

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202291293 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2022.07.08

(22) Дата подачи заявки
2020.11.06

(51) Int. Cl. A61K 9/00 (2006.01)
A61K 9/20 (2006.01)
A61K 47/10 (2017.01)
A61K 47/12 (2006.01)
A61K 47/18 (2017.01)
A61K 31/00 (2006.01)
A61P 9/00 (2006.01)

(54) ТВЕРДЫЕ КОМПОЗИЦИИ, СОДЕРЖАЩИЕ ИНГИБИТОР PCSK9 И СОЛЬ N-(8-(2-ГИДРОКСИБЕНЗОИЛ)АМИНО)КАПРИЛОВОЙ КИСЛОТЫ

(31) 19207564.6

(32) 2019.11.07

(33) EP

(86) PCT/EP2020/081244

(87) WO 2021/089761 2021.05.14

(71) Заявитель:
НОВО НОРДИСК А/С (DK)

(72) Изобретатель:
Бьеррегорд Симон, Рахбек Ульрик
Лютт, Сассене Филип Йонас, Вотер
Йоррит Ерон, Вегге Андреас,
Наелапяя Кайса (DK)

(74) Представитель:
Хмара М.В. (RU)

(57) Изобретение относится к фармацевтическим композициям, содержащим ингибитор PCSK9, например пептид EGF(A), и соль N-(8-(2-гидроксибензоил)амино)каприловой кислоты. Изобретение дополнительно относится к способам получения таких композиций и их применению в медицине.

A1

202291293

202291293

A1

ТВЕРДЫЕ КОМПОЗИЦИИ, СОДЕРЖАЩИЕ ИНГИБИТОР PCSK9 И СОЛЬ N-(8-(2-ГИДРОКСИБЕНЗОИЛ)АМИНО)КАПРИЛОВОЙ КИСЛОТЫ

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ, К КОТОРОЙ ОТНОСИТСЯ ИЗОБРЕТЕНИЕ

- 5 Настоящее изобретение относится к твердым композициям, содержащим ингибитор PCSK9 и соль N-(8-(2-гидроксibenзоил)амино)каприловой кислоты, способу их получения и их применению в медицине.

ВКЛЮЧЕНИЕ ПЕРЕЧНЯ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ ПОСРЕДСТВОМ ССЫЛКИ

- 10 Размер перечня последовательностей, озаглавленного «ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ», составляет 52 кб, он был создан 4^{го} ноября 2020 г. и включен в настоящий документ посредством ссылки.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

- 15 Высокие уровни холестерина ЛПНП (холестерина липопротеинов низкой плотности) и дислипидемия являются общепризнанными факторами, обуславливающими развитие сердечно-сосудистого заболевания.

- Статины утверждены в качестве средств для лечения дислипидемии 25 лет назад. Этот класс продемонстрировал существенное и стабильное снижение уровня
20 сердечно-сосудистых явлений с приемлемым профилем безопасности. Статин с наибольшим объемом продаж, аторвастатин (LipitorTM), был самым продаваемым лекарственным средством всех времен в мире, причем стоимость реализованной продукции с 1996 по 2012 год составила более 125 миллиардов долларов.

- Несмотря на доступность и повсеместное применение статинов и других
25 гиполипидемических средств, у многих пациентов не достигаются целевые уровни холестерина ЛПНП, и у них сохраняется высокий риск развития сердечно-сосудистого заболевания. PCSK9 (пропротеинконвертаза 9 субтилизин-кексинового типа) стимулирует деградацию LDL-R (рецептора ЛПНП) в печени, за счет чего снижается поверхностная экспрессия LDL-R в печени и, следовательно, клиренс частиц ЛПНП. И
30 напротив, блокирование PCSK9 повышает степень клиренса холестерина ЛПНП, а также других атерогенных липопротеинов. Действительно, рецепторы ЛПНП участвуют в клиренсе атерогенных липопротеинов, отличных от ЛПНП, например, липопротеинов промежуточной плотности и остаточных частиц. Повышенная степень клиренса липопротеинов промежуточной плотности и остаточных частиц может обеспечивать
35 терапевтическое благоприятное действие сверх действия, обеспечиваемого снижением ЛПНП.

Статины повышают экспрессию как LDL-R, так и PCSK9 за счет фактора транскрипции SREBP2. Повышенная экспрессия PCSK9 может уменьшать эффект статинов в отношении клиренса холестерина ЛПНП из сосудистого русла.

5 Эффективность статинов повышается путем ингибирования связывания PCSK9 с LDL-R и предотвращения деградации LDL-R за счет этого. В целом, ингибирование PCSK9 представляет новый подход к контролю уровня липидов.

Два антитела против PCSK9, алирокумаб/Praluent® и эволокумаб/Repatha®, утверждены в качестве средств для лечения высоких уровней холестерина ЛПНП. Их вводят с помощью подкожных инъекций объемом 1 мл один раз в две недели.

10 Последовательность EGF(A) (подобного эпидермальному фактору роста домена A) (40 аминокислот) в LDL-R (LDL-R-(293-332)) хорошо известна как сайт связывания PCSK9. Показано, что выделенный пептид EGF(A) дикого типа ингибирует связывание PCSK9 с LDL-R при IC_{50} в диапазоне небольших микромолярных концентраций (Biochemical and Biophysical Research Communications 375 (2008) 69–73).

15 Такая слабая эффективность мешала практическому фармацевтическому применению пептида EGF(A). Кроме того, ожидалось, что период полувыведения таких пептидов будет слишком коротким для их терапевтического применения.

В WO2012177741 и J. Mol. Biol. (2012) 422, 685-696 описаны аналоги EGF(A) и гибридные белки, полученные их присоединением к Fc.

20 Альтернативный пептид EGF(A) на основе ингибиторов PCSK9 с увеличенным периодом полувыведения описан в WO2017/121850. Для увеличения эксплуатационной пригодности таких лекарственных средств представляет интерес разработка подходящего состава для перорального применения. Пероральное введение терапевтических пептидов является сложным из-за быстрого разрушения

25 таких пептидов в желудочно-кишечном тракте.

Пероральная биодоступность пептидных соединений обычно ограничена, однако для семаглутида, описанного в WO 2012/080471 и WO 2013/139694, получены успешные результаты.

30

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Настоящее изобретение в одном аспекте относится к композиции, содержащей ингибитор PCSK9 и усилитель всасывания или средство доставки и гидротроп. Композиция согласно настоящему изобретению содержит сбалансированные количества средства для доставки и гидротропа. Предложенные композиции

демонстрируют ускоренное растворение, что обеспечивает возможность быстрого поглощения активного фармацевтического ингредиента.

В настоящем документе описаны фармацевтические композиции, демонстрирующие ускоренное растворение, и, таким образом, улучшенное воздействие ингибитора PCSK9 при пероральном введении через 15-30 минут после введения. Авторы настоящего изобретения обнаружили, что растворение и всасывание композиции ингибитора PCSK9 происходит быстрее при получении композиции с гидротропом.

Один аспект настоящего изобретения относится к фармацевтической композиции, содержащей

- i) ингибитор PCSK9,
- ii) соль N-(8-(2-гидроксibenзоил)амино)каприловой кислоты (NAC) и
- iii) гидротроп,

причем указанный гидротроп способен увеличивать растворимость SNAC по меньшей мере в 2 раза, например, в 5 раз, или, например, по меньшей мере в 10 раз.

В одном варианте реализации композиция содержит

- i) 0,1-100 мг ингибитора PCSK9 и
- ii) 50-600 мг соли N-(8-(2-гидроксibenзоил)амино)каприловой кислоты (NAC), например, натриевой соли NAC (SNAC) и
- iii) 20-400 мг никотинамида или резорцина и
- iv) 0-10 мг смазывающего вещества.

В дополнительных вариантах реализации композиция дополнительно содержит смазывающее вещество.

Дополнительный аспект относится к способу получения твердой фармацевтической композиции, включающему этапы;

- a) получения соли NAC и гидротропа,
- b) совместной обработки соли NAC и гидротропа a) и
- c) получения указанной твердой фармацевтической композиции с применением продукта b).

В дополнительном аспекте настоящее изобретение относится к композиции или грануле, указанной в настоящем документе, для применения в медицине,

например, для улучшения показателей липидного обмена и/или профилактики и/или лечения сердечно-сосудистых заболеваний.

В дополнительном аспекте настоящее изобретение относится к способу улучшения показателей липидного обмена и/или профилактики и/или лечения
 5 сердечно-сосудистых заболеваний, включающему введение композиции, указанной в настоящем документе, пациенту, нуждающемуся в этом, причем указанная композиция представляет собой таблетку, и ее вводят перорально.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ЧЕРТЕЖЕЙ

10 На фиг. 1 показано зависимое от дозы влияние никотинамида (А) и резорцина (В) на растворимость SNAC при pH 6.
 На фиг. 2 показано растворение тестируемых композиций 1, 3, 5, 6 и 7.

ОПИСАНИЕ

15 Один аспект настоящего изобретения относится к композиции, содержащей ингибитор PCSK9 и усилитель всасывания или средство доставки и гидротроп. Композиция может находиться в форме, подходящей для перорального введения, например, таблетки, саше или капсулы. В одном варианте реализации композиция представляет собой композицию для перорального применения или
 20 фармацевтическую композицию, например, фармацевтическую композицию для перорального применения.

Предложенные композиции демонстрируют ускоренное растворение и, таким образом, обеспечивают возможность быстрого поглощения активного фармацевтического ингредиента.

25

Ингибитор PCSK9

В настоящем документе термин «ингибитор PCSK9» относится к соединению, которое полностью или частично предотвращает связывание PCSK9 с рецептором липопротеинов низкой плотности (LDL-R) человека.

30 Пептид EGF(A) LDL-R(293-332) связывает PCSK9, но не считается ингибитором PCSK9 из-за относительно слабого связывания с PCSK9. Потенциал аналога EGF(A) ингибировать PCSK9 можно измерить с помощью твердофазного ИФА (например, в разделе «Анализ I» в настоящем документе), обеспечивающего представление кажущегося сродства аналога EGF(A) или соединения, содержащего
 35 аналог EGF(A), в виде K_i . Таким образом, низкое значение K_i характерно для

соединений с сильной ингибиторной функцией, описанных в WO2017/121850. На основе их способности ингибировать взаимодействие PCSK9 с LDL-R такие соединения называют ингибиторами PCSK9. На основе результатов, описанных в WO2017/121850, подходящий ингибитор PCSK9 характеризуется K_i менее 8 нМ, например, менее 5 нМ. В одном варианте реализации ингибитор PCSK9 характеризуется K_i приблизительно 0,5-8 нМ, или, например, 0,5-5 нМ, или, например, 1,0-4 нМ. Анализ, подходящий для определения K_i , описан в настоящем документе в разделе «Анализ I».

В одном варианте реализации ингибитор PCSK9 обладает функцией ингибирования, по меньшей мере сопоставимой с функцией EGF(A) 301L. В одном варианте реализации ингибитор PCSK9 обладает функцией ингибирования PCSK9, сопоставимой с функцией EGF(A) 301L. В заданном анализе, например, в разделе «Анализ I», описанном в настоящем документе, соотношение $\frac{K_i(\text{ингибитор PCSK9})}{K_i(\text{EGF(A)301L})}$ таким образом, предпочтительно составляет менее 2, например, менее 1,5, например, менее 1,2. В одном варианте реализации указанное соотношение составляет не более 1,0, например, не более 0,8, например, не более 0,7, например, не более 0,6 или, например, не более 0,5. В одном варианте реализации $\frac{K_i(\text{ингибитор PCSK9})}{K_i(\text{EGF(A)301L})}$ указанное соотношение составляет 2,0-0,2, например, 1,5-0,5 или, например, 1,2-0,8.

В одном варианте реализации, где ингибитор PCSK9 обладает функцией ингибирования, сопоставимой с функцией EGF (A) 301L. В одном варианте реализации ингибитор PCSK9 обладает улучшенной функцией ингибирования PCSK9 по сравнению с EGF (A) 301L, 309R, 310K. В заданном анализе, например, в разделе «Анализ I», описанном в настоящем документе, соотношение $\frac{K_i(\text{ингибитор PCSK9})}{K_i(\text{EGF(A)301L,309R,312E})}$ таким образом, предпочтительно составляет менее 2, например, менее 1,5, например, менее 1,2. В одном варианте реализации указанное соотношение составляет не более 1,0, например, не более 0,8, например, не более 0,7, например, не более 0,6 или, например, не более 0,5. В одном варианте реализации $\frac{K_i(\text{ингибитор PCSK9})}{K_i(\text{EGF(A)301L})}$ указанное соотношение составляет 2,0-0,2, например, 1,5-0,5 или, например, 1,2-0,8.

В одном варианте реализации ингибитор PCSK9 содержит аналог пептида EGF(A), дополнительно описанный ниже.

Соединение на основе EGF(A)

В настоящем документе термин «соединение на основе EGF(A)» используют для обозначения соединения, содержащего пептид EGF(A), включающий wt-LDL-R(293-332), заданный SEQ ID NO: 1, и его аналогов. Термин «соединение на основе EGF(A)» охватывает производные пептида EGF(A) и его аналог, т. е. аналоги пептида EGF(A) с заместителем, описанные в настоящем документе, являются типичным примером соединения на основе EGF(A).

Пептиды EGF(A)

Термин «пептид», например, в контексте настоящего изобретения, относится к соединению, содержащему ряд аминокислот, соединенных между собой амидными (или пептидными) связями. В конкретном варианте реализации пептид состоит из аминокислот, соединенных между собой пептидными связями.

Пептид согласно настоящему изобретению содержит по меньшей мере 35, например, 36, 37, 38, 39 или по меньшей мере 40 аминокислот. В конкретном варианте реализации пептид состоит из 36, например, 38 или 40 аминокислот. В дополнительном конкретном варианте реализации пептид состоит из 35, 36, 37, 38, 39 или 40 аминокислот.

В случае присутствия дополнительных аминокислот, называемых в настоящем документе как удлинение по N-концу и C-концу, пептид согласно настоящему изобретению может содержать до 140 аминокислот. В одном варианте реализации пептид согласно настоящему изобретению может содержать 41 аминокислотный остаток или состоять из них. В конкретном варианте реализации пептид содержит 40-140, 40-120, 40-100, 40-80, 40-60 или 40-50 аминокислот.

В настоящем документе термины «домен EGF(A) LDL-R», «LDL-R (293-332)», «нативный LDL-R (293-332)», «EGF(A) (293-332)», «EGF(A) дикого типа», «wt-EGF(A)» или «нативный EGF(A)» относятся к пептиду, состоящему из последовательности SEQ ID NO: 1.

SEQ ID NO: 1 представляет собой

Gly-Thr-Asn-Glu-Cys-Leu-Asp-Asn-Asn-Gly-Gly-Cys-Ser-His-Val-Cys-Asn-Asp-Leu-Lys-Ile-Gly-Tyr-Glu-Cys-Leu-Cys-Pro-Asp-Gly-Phe-Gln-Leu-Val-Ala-Gln-Arg-Arg-Cys-Glu.

В данной формуле нумерация аминокислотных остатков соответствует нумерации для домена EGF(A) LDL-R (LDL-R-(293-332)), где первый (N-концевой) аминокислотный остаток пронумерован или соответствует положению № 293, а последующие аминокислотные остатки, расположенные в направлении C-конца,

пронумерованы как 294, 295, 296 и т. д. до последнего (С-концевого) аминокислотного остатка, который в домене EGF(A) LDL-R представляет собой Glu с номером 332.

В перечне последовательностей нумерация осуществляется иначе, при этом первому аминокислотному остатку SEQ ID NO: 1 (Gly) присваивают № 1, а последнему (Glu) № 40. То же самое применимо к другим последовательностям из перечня последовательностей, т. е. N-концевой аминокислоте присваивают № 1, независимо от ее положения относительно 293Gly или заменяющего аминокислотного остатка в положении 293 по отношению к LDL-R(293-332). Однако в настоящем документе нумерация аминокислотных положений осуществляется относительно LDL-R(293-332), как объясняется выше.

Настоящее изобретение относится к аналогам пептида EGF(A), идентифицированного как SEQ ID NO: 1, и производным таких аналогов пептида EGF(A) на основе домена EGF(A) дикого типа LDLR, заданного SEQ ID NO: 1.

Термин «аналог», как правило, относится к пептиду, последовательность которого содержит одну или более из измененных аминокислот по сравнению с эталонной аминокислотной последовательностью.

Термины «аналог согласно настоящему изобретению», «аналог пептида согласно настоящему изобретению», «аналог LDL-R(293-332)», «аналог EGF(A)» или «аналог SEQ ID NO: 1», используемые в настоящем документе, могут относиться к пептиду, последовательность которого содержит аминокислотные замены, т. е. замещенные аминокислоты относительно последовательности с SEQ ID NO: 1. «Аналог» также может предусматривать удлинение последовательности аминокислот по N-концевому и/или С-концевому положениям и/или укорачивание по N-концевому и/или С-концевому положениям.

Уровень идентичности по отношению к SEQ ID NO: 1 можно рассчитать путем определения количества аминокислот, не измененных по сравнению с SEQ ID NO: 1. SEQ ID NO: 1 состоит из 40 аминокислотных остатков, и при внедрении трех аминокислотных замен уровень идентичности составляет $37/40\% = 92,5\%$. При изменении 5 аминокислотных остатков уровень идентичности составляет $87,5\%$. При удлинении пептида по N-концу или С-концу этот фрагмент обычно не включают в сравнение, в то время как делеция одной или более аминокислот укорачивает молекулу сравнения. Например, если в приведенных выше примерах удалена N-концевая аминокислота, то уровень идентичности слегка снижается до $36/39 \times 100\%$ и $34/39 \times 100\%$, соответственно. При рассмотрении идентичности последовательности остова производного пептида аминокислотный остаток заместителя, например,

остаток, к которому присоединен заместитель, также называемый аминокислотным остатком заместителя, может представлять собой аминокислоту дикого типа (дт), либо замещенную аминокислоту. Если аминокислотный остаток заместителя представляет собой остаток дикого типа, например, N-концевой Gly или 312K, то этот остаток

5 включают в расчет уровня идентичности, в то время как Lys в любом другом положении от 293 до 332 будет представлять собой аминокислотную замену, и ее не включают при расчете идентичности аминокислот по отношению к SEQ ID NO: 1.

В одном варианте реализации аналог пептида EGF(A) содержит 1-15 аминокислотных замен по сравнению с SEQ ID NO: 1. В одних вариантах реализации

10 аналог пептида EGF(A) содержит 1-10 аминокислотных замен по сравнению с SEQ ID NO: 1. В одних вариантах реализации аналог пептида EGF(A) содержит 1-8 аминокислотных замен по сравнению с SEQ ID NO: 1, например, 1-7, 1-6, 1-5 аминокислотных замен по сравнению с SEQ ID NO: 1. В конкретном варианте реализации в аналоге пептида EGF-1 могут присутствовать до 7 аминокислотных

15 замен, например, могут присутствовать до 6, 5, 4, 3, 2 или 1 аминокислотной замены.

В одном варианте реализации аналог согласно настоящему изобретению характеризуется по меньшей мере 75% идентичностью, например, 80%, например, 85, например, 90 или даже 95% идентичностью по отношению к SEQ ID NO: 1, что соответствует присутствию до 10, 8, 6, 4 и 2 аминокислотных замен относительно SEQ

20 ID NO: 1, соответственно, в случае отсутствия укорачивания.

Каждый из аналогов пептида согласно настоящему изобретению можно описать со ссылкой на i) номер аминокислотного остатка в нативном EGF(A) (LDL-R(293-332)), который соответствует измененному аминокислотному остатку (т. е. соответствующему положению в нативном LDL-R(293-332) EGF(A)), и на ii)

25 фактическое изменение.

Другими словами, аналоги пептида согласно настоящему изобретению можно описать со ссылкой на нативный пептид EGF(A) LDL-R(293-332), а именно на его вариант, в котором ряд аминокислотных остатков изменен по сравнению с нативным EGF(A) LDL-R(293-332) (SEQ ID NO: 1). Эти изменения могут независимо представлять

30 собой одну или более из аминокислотных замен.

Ниже приведены неограничивающие примеры подходящей номенклатуры аналогов.

Так, пептид EGF(A), включенный в производное согласно примеру 2 в WO2017/121850, обозначают как следующий аналог EGF(A) LDL-R (293-332): (301Leu,

35 309Arg) EGF(A) LDL-R(293-332), или (Leu301, Arg309)-LDL-R(293-332) EGF(A), или

(301L, 309R) LDL-R(293-332) или (L301, R309) LDL-R(293-332). Это означает, что при выравнивании этого аналога с нативным LDL-R(293-332) он содержит i) Leu в положении аналога, которое, согласно выравниванию, соответствует положению 301 в нативном LDL-R(293-332) EGF(A), ii) Arg в положении аналога, которое соответствует
5 положению 309 в нативном EGF(A) LDL-R(293-332).

Аналоги, «содержащие» определенные указанные изменения, могут содержать дополнительные изменения по сравнению с SEQ ID NO: 1.

В конкретном варианте реализации аналог «характеризуется» указанными изменениями или «содержит» указанные изменения. В конкретном варианте
10 реализации аналог «состоит из» изменений. Если термин «состоит» или «состоящий» используют в отношении аналога, например, аналог состоит или является состоящим из группы указанных аминокислотных замен, то следует понимать, что указанные аминокислотные замены являются единственными аминокислотными заменами в аналоге пептида. Напротив, аналог, «содержащий» группу указанных аминокислотных
15 замен, может содержать дополнительные замены.

Как видно из приведенных выше примеров, аминокислотные остатки можно идентифицировать по их полному названию, их однобуквенному коду и/или их трехбуквенному коду. Эти три способа полностью эквивалентны.

Выражения «положение, эквивалентное» или «соответствующее положение»
20 можно применять для описания характеристик сайта изменения в вариантной последовательности EGF(A) LDL-R(293-332) со ссылкой на эталонную последовательность нативного EGF(A) LDL-R(293-332) (SEQ ID NO: 1). Эквивалентные или соответствующие положения, а также количество изменений легко установить, например, посредством простой записи и визуального осмотра; и/или можно
25 использовать стандартную программу для выравнивания белков или пептидов, например, «Align», которая основана на алгоритме Нидлмана-Вунша.

В дальнейшем может оказаться, что химическая формула определена так, что обе последующие химические группы могут быть выбраны как «связь». В таких случаях две последующие химические группы фактически отсутствовали бы, и только
30 одна связь могла бы соединять окружающие химические группы.

Аминокислоты представляют собой молекулы, содержащие аминогруппу и карбоксильную группу и, необязательно, одну или более дополнительных групп, часто называемых боковой цепью.

Термин «аминокислота» включает протеиногенные (или природные)
35 аминокислоты (в число которых входят 20 стандартных аминокислот), а также

непротеиногенные (или неприродные) аминокислоты. Протеиногенными являются аминокислоты, которые в естественных условиях входят в состав белков. Стандартными аминокислотами являются аминокислоты, кодируемые генетическим кодом. Непротеиногенные аминокислоты либо не обнаруживаются в белках, либо не
 5 вырабатываются стандартным клеточным аппаратом (например, они могут подвергаться посттрансляционной модификации). Неограничивающими примерами непротеиногенных аминокислот являются Aib (α -аминоизомасляная кислота или 2-аминоизомасляная кислота), норлейцин, норвалин, а также D-изомеры протеиногенных аминокислот.

10 В дальнейшем следует понимать, что каждая аминокислота пептидов согласно настоящему изобретению, для которой не указан оптический изомер, означает L-изомер (если не указано иное).

Аналоги пептида EGF(A)

15 Один аспект настоящего изобретения относится к аналогу пептида, соответствующего SEQ ID NO: 1.

Аналоги пептида согласно настоящему изобретению можно определять как пептиды, содержащие аминокислотную последовательность, представляющую собой аналог SEQ ID NO: 1. Аналоги пептида согласно настоящему изобретению характеризуются
 20 способностью связываться с PCSK9. В конкретном варианте реализации аналоги согласно настоящему изобретению характеризуются улучшенной способностью связываться с PCSK9, например, по сравнению с нативным LDL-R(293-332) (нативным EGF-(A)) или с другими PCSK9-связывающими соединениями.

Аналоги пептида согласно настоящему изобретению характеризуются
 25 способностью ингибировать связывание PCSK9 с LDL-R. В одном варианте реализации пептид представляет собой ингибитор PCSK9. В одном варианте реализации пептид ингибирует связывание PCSK9 с рецептором липопротеинов низкой плотности (LDL-R) человека. Такое связывание можно оценивать с помощью анализа, описанного в разделе «Анализ IV» в настоящем документе. В одном варианте
 30 реализации аналоги пептида и производные пептида согласно настоящему изобретению представляют собой пептиды-ингибиторы PCSK9 или просто ингибиторы PCSK9. В одном варианте реализации настоящее изобретение относится к аналогу пептида, соответствующего SEQ ID NO: 1, причем указанный аналог пептида способен ингибировать связывание PCSK9 с рецептором липопротеинов низкой плотности (LDL-
 35 R) человека.

В одном варианте реализации аналоги пептида, соединения или ингибиторы PCSK9 согласно настоящему изобретению характеризуются улучшенной способностью связывать PCSK9 по сравнению с EGF(A) LDL-R(293-332) (SEQ ID 1).

5 Как описано выше, аналоги пептида EGF(A) или содержащие их соединения считаются ингибиторами PCSK9, если такие молекулы характеризуются способностью ингибировать связывание PCSK9 с LDL-R за счет наличия и улучшенной степени связывания с PCSK9 по сравнению с EGF(A) LDL-R(293-332) (SEQ ID 1).

10 В одном варианте реализации K_i аналогов пептида, соединений или ингибиторов PCSK9, описанных в настоящем документе, измеренная посредством конкурентного твердофазного ИФА связывания PCSK9-LDL-R (раздел «Анализ I»), составляет менее 10 нМ, например, менее 8 нМ или, например, менее 5 нМ.

15 Функциональные свойства аналогов EGF-(A) и их производных можно дополнительно характеризовать по их способности улучшать поглощение ЛПНП, например, как описано в WO2017/121850, примере D1.2. В одном варианте реализации аналоги пептида, соединения или ингибиторы PCSK9 согласно настоящему изобретению повышают степень поглощения ЛПНП в присутствии PCSK9. В одном варианте реализации аналоги пептида, соединения или ингибиторы PCSK9 согласно настоящему изобретению способны купировать или снижать степень снижения поглощения ЛПНП, опосредованного PCSK9.

20 В одном варианте реализации аналоги пептида, соединения или ингибиторы PCSK9 согласно настоящему изобретению характеризуются EC_{50} , измеренной в анализе поглощения ЛПНП и составляющей менее 1500 нМ, например, менее 1000 нМ или, например, менее 500 нМ.

25 В одном варианте реализации аналог пептида согласно настоящему изобретению можно определить как аналог, содержащий по меньшей мере 1 аминокислотную замену по сравнению с SEQ ID NO: 1 и, необязательно, удлинение последовательности. В одном варианте реализации аналог пептида согласно настоящему изобретению можно определить как аналог, содержащий до 15, до 14, до 13, до 12, до 11, до 10, до 9, до 8, до 7, до 6, до 5, до 4, до 3, до 2 или 1
30 аминокислотной замены по сравнению с SEQ ID NO: 1 и, необязательно, удлинение последовательности. Это означает, что пептид, содержащий удлинение последовательности по N-концу и/или по C-концу, может содержать до 15 аминокислотных замен в положениях от 293 до 332 в дополнение к указанному удлинению.

«Удлинение» аминокислотной последовательности также можно называть «увеличением последовательности». В одном варианте реализации аналоги пептида согласно настоящему изобретению содержат удлинение последовательности. Указанное удлинение может представлять собой добавление до 50 аминокислотных остатков в N-концевом положении SEQ ID NO: 1 или ее аналога, также называемое
 5 удлинением по N-концу, что означает, что пептид согласно настоящему изобретению может содержать до 50 аминокислот от положения 292 до, например, положения 242. В качестве дополнения или альтернативы, указанное удлинение может представлять собой добавление до 50 аминокислотных остатков в C-концевом положении SEQ ID
 10 NO: 1 или ее аналога, также называемое удлинением по C-концу, что означает, что пептид согласно настоящему изобретению может содержать до 50 аминокислот от положения 333 до, например, положения 383.

Указанное удлинение может присутствовать на N-конце и/или на C-конце. Длина указанного удлинения также может быть любой - от 0 до 50 аминокислот
 15 независимо с каждой стороны. В одном варианте реализации аналоги пептида согласно настоящему изобретению содержат удлинение по N-концу на 1-50, 1-40, 10-40, 1-30, 10-30, 20-30, 20-40, 20-50, 30-50, 1-10, 11-20, 21-30, 31-40 или 41-50 аминокислотных остатков или на 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42,
 20 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49 или 50 аминокислотных остатков. В качестве дополнения или альтернативы, аналоги пептида согласно настоящему изобретению могут содержать удлинение по C-концу на 1-50, 1-40, 10-40, 1-30, 10-30, 20-30, 20-40, 20-50, 30-50, 1-10, 11-20, 21-30, 31-40 или 41-50 аминокислотных остатков или на 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34,
 25 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49 или 50 аминокислотных остатков.

В некоторых случаях удлинение можно называть заменой, поскольку вносится новый аминокислотный остаток, например, 292A, 292Lys или 333Lys, приведенный в настоящем документе в качестве примера.

Аналог пептида EGF(A) может быть незначительно укорочен по N-концу и/или
 30 C-концу пептида EGF(A).

В одном варианте реализации пептид EGF(A) содержит по меньшей мере 35 аминокислотных остатков, например, 36 аминокислотных остатков, например, 37 аминокислотных остатков, например, 38 аминокислотных остатков или, например, 39 аминокислотных остатков. В одном варианте реализации аналог пептида EGF(A)
 35 укорочен по N-концу на 1-2 аминокислотных остатка. В одном варианте реализации

один или два N-концевых аминокислотных остатка удалены. В дополнительных вариантах реализации аналог пептида EGF(A) соответственно укорочен по N-концу путем удаления по меньшей мере или конкретно аминокислоты 293Gly.

В дополнительных вариантах реализации аналог пептида EGF(A) укорочен по N-концу путем удаления по меньшей мере или исключительно 293Gly-294Thr.

В одном варианте реализации аналог пептида EGF(A) укорочен по C-концу на 1 аминокислотный остаток. В одном варианте реализации удален одиночный C-концевой аминокислотный остаток. В одном варианте реализации аналог пептида укорочен по C-концу путем удаления конкретной аминокислоты 332Glu.

В качестве дополнения или альтернативы, аналог пептида согласно настоящему изобретению может содержать удлинение по меньшей мере на одну аминокислоту по N-концу или C-концу, например, в положении 292 и/или 333.

Аналог пептида EGF(A) согласно настоящему изобретению содержит замену аминокислотного остатка 301 с Asn на Leu, также описываемую как Asn301Leu, или просто 301Leu. В конкретном варианте реализации аналог пептида EGF(A) содержит замену 301Leu.

В качестве дополнения или альтернативы, аналог пептида EGF(A) содержит аминокислотные остатки 297Cys, 304Cys, 308Cys, 317Cys, 319Cys и 331Cys. Такие остатки Cys представляют собой остатки дикого типа, которые могут входить в состав дисульфидных мостиков, например, дисульфидных мостиков между 297Cys и 308Cys, между 304Cys и 317Cys и между 319Cys и 331Cys.

В одном варианте реализации аналог пептида EGF(A) содержит 301Leu и ряд дополнительных аминокислотных замен, описанных выше.

В одном варианте реализации аналог пептида EGF(A) содержит 301Leu, 310Asp и аминокислотную замену 312Lys.

В одном варианте реализации аналог пептида EGF(A) содержит 301Leu и 310Asp, причем указанный аналог пептида не содержит замены 299Asp на Glu, Val или His.

В одном варианте реализации аналог пептида EGF(A) содержит 301Leu, 309Arg и 312Glu.

В одном варианте реализации аналог пептида EGF(A) содержит 301Leu и 309Arg при условии, что указанный аналог пептида не содержит замены 310Asp на 310Lys или

В одном варианте реализации аналог пептида EGF(A) содержит 301Leu и 309Arg при условии, что указанный аналог пептида не содержит замены 299Asp на Glu, Val или His.

В дополнительном варианте реализации аналог пептида не содержит любой из замен D310K, D310N, D310Q, D310R и D310A или даже любой замены 310Asp.

В одном варианте реализации аналог пептида EGF(A) содержит один, два, три или все четыре указанных остатка дикого типа: 295Asn, 296Glu, 298Leu и 302Gly.

В одном варианте реализации аналог пептида EGF(A) содержит один, два, три, четыре или все пять указанных остатков дикого типа: 295Asn, 296Glu, 298Leu, 302Gly и 310Asp.

В одном варианте реализации указанный пептид содержит 295Asn.

В одном варианте реализации указанный аналог пептида содержит 296Glu. В одном варианте реализации указанный аналог пептида содержит 298Leu. В одном варианте реализации указанный аналог пептида содержит 302Gly. В одном варианте реализации указанный аналог пептида содержит 310Asp.

В одном варианте реализации указанный аналог пептида содержит две или более из 310Asp, 295Asn и 296Glu. В одном варианте реализации указанный аналог пептида содержит все три из 310Asp, 295Asn и 296Glu.

Аналог пептида EGF(A) может содержать дополнительные аминокислотные замены, описанные в настоящем документе. В одном варианте реализации аналог согласно настоящему изобретению может дополнительно содержать одну или более аминокислотных замен в положении(-иях), выбранных из группы положений: 293, 294, 296, 299, 300, 303, 305, 306, 309, 311, 312, 313, 314, 315, 316, 318, 320, 321, 322, 323, 324, 325, 326, 328, 329, 330 и 332.

