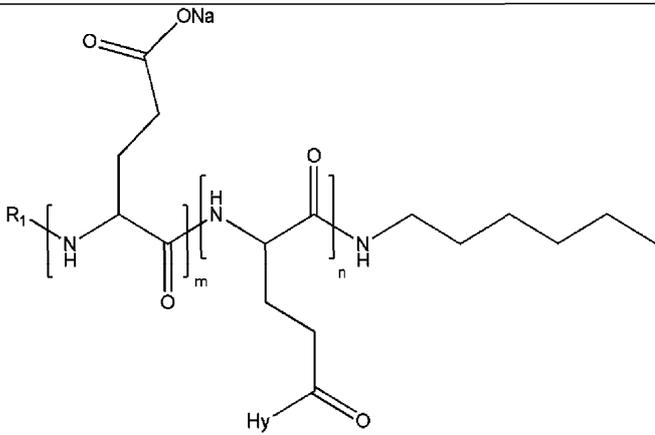
Перечень сополиаминокислот, синтезированных в соответствии с изобретением

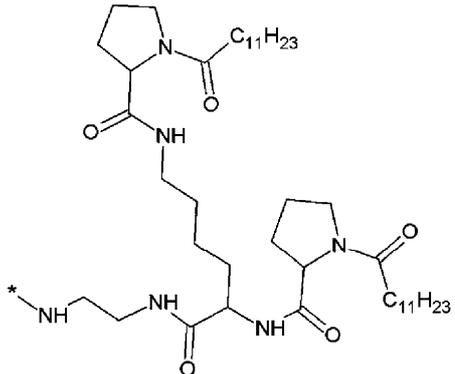
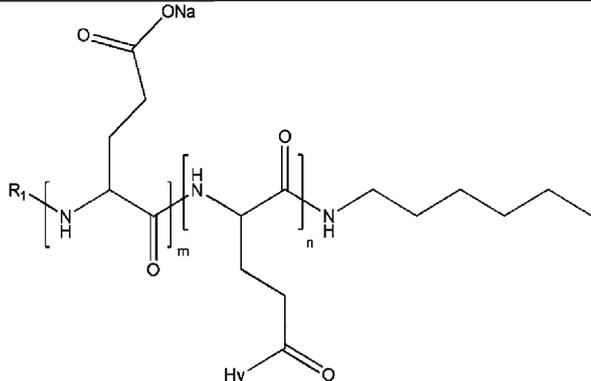
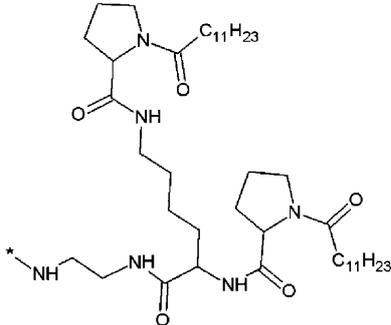
№	сополиаминокислоты, несущие карбоксилатные заряды и гидрофобные радикалы
ВВ1	 <p>$i=0,05, DP (m+n)=23$</p>

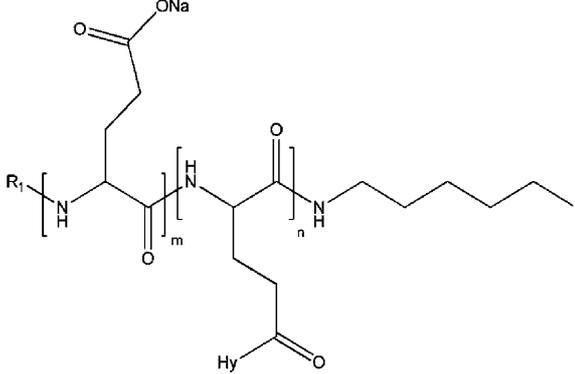
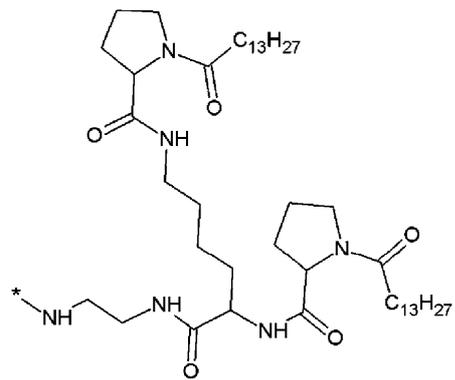
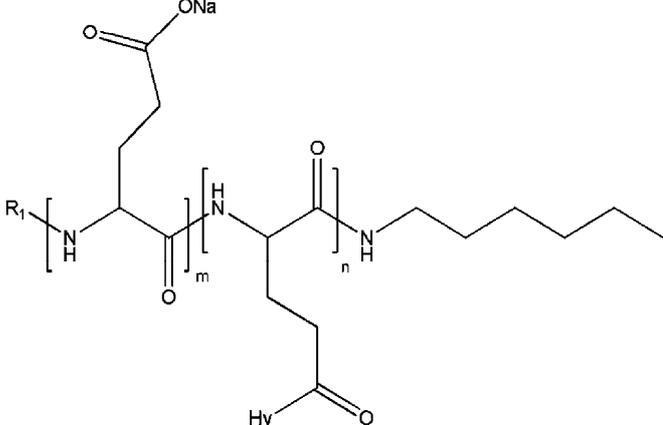
	<p>Hy= R₁=H или пироглутамат</p>
BB2	<p>$i=0,047$, DP (m+n)=21</p> <p>Hy= R₁=H или пироглутамат</p>

BB3	 <p>$i=0,049, DP (m+n)=34$</p>  <p>Hy= R1=H или пироглутамат</p>
BB4	 <p>$i=0,04, DP (m+n)=65$</p>

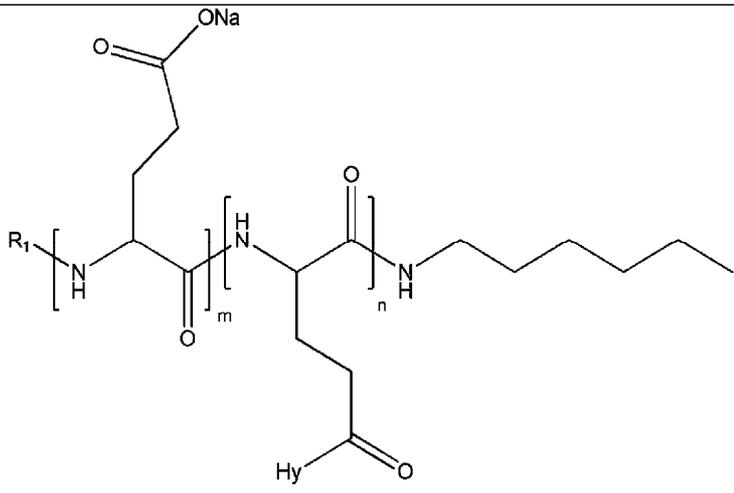
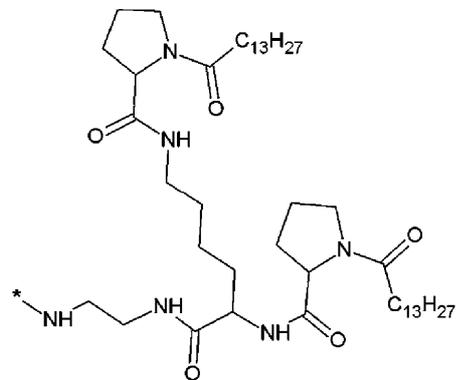
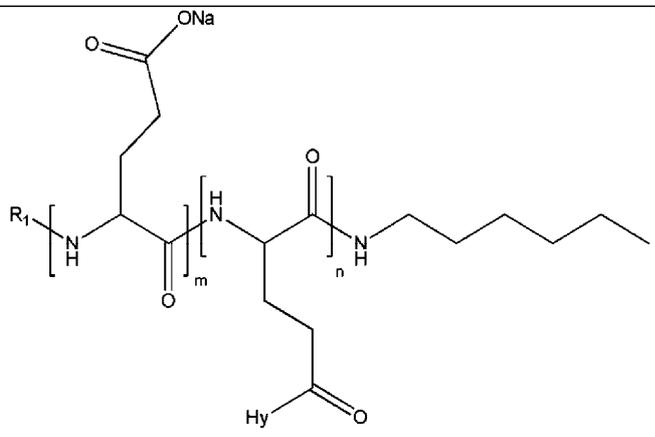
	 <p>Hy= R1=H или пироглутамат</p>
BB5	 <p>$i=0,042$, DP $(m+n)=23$</p>  <p>Hy= R1= CH₃-C(O)-, H или пироглутамат</p>

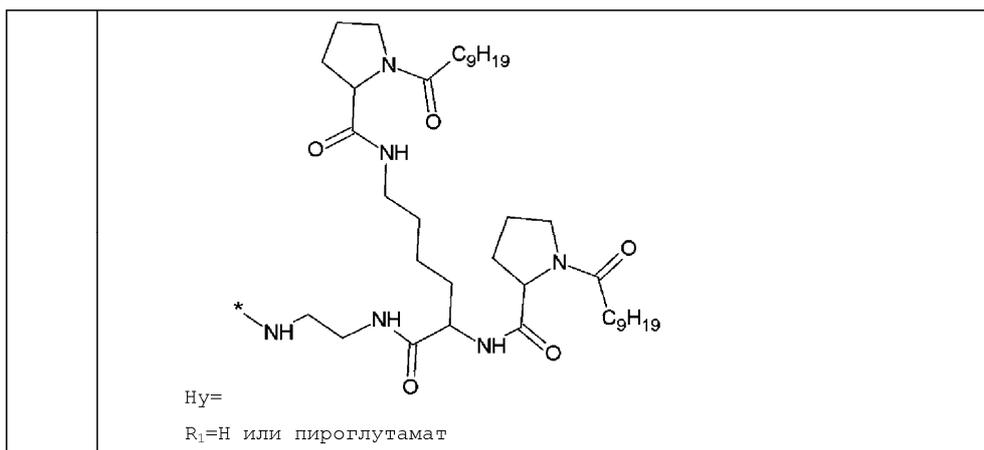
BB6	 <p>$i=0,04, DP (m+n)=24$</p>  <p>Hy= R₁= CH₃-C(O)-, H или пироглутамат</p>
BB7	 <p>$i=0,042, DP (m+n)=22$</p>

	 <p>Hy= R₁=H или пироглутамат</p>
BB8	 <p>i=0,026, DP (m+n)=21</p>  <p>Hy= R₁=H или пироглутамат</p>

BB9	 <p>$i=0,05, DP (m+n)=26$</p>  <p>Hy= R₁=H или пироглутамат</p>
BB10	 <p>$i=0,029, DP (m+n)=22$</p>

	<p>Hy= R1=H или пироглутамат</p>
BB11	<p>$i=0,032$, DP (m+n)=22</p> <p>Hy= R₁= CH₃-C(O)-, H или пироглутамат</p>

BB12	 <p>$i=0,03, DP (m+n)=23$</p>  <p>Hy=</p> <p>R₁= CH₃-C(O)-, H или пироглутамат</p>
BB13	 <p>$i=0,08, DP=25$</p>

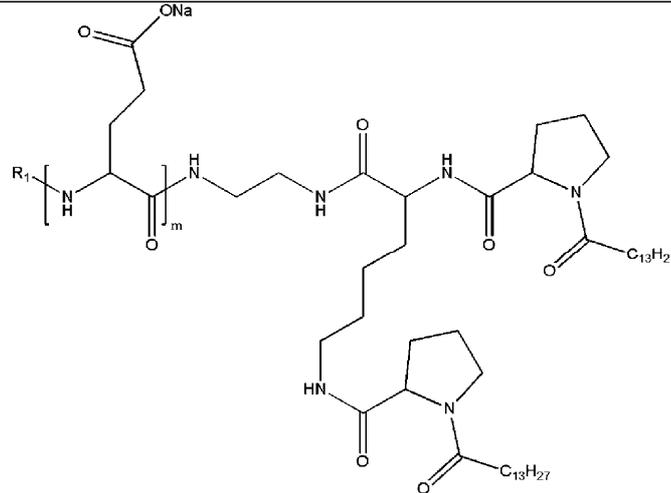
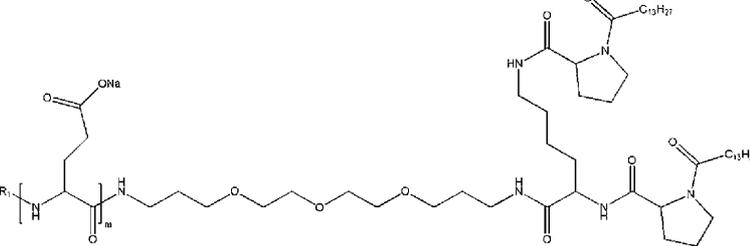
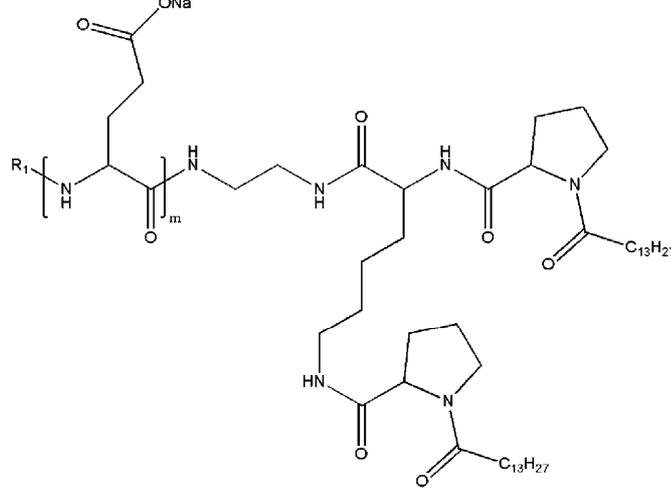


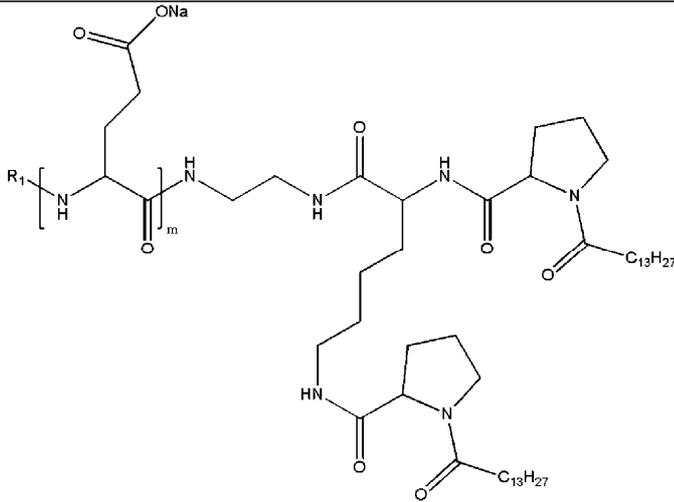
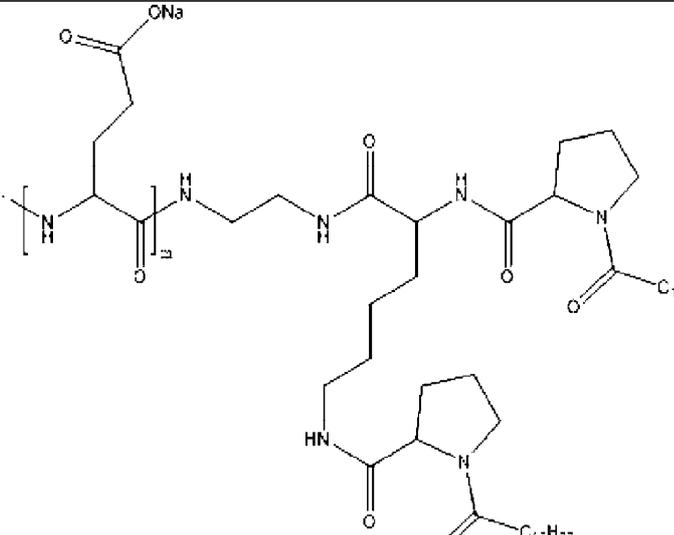
Сополиаминокислоты с заданной прививкой (формулы VII и VIIb).

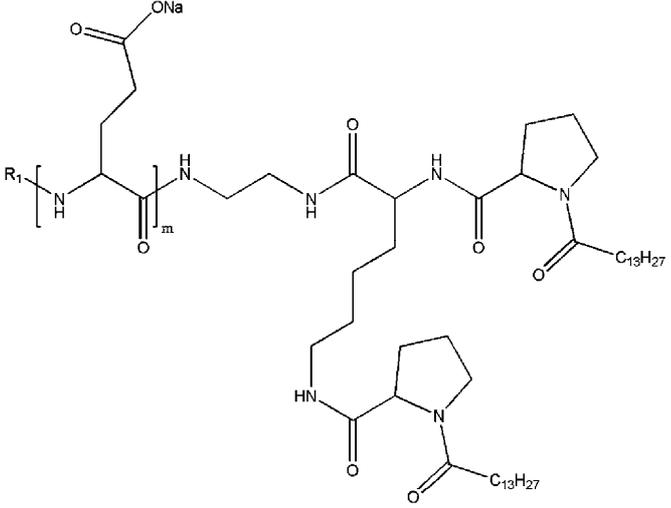
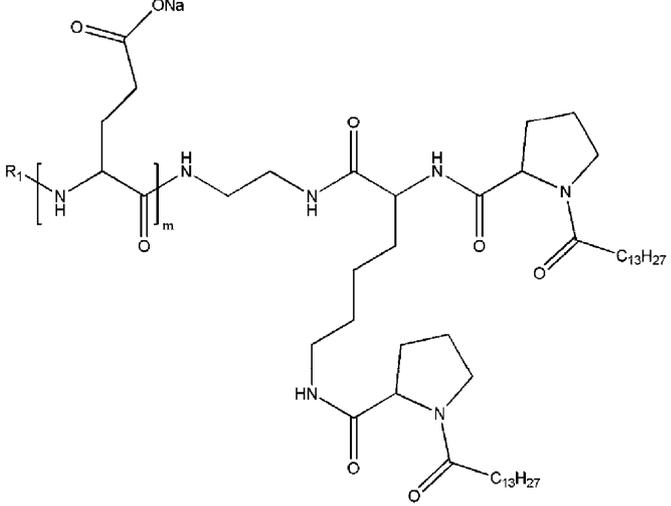
Таблица 1е

Перечень сополиаминокислот, синтезированных в соответствии с изобретением

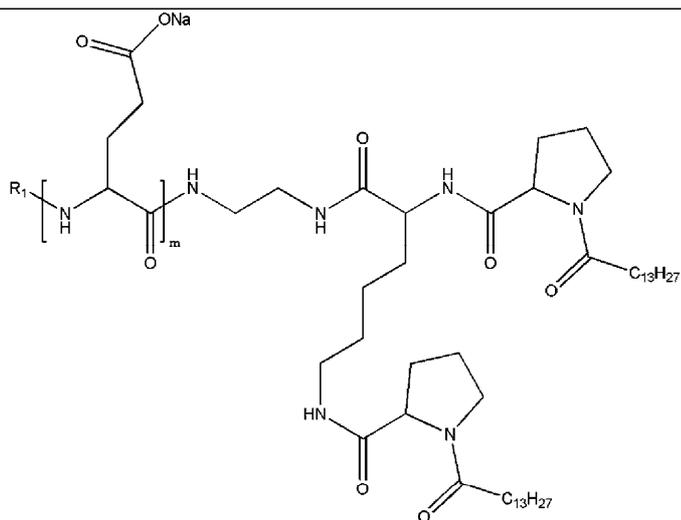
№	сополиаминокислоты, несущие карбоксилатные заряды и гидрофобные радикалы
BB14	<p>$i = 0,034$, DP (m)=29</p> <p>R₁=H или пироглутамат</p>

BB15	 <p>$i=0,042, DP (m)=24$ $R_1=H$ или пироглутамат</p>
BB16	 <p>$i=0,043, DP (m)=23$ $R_1=H$ или пироглутамат</p>
BB17	 <p>$i=0,015, DP (m)=65$ $R_1=H$ или пироглутамат</p>

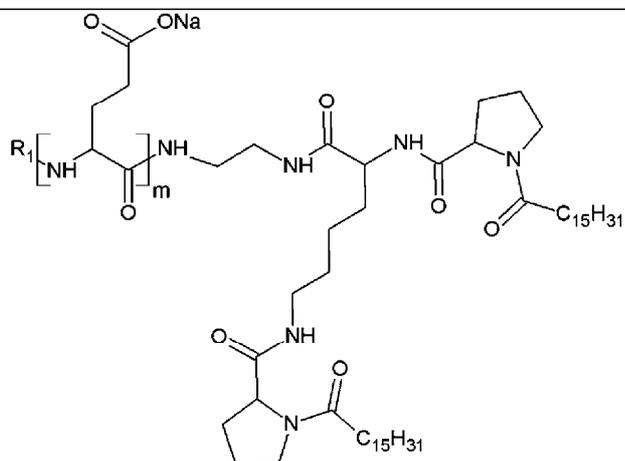
BB18	 <p>$i=0,025$, DP (m)=40 $R_1 = \text{H}$ или пироглутамат</p>
BB19	 <p>$i=0,04$, DP (m)=25 $R_1 = \text{H}$ или пироглутамат</p>

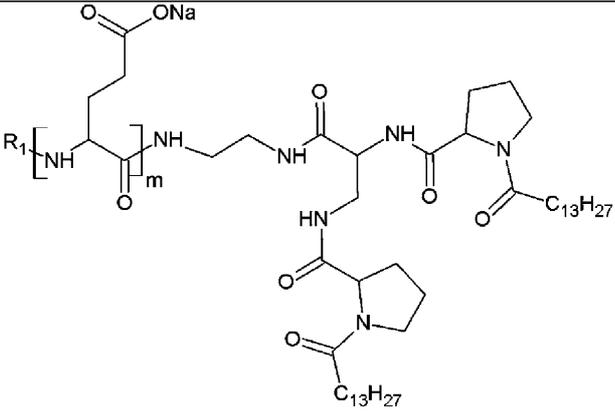
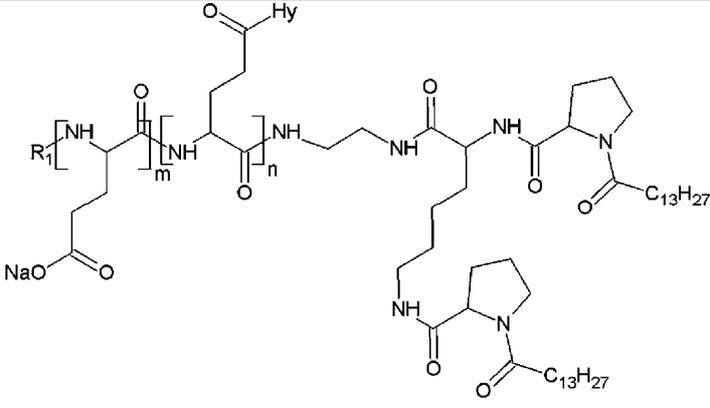
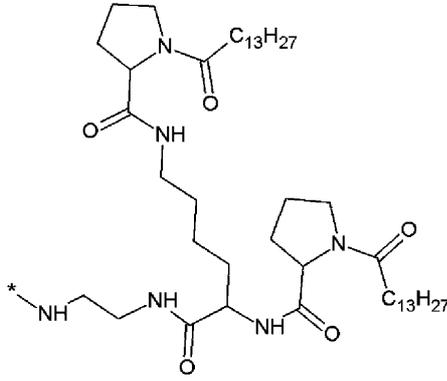
BB20	 <p>$i=0,059$, DP (m)=17 $R_1=H$ или пироглутамат</p>
BB21	 <p>$i=0,11$, DP (m)=9 $R_1=H$ или пироглутамат</p>

