

(19)



Евразийское  
патентное  
ведомство

(21) 202291701 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки  
2022.11.18

(51) Int. Cl. A61K 38/14 (2006.01)  
A61K 38/12 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки  
2020.12.03

(54) ПЕПТИДНЫЕ КОНЬЮГАТЫ И СПОСОБЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ

(31) 62/943,667; 62/994,791

(32) 2019.12.04; 2020.03.25

(33) US

(86) PCT/US2020/063149

(87) WO 2021/113535 2021.06.10

(71) Заявитель:  
ДЗЕ СКРИППС РИСЁЧ  
ИНСТИТУТ (US)

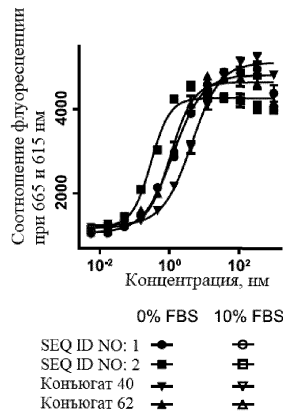
(72) Изобретатель:

Шэнь Вэйцзюнь, Пфлимлен Эльза,  
Лир Сэм, Амсо Заид, Шульц Питер Г.  
(US)

(74) Представитель:

Медведев В.Н. (RU)

(57) В изобретении раскрыты пептидные конъюгаты, содержащие пептид, выбранный из пептида, который модулирует рецептор PYY, пептида, который модулирует как рецептор GLP-1, так и рецептор GCG, пептида, который модулирует как рецептор GLP-1, так и рецептор GIP, и пептида, который модулирует рецептор GLP-1; и сшивающий фрагмент, присоединенный к пептиду через первую аминокислоту и вторую аминокислоту. Кроме того, раскрыты пептидные конъюгаты, содержащие пролактин-высвобождающий пептид. Пептидные конъюгаты могут быть использованы для лечения состояний, таких как ожирение. Кроме того, раскрыт сшитый пролактин-высвобождающий пептид.



A1

202291701

202291701

A1

# ПЕПТИДНЫЕ КОНЬЮГАТЫ И СПОСОБЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ

## Описание

### Перекрестная ссылка на родственные заявки

[0001] По настоящей заявке испрашивается приоритет предварительной патентной заявки США № 62/943,667, поданной 04 декабря 2019 года, и предварительной патентной заявки США № 62/994,791, поданной 25 марта, 2020, содержание которых во всей своей полноте включено в настоящий документ посредством ссылки.

### Предшествующий уровень техники настоящего изобретения

[0002] Разработку терапевтических средств часто затрудняют короткие периоды полураспада. Биологический период полураспада вещества представляет собой период времени, в течение которого вещество теряет половину своей фармакологической, физиологической или радиологической активности. В результате этого пациенты часто получают при введении терапевтическое средство в повышенной дозировке с повышенной частотой, что может приводить к снижению комплаентности, увеличению стоимости лечения и повышению риска побочных эффектов. Соответственно, требуется разработка терапевтических средств с увеличенными периодами полураспада.

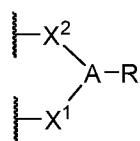
### Сущность настоящего изобретения

[0003] Согласно настоящему изобретению предложен пептидный конъюгат, содержащий:

а) пептид, выбранный из пептида, который модулирует рецептор PYY, пептида, который модулирует как рецептор GLP-1, так и рецептор GCG, пептида, который модулирует как рецептор GLP-1, так и рецептор GIP, и пептида, который модулирует рецептор GLP-1; и

б) сшивающий фрагмент, присоединенный к пептиду через первую содержащую сульфгидрильную группу аминокислоту и вторую содержащую сульфгидрильную группу аминокислоту;

причем сшивающий фрагмент имеет формулу (I):



Формула (I)

причем

A представляет собой -N-;

X<sup>1</sup> и X<sup>2</sup> представляют собой связь, -C(=O)-, -алкилен-C(=O)-, -C(=O)-алкилен-, -алкилен-C(=O)NR<sup>3</sup>-, -алкилен-NR<sup>3</sup>C(=O)-, -C(=O)NR<sup>3</sup>-алкилен-, -NR<sup>3</sup>C(=O)-алкилен-, -алкилен-C(=O)NR<sup>3</sup>-алкилен- или -алкилен-NR<sup>3</sup>C(=O)-алкилен-;

причем X<sup>1</sup> присоединяется к содержащей сульфгидрильную группу аминокислоте пептида, X<sup>2</sup> присоединяется к содержащей сульфгидрильную группу аминокислоте пептида, и X<sup>1</sup> и X<sup>2</sup> являются одинаковыми;

R представляет собой водород или -(L)<sub>s</sub>-Y;

каждый L независимо представляет собой -(CR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>)<sub>v</sub>-, -алкилен-O-, -O-алкилен-, -C(=O)-алкилен-, -алкилен-C(=O)-, -NR<sup>3</sup>-алкилен-, -алкилен-NR<sup>3</sup>-, -S-алкилен-, -алкилен-S-, -S(=O)-алкилен-, -алкилен-S(=O)-, -