В одном варианте реализации аналог согласно настоящему изобретению может дополнительно содержать одну или более аминокислотных замен в положении(-иях), выбранных из группы положений: 293, 294, 299, 300, 303, 305, 306, 309, 311, 312, 313, 314, 316, 318, 321, 322, 323, 324, 325, 326, 328, 329, 330, 331 и 332.

В одном варианте реализации аналог согласно настоящему изобретению может дополнительно содержать одну или более аминокислотных замен в положении(-иях), выбранных из 294, 299, 300, 303, 309, 312, 313, 314, 316, 318, 321, 322, 323, 324, 325, 326, 328, 329, 330 и 332.

В одном варианте реализации аналог согласно настоящему изобретению может дополнительно содержать одну или более аминокислотных замен в положении(-

иях), выбранных из 299, 300, 309, 313, 316, 318, 321, 322, 323, 324, 326, 328, 329, 330 и 332.

В одном варианте реализации аналог согласно настоящему изобретению может дополнительно содержать одну или более аминокислотных замен в положении(-
5 иях), выбранных из группы положений: 309, 312, 313, 321, 324, 328 и 332.

В дополнительном варианте реализации аналог пептида в определенных положениях содержит либо аминокислотный остаток дикого типа, либо другой остаток, т. е. аминокислотную замену, в дополнение к аминокислотным остаткам, указанным выше в настоящем документе.

10 В одном таком варианте реализации аналог согласно настоящему изобретению содержит аминокислотный остаток Gly(G) или Asn(N) в положении 293.

В одном таком варианте реализации аналог согласно настоящему изобретению содержит аминокислотный остаток Trp (W), Thr(T) или Gly(G) в положении 294.

15 В одном таком варианте реализации аналог согласно настоящему изобретению содержит аминокислотный остаток Asp(D), Gly(G), Pro(P), Arg(R), Lys(K), Ser(S), Thr(T), Asn(N), Gln(Q), Ala(A), Ile(I), Leu(L), Met(M), Phe(F), Tyr(Y) или Trp(W) в положении 299.

В одном таком варианте реализации аналог согласно настоящему изобретению содержит аминокислотный остаток Asp(D), Gly(G), Pro(P), Arg(R), Lys(K),
20 Ser(S), Thr(T), Asn(N), Gln(Q), Ala(A), Met(M), Phe(F), Tyr(Y) или Trp(W) в положении 299.

В одном таком варианте реализации аналог согласно настоящему изобретению содержит аминокислотный остаток Asp(D), Ser (S), Arg(R), Leu(L), Ala(A),
25 Lys(K) или Tyr(Y) в положении 299.

В одном таком варианте реализации аналог согласно настоящему изобретению содержит аминокислотный остаток Asp(D) или Ala(A) в положении 299.

В одном таком варианте реализации аналог согласно настоящему изобретению содержит аминокислотный остаток His(H) или Asn(N) в положении 300.

30 В одном таком варианте реализации аналог согласно настоящему изобретению содержит аминокислотный остаток Val(V), Ser(S), Thr (T) или Ile(I) в положении 307.

В одном таком варианте реализации аналог согласно настоящему изобретению содержит аминокислотный остаток Val(V) или Ile (I) в положении 307.

В одном таком варианте реализации аналог согласно настоящему изобретению содержит Ser (S), Thr (T) или Ile (I) в положении 307.

В одном таком варианте реализации аналог согласно настоящему изобретению содержит Ile (I) в положении 307.

5 В одном таком варианте реализации аналог согласно настоящему изобретению содержит аминокислотный остаток Asn(N), Glu(E), His (H), Arg (R), Ser (S) или Lys (K) в положении 309.

В одном таком варианте реализации аналог согласно настоящему изобретению содержит аминокислотный остаток Asn(N), Arg (R), Ser (S) или Lys (K) в
10 положении 309.

В одном таком варианте реализации аналог согласно настоящему изобретению содержит аминокислотный остаток Asn(N), Arg (R) или Ser (S) в положении 309.

В одном таком варианте реализации аналог согласно настоящему изобретению содержит аминокислотный остаток Asn(N) или Arg (R) в положении 309.
15

В одном таком варианте реализации аналог согласно настоящему изобретению содержит аминокислотный остаток Lys(K) или Arg (R) в положении 309.

Аналог пептида EGF(A) может содержать несколько аминокислотных замен, описанных в настоящем документе, например, одну или более аминокислотных замен, выбранных из группы: 299Ala, 307Ile и 321Glu.
20

В дополнительных вариантах реализации аналог пептида EGF(A) содержит аминокислотный остаток Asp(D), Lys (K) или Glu(E) в положении 321.

В дополнительных вариантах реализации аналог пептида EGF(A) содержит аминокислотный остаток Asp(D) или Glu(E) в положении 321.
25

В дополнительных вариантах реализации аналог пептида EGF(A) содержит аминокислотный остаток Glu(E) в положении 321.

В дополнительных вариантах реализации аналог пептида EGF(A) содержит аминокислотный остаток Gln(Q) или Gly(G) в положении 324.

В дополнительных вариантах реализации аналог пептида EGF(A) содержит аминокислотный остаток Arg (R) или His (H) в положении 329.
30

В дополнительных вариантах реализации аналог пептида EGF(A) не содержит замены 300Asn(N) на Pro(P).

Домен EGF(A) LDL-R включает лизин в положении 312, который можно использовать для замены, описанной в настоящем документе. В вариантах реализации, где присоединение заместителя к аминокислоте 312 нежелательно, 312Lys можно заменить на другую аминокислоту, описанную в настоящем документе.

5 В одном варианте реализации Lys в положении 312 заменен на аминокислотный остаток, выбранный из: Gly, Pro, Asp, Glu, Arg, His, Ser, Thr, Asn, Gln, Ala, Val, Ile, Leu, Met, Phe и Tyr. В одном варианте реализации Lys в положении 312 заменен на аминокислотный остаток, выбранный из: Gly, Asp, Glu, Ser, Thr, Asn, Ala, Val, Ile, Leu, Phe и Tyr. В одном варианте реализации Lys в положении 312 заменен на
10 аминокислотный остаток, выбранный из: Asp, Glu, Thr, Asn, Ile, Leu, Phe и Tyr. В одном варианте реализации 312Lys заменен на 312Asp, 312Glu, 312Thr, 312Asn, 312Ile или 312Phe. В одном варианте реализации 312Lys заменен на 312Glu, 312Asp, 312Gln или 312Arg.

В одном варианте реализации 312Lys заменен на 312Glu, 312Thr, 312Asn,
15 312Ile, 312Phe или 312Tyr. В одном варианте реализации 312Lys заменен на 312Glu, 312Asn или 312Ile.

В одном варианте реализации 312Lys заменен на 312Glu или 312Arg. В одном варианте реализации 312Lys заменен на 312Arg. В одном варианте реализации 312Lys заменен на 312Glu.

20 Для включения возможности присоединения заместителя в различных положениях (см. далее ниже) Lys можно вводить путем замены аминокислотного остатка дикого типа из SEQ ID NO: 1 или путем удлинения пептида с SEQ ID NO: 1, например, за счет 292Lys или 333Lys.

В случаях, когда желательно введение более чем одного заместителя, один из
25 них можно ввести за счет 312Lys, а второй -за счет Lys, введенного путем удлинения пептида или замены в SEQ ID NO: 1.

В одном варианте реализации аналог пептида с SEQ ID NO: 1 содержит по меньшей мере один остаток Lys в положении, выбранном из группы: 292Lys, 293Lys, 294Lys, 296Lys, 299Lys, 300Lys, 303Lys, 305Lys, 306Lys, 309Lys, 311Lys, 312Lys,
30 313Lys, 314Lys, 315Lys, 316Lys, 318Lys, 320Lys, 321Lys, 322Lys, 323Lys, 324Lys, 325Lys, 326Lys, 327Lys, 328Lys, 329Lys, 330Lys, 332Lys и 333Lys.

В одном варианте реализации аналог пептида с SEQ ID NO: 1 содержит по меньшей мере один остаток Lys в положении, выбранном из группы: 292Lys, 293Lys, 294Lys, 299Lys, 300Lys, 303Lys, 305Lys, 306Lys, 309Lys, 311Lys, 312Lys, 313Lys,

314Lys, 315Lys, 316Lys, 318Lys, 320Lys, 321Lys, 322Lys, 323Lys, 324Lys, 325Lys, 326Lys, 327Lys, 328Lys, 329Lys, 330Lys, 332Lys и 333Lys.

В одном варианте реализации аналог пептида с SEQ ID NO: 1 содержит по меньшей мере один остаток Lys в положении, выбранном из группы: 292Lys, 293Lys, 294Lys, 300Lys, 303Lys, 305Lys, 306Lys, 309Lys, 311Lys, 312Lys, 313Lys, 314Lys, 316Lys, 318Lys, 321Lys, 322Lys, 323Lys, 324Lys, 325Lys, 326Lys, 327Lys, 328Lys, 329Lys, 330Lys, 332Lys и 333Lys.

В одном варианте реализации аналог пептида с SEQ ID NO: 1 содержит по меньшей мере один остаток Lys в положении, выбранном из группы: 292Lys, 293Lys, 294Lys, 300Lys, 303Lys, 305Lys, 306Lys, 311Lys, 312Lys, 313Lys, 314Lys, 316Lys, 318Lys, 322Lys, 323Lys, 324Lys, 325Lys, 326Lys, 327Lys, 328Lys, 329Lys, 330Lys, 332Lys и 333Lys.

В одном варианте реализации аналог пептида с SEQ ID NO: 1 содержит по меньшей мере один остаток Lys в положении, выбранном из группы: 292Lys, 293Lys, 294Lys, 300Lys, 303Lys, 305Lys, 306Lys, 311Lys, 313Lys, 314Lys, 316Lys, 318Lys, 322Lys, 323Lys, 324Lys, 325Lys, 326Lys, 327Lys, 328Lys, 329Lys, 330Lys, 332Lys и 333Lys.

В качестве дополнения или альтернативы аналог пептида согласно настоящему изобретению содержит по меньшей мере одну аминокислотную замену, выбранную из 292Lys, 293Lys, 294Lys, 295Lys, 296Lys, 298Lys, 299Lys, 301Lys, 302Lys, 303Lys, 305Lys, 306Lys, 307Lys, 309Lys, 310Lys, 311Lys, 313Lys, 314Lys, 315Lys, 316Lys, 318Lys, 320Lys, 321Lys, 322Lys, 323Lys, 324Lys, 325Lys, 326Lys, 327Lys, 328Lys, 329Lys, 330Lys, 332Lys и 333Lys.

В дополнительном варианте реализации аналог пептида EGF(A) согласно настоящему изобретению содержит по меньшей мере одну аминокислотную замену, выбранную из 292Lys, 293Lys, 294Lys, 295Lys, 296Lys, 298Lys, 299Lys, 302Lys, 303Lys, 305Lys, 306Lys, 307Lys, 309Lys, 311Lys, 313Lys, 314Lys, 315Lys, 316Lys, 318Lys, 320Lys, 321Lys, 322Lys, 323Lys, 324Lys, 325Lys, 326Lys, 327Lys, 328Lys, 329Lys, 330Lys, 332Lys и 333Lys.

В дополнительном варианте реализации аналог пептида EGF(A) согласно настоящему изобретению содержит по меньшей мере одну аминокислотную замену, выбранную из 292Lys, 293Lys, 294Lys, 295Lys, 296Lys, 298Lys, 299Lys, 303Lys, 305Lys, 306Lys, 309Lys, 311Lys, 313Lys, 314Lys, 315Lys, 316Lys, 318Lys, 320Lys, 321Lys, 322Lys, 323Lys, 324Lys, 325Lys, 326Lys, 327Lys, 328Lys, 329Lys, 330Lys, 332Lys и 333Lys.

В дополнительном варианте реализации аналог пептида EGF(A) согласно настоящему изобретению содержит по меньшей мере одну аминокислотную замену, выбранную из 292Lys, 293Lys, 294Lys, 295Lys, 296Lys, 299Lys, 303Lys, 305Lys, 306Lys, 309Lys, 311Lys, 313Lys, 314Lys, 315Lys, 316Lys, 318Lys, 320Lys, 321Lys, 322Lys, 323Lys, 324Lys, 325Lys, 326Lys, 327Lys, 328Lys, 329Lys, 330Lys, 332Lys и 333Lys.

В дополнительном варианте реализации подобный пептиду EGF(A) согласно настоящему изобретению содержит по меньшей мере одну аминокислотную замену, выбранную из 292Lys, 293Lys, 294Lys, 296Lys, 299Lys, 303Lys, 305Lys, 306Lys, 309Lys, 311Lys, 313Lys, 314Lys, 315Lys, 316Lys, 318Lys, 320Lys, 321Lys, 322Lys, 323Lys, 324Lys, 325Lys, 326Lys, 327Lys, 328Lys, 329Lys, 330Lys, 332Lys и 333Lys.

В дополнительном варианте реализации аналог пептида EGF(A) согласно настоящему изобретению содержит по меньшей мере одну аминокислотную замену, выбранную из 292Lys, 293Lys, 294Lys, 299Lys, 303Lys, 305Lys, 306Lys, 309Lys, 311Lys, 313Lys, 314Lys, 315Lys, 316Lys, 318Lys, 320Lys, 321Lys, 322Lys, 323Lys, 324Lys, 325Lys, 326Lys, 327Lys, 328Lys, 329Lys, 330Lys, 332Lys и 333Lys.

В дополнительном варианте реализации аналог пептида EGF(A) согласно настоящему изобретению содержит по меньшей мере одну аминокислотную замену, выбранную из 292Lys, 293Lys, 294Lys, 299Lys, 303Lys, 305Lys, 306Lys, 309Lys, 311Lys, 313Lys, 314Lys, 315Lys, 316Lys, 318Lys, 320Lys, 321Lys, 322Lys, 323Lys, 324Lys, 325Lys, 326Lys, 327Lys, 328Lys, 329Lys, 330Lys, 332Lys и 333Lys.

В дополнительном варианте реализации аналог пептида EGF(A) согласно настоящему изобретению содержит по меньшей мере одну аминокислотную замену, выбранную из 292Lys, 293Lys, 294Lys, 299Lys, 303Lys, 305Lys, 306Lys, 310Lys, 311Lys, 313Lys, 314Lys, 315Lys, 316Lys, 318Lys, 320Lys, 321Lys, 322Lys, 323Lys, 324Lys, 325Lys, 326Lys, 327Lys, 328Lys, 329Lys, 330Lys, 332Lys и 333Lys.

В дополнительном варианте реализации аналог пептида EGF(A) согласно настоящему изобретению содержит по меньшей мере одну аминокислотную замену, выбранную из 292Lys, 293Lys, 294Lys, 299Lys, 303Lys, 305Lys, 306Lys, 309Lys, 310Lys, 311Lys, 313Lys, 314Lys, 315Lys, 316Lys, 318Lys, 321Lys, 322Lys, 323Lys, 324Lys, 325Lys, 326Lys, 327Lys, 328Lys, 329Lys, 330Lys, 332Lys и 333Lys.

В дополнительном варианте реализации аналог пептида EGF(A) согласно настоящему изобретению содержит по меньшей мере одну аминокислотную замену, выбранную из 292Lys, 293Lys, 294Lys, 303Lys, 305Lys, 306Lys, 310Lys, 311Lys, 313Lys, 314Lys, 315Lys, 316Lys, 318Lys, 321Lys, 322Lys, 323Lys, 324Lys, 325Lys, 326Lys, 327Lys, 328Lys, 329Lys, 330Lys, 332Lys и 333Lys. В одном варианте реализации

аналоги пептида согласно настоящему изобретению не содержат какую-либо из следующих замен: 296K, 298K, 301K, 302K и 307K.

В одном варианте реализации аналоги пептида согласно настоящему изобретению не содержат какую-либо из следующих замен: 296K, 298K, 301K, 302K, 307K и 310K.

В одном варианте реализации аналоги пептида согласно настоящему изобретению не содержат какую-либо из следующих замен: 296K, 298K, 301K, 302K, 307 и 295K.

В одном варианте реализации аналоги пептида согласно настоящему изобретению не содержат какую-либо из следующих замен: 296K, 298K, 301K, 302K, 307K и 295D.

В конкретном варианте реализации аналог пептида согласно настоящему изобретению содержит 1 или 2 таких замен Lys.

В качестве дополнения или альтернативы, пептид согласно настоящему изобретению может содержать 312Lys.

В одном варианте реализации аналог пептида согласно настоящему изобретению содержит два остатка Lys. В одном варианте реализации аналог пептида согласно настоящему изобретению содержит два остатка Lys, выбранных из пар, состоящих из:

- | | |
|--------------------|---------------------|
| i. 293K и 294K, | xiv. 313K и 321K, |
| ii. 293K и 312K, | xv. 313K и 324K, |
| iii. 293K и 333K, | xvi. 313K и 328K, |
| iv. 309K и 313K, | xvii. 313K и 332K, |
| v. 309K и 324K, | xviii. 313K и 333K, |
| vi. 309K и 328K, | xix. 314K и 333K, |
| vii. 309K и 332K, | xx. 321K и 332K, |
| viii. 309K и 333K, | xxi. 321K и 333K, |
| ix. 311K и 313K, | xxii. 324K и 333K, |
| x. 312K и 333K, | xxiii. 324K и 328K, |
| xi. 312K и 313K, | xxiv. 328K и 333K, |
| xii. 312K и 314K, | xxv. 330K и 333K и |
| xiii. 313K и 314K, | xxvi. 332K и 333K. |

20

Как видно выше в настоящем документе, в настоящем изобретении предложены различные аналоги пептида. В дополнительном варианте реализации

аналог пептида EGF(A) согласно настоящему изобретению содержит по меньшей мере две аминокислотные замены, идентифицированные в любой из групп i-xxiv, показанных ниже, по сравнению с SEQ ID NO: 1.

В еще одном дополнительном варианте реализации аналог пептида EGF(A) согласно настоящему изобретению состоит из аминокислотных замен, идентифицированных в любой из групп i-xxiv, показанных ниже.

В дополнительном варианте реализации аналог пептида EGF(A) согласно настоящему изобретению содержит по меньшей мере две аминокислотные замены, идентифицированные в любой из групп i-xvi, показанных ниже, по сравнению с SEQ ID NO: 1.

В еще одном дополнительном варианте реализации аналог пептида EGF(A) согласно настоящему изобретению состоит из аминокислотных замен, идентифицированных в любой из групп i-xvi, показанных ниже.

- i. 301Leu и 309Arg,
- ii. 301Leu, 309Arg, 312Glu
- iii. 301Leu, 307Ile и 309Arg
- iv. 301Leu, 307Ile, 309Arg и 312Glu,
- v. 301Leu, 309Arg и 321Glu
- vi. 301Leu, 309Arg, 321Glu и 312Glu
- vii. 301Leu, 307Ile, 309Arg и 299Ala
- viii. 301Leu, 307Ile, 309Arg, 299Ala и 312Glu
- ix. 301Leu, 309Arg и по меньшей мере одна замена Lys
- x. 301Leu, 309Arg, 312Glu и по меньшей мере одна замена Lys
- xi. 301Leu, 307Ile, и 309Arg, и по меньшей мере одна замена Lys
- xii. 301Leu, 307Ile, 309Arg, 312Glu и по меньшей мере одна замена Lys
- xiii. 301Leu, 309Arg, 321Glu и по меньшей мере одна замена Lys
- xiv. 301Leu, 309Arg, 321Glu, 312Glu и по меньшей мере одна замена Lys
- xv. 301Leu, 307Ile, 309Arg, 299Ala и по меньшей мере одна замена Lys или
- xvi. 301Leu, 307Ile, 309Arg, 299Ala, 312Glu и по меньшей мере одна замена Lys.

В дополнительном варианте реализации аналог пептида EGF(A) согласно настоящему изобретению содержит по меньшей мере две аминокислотные замены, идентифицированные в любой из групп xvii-xx, показанных ниже, по сравнению с SEQ ID NO: 1.

В еще одном дополнительном варианте реализации аналог пептида EGF(A) согласно настоящему изобретению состоит из аминокислотных замен, идентифицированных в любой из групп xvii-xx, показанных ниже.

- xvii. 301Leu и 309Lys
- 5 xviii. 301Leu, 309Lys и 312Glu
- xix. 301Leu, 309Lys и по меньшей мере одна дополнительная замена Lys
- xx. 301Leu, 309Lys, 312Glu и по меньшей мере одна дополнительная замена Lys.

- 10 В дополнительном варианте реализации аналог пептида EGF(A) согласно настоящему изобретению содержит по меньшей мере две аминокислотные замены, идентифицированные в любой из групп xxi-xxiv, показанных ниже, по сравнению с SEQ ID NO: 1.

- 15 В еще одном дополнительном варианте реализации аналог пептида EGF(A) согласно настоящему изобретению состоит из аминокислотной замены, идентифицированной в любой из групп xxi-xxiv, показанных ниже.

- xxi. 301Leu и 307Ile,
- xxii. 301Leu, 307Ile и 312Glu
- xxiii. 301Leu, 307Ile и по меньшей мере одна дополнительная замена Lys и
- 20 xxiv. 301Leu, 307Ile, 312Glu и по меньшей мере одна дополнительная замена Lys.

- 25 В дополнительных конкретных вариантах реализации аналог пептида или аналог пептида соединений согласно настоящему изобретению содержит или состоит из любой из аминокислотных последовательностей, идентифицированных как SEQ ID 1-114.

В одном варианте реализации аналог пептида содержит или состоит из любой из аминокислотных последовательностей, идентифицированных как SEQ ID NO: 2-114.

- 30 В одном варианте реализации аналог пептида содержит или состоит из любой из аминокислотных последовательностей, идентифицированных как SEQ ID NO: 2-47 и 49-114.

В одном варианте реализации аналог пептида содержит или состоит из любой из аминокислотных последовательностей, идентифицированных как любая из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 2-44, 46, 47 и 49-1-114.

В одном варианте реализации аналог пептида содержит или состоит из любой из аминокислотных последовательностей, идентифицированных как SEQ ID NO: 2-44, 46, 47, 49-53, 55, 58-114.

5 В одном варианте реализации аналог пептида содержит или состоит из любой из аминокислотных последовательностей, идентифицированных как SEQ ID NO: 2-4, 6-44, 46, 47, 49-53, 55, 58-114.

В одном варианте реализации аналог пептида содержит или состоит из любой из аминокислотных последовательностей, идентифицированных как SEQ ID NO: 2-4, 6-19, 21-44, 46, 47, 49-53, 55, 58-114.

10 В одном варианте реализации аналог пептида содержит или состоит из любой из аминокислотных последовательностей, идентифицированных как SEQ ID NO: 2-4, 6-19, 21-44, 46, 47, 49-53, 55, 58-114.

В одном варианте реализации аналог пептида содержит или состоит из любой из аминокислотных последовательностей, идентифицированных как SEQ ID NO: 2-114.

15 В одном варианте реализации аналог пептида содержит или состоит из любой из аминокислотных последовательностей, идентифицированных как SEQ ID NO: 2-47 и 49-114.

В одном варианте реализации аналог пептида содержит или состоит из любой из аминокислотных последовательностей, идентифицированных как любая из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 2-44, 46, 47 и 49-1-114.

20 В одном варианте реализации аналог пептида содержит или состоит из любой из аминокислотных последовательностей, идентифицированных как SEQ ID NO: 3-45, 47-55, 58-114.

В одном варианте реализации аналог пептида содержит или состоит из любой из аминокислотных последовательностей, идентифицированных как SEQ ID NO: 3-4, 6-45, 47-53, 55, 58-114.

25 В одном варианте реализации аналог пептида содержит или состоит из любой из аминокислотных последовательностей, идентифицированных как SEQ ID NO: 3-4, 6-19, 21-45, 47, 49-53, 55, 58-114.

30 В одном варианте реализации аналог пептида содержит или состоит из любой из аминокислотных последовательностей, идентифицированных как SEQ ID NO: 3-4, 6-19, 21-45, 47, 49-53, 55, 58-114.

В одном варианте реализации аналог пептида содержит или состоит из любой из аминокислотных последовательностей, идентифицированных как SEQ ID NO: 3-4, 6-19, 21-45, 47, 49-53, 55, 58-62, 64-114.

35

В одном варианте реализации аналог пептида содержит или состоит из любой из аминокислотных последовательностей, идентифицированных как SEQ ID NO: 3, 6 и 81.

5 В одном варианте реализации аналог пептида содержит или состоит из любой из аминокислотных последовательностей, идентифицированных как SEQ ID NO: 4, 8, 11, 15-19, 21, 22, 24, 31-42, 44, 51-53, 70-73, 77-78, 91, 94, 95, 97-102, 104-109, 112-114.

В одном варианте реализации аналог пептида содержит или состоит из любой из аминокислотных последовательностей, идентифицированных как SEQ ID NO: 4, 6, 32, 72, 76, 78, 98, 104 и 105.

10

Промежуточные соединения

Настоящее изобретение также относится к аналогам пептида, которые можно включить в производные согласно настоящему изобретению. Такие аналоги пептида можно называть «промежуточным продуктом» или «промежуточным соединением».

15 Они находятся в форме новых аналогов LDL-R(293-332), которые, как описано выше, можно включать в производные EGF(A) согласно настоящему изобретению, дополнительно описанные ниже. Такие аналоги пептида определены в вышеприведенном разделе.

В частности, аналог пептида или промежуточный пептид согласно настоящему изобретению можно называть аналогом пептида с последовательностью SEQ ID NO: 1.

20

В одном аспекте настоящее изобретение относится к аналогу пептида EGF(A), описанному в настоящем документе, для применения в производстве соединения на основе EGF(A), например, производного EGF(A).

Другие особенности, определения, аспекты и варианты реализации, описанные в настоящем документе в связи с аналогами пептида согласно настоящему изобретению, также могут быть применимы к промежуточным продуктам согласно настоящему изобретению.

25

Производные EGF(A)

30 Аналоги пептида согласно настоящему изобретению могут дополнительно содержать заместитель и, таким образом, становиться производными соединениями.

Термин «производное», как правило, означает соединение, которое можно получать из нативного пептида или его аналога посредством химической модификации, в частности, путем ковалентного присоединения одного или двух заместителей.

35

Термины «производное согласно настоящему изобретению», «производное EGF(A)», «производное EGF(A)» или «производное LDL-R(293-332)» или «производное аналога LDL-R(293-332)», используемые в настоящем документе, относятся к пептиду, к которому присоединены один или два заместителя. Каждый из них, также или в качестве альтернативы, можно называть боковой цепью. Другими словами, «производное согласно настоящему изобретению» содержит пептид, т. е. пептидную последовательность, которая в настоящем документе представляет собой аналог пептида EGF(A), и по меньшей мере один, в том числе, например, один или два заместителя.

Термин «заместитель» используют для описания фрагмента, ковалентно связанного с пептидом EGF(A), например, заместитель представляет собой фрагмент, не являющийся частью самого пептида EGF(A).

В одном варианте реализации один или более заместителей присоединен/присоединены к атому азота в аналоге пептида EGF(A). В одном варианте реализации один или более заместителей присоединен/присоединены к аминогруппе в аналоге пептида EGF(A). В одном варианте реализации один или более заместителей присоединен/присоединены к N-концевой аминокислоте аналога пептида EGF(A) или к остатку Lys аналога пептида EGF(A). В одном варианте реализации один или более заместителей присоединен/присоединены к N-концевой аминокислоте аналога пептида EGF(A). В одном варианте реализации один или более заместителей присоединен/присоединены к атому азота в альфа-положении N-концевого аминокислотного остатка аналога пептида EGF(A). В одном варианте реализации один или более заместителей присоединен/присоединены к остатку Lys в аналоге пептида EGF(A). В одном варианте реализации один или более заместителей присоединен/присоединены к атому азота в эпсилон-положении остатка Lys в аналоге пептида EGF(A).

Примеры заместителей разнообразны и дополнительно описаны ниже.

В одном аспекте настоящее изобретение относится к производному EGF(A), содержащему аналог пептида EGF(A) и по меньшей мере один заместитель. В одном варианте реализации заместитель производного содержит по меньшей мере одну группу жирной кислоты. Для всех вариантов реализации термин «производное EGF(A)» также охватывает любую его фармацевтически приемлемую соль, амид или сложный эфир.

Заместители

Заместитель представляет собой фрагмент, присоединенный к аналогу пептида EGF(A). В соответствии с настоящим изобретением фрагмент, например заместитель, предпочтительно не оказывает эффекта или оказывает минимальный эффект на функциональные свойства пептида EGF(A), при этом добавляя другие полезные свойства, например, более длительный период полувыведения и/или улучшенное воздействие после перорального введения.

Отсюда следует, что производные, а также аналоги согласно настоящему изобретению, описанные выше, характеризуются способностью связываться с PCSK9. Такое связывание с PCSK9 ингибирует связывание PCSK9 с LDL-R, тем самым предотвращая деградацию LDL-R и, следовательно, увеличивая степень клиренса холестерина ЛПНП и атерогенных липопротеинов.

В конкретном варианте реализации производные и аналоги согласно настоящему изобретению обладают улучшенной способностью связываться с PCSK9, например, по сравнению с нативным LDL-R(293-332) или с другими PCSK9-связывающими соединениями.. Аналоги и производные согласно настоящему изобретению можно, например, тестировать на предмет их способности ингибировать связывание PCSK9 с LDL-R с использованием анализа, описанного в разделе «Анализ I» в настоящем документе.

В одном варианте реализации заместитель предназначен для улучшения функциональных свойств пептидов.

В одном варианте реализации заместитель увеличивает период полувыведения аналога пептида таким образом, что период полувыведения из плазмы крови у производного, содержащего пептидный остов и заместитель, увеличен по сравнению с периодом полувыведения остова. Способы определения периода полувыведения различных соединений хорошо известны в данной области техники, и их примеры у мышей и собак приведены в WO2017/121850 (разделы D2 и D5).

В одном варианте реализации производное EGF(A) согласно настоящему изобретению характеризуется периодом полувыведения, превышающим 4 часа.

В одном варианте реализации производное EGF(A) согласно настоящему изобретению характеризуется периодом полувыведения у мышей, превышающим 6 часов, например, превышающим 8 часов или, например, превышающим 10 часов, согласно измерению после подкожного либо внутривенного введения.

В одном варианте реализации производное EGF(A) согласно настоящему изобретению характеризуется периодом полувыведения у собак, превышающим 25 часов.

5 В одном варианте реализации производное EGF(A) согласно настоящему изобретению характеризуется периодом полувыведения у собак, превышающим 50 часов, например, превышающим 100 часов или, например, превышающим 150 часов.

В одном варианте реализации заместитель, продлевающий период полувыведения, представляет собой белковый фрагмент. В таком дополнительном варианте реализации белковый фрагмент может включать альбумин человека, Fc-
10 домен или удлиняющий неструктурированный белковый фрагмент. В дополнительном варианте реализации можно получить гибридный продукт белкового фрагмента и аналога пептида. В дополнительном варианте реализации белковый фрагмент представляет собой Fc-домен, и Fc-домен образует гибридный продукт с аналогом пептида. В случае получения гибридного продукта с Fc полученное соединение обычно
15 является двухвалентным, поскольку два Fc-полипептида образуют один Fc-домен.

В одном варианте реализации заместитель не является белковым фрагментом. В одном варианте реализации заместитель не является белковым фрагментом, образующим гибридный продукт с аналогом пептида EGF(A). В одном варианте реализации белковый фрагмент не представляет собой Fc-домен.

20 В еще одном варианте реализации заместитель является небелковым фрагментом.

В конкретном варианте реализации заместитель способен образовывать нековалентные комплексы с альбумином, тем самым стимулируя циркуляцию производного в кровотоке, а также растягивает время действия указанного
25 производного. В конкретном варианте реализации заместитель способен растягивать время действия соединения на основе EGF(A) без существенного снижения его способности связываться с PCSK9.

В одном варианте реализации производное EGF(A) содержит заместитель, увеличивающий период полувыведения. В настоящей области техники известны
30 различные заместители, увеличивающие период полувыведения, и они включают, в частности, молекулы, связывающиеся с альбумином и содержащие группу жирной кислоты, дополнительно описанные ниже, и такие молекулы, связывающиеся с альбумином, являются небелковыми заместителями.

Заместитель содержит по меньшей мере одну группу жирной кислоты.

В конкретном варианте реализации группа жирной кислоты содержит углеродную цепь, содержащую по меньшей мере 8 последовательных групп $-\text{CH}_2-$. В одном варианте реализации группа жирной кислоты содержит по меньшей мере 10 последовательных групп $-\text{CH}_2-$, например, по меньшей мере 12 последовательных групп $-\text{CH}_2-$, по меньшей мере 14 последовательных групп $-\text{CH}_2-$, по меньшей мере 16 последовательных групп $-\text{CH}_2-$, по меньшей мере 18 последовательных групп $-\text{CH}_2-$.

В одном варианте реализации группа жирной кислоты содержит 8-20 последовательных групп $-\text{CH}_2-$. В одном варианте реализации группа жирной кислоты содержит 10-18 последовательных групп $-\text{CH}_2-$. В одном варианте реализации группа жирной кислоты содержит 12-18 последовательных групп $-\text{CH}_2-$. В одном варианте реализации группа жирной кислоты содержит 14-18 последовательных групп $-\text{CH}_2-$.

В ситуациях, когда производное содержит два заместителя, увеличенный период полувыведения можно обеспечивать за счет более коротких групп жирной кислоты; так, в варианте реализации, когда производное содержит два заместителя, группы жирной кислоты могут содержать по меньшей мере 8 последовательных групп $-\text{CH}_2-$, например, по меньшей мере 10 последовательных групп $-\text{CH}_2-$, например, по меньшей мере 12 последовательных групп $-\text{CH}_2-$, по меньшей мере 14 последовательных групп $-\text{CH}_2-$, по меньшей мере 16 последовательных групп $-\text{CH}_2-$.