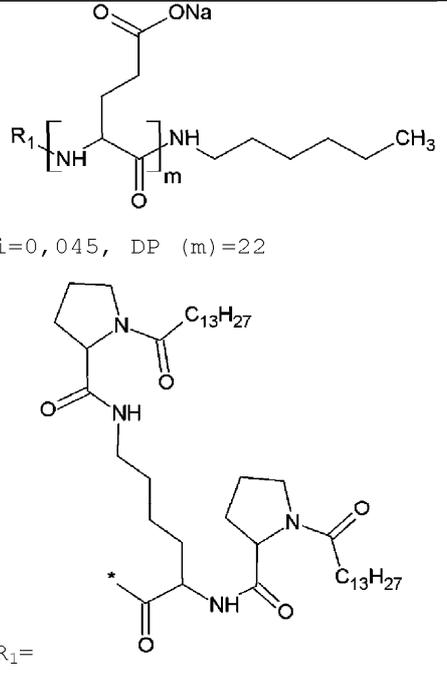
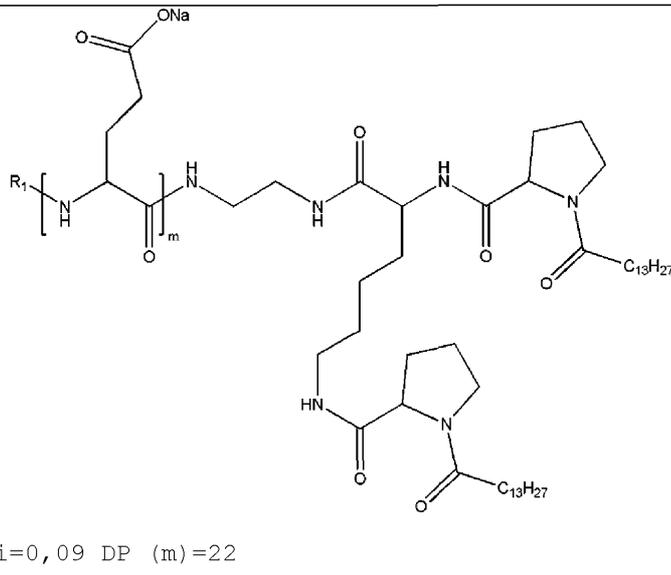
BB24

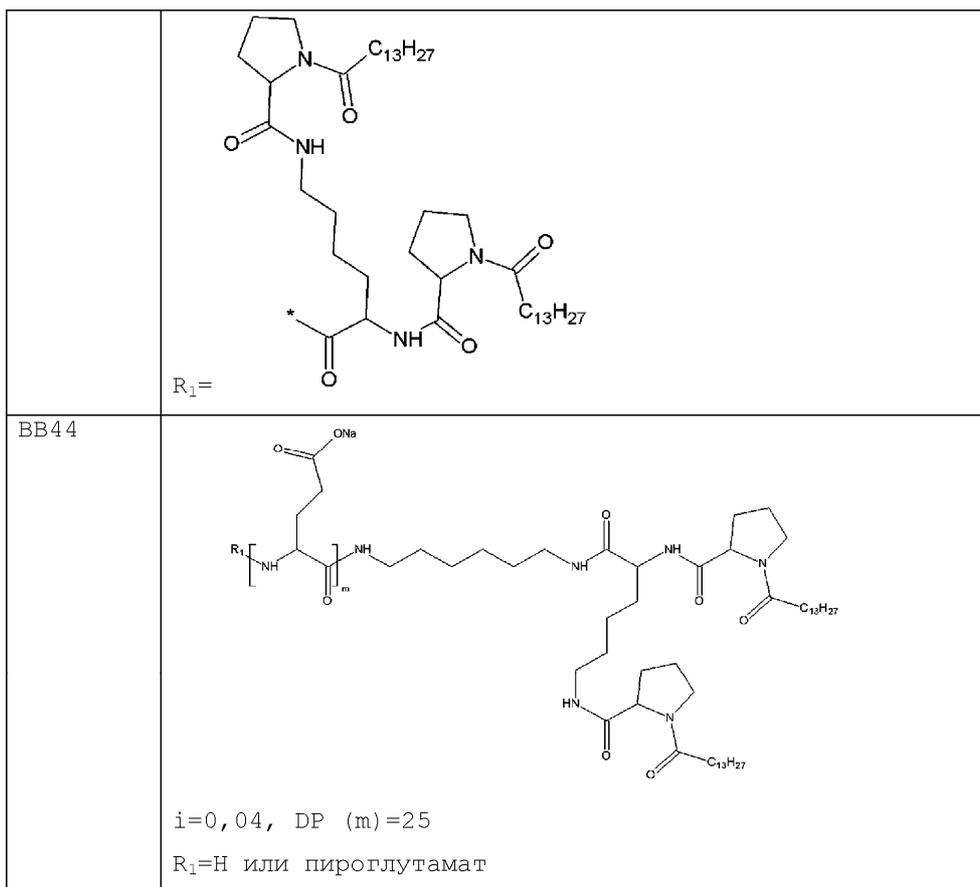

 $i=0,040, DP(m)=25$
 $R_1=H$ или пироглутамат

BB25


 $i=0,043, DP(m)=23$
 $R_1=H$ или пироглутамат

BB26	 <p>$i=0,048$, DP (m)=21 $R_1=H$ или пироглутамат</p>
BB27	 <p>$i=0,089$, DP (m+n)=22</p>  <p>Hy= $R_1=H$ или пироглутамат</p>

BB42	 <p>$i=0,045, DP (m)=22$</p> <p>$R_1=$</p>
BB43	 <p>$i=0,09 DP (m)=22$</p>



Пример ВВ1: сополиаминокислота ВВ1 - поли-L-глутамат натрия, модифицированный молекулой ВА2 и имеющий среднечисленную молекулярную массу (Mn) 2400 г/моль.

Сополиаминокислота ВВ1-1: поли-L-глутаминовая кислота, имеющая относительную среднечисленную молекулярную массу (Mn) 3860 г/моль, образующаяся в результате полимеризации N-карбоксиянгидрида γ -бензил-L-глутамата, инициируемой гексиламином.

В круглодонную колбу, предварительно высушенную в печи, загружают под вакуумом N-карбоксиянгидрид γ -бензил-L-глутамата (90,0 г, 342 ммоль) в течение 30 мин, затем вводят безводный DMF (465 мл). Смесь затем перемешивают в атмосфере аргона до полного растворения, охлаждают до 4°C, затем быстро вводят гексиламин (1,8 мл, 14 ммоль). Смесь перемешивают при температуре между 4°C и комнатной температурой в течение 2 дней. Реакционную среду затем нагревают при 65°C в течение 4 ч, охлаждают до комнатной температуры, затем выливают по каплям в холодный диизопропиловый эфир (6 л) при перемешивании. Белый осадок выделяют фильтрованием, промывают диизопропиловым эфиром (500 мл, затем 250 мл), затем сушат под вакуумом при 30°C с получением поли (γ -бензил-L-глутаминовой кислоты) (PBLG).

33% раствор бромистоводородной кислоты (HBr) в уксусной кислоте (135 мл, 0,77 моль) добавляют по каплям к раствору PBLG (42,1 г) в трифторуксусной кислоте (TFA, 325 мл) при 4°C. Смесь перемешивают при комнатной температуре в течение 2 ч, затем выливают по каплям на 1:1 (об/об) смесь диизопропилового эфира и воды при перемешивании (1,6 л). После перемешивания в течение 1 ч 30 мин гетерогенной смеси дают выстояться в течение ночи. Белый осадок выделяют фильтрованием, промывают 1:1 (об/об) смесью диизопропилового эфира и воды (200 мл).

Полученное твердое вещество затем растворяют в воде (1 л) путем доведения pH до 7 путем добавления 10N водного раствора гидроксида натрия, затем 1N водного раствора гидроксида натрия. После солубилизации теоретическую концентрацию доводят до теоретического значения 25 г/л путем добавления воды до получения конечного объема 1,5 л.

Раствор фильтруют через 0,45-мкм фильтр, затем очищают путем ультрафильтрации против 0,9% раствора NaCl, затем воды до тех пор, пока электропроводность фильтрата не будет меньше чем 50 мкСм/см.

Водный раствор затем подкисляют путем добавления 37% раствора хлористоводородной кислоты до достижения pH 2. После 4 ч перемешивания полученный осадок фильтруют, затем сушат под вакуумом при 30°C с получением поли-L-глутаминовой кислоты, имеющей среднечисленную молекулярную массу (Mn) 3860 г/моль относительно стандарта полиоксиэтилена (ПЭГ).

Сополиаминокислота ВВ1.

Сополиаминокислоту ВВ1-1 (10,0 г) растворяют в DMF (700 мл) при 30-40°C затем охлаждают до 0°C. Гидрохлоридную соль молекулы ВА2 (2,95 г, 3,8 ммоль) суспендируют в DMF (45 мл) и затем к этой суспензии добавляют триэтиламин (0,39 г, 3,8 ммоль), затем смесь слегка нагревают при перемешивании до полного растворения. N-Метилморфолин (NMM, 7,6 г, 75 ммоль) в DMF (14 мл) и этилхлороформиат (ECF, 8,1 г, 75 ммоль) добавляют к раствору сополиаминокислоты при 0°C. По прошествии 10 мин при 0°C добавляют раствор ВА2 и среду поддерживают при 30°C в течение 1 ч. Реакционную среду выливают по каплям на 6 л воды, содержащей 15 мас.% хлорида натрия и HCl (pH 2), затем оставляют выстаиваться в течение ночи. Осадок собирают фильтрованием, промывают раствором хлорида натрия при pH 2 (1 л) и сушат под вакуумом для примерно 1 ч. Полученное белое твердое вещество поглощают в воду (600 мл) и pH доводят до 7 путем медленного добавления 1N водного раствора NaOH. Объем доводят до 700 мл путем добавления воды. После фильтрования через 0,45-мкм фильтр полученный прозрачный раствор очищают путем ультрафильтрации против 0,9% раствора NaCl, затем воды до тех пор, пока электропроводность фильтрата не будет меньше чем 50 мкСм/см. После выделения раствор фильтруют через 0,2-мкм фильтр и хранят при 2-8°C.

Сухой экстракт: 19,7 мг/г.

DP (определенная на основании ¹H ЯМР): 23.

На основании ¹H ЯМР: $i=0,05$.

Рассчитанная средняя молекулярная масса сополиаминокислоты ВВ1 составляет 4350 г/моль.

ВЭЖХ - водная эксклюзионная хроматография (калибрующее вещество ПЭГ): $M_n=2400$ г/моль.

Пример ВВ2: сополиаминокислота ВВ2 - поли-L-глутамат натрия, модифицированный молекулой ВА2 и имеющий среднечисленную молекулярную массу (M_n) 4900 г/моль.

Поли-L-глутаминовую кислоту, имеющую среднечисленную молекулярную массу (M_n) 4100 г/моль (5,0 г), полученную способом, аналогичным используемому для получения сополиаминокислоты ВВ1-1, растворяют в DMF (205 мл) при 30-40°C, затем поддерживают при этой температуре. Параллельно гидрохлоридную соль молекулы ВА2 (1,44 г, 1,84 ммоль) суспендируют в DMF (10 мл) и добавляют триэтиламин (0,19 г, 1,84 ммоль), затем смесь слегка нагревают при перемешивании до полного растворения. NMM (3,7 г, 36,7 ммоль), раствор молекулы ВА2, затем 2-гидроксипиридин N-оксид (НОРО, 0,31 г, 2,76 ммоль) добавляют последовательно к раствору сополиаминокислоты в DMF. Реакционную среду затем охлаждают до 0°C, затем добавляют EDC (0,53 г, 2,76 ммоль) и температуре среды дают повыситься до комнатной температуры в течение 3 ч. Реакционную среду выливают по каплям на 1,55 л воды, содержащей 15 мас.% NaCl и HCl (pH 2), при перемешивании. По завершении добавления pH снова доводят до 2 1N раствором HCl и суспензии дают выстаиваться в течение ночи. Осадок собирают фильтрованием, затем промывают при помощи 100 мл воды. Полученное белое твердое вещество растворяют в 200 мл воды путем медленного добавления 1N водного раствора NaOH до доведения до pH 7 при перемешивании, затем раствор фильтруют через 0,45-мкм фильтр. Полученный прозрачный раствор очищают путем ультрафильтрации против 0,9% раствора NaCl, затем воды до тех пор, пока электропроводность фильтрата не будет меньше чем 50 мкСм/см. Полученный раствор фильтруют через 0,2-мкм фильтр и хранят при 2-8°C.

Сухой экстракт: 16,3 мг/г.

DP (определенная на основании ¹H ЯМР): 21.

На основании ¹H ЯМР: $i=0,047$.

Рассчитанная средняя молекулярная масса сополиаминокислоты ВВ2 составляет 3932 г/моль.

ВЭЖХ - водная эксклюзионная хроматография (калибрующее вещество ПЭГ): $M_n=4900$ г/моль.

Пример ВВ3: сополиаминокислота ВВ3 - поли-L-глутамат натрия, модифицированный молекулой ВА2 и имеющий среднечисленную молекулярную массу (M_n) 6400 г/моль.

Сополиаминокислота ВВ3-1: поли-L-глутаминовая кислота, имеющая среднечисленную молекулярную массу (M_n) 17500 г/моль, образующаяся в результате полимеризации N-карбоксиянгидрид γ -метил-L-глутамата, инициируемой L-лейцинамидом.

Поли-L-глутаминовую кислоту, имеющую среднечисленную молекулярную массу (M_n) 17500 г/моль относительно метилполиметакрилатного (PMMA) стандарта получают путем полимеризации N-карбоксиянгидрида γ -метил-глутаминовой кислоты с использованием L-лейцинамида в качестве инициатора и осуществляя удаление защитных групп сложных метиловых эфиров с использованием 37% раствора хлористоводородной кислоты в соответствии со способом, описанным в патентной заявке FR-A-2801226.

Способом, аналогичным используемому для получения сополиаминокислоты ВВ2, в применении к гидрохлоридной соли молекулы ВА2 (3,23 г, 4,1 ммоль) и к сополиаминокислоте ВВ3-1 (11 г), получают поли-L-глутамат натрия, модифицированный молекулой ВА2.

Сухой экстракт: 27,5 мг/г.

DP (определенная на основании ¹H ЯМР): 34.

На основании ¹H ЯМР: $i=0,049$.

Рассчитанная средняя молекулярная масса сополиаминокислоты ВВ3 составляет 6405 г/моль.

ВЭЖХ - водная эксклюзионная хроматография (калибрующее вещество ПЭГ): $M_n=6400$ г/моль.

Пример ВВ4: сополиаминокислота ВВ4 - поли-L-глутамат натрия, модифицированный молекулой ВА2 и имеющий среднечисленную молекулярную массу (M_n) 10500 г/моль.

Способом, аналогичным используемому для получения сополиаминокислоты ВВ2, в применении к гидрохлоридной соли молекулы ВА2 (5 г, 6,35 ммоль) и к поли-L-глутаминовой кислоте, имеющей среднечисленную молекулярную массу $M_n=10800$ г/моль (21,7 г), полученной способом, аналогичным используемому для получения сополиаминокислоты ВВ1-1, получают поли-L-глутамат натрия, модифицированный молекулой ВА2.

Сухой экстракт: 28,2 мг/г.

DP (определенная на основании ^1H ЯМР): 65.

На основании ^1H ЯМР: $i=0,04$.

Рассчитанная средняя молекулярная масса сополиаминокислоты ВВ4 составляет 11721 г/моль.

ВЭЖХ - водная эксклюзионная хроматография (калибрующее вещество ПЭГ): $M_n=10500$ г/моль.

Пример ВВ5: сополиаминокислота ВВ5 - поли-L-глутамат натрия, кэпированный по одному из его концов ацетильной группой и модифицированный молекулой ВА2 и имеющий среднечисленную молекулярную массу (M_n) 3600 г/моль.

Сополиаминокислота ВВ5-1: поли-L-глутаминовая кислота, имеющая M_n 3700 г/моль, образующаяся в результате полимеризации N-карбоксиянгидрида γ -бензил-L-глутамата, инициируемой гексилламином, и кэпированная по одному из ее концов ацетильной группой.

N-карбоксиянгидрид γ -бензил-L-глутамата (100,0 г, 380 ммоль) загружают под вакуумом в течение 30 мин в круглодонную колбу, предварительно высушенную в печи, затем вводят безводный DMF (250 мл). Смесь затем перемешивают в атмосфере аргона до полного растворения, охлаждают до 4°C, затем быстро вводят гексиламин (2,3 мл, 17 ммоль). Смесь перемешивают при температуре между 4°C и комнатной температурой в течение 2 дней, затем осаждают в диизопропиловом эфире (3,4 л). Осадок выделяют фильтрованием, промывают два раза диизопропиловым эфиром (225 мл), затем сушат с получением белого твердого вещества, которое растворяют в 450 мл ТГФ. К этому раствору последовательно добавляют N,N-диизопропилэтиламин (DIPEA, 31 мл, 176 ммоль), затем уксусный ангидрид (17 мл, 176 ммоль). После перемешивания при комнатной температуре в течение ночи раствор выливают медленно в диизопропиловый эфир (3 л) в течение 30 мин при перемешивании. После перемешивания в течение 1 ч осадок фильтруют, промывают два раза диизопропиловым эфиром (200 мл), затем сушат под вакуумом при 30°C с получением поли (γ -бензил-L-глутаминовой кислоты), кэпированной по одному из ее концов ацетильной группой.

33% раствор бромистоводородной кислоты (HBr) в уксусной кислоте (235 мл, 1,34 моль) добавляют по каплям к раствору кэпированной сополиаминокислоты (72 г) в трифторуксусной кислоте (TFA, 335 мл) при 4°C. Смесь перемешивают при комнатной температуре в течение 3 ч 30 мин, затем выливают по каплям на 1:1 (об/об) смесь диизопропилового эфира и воды при перемешивании (4 л). После 2 ч перемешивания гетерогенной смеси дают выстояться в течение ночи. Белый осадок выделяют фильтрованием, промывают 1:1 (об/об) смесью диизопропилового эфира и воды (340 мл), затем водой (340 мл). Полученное твердое вещество затем растворяют в воде (1,5 л) путем доведения pH до 7 путем добавления 10N водного раствора гидроксида натрия, затем 1N водного раствора гидроксида натрия. После сольubilизации теоретическую концентрацию доводят до теоретического значения 20 г/л путем добавления воды до получения конечного объема 2,1 л. Раствор фильтруют через 0,45-мкм фильтр, затем очищают путем ультрафильтрации против 0,9% раствора NaCl, затем воды до тех пор, пока электропроводность филтратата не будет меньше чем 50 мкСм/см. Раствор сополиаминокислоты затем концентрируют до конечного объема 1,8 л. Водный раствор затем подкисляют путем добавления 37% раствора хлористоводородной кислоты до достижения pH 2. После 4 ч перемешивания полученный осадок фильтруют, промывают водой (330 мл), затем сушат под вакуумом при 30°C с получением поли-L-глутаминовой кислоты, имеющей среднечисленную молекулярную массу (M_n) 3700 г/моль относительно стандарта полиоксипропилена (ПЭГ).

Сополиаминокислота ВВ5.

Способом, аналогичным используемому для получения сополиаминокислоты ВВ2, в применении к гидрохлоридной соли молекулы ВА2 (6,92 г, 8,8 ммоль) и к сополиаминокислоте ВВ5-1 (30,0 г) получают поли-L-глутамат натрия, кэпированный по одному из его концов ацетильной группой и модифицированный молекулой ВА2.

Сухой экстракт: 29,4 мг/г.

DP (определенная на основании ^1H ЯМР): 23.

На основании ^1H ЯМР: $i=0,042$.

Рассчитанная средняя молекулярная масса сополиаминокислоты ВВ5 составляет 4302 г/моль.

ВЭЖХ - водная эксклюзионная хроматография (калибрующее вещество ПЭГ): $M_n=3600$ г/моль.

Пример ВВ6: сополиаминокислота ВВ6 - поли-L-глутамат натрия, кэпированный по одному из его

концов ацетильной группой и модифицированный молекулой ВА2 и имеющий среднечисленную молекулярную массу (Mn) 4100 г/моль.

Способом, аналогичным используемому для получения сополиаминокислоты ВВ2, в применении к гидрохлоридной соли молекулы ВА2 (5,8 г, 7,4 ммоль) и к поли-L-глутаминовой кислоте, имеющей среднечисленную молекулярную массу $M_n=3800$ г/моль (25 г), полученной способом, аналогичным используемому для получения сополиаминокислоты ВВ5-1, с использованием аммиака вместо гексилamina, получают поли-L-глутамат натрия, кэппированный по одному из его концов ацетильной группой и модифицированный молекулой ВА2.

Сухой экстракт: 27,6 мг/г.

DP (определенная на основании ^1H ЯМР): 24.

На основании ^1H ЯМР: $i=0,04$.

Рассчитанная средняя молекулярная масса сополиаминокислоты ВВ6 составляет 4387 г/моль.

ВЭЖХ - водная эксклюзионная хроматография (калибрующее вещество ПЭГ): $M_n=4100$ г/моль.

Пример ВВ7: сополиаминокислота ВВ7 - поли-L-глутамат натрия, модифицированный молекулой ВА2 и имеющий среднечисленную молекулярную массу (Mn) 4200 г/моль.

Способом, аналогичным используемому для получения сополиаминокислоты ВВ2, в применении к гидрохлоридной соли молекулы ВА2 (7,07 г, 9,0 ммоль) и к поли-L-глутаминовой кислоте, имеющей среднечисленную молекулярную массу $M_n=3600$ г/моль (30,0 г), полученной способом, аналогичным используемому для получения сополиаминокислоты ВВ1-1, получают поли-L-глутамат натрия, модифицированный молекулой ВА2.

Сухой экстракт: 28,3 мг/г.

DP (определенная на основании ^1H ЯМР): 22.

На основании ^1H ЯМР: $i=0,042$.

Рассчитанная средняя молекулярная масса сополиаминокислоты ВВ7 составляет 4039 г/моль.

ВЭЖХ - водная эксклюзионная хроматография (калибрующее вещество ПЭГ): $M_n=4200$ г/моль.

Пример ВВ8: сополиаминокислота ВВ8 - поли-L-глутамат натрия, модифицированный молекулой ВА2 и имеющий среднечисленную молекулярную массу (Mn) 5200 г/моль.

Способом, аналогичным используемому для получения сополиаминокислоты ВВ2, в применении к гидрохлоридной соли молекулы ВА2 (0,85 г, 1,1 ммоль) и к поли-L-глутаминовой кислоте, имеющей среднечисленную молекулярную массу $M_n=4100$ г/моль (5,0 г), полученной способом, аналогичным используемому для получения сополиаминокислоты ВВ1-1, получают поли-L-глутамат натрия, модифицированный молекулой ВА2.

Сухой экстракт: 28,6 мг/г.

DP (определенная на основании ^1H ЯМР): 21.

На основании ^1H ЯМР: $i=0,026$.

Рассчитанная средняя молекулярная масса сополиаминокислоты ВВ8 составляет 3620 г/моль.

ВЭЖХ - водная эксклюзионная хроматография (калибрующее вещество ПЭГ): $M_n=5200$ г/моль.

Пример ВВ9: сополиаминокислота ВВ9 - поли-L-глутамат натрия, модифицированный молекулой ВА3 и имеющий среднечисленную молекулярную массу (Mn) 4700 г/моль.

Способом, аналогичным используемому для получения сополиаминокислоты ВВ2, в применении к гидрохлоридной соли молекулы ВА3 (3,05 г, 3,6 ммоль) и к поли-L-глутаминовой кислоте, имеющей среднечисленную молекулярную массу $M_n=4100$ г/моль (10,0 г), полученной способом, аналогичным используемому для получения сополиаминокислоты ВВ1-1, получают поли-L-глутамат натрия, модифицированный молекулой ВА3.

Сухой экстракт: 28,6 мг/г.

DP (определенная на основании ^1H ЯМР): 26.

На основании ^1H ЯМР: $i=0,05$.

Рассчитанная средняя молекулярная масса сополиаминокислоты ВВ9 составляет 4982 г/моль.

ВЭЖХ - водная эксклюзионная хроматография (калибрующее вещество ПЭГ): $M_n=4700$ г/моль.

Пример ВВ10: сополиаминокислота ВВ10 - поли-L-глутамат натрия, модифицированный молекулой ВА3 и имеющий среднечисленную молекулярную массу (Mn) 4200 г/моль.