S(=O)<sub>2</sub>-алкилен, -алкилен-S(=O)<sub>2</sub>-, -C(=O)-, -C(=O)NR<sup>3</sup>-, -NR<sup>3</sup>C(=O)-, -NR<sup>3</sup>C(=O)NR<sup>3</sup>-, -NR<sup>3</sup>C(=O)NR<sup>3</sup>-алкилен-, -NR<sup>3</sup>C(=O)-алкилен-NR<sup>3</sup>-, -алкилен-C(=O)NR<sup>3</sup>-, -C(=O)NR<sup>3</sup>-алкилен-, -алкилен-NR<sup>3</sup>C(=O)- или -NR<sup>3</sup>C(=O)-алкилен-;

v составляет от 2 до 20;

каждый R<sup>1</sup> или R<sup>2</sup> независимо представляет собой водород, галоген, -CN, -OR<sup>a</sup>, -SR<sup>a</sup>, -S(=O)R<sup>b</sup>, -NO<sub>2</sub>, -NR<sup>c</sup>R<sup>d</sup>, -S(=O)<sub>2</sub>R<sup>d</sup>, -NR<sup>a</sup>S(=O)<sub>2</sub>R<sup>d</sup>, -S(=O)<sub>2</sub>NR<sup>c</sup>R<sup>d</sup>, -C(=O)R<sup>b</sup>, -OC(=O)R<sup>b</sup>, -CO<sub>2</sub>R<sup>a</sup>, -OCO<sub>2</sub>R<sup>a</sup>, -C(=O)NR<sup>c</sup>R<sup>d</sup>, -OC(=O)NR<sup>c</sup>R<sup>d</sup>, -NR<sup>a</sup>C(=O)NR<sup>c</sup>R<sup>d</sup>, -NR<sup>a</sup>C(=O)R<sup>b</sup>, -NR<sup>a</sup>C(=O)OR<sup>a</sup>, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкил, C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>-алкенил, C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>-алкинил, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-гетероалкил, C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>-циклоалкил, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>-гетероциклоалкил, арил или гетероарил, причем алкил, алкенил, алкинил и гетероалкил необязательно является замещенным и содержит один, два или три атома галогена, -OR<sup>a</sup> или -NR<sup>c</sup>R<sup>d</sup>; и циклоалкил, гетероциклоалкил, арил и гетероарил необязательно является замещенным и содержит один, два или три атома галогена, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкил, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-галогеналкил, -OR<sup>a</sup> или -NR<sup>c</sup>R<sup>d</sup>;

или R<sup>1</sup> и R<sup>2</sup> совместно образуют C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-циклоалкил или C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-гетероциклоалкил;

каждый R<sup>3</sup> независимо представляет собой водород, -S(=O)R<sup>b</sup>, -S(=O)<sub>2</sub>R<sup>a</sup>, -S(=O)<sub>2</sub>NR<sup>c</sup>R<sup>d</sup>, -C(=O)R<sup>b</sup>, -CO<sub>2</sub>R<sup>a</sup>, -C(=O)NR<sup>c</sup>R<sup>d</sup>, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкил, C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>-алкенил, C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>-алкинил, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-гетероалкил, C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>-циклоалкил, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>-гетероциклоалкил, арил или гетероарил, причем алкил, алкенил, алкинил и гетероалкил необязательно является замещенным и содержит один, два или три атома галогена, -OR<sup>a</sup> или -NR<sup>c</sup>R<sup>d</sup>; и циклоалкил, гетероциклоалкил, арил и гетероарил необязательно является замещенным и содержит один, два или три атома галогена, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкил, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-галогеналкил, -OR<sup>a</sup> или -NR<sup>c</sup>R<sup>d</sup>;

Y представляет собой водород, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкил, -CO<sub>2</sub>H, -CO<sub>2</sub>(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкил), -CO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, -CO<sub>2</sub>N(алкил)<sub>2</sub> или -CO<sub>2</sub>NH(алкил);

s составляет от 0 до 20;

R<sup>a</sup> представляет собой водород, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкил, C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>-алкенил, C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>-алкинил, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-гетероалкил, C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>-циклоалкил, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>-гетероциклоалкил, арил или гетероарил, причем алкил, алкенил, алкинил и гетероалкил необязательно является замещенным и содержит один, два или три атома галогена, -OH, -OMe или -NH<sub>2</sub>; и циклоалкил, гетероциклоалкил, арил и гетероарил необязательно является замещенным и содержит один, два или три атома галогена, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкил, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-галогеналкил, -OH, -OMe или -NH<sub>2</sub>;

R<sup>b</sup> представляет собой C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкил, C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>-алкенил, C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>-алкинил, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-гетероалкил, C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>-циклоалкил, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>-гетероциклоалкил, арил или гетероарил, причем алкил, алкенил, алкинил и гетероалкил необязательно является замещенным и содержит один, два или три атома галогена, -OH, -OMe или -NH<sub>2</sub>; и циклоалкил, гетероциклоалкил, арил и гетероарил необязательно является замещенным и содержит один, два или три атома галогена, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкил, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-галогеналкил, -OH, -OMe или -NH<sub>2</sub>; и

каждый R<sup>c</sup> и R<sup>d</sup> независимо представляет собой водород, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкил, C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>-алкенил, C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>-алкинил, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-гетероалкил, C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>-циклоалкил, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>-гетероциклоалкил, арил или гетероарил, причем алкил, алкенил, алкинил и гетероалкил необязательно является замещенным и содержит один, два или три атома галогена, -OH, -OMe или -NH<sub>2</sub>; и циклоалкил, гетероциклоалкил, арил и гетероарил необязательно является замещенным и содержит один, два или три атома галогена, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкил, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-галогеналкил, -OH, -OMe или -NH<sub>2</sub>;

или R<sup>c</sup> и R<sup>d</sup>, вместе с атомом азота, к которому они присоединены, образуют гетероциклоалкил или гетероарил, причем гетероциклоалкил и гетероарил необязательно является замещенным и содержит один, два или три атома галогена, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкил, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-галогеналкил, -OH, -OMe или -NH<sub>2</sub>.