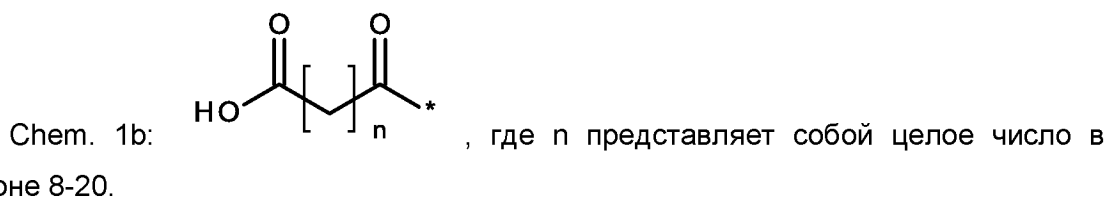
В дополнительном варианте реализации, когда производное содержит два заместителя, каждый из заместителей содержит группу жирной кислоты, содержащую 8-18 последовательных групп $-\text{CH}_2-$. В таких дополнительных вариантах реализации группы жирной кислоты содержат 10-18 последовательных групп $-\text{CH}_2-$, например, 12-18 последовательных групп $-\text{CH}_2-$, например, 14-18 последовательных групп $-\text{CH}_2-$.

В настоящем документе термин «группа жирной кислоты» может обозначать химическую группу, содержащую по меньшей мере одну функциональную группу, являющуюся кислотой по определению Бренстеда-Лоури с $\text{pK}_a < 7$. Неограничивающие примеры таких функциональных групп, представляющих собой кислоты по определению Бренстеда-Лоури, включают карбоновую кислоту (в том числе также карбоксифеноксигруппу), сульфоновую кислоту, тетразолиевую группу.

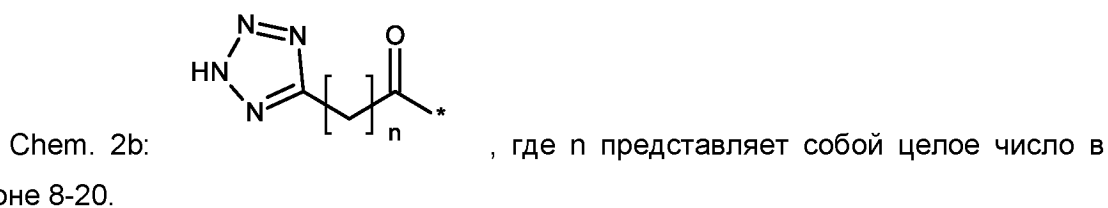
В одном варианте реализации указанная группа жирной кислоты содержит функциональную группу, выбранную из карбоновой кислоты, сульфоновой кислоты, тетразолиевой группы, метилсульфонилкарбамоиламинной (MSU) группы и 3-гидроксиизоксазолизоксазолиевой группы. Соответственно, заместитель, увеличивающий период полувыведения, согласно настоящему изобретению в одном варианте реализации содержит карбоновую кислоту, сульфоновую кислоту,

тетразолиевую группу, метилсульфонилкарбамоиламинную группу или гидроксиизоксазолизоксазолиевую группу, дополнительно включающую 8-20 последовательных групп $-\text{CH}_2-$, определенных следующим образом.

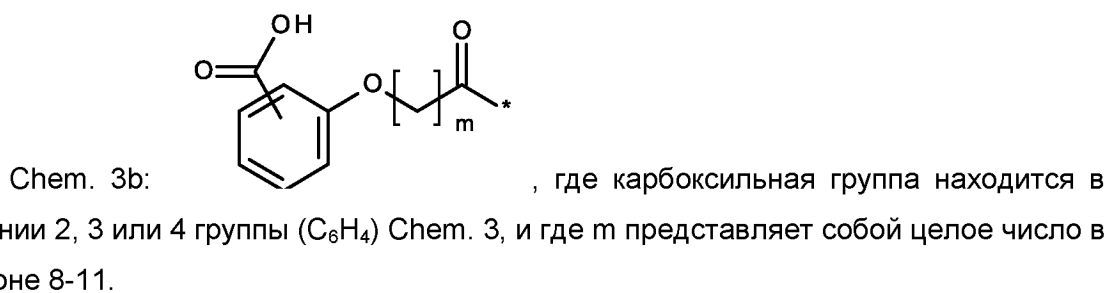
- 5 Chem. 1: $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_n-\text{CO}-^*$, где n представляет собой целое число в диапазоне 8-20, которую также можно называть двухосновной $\text{C}(n+2)$ кислотой, или



- 10 Chem. 2: 5-тетразолил- $(\text{CH}_2)_n-\text{CO}-^*$, где n представляет собой целое число в диапазоне 8-20, которую также можно называть

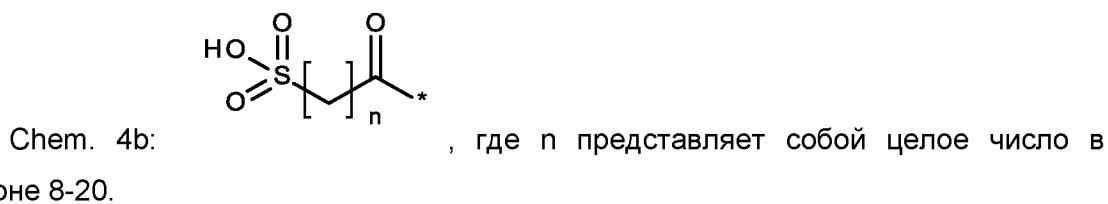


- 15 Chem. 3: $\text{HOOC}-(\text{C}_6\text{H}_4)-\text{O}-(\text{CH}_2)_m-\text{CO}-^*$, где n представляет собой целое число в диапазоне 8-20, которую также можно называть

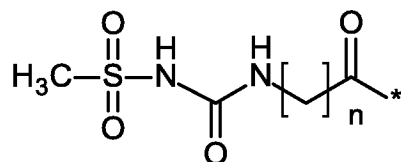


20

- Chem. 4: $\text{HO-S(O)}_2-(\text{CH}_2)_n-\text{CO}-^*$, где n представляет собой целое число в диапазоне 8-20, которую также можно называть

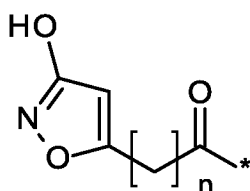


Chem. 5: $\text{MeS(O)}_2\text{NH(CO)NH-(CH}_2\text{)}_n\text{-CO-}^*$, где n представляет собой целое число в диапазоне 8-20, которую также можно называть



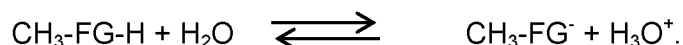
Chem.5b: , где n представляет собой целое число в диапазоне 8-20.

Chem. 6: 3-НО-изоксазол-(CH_2) $_n$ -CO-, где n представляет собой целое число в диапазоне 8-20, которую также можно называть



Chem. 6b: , где n представляет собой целое число в диапазоне 8-20.

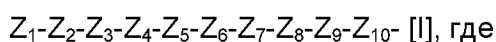
Термин «функциональная группа» в ее кислотной форме обозначается как FG-H, а ее форма в виде конъюгированного основания обозначается как FG⁻. В настоящем документе термин «функциональная группа с $\text{pK}_a < 7$ » может обозначать кислоту по определению Бренстеда-Лоури, равновесная pK_a которой в форме ее метильного производного ($\text{CH}_3\text{-FG-H}$) в водном растворе ниже 7, где pK_a представляет собой $-\log$ константы равновесия (K_a), показанной ниже:



Способы определения pK_a хорошо известны в данной области техники. Такой способ, например, описан Reijenga et al. в Anal Chem Insights 2013 (2013; 8: 53–71).

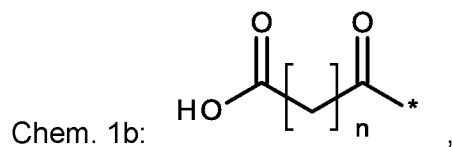
В одном варианте реализации заместители согласно настоящему изобретению содержат один или более линкерных элементов. Линкерные элементы могут быть связаны с группой жирной кислоты амидными связями и обозначаться как $\text{Z}_2\text{-Z}_{10}$. Как дополнительно указано ниже в настоящем документе, количество линкерных элементов может быть не более 10.

В конкретном варианте реализации заместитель характеризуется формулой I:



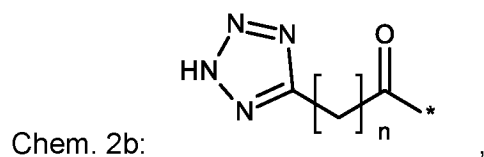
Z_1 выбран из:

Chem. 1: $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_n-\text{CO}-^*$ или

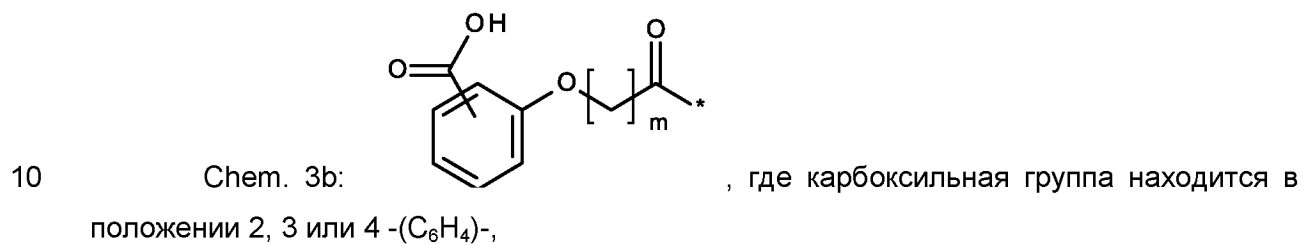


5

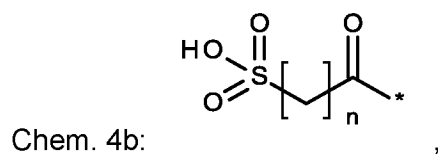
Chem. 2: 5-тетразолил- $(\text{CH}_2)_n-\text{CO}-^*$ или



Chem. 3: $\text{HOOC}-(\text{C}_6\text{H}_4)-\text{O}-(\text{CH}_2)_m-\text{CO}-^*$ или

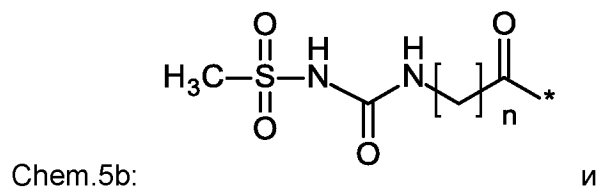


Chem. 4: $\text{HOS(O)}_2-(\text{CH}_2)_n-\text{CO}-^*$ или

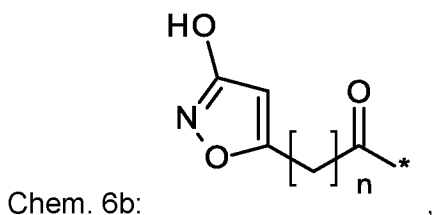


15

Chem. 5: $\text{MeS(O)}_2\text{NH}_2\text{N(CO)NHN}-(\text{CH}_2)_n-\text{CO}-^*$ или



Chem. 6: 3-НО-изоксазол- $(\text{CH}_2)_n-\text{CO}-^*$ или



где n представляет собой целое число в диапазоне 8-20, а m представляет собой целое число в диапазоне 8-11.

5

В конкретном варианте реализации n равняется 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 в Chem. 1 или 1b. В конкретном варианте реализации n равняется 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 в Chem. 2 или 2b. В конкретном варианте реализации n равняется 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 в Chem. 4 или 4b. В конкретном варианте реализации m равняется 8, 9, 10 или 11 в Chem. 3 или 3b.

В конкретном варианте реализации n равняется 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 в Chem. 5 или 5b.

В конкретном варианте реализации n равняется 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 в Chem. 6 или 6b.

15

В конкретном варианте реализации символ * указывает точку присоединения к атому азота в Z_2 . В еще одном варианте реализации, где Z_2 представляет собой связь, символ * указывает на точку присоединения к атому азота соседнего элемента Z .

Используемый в контексте формулы I термин «связь» означает ковалентную связь. Если компонент формулы I (Z_1 - Z_{10}) определен как связь, то это равносильно формуле I, где указанный компонент отсутствует.

20

В настоящем документе указание, приведенное ниже на то, что любой из элементов Z_2 - Z_{10} представляет собой связь, также можно интерпретировать так, что любой из элементов Z_2 - Z_{10} отсутствует. Исходя из логики, «связь» не может следовать за «связью». Таким образом, в настоящем документе указание на «связь» означает, что предыдущий элемент Z ковалентно связан со следующим элементом Z , который не является «связью» (или отсутствует).

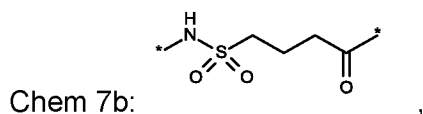
25

Линкерные элементы Z_2 - Z_{10} выбраны из химических фрагментов, которые способны образовывать амидные связи, в том числе подобных аминокислотам фрагментов, например, Glu, γ Glu (также называемой гамма-Glu или gGlu и заданной как $^*\text{-NH-CH}(\text{COOH})\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CO-}^*$), Gly, Ser, Ala, Thr, Ado, Aeer, Aeeer и TtdSuc и других фрагментов, заданных ниже.

30

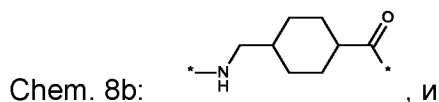
Z_2 выбран из

Chem. 7: $^*\text{-NH-SO}_2\text{-(CH}_2\text{)}_3\text{-CO-}^*$ или



5

Chem. 8: $^*\text{-NH-CH}_2\text{-(C}_6\text{H}_{10}\text{)-CO-}^*$ или



связи.

Z_3 выбран из γGlu , Glu или связи.

10

Z_3 выбран из γGlu , Glu или связи, если Z_2 представляет собой Chem. 7 или Chem. 7b.

Z_3 выбран из γGlu , Glu или связи при условии, что Z_3 выбран из γGlu , Glu, если Z_2 представляет собой Chem. 8.

Z_3 выбран из γGlu и Glu, если Z_2 представляет собой Chem. 8.

15

Z_4 , Z_5 , Z_6 , Z_7 , Z_8 , Z_9 независимо друг от друга выбраны из Glu, γGlu , Gly, Ser, Ala, Thr, Ado, Aeer, Aeeep, TtdSuc и связи.

20

Glu, Gly, Ser, Ala, Thr представляют собой аминокислотные остатки, хорошо известные в данной области техники.

γGlu характеризуется формулой Chem. 9: $^*\text{-NH-CH(COOH)-(CH}_2\text{)}_2\text{-CO-}^*$, которая совпадает с Chem. 9b:

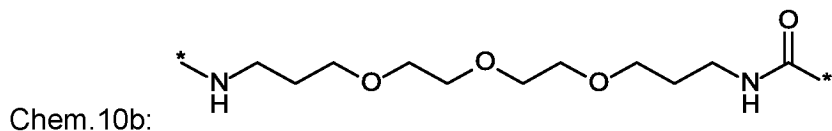


25

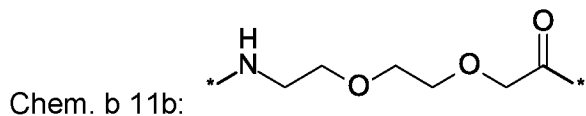
TtdSuc характеризуется формулой Chem. 10:

$^*\text{-NH-(CH}_2\text{)}_3\text{-O-(CH}_2\text{)}_2\text{-O-(CH}_2\text{)}_2\text{O-(CH}_2\text{)}_3\text{-NHCO}^*$ или

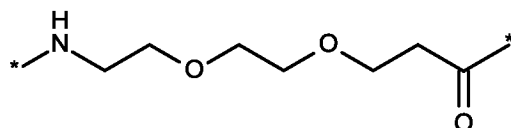
$^*\text{-NH-CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHCO}^*$, которая совпадает с



Ado характеризуется формулой Chem. 11: $^*\text{-NH}-(\text{CH}_2)_2\text{-O}-(\text{CH}_2)_2\text{-O-CH}_2\text{-CO-}^*$,
 5 которая также может обозначаться как 8-амино-3,6-диоксаоктановая кислота и совпадает с

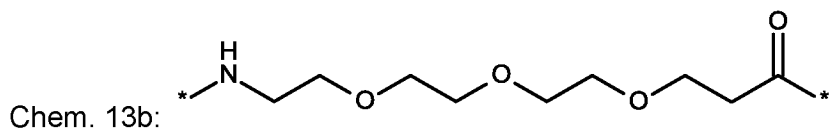


Aeer характеризуется формулой Chem. 12: $^*\text{NH-CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CO}^*$, которая также может обозначаться как



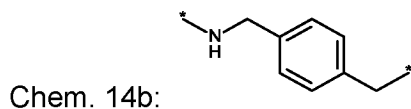
10 Chem. 12b:

Aeeer характеризуется формулой Chem. 13: $^*\text{NH-CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CO}^*$, которая также может обозначаться как



15

Z_{10} выбран из связи и Chem. 14: $^*\text{-NH-CH}_2\text{-(C}_6\text{H}_4\text{)-CH}_2\text{-}^*$, которая также может обозначаться как



20 В конкретном варианте реализации, где Z_{10} представляет собой Chem. 14, заместитель присоединен к N-концевой аминогруппе указанного пептида.

В еще одном варианте реализации, где Z_{10} представляет собой связь, указанный заместитель присоединен к эпсилон-положению остатка Lys, присутствующего в указанном пептиде, или к N-концевому аминокислотному остатку
 25 указанного пептида.

В одном варианте реализации производное содержит два заместителя. В одном таком варианте реализации два заместителя являются идентичными. В одном таком варианте реализации два заместителя являются различными. В одном варианте реализации два заместителя присоединены к атомам азота аналога пептида EGF(A). В

5 одном варианте реализации два заместителя присоединены к аминокруппам аналога пептида EGF(A). В одном варианте реализации два заместителя присоединены к N-концевой аминокислоте EGF(A) и к остатку Lys аналога пептида EGF(A). В одном варианте реализации один заместитель присоединен к атому азота в альфа-положении N-концевого аминокислотного остатка аналога пептида EGF(A) и один

10 заместитель присоединен к остатку Lys аналога пептида EGF(A). В одном варианте реализации два заместителя присоединены к N-концевой аминокислоте аналога пептида EGF(A). В одном варианте реализации два заместителя присоединены к различным остаткам Lys аналога пептида EGF(A). В одном варианте реализации два заместителя присоединены к атомам азота в эпсилон-положении различных остатков

15 Lys в аналоге пептида EGF(A).

В одном варианте реализации, где присутствуют два заместителя, Z_{10} представляет собой Chem. 14 в одном заместителе, присоединенном к N-концевой аминокруппе аналога пептида, а Z_{10} представляет собой связь в другом заместителе, присоединенном к эпсилон-положению остатка Lys, присутствующего в указанном

20 аналоге пептида.

В еще одном варианте реализации, где присутствуют два заместителя, Z_{10} представляет собой связь в одном заместителе, присоединенном к N-концевой аминокруппе аналога пептида, а Z_{10} представляет собой связь в другом заместителе, присоединенном к эпсилон-положению остатка Lys, присутствующего в указанном

25 аналоге пептида.

В еще одном варианте реализации, где присутствуют два заместителя, Z_{10} представляет собой связь в обоих заместителях, и каждый из двух указанных заместителей присоединен к эпсилон-положению различных остатков Lys, присутствующих в аналоге пептида.

30 В конкретном варианте реализации производные согласно настоящему изобретения можно получать из аналога пептида EGF(A) посредством ковалентного присоединения одного или двух заместителей.

В конкретном варианте реализации два заместителя характеризуются формулой I: $Z_1-Z_2-Z_3-Z_4-Z_5-Z_6-Z_7-Z_8-Z_9-Z_{10}$ [I]. $Z_1 - Z_{10}$ соответствуют определениям,

35 приведенным выше. В конкретном варианте реализации два заместителя

характеризуются формулой I и являются идентичными, что означает, что выбранные $Z_1 - Z_{10}$ одинаковы в обоих заместителях. В еще одном варианте реализации два заместителя характеризуются формулой I и являются различными, что означает, что один или более из выбранных $Z_1 - Z_{10}$ различаются в разных заместителях.

5

Характерные заместители

Как видно выше, специалисты в данной области техники могут получать различные заместители. Таким образом, не следует считать, что заместители, включенные в настоящую заявку, ограничивают настоящее изобретение.

10

В одном варианте реализации один или два заместителя выбран/выбраны из группы заместителей, состоящей из

HOOC-(CH ₂) ₁₈ -CO-gGlu-2xADO
HOOC-(CH ₂) ₁₈ -CO-NH-CH ₂ -(C ₆ H ₁₀)-CO-gGlu-2xADO
HOOC-(CH ₂) ₁₆ -CO-gGlu-2xADO
HOOC-(CH ₂) ₁₆ -CO-gGlu-2xADO-NH-CH ₂ -(C ₆ H ₄)-CH ₂
HOOC-(CH ₂) ₁₆ -CO-gGlu
HOOC-(CH ₂) ₁₆ -CO-NH-CH ₂ -(C ₆ H ₁₀)-CO-gGlu-2xADO
HOOC-(CH ₂) ₁₄ -CO-gGlu-2xADO
HOOC-(CH ₂) ₁₄ -CO-gGlu-
HOOC-(CH ₂) ₁₄ -CO-gGlu-2xADO-
HOOC-(CH ₂) ₁₂ -CO-gGlu-2xADO
4-HOOC-(C ₆ H ₄)-O-(CH ₂) ₁₀ -CO-gGlu-2xADO
4-HOOC-(C ₆ H ₄)-O-(CH ₂) ₁₀ -CO-gGlu-3xADO
4-HOOC-(C ₆ H ₄)-O-(CH ₂) ₁₀ -CO-gGlu
4-HOOC-(C ₆ H ₄)-O-(CH ₂) ₁₀ -CO-2xgGlu
4-HOOC-(C ₆ H ₄)-O-(CH ₂) ₁₀ -CO-gGlu-3xGly
4-HOOC-(C ₆ H ₄)-O-(CH ₂) ₁₀ -CO-2xgGlu-2xADO
4-HOOC-(C ₆ H ₄)-O-(CH ₂) ₁₀ -CO-gGlu-TtdSuc
4-HOOC-(C ₆ H ₄)-O-(CH ₂) ₉ -CO
4-HOOC-(C ₆ H ₄)-O-(CH ₂) ₁₀ -CO-gGlu-4xADO
4-HOOC-(C ₆ H ₄)-O-(CH ₂) ₁₀ -CO-NH-CH ₂ -(C ₆ H ₁₀)-CO-gGlu-2xADO
4-HOOC-(C ₆ H ₄)-O-(CH ₂) ₉ -CO-gGlu-2xADO
3-HOOC-(C ₆ H ₄)-O-(CH ₂) ₉ -CO-gGlu-2xADO
3-HO-изоксазол-(CH ₂) ₁₂ -CO-gGlu-2xADO

$\text{HOS(O)2-(CH}_2\text{)}_{15}\text{-CO-gGlu-2xADO-NH-CH}_2\text{-(C}_6\text{H}_4\text{)-CH}_2$
$\text{HOS(O)}_2\text{-(CH}_2\text{)}_{13}\text{-CO-gGlu-2xADO}$
Тетразолил-(CH ₂) ₁₅ -CO-NH-SO ₂ -(CH ₂) ₃ -CO-ADO-ADO-NH-CH ₂ -(C ₆ H ₄)-CH ₂
Тетразолил-(CH ₂) ₁₂ -CO-gGlu-2xADO
Тетразолил-(CH ₂) ₁₅ -CO-gGlu-2xADO
MeS(O) ₂ NH(CO)NH-(CH ₂) ₁₂ -CO-gGlu-2xADO.

В одном варианте реализации заместитель характеризуется формулой I, где Z₁ представляет собой Chem. 1: HOOC-(CH₂)_n-CO-*, где n равно 16; Z₂ представляет собой связь; Z₃ представляет собой γGlu; два из Z₄, Z₅, Z₆, Z₇, Z₈, Z₉ представляют собой Ado, а остальные четыре представляют собой связи; Z₁₀ представляет собой Chem. 14: *-NH-CH₂-(C₆H₄)-CH₂-*.

В одном варианте реализации заместитель характеризуется формулой I, где Z₁ представляет собой Chem. 1: HOOC-(CH₂)_n-CO-*, где n равно 16; Z₂ представляет собой связь; Z₃ представляет собой γGlu; два из Z₄, Z₅, Z₆, Z₇, Z₈ и Z₉ представляют собой Ado, а остальные четыре представляют собой связи; Z₁₀ представляет собой связь.

В одном варианте реализации заместитель характеризуется формулой I, где Z₁ представляет собой Chem. 1: HOOC-(CH₂)_n-CO-*, где n равно 14 или 16; Z₂ представляет собой связь; Z₃ представляет собой γGlu; и все из Z₄, Z₅, Z₆, Z₇, Z₈ и Z₉ представляют собой связи; Z₁₀ представляет собой связь.

В одном варианте реализации заместитель характеризуется формулой I, где Z₁ представляет собой Chem. 1: HOOC-(CH₂)_n-CO-*, где n равно 16 или 18; Z₂ представляет собой Chem 8 (Trx); Z₃ представляет собой γGlu; два из Z₄, Z₅, Z₆, Z₇, Z₈ и Z₉ представляют собой Ado, а остальные четыре представляют собой связи; Z₁₀ представляет собой связь.

В одном варианте реализации заместитель характеризуется формулой I, где Z₁ представляет собой Chem. 2: Тетразолил-(CH₂)_n-CO-*, где n равно 15; Z₂ представляет собой Chem. 7 (сульфонимид); Z₃ представляет собой связь; два из Z₄, Z₅, Z₆, Z₇, Z₈ и Z₉ представляют собой Ado, а остальные четыре представляют собой связи; Z₁₀ представляет собой Chem. 14: *-NH-CH₂-(C₆H₄)-CH₂-*.

В одном варианте реализации заместитель характеризуется формулой I, где Z₁ представляет собой Chem. 2: Тетразолил-(CH₂)_n-CO-*, где n равно 15; Z₂ представляет собой связь; Z₃ представляет собой γGlu; два из Z₄, Z₅, Z₆, Z₇, Z₈ и Z₉

представляют собой Aдо, а остальные четыре представляют собой связи; Z₁₀ представляет собой связь.

В одном варианте реализации заместитель характеризуется формулой I, где Z₁ представляет собой Chem. 2: Тетразолил-(CH₂)_n-CO-*, где n равно 12; Z₂ представляет собой связь; Z₃ представляет собой γGlu; два из Z₄, Z₅, Z₆, Z₇, Z₈ и Z₉ представляют собой Aдо, а остальные четыре представляют собой связи; Z₁₀ представляет собой связь.

В одном варианте реализации заместитель характеризуется формулой I, где Z₁ представляет собой Chem. 3: HOOC-(C₆H₄)-O-(CH₂)_m-CO-*, где m равняется 10; Z₂ представляет собой связь; Z₃ представляет собой связь; и все из Z₄, Z₅, Z₆, Z₇, Z₈ и Z₉ представляют собой связи; Z₁₀ представляет собой связь.

В одном варианте реализации заместитель характеризуется формулой I, где Z₁ представляет собой Chem. 3: HOOC-(C₆H₄)-O-(CH₂)_m-CO-*, где m равняется 10; Z₂ представляет собой связь; Z₃ представляет собой γGlu; и все из Z₄, Z₅, Z₆, Z₇, Z₈ и Z₉ представляют собой связи; Z₁₀ представляет собой связь.

В одном варианте реализации заместитель характеризуется формулой I, где Z₁ представляет собой Chem. 3: HOOC-(C₆H₄)-O-(CH₂)_m-CO-*, где m равняется 10; Z₂ представляет собой связь; Z₃ представляет собой γGlu; и один из Z₄, Z₅, Z₆, Z₇, Z₈ и Z₉ представляет собой γGlu, и остальные пять представляют собой связи; Z₁₀ представляет собой связь.

В одном варианте реализации заместитель характеризуется формулой I, где Z₁ представляет собой Chem. 3: HOOC-(C₆H₄)-O-(CH₂)_m-CO-*, где m равно 10; Z₂ представляет собой связь; Z₃ представляет собой γGlu; и один из Z₄, Z₅, Z₆, Z₇, Z₈ и Z₉ представляет собой γGlu, два представляют собой Aдо, а остальные три представляют собой связи; Z₁₀ представляет собой связь.

В одном варианте реализации заместитель характеризуется формулой I, где Z₁ представляет собой Chem. 3: HOOC-(C₆H₄)-O-(CH₂)_m-CO-*, где m равно 10; Z₂ представляет собой связь; Z₃ представляет собой γGlu; и три из Z₄, Z₅, Z₆, Z₇, Z₈ и Z₉ представляют собой Gly, а остальные три представляют собой связи; Z₁₀ представляет собой связь.

В одном варианте реализации заместитель характеризуется формулой I, где Z₁ представляет собой Chem. 3: HOOC-(C₆H₄)-O-(CH₂)_m-CO-*, где m равно 10; Z₂ представляет собой связь; Z₃ представляет собой γGlu; и два из Z₄, Z₅, Z₆, Z₇, Z₈ и Z₉ представляют собой Aдо, а остальные четыре представляют собой связи; Z₁₀ представляет собой связь.

В одном варианте реализации заместитель характеризуется формулой I, где Z_1 представляет собой Chem. 3: $\text{HOOC}-(\text{C}_6\text{H}_4)-\text{O}-(\text{CH}_2)_m-\text{CO}-^*$, где m равно 10; Z_2 представляет собой связь; Z_3 представляет собой γGlu ; и три из Z_4 , Z_5 , Z_6 , Z_7 , Z_8 и Z_9 представляют собой Ado, а остальные три представляют собой связи; Z_{10} представляет собой связь.

В одном варианте реализации заместитель характеризуется формулой I, где Z_1 представляет собой Chem. 3: $\text{HOOC}-(\text{C}_6\text{H}_4)-\text{O}-(\text{CH}_2)_m-\text{CO}-^*$, где m равно 10; Z_2 представляет собой связь; Z_3 представляет собой γGlu ; и четыре из Z_4 , Z_5 , Z_6 , Z_7 , Z_8 и Z_9 представляют собой Ado, а остальные два представляют собой связи; Z_{10} представляет собой связь.

В одном варианте реализации заместитель характеризуется формулой I, где Z_1 представляет собой Chem. 3: $\text{HOOC}-(\text{C}_6\text{H}_4)-\text{O}-(\text{CH}_2)_m-\text{CO}-^*$, где m равно 10; Z_2 представляет собой связь; Z_3 представляет собой γGlu ; и один из Z_4 , Z_5 , Z_6 , Z_7 , Z_8 и Z_9 представляет собой TtdSuc, а остальные пять представляют собой связи; Z_{10} представляет собой связь.

В одном варианте реализации заместитель характеризуется формулой I, где Z_1 представляет собой Chem. 3: $\text{HOOC}-(\text{C}_6\text{H}_4)-\text{O}-(\text{CH}_2)_m-\text{CO}-^*$, где m равно 10; Z_2 представляет собой Chem. 8 (Trx); Z_3 представляет собой γGlu ; и два из Z_4 , Z_5 , Z_6 , Z_7 , Z_8 и Z_9 представляют собой Ado, а остальные четыре представляют собой связи; Z_{10} представляет собой связь.

В одном варианте реализации заместитель характеризуется формулой I, где Z_1 представляет собой Chem. 3: $\text{HOOC}-(\text{C}_6\text{H}_4)-\text{O}-(\text{CH}_2)_m-\text{CO}-^*$, где m равно 9; Z_2 представляет собой связь; Z_3 представляет собой γGlu ; и один из Z_4 , Z_5 , Z_6 , Z_7 , Z_8 и Z_9 представляет собой TtdSuc, а остальные пять представляют собой связи; Z_{10} представляет собой связь.

В одном варианте реализации заместитель характеризуется формулой I, где Z_1 представляет собой Chem. 3: $\text{HOOC}-(\text{C}_6\text{H}_4)-\text{O}-(\text{CH}_2)_m-\text{CO}-^*$, где m равно 10; Z_2 представляет собой связь; Z_3 представляет собой γGlu ; два из Z_4 , Z_5 , Z_6 , Z_7 , Z_8 и Z_9 представляют собой Ado, а остальные четыре представляют собой связи; Z_{10} представляет собой связь.

В одном варианте реализации заместитель характеризуется формулой I, где Z_1 представляет собой Chem. 3: $\text{HOOC}-(\text{C}_6\text{H}_4)-\text{O}-(\text{CH}_2)_m-\text{CO}-^*$, где m равно 10; Z_2 представляет собой связь; Z_3 представляет собой γGlu ; два из Z_4 , Z_5 , Z_6 , Z_7 , Z_8 и Z_9 представляют собой Ado, а остальные четыре представляют собой связи; Z_{10} представляет собой связь.

В одном варианте реализации заместитель характеризуется формулой I, где Z_1 представляет собой Chem. 4: $\text{HO-S(O)}_2\text{-(CH}_2\text{)}_n\text{-CO-}^*$, где n равно 15; Z_2 представляет собой связь; Z_3 представляет собой γGlu ; два из Z_4, Z_5, Z_6, Z_7, Z_8 и Z_9 представляют собой Aдо, а остальные четыре представляют собой связи; Z_{10} представляет собой связь.