Способом, аналогичным используемому для получения сополиаминокислоты ВВ2, в применении к гидрохлоридной соли молекулы ВА3 (1,90 г, 2,3 ммоль) и к поли-L-глутаминовой кислоте, имеющей среднечисленную молекулярную массу $M_n=3500$ г/моль (10,0 г), полученной способом, аналогичным используемому для получения сополиаминокислоты ВВ1-1, получают поли-L-глутамат натрия, модифицированный молекулой ВА3.

Сухой экстракт: 25,9 мг/г.

DP (определенная на основании ^1H ЯМР): 22.

На основании ^1H ЯМР: $i=0,029$.

Рассчитанная средняя молекулярная масса сополиаминокислоты ВВ10 составляет 3872 г/моль.

ВЭЖХ - водная эксклюзионная хроматография (калибрующее вещество ПЭГ): $M_n=4200$ г/моль.

Пример ВВ11: Сополиаминокислота ВВ11 - поли-L-глутамат натрия, кэппированный по одному из

его концов ацетильной группой и модифицированный молекулой ВА4 и имеющий среднечисленную молекулярную массу (M_n) 3900 г/моль.

Способом, аналогичным используемому для получения сополиаминокислоты ВВ2, в применении к гидрохлоридной соли молекулы ВА4 (2,21 г, 2,2 ммоль) и к поли-L-глутаминовой кислоте, имеющей среднечисленную молекулярную массу $M_n=3700$ г/моль (10 г), полученной способом, аналогичным используемому для получения сополиаминокислоты ВВ5-1, получают поли-L-глутамат натрия, кэппированный по одному из его концов ацетильной группой и модифицированный молекулой ВА4.

Сухой экстракт: 28,1 мг/г.

DP (определенная на основании ^1H ЯМР): 22.

На основании ^1H ЯМР: $i=0,032$.

Рассчитанная средняя молекулярная масса сополиаминокислоты ВВ11 составляет 4118 г/моль.

ВЭЖХ - водная эксклюзионная хроматография (калибрующее вещество ПЭГ): $M_n=3900$ г/моль.

Пример ВВ12: сополиаминокислота ВВ12 - поли-L-глутамат натрия, кэппированный по одному из его концов ацетильной группой и модифицированный молекулой ВА3 и имеющий среднечисленную молекулярную массу (M_n) 3900 г/моль.

Способом, аналогичным используемому для получения сополиаминокислоты ВВ2, в применении к гидрохлоридной соли молекулы ВА3 (1,9 г, 2,3 ммоль) и к поли-L-глутаминовой кислоте, имеющей среднечисленную молекулярную массу $M_n=3600$ г/моль (10 г), полученной способом, аналогичным используемому для получения сополиаминокислоты ВВ5-1, получают поли-L-глутамат натрия, кэппированный по одному из его концов ацетильной группой и модифицированный молекулой ВА3.

Сухой экстракт: 26,7 мг/г.

DP (определенная на основании ^1H ЯМР): 23.

На основании ^1H ЯМР: $i=0,03$.

Рассчитанная средняя молекулярная масса сополиаминокислоты ВВ12 составляет 4145 г/моль.

ВЭЖХ - водная эксклюзионная хроматография (калибрующее вещество ПЭГ): $M_n=3900$ г/моль.

Пример ВВ13: сополиаминокислота ВВ13 - поли-L-глутамат натрия, модифицированный молекулой ВА1 и имеющий среднечисленную молекулярную массу (M_n) 2800 г/моль.

Способом, аналогичным используемому для получения сополиаминокислоты ВВ1, в применении к гидрохлоридной соли молекулы ВА1 (3,65 г, 5 ммоль) и к поли-L-глутаминовой кислоте, имеющей среднечисленную молекулярную массу $M_n=3600$ г/моль (10 г), полученной способом, аналогичным используемому для получения сополиаминокислоты ВВ1-1, получают поли-L-глутамат натрия, модифицированный молекулой ВА1.

Сухой экстракт: 25,6 мг/г.

DP (определенная на основании ^1H ЯМР): 25.

На основании ^1H ЯМР: $i=0,08$.

Рассчитанная средняя молекулярная масса сополиаминокислоты ВВ13 составляет 5253 г/моль.

ВЭЖХ - водная эксклюзионная хроматография (калибрующее вещество ПЭГ): $M_n=2800$ г/моль.

Пример ВВ14: сополиаминокислота ВВ14 - поли-L-глутамат натрия, модифицированный по одному из его концов молекулой ВА2 и имеющий среднечисленную молекулярную массу (M_n) 4020 г/моль.

Гидрохлоридную соль молекулы ВА2 (2,12 г, 2,70 ммоль), хлороформ (40 мл), молекулярные сита 4Å (1,5 г), а также ионообменную смолу Amberlite IRN 150 (1,5 г) вводят последовательно в соответствующий контейнер. После перемешивания в течение 1 ч на роликах среду фильтруют и остаток промывают хлороформом. Смесь упаривают, затем совместно упаривают с толуолом. Остаток растворяют в безводном DMF (20 мл) для непосредственного использования в реакции полимеризации.

N-карбоксиянгидрид γ -бензил-L-глутамата (18 г, 68,42 ммоль) загружают под вакуумом в течение 30 мин в круглодонную колбу, предварительно высушенную в печи, затем вводят безводный DMF (100 мл). Смесь перемешивают в атмосфере аргона до полного растворения, охлаждают до 4°C , затем быстро вводят раствор молекулы ВА2, полученный как описано выше. Смесь перемешивают при температуре между 4°C и комнатной температурой в течение 2 дней, затем нагревают при 65°C в течение 2 ч. Реакционную смесь затем охлаждают до комнатной температуры, затем выливают по каплям в диизопропиловый эфир (1,2 л) при перемешивании. Белый осадок выделяют фильтрованием, промывают два раза диизопропиловым эфиром (100 мл), затем сушат под вакуумом при 30°C с получением белого твердого вещества. Твердое вещество разбавляют в TFA (105 мл) и затем добавляют по каплям 33% раствор бромистоводородной кислоты (HBr) в уксусной кислоте (38 мл, 220 ммоль) при 0°C . Раствор перемешивают в течение 2 ч при комнатной температуре, затем выливают по каплям на 1:1 (об/об) смесь диизопропиловый эфир/вода при перемешивании (600 мл). После 2 ч перемешивания гетерогенной смеси дают выстояться в течение ночи. Белый осадок выделяют фильтрованием, промывают последовательно 1:1 (об/об) смесью диизопропилового эфира и воды (200 мл), затем водой (100 мл). Полученное твердое вещество растворяют в воде (450 мл) путем доведения pH до 7 путем добавления 10N водного раствора гидроксида натрия, затем 1N водного раствора гидроксида натрия. Смесь фильтруют через 0,45-мкм фильтр, затем очищают путем ультрафильтрации против 0,9% раствора NaCl, затем воды до тех пор, пока электропроводность фильтрата не будет меньше чем 50 мкСм/см. Раствор сополиаминокислоты затем концентри-

руют до теоретической концентрации примерно 30 г/л и рН доводят до 7,0. Водный раствор фильтруют через 0,2-мкм фильтр и хранят при 4°C.

Сухой экстракт: 22,3 мг/г.

DP (определенная методом ^1H ЯМР)=29, таким образом $i=0,034$.

Рассчитанная средняя молекулярная масса сополиаминокислоты ВВ14 составляет 5089 г/моль.

ВЭЖХ - водная эксклюзионная хроматография (калибрующее вещество ПЭГ): $M_n=4020$ г/моль.

Пример ВВ15: сополиаминокислота ВВ15 - поли-L-глутамат натрия, модифицированный по одному из его концов молекулой ВА3 и имеющий среднечисленную молекулярную массу (M_n) 3610 г/моль.

Способом, аналогичным используемому для получения сополиаминокислоты ВВ14, в применении к гидрохлоридной соли молекулы ВА3 (3,62 г, 4,32 ммоль) и к 2 5,0 г (94,97 ммоль) N-карбоксихидрида γ -бензил-L-глутамата, получают поли-L-глутамат натрия, модифицированный по одному из его концов молекулой ВА3.

Сухой экстракт: 26,5 мг/г.

DP (определенная методом ^1H ЯМР)=24, таким образом $i=0,042$.

Рассчитанная средняя молекулярная масса сополиаминокислоты ВВ15 составляет 4390 г/моль.

ВЭЖХ - водная эксклюзионная хроматография (калибрующее вещество ПЭГ): $M_n=3610$ г/моль.

Пример ВВ16: сополиаминокислота ВВ16 - поли-L-глутамат натрия, модифицированный по одному из его концов молекулой ВА4 и имеющий среднечисленную молекулярную массу (M_n) 3300 г/моль.

Способом, аналогичным используемому для получения сополиаминокислоты ВВ14, в применении к гидрохлоридной соли молекулы ВА4 (5,70 г, 5,70 ммоль) и к 29,99 г (113,9 ммоль) N-карбоксихидрида γ -бензил-L-глутамата получают поли-L-глутамат натрия, модифицированный по одному из его концов молекулой ВА4.

Сухой экстракт: 32,3 мг/г.

DP (определенная методом ^1H ЯМР)=23, таким образом $i=0,043$.

Рассчитанная средняя молекулярная масса сополиаминокислоты ВВ16 составляет 4399 г/моль.

ВЭЖХ - водная эксклюзионная хроматография (калибрующее вещество ПЭГ): $M_n=3300$ г/моль.

Пример ВВ17: сополиаминокислота ВВ17 - поли-L-глутамат натрия, модифицированный по одному из его концов молекулой ВА3 и имеющий среднечисленную молекулярную массу (M_n) 10700 г/моль.

Способом, аналогичным используемому для получения сополиаминокислоты ВВ14, в применении к гидрохлоридной соли молекулы ВА3 (2,51 г, 3 ммоль) и к 52,7 г (200 ммоль) N-карбоксихидрида γ -бензил-L-глутамата, получают поли-L-глутамат натрия, модифицированный по одному из его концов молекулой ВА3.

Сухой экстракт: 24,5 мг/г.

DP (определенная методом ^1H ЯМР)=65, таким образом $i=0,015$.

Рассчитанная средняя молекулярная масса сополиаминокислоты ВВ17 составляет 10585 г/моль.

ВЭЖХ - водная эксклюзионная хроматография (калибрующее вещество ПЭГ): $M_n=10700$ г/моль.

Пример ВВ18: сополиаминокислота ВВ18 - поли-L-глутамат натрия, модифицированный по одному из его концов молекулой ВА3 и имеющий среднечисленную молекулярную массу (M_n) 6600 г/моль.

Способом, аналогичным используемому для получения сополиаминокислоты ВВ14, в применении к гидрохлоридной соли молекулы ВА3 (2,51 г, 3 ммоль) и к 31,6 г (120 ммоль) N-карбоксихидрида γ -бензил-L-глутамата получают поли-L-глутамат натрия, модифицированный по одному из его концов молекулой ВА3.

Сухой экстракт: 27,3 мг/г.

DP (определенная методом ^1H ЯМР)=40, таким образом $i=0,025$.

Рассчитанная средняя молекулярная масса сополиаминокислоты ВВ18 составляет 6889 г/моль.

ВЭЖХ - водная эксклюзионная хроматография (калибрующее вещество ПЭГ): $M_n=6600$ г/моль.

Пример ВВ19: сополиаминокислота ВВ19 - поли-L-глутамат натрия, модифицированный по одному из его концов молекулой ВА3 и имеющий среднечисленную молекулярную массу (M_n) 3400 г/моль.

Способом, аналогичным используемому для получения сополиаминокислоты ВВ14, в применении к гидрохлоридной соли молекулы ВА3 (36,26 г, 43,2 ммоль) и N-карбоксихидриду γ -бензил-L-глутамата (250,0 г, 949,7 ммоль) получают поли-L-глутамат натрия, модифицированный по одному из его концов молекулой ВА3.

Сухой экстракт: 22,4 мг/г.

DP (определенная методом ^1H ЯМР)=25, таким образом $i=0,04$.

Рассчитанная средняя молекулярная масса сополиаминокислоты ВВ19 составляет 4540 г/моль.

ВЭЖХ - водная эксклюзионная хроматография (калибрующее вещество ПЭГ): $M_n=3400$ г/моль.

Пример ВВ20: сополиаминокислота ВВ20 - поли-L-глутамат натрия, модифицированный по одному из его концов молекулой ВА3 и имеющий среднечисленную молекулярную массу (M_n) 2500 г/моль.

Способом, аналогичным используемому для получения сополиаминокислоты ВВ14, в применении к молекуле ВА3 в форме свободного амина (1,017 г, 12,7 ммоль) и N-карбоксихидриду γ -бензил-L-глутамата (5,0 г, 19,0 ммоль) получают поли-L-глутамат натрия, модифицированный по одному из его

концов молекулой ВА3.

Сухой экстракт: 11,2 мг/г.

DP (определенная методом ^1H ЯМР)=17, таким образом $i=0,059$.

Рассчитанная средняя молекулярная масса сополиаминокислоты ВВ20 составляет 3332 г/моль.

ВЭЖХ - водная эксклюзионная хроматография (калибрующее вещество ПЭГ): $M_n=2500$ г/моль.

Пример ВВ21: сополиаминокислота ВВ21 - поли-L-глутамат натрия, модифицированный по одному из его концов молекулой ВА3 и имеющий среднечисленную молекулярную массу (M_n) 1100 г/моль.

Способом, аналогичным используемому для получения сополиаминокислоты ВВ14, в применении к молекуле ВА3 в форме свободного амина (3,814 г, 4,75 ммоль) и N-карбоксиянгидриду γ -бензил-L-глутамата (10,0 г, 38,0 ммоль) получают поли-L-глутамат натрия, модифицированный по одному из его концов молекулой ВА3.

Сухой экстракт: 16,1 мг/г.

DP (определенная методом ^1H ЯМР)=9, таким образом $i=0,11$.

Рассчитанная средняя молекулярная масса сополиаминокислоты ВВ21 составляет 2123 г/моль.

ВЭЖХ - водная эксклюзионная хроматография (калибрующее вещество ПЭГ): $M_n=1100$ г/моль.

Пример ВВ22: сополиаминокислота ВВ22 - поли-D-глутамат натрия, модифицированный по одному из его концов молекулой ВА3 и имеющий среднечисленную молекулярную массу (M_n) 2900 г/моль.

Способом, аналогичным используемому для получения сополиаминокислоты ВВ14, в применении к молекуле ВА3 в форме свободного амина (2,77 г, 3,45 ммоль) и N-карбоксиянгидриду γ -бензил-D-глутамата (20,0 г, 76,0 ммоль) получают поли-D-глутамат натрия, модифицированный по одному из его концов молекулой ВА3.

Сухой экстракт: 15,2 мг/г.

DP (определенная методом ^1H ЯМР)=21, таким образом $i=0,048$.

Рассчитанная средняя молекулярная масса сополиаминокислоты ВВ22 составляет 3936 г/моль.

ВЭЖХ - водная эксклюзионная хроматография (калибрующее вещество ПЭГ): $M_n=2900$ г/моль.

Пример ВВ23: сополиаминокислота ВВ23 - статистический сополимер, включающий звенья D- или L-глутамата натрия, модифицированный по одному из его концов молекулой ВА3 и имеющий среднечисленную молекулярную массу (M_n) 2800 г/моль.

N-карбоксиянгидрид γ -бензил-L-глутамата (20,0 г, 76,00 ммоль) и N-карбоксиянгидрид γ -бензил-D-глутамата (20,0 г, 76,00 ммоль) помещают под вакуумом в течение 30 мин в круглодонную колбу, предварительно высушенную в печи, затем вводят безводный DMF (75 мл). Смесь перемешивают в атмосфере аргона до полного растворения, охлаждают до 4°C, затем быстро вводят раствор молекулы ВА3 в форме свободного амина (5,55 г, 6,91 ммоль) в хлороформе (14,5 мл). Смесь перемешивают при температуре между 4°C и комнатной температурой в течение 18 ч, затем нагревают при 65°C в течение 2 ч. Реакционную смесь затем охлаждают до комнатной температуры, затем выливают по каплям в диизопропиловый эфир (1,2 л) при перемешивании. Белый осадок выделяют фильтрованием, промывают три раза диизопропиловым эфиром (80 мл), затем сушат под вакуумом при 30°C до получения белого твердого вещества. Твердое вещество разбавляют в TFA (152 мл) и затем добавляют по каплям 33% раствор бромистоводородной кислоты (HBr) в уксусной кислоте (106 мл, 220 ммоль) при 0°C. Раствор перемешивают в течение 3 ч при комнатной температуре затем выливают по каплям на 1:1 (об/об) смесь диизопропиловый эфир/вода при перемешивании (1,84 л). Водную фазу отделяют в капельную воронку и pH доводят до 7,2 путем добавления 10N водного раствора NaOH. После добавления воды (250 мл) смесь фильтруют через 0,45-мкм фильтр, затем очищают путем ультрафильтрации против 0,9% раствора NaCl, затем воды до тех пор, пока электропроводность фильтрата не будет меньше чем 50 мкСм/см. Раствор сополиаминокислоты затем концентрируют до примерно 25 г/л, фильтруют через 0,2-мкм фильтр и хранят при 4°C.

Сухой экстракт: 28,2 мг/г.

DP (определенная методом ^1H ЯМР)=21, таким образом $i=0,048$.

Рассчитанная средняя молекулярная масса сополиаминокислоты ВВ23 составляет 3936 г/моль.

ВЭЖХ - водная эксклюзионная хроматография (калибрующее вещество ПЭГ): $M_n=2800$ г/моль.

Пример ВВ24: сополиаминокислота ВВ24 - блок-сополимер поли-D-глутамата натрия и поли-L-глутамата натрия, модифицированный по одному из его концов молекулой ВА3 и имеющий среднечисленную молекулярную массу (M_n) 2800 г/моль.

N-карбоксиянгидрид γ -бензил-D-глутамата (13,5 г, 51,3 ммоль) загружают под вакуумом в течение 30 мин в круглодонную колбу, предварительно высушенную в печи, затем вводят безводный DMF (52 мл). Смесь перемешивают в атмосфере аргона до полного растворения, охлаждают до 0°C, затем быстро вводят раствор молекулы ВА3 в форме свободного амина (3,43 г, 4,27 ммоль) в хлороформе (8,6 мл). Смесь перемешивают при 0°C в течение 24 ч, затем добавляют раствор N-карбоксиянгидрида γ -трет-бутил-L-глутамата (13,5 г, 58,9 ммоль) в DMF (15 мл). Смесь затем перемешивают при температуре между 0°C и комнатной температурой в течение 21 ч, затем нагревают при 65°C в течение 2 ч. Реакционную смесь затем охлаждают до комнатной температуры, затем выливают по каплям в диизопропиловый эфир

(0,8 л) при перемешивании. Белый осадок выделяют фильтрованием, промывают три раза диизопропиловым эфиром (53 мл), затем сушат под вакуумом при 30°C до получения белого твердого вещества. Твердое вещество разбавляют в TFA (96 мл) и затем добавляют по каплям 33% раствор бромистоводородной кислоты (HBr) в уксусной кислоте (68 мл, 388 ммоль) при 0°C. Раствор перемешивают в течение 2 ч при комнатной температуре, затем выливают по каплям на 1:1 (об/об) смесь диизопропиловый эфир/вода при перемешивании (1,2 л). После 2 ч перемешивания гетерогенной смеси дают выстояться в течение ночи. Белый осадок выделяют фильтрованием, промывают последовательно 1:1 (об/об) смесью диизопропилового эфира и воды (100 мл), затем водой (100 мл). Полученное твердое вещество растворяют в воде (900 мл) путем доведения pH до 7 путем добавления 10N водного раствора гидроксида натрия, затем 1N водного раствора гидроксида натрия. Смесью фильтруют через 0,45-мкм фильтр, затем очищают путем ультрафильтрации против 0,9% раствора NaCl, затем воды до тех пор, пока электропроводность фильтрата не будет меньше чем 50 мкСм/см. Раствор сополиаминокислоты затем концентрируют до теоретической концентрации примерно 20 г/л и pH доводят до 7,0. Водный раствор фильтруют через 0,2-мкм фильтр и хранят при 4°C.

Сухой экстракт: 23,9 мг/г.

DP (определенная методом ^1H ЯМР)=25, таким образом $i=0,04$.

Рассчитанная средняя молекулярная масса сополиаминокислоты BB24 составляет 4541 г/моль.

ВЭЖХ - водная эксклюзионная хроматография (калибрующее вещество ПЭГ): $M_n=2800$ г/моль.

Пример BB25: Сополиаминокислота BB25 - поли-L-глутамат натрия, модифицированный по одному из его концов молекулой BA5 и имеющий среднечисленную молекулярную массу (M_n) 2800 г/моль.

Способом, аналогичным используемому для получения сополиаминокислоты BB14, в применении к молекуле BA5 в форме свободного амина (1,70 г, 1,98 ммоль) и N-карбоксиангидриду γ -бензил-L-глутамата (11,46 г, 43,5 ммоль), получают натрий-L-глутамат, модифицированный по одному из его концов молекулой BA5.

Сухой экстракт: 19,8 мг/г.

DP (определенная методом ^1H ЯМР)=23, таким образом $i=0,043$.

Рассчитанная средняя молекулярная масса сополиаминокислоты BB25 составляет 4295 г/моль.

ВЭЖХ - водная эксклюзионная хроматография (калибрующее вещество ПЭГ): $M_n=2800$ г/моль.

Пример BB26: сополиаминокислота BB26 - поли-L-глутамат натрия, модифицированный по одному из его концов молекулой BA6 и имеющий среднечисленную молекулярную массу (M_n) 2900 г/моль.

Способом, аналогичным используемому для получения сополиаминокислоты BB14, в применении к молекуле BA6 в форме свободного амина (3,05 г, 4,01 ммоль) и N-карбоксиангидриду γ -бензил-L-глутамата (22,78 г, 86,5 ммоль), получают поли-L-глутамат натрия, модифицированный по одному из его концов молекулой BA6.

Сухой экстракт: 16,9 мг/г.

DP (определенная методом ^1H ЯМР)=21, таким образом $i=0,048$.

Рассчитанная средняя молекулярная масса сополиаминокислоты BB26 составляет 3894 г/моль.

ВЭЖХ - водная эксклюзионная хроматография (калибрующее вещество ПЭГ): $M_n=2900$ г/моль.

Пример BB27: сополиаминокислота BB27 - поли-L-глутамат натрия, модифицированный по одному из его концов молекулой BA3 и модифицированный молекулой BA3 и имеющий среднечисленную молекулярную массу (M_n) 2300 г/моль.

Сополиаминокислота BB27-1: поли-L-глутаминовая кислота, имеющая среднечисленную молекулярную массу (M_n) 3600 г/моль, модифицированная по одному из ее концов молекулой BA3 и кэппированная по другому концу пидоловой кислотой.

N-карбоксиангидрид γ -бензил-L-глутамата (122,58 г, 466 ммоль) загружают под вакуумом в течение 30 мин в круглодонную колбу, предварительно высушенную в печи, затем вводят безводный DMF (220 мл). Смесью перемешивают в атмосфере аргона до полного растворения, охлаждают до -10°C, затем быстро вводят раствор молекулы BA3 в форме свободного амина (17,08 г, 21,3 ммоль) в хлороформе (40 мл). Смесью перемешивают при температуре между 0°C и комнатной температурой в течение 2 дней, затем нагревают при 65°C в течение 4 ч. Реакционную смесь затем охлаждают до 25°C, затем добавляют пидоловую кислоту (13,66 г, 105,8 ммоль), HOBT (2,35 г, 15,3 ммоль) и EDC (20,28 г, 105,8 ммоль). После 24 ч перемешивания при 25°C раствор концентрируют под вакуумом для удаления хлороформа и 50% DMF. Реакционную среду затем нагревают при 55°C и вводят 1150 мл метанола в течение 1 ч. Реакционную смесь затем охлаждают до 0°C. Через 18 ч белый осадок выделяют фильтрованием, промывают три раза при помощи 270 мл диизопропилового эфира, затем сушат под вакуумом при 30°C до получения белого твердого вещества. Твердое вещество разбавляют в TFA (390 мл) и затем добавляют по каплям 33% раствор бромистоводородной кислоты (HBr) в уксусной кислоте (271 мл, 1547 ммоль) при 0°C. Раствор перемешивают в течение 2 ч при комнатной температуре, затем смесь выливают по каплям на 1:1 (об/об) смесь диизопропиловый эфир/вода при перемешивании (970 мл). После 2 ч перемешивания гетерогенную смесь оставляют выстаиваться в течение ночи. Белый осадок выделяют фильтрованием, промывают последовательно диизопропиловым эфиром (380 мл), затем два раза водой (380 мл). Полученное твердое

вещество растворяют в воде (3,6 л) путем доведения pH до 7 путем добавления 10N водного раствора гидроксида натрия, затем 1N водного раствора гидроксида натрия. Смесь фильтруют через 0,45-мкм фильтр, затем очищают путем ультрафильтрации против 0,9% раствора NaCl, 0,1N раствора NaOH, 0,9% раствора NaCl, фосфатного буферного раствора (150 мМ), 0,9% раствора NaCl, затем воды до тех пор, пока электропроводность фильтрата не будет меньше чем 50 мкСм/см. Раствор сополиаминокислоты затем концентрируют до теоретической концентрации примерно 30 г/л, фильтруют через 0,2-мкм фильтр, затем подкисляют до pH 2 при перемешивании путем добавления 37% раствора HCl. Осадок затем выделяют фильтрованием, промывают два раза водой, затем сушат под вакуумом при 30°C до получения белого твердого вещества.