[0004] Кроме того, согласно настоящему изобретению предложен пептидный конъюгат, содержащий:

а) пептид, который модулирует рецептор PYY, содержащий пептидную последовательность, которая является идентичной по меньшей мере на около 95% по отношению к любой из последовательностей SEQ ID NO: 3, 5, 6, 8, 14-30, 36 или 37; и

б) сшивающий фрагмент, присоединенный к пептиду через первую аминокислоту и вторую аминокислоту.

[0005] Кроме того, согласно настоящему изобретению предложен пептидный конъюгат, содержащий:

а) пептид, который модулирует как рецептор GLP-1, так и рецептор GCGR содержащий пептидную последовательность, которая является идентичной по меньшей мере на около 95% по отношению к любой из последовательностей SEQ ID NO: 50-59; и

б) сшивающий фрагмент, присоединенный к пептиду через первую аминокислоту и вторую аминокислоту.

[0006] Кроме того, согласно настоящему изобретению предложен пептидный конъюгат, содержащий:

а) пептид, который модулирует как рецептор GLP-1, так и рецептор GIP, содержащий пептидную последовательность, которая является идентичной по меньшей мере на около 95% по отношению к любой из последовательностей SEQ ID NO: 62-71; и

б) сшивающий фрагмент, присоединенный к пептиду через первую аминокислоту и вторую аминокислоту.

[0007] Кроме того, согласно настоящему изобретению предложен пептидный конъюгат, содержащий:

а) пептид, который модулирует рецептор GLP-1, содержащий пептидную последовательность, которая является идентичной по меньшей мере на около 95% по отношению к любой из последовательностей SEQ ID NO: 74 и 79; и

б) сшивающий фрагмент, присоединенный к пептиду через первую аминокислоту и вторую аминокислоту.

[0008] Кроме того, согласно настоящему изобретению предложена фармацевтическая композиция, содержащая пептидный конъюгат, описанный в настоящем документе, и фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество.

[0009] Кроме того, согласно настоящему изобретению предложен способ лечения заболевания или состояния у нуждающегося в этом субъекта, причем способ включает введение субъекту композиции, содержащей терапевтически эффективное количество пептидного конъюгата, описанного в настоящем документе,.

### **Краткое описание фигур**

[0010] На фиг. 1А проиллюстрированы кривые зависимости эффекта от дозы для симметрично сшитых аналогов PYY при отсутствии эмбриональной телячьей сыворотки.

[0011] На фиг. 1В проиллюстрированы кривые зависимости эффекта от дозы для симметрично сшитых аналогов PYY в присутствии эмбриональной телячьей сыворотки (10%).

[0012] На фиг. 2 проиллюстрирована фармакокинетика PYY2, конъюгата 40 и конъюгата 62 для крысы.

[0013] На фиг. 3А проиллюстрировано изменение потребления пищи в течение 24 часов для мышей, получавших в однократной дозе конъюгат 187, конъюгат 40, комбинацию конъюгатов 187 и 40 или чистый разбавитель.

[0014] На фиг. 3В проиллюстрировано изменение массы тела в течение 24 часов для мышей, получавших в однократной дозе конъюгат 187, конъюгат 40, комбинацию конъюгатов 187 и 40 или чистый разбавитель.

[0015] На фиг. 4А проиллюстрировано изменение потребления пищи в день 1 для имеющих алиментарное ожирение мышей, получавших конъюгат 187, конъюгат 40, комбинацию конъюгатов 187 и 40 или чистый разбавитель.

[0016] На фиг. 4В проиллюстрировано изменение потребления пищи в день 5 для имеющих алиментарное ожирение мышей, получавших конъюгат 187, конъюгат 40, комбинацию конъюгатов 187 и 40 или чистый разбавитель.

[0017] На фиг. 4С проиллюстрировано изменение массы тела в течение двух недель для имеющих алиментарное ожирение мышей, получавших конъюгат 187, конъюгат 40, комбинацию конъюгатов 187 и 40 или чистый разбавитель.

[0018] На фиг. 4D проиллюстрированы уровни глюкозы в пероральном глюкозотолерантном исследовании для имеющих алиментарное ожирение мышей, получавших конъюгат 187, конъюгат 40, комбинацию конъюгатов 187 и 40 или чистый разбавитель после 14 суток лечения.

[0019] На фиг. 4Е проиллюстрирована площадь под кривой в пероральном глюкозотолерантном исследовании для имеющих алиментарное ожирение мышей, получавших конъюгат 187, конъюгат 40, комбинацию конъюгатов 187 и 40 или чистый разбавитель после 14 суток лечения.