В одном варианте реализации заместитель характеризуется формулой I, где Z_1 представляет собой Chem. 4: $\text{HO-S(O)}_2\text{-(CH}_2\text{)}_n\text{-CO-}^*$, где n равно 15; Z_2 представляет собой связь; Z_3 представляет собой γGlu ; два из Z_4, Z_5, Z_6, Z_7, Z_8 и Z_9 представляют собой Aдо, а остальные четыре представляют собой связи; Z_{10} представляет собой Chem. 14: $^*\text{-NH-CH}_2\text{-(C}_6\text{H}_4\text{)-CH}_2\text{-}^*$.

В одном варианте реализации заместитель характеризуется формулой I, где Z_1 представляет собой Chem. 5: $\text{MeS(O)}_2\text{NH(CO)NH-(CH}_2\text{)}_n\text{-CO-}^*$, где n равно 12; Z_2 представляет собой связь; Z_3 представляет собой γGlu ; два из Z_4, Z_5, Z_6, Z_7, Z_8 и Z_9 представляют собой Aдо, а остальные четыре представляют собой связи; Z_{10} представляет собой связь.

В одном варианте реализации заместитель характеризуется формулой I, где Z_1 представляет собой Chem. 6: $3\text{-OH-изоксазол-(CH}_2\text{)}_{12}\text{-CO-}^*$, где n равно 12; Z_2 представляет собой связь; Z_3 представляет собой γGlu ; два из Z_4, Z_5, Z_6, Z_7, Z_8 и Z_9 представляют собой Aдо, а остальные четыре представляют собой связи; Z_{10} представляет собой связь.

Конкретные комбинации заместителей

В одном варианте реализации соединение согласно настоящему изобретению содержит или имеет два заместителя формулы I, где Z_1 представляет собой Chem. 1: $\text{HOOC-(CH}_2\text{)}_n\text{-CO-}^*$, где n равно 16; Z_2 представляет собой связь; Z_3 представляет собой γGlu ; два из $Z_4, Z_5, Z_6, Z_7, Z_8, Z_9$ представляют собой Aдо, а остальные четыре представляют собой связи; Z_{10} представляет собой связь.

В одном варианте реализации соединение согласно настоящему изобретению содержит или имеет два заместителя формулы I, где Z_1 представляет собой Chem. 1: $\text{HOOC-(CH}_2\text{)}_n\text{-CO-}^*$, где n равно 14; Z_2 представляет собой связь; Z_3 представляет собой γGlu ; два из $Z_4, Z_5, Z_6, Z_7, Z_8, Z_9$ представляют собой Aдо, а остальные четыре представляют собой связи; Z_{10} представляет собой связь.

В одном варианте реализации соединение согласно настоящему изобретению содержит или имеет два заместителя формулы I, где Z_1 представляет собой Chem. 1: $\text{HOOC-(CH}_2\text{)}_n\text{-CO-}^*$, где n равно 14; Z_2 представляет собой связь; Z_3 представляет

собой γ Glu; все четыре из Z_4 , Z_5 , Z_6 , Z_7 , Z_8 , Z_9 представляют собой связи; Z_{10} представляет собой связь.

В одном варианте реализации соединение согласно настоящему изобретению содержит или имеет два заместителя формулы I, где Z_1 представляет собой Chem. 3: $\text{HOOC}-(\text{C}_6\text{H}_4)-\text{O}-(\text{CH}_2)_m-\text{CO}-^*$, где m равно 10; Z_2 представляет собой связь; Z_3 представляет собой γ Glu; два из Z_4 , Z_5 , Z_6 , Z_7 , Z_8 и Z_9 представляют собой Ado, а остальные четыре представляют собой связи; Z_{10} представляет собой связь.

В одном варианте реализации соединение согласно настоящему изобретению содержит или характеризуется наличием двух заместителей, причем один из них характеризуется формулой I, где Z_1 представляет собой Chem. 1: $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_n-\text{CO}-^*$, где n равно 16; Z_2 представляет собой связь; Z_3 представляет собой γ Glu; два из Z_4 , Z_5 , Z_6 , Z_7 , Z_8 , Z_9 представляют собой Ado, а остальные четыре представляют собой связи; Z_{10} представляет собой Chem. 14: $^*-\text{NH}-\text{CH}_2-(\text{C}_6\text{H}_4)-\text{CH}_2-^*$; другой заместитель характеризуется формулой I, где Z_1 представляет собой Chem. 1: $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_n-\text{CO}-^*$, где n равно 16; Z_2 представляет собой связь; Z_3 представляет собой γ Glu; два из Z_4 , Z_5 , Z_6 , Z_7 , Z_8 , Z_9 представляют собой Ado, а остальные четыре представляют собой связи; Z_{10} представляет собой связь.

В одном варианте реализации соединение согласно настоящему изобретению содержит или характеризуется наличием двух заместителей, причем один из них характеризуется формулой I, где Z_1 представляет собой Chem. 1: $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_n-\text{CO}-^*$, где n равно 16; Z_2 представляет собой связь; Z_3 представляет собой γ Glu; два из Z_4 , Z_5 , Z_6 , Z_7 , Z_8 , Z_9 представляют собой Ado, а остальные четыре представляют собой связи; Z_{10} представляет собой Chem. 14: $^*-\text{NH}-\text{CH}_2-(\text{C}_6\text{H}_4)-\text{CH}_2-^*$; другой заместитель характеризуется формулой I, где Z_1 представляет собой Chem. 3: $\text{HOOC}-(\text{C}_6\text{H}_4)-\text{O}-(\text{CH}_2)_m-\text{CO}-^*$, где m равно 10; Z_2 представляет собой связь; Z_3 представляет собой γ Glu; два из Z_4 , Z_5 , Z_6 , Z_7 , Z_8 и Z_9 представляют собой Ado, а остальные четыре представляют собой связи; Z_{10} представляет собой связь.

В одном варианте реализации соединение согласно настоящему изобретению содержит или характеризуется наличием двух заместителей, причем один из них характеризуется формулой I, где Z_1 представляет собой Chem. 1: $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_n-\text{CO}-^*$, где n равно 16; Z_2 представляет собой связь; Z_3 представляет собой γ Glu; два из Z_4 , Z_5 , Z_6 , Z_7 , Z_8 , Z_9 представляют собой Ado, а остальные четыре представляют собой связи; Z_{10} представляет собой связь; другой заместитель характеризуется формулой I, где Z_1 представляет собой Chem. 3: $\text{HOOC}-(\text{C}_6\text{H}_4)-\text{O}-(\text{CH}_2)_m-\text{CO}-^*$, где m равно 10; Z_2 представляет собой связь; Z_3 представляет собой γ Glu; два из Z_4 , Z_5 , Z_6 , Z_7 , Z_8 и Z_9

представляют собой Ado, а остальные четыре представляют собой связи; Z_{10} представляет собой связь.

В одном варианте реализации соединение согласно настоящему изобретению содержит или характеризуется наличием двух заместителей, причем один из них характеризуется формулой I, где Z_1 представляет собой Chem. 1: $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_n\text{-CO}^*$, где n равно 16; Z_2 представляет собой связь; Z_3 представляет собой γGlu ; два из $Z_4, Z_5, Z_6, Z_7, Z_8, Z_9$ представляют собой Ado, а остальные четыре представляют собой связи; Z_{10} представляет собой связь; и другой заместитель характеризуется формулой I, где Z_1 представляет собой Chem. 4: $\text{HOS(O)}_2-(\text{CH}_2)_n\text{-CO}^*$, где n равно 15; Z_2 представляет собой связь; Z_3 представляет собой γGlu ; два из Z_4, Z_5, Z_6, Z_7, Z_8 и Z_9 представляют собой Ado, а остальные четыре представляют собой связи; Z_{10} представляет собой Chem. 14: $^*\text{-NH-CH}_2\text{-(C}_6\text{H}_4\text{)-CH}_2\text{-}^*$.

В одном варианте реализации соединение согласно настоящему изобретению содержит или характеризуется наличием двух заместителей, причем один из них характеризуется формулой I, где Z_1 представляет собой Chem. 3: $\text{HOOC}-(\text{C}_6\text{H}_4)\text{-O}-(\text{CH}_2)_m\text{-CO}^*$, где n равно 10; Z_2 представляет собой связь; Z_3 представляет собой γGlu ; два из Z_4, Z_5, Z_6, Z_7, Z_8 и Z_9 представляют собой Ado, остальные четыре представляют собой связи; Z_{10} представляет собой связь; другой заместитель характеризуется формулой I, где Z_1 представляет собой Chem. 4: $\text{HOS(O)}_2-(\text{CH}_2)_n\text{-CO}^*$, где n равно 15; Z_2 представляет собой связь; Z_3 представляет собой γGlu ; два из Z_4, Z_5, Z_6, Z_7, Z_8 и Z_9 представляют собой Ado, а остальные четыре представляют собой связи; Z_{10} представляет собой Chem. 14: $^*\text{-NH-CH}_2\text{-(C}_6\text{H}_4\text{)-CH}_2\text{-}^*$.

Пептид и сайт присоединения

Производное EGF(A) или соединение согласно настоящему изобретению включает аналог пептида EGF(A) домена EGF(A) LDL-R, заданного как SEQ ID NO: 1. Такая пептидная последовательность подробно описана выше в настоящем документе, и пептид производного или соединения согласно настоящему изобретению можно описать и обозначать идентичными терминами. Производное EGF(A) или соединение на основе EGF(A) дополнительно содержит по меньшей мере один заместитель, описанный выше в настоящем документе и связанный с пептидной последовательностью.

В соединениях согласно настоящему изобретению заместитель ковалентно присоединен к пептиду, то есть к одному аминокислотному остатку пептидной последовательности.

В одном варианте реализации производное EGF(A) согласно настоящему изобретению содержит заместитель, не присоединенный ни к одному из следующих положений: 295, 296, 298, 301, 302 и 307. В дополнительном варианте реализации заместитель не присоединен ни к одному из следующих положений: 295, 296, 298, 301, 302, 307 и 310. В таких дополнительных вариантах реализации он также не присоединен ни к одному из следующих положений: 299 и 320.

В конкретном варианте реализации заместитель присоединен по любому из положений от 292 до 333, за исключением любого положения или положений 297, 304, 308, 317, 319 и 331.

В конкретном варианте реализации заместитель присоединен по любому из положений от 292 до 333, за исключением любого из положений 297, 298, 301, 302, 304, 307, 308, 317, 319 и 331.

В конкретном варианте реализации заместитель присоединен по любому из положений от 292 до 333, за исключением любого из положений 295, 296, 297, 298, 301, 302, 304, 307, 308, 317, 319 и 331. В конкретном варианте реализации заместитель присоединен по любому из положений от 292 до 333, за исключением любого из положений 295, 296, 297, 298, 301, 302, 304, 307, 308, 310, 317, 319, 320 и 331. В конкретном варианте реализации заместитель присоединен по любому из положений от 292 до 333, за исключением любого из положений 295, 296, 297, 298, 301, 302, 304, 307, 308, 309, 310, 317, 319, 320 и 331.

В одном варианте реализации заместитель/заместители присоединен/присоединены к любому одному или двум из положений 292, 293, 294, 299, 300, 303, 305, 306, 309, 311, 312, 313, 314, 315, 316, 318, 320, 321, 322, 323, 324, 325, 326, 327, 328, 329, 330, 332 и 333 аналога пептида EGF(A).

В одном варианте реализации замена/замены расположена/расположены по любому одному или двум из положений 292, 293, 294, 300, 303, 305, 306, 309, 311, 312, 313, 314, 315, 316, 318, 321, 322, 323, 324, 325, 326, 327, 328, 329, 330, 332 и 333 аналога пептида EGF(A).

В одном варианте реализации замена/замены расположена/расположены по любому одному или двум из положений 292, 293, 294, 300, 303, 305, 306, 311, 312, 313, 314, 315, 316, 318, 321, 322, 323, 324, 325, 326, 327, 328, 329, 330, 332 и 333 аналога пептида EGF(A).

В одном варианте реализации заместитель присоединен к N-концевой аминокислоте пептидной последовательности. В конкретном варианте реализации N-концевая аминокислота представляет собой Gly. В конкретном варианте реализации N-

концевая аминокислота представляет собой 293Gly. В конкретном варианте реализации N-концевая аминокислота представляет собой 293Lys. В конкретном варианте реализации N-концевая аминокислота представляет собой 292Lys. Это также может быть Lys или Gly или другой аминокислотный остаток в N-концевом положении, которое может соответствовать положению 293 или любому положению после N-конца, например, 294Thr, 294Gly или 294Lys или 295Asn. В конкретном варианте реализации заместитель присоединен к атому азота в альфа положении N-концевого аминокислотного остатка аналога пептида. В еще одном варианте реализации, если N-концевой аминокислотный остаток представляет собой Lys, то заместитель может быть ковалентно связан с атомом азота в альфа положении или с аминогруппой в эпсилон положении остатка лизина.

В конкретном варианте реализации заместитель присоединен к ϵ -аминогруппе остатка Lys, присутствующего в пептиде.

В еще одном варианте реализации заместитель присоединен к Lys в C-концевом положении, которое может являться положением 332, 333 или любым положением дальше по направлению к C-концу.

В вариантах реализации, где пептиды согласно настоящему изобретению удлинены по N-концу или по C-концу, заместитель(-и) может(могут) быть присоединен(-ы) к аминокислотному остатку в указанной области удлинения. При удлинении по N-концу заместитель может быть присоединен к N-концевой аминокислоте в области указанного удлинения или к Lys, присутствующему в последовательности удлинения. При удлинении по C-концу заместитель может быть присоединен к остатку Lys в C-концевом положении или к Lys, присутствующему в последовательности удлинения.

В еще одном варианте реализации заместитель присоединен к аминокислоте, присутствующей в пептидной последовательности. В конкретном варианте реализации заместитель связан с остатком лизина, присутствующим в пептиде. В конкретном варианте реализации заместитель связан с эпсилон-аминогруппой остатка лизина, присутствующего в пептиде. Остаток лизина, с которым связан заместитель, может находиться в любом положении аналога EGF(A) LDL-R(293-332), включая N-концевое положение или C-концевое положение пептида, любое положение внутри или в N-концевом остатке удлинения по N-концу, при наличии такового, любое положение внутри или на C-концевом остатке удлинения по C-концу, при наличии такового.

Как описано выше в настоящем документе, аналог пептида EGF(A) может содержать один или более остатков Lys; и эти остатки можно использовать для присоединения заместителей.

- В конкретном варианте реализации остаток(остатки) лизина, с которым(-и) связан/связаны заместитель/заместители, выбран(-ы) из группы 292Lys, 293Lys, 294Lys, 299Lys, 300Lys, 303Lys, 305Lys, 306Lys, 309Lys, 311Lys, 312Lys, 313Lys, 314Lys, 315Lys, 316Lys, 318Lys, 320Lys, 321Lys, 322Lys, 323Lys, 324Lys, 325Lys, 326Lys, 327Lys, 328Lys, 329Lys, 330Lys, 332Lys и 333Lys.
- В конкретном варианте реализации остаток(остатки) лизина, с которым(-и) связан/связаны заместитель/заместители, выбран(-ы) из 293Lys, 294Lys, 295Lys, 296Lys, 298Lys, 299Lys, 301Lys, 302Lys, 303Lys, 305Lys, 306Lys, 307Lys, 309Lys, 310Lys, 311Lys, 312Lys, 313Lys, 314Lys, 315Lys, 316Lys, 318Lys, 320Lys, 321Lys, 322Lys, 323Lys, 324Lys, 325Lys, 326Lys, 327Lys, 328Lys, 329Lys, 330Lys, 332Lys и 333Lys.
- В конкретном варианте реализации остаток(остатки) лизина, с которым(-и) связан/связаны заместитель/заместители, выбран(-ы) из 293Lys, 294Lys, 300Lys, 303Lys, 306Lys, 309Lys, 311Lys, 312Lys, 313Lys, 314Lys, 315Lys, 316Lys, 318Lys, 321Lys, 322Lys, 323Lys, 324Lys, 325Lys, 326Lys, 328Lys, 329Lys, 330Lys, 332Lys и 333Lys.
- В еще одном варианте реализации остаток(остатки) лизина, с которым(-и) связан/связаны заместитель/заместители, выбран(-ы) из 293Lys, 294Lys, 298Lys, 299Lys, 303Lys, 305Lys, 306Lys, 309Lys, 311Lys, 312Lys, 313Lys, 314Lys, 315Lys, 316Lys, 318Lys, 320Lys, 321Lys, 322Lys, 323Lys, 324Lys, 325Lys, 326Lys, 327Lys, 328Lys, 329Lys, 330Lys, 332Lys и 333Lys.
- В еще одном варианте реализации остаток(остатки) лизина, с которым(-и) связан/связаны заместитель/заместители, выбран(-ы) из 292Lys, 293Lys, 294Lys, 299Lys, 300Lys, 303Lys, 305Lys, 306Lys, 309Lys, 311Lys, 313Lys, 314Lys, 315Lys, 316Lys, 318Lys, 320Lys, 321Lys, 322Lys, 323Lys, 324Lys, 325Lys, 326Lys, 327Lys, 328Lys, 329Lys, 330Lys, 332Lys и 333Lys.
- В еще одном варианте реализации остаток(остатки) лизина, с которым(-и) связан/связаны заместитель/заместители, выбран(-ы) из 292Lys, 293Lys, 294Lys, 300Lys, 303Lys, 305Lys, 306Lys, 309Lys, 311Lys, 313Lys, 314Lys, 316Lys, 318Lys, 321Lys, 322Lys, 323Lys, 324Lys, 325Lys, 326Lys, 327Lys, 328Lys, 329Lys, 330Lys, 332Lys и 333Lys.

В еще одном варианте реализации остаток(остатки) лизина, с которым(-и) связан/связаны заместитель/заместители, выбран(-ы) из 293Lys, 294Lys, 300Lys, 303Lys, 305Lys, 306Lys, 309Lys, 311Lys, 313Lys, 314Lys, 316Lys, 318Lys, 321Lys, 322Lys, 323Lys, 324Lys, 325Lys, 326Lys, 327Lys, 328Lys, 329Lys, 330Lys, 332Lys и 333Lys.

В еще одном варианте реализации остаток(остатки) лизина, с которым(-и) связан/связаны заместитель/заместители, выбран(-ы) из 293Lys, 294Lys, 300Lys, 303Lys, 305Lys, 306Lys, 311Lys, 313Lys, 314Lys, 316Lys, 318Lys, 321Lys, 322Lys, 323Lys, 324Lys, 325Lys, 326Lys, 327Lys, 328Lys, 329Lys, 330Lys, 332Lys и 333Lys.

В вариантах реализации, где заместитель присоединен к С-концевому удлинению, остаток лизина, с которым связан заместитель, можно выбрать из любого положения от 333Lys до 242Lys и/или любого положения от 333Lys до 383Lys.

В вариантах реализации, где соединения согласно настоящему изобретению содержат два заместителя, указанные заместители могут быть присоединены независимо друг от друга, как указано выше, что означает, что любой из них может быть присоединен к N-концевой аминокислоте пептида, к С-концевой аминокислоте пептида или к аминокислоте в аминокислотной последовательности пептида.

В вариантах реализации, где Lys присутствует в N-концевом положении, оба заместителя могут быть присоединены к N-концевому Lys пептида. Один из них может быть присоединен к N-концевому амину в альфа-положении указанного Lys, а другой - к атому азота в эпсилон-положении указанного Lys. При наличии двух заместителей один из них может быть присоединен к N-концевой аминокислоте пептида, в то время как другой - к аминокислоте внутри пептида, например, Lys. В качестве альтернативы, один заместитель может быть присоединен к Lys в С-концевом положении пептида, в то время как другой заместитель - к аминокислоте внутри пептида, например, Lys. В качестве альтернативы, один заместитель может быть присоединен к аминокислотному остатку (например, Lys) внутри пептида, включая области удлинения, а другой заместитель - к другому аминокислотному остатку (например, Lys) внутри пептида, включая области удлинения.

В одном варианте реализации соединения согласно настоящему изобретению содержат один заместитель, причем указанный заместитель присоединен к пептиду по N-концу; или указанный заместитель присоединен к пептиду в положении 292Lys; или указанный заместитель присоединен к пептиду в положении 293Lys, или указанный заместитель присоединен к пептиду в положении 299Lys; или указанный заместитель

присоединен к пептиду в положении 300Lys; или указанный заместитель присоединен к пептиду в положении 309Lys; или указанный заместитель присоединен к пептиду в положении 311Lys; или указанный заместитель присоединен к пептиду в положении 312Lys; или указанный заместитель присоединен к пептиду в положении 313Lys; или
 5 указанный заместитель присоединен к пептиду в положении 314Lys; или указанный заместитель присоединен к пептиду в положении 315Lys; или указанный заместитель присоединен к пептиду в положении 316Lys; или указанный заместитель присоединен к пептиду в положении 318Lys; или указанный заместитель присоединен к пептиду в положении 320Lys; или указанный заместитель присоединен к пептиду в положении
 10 321Lys; или указанный заместитель присоединен к пептиду в положении 322Lys; или указанный заместитель присоединен к пептиду в положении 323Lys; или указанный заместитель присоединен к пептиду в положении 324Lys; или указанный заместитель присоединен к пептиду в положении 325Lys; или указанный заместитель присоединен к пептиду в положении 326Lys; или указанный заместитель присоединен к пептиду в
 15 положении 328Lys; или указанный заместитель присоединен к пептиду в положении 329Lys; или указанный заместитель присоединен к пептиду в положении 330Lys; или указанный заместитель присоединен к пептиду в положении 332Lys; или указанный заместитель присоединен к пептиду в положении 333Lys.

В одном варианте реализации, где производное согласно настоящему
 20 изобретению содержит два заместителя, указанные заместители могут быть присоединены к пептиду по N-концу и любому из вышеупомянутых положений Lys, например, 293Lys, 309Lys, 313Lys, 324Lys, 328Lys, 330Lys, 332Lys и 333Lys.

В дополнительных вариантах реализации, где производное содержит два заместителя, они могут быть присоединены к двум разным остаткам Lys, например,
 25 любой из следующих пар остатков Lys:

- | | |
|--------------------|---------------------|
| i. 293K и 294K, | xiv. 313K и 321K, |
| ii. 293K и 312K, | xv. 313K и 324K, |
| iii. 293K и 333K, | xvi. 313K и 328K, |
| iv. 309K и 313K, | xvii. 313K и 332K, |
| v. 309K и 324K, | xviii. 313K и 333K, |
| vi. 309K и 328K, | xix. 314K и 333K, |
| vii. 309K и 332K, | xx. 321K и 332K, |
| viii. 309K и 333K, | xxi. 321K и 333K, |
| ix. 311K и 313K, | xxii. 324K и 333K, |
| x. 312K и 333K, | xxiii. 324K и 328K, |

- | | | | |
|-------|--------------|-------|---------------|
| xi. | 312K и 313K, | xxiv. | 328K и 333K, |
| xii. | 312K и 314K, | xxv. | 330K и 333K и |
| xiii. | 313K и 314K, | xxvi. | 332K и 333K. |

В одном варианте реализации указанные два заместителя присоединены к 333Lys и Lys, выбранному из 293Lys, 309Lys, 312Lys, 313Lys, 314Lys, 321Lys, 324Lys, 328Lys, 330Lys и 332Lys.

- 5 В одном варианте реализации указанные два заместителя присоединены к 333Lys и Lys, выбранному из 312Lys, 313Lys, 314Lys, 321Lys, 324Lys, 328Lys и 330Lys.

В одном варианте реализации указанные два заместителя присоединены к 333Lys и Lys, выбранному из 313Lys, 324Lys и 328Lys.

- 10 Как описано выше, пептид может содержать одну или более аминокислотных замен, которые могут составлять комбинации с конкретными аминокислотными остатками в конкретных положениях, описанных в настоящем документе. Такие конкретные аминокислотные остатки могут быть аминокислотными остатками дикого типа, которые необходимо сохранить, например, остатками цистеина, которые могут в
- 15 ряде предпочтительных вариантов реализации, например, в комбинации с другими особенностями, описанными в настоящем документе, присутствовать в аналоге пептида. В таких вариантах реализации аналог пептида содержит три дисульфидных мостика в положениях 297Cys-308Cys, 304Cys-317Cys и 319Cys-331Cys. В
- 20 дополнительном примере таких вариантов реализации аналог пептида производного пептида содержит три дисульфидных мостика в положениях 297Cys-308Cys, 304Cys-317Cys и 319Cys-331Cys и по меньшей мере один заместитель, причем указанный(-е) заместитель(-и) не присоединен(-ы) к положениям, выбранным из 295, 296, 298, 301, 302 и 307 указанного аналога пептида. Специалист в данной области должен
- 25 объединить с информацией о положении и природе заместителя для задания различных характерных вариантов реализации настоящего изобретения.

В одном варианте реализации аналог пептида не содержит Lys в других положениях, кроме положений, с которыми связан заместитель.

- 30 В одном варианте реализации соединения согласно настоящему изобретению содержат один заместитель, причем указанный заместитель присоединен либо к положению на N-конце, либо к Lys в любом положении, и аналог пептида не содержит Lys во всех других положениях. В одном варианте реализации соединения согласно

настоящему изобретению содержат один заместитель, причем указанный заместитель присоединен к Lys в любом положении, кроме положения 312, и аналог пептида содержит Arg в положении 312Arg.

В одном варианте реализации соединения согласно настоящему изобретению
5 содержат два заместителя, и аналог пептида не содержит Lys в других положениях, кроме положений, по которым присоединены заместители.

В одном варианте реализации производное EGF(A) согласно настоящему изобретению выбрано из группы производных EGF(A), состоящей из примеров 1-47, 51-102 и 106-159, описанных в WO2017/121850.

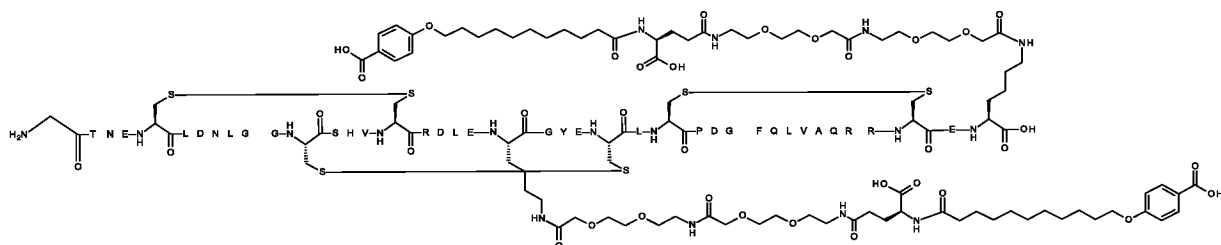
10 В дополнительных вариантах реализации производное EGF(A) согласно настоящему изобретению отдельно выбрано из группы производных EGF(A), состоящей из примеров 1-47, 51-102 и 106-159, описанных в WO2017/121850.

В одном варианте реализации производное EGF(A) согласно настоящему изобретению выбрано из группы производных EGF(A), состоящей из примеров 1-44,
15 46-47, 51-55, 57, 60-64, 66-69, 71-102 и 106-159, описанных в WO2017/121850.

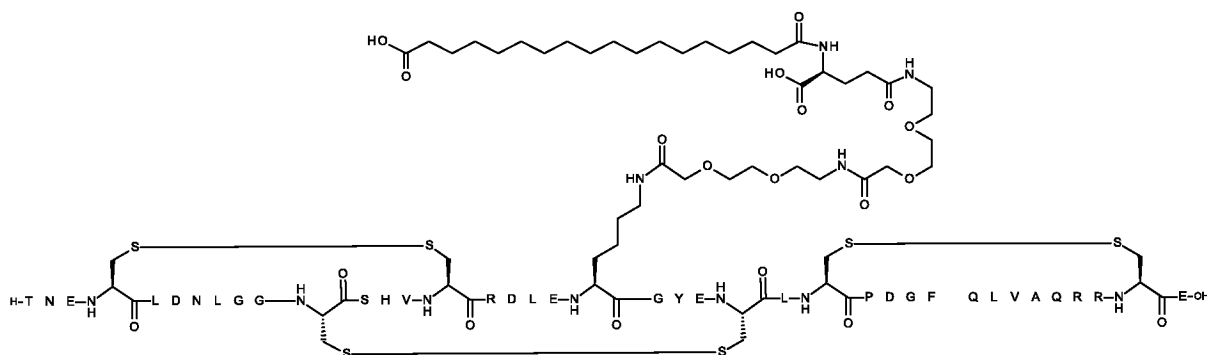
В одном варианте реализации производное EGF(A) согласно настоящему изобретению выбрано из группы производных EGF(A), состоящей из примеров 31, 95, 128, 133, 143, 144, 150, 151, 152 и 153, описанных в WO2017/121850 и обладающих структурой, показанной ниже.

Структура

31.

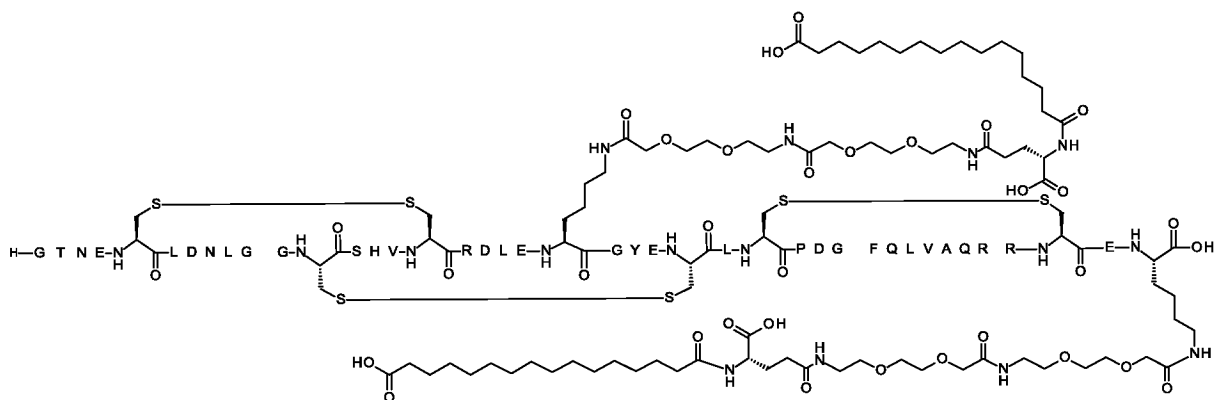


95%

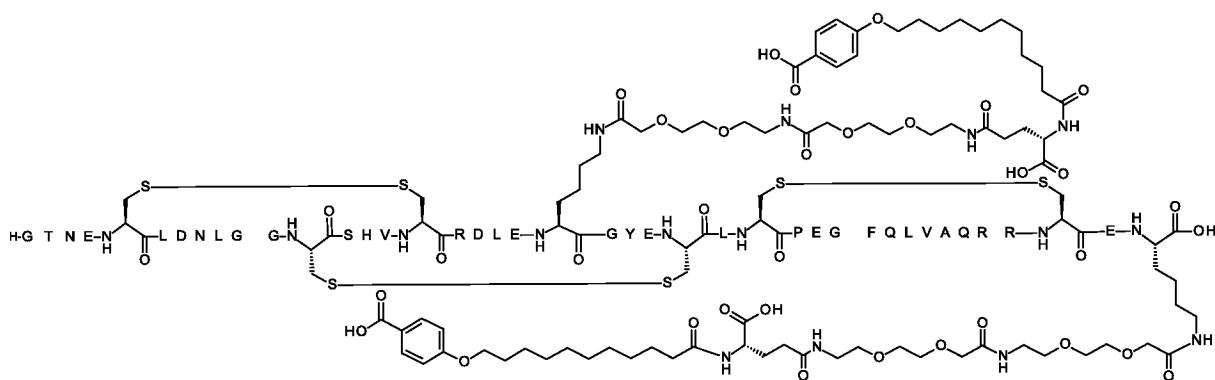


Структура

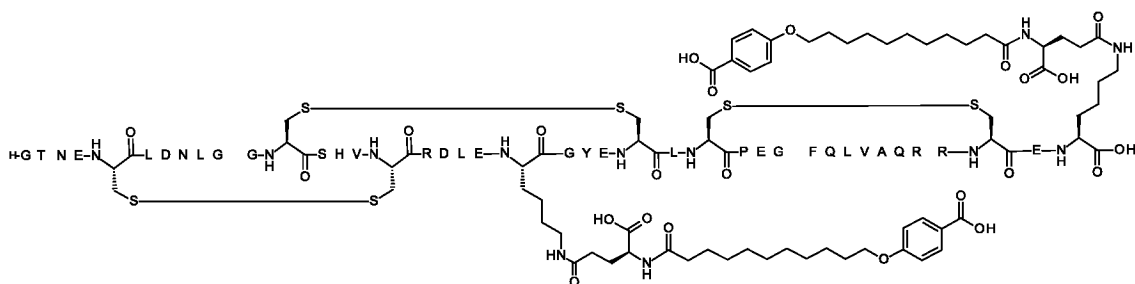
128.



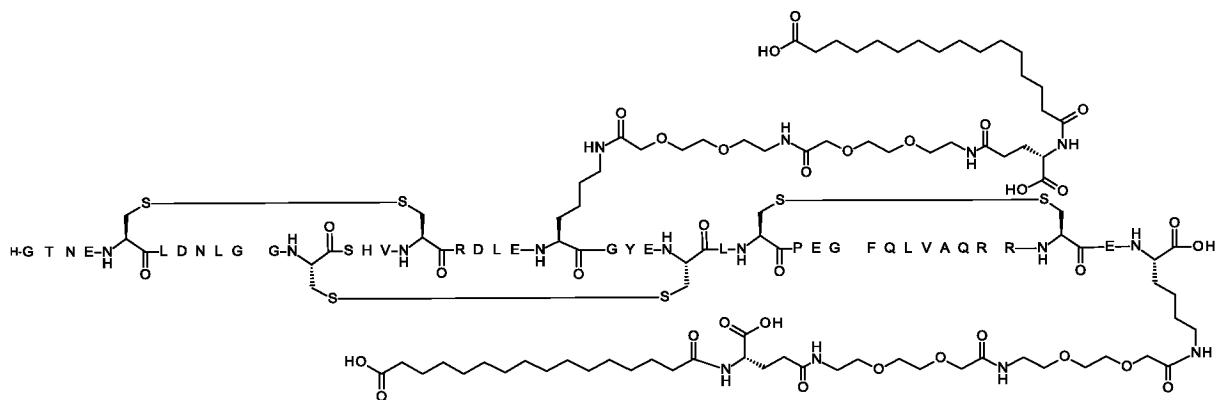
133.