Сополиаминокислота BB27.

Способом, аналогичным используемому для получения сополиаминокислоты BB2, в применении к молекуле ВА3 в форме свободного амина (1,206 г, 1,50 ммоль) и к сополиаминокислоте BB27-1 (5,5 г, 33,4 ммоль), получают поли-L-глутамат натрия, модифицированный по одному из его концов молекулой ВА3 и модифицированный молекулой ВА3.

Сухой экстракт: 19,0 мг/г.

DP (определенная на основании ^1H ЯМР): 22.

На основании ^1H ЯМР: $i=0,089$.

Рассчитанная средняя молекулярная масса сополиаминокислоты BB27 составляет 4826 г/моль.

ВЭЖХ - водная эксклюзионная хроматография (калибрующее вещество ПЭГ): $M_n=2300$ г/моль.

Пример BB42: сополиаминокислота BB42 - поли-L-глутамат натрия, модифицированный по одному из его концов молекулой В8 и имеющий среднечисленную молекулярную массу (M_n) 3200 г/моль.

DCC (0,659 г, 3,19 ммоль) и NHS (0,365 г, 3,17 ммоль) добавляют к раствору молекулы В8 (2,366 г, 3,11 ммоль) в DMF (19,5 мл). После 16 ч перемешивания при комнатной температуре раствор фильтруют для непосредственного использования в следующей реакции.

N-карбоксиангидрид γ -бензил-L-глутамата (18,0 г, 68,4 ммоль) загружают под вакуумом в течение 30 мин в круглодонную колбу, предварительно высушенную в печи, затем вводят безводный DMF (40 мл). Смесь затем перемешивают в атмосфере аргона до полного растворения, охлаждают до 0°C, затем быстро вводят гексилламин (0,411 мл, 3,11 ммоль). После 30 ч перемешивания при 0°C добавляют раствор молекулы В8, полученный выше. Раствор перемешивают при температуре между 0°C и комнатной температурой в течение 72 ч, затем выливают по каплям в диизопропиловый эфир (0,9 л) при перемешивании. Осадок выделяют фильтрованием, промывают диизопропиловым эфиром (5 раза по 100 мл), затем сушат под вакуумом при 30°C с получением белого твердого вещества. Твердое вещество разбавляют в TFA (69 мл), затем раствор охлаждают до 4°C. Затем добавляют по каплям 33% раствор HBr в уксусной кислоте (48 мл, 0,274 моль). Смесь перемешивают при комнатной температуре в течение 2 ч, затем выливают по каплям на 1:1 (об/об) смесь диизопропилового эфира и воды при перемешивании (0,8 л). После 2 ч перемешивания гетерогенную смесь оставляют выстаиваться в течение ночи. Белый осадок выделяют фильтрованием, промывают 1:1 (об/об) смесью диизопропилового эфира и воды (70 мл), затем водой (70 мл). Полученное твердое вещество затем растворяют в воде (0,42 л) путем доведения pH до 7 путем добавления 10N водного раствора гидроксида натрия, затем 1N водного раствора гидроксида натрия. После соллобилизации теоретическую концентрацию доводят до теоретического значения 20 г/л путем добавления воды до получения конечного объема 0,63 л. Раствор фильтруют через 0,45-мкм фильтр, затем очищают путем ультрафильтрации против 0,9% раствора NaCl, затем воды до тех пор, пока электропроводность фильтрата не будет меньше чем 50 мкСм/см. Полученный раствор фильтруют через 0,2-мкм фильтр и хранят при 2-8°C.

Сухой экстракт: 22,2 мг/г.

DP (определенная на основании ^1H ЯМР): 22.

На основании ^1H ЯМР: $i=0,045$.

Рассчитанная средняя молекулярная масса сополиаминокислоты BB42 составляет 4160 г/моль.

ВЭЖХ - водная эксклюзионная хроматография (калибрующее вещество ПЭГ): $M_n=3200$ г/моль.

Пример BB43: сополиаминокислота BB43 - поли-L-глутамат натрия, модифицированный по одному из его концов молекулой ВА3 и по другому концу молекулой В8 и имеющий среднечисленную молекулярную массу (M_n) 2000 г/моль.

DCC (0,257 г, 1,24 ммоль) и NHS (0,143 г, 1,24 ммоль) добавляют к раствору молекулы В8 (0,946 г, 1,24 ммоль) в DMF (8 мл). После 16 ч перемешивания при комнатной температуре раствор фильтруют для непосредственного использования в следующей реакции.

N-карбоксиангидрид γ -бензил-L-глутамата (6,0 г, 22,8 ммоль) загружают под вакуумом в течение 30 мин в круглодонную колбу, предварительно высушенную в печи, затем вводят безводный DMF (14 мл). Смесь затем перемешивают в атмосфере аргона до полного растворения, охлаждают до 0°C, затем быстро вводят раствор молекулы ВА3 в форме свободного амина (0,832 г, 1,04 ммоль) в хлороформе (2,0 мл). После 18 ч перемешивания при 0°C добавляют раствор молекулы В8, полученный заранее. Раствор перемешивают при температуре между 0°C и комнатной температурой в течение 22 ч, затем выливают по

каплям в диизопропиловый эфир (0,34 л) при перемешивании. Осадок выделяют фильтрованием, промывают диизопропиловым эфиром (7 раз 15 мл), затем сушат под вакуумом при 30°C с получением белого твердого вещества. Твердое вещество разбавляют в TFA (23 мл), затем раствор охлаждают до 4°C. Затем добавляют по каплям 33% раствор НВг в уксусной кислоте (15 мл, 85,7 ммоль). Смесь перемешивают при комнатной температуре в течение 2 ч, затем выливают по каплям на 1:1 (об/об) смесь диизопропилового эфира и воды при перемешивании (0,28 л). После 2 ч перемешивания гетерогенной смеси дают выстояться в течение ночи. Белый осадок выделяют фильтрованием, промывают два раза 1:1 (об/об) смесью диизопропилового эфира и воды (24 мл), затем два раза водой (24 мл). Полученное твердое вещество затем растворяют в воде (0,16 л) путем доведения pH до 12 путем добавления 10N водного раствора гидроксида натрия, затем 1N водного раствора гидроксида натрия. Через 30 мин pH доводят до 7 путем медленного добавления 1N водного раствора HCl. Раствор фильтруют через 0,45-мкм фильтр, затем очищают путем ультрафильтрации против 0,9% раствора NaCl, затем воды до тех пор, пока электропроводность фильтрата не будет меньше чем 50 мкСм/см. Полученный раствор фильтруют через 0,2-мкм фильтр и хранят при 2-8°C.

Сухой экстракт: 18,9 мг/г.

DP (определенная на основании ^1H ЯМР): 22.

На основании ^1H ЯМР: $i_1=0,09$.

Рассчитанная средняя молекулярная масса сополиаминокислоты ВВ43 составляет 4871 г/моль.

ВЭЖХ - водная эксклюзионная хроматография (калибрующее вещество ПЭГ): $M_n=2000$ г/моль.

Пример ВВ44: сополиаминокислота ВВ44 - поли-L-глутамат натрия, модифицированный по одному из его концов молекулой ВА7 и имеющий среднечисленную молекулярную массу (M_n) 3300 г/моль.

Способом, аналогичным используемому для получения сополиаминокислоты ВВ14, в применении к молекуле ВА7 в форме свободного амина (4,45 г, 5,18 ммоль) и к 30,0 г (113,96 ммоль) N-карбоксихидрида γ -бензил-L-глутамата получают поли-L-глутамат натрия, модифицированный по одному из его концов молекулой ВА7.

Сухой экстракт: 29,0 мг/г.

DP (определенная методом ^1H ЯМР)=25, таким образом, $i=0,04$.

Рассчитанная средняя молекулярная масса сополиаминокислоты ВВ44 составляет 4597 г/моль.

ВЭЖХ - водная эксклюзионная хроматография (калибрующее вещество ПЭГ): $M_n=3300$ г/моль.

Часть СЕ. Контр-примеры сополиаминокислот.

СЕА: синтез представленных в качестве контр-примеров гидрофобных молекул.

Таблица 1f

Контр-примеры гидрофобных молекул	
СЕА1	
СЕА2	
СЕА3	

Пример СЕА1: молекула СЕА1.

Молекула СЕ1: продукт, полученный путем взаимодействия между лауриновой кислотой и L-лизином.

Способом, аналогичным используемому для получения молекулы В1, в применении к лауриновой кислоте (19,58 г, 97,72 ммоль) и к L-лизину (7,5 г, 51,3 ммоль) получают бежевое твердое вещество.

Выход: 18,8 г (75%).

^1H ЯМР (DMSO- d_6 , м.д.): 0,85 (6H); 1,12-1,78 (42H); 1,96-2,16 (4H); 2,92-3,07 (2H); 4,06-4,20 (1H); 7,70 (1H); 7,95 (1H); 12,40 (1H).

ЖХ/МС (ESI): 511,5; (рассчитано $[\text{M}+\text{H}]^+$): 511,8).

Молекула СЕ2: продукт, полученный путем взаимодействия между молекулой СЕ1 и Вос-этилендиамином.

Способом, аналогичным используемому для получения молекулы В3, в применении к молекуле СЕ1 (18,70 г, 36,61 ммоль), остаток, полученный после концентрирования реакционной среды при пониженном давлении, растирают в порошок в смеси ацетонитрил/ТГФ (1/1 об.), фильтруют и промывают ацетонитрилом. После сушки получают бледно-желтое твердое вещество.

Выход: 13,7 г (57%).

^1H ЯМР (CDCl $_3$, м.д.): 0,87 (6H); 1,09-1,89 (51H); 2,08-2,31 (4H); 3,13-3,48 (6H); 4,35 (1H); 5,20 (1H); 5,85 (1H); 6,46 (1H); 6,94 (1H).

ЖХ/МС (ESI): 653,5; (рассчитано $[\text{M}+\text{H}]^+$): 654,0).

Молекула СЕА1.

В соответствии со способом, аналогичным используемому для получения молекулы ВА1, в применении к молекуле СЕ2 (22,2 г, 34 ммоль), остаток, полученный после концентрирования под вакуумом, перекристаллизовывают в горячем метаноле. После охлаждения до комнатной температуры твердое вещество фильтруют, промывают холодным метанолом, затем ацетоном и сушат под вакуумом с получением бледно-желтого твердого вещества.

Выход: 16,3 г (81%).

^1H ЯМР (MeOD, м.д.): 0,90 (6H); 1,20-1,85 (42H); 2,15-2,30 (4H); 3,06 (2H); 3,19 (2H); 3,40 (1H); 3,55 (1H); 4,13 (1H).

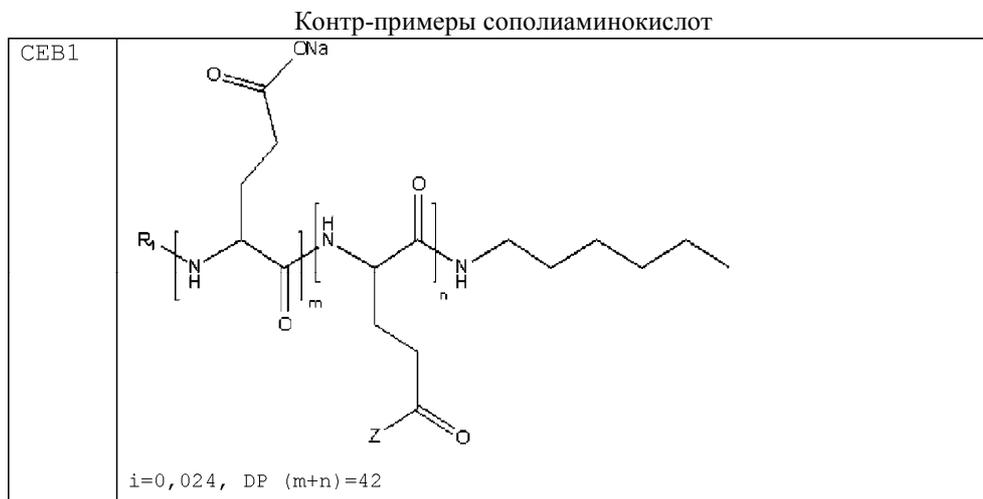
ЖХ/МС (ESI): 553,5; (рассчитано $[\text{M}+\text{H}]^+$): 553,9).

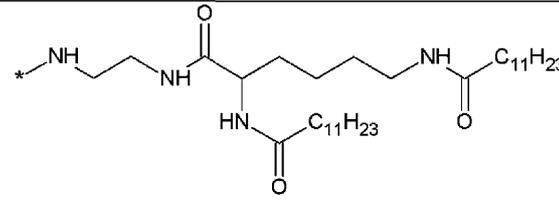
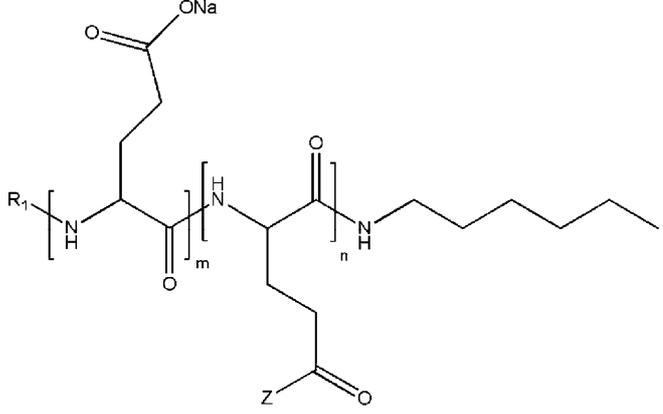
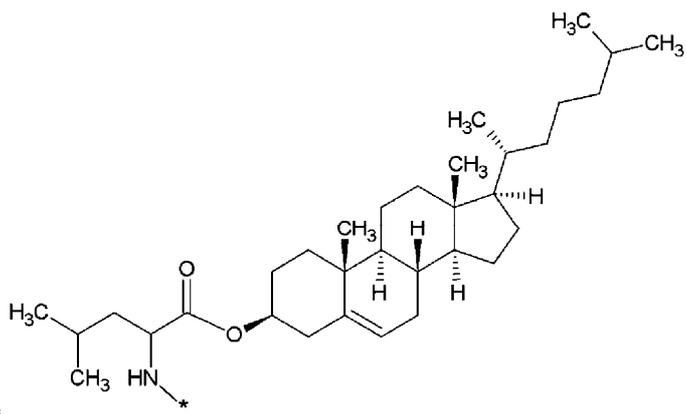
Молекула СЕА2 и молекула СЕА3.

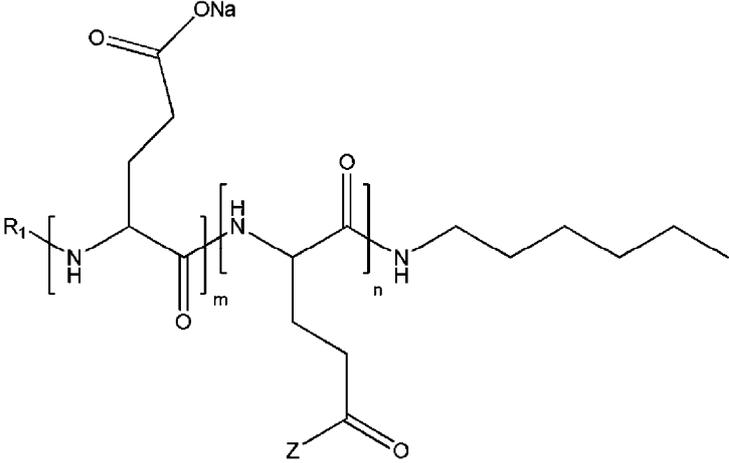
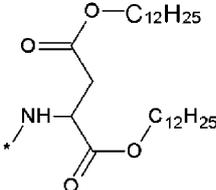
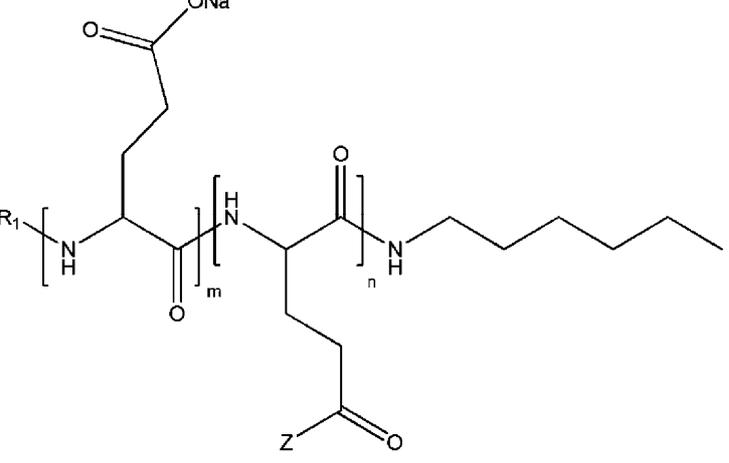
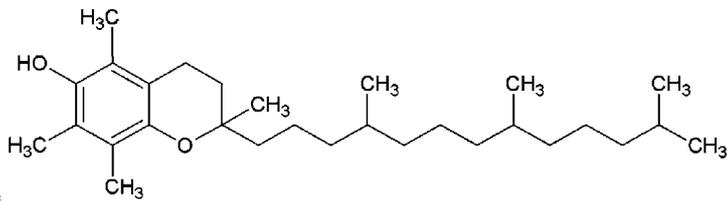
Молекулы СЕА2 и СЕА3 синтезировали в соответствии с протоколом, описанным в патенте США № 4826818 (Kenji M. et al.).

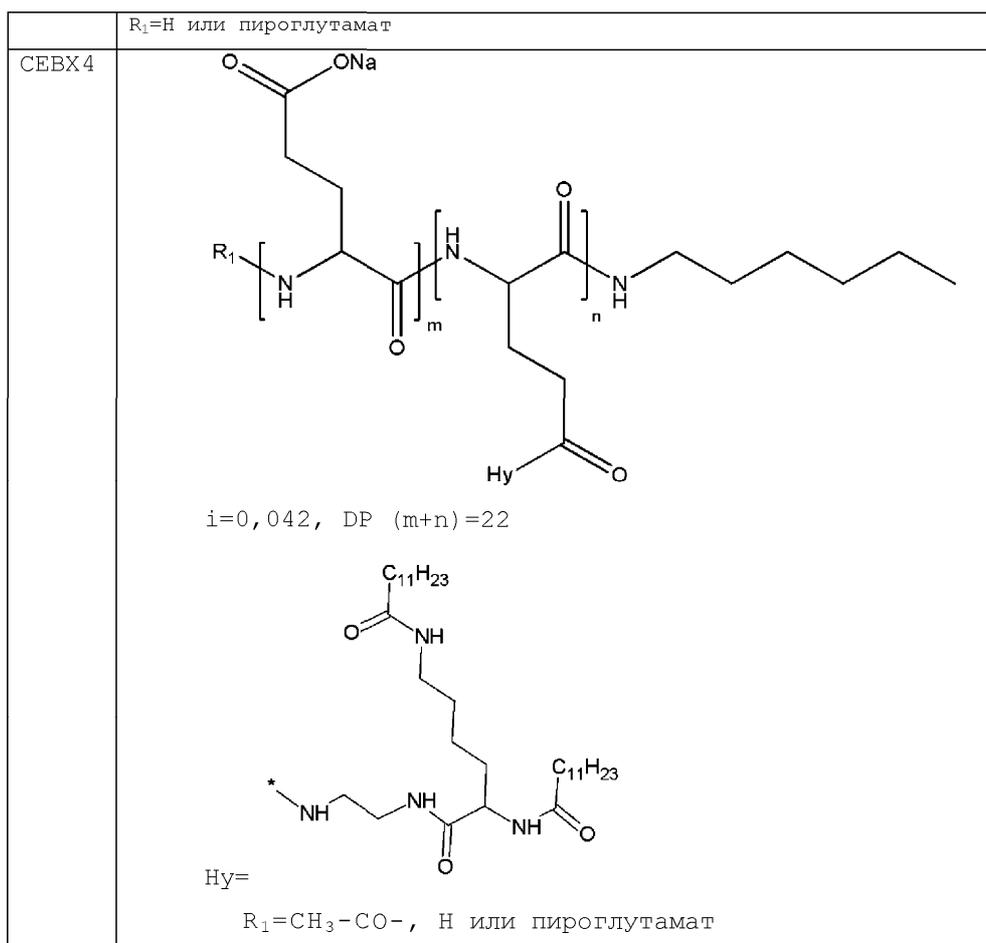
Часть СЕВ. Синтез представленных в качестве контр-примеров сополиаминокислот.

Таблица 1g



	 <p>Z=</p> <p>R₁= Н или пироглутамат</p>
CEB2	 <p>i=0,05, DP (m+n)=22</p>  <p>Z=</p> <p>R₁=CH₃-CO-, Н или пироглутамат</p>

CEB3	 <p>$i=0,05, DP (m+n)=43$</p>  <p>$Z=$ $R_1=CH_3-CO-, H$ или пироглутамат</p>
CEB4	 <p>$i=0,05, DP (m+n)=20$</p>  <p>$Z=$</p>



Пример СЕВ1: сополиаминокислота СЕВ1 - поли-L-глутамат натрия, модифицированный молекулой СЕА1 и имеющий среднечисленную молекулярную массу 3800 г/моль.

Поли-L-глутаминовую кислоту, имеющую среднечисленную молекулярную массу (Mn) 8500 г/моль (2,0 г), полученную способом, аналогичным используемому для получения сополиаминокислоты ВВ1-1, растворяют в DMF (27 мл) при 30-40°C, затем раствор охлаждают до 0°C. К этому раствору добавляют раствор EDC (0,59 г, 3,06 ммоль) в DMF (6 мл), раствор HOBT (0,41 г, 3,06 ммоль) в DMF (1 мл) и DIPEA (1,76 мл, 18,3 ммоль). Затем добавляют раствор молекулы СЕА1 (0,21 г, 1,84 ммоль) в DMF (0,9 мл) и смесь перемешивают при 25°C в течение 3 ч. Реакционную среду разбавляют добавлением по каплям 11 мл воды, затем очищают путем диализа против 0,9% водного раствора NaCl, затем воды. Полученный раствор фильтруют через 0,2-мкм фильтр и хранят при 2-8°C.

Сухой экстракт: 16,3 мг/г.

DP (определенная на основании ¹H ЯМР): 42.

На основании ¹H ЯМР: $i=0,024$.

Рассчитанная средняя молекулярная масса сополиаминокислоты СЕВ1 составляет 6924 г/моль.

ВЭЖХ - водная эксклюзионная хроматография (калибрующее вещество ПЭГ): M_n=3800 г/моль.

Пример СЕВ2: сополиаминокислота СЕВ2 - поли-L-глутамат натрия, кэппированный по одному из его концов ацетильной группой и модифицированный холестериллейцином и имеющий среднечисленную молекулярную массу 2575 г/моль.

Соль паратолуолсульфоновой кислоты с холестериллейцином получают в соответствии со способом, описанным в патенте США № 4826818 (Kenji, M. et al.).