[0020] На фиг. 4F проиллюстрированы уровни глюкозы в крови в состоянии натощак для имеющих алиментарное ожирение мышей, получавших конъюгат 187, конъюгат 40, комбинацию конъюгатов 187 и 40 или чистый разбавитель после 14 суток лечения.

[0021] На фиг. 5А проиллюстрирована кривая зависимости эффекта от дозы для глюкагона, семаглутида, конъюгата 122 и конъюгата 135 по отношению к GLP-1R.

[0022] На фиг. 5В проиллюстрирована кривая зависимости эффекта от дозы для глюкагона конъюгата 122 и конъюгата 135 по отношению к GCGR.

[0023] На фиг. 5С проиллюстрирована устойчивость конъюгатов 122 и 135 в 2% плазме в течение 50 часов.

[0024] На фиг. 6А проиллюстрирована фармакокинетика конъюгата 135 для внутривенного и подкожного введения.

[0025] На фиг. 6В проиллюстрирована фармакокинетика конъюгата 122 для внутривенного и подкожного введения.

[0026] На фиг. 6С проиллюстрирована фармакокинетика мышей, получавших пептид 142 внутривенно и подкожно.

[0027] На фиг. 6D проиллюстрирована фармакокинетика мышей, получавших пептид 183 внутривенно и подкожно.

[0028] На фиг. 7А проиллюстрированы эффекты соединений в пероральном глюкозотолерантном исследовании на уровни глюкозы в крови с течением времени через 6 часов после введения дозы. А: 122, В: 135, С: 138, D: котадутид, Е: семаглутид.

[0029] На фиг. 7B проиллюстрированы эффекты соединений в пероральном глюкозотолерантном исследовании на уровне глюкозы в крови с течением времени через 48 часов после введения дозы. A: 122, B: 135, C: 138, D: котадутид, E: семаглутид.

[0030] На фиг. 7C проиллюстрированы эффекты соединений в пероральном глюкозотолерантном исследовании на уровне глюкозы в крови с течением времени через 96 часов после введения дозы. A: 122 и E: семаглутид.

[0031] На фиг. 7D проиллюстрированы эффекты введения соединений в пероральном глюкозотолерантном исследовании на уровне глюкозы в крови при измерении по площади под кривой (AUC) через 6 часов после введения дозы. A: 122, B: 135, C: 138, D: котадутид, E: семаглутид.

[0032] На фиг. 7E проиллюстрированы эффекты введения соединений в пероральном глюкозотолерантном исследовании на уровне глюкозы в крови при измерении по площади под кривой (AUC) через 48 часов после введения дозы. A: 122, B: 135, C: 138, D: котадутид, E: семаглутид.

[0033] На фиг. 7F проиллюстрированы эффекты введения соединений в пероральном глюкозотолерантном исследовании на уровне глюкозы в крови при измерении по площади под кривой (AUC) через 96 часов после введения дозы. A: 122, B: 135, C: 138, D: котадутид, E: семаглутид.

[0034] На фиг. 7G проиллюстрированы эффекты соединений в пероральном глюкозотолерантном исследовании на уровне глюкозы в состоянии натощак через 6 часов после введения дозы. A: 122, B: 135, C: 138, D: котадутид, E: семаглутид.

[0035] На фиг. 7H проиллюстрированы эффекты соединений в пероральном глюкозотолерантном исследовании на уровне глюкозы в состоянии натощак через 48 часов после введения дозы. A: 122, B: 135, C: 138, D: котадутид, E: семаглутид.

[0036] На фиг. 7I проиллюстрированы эффекты соединений в пероральном глюкозотолерантном исследовании на уровне глюкозы в состоянии натощак через 96 часов после введения дозы. A: 122, B: 135, C: 138, D: котадутид, E: семаглутид.

[0037] На фиг. 8A проиллюстрированы результаты исследования репортера активации рецепторов GLP1 для тирзепатида, NNC0090-2746, конъюгатов 142, 141 и 171.

[0038] На фиг. 8B проиллюстрированы результаты исследования репортера активации рецепторов GIP для тирзепатида, NNC0090-2746, конъюгатов 142, 141 и 171.

[0039] На фиг. 9A проиллюстрированы эффекты введения соединений в пероральном глюкозотолерантном исследовании с течением времени по сравнению с разбавителем в качестве контроля через 2 часа после введения дозы. A: 141, B: 171, C: 142, D: семаглутид, E: тирзепатид.

[0040] На фиг. 9B проиллюстрированы эффекты введения соединений в пероральном глюкозотолерантном исследовании с течением времени по сравнению с разбавителем в качестве контроля через 72 часа после введения дозы. A: 141, B: 171, C: 142, D: семаглутид, E: тирзепатид.

[0041] На фиг. 9C проиллюстрированы эффекты введения соединений в пероральном глюкозотолерантном исследовании с течением времени по сравнению с разбавителем в качестве контроля через 96 часов после введения дозы. A: 141, B: 171, C: 142, D: семаглутид, E: тирзепатид.

[0042] На фиг. 9D проиллюстрированы эффекты введения соединений в пероральном глюкозотолерантном исследовании с течением времени по сравнению с разбавителем в качестве контроля через 144 часа после введения дозы. A: 141, B: 171, C: 142, D: семаглутид, E: тирзепатид.