143.

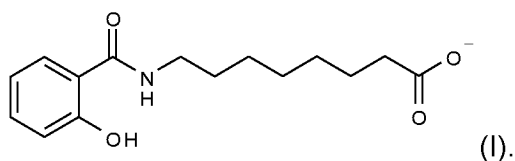


144.



Соль N-(8-(2-гидроксibenzoил)амино)каприловой кислоты

Средство доставки, используемое в настоящем изобретении, представляет собой соль N-(8-(2-гидроксibenzoил)амино)каприловой кислоты (NAC). Структурная формула N-(8-(2-гидроксibenzoил)амино)каприлата показана в виде формулы (I).



В некоторых вариантах реализации соль N-(8-(2-

гидроксibenзоил)амино)каприловой кислоты включает один одновалентный катион, два одновалентных катиона или один двухвалентный катион. В некоторых вариантах

5 реализации соль N-(8-(2-гидроксibenзоил)амино)каприловой кислоты выбрана из группы, состоящей из натриевой соли, калиевой соли и/или кальциевой соли N-(8-(2-гидроксibenзоил)амино)каприловой кислоты. В одном варианте реализации соль N-(8-(2-гидроксibenзоил)амино)каприловой кислоты выбрана из группы, состоящей из натриевой соли, калиевой соли и/или аммониевой соли. В одном варианте реализации

10 соль N-(8-(2-гидроксibenзоил)амино)каприловой кислоты представляет собой натриевую соль или калиевую соль. В одном варианте реализации соль N-(8-(2-гидроксibenзоил)амино)каприловой кислоты выбрана из группы, состоящей из натриевой соли и аммониевой соли. Соли N-(8-(2-гидроксibenзоил)амино)каприлата можно получать с помощью способа, описанного, например, в WO96/030036,

15 WO00/046182, WO01/092206 или WO2008/028859.

Соль N-(8-(2-гидроксibenзоил)амино)каприловой кислоты может быть кристаллической и/или аморфной. В некоторых вариантах реализации средство доставки предусматривает ангидрат, моногидрат, дигидрат, тригидрат, сольват или гидрат соли N-(8-(2-гидроксibenзоил)амино)каприловой кислоты в количестве одной

20 трети, а также их комбинации. В некоторых вариантах реализации средство доставки представляет собой соль N-(8-(2-гидроксibenзоил)амино)каприловой кислоты, описанную в WO2007/121318.

В некоторых вариантах реализации средство доставки представляет собой N-(8-(2-гидроксibenзоил)амино)каприлат натрия (называемый в настоящем документе «SNAC»), также известный как 8-(салицилоиламино)октаноат натрия.

25

Композиция

Композиция или фармацевтическая композиция согласно настоящему изобретению представляет собой твердую или сухую композицию, подходящую для

30 перорального введения, как дополнительно описано ниже в настоящем документе.

В некоторых вариантах реализации композиция содержит по меньшей мере одно фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество. Используемый в настоящем документе термин «вспомогательное вещество» в широком смысле

относится к любому компоненту, отличному от активного(-ых) терапевтического(-их) ингредиента(-ов) или активного(-ых) фармацевтического(-их) ингредиента(-ов) (API). Вспомогательное вещество может представлять собой фармацевтически инертное вещество, неактивное вещество и/или вещество, неактивное с терапевтической или

5 медицинской точки зрения.

Вспомогательные вещества могут служить для различных целей, например, в качестве носителя, среды-носителя, наполнителя, связующего, смазывающего вещества, вещества, способствующего скольжению, разрыхлителя, средства контроля потока, ингибиторов кристаллизации, солюбилизатора, стабилизатора, красящего

10 средства, ароматизатора, поверхностно-активного вещества, эмульгатора, средства доставки, гидротропа или их комбинаций, и/или для улучшения введения и/или всасывания терапевтически активного(-ых) вещества(веществ) или активного(-ых) фармацевтического(-их) ингредиента(-ов). Как описано в настоящем документе, соль N-(8-(2-гидроксibenзоил)амино)каприловой кислоты является вспомогательным

15 веществом, действующим в качестве средства доставки. Количество каждого используемого вспомогательного вещества может варьироваться в диапазонах, традиционных в данной области техники. Методики и вспомогательные вещества, которые можно использовать для составления лекарственных форм для перорального применения, описаны в Handbook of Pharmaceutical Excipients, 8th edition, Sheskey et

20 al., Eds., American Pharmaceuticals Association and the Pharmaceutical Press, publications department of the Royal Pharmaceutical Society of Great Britain (2017); и Remington: the Science and Practice of Pharmacy, 22nd edition, Remington and Allen, Eds., Pharmaceutical Press (2013).

В некоторых вариантах реализации вспомогательные вещества можно

25 выбирать из **связующих**, например, поливинилпирролидона (повидона) и т. д.; **наполнителей**, например, порошка целлюлозы, микрокристаллической целлюлозы, производных целлюлозы, например, гидроксиметилцеллюлозы, гидроксипропилцеллюлозы, гидроксипропилметилцеллюлозы, двухосновного фосфата кальция, кукурузного

30 крахмала, прежелатинизированного крахмала и т. д.; **смазывающих веществ** и/или **веществ, способствующих скольжению**, например, стеариновой кислоты, стеарата магния, стеарилфумарата натрия, глицеринтрибегената и т. д.; **средств контроля потока**, например, коллоидного диоксида кремния, талька и т. д.; **ингибиторов кристаллизации**, например, повидона и т. д.; **солюбилизаторов**, например,

35 плюроники, повидона и т. д.; **красящих средств**, включая красители и пигменты,

например, оксид железа красный или желтый, диоксид титана, тальк и т. д.; **средств контроля pH**, например, лимонной кислоты, винной кислоты, фумаровой кислоты, цитрата натрия, двухосновного фосфата кальция, двухосновного фосфата натрия и т. д.; **поверхностно-активных веществ и эмульгаторов**, например, плуроника, полиэтиленгликолей, карбоксиметилцеллюлозы натрия, полиэтоксипированного и гидрогенизированного касторового масла и т. д.; и смесей двух или более из этих вспомогательных веществ и/или адъювантов.

Композиция может содержать **связующее**, например, повидон; разновидности крахмала; разновидности целлюлозы и их производные, например, микрокристаллическую целлюлозу, например, Avicel PH от FMC (Филадельфия, штат Пенсильвания, США), гидроксипропилцеллюлозу, гидроксилэтилцеллюлозу и гидроксилпропилметилцеллюлозу METHOCEL от Dow Chemical Corp. (Мидленд, штат Мичиган, США); сахарозу; декстрозу; кукурузную патоку; полисахариды и желатин. **Связующее** можно выбрать из группы, состоящей из сухих связующих и/или связующих для влажного гранулирования. Подходящие сухие связующие представляют собой, например, порошок целлюлозы и микрокристаллическую целлюлозу, например, Avicel PH 102 и Avicel PH 200. В некоторых вариантах реализации композиция содержит Avicel, например, Avicel PH 102. Подходящие связующие для влажного гранулирования или сухого гранулирования представляют собой кукурузный крахмал, поливинилпирролидон (повидон), сополимер винилпирролидона-винилацетата (коповидон) и производные целлюлозы, например, гидроксиметилцеллюлозу, гидроксилэтилцеллюлозу, гидроксипропилцеллюлозу и гидроксилпропилметилцеллюлозу. В некоторых вариантах реализации композиция содержит повидон.

В некоторых вариантах реализации композиция содержит **наполнитель**, который можно выбрать из лактозы, маннита, эритрита, сахарозы, сорбита, фосфата кальция, например, гидрофосфата кальция, микрокристаллической целлюлозы, порошкообразной целлюлозы, кондитерского сахара, прессованного сахара, декстратов, декстрина и декстрозы. В некоторых вариантах реализации композиция содержит микрокристаллическую целлюлозу, например, Avicel PH 102 или Avicel PH 200.

В некоторых вариантах реализации композиция содержит смазывающее вещество и/или вещество, способствующее скольжению. В некоторых вариантах реализации композиция содержит **смазывающее вещество и/или вещество, способствующее скольжению**, например, тальк, стеарат магния, стеарат кальция,

стеарат цинка, глицерилбегенат, глицерилдибегенат, бегеноилполиоксил-8-глицериды, полимеры полиэтиленоксида, лаурилсульфат натрия, лаурилсульфат магния, олеат натрия, стеарилфумарат натрия, стеариновую кислоту, гидрогенизированные растительные масла, диоксид кремния и/или полиэтиленгликоль и т. д. В некоторых вариантах реализации композиция содержит стеарат магния или глицерилдибегенат (например, продукт Compritol® 888 АТО, состоящий из сложных моно-, ди- и триэфиров бегеновой кислоты (C22), с преобладанием фракции сложных диэфиров).

В некоторых вариантах реализации композиция содержит **разрыхлитель**, например, крахмалгликолят натрия, полакрилин калия, крахмалгликолят натрия, кросповидон, кроскармеллозу, карбоксиметилцеллюлозу натрия или высушенный кукурузный крахмал.

Композиция может содержать одно или более **поверхностно-активных веществ**, например, поверхностно-активное вещество, по меньшей мере одно поверхностно-активное вещество или два различных поверхностно-активных вещества. Термин «поверхностно-активное вещество» относится к любым молекулам или ионам, содержащим водорастворимую (гидрофильную) часть и жирорастворимую (липофильную) часть. Например, поверхностно-активное вещество можно выбрать из группы, состоящей из анионных поверхностно-активных веществ, катионных поверхностно-активных веществ, неионогенных поверхностно-активных веществ и/или цвиттер-ионных поверхностно-активных веществ.

Гидротроп

Один аспект настоящего изобретения относится к композиции, содержащей ингибитор PCSK9 и усилитель всасывания или средство доставки и гидротроп. Композиция согласно настоящему изобретению дополнительно содержит один или более гидротропов. Гидротропы, подобно поверхностно-активному веществу, включают как гидрофильную часть, так и гидрофобную часть и могут образовывать мицеллы и самоагрегировать, однако они сольбилизируют растворенные вещества без мицеллярной сольбилизации. Авторы настоящего изобретения обнаружили, что поглощение ингибитора PCSK9 и, таким образом, его воздействие в плазме крови можно увеличить путем включения гидротропа в композиции. Безотносительно к теоретическим представлениям предполагается, что гидротроп повышает растворимость средства для доставки, например, соли NAC, как показано в настоящем документе на примере SNAC. Как показано в настоящем документе с помощью анализа VI, гидротропы могут повышать растворимость SNAC в воде.

В одном варианте реализации гидротроп способен повышать растворимость SNAC. В одном варианте реализации гидротроп способен повышать растворимость соли NAC, например, SNAC, по меньшей мере в 2 раза при концентрации 200 мг/мл и pH 6 при комнатной температуре. В дополнительных вариантах реализации гидротроп

5 повышает растворимость соли NAC, например, SNAC, по меньшей мере в 3, 4 или 5 раз при измерении, описанном в анализе VI в настоящем документе. В дополнительном варианте реализации гидротроп повышает растворимость SNAC по меньшей мере в 5 раз, например, в 8 раз или в 10 раз при измерении, описанном в анализе VI.

10 В одном варианте реализации гидротроп или гидротропы выбраны из группы, состоящей из: нипекотамида, никотинамида, соли натрия и п-гидроксibenзойной кислоты, N,N-диметилмочевины, N,N-диметилбензамида, N,N-диэтилникотинамида, салицилата натрия, резорцина, бензоата натрия, ксилолсульфоната натрия, п-толуолсульфоната натрия, 1-метилникотинамида, пирогаллола, пирокатехола, галлата

15 эпигаллокатехина, дубильной кислоты и гидрата соли натрия и гентизиновой кислоты.

В одном варианте реализации гидротроп или гидротропы выбраны из группы, состоящей из: никотинамида, соли натрия и п-гидроксibenзойной кислоты, N,N-диметилмочевины, N,N-диметилбензамида, N,N-диэтилникотинамида, салицилата натрия, резорцина, бензоата натрия, ксилолсульфоната натрия, п-толуолсульфоната

20 натрия, 1-метилникотинамида, пирогаллола, пирокатехина, галлата эпигаллокатехина, и гидрата соли натрия и гентизиновой кислоты.

В одном варианте реализации гидротроп или гидротропы выбраны из группы, состоящей из: никотинамида, N,N-диметилбензамида, N,N-диэтилникотинамида, резорцина, бензоата натрия, ксилолсульфоната натрия, п-толуолсульфоната натрия,

25 1-метилникотинамида, пирогаллола, пирокатехола и гидрата соли натрия и гентизиновой кислоты.

В одном варианте реализации гидротроп или гидротропы выбраны из группы, состоящей из: : резорцина, пирокатехола, N,N-диметилбензамида, пирогаллола, никотинамида, дубильной кислоты, галлата эпигаллокатехина, N,N-

30 диэтилникотинамида, гидрата соли натрия и гентизиновой кислоты, N,N-диметилмочевины, 1-метилникотинамида, ксилолсульфоната натрия, п-толуолсульфоната натрия, салицилата натрия, нипекотамида, соли натрия и п-гидроксibenзойной кислоты и бензоата натрия.

В одном варианте реализации гидротроп или гидротропы выбраны из группы,

35 состоящей из: : резорцина, пирокатехола, N,N-диметилбензамида, пирогаллола,

никотинамида, дубильной кислоты, галлата эпигаллокатехина, N,N-диэтилникотинамида, гидрата соли натрия и гентизиновой кислоты, N,N-диметилмочевины, 1-метилникотинамида, ксилосульфоната натрия и п-толуолсульфоната натрия.

5 В одном варианте реализации гидротроп или гидротропы выбраны из группы, состоящей из: резорцина, пирокатехола, N,N-диметилбензамида, пирогаллола, никотинамида, дубильной кислоты, галлата эпигаллокатехина и N,N-диэтилникотинамида.

10 В одном варианте реализации гидротроп или гидротропы выбраны из группы, состоящей из: резорцина, пирокатехола, N,N-диметилбензамида, пирогаллола и никотинамида.

В одном варианте реализации молекулярная масса гидротропа составляет не более 400 г/моль или, например, не более 250 г/моль.

15 В одном варианте реализации молекулярная масса гидротропа составляет по меньшей мере 80 г/моль или, например, по меньшей мере 100 г/моль

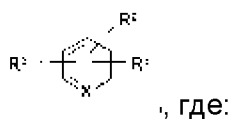
В одном варианте реализации гидротроп содержит ароматическую кольцевую структуру.

20 В одном варианте реализации гидротроп обладает молекулярной структурой, сходной с молекулярной структурой никотинамида и резорцина, каждый из которых содержит ароматическую кольцевую структуру.

В настоящее изобретение также входит физиологически приемлемая соль вышеприведенного соединения, например, соль натрия, калия, хлорид или сульфат.

В одном варианте реализации один или более гидротропов обладают структурой Chem I

25 Chem I:



X представляет собой CH или N,

R¹, R² и R³ независимо выбраны из: -H, -OH, -CO₂H, -CON(R⁴)₂, -SO₃H и -CH₃, где R⁴ представляет собой -H, -CH₃ или -CH₂-CH₃

30 или его физиологически приемлемую соль.

В одном варианте реализации, где структура представляет собой Chem 1,

X представляет собой CH или N,

R^1 выбран из $-\text{OH}$, $-\text{SO}_3\text{H}$ и $\text{CON}(\text{R}^4)_2$, где R^4 представляет собой $-\text{H}$, $-\text{CH}_3$ или $-\text{CH}_2-\text{CH}_3$,

R^2 выбран из $-\text{OH}$ и $-\text{H}$ и

R^3 выбран из: $-\text{H}$, $-\text{OH}$ и $-\text{CH}_3$ или их физиологически приемлемой соли.

5

В одном варианте реализации гидротроп обладает структурой Chem I, где

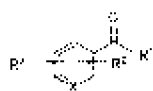
X представляет собой CH,

R^1 выбран из: $-\text{OH}$ и $-\text{SO}_3\text{H}$,

10 R^2 и R^3 независимо выбраны из: $-\text{H}$, $-\text{OH}$ и $-\text{CH}_3$ или их физиологически приемлемой соли.

В одном варианте реализации один или более гидротропов обладают структурой Chem II

Chem II :



15

, где:

X представляет собой CH или N

R^2 и R^3 независимо выбраны из: $-\text{H}$, $-\text{OH}$ и $-\text{CH}_3$

R^5 выбран из: $-\text{OH}$ и $\text{N}(\text{R}^4)_2$, где R^4 представляет собой $-\text{H}$, $-\text{CH}_3$ или $-\text{CH}_2-\text{CH}_3$ или его физиологически приемлемой соли.

20

В дополнительном варианте реализации один или более гидротропов обладают структурой Chem II, где

X представляет собой CH

R^5 представляет собой $-\text{OH}$ и

25 R^2 и R^3 независимо выбраны из: $-\text{OH}$ и $-\text{H}$ или их физиологически приемлемой соли.

В дополнительном варианте реализации один или более гидротропов обладают структурой Chem II, заданной выше, при условии, что гидротроп не представляет собой бензоат натрия.

30

В дополнительном варианте реализации один или более гидротропов обладают структурой Chem II, где

X представляет собой N,

R^5 выбран из: $-\text{OH}$ и $\text{N}(\text{R}^4)_2$, где R^4 представляет собой $-\text{H}$, $-\text{CH}_3$ или $-\text{CH}_2-\text{CH}_3$

R^2 и R^3 независимо выбраны из: -H, -OH и -CH₃ или их физиологически приемлемой соли.

В дополнительном варианте реализации один или более гидротропов обладают структурой Chem II, где

X представляет собой N,

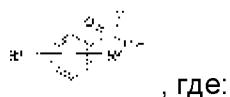
R^5 представляет собой NH₂ и

R^2 и R^3 независимо выбраны из: -H, -OH и -CH₃ или их физиологически приемлемой соли.

10

В одном варианте реализации один или более гидротропов обладают структурой Chem III

Chem III:



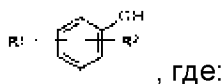
, где:

15

R^2 и R^3 независимо выбраны из -H и -CH₃.

В одном варианте реализации один или более гидротропов обладают структурой Chem IV

Chem IV:



, где:

20

R2 и R3 независимо выбраны из: -H и -OH.

В одном варианте реализации гидротроп или гидротропы выбраны из группы, состоящей из: резорцина, пирокатехола, пирогаллола, гентизиновой кислоты, ксилолсульфоната, п-толуолсульфоната, никотинамида, диметилбензамида, диэтилбензамида, 1-метилникотинамида, салицикловой кислоты, п-гидроксибензойной кислоты и бензоата.

25

В одном варианте реализации гидротроп или гидротропы выбраны из группы, состоящей из: резорцина, пирокатехола, пирогаллола, гентизиновой кислоты, ксилолсульфоната, п-толуолсульфоната, никотинамида, диметилбензамида, диэтилбензамида, 1-метилникотинамида, салициловой кислоты и п-гидроксибензойной кислоты.

30

В одном варианте реализации гидротроп или гидротропы выбраны из группы, состоящей из: резорцина, пирокатехола и пирогаллола,

В одном варианте реализации гидротроп или гидротропы выбраны из группы, состоящей из: ксилолсульфоната и п-толуолсульфоната

5 В одном варианте реализации гидротроп или гидротропы выбраны из группы, состоящей из: никотинамида, диметилбензамида, диэтилбензамида и 1-метилникотинамида,

В одном варианте реализации гидротроп или гидротропы выбраны из группы, состоящей из: гентизиновой кислоты, салициловой кислоты, п-гидроксibenзойной
10 кислоты и бензоата.

В одном варианте реализации гидротроп или гидротропы выбраны из группы, состоящей из: гентизиновой кислоты, салициловой кислоты и п-гидроксibenзойной кислоты.

В одном варианте реализации гидротроп или гидротропы представляют собой
15 никотинамид и/или резорцин. В одном варианте реализации гидротроп представляет собой никотинамид.

В одном варианте реализации гидротроп не является бензоатом натрия.

Как показано в примерах в настоящем документе, композиция согласно настоящему изобретению содержит ингибитор PCSK9, средство доставки и гидротроп.

20 Описание, приведенное ниже, также относится к композициям, состоящим из конкретных ингредиентов, ингибитора PCSK9, средства доставки и гидротропа и, необязательно, смазывающего вещества, причем термин «состоящий» следует понимать как все же охватывающий следовые количества любого вещества, не оказывающего влияния на функцию композиции. Такие вещества могут представлять
25 собой примеси, остающиеся после получения ингибитора PCSK9, получения соли NAC, получения гидротропа, или минимальные количества любого фармацевтически приемлемого вспомогательного вещества, не оказывающего влияния на качество или всасывание состава.

В одном варианте реализации фармацевтическая композиция содержит
30 сбалансированное количество гидротропа относительно количества средства для доставки. Эффект гидротропа наблюдали в диапазоне концентраций.

В одном варианте реализации соотношение соль NAC/гидротроп (масс./масс.) составляет по меньшей мере 0,5, например, по меньшей мере 0,75 или, например, по меньшей мере 1.

В одном варианте реализации соотношение соль NAC/гидротроп (масс./масс.) составляет 0,5-10,0 или, например, 0,5-8 или, например, 0,5-5.

В одном варианте реализации соотношение соль NAC/гидротроп (масс./масс.) составляет 0,5-10,0 или, например, 0,75-10,0, 0,5-8,0 или 1-2,0.

5 В одном варианте реализации соотношение SNAC/никотинамид (масс./масс.) составляет по меньшей мере 0,5, например, по меньшей мере 0,75, например, по меньшей мере 1.

В одном варианте реализации соотношение соли SNAC/никотинамид (масс./масс.) составляет 0,5-10,0 или, например, 0,5-8, или, например, 0,5-5.

10 В одном варианте реализации соотношение соли SNAC/никотинамид (масс./масс.) составляет 0,5-10,0 или, например, 0,75-10,0, 0,5-8,0 или 1-2,0.

В одном варианте реализации соотношение SNAC/резорцин (масс./масс.) составляет по меньшей мере 0,5, например, по меньшей мере 0,75, например, по меньшей мере 1. В одном варианте реализации соотношение соль SNAC/резорцин
15 (масс./масс.) составляет 0,5-10,0 или, например, 0,75-10,0, 0,5-8,0 или, например, 1-2,0.

В одном варианте реализации соотношение гидротроп/соль NAC (масс./масс.) составляет по меньшей мере 0,1, например, по меньшей мере 0,2 или, например, по меньшей мере 0,3. В одном варианте реализации соотношение гидротроп/соль NAC (масс./масс.) составляет 0,1-5,0 или, например, 0,1-4,0, 0,2-3,0 или 0,25-2,0.

20 В одном варианте реализации соотношение никотинамид/SNAC/ (масс./масс.) составляет по меньшей мере 0,1-5,0 или, например, 0,1-4,0, 0,2-3,0 или 0,25-2,0. В одном варианте реализации соотношение никотинамид/SNAC (масс./масс.) составляет 0,1-5,0 или, например, 0,1-4,0, 0,2-3,0 или 0,25-2,0.

В одном варианте реализации соотношение резорцин/SNAC/ (масс./масс.)
25 составляет по меньшей мере 0,1-5,0 или, например, 0,1-4,0, 0,2-3,0 или 0,25-2,0. В одном варианте реализации соотношение резорцин/SNAC (масс./масс.) составляет 0,1-5,0 или, например, 0,1-4,0, 0,2-3,0 или 0,25-2,0.

В одном варианте реализации количество смазывающего средства можно рассматривать относительно общего количества других вспомогательных веществ, в
30 данном случае гидротропа и средства для доставки, а также без включения активного фармацевтического ингредиента - ингибитора PCSK9. Обычно включают относительно небольшие количества смазывающего средства, например, менее 5% от общей массы других вспомогательных веществ.

В одном варианте реализации композиция содержит менее 5% (масс./масс.)
35 средства доставки и гидротропа. В одном варианте реализации композиция содержит

0,15-5%, например, 0,25-4% (масс./масс.) смазывающего средства от общего количества средства для доставки и гидротропа. В дополнительных вариантах реализации композиция содержит 0,15-5%, например, 0,25-4% (масс./масс.) смазывающего вещества от количества соли NAC, например, SNAC, и никотинамида или резорцина.

Фармацевтическую композицию в соответствии с настоящим изобретением предпочтительно получают в виде лекарственной формы, подходящей для перорального введения, как описано ниже в настоящем документе. Далее приведены абсолютные количества ингредиентов композиции согласно настоящему изобретению со ссылкой на содержание в стандартной дозе, т. е. на таблетку, капсулу или саше.

В дополнительном варианте реализации фармацевтические композиции согласно настоящему изобретению могут содержать не более 1000 мг указанной соли N-(8-(2-гидроксibenзоил)амино)каприловой кислоты на единицу дозы. В одном варианте реализации настоящее изобретение относится к композиции, где единица дозы содержит не более 600 мг указанной соли.

В некоторых вариантах реализации количество соли N-(8-(2-гидроксibenзоил)амино)каприловой кислоты на единицу дозы составляет по меньшей мере 0,05 ммоль, например, по меньшей мере 0,075 ммоль, например, по меньшей мере 0,1 ммоль, например, по меньшей мере 0,125 ммоль, например, по меньшей мере 0,15 ммоль, например, количество, выбранное из группы, состоящей из по меньшей мере 0,20 ммоль, по меньшей мере 0,25 ммоль, по меньшей мере 0,30 ммоль, по меньшей мере 0,35 ммоль, по меньшей мере 0,40 ммоль, по меньшей мере 0,45 ммоль, по меньшей мере 0,50 ммоль, по меньшей мере 0,55 ммоль или по меньшей мере 0,60 ммоль.

В некоторых вариантах реализации количество соли N-(8-(2-гидроксibenзоил)амино)каприловой кислоты на единицу дозы композиции составляет до 3 ммоль, например, до 2,75 ммоль, например, до 2,5 ммоль, например, до 2,25 ммоль, например, 2 ммоль, например, до 1,5 ммоль, до 1 ммоль, до 0,75 ммоль, до 0,6 ммоль, до 0,5 ммоль, до 0,4 ммоль, до 0,3 ммоль и до 0,2 ммоль.

В некоторых вариантах реализации количество соли N-(8-(2-гидроксibenзоил)амино)каприловой кислоты на единицу дозы композиции находится в диапазоне 0,05-3 ммоль, 0,10-2,5 ммоль, 0,15-2,0 ммоль, 0,20-1,5 ммоль, 0,25-1,0 ммоль, 0,30-0,75 ммоль или, например, 0,45-0,65 ммоль.

В некоторых вариантах реализации количество SNAC в композиции составляет по меньшей мере 20 мг, например, по меньшей мере 25 мг, например, по меньшей мере 50 мг, например, по меньшей мере 75 мг, по меньшей мере 100 мг, по меньшей мере 125 мг, по меньшей мере 150 мг, по меньшей мере 175 мг, по меньшей мере 200 мг, по меньшей мере 225 мг, по меньшей мере 250 мг, по меньшей мере 275 мг и по меньшей мере 300 мг на единицу дозы.

В некоторых вариантах реализации количество SNAC в композиции составляет до 1000 мг, например, до 800 мг, например, до 600 мг, например, до 575 мг, например, до 550 мг, до 525 мг, до 500 мг, до 475 мг, до 450 мг, до 425 мг, до 400 мг, до 375 мг, до 350 мг, до 325 мг на единицу дозы или до 300 мг на единицу дозы.

В некоторых вариантах реализации количество SNAC в композиции находится в диапазоне 20-800 мг, например, 25-600 мг, например, 50-500 мг, например, 50-400 мг, например, 75-400 мг, например, 80-350 мг, например, от приблизительно 100 до приблизительно 300 мг на единицу дозы.

В одном варианте реализации, где соль NAC представляет собой SNAC, количество SNAC находится в диапазоне 20-200 мг, например, 25-175 мг, например, 75-150 мг, например, 80-120 мг, например, приблизительно 100 мг на единицу дозы.

В одном варианте реализации, где соль NAC представляет собой SNAC, количество SNAC находится в диапазоне 200-800 мг, например, 250-400 мг, например, 250-350 мг, например, 275-325 мг, например, приблизительно 300 мг на единицу дозы.

В одном варианте реализации единица дозы фармацевтических композиций согласно настоящему изобретению содержит 0,5-150 мг, 0,1-100 мг или от 0,2 до 100 мг ингибитора PCSK9.

В некоторых вариантах реализации единица дозы композиции содержит количество ингибитора PCSK9 в диапазоне 0,5-150 мг, 0,5-120 мг, 0,5-100 мг, 1-80 мг, 1-70 мг, 1-60, 1-50 мг или 1-40 мг.

В некоторых вариантах реализации единица дозы композиции содержит количество ингибитора PCSK9, находящееся в диапазоне 0,1 - 50 мг, от 0,2 до 50 мг, от 0,5 до 50 мг или от 1 до 40 мг.

В некоторых вариантах реализации единица дозы композиции содержит количество ингибитора PCSK9, находящееся в диапазоне 0,1 - 50 мг, 0,1 - 40 мг, 0,1 - 30 мг или 0,1 - 20 мг.

В некоторых вариантах реализации единица дозы содержит 1-50 мг ингибитора PCSK9, например, 0,75-40 мг, например, 10, 15, 20, 25 или 30 мг или 35, 40, 45 мг, например, 10-30 или 30-50 мг ингибитора PCSK9 на единицу дозы.

В некоторых вариантах реализации единица дозы содержит от 20 до 150 мг ингибитора PCSK9, например, 20-120 мг, например, 20-100 мг, например, 20-80 мг, например, 20, 30, 40, 50, 60, 70 или 80 мг, например, 20, 30, 40 или 50 мг, или, например, 80, 85, 90, 95 или 100 мг, или, например, 50 мг, или, например, 75 мг ингибитора PCSK9 на единицу дозы.

В некоторых вариантах реализации единица дозы содержит от 5 до 50 мг ингибитора PCSK9, например, 10-45 мг, например, 20, 30 или 40 мг, или, например, 25, 35 или 45 мг, или, например, 30-50 мг, или, например, 20-40 мг ингибитора PCSK9 на единицу дозы.

В таких дополнительных вариантах реализации единица дозы содержит от 2 до 20 мг ингибитора PCSK9, например, 2-15 мг, например, 2, 3, 4 или 5 мг, или, например, 8, 10, 12 или 14 мг, например, 15 мг, или, например, 20 мг ингибитора PCSK9 на единицу дозы.

В некоторых вариантах реализации единица дозы содержит 0,5-5 мг ингибитора PCSK9, например, 0,75-4 ½ мг, например, 1, 1 ½, 2, 2 ½ или 3 мг или 3 ½, 4, 4 ½ мг, например, 1-3 или 3-5 мг ингибитора PCSK9 на единицу дозы.

Количество ингибитора PCSK9 может варьироваться в зависимости от природы ингибитора PCSK9 и желательного эффекта.

В предпочтительном варианте реализации единица дозы композиции содержит 0,5-50 мг стеарата магния, например, 0,10-25 мг, например, 0,25-10 мг, например, 0,5-8 мг или, например, 0,5-5 мг стеарата магния.

Как описано выше, количество гидротропа должно быть сбалансировано с количеством средств доставки, например, SNAC, но в целом единица дозы композиций согласно настоящему изобретению содержит 10-600 мг гидротропа.

В одном варианте реализации единица дозы содержит 20-400 мг, например, 40-300, например, 50-200 мг, например, 50-175 мг гидротропа.

В одном варианте реализации единица дозы содержит 100-600 мг, например, 100-500, например, 150-400 мг, например, 150-300 мг гидротропа.

В дополнительных таких вариантах реализации единица дозы композиции в соответствии с настоящим изобретением содержит 50-600 мг никотинамида и/или резорцина.

В одном варианте реализации единица дозы содержит 50-400 мг, например, 50-300, например, 50-200 мг, например, 50-175 мг никотинамида и/или резорцина.

В дополнительных таких вариантах реализации стандартная доза композиции в соответствии с настоящим изобретением содержит 50-600 мг никотинамида. В одном варианте реализации единица дозы содержит 50-400 мг, например, 50-300, например, 50-200 мг, например, 50-175 мг никотинамида.

5 В предпочтительном варианте реализации количество стеарата магния определяют относительно количества соли NAC, например, SNAC, так что стандартная доза композиции содержит 0,25-10 мг, например, 0,25-8 мг, например, 0,5-5 мг или, например, 1-3 мг стеарата магния на 100 мг соли N-(8-(2-гидроксibenzoил)амино)каприловой кислоты, например, SNAC.

10

В предпочтительном варианте реализации стандартная доза композиции содержит 20-1000 мг SNAC, 0,5-100 мг ингибитора PCSK9, 10-600 мг гидротропа и 0,10-50 мг смазывающего вещества.

15 В предпочтительном варианте реализации стандартная доза композиции содержит 20-800 мг SNAC, 1,0-80 мг ингибитора PCSK9, 10-500 мг гидротропа и 0,10-40 мг смазывающего вещества.

В предпочтительном варианте реализации стандартная доза композиции содержит 40-800 мг SNAC, 2-50 мг ингибитора PCSK9, 20-400 мг гидротропа и 0,10-40 мг смазывающего вещества.