Способом, аналогичным используемому для получения сополиаминокислоты ВВ13, в применении к соли паратолуолсульфоновой кислоты холестериллейцината (1,23 г, 1,8 ммоль) и к поли-L-глутаминовой кислоте, имеющей среднечисленную молекулярную массу M_n=3600 г/моль (5 г), полученной способом, аналогичным используемому для получения сополиаминокислоты ВВ5-1, получают поли-L-глутамат натрия, кэппированный по одному из его концов ацетильной группой и модифицированный холестериллейцином.

Сухой экстракт: 15,4 мг/г.

DP (определенная методом ¹H ЯМР): 22.

На основании ¹H ЯМР: $i=0,05$.

Рассчитанная средняя молекулярная масса сополиаминокислоты СЕВ2 составляет 3973 г/моль.

ВЭЖХ - водная эксклюзионная хроматография (калибрующее вещество ПЭГ): $M_n=2575$ г/моль.

Пример СЕВ3: сополиаминокислота СЕВ3 - поли-L-глутамат натрия, кэпированный по одному из его концов ацетильной группой и модифицированный дилауриласпаратом и имеющий среднечисленную молекулярную массу 5820 г/моль.

Соль паратолуолсульфоновой кислоты с дилауриласпаратом получают в соответствии со способом, описанным в патенте США № 4826818 (Kenji, M. et al.).

Способом, аналогичным используемому для получения сополиаминокислоты ВВ13, в применении к соли паратолуолсульфоновой кислоты с дилауриласпаратом (0,89 г, 1,9 ммоль) и к поли-L-глутаминовой кислоте, имеющей среднечисленную молекулярную массу $M_n=8500$ г/моль (5 г), полученной способом, аналогичным используемому для получения сополиаминокислоты ВВ5-1, получают поли-L-глутамат натрия, кэпированный по одному из его концов ацетильной группой и модифицированный дилауриласпаратом.

Сухой экстракт: 19,3 мг/г.

DP (определенная методом ^1H ЯМР): 43.

На основании ^1H ЯМР: $i=0,05$.

Рассчитанная средняя молекулярная масса сополиаминокислоты СЕВ3 составляет 7565 г/моль.

ВЭЖХ - водная эксклюзионная хроматография (калибрующее вещество ПЭГ): $M_n=5820$ г/моль.

Пример СЕВ4: сополиаминокислота СЕВ4 - поли-L-глутамат натрия, модифицированный (\pm)- α -токоферолом и имеющий среднечисленную молекулярную массу 5085 г/моль.

Способом, аналогичным описанному в патенте FR 2840614 (Ping, C.U. et al.), в применении к (\pm)- α -токоферолу (0,5 г, 1,16 ммоль) и к поли-L-глутаминовой кислоте (3 г), полученной способом, аналогичным описанному в патенте FR 2985429 A1, получают поли-L-глутамат натрия, модифицированный (\pm)- α -токоферолом.

Сухой экстракт: 10,9 мг/г.

DP (определенная методом ^1H ЯМР): 20.

На основании ^1H ЯМР: $i=0,05$.

Рассчитанная средняя молекулярная масса сополиаминокислоты СЕВ4 составляет 3473 г/моль.

ВЭЖХ - водная эксклюзионная хроматография (калибрующее вещество ПЭГ): $M_n=5085$ г/моль.

Пример СЕВХ4: сополиаминокислота СЕВХ4 - поли-L-глутамат натрия, кэпированный по одному из его концов ацетильной группой и модифицированный молекулой СЕА1 и имеющий среднечисленную молекулярную массу (M_n) 3300 г/моль.

Способом, аналогичным используемому для получения сополиаминокислоты ВВ2, в применении к гидрохлоридной соли молекулы СЕА1 (0,918 г, 1,56 ммоль) и к поли-L-глутаминовой кислоте, имеющей среднечисленную молекулярную массу $M_n=3700$ г/моль (5,0 г), полученной способом, аналогичным используемому для получения сополиаминокислоты ВВ5-1, получают поли-L-глутамат натрия, кэпированный по одному из его концов ацетильной группой и модифицированный молекулой СЕА1.

Сухой экстракт: 17,4 мг/г.

DP (определенная на основании ^1H ЯМР): 22.

На основании ^1H ЯМР: $i=0,042$.

Рассчитанная средняя молекулярная масса сополиаминокислоты СЕВХ4 составляет 3941 г/моль.

ВЭЖХ - водная эксклюзионная хроматография (калибрующее вещество ПЭГ): $M_n=3300$ г/моль.

Часть С. Композиции инсулина гларгина, прандиального инсулина или GLP-1 RA.

Пример С1: раствор аналога быстрого инсулина (Хумалог®) при 100 Ед./мл.

Этот раствор представляет собой коммерческий раствор инсулина лизпро, поставляемый на рынок компанией ELI LILLY под названием Хумалог®. Этот продукт представляет собой аналог быстрого инсулина. Эксципиентами в Хумалог® являются метакрезол (3,15 мг/мл), глицерин (16 мг/мл), динатрий фосфат (1,88 мг/мл), оксид цинка (для получения 0,0197 мг ионов цинка/мл), гидроксид натрия и хлористоводородная кислота для доведения pH (pH 7-7,8) и вода.

Пример С2: раствор аналога быстрого инсулина (Новолог®) при 100 Ед./мл.

Этот раствор представляет собой коммерческий раствор инсулина аспарта, поставляемый на рынок компанией NOVO NORDISK под названием NovoLog® в Соединенных Штатах Америки и Novolog® в Европе. Этот продукт представляет собой аналог быстрого инсулина. Эксципиентами в Новолог® являются глицерин (16 мг), фенол (1,50 мг/мл), метакрезол (1,72 мг/мл), цинк (19,6 мкг/мл), динатрий фосфат дигидрат (1,25 мг/мл), хлорид натрия (0,5 мг/мл), гидроксид натрия и хлористоводородная кислота для доведения pH (pH 7,2-7,6) и вода.

Пример С3: раствор аналога быстрого инсулина (Апидра®) при 100 Ед./мл.

Этот раствор представляет собой коммерческий раствор инсулина глулизина, поставляемый на рынок компанией SANOFI под названием Апидра®. Этот продукт представляет собой аналог быстрого инсулина. Эксципиентами в Апидра® являются метакрезол (3,15 мг/мл), трометамин (6 мг/мл), хлорид натрия (5 мг/мл), полисорбат 20 (0,01 мг/мл), гидроксид натрия и хлористоводородная кислота для доведения pH (pH 7,3) и вода.

Пример C4: раствор аналога инсулина медленного действия (Лантус®) при 100 Ед./мл.

Этот раствор представляет собой коммерческий раствор инсулина гларгина, поставляемый на рынок компанией SANOFI под названием Лантус®. Этот продукт представляет собой аналог инсулина медленного действия. Эксципиентами в Лантус® являются хлорид цинка (30 мкг/мл), метакрезол (2,7 мг/мл), глицерин (85%) (20 мг/мл), гидроксид натрия и хлористоводородная кислота для доведения pH (pH 4) и вода.

Пример C5: раствор человеческого инсулина (ActRapId®) при 100 МЕд./мл.

Этот раствор представляет собой коммерческий раствор человеческого инсулина от NOVO NORDISK, продаваемый под названием ActRapId®. Этот продукт представляет собой человеческий инсулин. Эксципиентами в ActRapId® являются хлорид цинка, глицерин, метакрезол, гидроксид натрия и хлористоводородная кислота для доведения pH (pH 6,9-7,8) и вода.

Пример C6: раствор человеческого инсулина (Umuline rapIde®) при 100 МЕд./мл.

Этот раствор представляет собой коммерческий раствор человеческого инсулина от ELI LILLY, продаваемый под названием Umuline rapIde®. Этот продукт представляет собой человеческий инсулин. Эксципиентами в Umuline rapIde® являются глицерин, метакрезол, гидроксид натрия и хлористоводородная кислота для доведения pH (pH 7,0-7,8) и вода.

Пример D1: раствор GLP-1 RA дулаглутид (Трулисити®) при 3 мг/мл.

Этот раствор представляет собой раствор дулаглутид, поставляемый на рынок компанией ELI LILLY под названием Трулисити®. Эксципиентами в Трулисити® являются безводная лимонная кислота (0,14 мг/мл), маннит (46,4 мг/мл), полисорбат 80 (0,20 мг/мл), тринатрий цитрат дигидрат (2,74 мг/мл) и вода.

Пример D2: раствор GLP-1 RA эксенатида (Баета®) при 0,25 мг/мл.

Этот раствор представляет собой раствор эксенатида, поставляемый на рынок компанией ELI LILLY под названием Баета®. Эксципиентами в Баета® являются метакрезол (20 мМ), маннит, ледяная уксусная кислота, ацетат натрия тригидрат и вода.

Пример D3: раствор GLP-1 RA лираглутида (Виктоза®) при 6 мг/мл.

Этот раствор представляет собой раствор лираглутида, поставляемый на рынок компанией NOVO NORDISK под названием Виктоза®. Эксципиентами в Виктоза® являются динатрий фосфат дигидрат, пропиленгликоль (1,42 мг/мл), фенол (5,5 мг/мл) и вода.

Пример D4: раствор GLP-1 RA ликсисенатида (Ликсумия®) при 0,1 мг/мл.

Этот раствор представляет собой раствор ликсисенатида, поставляемый на рынок компанией SANOFI под названием Ликсумия®. Эксципиентами в Ликсумия® являются глицерин, ацетат натрия, метионин, метакрезол (25 мМ), хлористоводородная кислота и гидроксид натрия для доведения pH и вода.

Пример D5: раствор GLP-1 RA албиглутид (Танзеум®) при 60 мг/мл.

Албиглутид представлен в твердой форме для восстановления, поставляемой на рынок компанией GSK под названием Танзеум®. В устройстве для инъекции порошок и объем воды, требуемый для сольubilизации, которые изначально находятся в отдельных отделениях, смешивают путем приведения в действие ручки, поворачивая дистальный конец устройства до характерного "щелчка". Раствор готов для инъекции после процедуры, состоящей из стадий смешивания и периодов покоя, описанных в прилагаемых к продукту инструкциях для пользователя. Эксципиентами в Танзеум® являются маннит (153 мМ), полисорбат 80 (0,01% мас./мас.), фосфат натрия (10 мМ), дигидрат трегалозы (117 мМ).

I. Определение минимальных соотношений для сольubilизации инсулина гларгина.

Пример G3: протокол для определения минимальной концентрации для сольubilизации инсулина гларгина при 50 Ед./мл при pH 7.

Концентрированные растворы м-крезола и глицерина добавляют к исходному раствору сополиаминокислоты при pH 7 таким образом, чтобы получить раствор сополиаминокислоты концентрации $C_{\text{исходный раствор сополиаминокислоты/эксципиенты}}$ (мг/мл). Добавляемое количество эксципиентов регулируют таким образом, чтобы получить концентрацию м-крезола 35 мМ и глицерина 184 мМ в композиции сополиаминокислоты/инсулина гларгина 50 Ед./мл при pH 7,1.

В 3-мл сосуд добавляют 0,5 мл коммерческого раствора инсулина гларгина, поставляемого на рынок под названием Лантус®, при концентрации 100 Ед./мл к 0,5 мл объему раствора сополиаминокислоты при концентрации $C_{\text{исходный раствор сополиаминокислоты/эксципиенты}}$ (мг/мл) таким образом, чтобы получить композицию $C_{\text{сополиаминокислота}}$ (мг/мл) /инсулин гларгин 50 Ед./мл при pH 7,1. Появляется мутность. pH доводят до pH 7,1 путем добавления концентрированного NaOH и раствор загружают в статических условиях в печь при 40°C на 1 ночь. Эту процедуру осуществляют для различных концентраций $C_{\text{исходный раствор сополиаминокислоты/эксципиенты}}$ (мг/мл) таким образом, чтобы изменять концентрацию сополиаминокислоты $C_{\text{сополиаминокислота}}$ (мг/мл) пошагово на максимум 0,25 мг/мл. После выдерживания в течение ночи при 40°C образцы исследуют визуально и подвергают измерениям методом статического светорассеяния при угле 173° с использованием анализатора Zetasizer (Malvern). Минимальную концентрацию сополиаминокислоты, обеспечивающую сольubilизацию инсулина гларгина, определяют как наимень-

шую концентрацию, при которой смесь сополиаминокислоты/инсулина гларгина при pH 7 является визуально прозрачной и демонстрирует интенсивность рассеянного излучения меньше чем 3000 килоимпульсов/с.

Таблица 2

Минимальные отношения для солюбилизации инсулина гларгина

Сополиаминокислота	Концентрация сополиаминокислоты (мг/мл) при пороговом значении солюбилизации гларгина 50 Ед./мл при pH 7	[Ну] / [гларгин] соотношение (моль/моль) при пороговом значении солюбилизации
BB7	< 1,5	< 1,5
BB5	< 2	< 1,5
BB3	< 2	< 1,5
BB14	< 2	< 1,5
BB10	< 1,5	< 1
BB15	< 1,5	< 1
BB11	< 1,5	< 1
BB16	< 1,5	< 1
AB6	< 2	< 1
AB21	< 1,5	< 1,5
AB17	< 1,5	< 1
AB18	< 1,5	< 1
BB17	< 2	< 1
BB18	< 1,5	< 1
BB20	< 1	< 1
BB21	< 1,5	< 1,5
BB22	< 1	< 1
BB23	< 1	< 1
BB24	< 1	< 1
BB25	< 1	< 1
BB26	< 1	< 1
BB27	< 1,5	< 2
BB42	< 1	< 1
BB43	< 2	< 1

II. Солюбилизация/осаждение.

а) Композиции, включающие инсулин гларгин.

Способ получения СА1: получение разбавленной композиции сополиаминокислоты/инсулина гларгина 50 Ед./мл при pH 7,1 в соответствии со способом использования инсулина гларгина в жидкой форме (в растворе) и сополиаминокислоты в жидкой форме (в растворе).

Концентрированные растворы м-крезола и глицерина добавляют к исходному раствору сополиаминокислоты при pH 7,1 таким образом, чтобы получить раствор сополиаминокислоты концентрации $C_{\text{исходный раствор сополиаминокислоты/эксципенты}}$ (мг/мл). Добавляемое количество эксципентов регулируют таким образом, чтобы получить концентрацию м-крезола 35 мМ и глицерина 184 мМ в композиции сополиаминокислоты/инсулина гларгина 50 Ед./мл при pH 7,1.

В стерильном сосуде объем $V_{\text{инсулин гларгин}}$ коммерческого раствора инсулина гларгина, поставляемого на рынок под названием Лантус®, при концентрации 100 Ед./мл добавляют к объему $V_{\text{исходный раствор сополиаминокислоты/эксципенты}}$ раствора сополиаминокислоты при концентрации

$C_{\text{исходный раствор сополиаминокислоты/эксципенты}}$ (мг/мл) таким образом, чтобы получить разбавленную композицию сополиаминокислоты $C_{\text{разбавленная сополиаминокислота}}$ (мг/мл) /инсулин гларгин 50 Ед./мл при рН 7,1. Появляется мутность. рН доводят до рН 7,1 путем добавления концентрированного NaOH и раствор загружают в статических условиях в печь при 40°C в течение 2 ч до полного растворения. Этот визуально прозрачный раствор хранят при +4°C.

Способ получения СА2. Получение концентрированной композиции сополиаминокислоты/инсулина гларгина при рН 7,1 с использованием сополиаминокислоты, в соответствии со способом концентрирования разбавленной композиции.

Композицию сополиаминокислоты/инсулина гларгина 50 Ед./мл при рН 7,1, описанную в примере СА1, концентрируют путем ультрафильтрации через 3 кДа мембрану из регенерированной целлюлозы (Amicon® Ultra-15, поставляемая на рынок компанией Millipore). После этой стадии ультрафильтрации концентрат является прозрачным, и концентрацию инсулина гларгина в композиции определяют обращенно-фазовой хроматографией (ОФ-ВЭЖХ). Концентрацию инсулина гларгина затем доводят до желаемого значения путем разведения в растворе эксципентов м-крезола/глицерина таким образом, чтобы получить конечную концентрацию м-крезола 35 мМ и осмоляльность 300 мОсм/кг. Измеряют рН и доводят до рН 7,1 путем добавления концентрированного NaOH и HCl. Этот раствор при рН 7,1, визуально прозрачный, имеет концентрацию инсулина гларгина $C_{\text{инсулин гларгин}}$ (Ед./мл) и концентрацию сополиаминокислоты $C_{\text{сополиаминокислота}}$ (мг/мл) = $C_{\text{разбавленная сополиаминокислота}}$ (мг/мл) × $C_{\text{инсулин гларгин}}$ (Ед./мл)/50 (Ед./мл).

В соответствии с этим способом получения СА2 были получены композиции сополиаминокислоты/инсулина гларгина, например, с концентрациями инсулина гларгина 200 Ед./мл и 400 Ед./мл.

Пример СА3: получение композиций сополиаминокислоты/инсулина гларгина 200 при рН 7,1.

Композиции сополиаминокислоты/инсулина гларгина 200 Ед./мл получают в соответствии со способом, описанным в примере СА2, таким образом, чтобы получить концентрацию инсулина гларгина $C_{\text{инсулин гларгин}}=200$ Ед./мл и концентрацию сополиаминокислоты $C_{\text{сополиаминокислота}}$ (мг/мл). Эти композиции представлены в следующей табл. 3.

Пример СА4: осаждение инсулина гларгина в композициях сополиаминокислоты/инсулина гларгина при 200 Ед./мл.

1 мл раствора сополиаминокислоты/инсулина гларгина, полученного в примере СА3, добавляют к 2 мл PBS раствора, содержащего 20 мг/мл BSA (бычий сывороточный альбумин). PBS/BSA смесь имитирует состав подкожной среды. Появляется осадок.

Осуществляют центрифугирование при 4000 об/мин для отделения осадка от супернатанта. Затем инсулин гларгин анализируют в супернатанте при помощи ОФ-ВЭЖХ. Анализ показывает, что инсулин гларгин присутствует в большем количестве в осажденной форме.

Результаты представлены в табл. 3.

Композиции сополиаминокислоты/инсулина гларгина (200 Ед./мл), полученные с сополиаминокислотами по изобретению; солюбилизация/осаждение инсулина гларгина

Композиция	Инсулин гларгин (Ед./мл)	Сополиаминокислота	Концентрация сополиаминокислоты (мг/мл)	Солюбилизация инсулина гларгина	Осаждение инсулина гларгина
CA3	200	-	-	НЕТ	Не анализировали
CA3b	200	AB18	6	ДА	ДА
CA3c	200	BB5	9	ДА	ДА
CA3d	200	BB11	6	ДА	ДА
CA3e	200	BB14	10	ДА	ДА
CA3f	200	BB15	6	ДА	ДА
CA3g	200	BB16	6	ДА	ДА
CA3l	200	BB15	5	ДА	ДА
CA3n	200	BB18	6	ДА	ДА
CA3o	200	BB17	9	ДА	ДА
CA3p	200	BB25	4, 5	ДА	ДА
CA3q	200	BB26	5	ДА	ДА
CA3r	200	BB43	8	ДА	ДА
CA3s	200	BB27	7	ДА	ДА
CA3t	200	BB20	5	ДА	ДА
CA3u	200	BB21	5	ДА	ДА

b) Композиции, включающие инсулин гларгин и инсулин лизпро.

Способ получения СВ1. Получение разбавленной композиции сополиаминокислоты/инсулина гларгина 43 (Ед./мл)/инсулина лизпро 13,5 (Ед./мл).

Объем $V_{\text{инсулин лизпро}}$ коммерческого раствора инсулина лизпро Хумалог® при 100 Ед./мл и воды добавляют к объему $V_{\text{сополиаминокислота/разбавленный инсулин гларгин}}$ разбавленной композиции сополиаминокислоты/инсулина гларгина 50 Ед./мл при pH 7,1, описанной в примере CA1, таким образом, чтобы получить композицию сополиаминокислоты/инсулина гларгина 43 (Ед./мл)/инсулина лизпро 13,5 (Ед./мл).

Способ получения СВ2. Получение композиции сополиаминокислоты/инсулина гларгин/концентрированного инсулина лизпро при pH 7,1.

Композицию сополиаминокислоты/инсулина гларгина 43 (Ед./мл)/инсулина лизпро 13,5 (Ед./мл), описанную в примере СВ1, концентрируют путем ультрафильтрации через 3 кДа мембрану из регенерированной целлюлозы (Amicon® Ultra-15, поставляемая на рынок компанией MILLIPORE). После завершения этой стадии ультрафильтрации концентрат является прозрачным, и концентрацию инсулина гларгина в композиции определяют обращенно-фазовой хроматографией (ОФ-ВЭЖХ). Концентрации инсулина гларгина и инсулина лизпро в композиции затем доводят до желаемого значения путем разведения в растворе эксципиентов м-крезола/глицерина таким образом, чтобы получить конечную концентрацию м-крезола 35 мМ и осмоляльность 300 мОсм/кг. Измеряют pH и доводят, если необходимо, до pH 7,1 путем добавления концентрированного NaOH и HCl. Этот раствор при pH 7,1, визуальное прозрачный, имеет концентрацию инсулина гларгина $C_{\text{инсулин гларгин}}$ (Ед./мл), концентрацию инсулина лизпро $C_{\text{инсулин лизпро}} = C_{\text{инсулин гларгин}} \times 0,33$ и концентрацию сополиаминокислоты $C_{\text{сополиаминокислота}} \text{ (мг/мл)} = C_{\text{разбавленная сополиаминокислота}} \text{ (мг/мл)} \times C_{\text{инсулин гларгин}} \text{ (Ед./мл)} / 50 \text{ (Ед./мл)}$.

Пример СВ3: получение композиций сополиаминокислоты/инсулина гларгина 200 Ед./мл/инсулина лизпро 66 Ед./мл при pH 7,1.

Композиции сополиаминокислоты/инсулина гларгина 200 Ед./мл/инсулина лизпро 66 Ед./мл получают в соответствии со способом, описанным в примере СВ2 таким образом, чтобы получить концентрацию инсулина гларгина $C_{\text{инсулин гларгин}} = 200$ Ед./мл, концентрацию инсулина лизпро $C_{\text{инсулин лизпро}} = 66$ Ед./мл и концентрацию сополиаминокислоты $C_{\text{сополиаминокислота}} \text{ (мг/мл)}$. Эти композиции представлены в табл. 4а.

Пример СВ4: осаждение инсулина гларгина в композициях сополиаминокислоты/инсулина гларгин/инсулина лизпро при 200/66 Ед./мл.

1 мл раствора сополиаминокислоты/инсулина гларгин/инсулина лизпро, полученного в примере СВ3, добавляют к 2 мл PBS раствора, содержащего 20 мг/мл BSA (бычий сывороточный альбумин). PBS/BSA смесь имитирует состав подкожной среды. Появляется осадок.

Осуществляют центрифугирование при 4000 об/мин для отделения осадка от супернатанта. Затем инсулин гларгин анализируют в супернатанте при помощи ОФ-ВЭЖХ. Обнаружено, что инсулин гларгин в большом количестве присутствует в осажженной форме. Результаты представлены в табл. 4а и 4б.

Таблица 4а

Композиции сополиаминокислоты/инсулина гларгина (200 Ед./мл)/инсулина лизпро (66 Ед./мл), полученные с сополиаминокислотами по изобретению; солюбилизация и осаждение инсулина гларгина

Композиция	Инсулин гларгин (Ед./мл)	Инсулин лизпро (Ед./мл)	Сополиамино-кислота	Концентрация сополиаминокислоты (мг/мл)	Солюбилизация инсулина гларгина	Осаждение инсулина гларгина
СВ3	200	66	-	-	НЕТ	Не анализировали
СВ3а	200	66	АВ6	7	ДА	ДА
СВ3с	200	66	АВ21	6	ДА	ДА
СВ3f	200	66	ВВ3	7	ДА	ДА
СВ3g	200	66	ВВ5	9	ДА	ДА
СВ3i	200	66	АВ18	6	ДА	ДА
СВ3j	200	66	ВВ7	7	ДА	ДА
СВ3m	200	66	ВВ10	6	ДА	ДА
СВ3n	200	66	ВВ11	6	ДА	ДА
СВ3о	200	66	ВВ15	6	ДА	ДА
СВ3р	200	66	ВВ16	6	ДА	ДА
СВ3r	200	66	АВ17	6	ДА	ДА
СВ3s	200	66	ВВ15	5	ДА	ДА
СВ3u	200	66	ВВ42	5	ДА	ДА
СВ3v	200	66	ВВ18	6	ДА	ДА
СВ3w	200	66	ВВ17	9	ДА	ДА
СВ3x	200	66	ВВ25	4, 5	ДА	ДА
СВ3y	200	66	ВВ26	5	ДА	ДА
СВ3z	200	66	ВВ43	8	ДА	ДА
СВ3ab	200	66	ВВ27	7	ДА	ДА
СВ3ac	200	66	ВВ20	5	ДА	ДА
СВ3ad	200	66	ВВ21	5	ДА	ДА

Пример СВ5: получение композиции сополиаминокислоты/инсулина гларгина 225 Ед./мл/инсулина лизпро 75 МЕд./мл при рН 7.