[0043] На фиг. 9E проиллюстрированы эффекты введения соединений в пероральном глюкозотолерантном исследовании на уровне глюкозы в крови при измерении по площади под кривой

(AUC) по сравнению с разбавителем в качестве контроля через 2 часа после введения дозы. A: 141, B: 171, C: 142, D: семаглутид, E: тирзепатид.

[0044] На фиг. 9F проиллюстрированы эффекты введения соединений в пероральном глюкозотолерантном исследовании на уровни глюкозы в крови при измерении по площади под кривой (AUC) по сравнению с разбавителем в качестве контроля через 72 часа после введения дозы. Для всех фигур A: 141, B: 171, C: 142, D: семаглутид, E: тирзепатид.

[0045] На фиг. 9G проиллюстрированы эффекты введения соединений в пероральном глюкозотолерантном исследовании на уровни глюкозы в крови при измерении по площади под кривой (AUC) по сравнению с разбавителем в качестве контроля через 96 часов после введения дозы. A: 141, B: 171, C: 142, D: семаглутид, E: тирзепатид.

[0046] На фиг. 9H проиллюстрированы эффекты введения соединений в пероральном глюкозотолерантном исследовании на уровни глюкозы в крови при измерении по площади под кривой (AUC) по сравнению с разбавителем в качестве контроля через 144 часа после введения дозы. A: 141, B: 171, C: 142, D: семаглутид, E: тирзепатид.

[0047] На фиг. 9I проиллюстрированы эффекты введения соединений на уровни глюкозы в состоянии натощак при измерении по площади под кривой (AUC) по сравнению с разбавителем в качестве контроля через 2 часа после введения дозы. A: 141, B: 171, C: 142, D: семаглутид, E: тирзепатид.

[0048] На фиг. 9J проиллюстрированы эффекты введения соединений на уровни глюкозы в состоянии натощак при измерении по площади под кривой (AUC) по сравнению с разбавителем в качестве контроля через 72 часа после введения дозы. A: 141, B: 171, C: 142, D: семаглутид, E: тирзепатид.

[0049] На фиг. 9K проиллюстрированы эффекты введения соединений на уровни глюкозы в состоянии натощак при измерении по площади под кривой (AUC) по сравнению с разбавителем в качестве контроля через 96 часов после введения дозы. A: 141, B: 171, C: 142, D: семаглутид, E: тирзепатид.

[0050] На фиг. 9L проиллюстрированы эффекты введения соединений на уровни глюкозы в состоянии натощак при измерении по площади под кривой (AUC) по сравнению с разбавителем в качестве контроля через 144 часа после введения дозы. A: 141, B: 171, C: 142, D: семаглутид, E: тирзепатид.

[0051] На фиг. 10A проиллюстрировано изменение массы тела мышей, подкожно получивших один или два раза в сутки пептид или разбавитель в качестве контроля. Серыми стрелками показано введение соединений один раз в сутки, и черными стрелками показано введение соединений два раза в сутки. A: 142 (7 доз в неделю), B: 142 (2 дозы в неделю), C: тирзепатид (2 дозы в неделю), D: семаглутид (2 дозы в неделю).

[0052] На фиг. 10B проиллюстрирован процент изменение массы тела, соответственно, мышей, подкожно получивших один или два раза в сутки пептид или разбавитель в качестве контроля. Серыми стрелками показано введение соединений один раз в сутки, и черными стрелками показано введение соединений два раза в сутки. A: 142 (7 доз в неделю), B: 142 (2 дозы в неделю), C: тирзепатид (2 дозы в неделю), D: семаглутид (2 дозы в неделю).

[0053] На фиг. 10C проиллюстрировано кумулятивное потребление пищи для мышей в течение 7 суток после подкожного введения пептида или разбавителя в качестве контроля. Серыми стрелками показано введение соединений один раз в сутки, и черными стрелками показано введение соединений два раза в сутки. A: 142 (7 доз в неделю), B: 142 (2 дозы в неделю), C: тирзепатид (2 дозы в неделю), D: семаглутид (2 дозы в неделю).

[0054] На фиг. 10D проиллюстрированы эффекты введения соединений в пероральном глюкозотолерантном исследовании (OGTT) на уровни глюкозы в крови с течением времени. A: 142 (7 доз в неделю), B: 142 (2 дозы в неделю), C: тирзепатид (2 дозы в неделю), D: семаглутид (2 дозы в неделю).

[0055] На фиг. 10E проиллюстрированы эффекты введения соединений в пероральном глюкозотолерантном исследовании (OGTT) на уровни глюкозы в крови при измерении по площади под кривой (AUC). A: 142 (7 доз в неделю), B: 142 (2 дозы в неделю), C: тирзепатид (2 дозы в неделю), D: семаглутид (2 дозы в неделю).

[0056] На фиг. 10F проиллюстрированы эффекты введения соединений в пероральном глюкозотолерантном исследовании (OGTT) на уровни глюкозы в состоянии натощак в день 8. A: 142 (7 доз в неделю), B: 142 (2 дозы в неделю), C: тирзепатид (2 дозы в неделю), D: семаглутид (2 дозы в неделю).