20 В предпочтительном варианте реализации стандартная доза композиции содержит 20-600 мг SNAC, 5-50 мг ингибитора PCSK9, 10-600 мг никотинамида и 0,10-30 мг смазывающего вещества.

25 В предпочтительном варианте реализации стандартная доза композиции содержит 20-500 мг SNAC, 5-50 мг ингибитора PCSK9, 10-500 мг никотинамида и 0,10-25 мг смазывающего вещества.

В предпочтительном варианте реализации стандартная доза композиции содержит 40-500 мг SNAC, 5-50 мг ингибитора PCSK9, 20-400 мг никотинамида и 0,10-25 мг смазывающего вещества.

30 В одном варианте реализации стандартная доза композиции в соответствии с настоящим изобретением содержит:

- i) 0,1-100 мг ингибитора PCSK9 и
- ii) 20-800 мг соли N-(8-(2-гидроксibenzoил)амино)каприловой кислоты (NAC), например, натриевой соли NAC (SNAC) и
- 35 iii) 20-600 мг гидротропа, например, 50-200 мг никотинамида или резорцина и

- iv) 0-20 мг смазывающего вещества.

В одном варианте реализации лекарственная форма композиции в соответствии с настоящим изобретением содержит:

- 5 i) 0,1-100 или 0,1-75 мг ингибитора PCSK9
- ii) 50-600 мг соли N-(8-(2-гидроксibenзоил)амино)каприловой кислоты (NAC), например, натриевой соли NAC (SNAC) и
- iii) 50-500 мг, например, 50-400 мг никотинамида или резорцина и
- iv) 0-20 мг смазывающего вещества.

10

Количество ингибитора PCSK9 может варьироваться в зависимости от природы ингибитора PCSK9 и желательного эффекта.

- 15 В предпочтительном варианте реализации стандартная доза композиции содержит 20-400 мг SNAC, 0,5-75 мг ингибитора PCSK9, 50-400 мг гидротропа и 0,25-3 мг смазывающего вещества.

В предпочтительном варианте реализации стандартная доза композиции содержит 20-400 мг SNAC, 1½ -50 мг ингибитора PCSK9, 50-400 мг никотинамида и 0,5-5 мг смазывающего вещества.

- 20 В предпочтительном варианте реализации стандартная доза композиции содержит 200-400 мг SNAC, 5-25 мг ингибитора PCSK9, 50-400 мг никотинамида и 1-5 мг смазывающего вещества.

- 25 В одном варианте реализации стандартная доза композиции в соответствии с настоящим изобретением содержит:

- i) 0,1-75 мг ингибитора PCSK9 и
- ii) 25-400 мг соли N-(8-(2-гидроксibenзоил)амино)каприловой кислоты (NAC), например, натриевой соли NAC (SNAC) и
- iii) 20-300 мг никотинамида или резорцина и
- 30 iv) 0-15 мг смазывающего вещества.

В предпочтительном варианте реализации стандартная доза композиции содержит 20-400 мг SNAC, 0,5-75 мг ингибитора PCSK9, 50-400 мг гидротропа и 0,25-8 мг смазывающего вещества.

В предпочтительном варианте реализации однократная доза композиции содержит 200-400 мг SNAC, 1-50 мг ингибитора PCSK9, 50-400 мг никотинамида и 0,5-8 мг смазывающего вещества.

5 В предпочтительном варианте реализации стандартная доза композиции содержит 200-400 мг SNAC, 5-25 мг ингибитора PCSK9, 50-400 мг никотинамида и 1-8 мг смазывающего вещества.

Количество ингибитора PCSK9 может варьироваться в зависимости от природы ингибитора PCSK9 и желательного эффекта.

10 В предпочтительном варианте реализации стандартная доза композиции содержит 80-120 мг SNAC, 0,5-50 мг ингибитора PCSK9, 20-200 мг гидротропа и 0,25-5 мг смазывающего вещества.

15 В предпочтительном варианте реализации стандартная доза композиции содержит 80-120 мг SNAC, 1 ½-40 мг ингибитора PCSK9, 20-200 мг гидротропа и 0,5-5 мг смазывающего вещества.

В предпочтительном варианте реализации стандартная доза композиции содержит 80-120 мг SNAC, 5-25 мг ингибитора PCSK9, 20-200 мг никотинамида и 0,5-5 мг смазывающего вещества.

20 В предпочтительном варианте реализации стандартная доза композиции содержит 80-120 мг SNAC, 0,5-50 мг ингибитора PCSK9, 20-200 мг гидротропа и 0,25-5 мг смазывающего вещества.

25 В предпочтительном варианте реализации стандартная доза композиции содержит 80-120 мг SNAC, 1 ½-40 мг ингибитора PCSK9, 20-200 мг гидротропа и 0,5-5 мг смазывающего вещества.

В предпочтительном варианте реализации стандартная доза композиции содержит 80-120 мг SNAC, 5-25 мг ингибитора PCSK9, 20-200 мг никотинамида и 0,5-5 мг смазывающего вещества.

30 В одном варианте реализации фармацевтическая композиция согласно настоящему изобретению быстро распадается или растворяется *in vitro*. Распад или растворение можно испытывать, как известно в данной области техники, например, с использованием анализа II или анализа III, описанных в настоящем документе.

35 Растворение или высвобождение можно выражать как количество ингибитора PCSK9, измеренное в растворе после указанного периода, относительно общего

содержания ингибитора PCSK9 в композиции. Относительное количество может быть указано в процентах.

В одном варианте реализации высвобождение ингибитора PCSK9 из фармацевтической композиции согласно настоящему изобретению составляет по меньшей мере 80% в течение 15 минут или по меньшей мере 95% в течение 30 минут. В одном таком варианте реализации высвобождение измеряют при pH 6,8.

В одном варианте реализации фармацевтическая композиция содержит

- i) ингибитор PCSK9,
- ii) соль N-(8-(2-гидроксibenзоил)амино)каприловой кислоты и
- iii) гидротроп,

причем высвобождение ингибитора PCSK9 достигает 85% в течение 15 минут или 95% в течение 30 минут. В одном варианте реализации высвобождение измеряют при pH 6,8.

Эксперименты продемонстрировали, что композиция согласно настоящему изобретению характеризуется быстрым растворением и воздействием в плазме, аналогичными ранее наблюдавшимся для семаглутида и других агонистов рецептора GLP-1 (PCT/EP2019/061502). Улучшенное воздействие ингибитора PCSK9 в плазме с использованием композиции согласно настоящему изобретению по сравнению с композицией ингибитора PCSK9/SNAC в соответствии с WO 2012/080471 и WO 2013/139694 показано в разделе "Примеры" в настоящем документе.

Лекарственная форма

Композицию можно вводить в виде нескольких лекарственных форм, например, таблетки; таблетки с покрытием; саше или капсулы, например, твердой капсулы или капсулы в мягкой желатиновой оболочке, и все такие композиции считаются твердыми пероральными лекарственными формами.

Композицию дополнительно можно составить с носителем лекарственного средства или системой доставки лекарственного средства, например, для увеличения стабильности и/или растворимости или дополнительного увеличения биодоступности. Композиция может представлять собой лиофилизированную или высушенную распылением композицию.

Композиция может находиться в форме стандартной дозы, например, таблетки. В некоторых вариантах реализации масса стандартной дозы находится в

диапазоне от 50 мг до 1000 мг, например, в диапазоне 50-750 мг или, например, в диапазоне 100-600 мг.

В некоторых вариантах реализации масса стандартной дозы находится в диапазоне от 75 мг до 400 мг. В одном варианте реализации масса стандартной дозы находится в диапазоне 100-400 мг, например, в диапазоне 100-300 мг или, например, в диапазоне 150-350 мг.

В одном варианте реализации масса стандартной дозы находится в диапазоне от 300 мг до 800 мг, например, в диапазоне 400-700 мг или, например, в диапазоне 500-600 мг.

В некоторых вариантах реализации композицию можно гранулировать перед уплотнением, т. е. прессованием в таблетки. Композиция может содержать гранулярную часть и/или внегранулярную часть, причем гранулярную часть подвергают гранулированию, а внегранулярную часть добавляют после гранулирования.

Гранулярная часть может содержать средство для доставки и/или гидротроп и/или ингибитор PCSK9. В одном варианте реализации гранулярная часть может содержать дополнительное вспомогательное вещество, например, смазывающее вещество и/или вещество, способствующее скольжению.

В одном варианте реализации внутригранулярная часть содержит средство доставки и смазывающее вещество и/или вещество, способствующее скольжению.

В одном варианте реализации гидротроп включен в гранулярную часть и/или внегранулярную часть.

В одном варианте реализации гранулярная часть включает средство для доставки и гидротроп.

В некоторых вариантах реализации внегранулярная часть содержит ингибитор PCSK9 и/или смазывающее вещество и/или вещество, способствующее скольжению, например, стеарат магния. В некоторых вариантах реализации внегранулярная часть содержит ингибитор PCSK9.

В некоторых вариантах реализации внегранулярная часть содержит вспомогательное вещество, например, смазывающее вещество и/или вещество, способствующее скольжению, например, стеарат магния.

В дополнительном варианте реализации гранулярная часть содержит средство для доставки и гидротроп, в то время как внегранулярная часть содержит ингибитор PCSK9 и смазывающее вещество и/или вещество, способствующее скольжению.

Получение композиции

Получение композиции в соответствии с настоящим изобретением можно осуществлять в соответствии со способами, известными в данной области техники.

Для получения сухой **смеси** материала для таблетирования различные компоненты необязательно протирают или просеивают, взвешивают, а затем объединяют. Смешивание компонентов можно осуществлять до получения однородной смеси.

Термины «гранулят» и «гранулы» используются в настоящем документе взаимозаменяемо для обозначения частиц материала композиции, которые можно получить, как описано выше. Данный термин в широком смысле относится к фармацевтическим ингредиентам в форме частиц, гранул и агрегатов, используемых при получении твердых лекарственных форм. Как правило, гранулы получают путем обработки порошка или смеси с получением твердого вещества, которое затем используют для получения гранул желательного размера.

Если в материале для таблетирования следует использовать гранулы, то указанные гранулы можно получать способом, известным специалисту в данной области техники, например, с применением способов **влажного гранулирования**, известных для получения «агломерированных» гранул или «измельченных» гранул. Способы формирования **агломерированных гранул** можно выполнять непрерывно; они включают, например, одновременное распыление массы для гранулирования с раствором для гранулирования и высушивание, например, в барабанном грануляторе, в тарельчатых грануляторах, в дисковых грануляторах, в псевдоожиженном слое, путем распылительной сушки, распылительного гранулирования или отверждения методом распылительной сушки, либо их можно выполнять с перерывами, например, в псевдоожиженном слое, в ротационном псевдоожиженном слое, в порционном смесителе, например, смесителе с высоким сдвиговым усилием или смесителе с низким сдвиговым усилием, или в барабане для распылительной сушки. Способы получения **измельченных гранул**, которые можно выполнять с перерывами и в которых масса для гранулирования вначале образует влажный агрегат с раствором для гранулирования, который в дальнейшем измельчают или другими способами формируют в гранулы необходимого размера, а затем гранулы можно высушивать. Подходящим оборудованием для этапа влажного гранулирования являются, в числе прочего, планетарные смесители, смесители с низким сдвиговым усилием, смесители с высоким сдвиговым усилием, экструдеры и сферонизаторы, например, аппараты производства компаний Loedige, Glatt, Diosna, Fielder, Collette, Aeschbach,

Alexanderwerk, Ytron, Wyss & Probst, Werner & Pfleiderer, HKD, Loser, Fuji, Nica, Caleva и Gabler. Гранулы также можно формировать посредством методик **сухого гранулирования**, в которых одно или более из вспомогательных веществ и/или активный фармацевтический ингредиент прессуют с образованием относительно

5 крупных прессованных образований, например, брусков или лент, которые измельчают путем размола, и перемолотый материал служит в качестве материала для таблетирования, подлежащего дальнейшему уплотнению. Подходящим оборудованием для сухого гранулирования является, в числе прочего, установка для вальцевания производства Gerteis, например, Gerteis MICRO-PACTOR, MINI-PACTOR

10 и MACRO-PACTOR.

Для **уплотнения** материала для таблетирования в твердую пероральную лекарственную форму, например, таблетку, можно применять таблеточный пресс. В таблеточном прессе материалом для таблетирования заполняют (например, с

15 помощью принудительной подачи или подачи самотеком) полость матрицы. Затем материал для таблетирования уплотняют с помощью набора пуансонов, прилагая давление. В дальнейшем полученное прессованное изделие или таблетку извлекают из таблеточного пресса. Вышеупомянутый способ таблетирования в дальнейшем обозначается в настоящем документе как «способ уплотнения». Подходящие

20 **таблеточные прессы** включают роторные таблеточные прессы и эксцентриковые таблеточные прессы, но не ограничиваются ими. Примеры таблеточных прессов включают Fette 102i (Fette GmbH), Korsch XL100, роторный таблеточный пресс Korsch PH 106 (Korsch AG, Германия), эксцентриковый таблетующий пресс Korsch ЕК-О (Korsch AG, Германия) и Manesty F-Press (Manesty Machines Ltd., Великобритания), но

25 не ограничиваются ими.

В одном варианте реализации настоящее изобретение относится к композиции, содержащей

- i) ингибитор PCSK9,
 - 30 ii) соль N-(8-(2-гидроксibenзоил)амино)каприловой кислоты (NAC) и
 - iii) гидротроп,
- причем указанная композиция содержит гранулят ii) и iii).

В общем случае грануляты можно получать с помощью влажного

35 гранулирования, гранулирования из расплава или сухого гранулирования,

предпочтительно сухого гранулирования. Таким образом, гранулы, содержащие i, ii и/или iii, можно получать путем сухого гранулирования их смеси, например, при помощи вальцевания. В альтернативном варианте реализации для получения гранул можно использовать влажное гранулирование. В альтернативном варианте реализации для получения гранул можно использовать экструдирование из горячего расплава. Затем такой материал можно использовать непосредственно или дополнительно улучшать для получения конечных гранул.

В одном варианте реализации композиция содержит по меньшей мере один гранулят. В одном варианте реализации композиция содержит один тип гранулята. В качестве альтернативы, композиция может содержать два типа гранулятов.

В вариантах реализации, где гранулярная часть содержит как средство для доставки, так и гидротроп, эти вспомогательные вещества можно подвергать совместной обработке до получения или в процессе получения гранул.

Гранулят можно получать различными способами, описанными выше, где ii) и iii) первоначально смешивают либо в виде порошков, либо путем получения раствора, содержащего один или более ингредиентов. В альтернативном варианте реализации гранулы ii) и iii) получают путем подачи обоих ингредиентов по отдельности в технологический поток, например, в экструдер.

Таким образом, гранулы, содержащие ii) и iii), можно получать путем сухого гранулирования их смеси, например, при помощи вальцевания. В альтернативном варианте реализации ингредиенты ii) и iii) можно подвергать экструдированию из горячего расплава с получением экструдата, который необязательно впоследствии измельчают с получением гранул. Этот материал затем можно использовать непосредственно или в процессе сухого гранулирования/вальцевания для получения конечных гранул.

В одном варианте реализации получают раствор ii) и iii) и подвергают его гранулированию путем распыления, причем гранулы получают непосредственно. В альтернативном варианте реализации раствор ii) и раствор iii) получают по отдельности и подвергают гранулированию распылением. В качестве альтернативы, раствор можно применять в процессе гранулирования в псевдоожиженном слое. В одном варианте реализации можно применять высушивание распылением с последующим сухим гранулированием/вальцеванием для получения гранул.

В некоторых вариантах реализации настоящее изобретение относится к способу получения композиции в соответствии с настоящим изобретением. В одном варианте реализации способ получения таблетки включает:

- а) гранулирование средства для доставки и гидротропа
- 5 б) смешивание гранулятов а) с ингибитором PCSK9 и
- в) прессование смеси в таблетки.

Гранулирование может представлять собой влажное, горячее или сухое гранулирование. Как описано выше, смазывающее вещество, например, стеарат магния или глицерилбегенат, можно включать на этапах а), б) и/или в).

10 В одном варианте реализации настоящее изобретение относится к способу получения твердой фармацевтической композиции, включающему этапы:

- а) получения соли NAC и гидротропа,
- б) совместной обработки указанной соли NAC и гидротропа а) и
- 15 в) получения указанной твердой фармацевтической композиции с применением
- продукта б).

В одном варианте реализации настоящее изобретение относится к способу получения твердой фармацевтической композиции, включающему этапы:

- а) получения соли NAC и гидротропа,
- б) совместной обработки указанной соли NAC и гидротропа а) и
- 20 в) получение указанной твердой фармацевтической композиции с применением
- продукта б).

В одном варианте реализации способ представляет собой получение твердой фармацевтической композиции, включающее этапы:

- а) получения соли NAC и гидротропа,
- 25 б) экструдирования указанной соли NAC и гидротропа а) из горячего расплава
- и
- в) получения указанной твердой фармацевтической композиции, например,
- таблетки, с применением
- экструдата б).

30

Способ, описанный в настоящем документе, может включать дополнительные этапы, например, этап перемешивания экструдата б) с активным фармацевтическим ингредиентом и, необязательно, любыми дополнительными вспомогательными веществами и получения указанной твердой фармацевтической композиции с

35 применением смеси.

Показания к применению фармацевтического препарата

В одном аспекте настоящее изобретение относится к применению ингибитора PCSK9, например, аналога пептида EGF(A) или производного EGF(A), для применения при производстве фармацевтической композиции, описанной в настоящем документе.

- 5 В одном аспекте настоящее изобретение относится к композиции, содержащей ингибитор PCSK9, например, аналог пептида EGF(A) или производное EGF(A), для применения в качестве лекарственного средства и/или в способе лечения.

В одном варианте реализации указанная композиция предназначена для применения в способе лечения, например, (i) улучшения показателей липидного обмена, например, профилактики и/или лечения дислипидемии, снижения общего содержания липидов в сыворотке; снижения содержания холестерина ЛПНП, повышения содержания ЛПВП, снижения содержания ЛПНП; снижения содержания VLDL; снижения содержания триглицеридов; снижения содержания холестерина; снижения уровней липопротеина (Lp(a)) в плазме; ингибирования образования аполипротеина A (apo(A)); (ii) профилактики и/или лечения сердечно-сосудистых заболеваний, например, коронарного синдрома X, атеросклероза, инфаркта миокарда, ишемической болезни сердца, реперфузионного повреждения, инсульта, ишемии головного мозга, ранней стадии заболевания сердца или ранней стадии сердечно-сосудистого заболевания, гипертрофии левого желудочка, заболевания коронарных артерий, гипертензии, эссенциальной гипертензии, острого гипертонического криза, кардиомиопатии, сердечной недостаточности, непереносимости физической нагрузки, острой и/или хронической сердечной недостаточности, нарушения сердечного ритма, аритмии сердца, обморока, стенокардии, шунтирования сердца и/или реокклюзии стента, перемежающейся хромоты (облитерирующего артериосклероза), диастолической дисфункции и/или систолической дисфункции; и/или снижения артериального давления, например, снижения систолического артериального давления; лечения сердечно-сосудистого заболевания. Дислипидемия может характеризоваться высокой концентрацией холестерина в плазме, также называемой гиперхолестеринемией, и относится к ситуации, когда концентрации холестерина в плазме превышает нормальный диапазон общего холестерина на $\geq 5,0$ ммоль/л. В одном варианте реализации соединение или композицию согласно настоящему изобретению можно применять для лечения гиперхолестеринемии.

Способ лечения

Настоящее изобретение дополнительно относится к способу лечения субъекта, нуждающегося в этом, включающему введение указанному субъекту терапевтически эффективного количества композиции в соответствии с настоящим изобретением. В одном варианте реализации способ лечения предназначен для (i) улучшения показателей липидного обмена и/или (ii) профилактики и/или лечения сердечно-сосудистых заболеваний и/или других показаний, указанных выше.

В некоторых вариантах реализации описан способ, включающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества фармацевтической композиции, содержащей ингибитор PCSK9, соль N-(8-(2-гидроксibenзоил)амино)каприловой кислоты (NAC), гидротроп и, необязательно, смазывающее вещество.

В некоторых вариантах реализации описан способ лечения диабета, включающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества фармацевтической композиции, содержащей

- i) 0,1-100 мг ингибитора PCSK9 и
- ii) 25-600 мг соли N-(8-(2-гидроксibenзоил)амино)каприловой кислоты (NAC),
- iii) 20-600 мг, например, 50-200 мг, никотинамида или резорцина и
- iv) 0,25-15 мг смазывающего вещества, описанного выше в настоящем документе.

Описаны различные примеры смазывающего вещества, включая стеарат магния. Композицию вводят перорально, и она находится в форме таблетки, капсулы или саше.

В таких дополнительных вариантах реализации одну или более единиц дозы можно вводить указанному субъекту, нуждающемуся в этом.

Комбинированное лечение

Лечение с помощью ингибитора PCSK9 в соответствии с настоящим изобретением можно комбинировать с лечением одним или более дополнительными фармакологически активными веществами, например, выбранными из противодиабетических средств, средств против ожирения, средств, регулирующих аппетит, антигипертензивных средств, средств для лечения и/или профилактики осложнений, возникающих в результате диабета или ассоциированных с ним, и средств для лечения и/или профилактики осложнений и расстройств, возникающих в результате ожирения или ассоциированных с ним.

Примерами таких фармакологически активных веществ являются: агонисты рецептора GLP-1, инсулин, ингибиторы DPP-IV (дипептидилпептидазы-IV), агонисты амилазы, противовоспалительные средства, средства, снижающие уровень триглицеридов, и агонисты рецептора лептина. Конкретными примерами таких 5 активных веществ являются агонисты рецептора GLP-1 лираглутид и семаглутид, и инсулин деглудек.

Изобретение, описанное в настоящем документе, дополнительно разъяснено описанными ниже вариантами реализации и формулой изобретения, приведенной в 10 настоящем документе, но не ограничивается ими.

ВАРИАНТЫ РЕАЛИЗАЦИИ

1. Фармацевтическая композиция, содержащая
 - i) ингибитор PCSK9,
 - 5 ii) соль N-(8-(2-гидроксibenзоил)амино)каприловой кислоты и
 - iii) гидротроп.

2. Фармацевтическая композиция в соответствии с любым из предыдущих вариантов реализации, отличающаяся тем, что гидротроп выбран из группы гидротропов,
 - 10 состоящей из нипекотиамида, никотинамида, соли натрия и п-гидроксibenзойной кислоты, N,N-диметилмочевины, N,N-диметилбензамида, N,N-диэтилникотинамида, салицилата натрия, резорцина, бензоата натрия, ксилолсульфоната натрия, п-толуолсульфоната натрия, 1-метилникотинамида, пирогаллола, пирокатехола, галлата эпигаллокатехина, дубильной кислоты и гидрата соли натрия и
 - 15 гентиизиновой кислоты.

3. Фармацевтическая композиция в соответствии с любым из предыдущих вариантов реализации, где гидротроп выбран из группы гидротропов, состоящей из
 - 20 нипекотиамида, никотинамида, соли натрия и п-гидроксibenзойной кислоты, N,N-диметилмочевины, N,N-диметилбензамида, N,N-диэтилникотинамида, салицилата натрия, резорцина, ксилолсульфоната натрия, п-толуолсульфоната натрия, 1-метилникотинамида, пирогаллола, пирокатехола, галлата эпигаллокатехина, дубильной кислоты и гидрата соли натрия и гентиизиновой кислоты.,

- 25 4. Композиция согласно любому из предыдущих вариантов реализации, отличающаяся тем, что гидротроп содержит ароматическую кольцевую структуру.

5. Композиция согласно любому из предыдущих вариантов реализации, отличающаяся тем, что гидротроп не является бензоатом натрия.
- 30 6. Композиция в соответствии с любым из предыдущих вариантов реализации, отличающаяся тем, что молекулярная масса гидротропа не превышает 400 г/моль.

7. Композиция по любому из предыдущих вариантов реализации, отличающаяся тем,
 - 35 что молекулярная масса гидротропа не превышает 80 г/моль.

8. Композиция согласно любому из предыдущих вариантов реализации, отличающаяся тем, что гидротроп повышает растворимость SNAC по меньшей мере в 2 раза.
- 5
9. Композиция в соответствии с любым из предыдущих вариантов реализации, отличающаяся тем, что гидротроп повышает растворимость SNAC по меньшей мере в 5 раз.
- 10
10. Композиция согласно любому из предыдущих вариантов реализации, отличающаяся тем, что растворимость измеряют при концентрации 200 мг/мл гидротропа при pH 6.
11. Композиция согласно любому из предыдущих вариантов реализации, отличающаяся тем, что растворимость измеряют при комнатной температуре.
- 15
12. Композиция согласно любому из предыдущих вариантов реализации, отличающаяся тем, что растворимость измеряют, как описано в анализе VI в настоящем документе.
- 20
13. Композиция согласно любому из предыдущих вариантов реализации, отличающаяся тем, что гидротроп представляет собой никотинамид или резорцин.
14. Композиция в соответствии с любым из предыдущих вариантов реализации, отличающаяся тем, что гидротроп представляет собой никотинамид.
- 25
15. Композиция согласно любому из предыдущих вариантов реализации, отличающаяся тем, что соотношение соль NAC/гидротроп (масс./масс.) составляет по меньшей мере 0,5.
- 30
16. Композиция согласно любому из предыдущих вариантов реализации, отличающаяся тем, что соотношение соль NAC/гидротроп (масс./масс.) составляет 0,5-10,0 или, например, 0,75-10,0, 0,5-8,0 или 1-2,0.

17. Композиция согласно любому из предыдущих вариантов реализации, отличающаяся тем, что соотношение гидротроп/соль NAC (масс./масс.) составляет по меньшей мере 0,1.
- 5 18. Композиция согласно любому из предыдущих вариантов реализации, отличающаяся тем, что соотношение гидротроп/соль NAC (масс./масс.) составляет 0,1-5,0 или, например, 0,1-4,0, 0,2-3,0 или 0,25-2,0.
- 10 19. Фармацевтическая композиция в соответствии с любым из предыдущих вариантов реализации, отличающаяся тем, что композиция дополнительно содержит по меньшей мере одно смазывающее вещество.
- 15 20. Фармацевтическая композиция в соответствии с любым из предыдущих вариантов реализации, отличающаяся тем, что композиция дополнительно содержит стеарат магния.
- 20 21. Фармацевтическая композиция в соответствии с любым из вариантов реализации 19, отличающаяся тем, что композиция содержит 0,15-25 мг, например, 0,25-10 мг, например, 2-5 мг или, например, 2-3 мг стеарата магния на 100 мг соли N-(8-(2-гидроксibenзоил)амино)каприловой кислоты.
- 25 22. Фармацевтическая композиция в соответствии с любым из предыдущих вариантов реализации, отличающаяся тем, что указанная соль N-(8-(2-гидроксibenзоил)амино)каприловой кислоты и гидротроп составляют по меньшей мере 60% масс./масс. композиции.
- 30 23. Фармацевтическая композиция в соответствии с любым из предыдущих вариантов реализации, отличающаяся тем, что указанная соль N-(8-(2-гидроксibenзоил)амино)каприловой кислоты и гидротроп составляют по меньшей мере 60% масс./масс. вспомогательных веществ композиции.
- 35 24. Фармацевтическая композиция в соответствии с любым из предыдущих вариантов реализации, отличающаяся тем, что соль N-(8-(2-гидроксibenзоил)амино)каприловой кислоты выбрана из группы, состоящей из соли

натрия, соли калия и/или соли аммония и N-(8-(2-гидроксibenzoил)амино)каприловой кислоты.

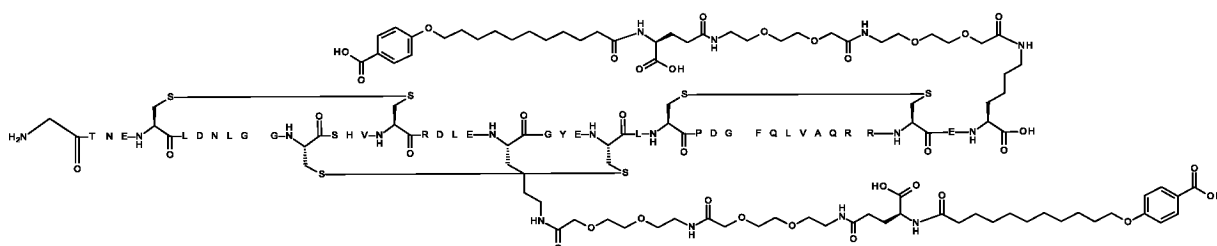
25. Фармацевтическая композиция в соответствии с любым из предыдущих вариантов реализации, отличающаяся тем, что соль N-(8-(2-гидроксibenzoил)амино)каприловой кислоты представляет собой N-(8-(2-гидроксibenzoил)амино)каприлат натрия (SNAC).
26. Фармацевтическая композиция в соответствии с любым из предыдущих вариантов реализации, отличающаяся тем, что единица дозы содержит не более 1000 мг указанной соли N-(8-(2-гидроксibenzoил)амино)каприловой кислоты.
27. Фармацевтическая композиция в соответствии с любым из предыдущих вариантов реализации, отличающаяся тем, что единица дозы содержит не более 500 мг указанного гидротропа.
28. Фармацевтическая композиция в соответствии с любым из предыдущих вариантов реализации, отличающаяся тем, что единица дозы содержит 0,1-100 мг ингибитора PCSK9.
29. Фармацевтическая композиция в соответствии с любым из предыдущих вариантов реализации, отличающаяся тем, что ингибитор PCSK9 характеризуется функцией ингибирования, по меньшей мере сравнимой с EGF(A) 301L.
30. Фармацевтическая композиция в соответствии с любым из предыдущих вариантов реализации, отличающаяся тем, что кажущееся сродство связывания (Ki) ингибитора PCSK9 равно или ниже кажущегося сродства связывания (Ki) EGF(A) 301L.
31. Фармацевтическая композиция в соответствии с любым из предыдущих вариантов реализации, отличающаяся тем, что ингибитор PCSK9 характеризуется функцией ингибирования, по меньшей мере сравнимой с EGF(A) 301L, 309R, 312E.
32. Фармацевтическая композиция в соответствии с любым из предыдущих вариантов реализации, отличающаяся тем, что кажущееся сродство связывания (Ki)

ингибитора PCSK9 равно или ниже кажущегося сродства связывания (K_i) EGF(A) 301L,309R,312E.

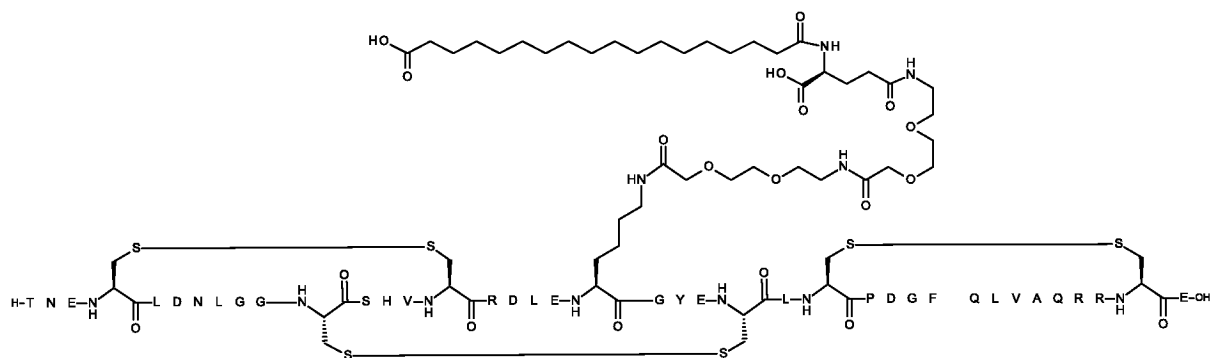
33. Фармацевтическая композиция в соответствии с любым из предыдущих вариантов реализации, отличающаяся тем, что $\frac{K_i(\text{ингибитор PCSK9})}{K_i(\text{EGF(A)301L})}$ составляет менее 2.
34. Фармацевтическая композиция в соответствии с любым из предыдущих вариантов реализации, отличающаяся тем, что $\frac{K_i(\text{ингибитор PCSK9})}{K_i(\text{EGF(A)301L,309R,312E})}$ составляет менее 2.
35. Фармацевтическая композиция в соответствии с любым из предыдущих вариантов реализации, отличающаяся тем, что ингибитор PCSK9 характеризуется кажущимся сродством связывания (K_i) менее 10 нМ, например, менее 8 нМ, например, менее 5 нМ.
36. Фармацевтическая композиция в соответствии с любым из предыдущих вариантов реализации 14-20, отличающаяся тем, что кажущееся сродство связывания (K_i) измеряют при конкурентном твердофазном ИФА, описанном в разделе «Анализ I».
37. Фармацевтическая композиция в соответствии с любым из предыдущих вариантов реализации, отличающаяся тем, что ингибитор PCSK9 характеризуется $T_{1/2}$ у минисвиней, составляющим по меньшей мере 24 часа.
38. Композиция в соответствии с любым из предыдущих вариантов реализации, отличающаяся тем, что ингибитор PCSK9 характеризуется $T_{1/2}$ у крыс, составляющим по меньшей мере 2 часа.
39. Композиция в соответствии с любым из предыдущих вариантов реализации, отличающаяся тем, что молярная масса ингибитора PCSK9 не превышает 50000 г/моль.
40. Композиция в соответствии с любым из предыдущих вариантов реализации, отличающаяся тем, что ингибитор PCSK9 представляет собой пептид EGF(A) или производное EGF(A).