Композиции сополиаминокислоты/инсулина гларгина 225 Ед./мл/инсулина лизпро 75 МЕд./мл получают в соответствии со способом, описанным в примере СВ2, таким образом, чтобы получить концентрацию гларгина $C_{\text{инсулин гларгин}}=225$ Ед./мл, концентрацию инсулина лизпро $C_{\text{инсулин лизпро}}=75$ МЕд./мл и концентрацию сополиаминокислоты $C_{\text{сополиаминокислота}}$ (мг/мл). Эти композиции представлены в табл. 4б.

Композиции сополиаминокислоты/инсулина гларгина (225 Ед./мл)/инсулина лизпро (75 МЕд./мл), полученные с сополиаминокислотой ВВ14

Композиция	Инсулин гларгин (Ед./мл)	Инсулин лизпро (МЕд./мл)	Сополиаминокислота	Концентрация сополиаминокислоты (мг/мл)
СВ5	225	75	-	-
СВ5f	225	75	ВВ14	10

Пример СВ6: получение композиции сополиаминокислоты/инсулина гларгина 200 Ед./мл/инсулина лизпро 200 МЕд./мл при рН 7,1.

Способ получения СВ7. Получение разбавленной композиции сополиаминокислоты/инсулина гларгина 33 Ед./мл/инсулина лизпро 33 Ед./мл.

Объем $V_{\text{инсулин лизпро}}$ коммерческого раствора инсулина лизпро Хумалог® при 100 Ед./мл и воду добавляют к объему $V_{\text{сополиаминокислота/разбавленный инсулин гларгин}}$ разбавленной композиции полиаминокислоты/инсулина гларгина 50 Ед./мл при рН 7,1, описанной в примере СА1, таким образом, чтобы получить композицию сополиаминокислоты/инсулина гларгина 33 (Ед./мл)/инсулина лизпро 33 (Ед./мл).

Способ получения СВ8. Получение концентрированной композиции сополиаминокислоты/инсулина гларгина/инсулина лизпро, концентрированной при рН 7,1.

Композицию сополиаминокислоты/инсулина гларгина 33 (Ед./мл)/инсулина лизпро 33 (Ед./мл), описанную в примере СВ7, концентрируют путем ультрафильтрации через 3 кДа мембрану из регенерированной целлюлозы (Amicon® Ultra-15, поставляемая на рынок компанией MILLIPORE). После завершения этой стадии ультрафильтрации концентрат является прозрачным, и концентрацию инсулина гларгина в композиции определяют обращенно-фазовой хроматографией (ОФ-ВЭЖХ). Концентрации инсулина гларгина и инсулина лизпро в композиции затем доводят до желаемого значения путем разведения в растворе эксципиентов м-крезола/глицерина таким образом, чтобы получить конечную концентрацию м-крезола 35 мМ и осмоляльность 300 мОсм/кг. Измеряют рН и доводят, если необходимо, до рН 7,1 путем добавления концентрированного NaOH и HCl. Этот раствор при рН 7,1, визуально прозрачный, имеет концентрацию инсулина гларгина $C_{\text{инсулин гларгин}}$ (Ед./мл), концентрацию инсулина лизпро $C_{\text{инсулин лизпро}} = C_{\text{инсулин гларгин}}$ и концентрацию сополиаминокислоты $C_{\text{сополиаминокислота}}$ (мг/мл) = $C_{\text{разбавленная сополиаминокислота}}$ (мг/мл) $\times C_{\text{инсулин гларгин}}$ (Ед./мл)/50 (Ед./мл).

с) Композиции, включающие инсулин гларгин и человеческий инсулин Umuline rapide.

Пример СВ9: получение композиции сополиаминокислоты/инсулина гларгина 200 Ед./мл/человеческого инсулина 66 МЕд./мл при рН 7,1.

Способ получения СВ10. Получение разбавленной композиции сополиаминокислоты/инсулина гларгина 43 (Ед./мл)/человеческого инсулина 13,5 (Ед./мл).

Объем $V_{\text{человеческий инсулин}}$ коммерческого раствора человеческого инсулина примера С6 при 100 Ед./мл и воду добавляют к объему $V_{\text{сополиаминокислота/разбавленный инсулин гларгин}}$ разбавленной композиции сополиаминокислоты/инсулина гларгина 50 (Ед./мл) при рН 7,1, описанной в примере СА1, таким образом, чтобы получить композицию сополиаминокислоты/инсулина гларгина 43 (Ед./мл)/человеческого инсулина 13,5 (Ед./мл).

Способ получения СВ11. Получение концентрированной композиции сополиаминокислоты/инсулина гларгина/человеческого инсулина при рН 7,1.

Композицию сополиаминокислоты/инсулина гларгина 43 (Ед./мл)/человеческого инсулина 13,5 (Ед./мл), описанную в примере СВ10, концентрируют путем ультрафильтрации через 3 кДа мембрану из регенерированной целлюлозы (Amicon® Ultra-15, поставляемая на рынок компанией MILLIPORE). После завершения этой стадии ультрафильтрации концентрат является прозрачным, и концентрацию инсулина гларгина в композиции определяют обращенно-фазовой хроматографией (ОФ-ВЭЖХ). Концентрации инсулина гларгина и человеческого инсулина в композиции затем доводят до желаемого значения путем разведения в растворе эксципиентов м-крезола/глицерина таким образом, чтобы получить конечную концентрацию м-крезола 35 мМ и осмоляльность 300 мОсм/кг. Измеряют рН и доводят, если необходимо, до рН 7,1 путем добавления концентрированного NaOH и HCl. Этот раствор при рН 7,1, визуально прозрачный, имеет концентрацию инсулина гларгина $C_{\text{инсулин гларгин}}$ (Ед./мл), концентрацию человеческого инсулина $C_{\text{человеческий инсулин}} = C_{\text{инсулин гларгин}} \times 0,33$ и концентрацию сополиаминокислоты $C_{\text{сополиаминокислота}}$ (мг/мл) = $C_{\text{разбавленная сополиаминокислота}}$ (мг/мл) $\times C_{\text{инсулин гларгин}}$ (Ед./мл)/50 (Ед./мл).

Пример СВ12: получение композиций сополиаминокислоты/инсулина гларгина 200 Ед./мл/человеческого инсулина 66 Ед./мл при рН 7,1.

Композиции сополиаминокислоты/инсулина гларгина 200 Ед./мл/человеческого инсулина 66 Ед./мл

получают в соответствии со способом, описанным в примере СВ11, таким образом, чтобы получить концентрацию инсулина гларгина $C_{\text{инсулин гларгин}} = 200$ Ед./мл, концентрацию человеческого инсулина $C_{\text{человеческий инсулин}} = 66$ Ед./мл и концентрацию сополиаминокислоты $C_{\text{сополиаминокислота}}$ (мг/мл).

Композиция представлена в табл. 4с ниже.

Таблица 4с

Композиция сополиаминокислоты/инсулина гларгина (200 Ед./мл)/человеческого инсулина (66 МЕд./мл) при pH 7,1

	Инсулин гларгин (Ед./мл)	Человеческий инсулин (Ед./мл)	Сополиаминокислота	Концентрация сополиаминокислоты (мг/мл)
СВ1 2а	200	66	ВВ15	6

д) Композиции, включающие инсулин гларгин и дулаглутид.

Пример DB1: получение композиции инсулина гларгина (50 Ед./мл)/дулаглутид (0,25 мг/мл) при pH 7,1.

0,833 мл воды добавляют к 0,167 мл раствора дулаглутид примера D1 и pH доводят до 4. Затем к этому раствору добавляют 1 мл раствора инсулина гларгина примера С4 для получения 2 мл композиции, pH которой равен 4 в смеси. Композиция, содержащая 50 Ед./мл инсулина гларгина и 0,25 мг/мл дулаглутид, является прозрачной, что указывает на хорошую растворимость инсулина гларгина и дулаглутид в этих условиях формулирования (pH 4). pH затем доводят до 7,1 при помощи 0,1N раствора гидроксида натрия. Композиция затем становится мутной, что указывает на плохую растворимость композиции инсулина гларгина/дулаглутид при pH 7,1.

Пример DB2: получение композиции инсулина гларгина (50 Ед./мл)/дулаглутид (0,25 мг/мл) при pH 7,1.

0,833 мл воды добавляют к 0,167 мл раствора дулаглутид примера D1. Затем 1 мл раствора инсулина гларгина примера С4 добавляют к этому раствору для получения 2 мл композиции, pH которой равен 5,2 в смеси. Композиция, содержащая 50 Ед./мл инсулина гларгина и 0,25 мг/мл дулаглутид, является мутной, что указывает на плохую растворимость композиции инсулина гларгина/дулаглутид при pH 5,2. pH затем доводят до 7,1 при помощи 0,1N раствора гидроксида натрия. Композиция все еще мутная, что указывает на плохую растворимость композиции инсулина гларгина/дулаглутид при pH 7,1.

Пример DB3: получение композиций сополиаминокислоты/инсулина гларгина/дулаглутид при pH 7,1.

2 мл раствора дулаглутид примера D1 и 1 мл воды добавляют к 3 мл раствора сополиаминокислоты/инсулина гларгина, полученного в соответствии с протоколом примера СА2, в котором концентрация инсулина гларгина составляет 400 Ед./мл, для получения 6 мл композиции при pH 7. pH доводят до 7,1 при помощи 0,1N раствора гидроксида натрия. Композиция, содержащая 7 мг/мл сополиаминокислоты АВ6, 200 Ед./мл инсулина гларгина и 1 мг/мл дулаглутид, является прозрачной, что указывает на хорошую растворимость инсулина гларгина и дулаглутид в присутствии сополиаминокислоты при pH 7,1. Этот прозрачный раствор хранят при +4°C.

В соответствии с протоколом примера DB3, получают композиции с различными сополиаминокислотами, и они представлены в табл. 5 ниже.

Пример DB4: осаждение композиций сополиаминокислоты/инсулина гларгина/дулаглутид при pH 7,1.

0,045 мл композиции сополиаминокислоты/инсулина гларгина/дулаглутид, полученную в соответствии с протоколом примера DB3, добавляют к 0,105 мл PBS раствора, содержащего 20 мг/мл BSA. PBS/BSA смесь имитирует состав подкожной среды. Появляется осадок.

Осуществляют центрифугирование при 4000 об/мин для отделения осадка от супернатанта. Затем инсулин гларгин анализируют в супернатанте при помощи ОФ-ВЭЖХ. Инсулин гларгин обнаружен в большем количестве в осадочной форме. Результаты представлены в следующей табл. 5.

Таблица 5

Композиции сополиаминокислоты/инсулина гларгина (200 Ед./мл)/дулаглутид (1 мг/мл);
солюбилизация и осаждение инсулина гларгина

Композиция	Сополиамин о-кислота	Инсулин гларгин (Ед./мл)	Дулаглутид (мг/мл)	Сополиамин о-кислота (мг/мл)	Солюбилизация инсулина гларгина	Осаждение инсулина гларгина
DB1	-	50	0,25	-	НЕТ	Не анализировали
DB2	-	50	0,25	-	НЕТ	Не анализировали
DB3a	AB6	200	1	7	ДА	ДА
DB3b	AB17	200	1	6	ДА	ДА
DB3c	BB7	200	1	7	ДА	ДА
DB3d	BB5	200	1	9	ДА	ДА
DB3e	BB10	200	1	6	ДА	ДА
DB3f	BB14	200	1	9	ДА	ДА
DB3g	BB15	200	1	6	ДА	ДА

Пример DB5: Получение композиций сополиаминокислоты/инсулина гларгина/дулаглутид при pH 7,2.

В соответствии с протоколом примера DB3, композиции с различными сополиаминокислотами получают при pH 7,2, и они представлены в табл. 6 ниже.

Таблица 6

Композиции сополиаминокислоты/инсулина гларгина (200 Ед./мл)/дулаглутид (1 мг/мл) при pH 7,2

Композиция	Сополиаминокислота	Инсулин гларгин (Ед./мл)	Дулаглутид (мг/мл)	Сополиаминокислота (мг/мл)
DB3h	BB10	200	1	6
DB3i	BB15	200	1	6

Пример DB6: получение композиций сополиаминокислоты/инсулина гларгина при pH 7,2.

В соответствии с протоколом примера DB5 и исходя из раствора, эквивалентного D1, содержащего такие же эксципиенты, за исключением безводной лимонной кислоты, и без дулаглутид, получают следующие композиции при pH 7,2, и они представлены в следующей табл. 7.

Таблица 7

Композиции сополиаминокислоты/инсулина гларгина (200 Ед./мл) при pH 7,2

Композиция	Сополиамино-кислота	Инсулин гларгин (Ед./мл)	Дулаглутид (мг/мл)	Сополиамино-кислота (мг/мл)
DB3k	BB15	200	0	5

е) Получение композиции сополиаминокислоты/инсулина гларгина/инсулина лизпро/эксенатида.

Композиции сополиаминокислоты/инсулина гларгина/инсулина лизпро получают в соответствии со способом, описанным в примерах CB2 и CB8. Объем раствора эксенатида при 10 мг/мл, полученного путем растворения эксенатида (Bachem) в воде для инъекций, добавляют к этим растворам. Концентрации инсулина гларгина, инсулина лизпро и эксенатида в композиции затем доводят до желаемого значения путем разведения в растворе эксципиентов м-крезола/глицерина или м-крезола/глицерина/метионина таким образом, чтобы получить конечную концентрацию м-крезола 35 мМ и осмоляльность 300 мОсм/кг. Измеряют pH и доводят, если необходимо, до pH 7,2 путем добавления концентрированного NaOH и HCl. Эти композиции представлены в табл. 8.

Таблица 8

Композиции сополиаминокислоты/инсулина гларгина (200 Ед./мл)/лизпро (67 МЕд./мл или 200 МЕд./мл/с или без эксенатида

Композиция	Инсулин гларгин (Ед./мл)	Инсулин лизпро (Ед./мл)	Сополиаминокислота	Концентрация сополиаминокислоты (мг/мл)	Эксенатид (мкг/мл)	Метионин (мМ)
СВ2а	200	67	ВВ15	5	0	0
СВ2б	200	67	ВВ15	5	50	10
СВ2с	200	67	ВВ15	5	50	0
СВ8а	200	200	ВВ15	5	154	0

Часть D' - контр-примеры.

Протоколы получения.

Композиции используемой в качестве контр-примера сополиаминокислоты/инсулина гларгина 200 Ед./мл получают в соответствии со способом, описанным в примере СА2, таким образом, чтобы получить концентрацию инсулина гларгина $C_{\text{инсулин гларгин}} = 200$ Ед./мл и концентрацию используемой в качестве контр-примера сополиаминокислоты $C_{\text{сополиаминокислота контр-примера}}$ (мг/мл). Эти композиции представлены в следующей табл. 9.

Таблица 9

Композиции используемой в качестве контр-примера сополиаминокислоты/инсулина гларгина (200 Ед./мл)

Композиция	Инсулин гларгин (Ед./мл)	Сополиаминокислота	Концентрация сополиаминокислоты (мг/мл)
СА3h	200	СЕВ1	13
СА3i	200	СЕВ2	6
СА3j	200	СЕВ3	7
СА3k	200	СЕВ4	10
СА3w	200	СЕВХ4	5

Композиции сополиаминокислоты/инсулина гларгина 200 Ед./мл/инсулина лизпро 66 Ед./мл получают в соответствии со способом, описанным в примере СВ2, таким образом, чтобы получить концентрацию инсулина гларгин $C_{\text{инсулин гларгин}} = 200$ Ед./мл, концентрацию инсулина лизпро $C_{\text{инсулин лизпро}} = 66$ Ед./мл и концентрацию используемой в качестве контр-примера сополиаминокислоты $C_{\text{сополиаминокислота контр-примера}}$ (мг/мл). Эти композиции представлены в следующей табл. 10.

Таблица 10

Контр-примеры композиций сополиаминокислоты/инсулина гларгина (200 Ед./мл)/инсулина лизпро (66 Ед./мл)

Композиция	Инсулин гларгин (Ед./мл)	Инсулин лизпро (Ед./мл)	Сополиаминокислота	Концентрация сополиаминокислоты (мг/мл)
СВ3s	200	66	СЕВ2	6
СВ3t	200	66	СЕВ3	7
СВ3af	200	66	СЕВХ4	5

В соответствии с примером СВ12 (получение композиций сополиаминокислоты/инсулина гларгина 200 Ед./мл/человеческого инсулина 66 Ед./мл при рН 7,1), композиции сополиаминокислоты/инсулина гларгина 200 Ед./мл/человеческого инсулина 66 Ед./мл получают в соответствии со способом, описанным в примере СВ11, таким образом, чтобы получить концентрацию инсулина гларгина $C_{\text{инсулин гларгин}} = 200$ Ед./мл, концентрацию человеческого инсулина $C_{\text{человеческий инсулин}} = 66$ Ед./мл и концентрацию сополиаминокислоты $C_{\text{сополиаминокислота}}$ (мг/мл).

Композиция представлена в следующей табл. 11.

Таблица 11

Композиции используемой в качестве контр-примера сополиаминокислоты/инсулина гларгина (200 Ед./мл)/человеческого инсулина (66 МЕд./мл) при pH 7,1

	Инсулин гларгин (Ед./мл)	Человеческий инсулин (Ед./мл)	Сополиаминокислота	Концентрация сополиаминокислоты (мг/мл)
СВ1 2b	200	66	СВ2	6

В соответствии с протоколом примера DB5, получают композиции при pH 7,2 с различными контр-примерами сополиаминокислот, и они представлены в табл. 12 ниже.

Таблица 12

Композиции используемой в качестве контр-примера сополиаминокислоты/инсулина гларгина (200 Ед./мл)/дулаглутида (0,8 или 1 мг/мл)

Композиция	Сополиаминокислота	Инсулин гларгин (Ед./мл)	Дулаглутид (мг/мл)	Сополиаминокислота (мг/мл)
)		
DB3x	СВ3	200	1	7
DB3z	СВ2	200	1	6

III. Определение количества альбумина, необходимого для получения осаждения.

Пример G1: получение разбавленной композиции сополиаминокислоты/инсулина гларгин 65 Ед./мл при pH 7,1.

Концентрированные растворы м-крезола и глицерина добавляют к исходному раствору сополиаминокислоты при pH 7 таким образом, чтобы получить раствор сополиаминокислоты концентрации $C_{\text{исходный раствор сополиаминокислоты/эксципенты}}$ (мг/мл). Добавляемое количество эксципентов регулируют таким образом, чтобы получить концентрацию м-крезола 35 мМ и глицерина 184 мМ в композиции сополиаминокислоты/инсулина гларгина 65 Ед./мл при pH 7,1.

В стерильном сосуде объем $V_{\text{инсулин гларгин}}$ коммерческого раствора инсулина гларгина, поставляемого на рынок под названием Лантус®, при концентрации 100 Ед./мл добавляют к объему $V_{\text{исходный раствор сополиаминокислоты/эксципенты}}$ раствора сополиаминокислоты концентрации $C_{\text{исходный раствор сополиаминокислоты/эксципенты}}$ (мг/мл) таким образом, чтобы получить разбавленную композицию сополиаминокислоты $C_{\text{разбавленная сополиаминокислота}}$ (мг/мл)/инсулина гларгин 65 Ед./мл при pH 7,1. Появляется мутность. pH доводят до pH 7,1 путем добавления концентрированного NaOH и раствор загружают в статических условиях в печь при 40°C на 2 ч до полного растворения. Этот визуально прозрачный раствор хранят при +4°C.

Пример G2: осаждение композиции сополиаминокислоты/инсулина гларгина 65 Ед./мл при pH 7,1 путем изменения концентрации альбумина 0,3 мл раствора BSA (бычий сывороточный альбумин) в PBS буфере при pH 7,4 (фосфатно-солевой буферный раствор) и 1 мл разбавленной композиции сополиаминокислоты/инсулина гларгина 65 Ед./мл с pH 7,1, соответственно, вводят в одноразовую УФ-кювету таким образом, чтобы получить смесь, содержащую 50 Ед./мл инсулина гларгина, концентрацию альбумина C_{BSA} (мг/мл) в PBS буфере. Получают несколько растворов BSA в PBS буфере с различными концентрациями, чтобы изменять концентрацию альбумина в конечной смеси от 1 до 12,7 мг/мл (1; 2,9; 3,9; 6,8; 9,7; 12,7 мг/мл) и концентрацию физиологической соли посредством PBS буфера.

После добавления раствора BSA в PBS буфер смесь быстро гомогенизируют несколькими движениями пипетки вперед-назад. Через один час после смешивания осуществляют измерение поглощения при 500 нм при помощи спектрофотометра JASCO V-530 UV-Vis.

Измерение поглощения при 500 нм позволяет оценить мутность смеси, появляющуюся в результате осаждения инсулина гларгина. Мутность увеличивается как функция концентрации альбумина до достижения плато, отражающего полное осаждение инсулина гларгина.

Критическую концентрацию альбумина, обеспечивающую возможность количественного осаждения, определяют как концентрацию альбумина, для которой значение поглощения при 500 нм достигает 80% от измеренного поглощения при плато.

Следует отметить, что в композициях по изобретению критическое количество BSA ниже. Результаты представлены в следующей табл. 13.

Таблица 13

Критическая концентрация альбумина (мг/мл) для 80% осаждения через 1 ч (инсулин гларгин при 50 Ед./мл)

Сополиаминокислота	Критическая концентрация альбумина (мг/мл) для 80% осаждения через 1 ч (инсулин гларгин при 50 Ед./мл)	Концентрация сополиаминокислоты в растворе инсулина гларгина при 50 Ед./мл
СЕВ2	≥ 3,9	1,5
СЕВ3	≥ 3,9	1,8
СЕВ4	≥ 3,9	1,5
ВВ7	< 3,9	1,8
ВВ5	< 3,9	2,2
ВВ14	< 3,9	2,5
ВВ10	< 3,9	1,5
ВВ15	< 3,9	2,0
ВВ11	< 3,9	1,5
ВВ16	< 3,9	1,5
АВ6	< 3,9	1,8
АВ21	< 3,9	1,5
АВ17	< 3,9	1,5
АВ18	< 3,9	1,5
ВВ42	< 3,9	1,2
ВВ18	< 3,9	1,5
ВВ17	< 3,9	1,75
ВВ25	< 3,9	1,1
ВВ43	< 3,9	2
ВВ20	< 3,9	1,25
ВВ21	< 3,9	1,25

IV. Исследование стабильности композиций в соответствии с изобретением.

Часть Е. Демонстрация физической стабильности композиций в соответствии с изобретением путем испытания композиций сополиаминокислоты/инсулина гларгина 200 Ед./мл и композиций сополиаминокислоты/инсулина гларгина 200 Ед./мл/лизпро 66 Ед./мл.

Пример Е1: ускоренное испытание стабильности при 25°C в динамических условиях.

33-мл сосуда, заполненных 1 мл композиции сополиаминокислоты/инсулина гларгина, помещают вертикально в орбитальный смеситель. Смеситель загружают в печь при 25°C и сосуды подвергают перемешиванию при 250 об/мин. Сосуды исследуют визуально ежедневно/еженедельно для определения появления видимых частиц или мутности. Эту проверку осуществляют в соответствии с рекомендациями Европейской Фармакопеи (EP 2.9.20): сосуды подвергают освещению по меньшей мере 2000 люкс и наблюдают на белом фоне и на черном фоне. Количество дней стабильности соответствует продолжительности времени, после которого по меньшей мере 2 сосуда демонстрируют видимые частицы или являются мутными.