[0057] На фиг. 11A проиллюстрировано кумулятивное потребление пищи мышей, получавших ежедневно пептид или разбавитель. A: 122, B: 142, C: семаглутид, D: котадутид.

[0058] На фиг. 11B проиллюстрировано изменение массы тела мышей, получавших пептид или разбавитель в качестве контроля в течение 21 суток. A: 122, B: 142, C: семаглутид, D: котадутид.

[0059] На фиг. 11C проиллюстрирован процент изменение массы тела мышей, получавших пептид или разбавитель в качестве контроля в течение 21 суток. A: 122, B: 142, C: семаглутид, D: котадутид.

[0060] На фиг. 11D проиллюстрированы эффекты соединений на колебания уровней глюкозы в плазме в состоянии после приема пищи в день 20 по сравнению с разбавителем в качестве контроля. A: 122, B: 142, C: семаглутид, D: котадутид.

[0061] На фиг. 11E проиллюстрированы эффекты соединений на колебания уровней глюкозы в плазме в состоянии натощак в день 20, по сравнению с разбавителем в качестве контроля. A: 122, B: 142, C: семаглутид, D: котадутид.

[0062] На фиг. 11F проиллюстрированы эффекты введения соединений в пероральном глюкозотолерантном исследовании (OGTT) в день 21 по сравнению с разбавителем в качестве контроля. A: 122, B: 142, C: семаглутид, D: котадутид.

[0063] На фиг. 11G проиллюстрированы уровни глюкозы при определении путем измерения площади под кривой (AUC). A: 122, B: 142, C: семаглутид, D: котадутид.

[0064] На фиг. 11H проиллюстрированы эффекты введения соединений на уровни аспартатаминотрансферазы (AST) в плазме. A: 122, B: 142, C: семаглутид, D: котадутид.

[0065] На фиг. 11I проиллюстрированы эффекты введения соединений на уровни аланинаминотрансферазы (ALT) в плазме. A: 122, B: 142, C: семаглутид, D: котадутид.

[0066] На фиг. 11J проиллюстрированы эффекты введения соединений на уровни в щелочной фосфатазы (ALP) в плазме. A: 122, B: 142, C: семаглутид, D: котадутид.

[0067] На фиг. 11K проиллюстрированы эффекты введения соединений на уровни в плазме холестерина. A: 122, B: 142, C: семаглутид, D: котадутид.

[0068] На фиг. 11L проиллюстрированы эффекты введения соединений на уровни в плазме триглицеридов, соответственно. A: 122, B: 142, C: семаглутид, D: котадутид.

[0069] На фиг. 11M проиллюстрированы эффекты введения соединений и разбавителя в качестве контроля на соотношение массы печени и массы тела. A: 122, B: 142, C: семаглутид, D: котадутид.

[0070] На фиг. 11N проиллюстрированы эффекты введения соединений и разбавителя в качестве контроля на массу жира. A: 122, B: 142, C: семаглутид, D: котадутид.



[0071] На фиг. 11O проиллюстрированы эффекты введения соединений и разбавителя в качестве контроля на массу печени. A: 122, B: 142, C: семаглутид, D: котадутид.

[0072] На фиг. 11P проиллюстрированы эффекты введения соединений и разбавителя в качестве контроля на уровни триглицеридов в печени. A: 122, B: 142, C: семаглутид, D: котадутид.

[0073] На фиг. 11Q проиллюстрированы эффекты введения соединений и разбавителя в качестве контроля на степень стеатоза. A: 122, B: 142, C: семаглутид, D: котадутид.

[0074] На фиг. 12 проиллюстрирована устойчивость в плазме в лабораторных условиях для PrRP31, конъюгата 255 (97-L3) и конъюгата 263 (97-L5).

[0075] На фиг. 13 проиллюстрирована концентрация в плазме конъюгата 263 (97-L5) после однократной подкожной инъекции дозы 1 мг/кг для мышей.

[0076] На фиг. 14 проиллюстрирована концентрация в плазме конъюгата 263 (97-L5) после однократной подкожной инъекции дозы 5 мг/кг для самок мышей линии CD-1 (n = 4).

[0077] На фиг. 15 проиллюстрировано 12-суточное исследование массы тела на модели имеющих алиментарное ожирение (DIO) мышей (n = 8 в группе) с ежедневным подкожным введением конъюгата 263 (97-L5).

[0078] На фиг. 16 проиллюстрировано уменьшение массы тела на модели имеющих алиментарное ожирение (DIO) мышей (n = 8 в группе) в течение 12-суточного периода с ежедневным подкожным введением (0,5 и 5 мг/кг) конъюгата 263 (97-L5).

[0079] На фиг. 17 проиллюстрированы уровни глюкозы после перорального введения PrRP31 и конъюгата 263 (97-L5) на модели имеющих алиментарное ожирение (DIO) мышей в состоянии натощак в день 14 исследования массы тела в условиях организма.

[0080] На фиг. 18 проиллюстрирована площадь под кривой (AUC) после перорального введения PrRP31 и конъюгата 263 (97-L5) на модели имеющих алиментарное ожирение (DIO) мышей в состоянии натощак в день 14 исследования массы тела в условиях организма.