41. Композиция в соответствии с любым из предыдущих вариантов реализации, отличающаяся тем, что производное EGF(A) согласно варианту реализации 42 содержит заместитель, связывающий альбумин.
- 5 42. Композиция в соответствии с любым из предыдущих вариантов реализации, отличающаяся тем, что производное EGF(A) согласно варианту реализации 42 или 43 содержит жирную кислоту или жирную двухосновную кислоту.
- 10 43. Композиция в соответствии с любым из предыдущих вариантов реализации, отличающаяся тем, что производное EGF(A) согласно варианту реализации 42, 43 или 44 содержит жирную кислоту C16, C18 или C20 или двухосновную жирную кислоту C16, C18 или C20.
- 15 44. Композиция в соответствии с любым из вариантов реализации 42-45, отличающаяся тем, что пептид EGF(A) или производное EGF(A) содержит аналог пептида EGF(A), содержащий 1-8 аминокислотных замен по сравнению с доменом EGF(A) LDL-R, заданным как SEQ ID NO 1.
- 20 45. Композиция согласно варианту реализации 46, отличающаяся тем, что де аналог пептида EGF(A) содержит 301Leu.
- 25 46. Фармацевтическая композиция в соответствии с любым из предыдущих вариантов реализации, отличающаяся тем, что ингибитор PCSK9 выбран из группы, состоящей из производных EGF(A) № 31, 95, 128, 133, 143, 144, 150, 151, 152 и 153 со следующими структурами:

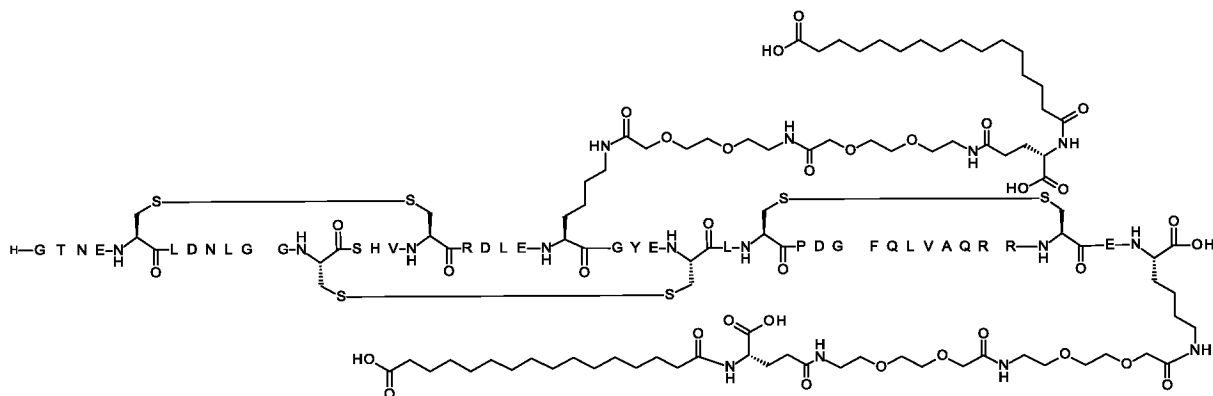
31



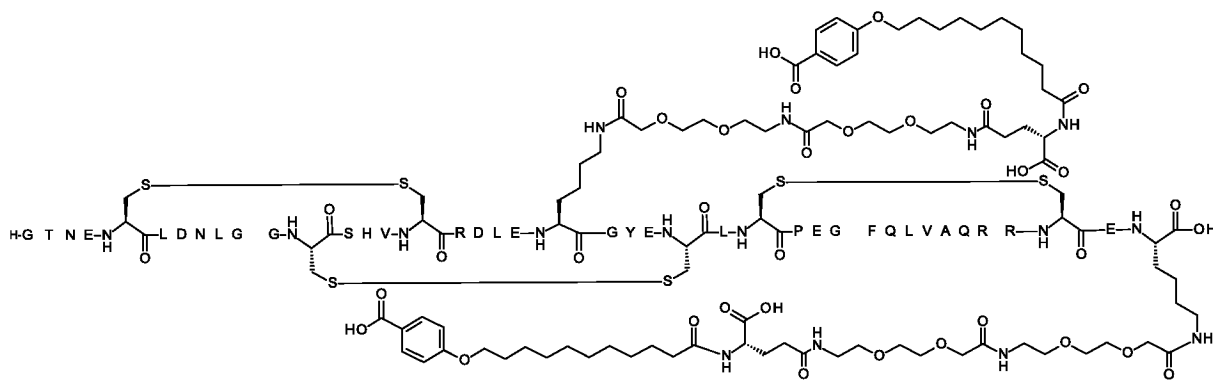
95



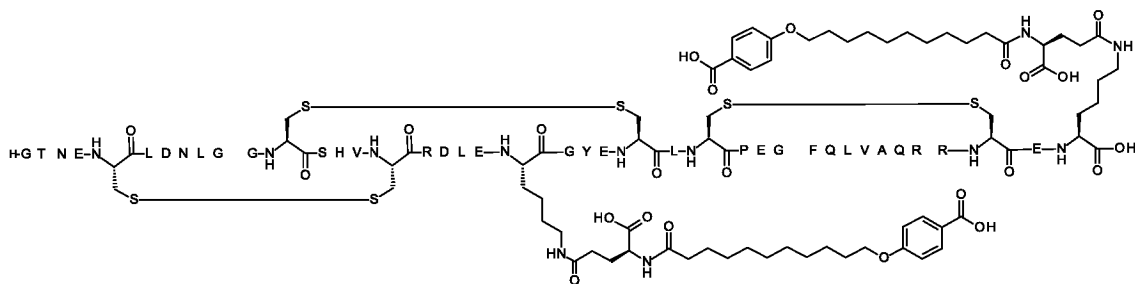
128



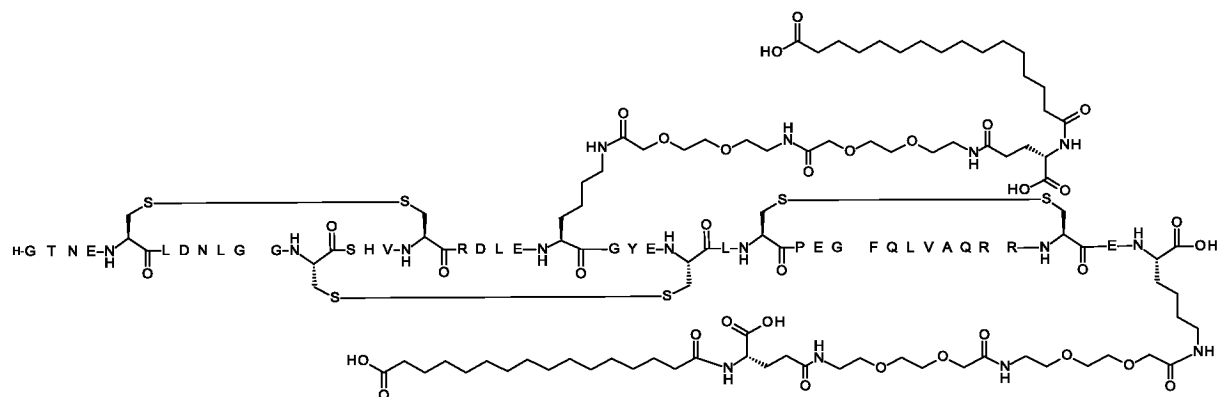
133



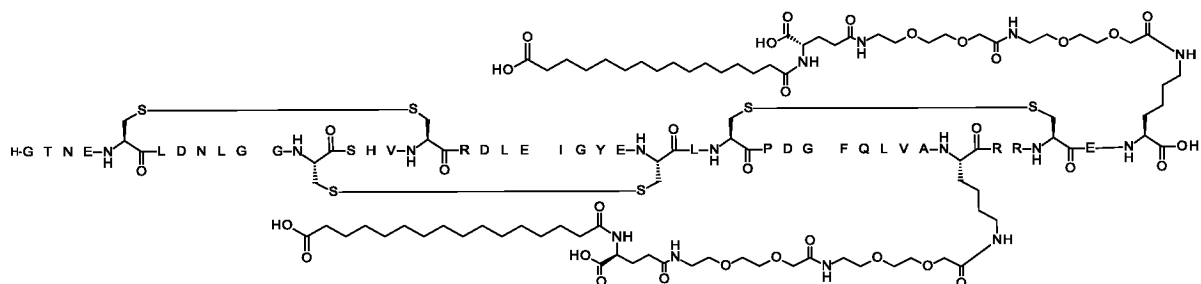
143



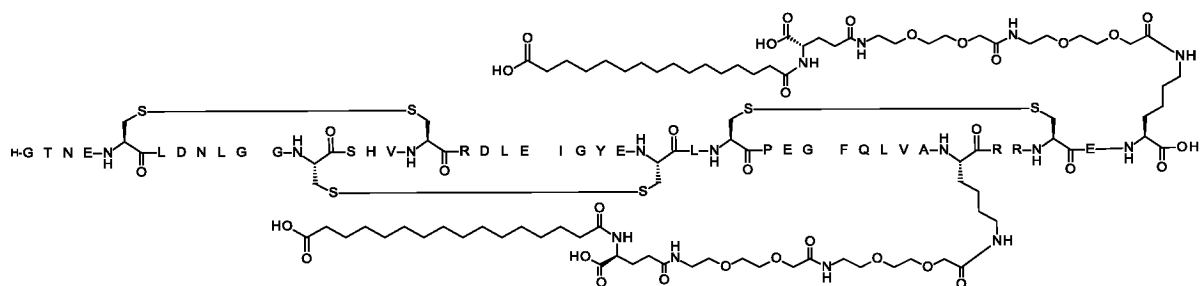
144



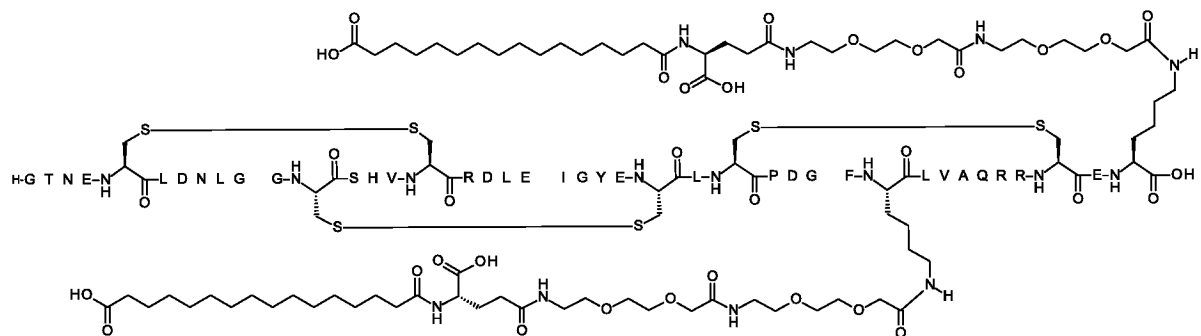
150



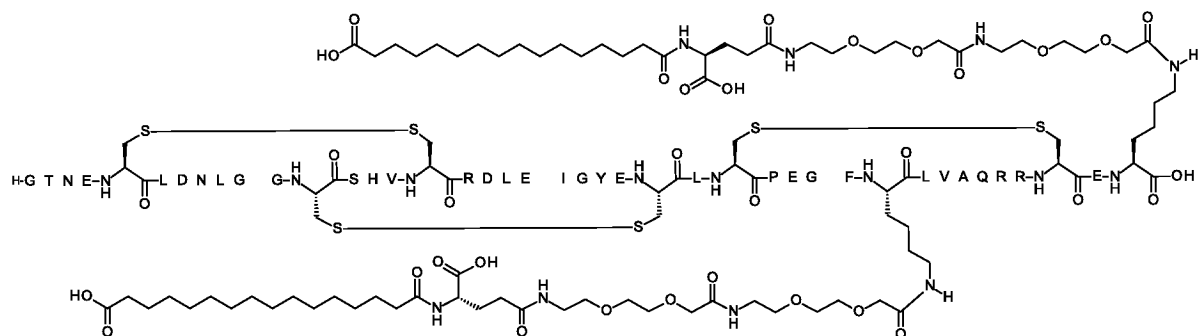
151



152

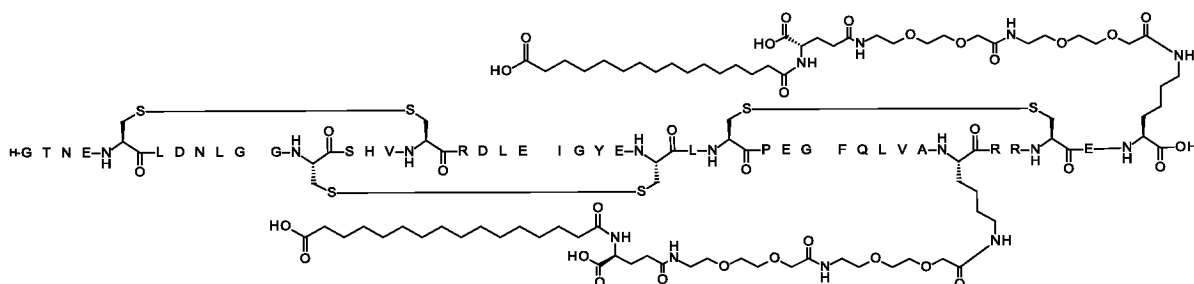


153



47. Фармацевтическая композиция в соответствии с любым из предыдущих вариантов реализации, отличающаяся тем, что ингибитор PCSK9 выбран из группы, состоящей из производного EGF(A), показанного в примерах 150, 151, 152 и 153 в WO2017/121850.

48. Фармацевтическая композиция в соответствии с любым из предыдущих вариантов реализации, отличающаяся тем, что ингибитор PCSK9 представляет собой



49. Фармацевтическая композиция в соответствии с любым из предыдущих вариантов реализации, отличающаяся тем, что композиция содержит по меньшей мере один гранулят.

50. Фармацевтическая композиция в соответствии с предыдущим вариантом реализации 49, отличающаяся тем, что указанный по меньшей мере один гранулят содержит соль N-(8-(2-гидроксибензоил)амино)каприловой кислоты.

51. Фармацевтическая композиция в соответствии с любым из предыдущих вариантов реализации 49-50, отличающаяся тем, что указанный по меньшей мере один гранулят дополнительно содержит шидротроп, например, никотинамид или резорцин.

52. Фармацевтическая композиция в соответствии с любым из предыдущих вариантов реализации 49-51, отличающаяся тем, что указанный по меньшей мере один гранулят дополнительно содержит смазывающее вещество, например, стеарат магния.

53. Фармацевтическая композиция в соответствии с любым из предыдущих вариантов реализации 49-52, отличающаяся тем, что указанный по меньшей мере один гранулят получен путем сухого гранулирования, например, путем вальцевания.
54. Фармацевтическая композиция в соответствии с любым из предыдущих вариантов реализации 49-52
55. Фармацевтическая композиция в соответствии с любым из предыдущих вариантов реализации 49-53, отличающаяся тем, что композиция содержит внегранулярную часть.
56. Фармацевтическая композиция в соответствии с любым из предыдущих вариантов реализации 49-55, отличающаяся тем, что внегранулярная часть композиции содержит смазывающее вещество или вещество, способствующее скольжению, например, стеарат магния, и/или ингибитор PCSK9.
57. Фармацевтическая композиция, содержащая
- i) 0,1-100 мг ингибитора PCSK9 и
 - ii) 20-800 мг, например, 25-700, например, 50-600 мг соли N-(8-(2-гидроксibenzoил)амино)каприловой кислоты и
 - iii) 10-600 мг никотинамида.
58. Фармацевтическая композиция, содержащая
- i) 1-100 мг, например, 1-50 мг ингибитора PCSK9,
 - ii) 50-800 мг соли N-(8-(2-гидроксibenzoил)амино)каприловой кислоты и
 - iii) 10-600 мг никотинамида.
59. Фармацевтическая композиция, содержащая
- i) 1-100 мг, например, 1-50 мг ингибитора PCSK9,
 - ii) 75-600 мг соли N-(8-(2-гидроксibenzoил)амино)каприловой кислоты и
 - iii) 25-400 мг никотинамида.
60. Фармацевтическая композиция, содержащая
- i) 1-100 мг, например, 1-25 мг ингибитора PCSK9,

- ii) 75-400 мг соли N-(8-(2-гидроксibenзоил)амино)каприловой кислоты и
- iii) 25-400 мг никотинамида.

61. Фармацевтическая композиция, содержащая

- 5 i) 1-100 мг, например, 1-25 мг ингибитора PCSK9,
- ii) 100-400 мг соли N-(8-(2-гидроксibenзоил)амино)каприловой кислоты и
- iii) 25-400 мг никотинамида.

62. Фармацевтическая композиция, содержащая

- 10 i) 1-100 мг, например, 1-25 мг ингибитора PCSK9,
- ii) 200-600 мг соли N-(8-(2-гидроксibenзоил)амино)каприловой кислоты и
- iii) 25-400 мг никотинамида.

63. Фармацевтическая композиция, содержащая

- 15 i) 5-100 мг, например, 5-25 мг ингибитора PCSK9,
- ii) 250-500 мг соли N-(8-(2-гидроксibenзоил)амино)каприловой кислоты и
- iii) 25-400 мг никотинамида.

64. Фармацевтическая композиция в соответствии с любым из вариантов реализации

- 20 57-63, дополнительно содержащая 0,2-25 мг смазывающего вещества, например, стеарата магния.

65. Фармацевтическая композиция в соответствии с любым из вариантов реализации

- 25 57-63, дополнительно содержащая 15-10 мг, например, 0,20-10 мг, например, 0,2-5 мг или, например, 0,2-3 мг стеарата магния на 100 мг соли N-(8-(2-гидроксibenзоил)амино)каприловой кислоты.

66. Фармацевтическая композиция в соответствии с любым из вариантов реализации

- 30 57-63, отличающаяся тем, что соль N-(8-(2-гидроксibenзоил)амино)каприлат натрия (SNAC).

67. Фармацевтическая композиция в соответствии с любым из предыдущих вариантов

- 35 реализации, отличающаяся тем, что указанная композиция предназначена для перорального введения.

68. Фармацевтическая композиция в соответствии с любым из предыдущих вариантов реализации, отличающаяся тем, что указанная композиция представляет собой твердую композицию.

5

69. Фармацевтическая композиция в соответствии с предыдущими вариантами реализации, отличающаяся тем, что указанная композиция представляет собой твердую композицию, например, таблетку, капсулу или саше.

10 70. Фармацевтическая композиция, содержащая

- i) ингибитор PCSK9,
- ii) соль N-(8-(2-гидроксibenзоил)амино)каприловой кислоты и
- iii) гидротроп, способный увеличивать растворимость SNAC по меньшей мере в 2 раза, например, в 5 раз или, например, по меньшей мере в 10 раз

15

причем высвобождение ингибитора PCSK9 достигает 85% в течение 15 минут или 95% в течение 30 минут.

71. Фармацевтическая композиция, содержащая

20

- i) ингибитор PCSK9,
- ii) соль N-(8-(2-гидроксibenзоил)амино)каприловой кислоты и
- iii) гидротроп, способный увеличивать растворимость SNAC по меньшей мере в 2 раза, например, в 5 раз или, например, по меньшей мере в 10 раз

причем воздействие в плазме с поправкой на дозу при $t = 0-30$ мин после введения дозы является повышенным относительно тестируемой композиции 1.

25

72. Фармацевтическая композиция, содержащая

- i) ингибитор PCSK9,
- ii) соль N-(8-(2-гидроксibenзоил)амино)каприловой кислоты и
- iii) гидротроп, способный увеличивать растворимость SNAC по меньшей мере в 2 раза, например, в 5 раз или, например, по меньшей мере в 10 раз

30

причем воздействие в плазме с поправкой на дозу при $t = 30$ мин после введения дозы является повышенным относительно тестируемой композиции 1.

73. Фармацевтическая композиция в соответствии с любым из предыдущих вариантов реализации 1-73, отличающаяся тем, что
- а) высвобождение ингибитора PCSK9 достигает 85% в течение 15 минут,
 - б) высвобождение ингибитора PCSK9 достигает 95% в течение 30 минут,
 - 5 с) воздействие в плазме с поправкой на дозу при $t = 30$ мин после введения дозы является повышенным относительно тестируемой композиции 1 в настоящем документе и/или
 - д) воздействие в плазме (ППК) с поправкой на дозу для $t = 0-30$ мин после введения дозы является повышенным относительно тестируемой композиции 1.
- 10
74. Фармацевтическая композиция в соответствии с вариантом реализации 71 или вариантом реализации 73, отличающаяся тем, что воздействие в плазме (ППК) с поправкой на дозу для $T = 0-30$ мин является повышенным по меньшей мере в 1,2 раза, например, 1,5 раза, например, по меньшей мере в 2 раза.
- 15
75. Фармацевтическая композиция в соответствии с любым из вариантов реализации 71-74, отличающаяся тем, что высвобождение определяют согласно разделу «Анализ III» в настоящем документе, и/или воздействие в плазме с поправкой на дозу определяют как в разделе «Анализ V».
- 20
76. Фармацевтическая композиция в соответствии с любым из вариантов реализации 57-66, дополнительно определяемая признаками из одного или более из вариантов реализации 15-56.
- 25
77. Фармацевтическая композиция в соответствии с любым из вариантов реализации 70-76, дополнительно определяемая признаками из одного или более из вариантов реализации 1-69.
- 30
78. Фармацевтическая композиция в соответствии с любым из предыдущих вариантов реализации для применения в медицине.
- 35
79. Фармацевтическая композиция в соответствии с любым из предыдущих вариантов реализации для применения в способе i) улучшения показателей липидного обмена и/или (ii) профилактики и/или лечения сердечно-сосудистых заболеваний.

80. Способ лечения субъекта, нуждающегося в этом, причем указанный способ включает введение указанному субъекту терапевтически активного количества композиции в соответствии с любым из предыдущих вариантов реализации.

- 5 81. Способ получения твердой фармацевтической композиции, содержащей ингибитор PCSK9, включающий этапы:
- a) получения соли NAC и гидротропа,
 - b) совместной обработки указанной соли NAC и гидротропа a) и
 - 10 c) получения указанной твердой фармацевтической композиции с применением продукта b) и ингибитора PCSK9.

82. Способ в соответствии с вариантом реализации 81, включающий этапы:
- a) получения смеси, содержащей соль NAC и гидротроп,
 - b) совместной обработки смеси a) и
 - 15 c) получения указанной твердой фармацевтической композиции с применением продукта b) и ингибитора PCSK9.

83. Способ в соответствии с вариантом реализации 81, включающий этапы:
- a) получения смеси, содержащей соль NAC и гидротроп,
 - 20 b) экструдирования из горячего расплава смеси a) и
 - c) получения указанной твердой фармацевтической композиции с применением
 - экструдата b) и ингибитора PCSK9.

- 25 84. Способ в соответствии с вариантом реализации 81, включающий этапы:
- a) получения соли NAC и гидротропа,
 - b) распылительного гранулирования указанной соли NAC и гидротропа a) и
 - c) получения указанной твердой фармацевтической композиции с
 - 30 применением продукта b) и ингибитора PCSK9.

85. Способ в соответствии с вариантом реализации 81, включающий этапы:
- a) получения раствора соли NAC и гидротропа,
 - b) распылительного гранулирования указанного раствора a) и
 - 35 c) получения указанной твердой фармацевтической композиции с применением продукта b) и ингибитора PCSK9.

СПОСОБЫ И ПРИМЕРЫ

Общие способы обнаружения и определения характеристик

5

Анализ I. Связывание PCSK9-LDL-R - конкурентное (твердофазный ИФА)

С помощью данного анализ измеряли кажущееся сродство связывания с PCSK9 при конкуренции с LDL-R. В частности, данный анализ применяли для оценки кажущегося сродства связывания ингибитора PCSK9, например, аналога EGF(A), и соединений, содержащих аналог EGF(A).

Анализ выполняли следующим образом. За день до эксперимента рекомбинантный рецептор липопротеинов низкой плотности человека (rhLDL-R; полученный с помощью линии NSO; R & D systems, № 2148-LD) растворяли из расчета 1 мкг/мл в 50 мМ карбонате натрия, pH 9,6, а затем 100 мкл раствора вносили в каждую лунку планшетов для анализа (Maxisorp 96, NUNC № 439454) и оставляют на ночь при 4°C для иммобилизации. В день экспериментов получали 8-точечные кривые концентрации соединений EGF(A), содержавших биотинилированный PCSK9 (0,5 мг/мл, BioSite/BPSBioscience, № в каталоге 71304), в двух повторностях. Получали смеси тестируемых соединений и биотинилированного PCSK9 и инкубировали их в течение 1 часа при комнатной температуре в буфере для анализа, содержащем 25 мМ Hepes, pH 7,2 (15630-056, 100 мл, 1 М), 150 мМ NaCl (Emsure 1.06404.1000), 1% HSA (Sigma A1887-25G), 0,05% Tween 20 (Calbiochem 655205), 2 мМ CaCl₂ (Sigma 223506-500G). Затем планшеты для анализа с покрытием 4-кратно промывали 200 мкл буфера для анализа, а затем в планшеты добавляли 100 мкл смеси тестируемых соединений и биотинилированного PCSK9 и инкубировали в течение 2 ч при комнатной температуре. Планшеты 4-кратно промывали 200 мкл буфера для анализа, а затем инкубировали со стрептавидином-ПХ (25 нг/мл; VWR, № 14-30-00) в течение 1 ч при комнатной температуре. Реакцию обнаруживали посредством добавления 50 мкл TMB-op (KEM-EN-TEC) и инкубировали в течение 10 мин в темноте. Затем реакцию останавливали путем добавления в смесь 50 мкл 4 М H₃PO₄ с помощью электронной многоканальной пипетки. Затем планшеты считывали на Spectramax при 450 и 620 нм в течение 1 ч. Считывание при 620 нм применяли для вычитания фона. Значения IC₅₀ рассчитывали с применением Graphpad Prism посредством нелинейной (четырёхпараметрической) регрессии логарифмической концентрации ингибитора относительно параметра ответа - коэффициента угла наклона и преобразовывали в значения K_i с помощью следующей

формулы: $K_i = IC_{50} / (1 + (\text{биотин-PCSK9}) / (K_d(\text{биотин-PCSK9})))$, где K_d биотина-PCSK9 составляла 1,096727714 мкг/мл, а $[\text{биотин-PCSK9}] = 0,5$ мкг/мл.

- 5 Более высокие значения K_i отражали более низкие значения кажущегося сродства связывания с PCSK9, и наоборот. Значение выше 500 нМ указывало на неспецифичность наблюдаемого связывания.

- 10 Значения K_i для примеров пептида EGF(A) и его производных включены ниже, демонстрируя значительную степень сходства высокого сродства соединений, содержащих пептид EGF(A), содержащий 301L и, необязательно, один или более из 309R, 312E и 321E, также включая соединения с одним или двумя заместителями, присоединенными к N-концу или остатку лизина.

Пептид EGF(A)	K_i (нМ)
EGF(A) LDL-R (293-332)	-
299A, 301L, 307I, 309R, 310K	9,4
299A, 301L, 307I, 309R	0,9
301L, 309R, 310K	7,3
301L, 309R	1,2
301L	2,8
301L, 309R, 312E	1,1

Производные пептида EGF (A)

Пример соединения №	Пептид EGF(A)	SEQ ID NO	Заместитель	Сайт(ы) присоединения	K_i (нМ)
3	301L, 309R, 312E, 333K	4	HOOC-(CH ₂) ₁₆ -CO-gGlu-2xADO	333K	0,8
8	301L, 309R, 312E	6	HOS(O) ₂ -(CH ₂) ₁₅ -CO-gGlu-2xADO-NH-CH ₂ -(C ₆ H ₄)-CH ₂ -	N-конец	1,2
31	301L, 309R, 312E,	32	4-HOOC-(C ₆ H ₄)-O-(CH ₂) ₁₀ -	313K, 333K	0,5

	313K, 333K		CO-gGlu-2xADO		
95%	des293, 301L, 309R, 312E, 313K	76	HOOC-(CH ₂) ₁₆ -CO-gGlu-2xADO	313K	1,5
128	301L, 309R, 312E, 313K, 333K	32	HOOC-(CH ₂) ₁₄ -CO-gGlu-2xADO	313K, 333K	1,0
133	301L, 309R, 312E, 313K, 321E, 333K	98	4-HOOC-(C ₆ H ₄)-O-(CH ₂) ₁₀ -CO-gGlu-2xADO	313K, 333K	1,6
143	301L, 309R, 312E, 313K, 321E, 333K	98	4-HOOC-(C ₆ H ₄)-O-(CH ₂) ₁₀ -CO-gGlu	313K, 333K	2,0
144	301L, 309R, 312E, 313K, 321E, 333K	98	HOOC-(CH ₂) ₁₄ -CO-gGlu-2xADO	313K, 333K	2,09
150	301L, 309R, 312E, 328K, 333K	78	HOOC-(CH ₂) ₁₄ -CO-gGlu-2xADO	328K, 333K	2,3
151	301L, 309R, 312E, 321E, 328K, 333K	104	HOOC-(CH ₂) ₁₄ -CO-gGlu-2xADO	328K, 333K	1,8
152	301L, 309R, 312E, 324K, 333K	72	HOOC-(CH ₂) ₁₄ -CO-gGlu-2xADO	324K, 333K	1,9
153	312E, 321E, 324K, 333K	105	HOOC-(CH ₂) ₁₄ -CO-gGlu-2xADO	324K, 333K	2,0

Анализ II. Испытание на распадаемость

Стандартное испытание на распадаемость в соответствии с Европейской фармакопеей (Ph Eur 2.9.1) можно выполнять в соответствующем устройстве для определения распадаемости, например, в устройстве для определения распадаемости

- 5 USP с измерением времени распада тестируемых композиций *in vitro*.

Анализ III. Испытание на растворимость

Стандартное испытание на растворимость в соответствии с Европейской фармакопеей (Ph Eur 2.9.3) можно выполнять для измерения высвобождения ингибитора PCSK9 и SNAC из тестируемых композиций *in vitro*.

- 10 Испытание на растворимость выполняли в соответствующем устройстве для определения растворимости, например, в устройстве для определения растворимости USP 2. Конкретнее, устройство 2 применяли в соответствии с фармакопеей США 35 при скорости вращения лопасти-мешалки, составляющей 50 об/мин. Для проведения испытания при pH 6,8 использовали 500 мл среды для растворения, представляющей

собой 0,05 М фосфатный буфер, при температуре $37 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$. Среда для растворения содержала 0,1% Brij®35. Образцы брали через соответствующие интервалы, содержание веществ в образце определяли с использованием способа на основе ОФ-УВЭЖХ для двойного обнаружения ингибитора PCSK9 и SNAC.

Содержание веществ в образце рассчитывали по площади пика для пиков ингибитора PCSK9 и SNAC на хроматограмме по сравнению со значениями площади пика для эталонов ингибитора PCSK9 и SNAC, соответственно. Высвобожденное количество ингибитора PCSK9 и SNAC рассчитывали в процентах от фактического общего содержания в тестируемых композициях. Общее содержание веществ в таблетках определяли с применением анализа (IV).

Анализ IV. Анализ количества ингибитора PCSK9 и SNAC

Для выполнения анализа тестируемые композиции взвешивали перед экстракцией ингибитора PCSK9 и SNAC. Таблетки растворяли в соответствующем количестве 0,05 М фосфатного буфера, pH 7,4, с 20% ацетонитрила. Использовали время экстракции, составляющее два часа. Образцы центрифугировали, подходящий объем переносили во флакон для ВЭЖХ. Стандарты соответствующего ингибитора PCSK9 и SNAC получали с применением того же разбавителя, что и для образцов. Для двойного определения содержания ингибитора PCSK9 и SNAC применяли УВЭЖХ с УФ-детектором. Содержание веществ в таблетке рассчитывали по площади пика для пиков ингибитора PCSK9 и SNAC на хроматограмме по сравнению со значениями площади пика для эталонов ингибитора PCSK9 и SNAC, соответственно.

Анализ V. Фармакокинетические исследования на собаках породы бигль

Фармакокинетические (ФК) исследования на собаках породы бигль выполняли для определения воздействия ингибиторов PCSK9 после перорального введения тестируемых композиций.

Для фармакокинетических исследований использовали кобелей породы бигль в возрасте 1-5 лет с массой тела приблизительно 10-12 кг в начале исследования. Собак содержали группами в вольерах (цикл 12 часов света : 12 часов темноты) и кормили индивидуально и строго один раз в день кормом для взрослых собак средних размеров Royal Canin (Royal Canin Products, филиал в Китае, или Brogaarden A/S, Дания). По мере возможности ежедневно допускали физические нагрузки и социальное общение в группах. Собак использовали для повторных фармакокинетических исследований с применением подходящего периода отмывки между последовательным введением дозы. Перед началом первого фармакокинетического исследования обеспечивали

соответствующий период акклиматизации. Все операции по обращению, введению дозы и сбору образцов крови животных осуществлял обученный квалифицированный персонал. Перед исследованиями собак не кормили в течение ночи и от 0 до 4 ч после введения дозы. Кроме того, собакам ограничивали доступ к воде в период за 1 час до введения дозы и вплоть до 4 часов после введения дозы, но при этом обеспечивали доступ к воде вволю в течение всего остального периода.

Таблетки, содержащие ингибитор PCSK9, вводили следующим образом: за 10 мин перед введением таблетки собакам подкожно вводили приблизительно 3 нмоль/кг SEQ ID NO: 115). Таблетки с ингибитором PCSK9 помещали в заднюю часть ротовой полости собаки для предотвращения разжевывания. Затем рот закрывали и с помощью шприца или зонда вводили водопроводную воду для облегчения проглатывания таблетки.

15 Сбор образцов крови

Образцы крови собирали в заранее заданные моменты времени вплоть до 10 ч после введения для адекватного охвата полного профиля зависимости концентрации в плазме от времени всасывания для ингибитора PCSK9.