Эти результаты согласуются с Фармакопеей США (USP <790>).

Результаты ускоренного испытания стабильности (полученные с различными композициями) представлены в табл. 14 ниже.

Таблица 14

Результаты стабильности композиций сополиаминокислоты/инсулина гларгина (200 Ед./мл)/инсулина лизпро (66 Ед./мл) при 25°С в динамических условиях (при перемешивании при 250 об/мин) и контр-примеры (* появление осадка, когда рН раствора доводят до рН 7)

Композиция	Сополиаминокислота	Стабильность при 25°С в динамических условиях (в днях)
СВ3	-	*
СВ3а	АВ6	13
СВ3с	АВ21	14
СВ3r	АВ17	8
СВ3i	АВ18	8
СВ3f	ВВ3	15
СВ3g	ВВ5	>41
СВ3j	ВВ7	29
СВ3m	ВВ10	15
СВ3n	ВВ11	17
СВ3о	ВВ15	14
СВ3p	ВВ16	8
СВ3s	СЕВ2	5
СВ3t	СЕВ3	4
СВ3u	ВВ42	8
СВ3v	ВВ18	69
СВ3w	ВВ17	29
СВ3x	ВВ25	10
СВ3у	ВВ26	> 46 и далее
СВ3z	ВВ43	5-7
СВ3ас	ВВ20	32
СВ3ад	ВВ21	30
СВ3ае	СЕВХ3	2
СВ3аf	СЕВХ4	2

Результаты ускоренного испытания стабильности, полученные с композициями из таблицы примера СВ12, представлены в табл. 15 ниже.

Таблица 15

Результаты стабильности композиций сополиаминокислоты/инсулина гларгина (200 Ед./мл)/человеческого инсулина (66 Ед./мл) при 25°С в динамических условиях (при перемешивании при 250 об/мин) и контр-пример

Композиция	Сополиаминокислота	Стабильность при 25°С в динамических условиях (в днях)
СВ12а	ВВ15	>28
СВ12b	СЕВ2	7

Результаты ускоренного испытания стабильности, полученные с композициями из таблицы примера DB5, представлены в табл. 16 ниже.

Таблица 16

Результаты стабильности композиций сополиаминокислоты/инсулина гларгина (200 Ед./мл)/дулаглутида (1 мг/мл) при 25°C в динамических условиях (при перемешивании при 250 об/мин)

Композиция	Гларгин (Ед./мл)	Дулаглутид (мг/мл)	Сополиаминокислота	Концентрация сополиаминокислоты (мг/мл)	Динамическая стабильность при 25°C 250 об/мин в днях
DB3h	200	1	BB10	6	25
DB3i	200	1	BB15	6	>32
DB3x	200	1	CEB3	7	7
DB3z	200	1	CEB2	6	10
C4	100	-	-	-	>32
D1	-	3	-	-	>32

Демонстрация физической стабильности композиций в соответствии с изобретением путем испытания композиций сополиаминокислоты/инсулина гларгина/инсулина лизпро/эксенатида.

Пример E1': ускоренное испытание стабильности при 25°C в динамических условиях.

3 3-мл сосуда, заполненных 1 мл композиций из табл. 8, помещают вертикально в орбитальный смеситель. Смеситель загружают в печь при 25°C и сосуды подвергают перемешиванию при 250 об/мин. Сосуды исследуют визуально ежедневно/еженедельно для определения появления видимых частиц или мутности. Эту проверку осуществляют в соответствии с рекомендациями Европейской Фармакопеи (EP 2.9.20): сосуды подвергают освещению по меньшей мере 2000 люкс и наблюдают на белом фоне и на черном фоне. Количество недель стабильности соответствует продолжительности времени, после которого по меньшей мере 2 сосуда демонстрируют видимые частицы или являются мутными.

Эти результаты согласуются с Фармакопеей США (USP <790>). Результаты ускоренного испытания стабильности, полученные с композициями из табл. 8, представлены в табл. 17 ниже.

Таблица 17

Результаты стабильности композиций сополиаминокислоты/инсулина гларгина (200 Ед./мл)/инсулина лизпро (67 МЕд./мл) с или без эксенатида при 25°C в динамических условиях (при перемешивании при 250 об/мин)

Композиция	Сополиаминокислота	Стабильность при 25°C в динамических условиях (в неделях)
CB2a	BB15	>9
CB2b	BB15	>9
CB2c	BB15	>9

Пример E2: ускоренное испытание стабильности при 30°C в статических условиях.

5 3-мл сосуда, заполненных 1 мл композиции, помещают вертикально в печь, поддерживаемую при 30°C. Сосуды исследуют визуально ежедневно для определения появления видимых частиц или мутности. Эту проверку осуществляют в соответствии с рекомендациями Европейской Фармакопеи (EP 2.9.20): сосуды подвергают освещению по меньшей мере 2000 люкс и наблюдают на белом фоне и на черном фоне. Количество недель стабильности соответствует продолжительности времени, после которого по меньшей мере 2 сосуда демонстрируют видимые частицы или являются мутными.

Эти результаты согласуются с Фармакопеей США (USP <790>).

Результаты ускоренного испытания стабильности (полученные с различными композициями) представлены в табл. 18a и 18b ниже.

Таблица 18а

Результаты испытаний стабильности композиций сополиаминокислоты/инсулина гларгина (225 Ед./мл)/инсулина лизпро (75 МЕд./мл) при 30°С в статических условиях (* появление осадка, когда рН раствора доводят до рН 7)

Композиция	Сополиаминокислота	Стабильность при 30°С в статических условиях (в неделях)
СВ5	-	*
СВ5f	ВВ14	>9

Таблица 18б

Результаты испытаний стабильности композиций сополиаминокислоты/инсулина гларгина (200 Ед./мл)/инсулина лизпро (66 МЕд./мл) при 30°С в статических условиях (* появление осадка, когда рН раствора доводят до рН 7)

Композиция	Сополиаминокислота	Стабильность при 30°С в статических условиях (в неделях)
СВ3	-	*
СВ3j	ВВ7	>12
СВ3о	ВВ15	>9

V. Примеры композиций в соответствии с изобретением.

Пример Н4: получение композиций сополиаминокислоты, инсулина гларгина при 200 Ед./мл и инсулина лизпро при 66 Ед./мл при рН 7,1.

Примеры композиций инсулина гларгина при 200 Ед./мл, инсулина лизпро при 66 Ед./мл и сополиаминокислот описаны в примере СВ3 и представлены в табл. 4а.

Пример Н5: получение композиций сополиаминокислоты, инсулина гларгина при 150 Ед./мл, инсулина лизпро при 50 Ед./мл при рН 7,1.

Способом, аналогичным примеру Н4, получают композиции инсулина гларгина при 150 Ед./мл, инсулина лизпро при 50 Ед./мл и сополиаминокислоты. Они представлены в табл. 19.

Таблица 19

Композиции сополиаминокислоты/инсулина гларгина (150 Ед./мл)/инсулина лизпро (50 Ед./мл)

Композиция	Инсулин гларгин (Ед./мл)	Инсулин лизпро (Ед./мл)	Сополиаминокислота	Концентрация сополиаминокислоты (мг/мл)
Н5а	150	50	АВ6	5,25
Н5с	150	50	АВ21	4,5
Н5f	150	50	ВВ3	5,25
Н5g	150	50	ВВ5	6,75
Н5i	150	50	АВ18	4,5
Н5j	150	50	ВВ7	5,25
Н5m	150	50	ВВ10	4,5
Н5n	150	50	ВВ11	4,5
Н5о	150	50	ВВ15	4,5
Н5p	150	50	ВВ16	4,5
Н5r	150	50	АВ17	4,5

Пример Н6: получение композиций сополиаминокислоты и инсулина гларгина при 300 Ед./мл, ин-

сулина лизпро при 100 Ед./мл и при рН 7,1.

Способом, аналогичным примеру Н4, получают композиции инсулина гларгина при 300 Ед./мл, инсулина лизпро при 100 Ед./мл и сополиаминокислоты. Они представлены в табл. 20.

Таблица 20

Композиции сополиаминокислоты/инсулина гларгина (300 Ед./мл)/инсулина лизпро (100 Ед./мл)

Композиция	Инсулин гларгин (Ед./мл)	Инсулин лизпро (Ед./мл)	Сополиаминокислота	Концентрация сополиаминокислоты (мг/мл)
Н6а	300	100	АВ6	10,5
Н6с	300	100	АВ21	9
Н65f	300	100	ВВ3	10,5
Н6g	300	100	ВВ5	13,5
Н6i	300	100	АВ18	9
Н6j	300	100	ВВ7	10,5
Н6m	300	100	ВВ10	9
Н6n	300	100	ВВ11	9
Н6о	300	100	ВВ15	9
Н6p	300	100	ВВ16	9
Н6r	300	100	АВ17	9
Н6s	300	100	СЕВ2	9
Н6t	300	100	СЕВ3	10,5

Пример Н7: получение композиций сополиаминокислоты и дулаглутида при 1 мг/мл при рН 7,1.

Способом, аналогичным примеру DB3, получают композиции инсулина гларгина при 200 Ед./мл, дулаглутида при 1 мг/мл и сополиаминокислоты. Они представлены в табл. 21.

Таблица 21

Композиции сополиаминокислоты и дулаглутида при 1 мг/мл при рН 7,1

Композиция	Сополиаминокислота	Инсулин гларгин (Ед./мл)	Дулаглутид (мг/мл)	Сополиаминокислота (мг/мл)
DB1	-	50	0,25	-
DB2	-	50	0,25	-
DB3a	АВ6	200	1	7
DB3b	АВ17	200	1	6
DB3c	ВВ7	200	1	7
DB3d	ВВ5	200	1	9
DB3e	ВВ10	200	1	6
DB3f	ВВ14	200	1	9
DB3g	ВВ15	200	1	6

Пример Н8: получение композиций сополиаминокислоты, инсулина гларгина при 150 Ед./мл и дулаглутида при 0,75 мг/мл при рН 7,1.

Способом, аналогичным примеру Н7, получают композиции инсулина гларгина при 150 Ед./мл, дулаглутида при 0,75 мг/мл и сополиаминокислоты. Они представлены в табл. 22.

Таблица 22

Композиции сополиаминокислоты/инсулина гларгина (150 Ед./мл)/дулаглутида (0,75 мг/мл)

Композиция	Сополиаминокислота	Инсулин гларгин (Ед./мл)	Дулаглутид (мг/мл)	Сополиаминокислота (мг/мл)
H8a	AB6	150	0,75	5,25
H8b	AB17	150	0,75	4,5
H8c	BB7	150	0,75	5,25
H8d	BB5	150	0,75	6,75
H8e	BB10	150	0,75	4,5
H8f	BB14	150	0,75	6,75
H8g	BB15	150	0,75	4,5

Пример H9: получение композиций сополиаминокислоты, инсулина гларгина при 300 Ед./мл и дулаглутида при 1,5 мг/мл при рН 7,1.

Способом, аналогичным примеру H7, получают композиции инсулина гларгина при 300 Ед./мл, дулаглутида при 1,5 мг/мл и сополиаминокислоты. Они представлены в табл. 23.

Таблица 23

Композиции сополиаминокислоты/инсулина гларгина (300 Ед./мл)/дулаглутида (1,5 мг/мл)

Композиция	Сополиаминокислота	Инсулин гларгин (Ед./мл)	Дулаглутид (мг/мл)	Сополиаминокислота (мг/мл)
H8a	AB6	300	1,5	10,5
H8b	AB17	300	1,5	9
H8c	BB7	300	1,5	10,5
H8d	BB5	300	1,5	13,5
H8e	BB10	300	1,5	9
H8f	BB14	300	1,5	13,5
H8g	BB15	300	1,5	9

Часть F. Фармакокинетические и фармакодинамические испытания на собаках.

Пример F1: фармакокинетическое и фармакодинамическое испытание на собаках композиции сополиаминокислоты BB7 (7 мг/мл)/инсулина гларгина (200 Ед./мл)/инсулина лизпро (66 Ед./мл).

Испытания на собаках осуществляли для оценки фармакокинетики и фармакодинамики композиции раствора инсулина.

Фармакокинетические профили и гипогликемические эффекты этой композиции сравнивали с полученными при одновременных, но отдельно вводимых инъекциях инсулина гларгина (Лантус®) (рН 4) (пример С4) и прандиального инсулина лизпро (Хумалог®) (пример С1) в пропорциях 75% инсулина гларгина (Лантус®)/25% инсулина лизпро (Хумалог®).

Десять животных, которые перед этим голодали в течение примерно 18 ч, получают инъекции в шею выше межлопаточной области при дозе 0,8 Ед./кг с использованием шприц-ручки Junior Star. За час до введения инъекции(инъекций) инсулина берут 2 образца крови для определения базальных уровней глюкозы и инсулина. Образцы крови затем берут в течение 20-час периода после инъекции(инъекций). Гликемию определяют при помощи глюкометра. Уровни инсулина определяют при помощи анализа ELISA.

Средние фармакокинетические кривые инсулина, представленные как отклонение от базального уровня, представлены на фиг. 1.

Средние фармакодинамические кривые глюкозы, представленные как процент отклонения от базального уровня, представлены на фиг. 2.

Фармакокинетические результаты, полученные при раздельном и одновременном введении инсулина лизпро (Хумалог®) и инсулина гларгина (Лантус®), по сравнению с результатами, полученными с композицией, описанной в примере СВЗj, представлены на фиг. 1. Профили являются двухфазными. Первая фаза соответствует пику инсулина, который появляется очень быстро после инъекции, через 30

мин после инъекции. Пик продолжается примерно до 3 ч после введения. Наблюдается вторая фаза, она начинается приблизительно через 3 ч после введения и заканчивается в конце профиля и соответствует пролонгированной абсорбции инсулина, приводящей к плоскому профилю. Эта вторая фаза является базальной частью профиля инсулина, тогда как первая фаза соответствует его прандиальной части. Эти две фазы характерны для одновременной инъекции прандиального инсулина и базального инсулина, и они действительно воспроизводятся при помощи композиции по изобретению, представленной в примере СВ3j.

Фармакодинамические результаты, полученные при раздельном и одновременном введении инсулина лизпро (Хумалог®) и инсулина гларгина (Лантус®), по сравнению с результатами, полученными с использованием композиции, описанной в примере СВ3j, представлены на фиг. 2. Гипогликемическая активность композиции, описанной в примере СВ3j, является двухфазной. Первая быстрая фаза определяется выраженным снижением гликемии в течение приблизительно 60 мин, что характерно для быстрого действия инсулина лизпро. Эта первая фаза также наблюдается при двойной инъекции Лантус®/Хумалог®, указывая на то, что композиция по изобретению не изменяет быстрый характер препарата Хумалог®. Примерно через 60 мин гликемия повышается в течение вплоть до 3 ч перед второй, более медленной фазой, характеризующейся менее выраженной гипогликемической активностью, продолжающейся вплоть до 18-20 ч после инъекции. Эта базальная вторая фаза характерна для базального эффекта инсулина гларгина, также наблюдаемого при двойной инъекции, и это показывает, что эффект действительно сохраняется с композицией в соответствии с изобретением, описанной в примере СВ3j.

Пример F2: фармакокинетическое и фармакодинамическое испытание на собаках композиции сополиаминокислоты ВВ15 (6 мг/мл)/инсулина гларгина (200 Ед./мл)/инсулина лизпро (66 Ед./мл).

Фармакокинетические профили и гипогликемические эффекты этой композиции сравнивали с полученными при одновременных, но отдельно вводимых инъекциях инсулина гларгина (Лантус®) (рН 4) (пример С4) и прандиального инсулина лизпро (Хумалог®) (пример С1) в пропорциях 75% инсулина гларгина (Лантус®)/25% инсулина лизпро (Хумалог®).

Десять животных, которые перед этим голодали в течение примерно 18 ч, получают инъекции в шею выше межлопаточной области при дозе 0,8 Ед./кг с использованием шприц-ручки Junior Star. За час до введения инъекции(инъекций) инсулина берут 2 образца крови для определения базальных уровней глюкозы и инсулина. Образцы крови затем берут в течение 20-час периода после инъекции(инъекций). Гликемию определяют при помощи глюкометра. Уровни инсулина определяют при помощи анализа ELISA.

Средние фармакокинетические кривые инсулина, выраженные как отклонение от базального уровня, представлены на фиг. 3.

Средние фармакодинамические кривые глюкозы, выраженные как процент отклонения от базального уровня, представлены на фиг. 4.

Фармакокинетические результаты, полученные при одновременных введениях инсулина лизпро (Хумалог®) и инсулина гларгина (Лантус®), в сравнении с композицией, описанной в примере СВ3о, представлены в фиг. 3. Профили являются двухфазными. Первая фаза соответствует пику инсулина, который появляется очень быстро после инъекции, через 30 мин после инъекции. Пик продолжается примерно до 3 ч после введения. Наблюдается вторая фаза, она начинается приблизительно через 3 ч после введения и заканчивается в конце профиля и соответствует пролонгированной абсорбции инсулина, приводящей к плоскому профилю. Эта вторая фаза является базальной частью профиля инсулина, тогда как первая фаза соответствует его прандиальной части. Эти две фазы характерны для одновременной инъекции прандиального инсулина и базального инсулина, и они действительно воспроизводятся при помощи композиции по изобретению, представленной в примере СВ3о.

Фармакодинамические результаты, полученные при раздельном и одновременном введении инсулина лизпро (Хумалог®) и инсулина гларгина (Лантус®), по сравнению с результатами, полученными с использованием композиции, описанной в примере СВ3о, представлены в фиг. 4. Гипогликемическая активность композиции, описанной в примере СВ3о, является двухфазной. Первая быстрая фаза определяется выраженным снижением гликемии в течение приблизительно 60 мин, что характерно для быстрого действия инсулина лизпро. Эта первая фаза также наблюдается при двойной инъекции инсулина гларгина (Лантус®)/инсулина лизпро (Хумалог®), указывая на то, что композиция по изобретению не изменяет быстрый характер инсулина лизпро (Хумалог®). Примерно через 60 мин гликемия повышается в течение вплоть до 3 ч перед второй, более медленной фазой, характеризующейся менее выраженной гипогликемической активностью, продолжающейся вплоть до 18-20 ч после инъекции. Эта базальная вторая фаза характерна для базального эффекта инсулина гларгина, также наблюдаемого при двойной инъекции, и это показывает, что эффект действительно сохраняется с композицией в соответствии с изобретением, описанной в примере СВ3о.

Пример F3: фармакокинетическое и фармакодинамическое испытание на собаках композиции сополиаминокислоты ВВ15 (5 мг/мл)/инсулина гларгина (200 Ед./мл)/инсулина лизпро (66 Ед./мл)/эксенатида.

Испытания на собаках осуществляли для оценки фармакокинетики и фармакодинамики инсулина и после введения композиций сополиаминокислоты и инсулинов (композиция СВ2а) и сополиаминокислоты, инсулинов и эксенатида (композиция СВ2с).

Гипогликемические эффекты и фармакокинетические профили инсулинов композиции СВ2с сравнивали с эффектами и профилями композиции СВ2а, идентичной композиции, но без эксенатида.

Десять животных, которые перед этим голодали в течение примерно 18 ч, получают инъекции в шею выше межлопаточной области при дозе 0,67 Ед./кг инсулина для композиции СВ2а и 0,67 Ед./кг инсулина и 0,125 мкг/кг эксенатида для композиции СВ2с. В этих условиях введения с широким промежутком от приема пищи фармакодинамический эффект может быть отнесен только к инсулинам. В течение часа, предшествующего инъекции, берут образец крови, чтобы определить базальный уровень инсулина, и собирают 3 образца, чтобы определить базальный уровень глюкозы. Затем берут образцы крови в течение 23 ч после введения, чтобы описать фармакокинетику инсулинов. Гликемию определяют в течение 24 ч с помощью глюкометра. Уровни инсулина определяют при помощи анализа ELISA.

Средние фармакокинетические кривые инсулина, выраженные как отклонение от базального уровня, представлены на фиг. 5.

Средние фармакодинамические кривые глюкозы, выраженные как процент отклонения от базального уровня, представлены на фиг. 6.

Результаты фармакокинетики инсулина, полученные после введения композиции без эксенатида (композиция СВ2а), в сравнении с результатами, полученными для композиции с эксенатидом (композиция СВ2с), представлены на фиг. 5. Профили являются двухфазными. Первая фаза соответствует пику инсулина, который появляется очень быстро после инъекции, через 30-45 мин после инъекции. Пик продолжается примерно до 3 ч после введения. Вторая фаза наблюдается примерно через 3 ч после введения до конца профиля и соответствует пролонгированной абсорбции инсулина, приводящей к плоскому профилю. Эта вторая фаза является базальной частью профиля инсулина, тогда как первая часть соответствует его прандиальной части. Эти две фазы характерны для отдельных и одновременных инъекций прандиального инсулина и базального инсулина. Профили одинаковы для двух композиций, и это показывает, что присутствие эксенатида не изменяет кинетику инсулинов композиции СВ2с.

Фармакодинамические результаты, полученные при введении композиций СВ2а и композиции СВ2с, представлены на фиг. 6. Гипогликемическая активность композиций является двухфазной. Первая быстрая фаза определяется выраженным снижением гликемии в течение приблизительно 60 мин, что характерно для быстрого действия инсулина лизпро. Примерно через 60 мин гликемия повышается в течение времени вплоть до 3 ч перед второй, более медленной фазой, которая характеризуется менее выраженной гипогликемической активностью, которая длится до 18-24 ч после инъекции. Эта вторая базальная фаза характерна для базального эффекта инсулина гларгина. Профиль является одинаковым для двух композиций (СВ2а и СВ2с), указывая на то, что присутствие эксенатида не изменяет биологическую активность композиции СВ2с.

Пример F4: фармакодинамическое испытание на собаках композиции сополиаминокислоты ВВ15 (5 мг/мл)/инсулина гларгина (200 Ед./мл)/инсулина лизпро (66 Ед./мл)/эксенатида.

Испытания на собаках осуществляли для оценки фармакодинамики жидкой объединенной композиции инсулинов и эксенатида (композиция СВ2с).

Гипогликемические эффекты композиции СВ2с сравнивали с эффектами отдельных и одновременных инъекций инсулина гларгина (Лантус®) (рН 4), инсулина лизпро (Хумалог®) в присутствии эксенатида (Баета®).

Десять животных, которые перед этим голодали в течение примерно 3 ч, получают инъекции в шею выше межлопаточной области при дозе 1 Ед./кг инсулина и 0,19 мкг/кг эксенатида. В этих условиях введения сразу после еды фармакодинамический эффект может быть отнесен к инсулинам и к эксенатиду. За 1 ч до инъекции собирают 3 образца крови для определения базального уровня глюкозы. Образцы крови затем собирают в течение 6-час периода после введения. Гликемию определяют при помощи глюкометра.

Средние фармакодинамические кривые глюкозы, выраженные как процент отклонения от базального уровня, представлены на фиг. 7.