### **Подробное описание настоящего изобретения**

[0081] Пептид YY (PYY) и глюкагоноподобный пептид (GLP)-1 представляют собой пептиды, секретируемые L-клетками кишечника в ответ на прием пищи. Было показано, что повышенные уровни каждого пептида в плазме снижают аппетит и препятствуют приему пищи. Для грызунов, получавших соединение PYY и соединение GLP-1, наблюдался аддитивный эффект на ингибирование питания по сравнению с отдельными дозами любого соединения. Это аддитивное ингибирование питания также наблюдали для моделей с генетическим ожирением, мышцах с мутацией гена ожирения (ob/ob) и с мутацией гена диабета (db/db). Дополнительные исследования также показали аддитивный эффект соединения PYY и соединения GLP-1 на снижение потребления энергии (27%) здоровых людей-добровольцев, которым был предложен неограниченный выбор пищи («шведский стол»). Это снижение потребления энергии было больше в случае людей, получавших комбинацию, а затем только соединение PYY или соединение GLP-1. Таким образом, PYY, необязательно в комбинации с GLP-1 или подобным соединением, представляет собой перспективное терапевтическое средство для лечения состояний, связанных с потерей веса.

[0082] Нейропептиды семейства Y регулируют передачу сигналов между головным мозгом и кишечником через рецепторы нейропептидов Y и представляют собой пептиды PYY, NPY (нейропептид Y) и PP (полипептид поджелудочной железы). PYY представляет собой естественно секретируемый пептид PYY(1-36), состоящий из 36 аминокислот, который расщепляется до PYY(3-36). Однако PYY(3-36) быстро

выводится, и согласно сообщениям его период полураспада для свиней составляет менее 30 минут. Соответственно, фармакокинетические свойства встречающихся в природе соединений РУУ являются субоптимальными для терапевтического применения.

[0083] Связанные с G-белком рецепторы (GPCR) представляют собой связанные с мембраной белки, которые содержат семь трансмембранных доменов, связанных тремя внутриклеточными и тремя внеклеточными петлями. Их центры связывания лигандов являются узкоспециализированными, поэтому каждый рецептор реагирует только на ограниченное количество химических веществ, которые связываются с высокой аффинностью. Примерные лиганды GPCR представляют собой пептиды, белки, молекулы липидного происхождения, низкомолекулярные органические соединения и ионы. GPCR уже давно представляют интерес в качестве мишеней для фармацевтических препаратов, поскольку они принимают участие в многочисленных патофизиологических процессах, включая регуляцию возбудимости нейронов, метаболизма, репродукции, гормонального гомеостаза и поведения. Согласно оценкам около 34% всех лекарственных средств, одобренных Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (FDA), нацелены на 108 представителей семейства GPCR. GPCR обычно подразделяются на несколько суперсемейств. GPCR семейства В, или так называемое семейство секретинных рецепторов, представляют собой небольшой, но структурно и функционально разнообразный набор рецепторов. Эти белки жизненно важны для многих физиологических функций и служат ключевыми мишенями для лекарств при некоторых заболеваниях человека, таких как сахарный диабет второго типа (T2DM), мигрень, остеопороз, депрессия и тревога. Члены этого семейства включают рецепторы полипептидных гормонов длиной от 27 до 141 аминокислотных остатков. На девять из этих рецепторов нацелены лиганды, которые структурно связаны друг с другом, примеры которых представляют собой глюкагоноподобные пептиды (GLP-1 и GLP-2), глюкагон, глюкозозависимый инсулиноподобный полипептид (GIP), вазоактивный интестинальный пептид (VIP), полипептид, активирующий аденилатциклазу гипофиза (PACAP), и гормон, высвобождающий гормон роста (GHRH).

[0084] Глюкагоноподобный пептид 1 (GLP-1) представляет собой встречающийся в природе инкретиновый гормон, высвобождаемый в систему кровообращения L-клетками кишечника в ответ на принятые перорально питательные вещества. Посредством связывания со своим родственным рецептором (GLP-1R), GLP-1 способен стимулировать секрецию инсулина при одновременном подавлении секреции глюкагона, но только при повышении уровня глюкозы, что дает возможность снизить уровень глюкозы в плазме при одновременном снижении риска гипогликемии. Кроме того, GLP-1 снижает скорость опорожнения желудка и снижает аппетит, что приводит к потере веса.

[0085] Агонисты рецептора GLP-1 (GLP-1RA) представляют собой уникальный подход к лечению диабета, преимущества которого не ограничиваются контролем уровня глюкозы, включая благоприятное влияние на массу тела, артериальное давление, уровни холестерина и функцию бета-клеток. В настоящее время в США одобрены два производящих кратковременное воздействие GLP-1RA (экзенатид и лираглутид; введение один или два раза в день) и три производящих пролонгированное воздействие GLP-1RA (албиглутид, дулаглутид и эксенатид LAR; еженедельное введение). В частности, эксенатид, аналог GLP-1, первоначально выделенный из слюны аризонского ядозуба, имеет период полураспада, составляющий 30 минут после внутривенного введения, и полураспада, составляющий 2-3 часа после подкожного введения человеку. Эти лекарственные средства имитируют действие встречающегося в природе инкретинового гормона GLP-1 посредством активации рецепторов GLP-1 в поджелудочной железе, что приводит к повышенному высвобождению инсулина и снижению высвобождению глюкагона в

зависимости от уровня глюкозы, что приводит к низкому риску гипогликемии. Воздействие этих агонистов рецепторов GLP-1RA на рецепторы GLP-1 в центральной нервной системе и желудочно-кишечном тракте также приводит к снижению аппетита и замедлению абсорбции глюкозы с сопутствующей потерей веса. Учитывая их ограниченную биодоступность при пероральном введении, эти агонисты рецепторов GLP-1RA в настоящее время вводят посредством подкожной инъекции. Согласно некоторым аспектам настоящего изобретения предусмотрены агонисты рецепторов GLP-1RA, соединенные с образованным из жирной кислоты сшивающим фрагментом боковой цепи, для увеличения периода полураспада.