В каждый момент времени пробоотбора крови в 1,5-мл пробирку с ЭДТА собирали приблизительно 0,8 мл цельной крови и аккуратно переворачивали пробирку для перемешивания образца с ЭДТА. Образцы крови (например, 0,8 мл) собирали в буфер с ЭДТА (8 мМ) и затем центрифугировали при 4°C и 2000 G в течение 10 мин. Плазму пипеткой переносили в пробирки Micronic на сухом льду и хранили при -20°C до анализа.

Образцы крови собирали в зависимости от обстоятельств, например, из катетера venflon, установленного в подкожной вене предплечья на передней лапе, в течение первых 2 часов и затем с помощью шприца из яремной вены в остальные моменты времени (первые несколько капель из катетера venflon выбрасывали во избежание попадания физиологического раствора с гепарином из катетера venflon в образец).

30 **Анализ VI. Растворимость SNAC в комбинации с выбранными гидротропами**

Для тестирования отбирали серию из 18 различных гидротропов. Гидротропы взвешивали и растворяли в 5 мл сверхчистой воды (200 мг/мл), pH титровали до pH 6 путем добавления 2 М HCl. Затем к образцам добавляли SNAC (200 мг) и помещали их на магнитные мешалки (400 об./мин.). pH поддерживали при pH 6 на протяжении всего эксперимента путем добавления 2 М HCl.

- После 4 часов инкубирования при комнатной температуре образцы фильтровали через шприцевые фильтры с размером пор 0,45 мкм и определяли концентрацию SNAC в растворе с применением способа на основе ОФ-ВЭЖХ для обнаружения SNAC. Содержание веществ в образце рассчитывали по площади пика для пиков SNAC на хроматограмме по сравнению со значениями площади пика для эталонов SNAC.
- 5 Полученные результаты представлены в таблице 1 и демонстрируют, что большинство гидротропов значительно повышали растворимость SNAC.

10 Таблица 1 Гидротропный эффект выбранных гидротропов (200 мг/мл) в отношении растворимости SNAC при pH 6

Гидротроп	Количество повторностей (n)	Концентрация SNAC (мг/мл)	Кратность увеличения растворимости
Контроль SNAC (без гидротропа)	1	0,59	1
Нипекотамид	1	1,55	2,6
Никотинамид	5	8,63	14,6
соль натрия и п-гидроксibenзойной кислоты	1	1,25	2,1
N,N-диметилмочевина	1	2,34	4,0
N,N диметилбензамид	4	22,46	38
N,N диэтилникотинамид	1	4,58	7,8
Салицилат натрия	1	1,59	2,7
Резорцин	6	29,95	51
Бензоат натрия	2	1,25	2,1
Мочевина	1	0,77	1,3
Ксилолсульфонат натрия	1	2,01	3,4
p-толуолсульфонат натрия	1	1,78	3,0
1-метилникотинамид	1	2,20	3,7
Пирогаллол	4	8,98	15
Пирокатехол	1	23,95	40,6
Галлат эпигаллокатехина	1	5,66	9,6
Дубильная кислота	1	6,31	10,7

Гидротроп	Количество повторностей (n)	Концентрация SNAC (мг/мл)	Кратность увеличения растворимости
Гидрат соли натрия и гентизиновой кислоты	1	2,72	4,6

Анализ VII. Растворимость SNAC при различных концентрациях никотинамида и резорцина

Никотинамид или резорцин взвешивали и растворяли в 5 мл сверхчистой воды до конечных концентраций, показанных на фигуре 1А и В, pH титровали до pH 6 путем добавления 2 М HCl. Затем к образцам, помещенным на магнитные мешалки (400 об/мин), добавляли SNAC (200 мг) и поддерживали pH при pH 6 на протяжении всего эксперимента путем добавления 2 М HCl.

Через 4 часа инкубирования образцы фильтровали через шприцевые фильтры с размером пор 0,45 мкм и определяли концентрацию SNAC в растворе с применением способа на основе ОФ-ВЭЖХ для обнаружения SNAC. Содержание веществ в образце рассчитывали по площади пика для пиков SNAC на хроматограмме по сравнению со значениями площади пика для эталонов SNAC. Результаты показаны на фигуре 1 и демонстрируют зависимый от концентрации эффект обоих гидротропов в отношении растворимости SNAC.

Общие способы получения таблеток

Способ 1: Экструдирование из горячего расплава

Экструдирование из горячего расплава выполняли на двухшнековом экструдере Thermo Scientific Process 11. SNAC и никотинамид или резорцин смешивали на Turbula перед подачей в экструдер. Оборудование функционировало при температуре процесса от 200°C до 105°C вдоль цилиндра для облегчения экструдирования расплава. Скорость шнека менялась в диапазоне 50-1000 об/мин, материал подавали в экструдер с использованием гравиметрического устройства подачи с различными скоростями подачами и экструдировали через круглую головку диаметром 2 мм. Полученные экструдаты вручную просеивали с получением гранул с использованием сетки для окончательного сита размером от 355 до 150 мкм.

Способ 2: Прессование таблетки

Таблетки получали на Kilian Style One, имитирующем Fette 102i или Fette 102i, оснащенные одним набором пуансонов, которые позволяли получать 5,75 × 10 мм или

6,5 × 11 мм, или 8,5 × 16 мм, или 7,5 × 13 мм овальные таблетки без риса. Размер пуансона выбирали в соответствии с общей массой таблетки. Кстанавливали скорость прессы 20 об/мин. Применяли силу прессования от приблизительно 7 до 21 кН, получая таблетки с прочностью на раздавливание от 34 до 132 Н, в соответствии с размером

5

таблетки.

Перед прессованием таблетки гранулы, полученные согласно способу 1, смешивали с ингибитором PCSK9 и с дополнительными вспомогательными веществами на смесителе Turbula (7 мин или 20 мин, 25 об/мин) и любыми дополнительными необязательными вспомогательными веществами на смесителе

10

Способ 3: Солевой обмен

Партии высушенного распылением материала производного EGF(A) растворяли в 100 мМ трис-буфере при нейтральном pH до конечной концентрации 10-20 г/л. Затем материал загружали в обращенно-фазовую колонку C18 до 20 г EGF(A)

на литр смолы и промывали в следующем порядке: а) 1 объем колонки раствора, содержащего 5% (масс./масс.) этанола в воде, а затем б) 10 объемов колонки раствора, содержащего 20 мМ фосфата натрия и 500 мМ хлорида натрия, при pH 7,5, и

с) 10 объемов колонки раствора, содержащего 5% (масс./масс.) этанола. Затем EGF(A) элюировали из колонки, используя 50% (масс./масс.) раствор этанола. Затем этанол

выпаривали в вакууме. Затем раствор сушили распылением, получая производное EGF(A) в виде натриевой соли.

15

20

ПРИМЕРЫ

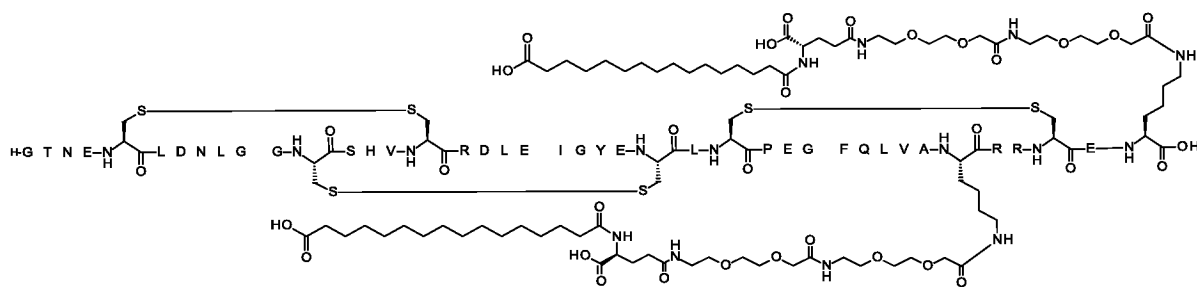
Пример 1. Получение композиций

Тестируемые композиции, содержащие пептидный ингибитор PCSK9, получали в соответствии с таблицей 2, приведенной ниже. Соединение представляло собой аналог пептида LDLR293-332, содержащий два заместителя в виде жирных двухосновных кислот, присоединенных посредством гидрофильной линкерной молекулы. Производное EGF(A) получали, как описано в WO 2017/121850 (пример

151/страница 161), оно обладало следующей структурой.

25

30



Композицию получали с использованием комбинации способов, описанных выше в настоящем документе. Тестируемые композиции 1 и 6 получали гранулированием смеси SNAC, стеарата магния и MCC, как описано в WO 2013/139694. Затем грануляты смешивали с повидоном, ингибитором PCSK9 и далее с MCC (необязательно гранулированным (испытание 6) и внегранулярным стеаратом магния перед прессованием таблетки (способ 2). Тестируемые композиции 2-5 и 7 получали путем смешивания SNAC и никотинамида перед экструдированием из горячего расплава (способ 1). Затем грануляты смешивали с ингибитором PCSK9 и дополнительно со стеаратом магния перед прессованием таблетки (способ 2). Для тестируемых композиций 6 и 7 производное EGF(A), применяемое в препарате, получали, как описано в способе 3.

Таблица 2. Композиции таблеток ингибитора PCSK9

	Композиция	Испытание 1	Испытание 2	Испытание 3	Испытание 4	Испытание 5	Испытание 6	Испытание 7
Гранулят SNAC	SNAC (мг)	300	100	100	234*	273,4	300	300
	Стеарат магния (мг)	7,7	-	-	-	-	7,7	-
	MCC (мг)	57	-	-	-	-	57	-
	Никотинамид	-	66,7	66,7	207	167,6	-	200
Вторые гранулярные и внеграну	Соединение 151 (мг)	5	5	5	5	5	50	50
	Повидон (мг)	8	-	-	-	-	8	
	MCC (мг)	23	-	-	-	-	23	

лярные ингредие нты	Стеарат магния (мг)	2	0,8	1,75	2,4	2,4	2	2,5
---------------------------	------------------------	---	-----	------	-----	-----	---	-----

*На основании измерения фактического содержания (анализ IV), в то время как другие значения являются целевыми значениями, используемыми для взвешивания материала перед таблетированием.

Пример 2. Испытание на распадаемость

5 Цель настоящего исследования заключалась в оценке распадаемости серии тестируемых композиций, описанных в примере 1.

Распадаемость измеряли согласно анализу II с использованием автоматического прибора для определения распадаемости Pharmatech PTZ в соответствии с Европейской фармакопеей с использованием автоматического обнаружения. Тестируемые композиции 1-5 испытывали в воде *R* и считали распавшимися при срабатывании автоматического обнаружения. Результаты представлены в виде среднего значения для 3 таблеток. В таблице 3 показаны результаты для тестируемых композиций, полученных согласно примеру 1 выше.

15 Таблица 3. Время распада

Композиция	Испытание 1	Испытание 2	Испытание 3	Испытание 4	Испытание 5	Испытание 6
Время распада	15 мин 18 с	2 мин 51 с	2 мин 50 с	4 мин 20 с	3 мин 32 с	11 мин 46 с

Полученные результаты показывают, что тестируемые композиции 2-5 демонстрировали значительно более быструю распадаемость по сравнению с наблюдаемой распадаемостью для тестируемой композиции 1.

20 Пример 3. Испытание на растворимость

Цель настоящего исследования заключалась в оценке растворения серии тестируемых композиций, описанных в примере 1.

25 Растворение измеряли в соответствии с анализом III, количество ингибитора PCSK9 и SNAC измеряли в соответствии с анализом IV. Высвобожденное количество ингибитора PCSK9 и SNAC рассчитывали в процентах от фактического содержания в

тестируемых композициях, т. е. 100 или приблизительно 300 мг SNAC/таблетку и 5 или 50 мг ингибитора PCSK9/таблетку.

Высвобожденное количество ингибитора PCSK9 регистрировали в виде среднего значения для 3 таблеток.

В таблице 4 показаны результаты для тестируемых композиций, полученных в соответствии с примером 1 выше, причем высвобождение представлено как «уровень ингибитора PCSK9 в растворе (%)», что описывает количество ингибитора PCSK9 в растворе через 15, 30 и 60 мин по сравнению с общим количеством ингибитора PCSK9 в таблетке в начале эксперимента. Общее содержание ингибитора PCSK9 и SNAC в таблетках определяли в соответствии с анализом IV.

Таблица 4. Ингибитор PCSK9 в растворе (%)

Композиция	Уровень ингибитора PCSK9 в растворе (%)		
	15 мин	30 мин	60 мин
Испытание 1	40,2	66,8	92,2
Испытание 3	Полное	Полное	Полное высвобождение
Испытание 5	99,5	Полное	Полное высвобождение
Испытание 6	47,9	76,3	95,0%
Испытание 7	Полное	Полное	Полное высвобождение

Полученные результаты показывают, что тестируемые композиции 3 и 5 демонстрировали более быстрое высвобождение ингибитора PCSK9 по сравнению с наблюдаемым высвобождением из тестируемой композиции 1. Тот же вывод можно сделать при сравнении тестируемой композиции 7 и тестируемой композиции 6. Значительно более быстрое высвобождение ингибитора PCSK9 наблюдали в более ранние моменты времени, т. е. 15 и 30 минут. Через 60 минут различие в высвобождении было менее значимым. Количество SNAC в тестируемых композициях не влияло на высвобождение ингибитора PCSK9 через 15 мин, т. е. тестируемые композиции, содержащие 100 мг SNAC, растворялись с такой же скоростью, что и тестируемые композиции, содержащие 300 мг SNAC, при измерении через 15 мин или позже.

Дополнительные данные, полученные через 5, 10, 15, 20, 30, 45 и 60 мин для тестируемых композиций 1-3 и 6-7, показаны на фигуре 2 и демонстрируют, что тестируемые композиции 3, 5 и 7 превосходили тестируемые композиции 1 и 6 в любой момент времени.

5

Пример 4. Воздействие при пероральном введении

Фармакокинетику при пероральном введении тестируемых композиций, описанных в примере 1 выше, оценивали в соответствии с анализом V для оценки воздействия при пероральной введении на собаках породы бигль с использованием 10 мл воды для введения доз собакам. Количество испытаний, выполненных для каждого состава, указано как n.

10

Анализ и результаты

Концентрацию молекулы PCSK9i в плазме анализировали с помощью ЖХ-МС. Отдельные профили зависимости концентрации в плазме от времени анализировали с помощью некомпартментной модели в WinNonlin v. 5.0 или Phoenix v. 6.2 или 6.3 (Pharsight Inc., Маунтин-Вью, штат Калифорния, США) или другого подходящего программного обеспечения для ФК-анализа. Воздействие соединения, измеренное при t=30 мин., определяли и нормировали как дозу/кг массы тела.

20

Рассчитывали площадь под кривой зависимости концентрации в плазме от времени в течение первых 30 мин (ППК, [время x концентрация]) (с помощью программы Pharsight) после перорального введения и нормировали как ((дозу/кг массы тела)*100) для получения воздействия с поправкой на дозу.

25

Рассчитывали воздействие PCSK9i с поправкой на дозу, полученное после введения тестируемых композиций 1 и 4. Данные включены в таблицу 5, приведенную ниже.

Таблица 5. Среднее воздействие, измеренное у собак после однократного введения тестируемых композиций 1, 2 и 7.

30

Композиция	Воздействие с поправкой на дозу t=30 мин (пмоль/л)	ППК 0-15 мин с поправкой на дозу (условные единицы)	ППК 0-30 мин с поправкой на дозу (условные единицы)	Количество собак

Испытание 1	0,18	0,39	3,34	8/8
Испытание 2	0,33	1,30	7,89	7/8
Испытание 7	0,39	1,19	8,31	16/16

Для композиций согласно настоящему изобретению наблюдали повышенное и ускоренное воздействие по сравнению с тестируемой композицией 1.

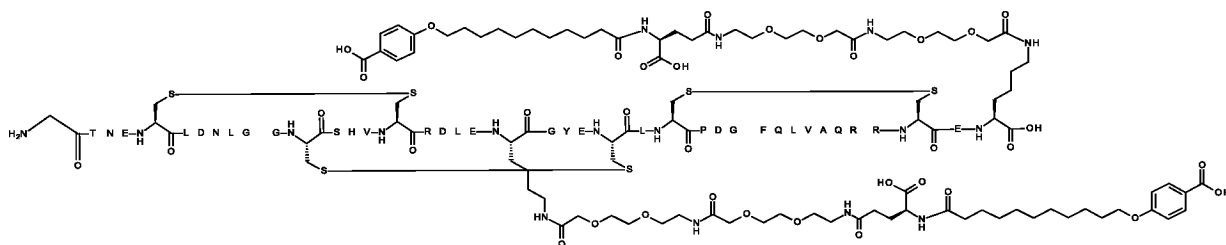
- 5 Хотя в настоящем документе проиллюстрированы и описаны определенные признаки настоящего изобретения, для специалистов средней квалификации в данной области техники очевидны различные модификации, замены, изменения и эквиваленты. Таким образом, следует понимать, что прилагаемая формула изобретения предназначена для охвата всех таких модификаций и изменений, которые
- 10 находятся в пределах истинной сущности настоящего изобретения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

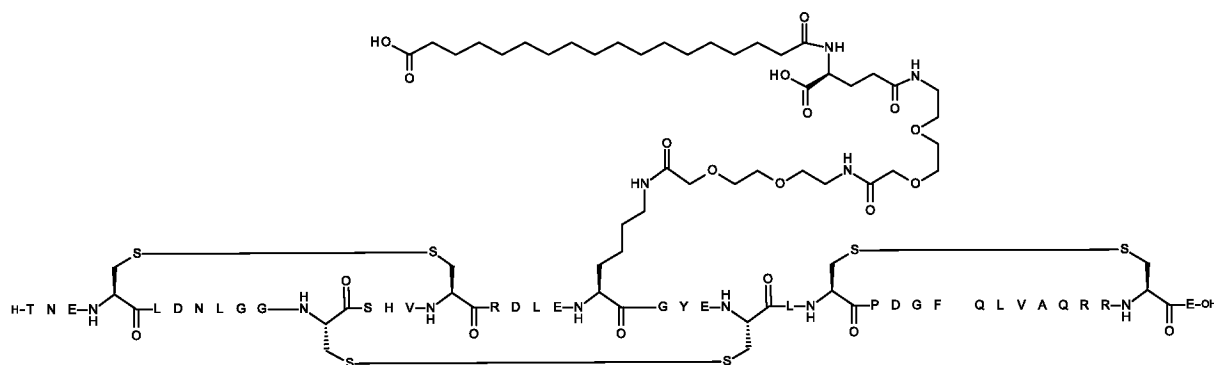
1. Фармацевтическая композиция, содержащая
 - а) 0,5-100 мг производного EGF(A),
 - 5 б) 20-1000 мг, например, 50-600 мг соли N-(8-(2-гидроксibenzoил)амино)каприловой кислоты и
 - в) 10-600 мг гидротропа, способного повышать растворимость SNAC по меньшей мере в 2 раза, например, в 5 раз или, например, по меньшей мере в 10 раз.
- 10
2. Фармацевтическая композиция по п. 1, отличающаяся тем, что гидротроп представляет собой никотинамид или резорцин.
3. Фармацевтическая композиция по любому из предыдущих пунктов, отличающаяся
- 15 тем, что соотношение соль NAC/гидротроп (масс./масс.) составляет 0,5-10, например, 0,5-8 или, например, 0,5-5.
4. Фармацевтическая композиция по любому из предыдущих пунктов, отличающаяся тем, что указанная композиция дополнительно содержит смазывающее вещество,
- 20 выбранное из стеарата магния или глицерилдибегената.
5. Фармацевтическая композиция по любому из предыдущих пунктов, состоящая из
 - а) производного EGF(A),
 - б) соли N-(8-(2-гидроксibenzoил)амино)каприловой кислоты, например,
 - 25 натриевой соли NAC (SNAC),
 - в) никотинамида и
 - д) по меньшей мере одного смазывающего вещества.
6. Фармацевтическая композиция по любому из предыдущих пунктов, отличающаяся
- 30 тем, что стандартная доза содержит
 - i) 0,5-100 мг, например, 1,0-50 мг производного EGF(A)
 - ii) 50-600 мг соли N-(8-(2-гидроксibenzoил)амино)каприловой кислоты (NAC), например, натриевой соли NAC (SNAC) и
 - iii) 20-400 мг никотинамида и
 - 35 iv) 0-15 мг смазывающего вещества.

7. Фармацевтическая композиция по любому из предыдущих пунктов, отличающаяся тем, что производное EGF(A) выбрано из группы производных EGF(A) № 31, 95, 128, 133, 143, 144, 150, 151, 152 и 153, обладающих следующими структурами:

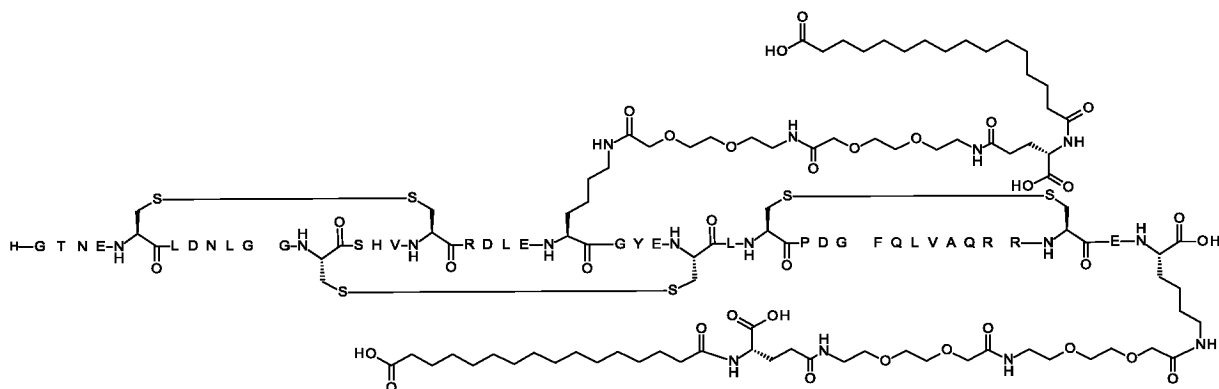
31



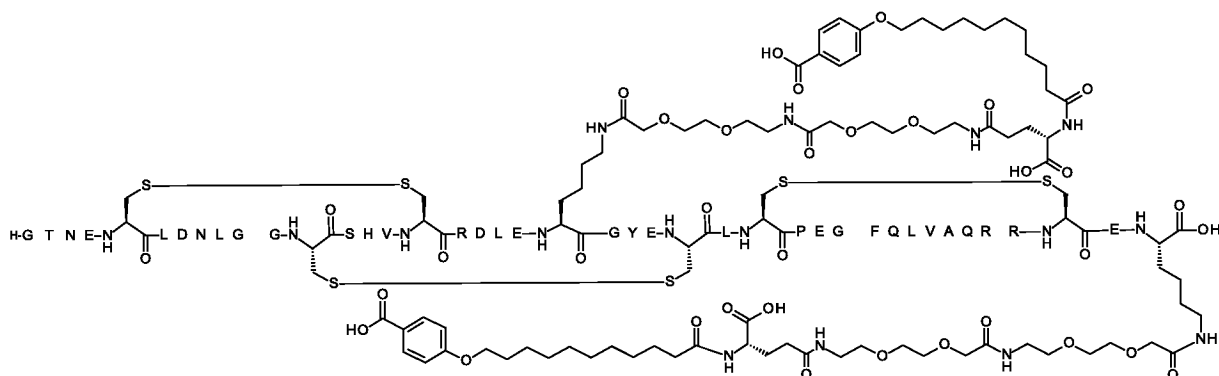
95



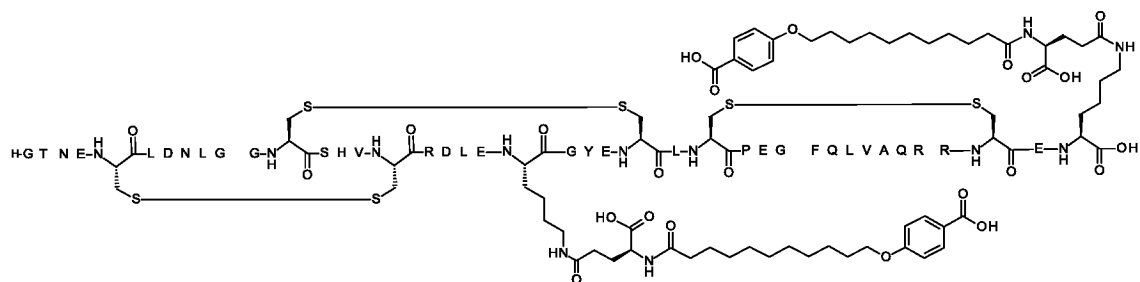
128



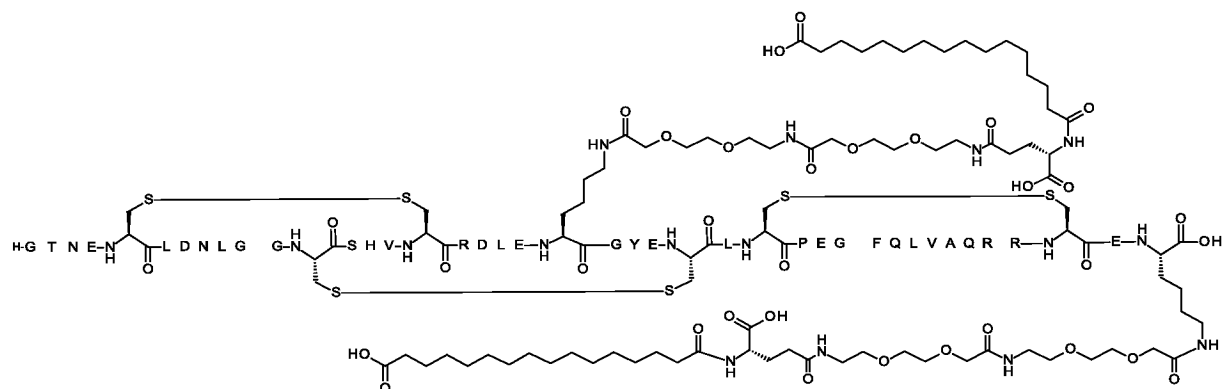
133



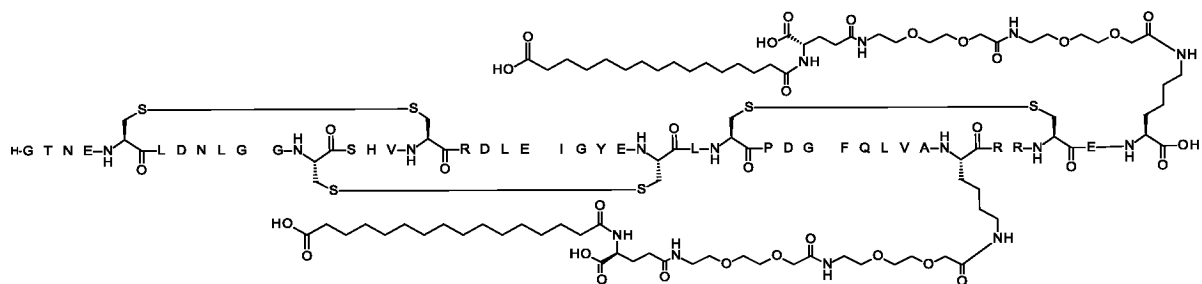
143



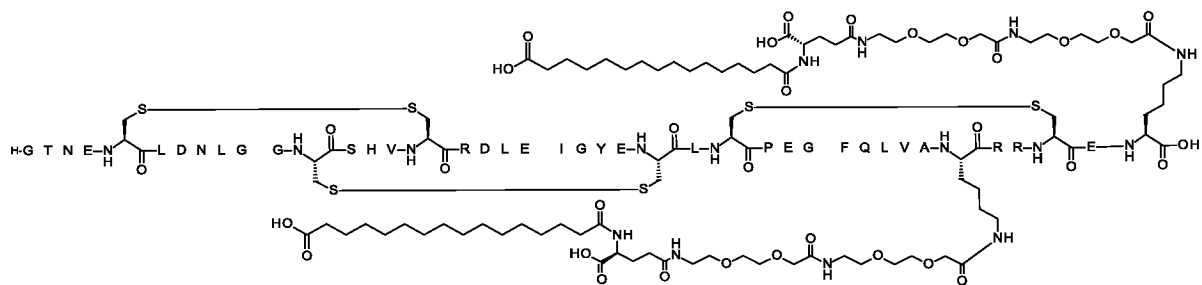
144



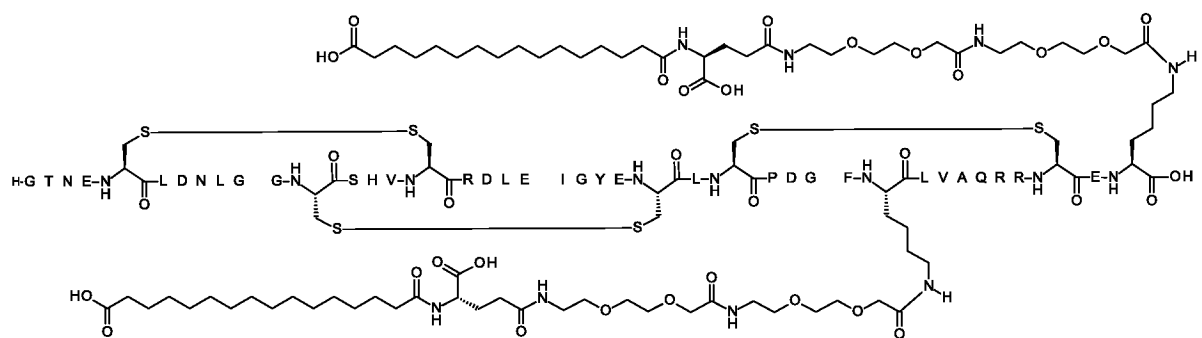
150

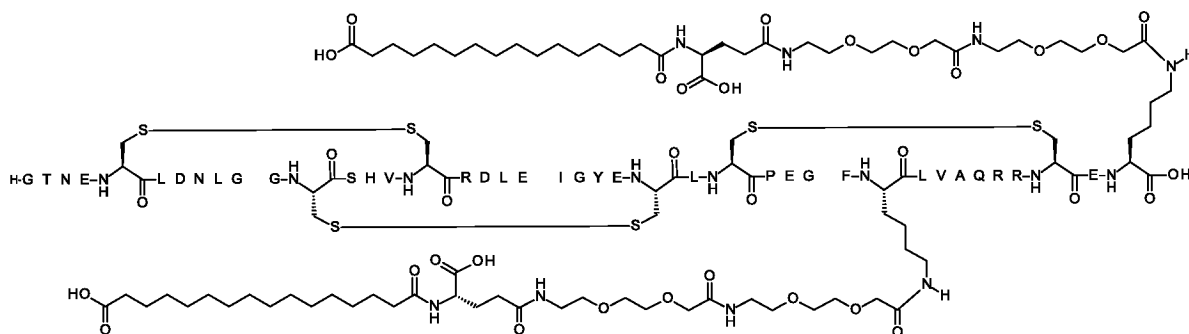


151



152





- 5

-

- а) 1-100 мг, например, 2-75 мг, например, 3-50 мг или например, 1-25 мг производного EGF(A),

- 15

- d) 0,1-30 мг смазывающего вещества, например, стеарата магния.

- 20

- а) 1-100 мг, например, 2-75 мг, например, 3-50 мг или например, 1-25 мг производного EGF(A),

- b) 100-600 мг SNAC и

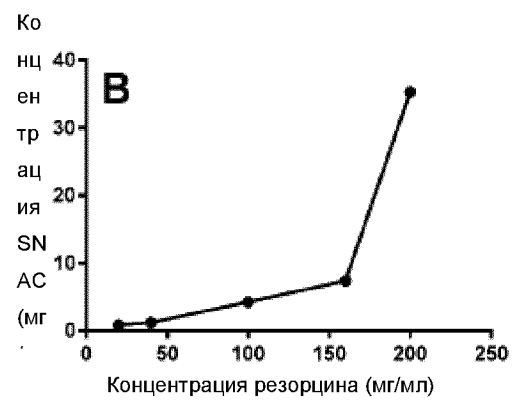
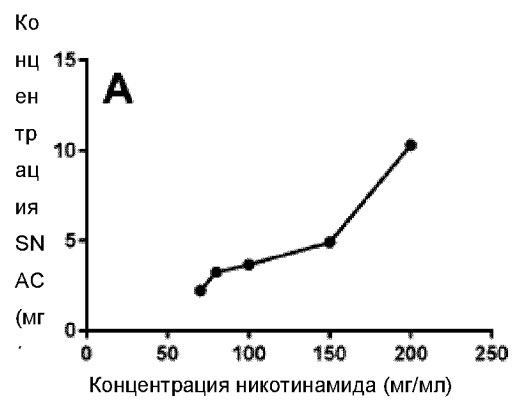
- с) 20-400 мг никотинамида и

d) 0,1-30 мг стеарата магния.

- 5 12. Фармацевтическая композиция по любому из предыдущих пунктов, отличающаяся тем, что композиция представляет собой твердую композицию, например, таблетку, для перорального введения.
- 10 13. Фармацевтическая композиция по любому из предыдущих пунктов для применения в способе улучшения показателей липидного обмена и/или лечения сердечно-сосудистых заболеваний.
14. Способ лечения субъекта, нуждающегося в этом, причем указанный способ включает введение указанному субъекту терапевтически активного количества композиции по любому из предыдущих пунктов.
- 15 15. Способ получения твердой фармацевтической композиции, включающий этапы:
- a) получения соли NAC и гидротропа,
 - b) совместной обработки указанной соли NAC и гидротропа а) и
 - c) получения указанной твердой фармацевтической композиции с применением продукта b) и производного EGF(A).

20

Фиг. 1



Фиг. 2