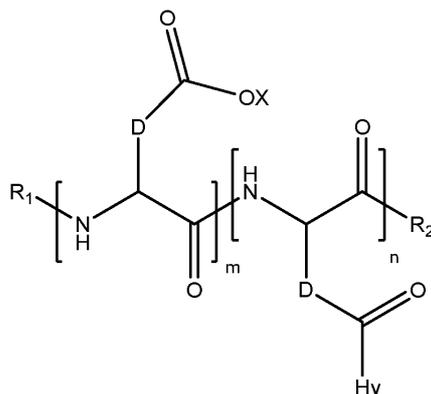
Фармакодинамические результаты, полученные после введения композиции СВ2с, по сравнению с результатами, полученными после отдельных и одновременных введений инсулина лизпро (Хумалог®), инсулина гларгина (Лантус®) и эксенатида (Баета®) (указано как тройная инъекция) представлены на фиг. 7. Гипогликемическая активность композиции СВ2с является двухфазной. Первая быстрая фаза определяется выраженным снижением гликемии в течение приблизительно 60 мин, что характерно для быстрого действия эксенатида и инсулина лизпро (Хумалог®), как видно из профиля тройной инъекции. Примерно через 60 мин гликемия повышается в течение времени вплоть до 3 ч перед второй, более медленной фазой, которая характеризуется менее выраженной гипогликемической активностью вплоть до 6 ч после инъекции. Эта вторая базальная фаза характерна для базального эффекта инсулина гларгина, и одинаково наблюдается по профилю тройной инъекции и композиции СВ2с. Эти результаты показыва-

ют, что эффекты эксенатида и инсулинов действительно поддерживаются с использованием композиции СВ2с.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Композиция в форме инъекционного водного раствора, рН которого составляет от 6,0 до 8,0, включающего по меньшей мере

- а) один базальный инсулин, изоэлектрическая точка (pI) которого имеет значение от 5,8 до 8,5,
- б) прандиальный инсулин и/или желудочно-кишечный гормон и
- в) сополиаминокислоту, несущую карбоксилатные заряды и гидрофобные радикалы Ну, при этом указанная сополиаминокислота состоит из глутаминовых или аспарагиновых звеньев и выбрана из сополиаминокислот формулы VII



Формула VII,

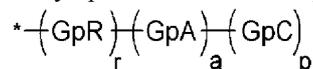
где D независимо представляет собой группу $-\text{CH}_2-$ (аспарагиновое звено) или $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ группу (глутаминовое звено);

R_1 представляет собой гидрофобный радикал, выбранный из гидрофобных радикалов формулы I, в которой $r=0$ или $r=1$ и GrR представляет собой радикал формулы II', или радикал, выбранный из группы, состоящей из H, C_2-C_{10} линейной ацильной группы, C_4-C_{10} разветвленной ацильной группы, бензила, концевого "аминокислотного" звена и пироглутамата,

R_2 представляет собой гидрофобный радикал, выбранный из гидрофобных радикалов формулы I, в которой $r=1$ и GrR представляет собой радикал формулы II, или $-\text{NR}'\text{R}''$ радикал, R' и R'' , которые являются одинаковыми или отличными друг от друга, выбраны из группы, состоящей из H, C_2-C_{10} линейных или разветвленных или циклических алкилов, бензила, и при этом указанный алкил R' и R'' вместе необязательно образуют одно или несколько насыщенных, ненасыщенных и/или ароматических углеродных колец и/или необязательно включают гетероатомы, выбранные из группы, состоящей из O, N и S;

X представляет собой катионную группу, выбранную из группы, включающей щелочные катионы; $n+m$ представляет степень полимеризации DP сополиаминокислоты, которая означает среднее количество мономерных звеньев на цепь сополиаминокислоты, и $5 \leq n+m \leq 250$;

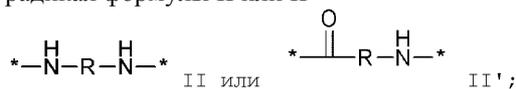
и указанные гидрофобные радикалы Ну представляют собой радикалы следующей формулы I:



Формула I

в которой

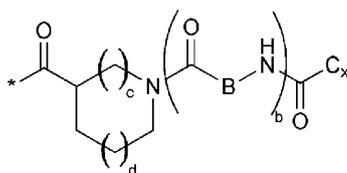
GrR представляет собой радикал формулы II или II'



GrA представляет собой радикал формулы III или III'



GrC представляет собой радикал формулы IV



IV;

Ну включает более чем 30 атомов углерода;

* указывает места присоединения различных групп, связанных амидными функциями;

a представляет собой целое число, имеющее значение 0 или 1;

b представляет собой целое число, имеющее значение 0 или 1;

r представляет собой целое число, имеющее значение 1 или 2, и

когда r равен 1, тогда a равен 0 или 1 и GrA представляет собой радикал формулы III', и

когда r равен 2, тогда a равен 1 и GrA представляет собой радикал формулы III;

c представляет собой целое число, имеющее значение 0 или 1, и

когда c равен 0, тогда d равен 1 или 2;

d представляет собой целое число, имеющее значение 0, до 1 или 2;

г представляет собой целое число, имеющее значение 0 или 1, и

когда г равен 0, тогда гидрофобный радикал формулы I связан с сополиаминокислотой через ковалентную связь между карбонилем гидрофобного радикала и атомом азота в N-концевом положении сополиаминокислоты, с образованием, таким образом, амидной функции, и

когда г равен 1, тогда гидрофобный радикал формулы I связан с сополиаминокислотой

через ковалентную связь между атомом азота гидрофобного радикала и карбонилем сополиаминокислоты с образованием, таким образом, амидной функции, или

через ковалентную связь между карбонилем гидрофобного радикала и атомом азота в N-концевом положении сополиаминокислоты с образованием, таким образом, амидной функции;

R представляет собой радикал, выбранный из группы, состоящей из

линейного или разветвленного двухвалентного алкильного радикала, включающего, когда GrR представляет собой радикал формулы II, от 2 до 12 атомов углерода, или когда GrR представляет собой радикал формулы II', от 1 до 11 атомов углерода;

линейного или разветвленного двухвалентного алкильного радикала, включающего, когда GrR представляет собой радикал формулы II, от 2 до 11 атомов углерода, или когда GrR представляет собой радикал формулы II', от 1 до 11 атомов углерода, где указанный алкильный радикал несет один или несколько -CONH₂ функций, и

незамещенного эфирного или полиэфирного радикала, включающего от 4 до 14 атомов углерода и от 1 до 5 атомов кислорода;

A представляет собой линейный или разветвленный алкильный радикал, включающий от 1 до 6 атомов углерода;

V представляет собой линейный или разветвленный алкильный радикал, необязательно, включающий ароматическое кольцо, включающее от 1 до 9 атомов углерода;

C_x представляет собой линейный или разветвленный одновалентный алкильный радикал, где x указывает количество атомов углерода, и

когда r равен 1, x имеет значение от 11 до 25 (11 ≤ x ≤ 25);

когда r равен 2, x имеет значение от 9 до 15 (9 ≤ x ≤ 15);

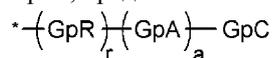
соотношение i между количеством гидрофобных радикалов и количеством глутаминовых или аспарагиновых звеньев находится между 0 < i ≤ 0,5;

когда сополиаминокислота несет несколько гидрофобных радикалов, тогда они являются одинаковыми или отличными друг от друга,

степень полимеризации DP в глутаминовых или аспарагиновых звеньях составляет от 5 до 250;

свободные кислотные функции находятся в форме соли щелочного катиона, выбранного из группы, состоящей из Na⁺ и K⁺.

2. Композиция по п.1, отличающаяся тем, что указанные гидрофобные радикалы выбраны из гидрофобных радикалов формулы I, в которой r=1, представленной следующей формулой V:



формула V

GrR, GrA, GrC, r и a имеют значения, определенные в п.1.

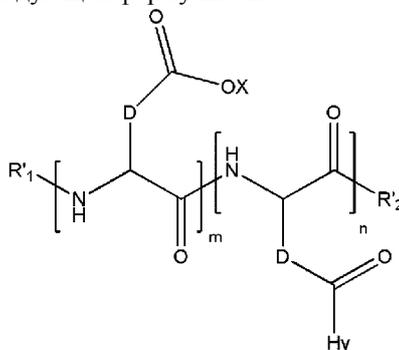
3. Композиция по п.1, отличающаяся тем, что указанные гидрофобные радикалы выбраны из гидрофобных радикалов формулы I, в которой a=1 и r=2, представленной следующей формулой VI:



Формула VI

в которой GpR, GpA, GpC, r и a имеют значения, определенные в п.1.

4. Композиция по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что сополиаминокислота, несущая карбоксилатные заряды и гидрофобные заряды, выбрана из сополиаминокислоты формулы VII, в которой $R_1=R'_1$ и $R_2=R'_2$, следующей формулы VIIa:



Формула VIIa

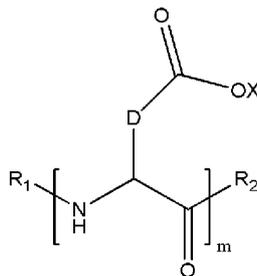
в которой

m, n, X, D и Hy имеют значения, определенные в п.1,

R'_1 представляет собой радикал, выбранный из группы, состоящей из H, C_2-C_{10} линейной ацильной группы, C_4-C_{10} разветвленной ацильной группы, бензила, концевое "аминокислотного" звена и пироглутамата,

R'_2 представляет собой $-NR'R''$ радикал, R' и R'' , которые являются одинаковыми или отличными друг от друга, выбраны из группы, состоящей из H, C_2-C_{10} линейных или разветвленных или циклических алкилов, бензила, и при этом указанный алкил R' и R'' вместе необязательно образуют одно или несколько насыщенных, ненасыщенных и/или ароматических углеродных колец и/или необязательно включают гетероатомы, выбранные из группы, состоящей из O, N и S.

5. Композиция по п.1, отличающаяся тем, что сополиаминокислота, несущая карбоксилатные заряды и гидрофобные радикалы, выбрана из сополиаминокислот формулы VII, в которой $n=0$, следующей формулы VIIb:



Формула VIIb

в которой m, X, D, R_1 и R_2 имеют значения, определенные в п.1, и по меньшей мере один R_1 или R_2 представляет собой гидрофобный радикал формулы I, V или VI.

6. Композиция по п.5, отличающаяся тем, что сополиаминокислота, несущая карбоксилатные заряды и гидрофобные радикалы, выбрана из сополиаминокислот формулы VII, в которой $n=0$, формулы VIIb, и R_1 или R_2 представляет собой гидрофобный радикал формулы I, V или VI.

7. Композиция по п.5, отличающаяся тем, что сополиаминокислота, несущая карбоксилатные заряды и гидрофобные радикалы, выбрана из сополиаминокислот формулы VIIb, в которой R_2 представляет собой гидрофобный радикал формулы I, V или VI, в которой $r=1$ и GpR имеет формулу II.

8. Композиция по любому из пп.1-7, отличающаяся тем, что R_1 представляет собой радикал, выбранный из группы, состоящей из C_2-C_{10} линейной ацильной группы, C_4-C_{10} разветвленной ацильной группы, бензила, концевое "аминокислотного" звена и пироглутамата.

9. Композиция по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что R_1 представляет собой радикал, выбранный из группы, состоящей из C_2-C_{10} линейной ацильной группы или C_4-C_{10} разветвленной ацильной группы.

10. Композиция по любому из пп.1-9, отличающаяся тем, что сополиаминокислота, несущая карбоксилатные заряды и гидрофобные радикалы, выбрана из сополиаминокислот формулы VII, VIIa или VIIb, в которой сополиаминокислота выбрана из сополиаминокислот, в которых группа D представляет

собой $-CH_2$ -группу (аспарагиновое звено).

11. Композиция по любому из пп.1-9, отличающаяся тем, что сополиаминокислота, несущая карбоксилатные заряды и гидрофобные радикалы, выбрана из сополиаминокислот формулы VII, VIIa или VIIb, в которой сополиаминокислота выбрана из сополиаминокислот, в которых группа D представляет собой $-CH_2-CH_2$ -группу (глутаминовое звено).

12. Композиция по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что базальный инсулин, имеющий значение изоэлектрической точки от 5,8 до 8,5, представляет собой инсулин гларгин.

13. Композиция по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что она включает от 40 до 500 Ед./мл базального инсулина, имеющего значение изоэлектрической точки от 5,8 до 8,5.

14. Композиция по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что концентрация сополиаминокислоты, несущей карбоксилатные заряды и гидрофобные радикалы, составляет не более 60 мг/мл.

15. Композиция по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что концентрация сополиаминокислоты, несущей карбоксилатные заряды и гидрофобные радикалы, составляет не более 40 мг/мл.

16. Композиция по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что концентрация сополиаминокислоты, несущей карбоксилатные заряды и гидрофобные радикалы, составляет не более 20 мг/мл.

17. Композиция по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что концентрация сополиаминокислоты, несущей карбоксилатные заряды и гидрофобные радикалы, составляет не более 10 мг/мл.

18. Композиция в форме инъекционного водного раствора, рН которого составляет от 6,0 до 8,0, включающего по меньшей мере

а) один базальный инсулин, имеющий значение изоэлектрической точки (pI) от 5,8 до 8,5,

б) прандиальный инсулин и

с) сополиаминокислоту формулы VII, несущую карбоксилатные заряды и по меньшей мере один гидрофобный радикал формулы I, как определено в п.1.

19. Композиция по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что прандиальный инсулин представляет собой человеческий инсулин.

20. Композиция по любому из пп.18, 19, отличающаяся тем, что она включает в общей сложности от 40 до 500 Ед./мл инсулина с комбинацией прандиального инсулина и базального инсулина, имеющего значение изоэлектрической точки от 5,8 до 8,5.

21. Композиция по любому из пп.18-20, отличающаяся тем, что количественные отношения между базальным инсулином, имеющим значение изоэлектрической точки от 5,8 до 8,5, и прандиальным инсулином выражены в процентах 25/75, 30/70, 40/60, 50/50, 60/40, 70/30, 80/20 или 90/10.

22. Композиция в форме инъекционного водного раствора, рН которого составляет от 6,0 до 8,0, включающего по меньшей мере

а) один базальный инсулин, имеющий значение изоэлектрической точки (pI) от 5,8 до 8,5,

б) желудочно-кишечный гормон и

с) сополиаминокислоту формулы VII, несущую карбоксилатные заряды и по меньшей мере один гидрофобный радикал формулы I, как определено в п.1.

23. Композиция в форме инъекционного водного раствора, рН которого составляет от 6,0 до 8,0, включающего по меньшей мере

а) один базальный инсулин, имеющий значение изоэлектрической точки (pI) от 5,8 до 8,5,

б) прандиальный инсулин и желудочно-кишечный гормон и

с) сополиаминокислоту формулы VII, несущую карбоксилатные заряды и по меньшей мере один гидрофобный радикал формулы I, как определено в п.1.

24. Композиция по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что желудочно-кишечный гормон выбран из группы, состоящей из эксенатида, лираглутида, ликсисенатида, албиглутида и дулаглутида и их фармацевтически приемлемых солей.

25. Композиция по любому из пп.22 или 23, отличающаяся тем, что желудочно-кишечный гормон представляет собой дулаглутид или его фармацевтически приемлемые соли.

26. Композиция по любому из пп.22 или 23, отличающаяся тем, что желудочно-кишечный гормон представляет собой эксенатид или его фармацевтически приемлемые соли.

27. Композиция по любому из пп.22 или 23, отличающаяся тем, что желудочно-кишечный гормон представляет собой лираглутид или его фармацевтически приемлемые соли.

28. Композиция по любому из пп.22 или 23, отличающаяся тем, что желудочно-кишечный гормон представляет собой ликсисенатид или его фармацевтически приемлемые соли.

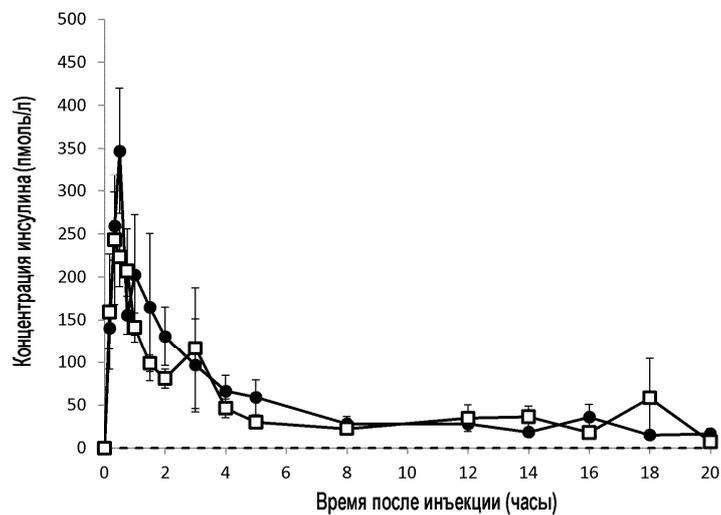
29. Композиция по любому из пп.22-27, отличающаяся тем, что концентрация желудочно-кишечного гормона находится в интервале от 0,01 до 10 мг/мл.

30. Композиция по любому из пп.23 или 25, отличающаяся тем, что она включает от 40 до 500 Ед./мл базального инсулина, имеющего значение изоэлектрической точки от 5,8 до 8,5, и от 0,05 до 0,5

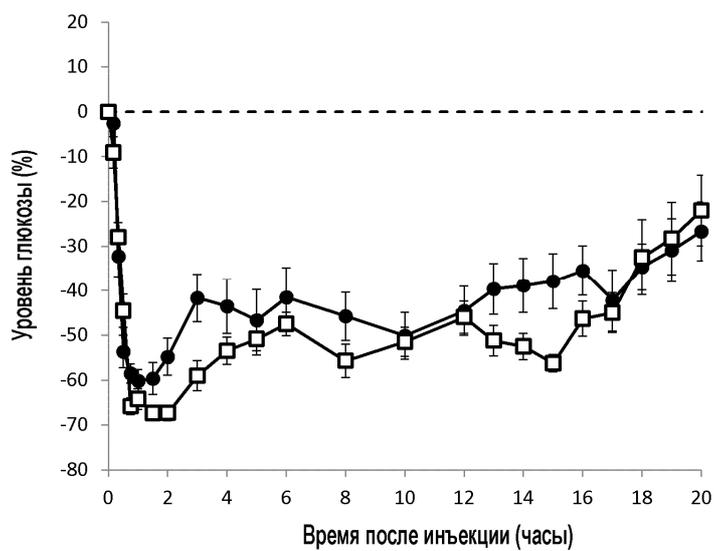
мг/мл эксенатида.

31. Композиция по любому из пп.23 или 26, отличающаяся тем, что она включает от 40 до 500 Ед./мл базального инсулина, имеющего значение изоэлектрической точки от 5,8 до 8,5, и от 1 до 10 мг/мл лираглутида.

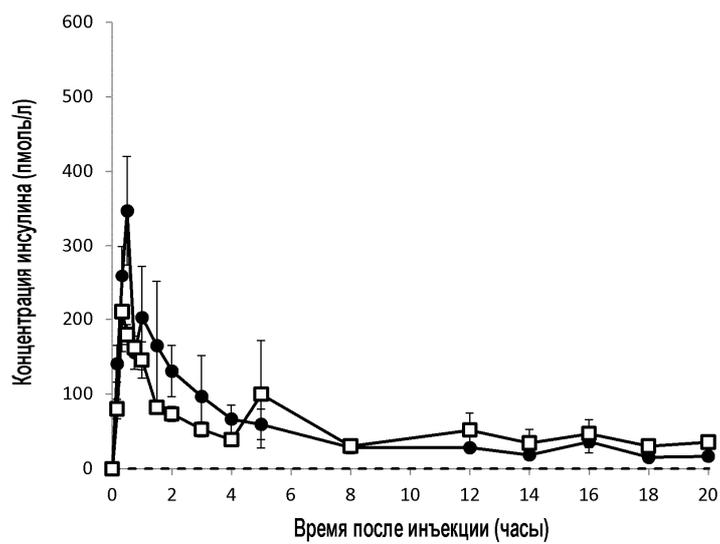
32. Композиция по любому из пп.23 или 27, отличающаяся тем, что она включает от 40 до 500 Ед./мл базального инсулина, имеющего значение изоэлектрической точки от 5,8 до 8,5, и от 0,01 до 1 мг/мл ликсисенатида.



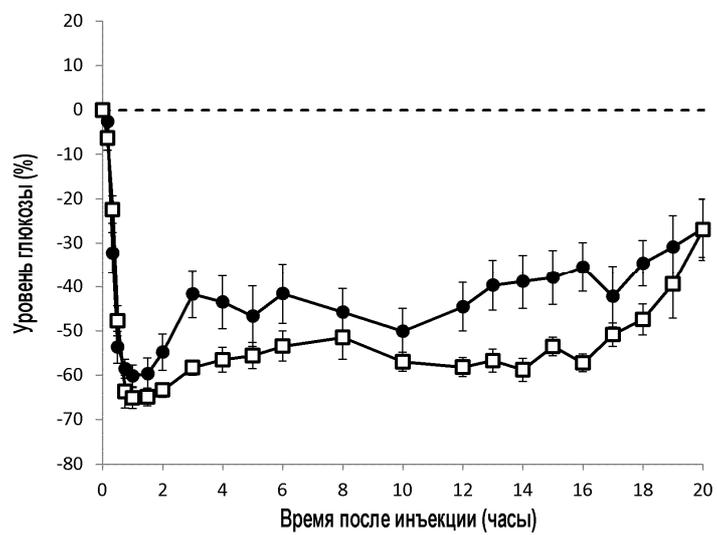
Фиг. 1



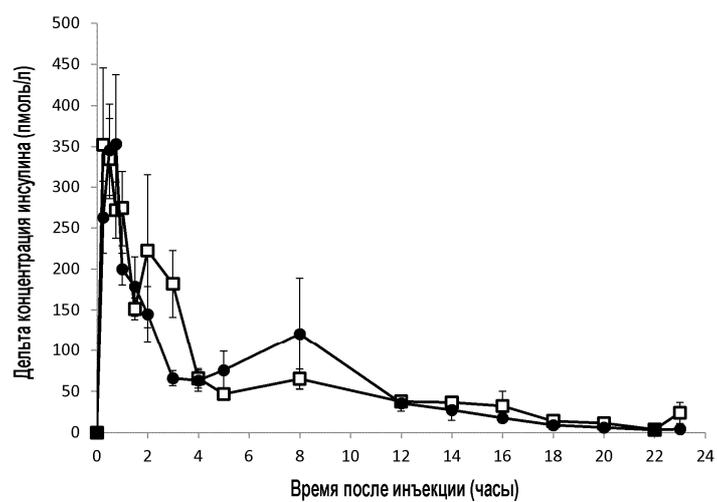
Фиг. 2



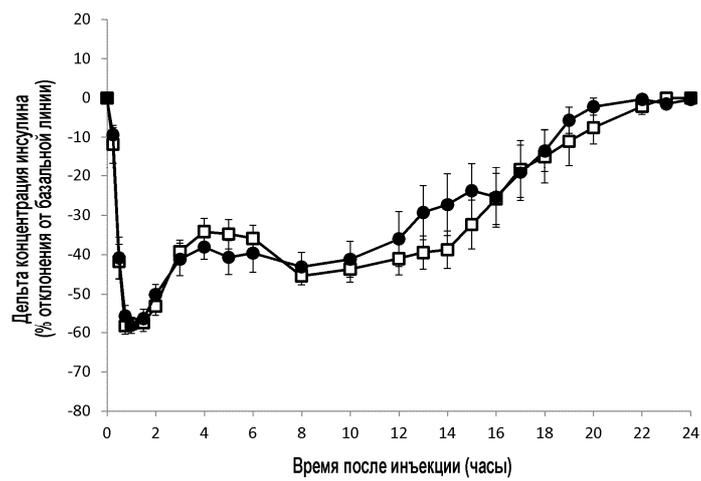
Фиг. 3



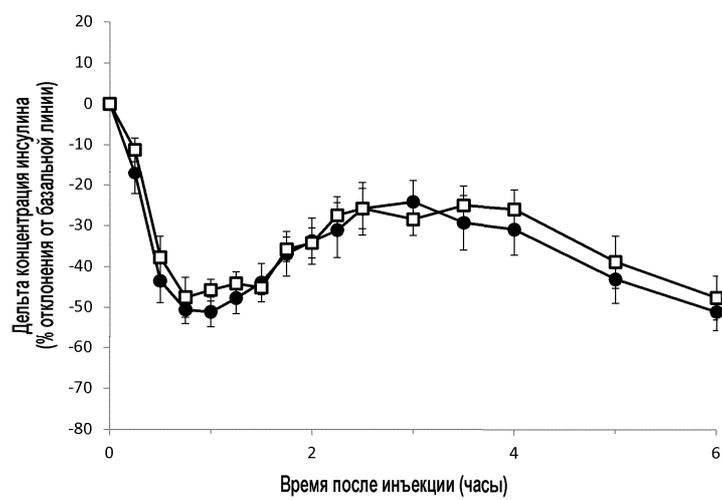
Фиг. 4



Фиг. 5



Фиг. 6



Фиг. 7