[0086] Пептиды на основе инкретина представляют собой эффективные терапевтические средства для лечения сахарного диабета второго типа (T2DM). Оксинтомодулин (ОХМ), двойной агонист GLP-1R и GCGR, продемонстрировал превосходные эффекты снижения веса и снижения уровня глюкозы по сравнению с одиночными агонистами GLP-1R. В целях преодоления короткого периода полураспада и быстрого почечного клиренса ОХМ, которые ограничивают его терапевтический потенциал, согласно сообщениям существуют аналоги ОХМ, модифицированные как липидами, так и полиэтиленгликолем (PEG). Однако указанные подходы часто приводят к снижению активности или к токсичности, связанной с PEG. Согласно определенным вариантам осуществления настоящего изобретения предусмотрены двойные агонисты GLP-1R и GCGR, обладающие повышенной устойчивостью в плазме и более высокой эффективностью активации как GLP-1R, так и GCGR.

[0087] GIP также характеризуется как инкретин, который стимулирует секрецию инсулина глюкозозависимым образом. Было показано, что двойной агонист рецепторов GIP и GLP-1 снижает уровень глюкозы в сыворотке в состоянии натощак по сравнению с плацебо и снижает массу тела. Этот двойной агонист LY3298176 вводят один раз в неделю подкожно. Согласно определенным вариантам осуществления настоящего изобретения дополнительно предусмотрены двойные агонисты GIPR и GLP-1R, содержащие сшитый элемент для увеличения устойчивости в сыворотке и периода полураспада.

[0088] Пролактин-высвобождающий пептид (PrRP) был первоначально обнаружен в гипоталамусе как новый пептид, который стимулирует секрецию пролактина в клетках передней доли гипофиза, активируя активации орфанный вкусовой рецептор 3 человека, связанный с G-белком (Gr3), и его крысиный ортологический неизвестный гипоталамический рецептор-1 (UHR-1). Однако более поздние сообщения показали, что PrRP не стимулирует секрецию пролактина или других гормонов гипофиза, но может действовать как нейромодулятор и играть ключевую роль в регуляции энергетического баланса посредством активации рецептора пептида, высвобождающего пролактин, также известного как связанный с G-белком рецептор 10 (GPR10, идентичный hGr3). PrRP снижает массу тела и потребление пищи, а также изменяет температуру тела при центральном введении, что указывает на его роль в энергетическом гомеостазе. Анорексигенный эффект PrRP опосредуется рецепторами высвобождающегося кортикотропин гормона (CRH), а также взаимодействует с лептином, снижая потребление пищи и массу тела. У мышей с дефицитом PrRP наблюдается позднее начало ожирения и ожирения, что позволяет предположить, что PrRP передает сигнал о сытости в головном мозге. Нарушение передачи сигналов рецептора PrRP может привести к ожирению и метаболическим нарушениям. Таким образом, PrRP может представлять собой потенциальное терапевтическое средство для лечения диабета и ожирения за счет использования его анорексигенных свойств для потребления пищи и снижения массы тела.

[0089] Однако при центральном введении PrRP приводит к значительному увеличению сердечной сократимости, частоты сердечных сокращений и артериального давления. PrRP принадлежит к семейству пептидов RFamide, и в дополнение к активации GPR10 он также проявляет высокое сродство к NPFF2R

(рецептор нейропептида FF2 или GPR74). В то время как передача сигналов NPFF2R производит дополнительный анорексигенный эффект, который может усиливать эффект, опосредованный GPR10, NPFF2R был связан с повышенным артериальным давлением и может быть ответственным за PrRP-индуцированные сердечно-сосудистые эффекты. PrRP вызывает повышение артериального давления и частоты сердечных сокращений, которые можно устранить посредством совместного введения RF9, специфического антагониста NPFF2R, но не нейропептида Y, предполагаемого антагониста GPR10. Прямая конъюгация пальмитиновой кислоты с N-концом PrRP через боковую цепь Lys в положении 11 приводит к значительному увеличению периода полураспада и анорексигенному эффекту в условиях организма с уменьшением потребления пищи, массы тела и непереносимости глюкозы в моделях на крысах и мышах, страдающих ожирением. Несмотря на положительное воздействие на центральную нервную систему после периферического введения, пальмитоилированные аналоги PrRP, по-видимому, демонстрируют повышенную активность в отношении NPFF2R. Таким образом, существует необходимость в разработке GPR10-селективных аналогов PrRP, которые сохраняют свои анорексигенные и антидиабетические эффекты, но при этом снижают свою активность в отношении агонизма NPFF2R и связанного с ним сердечно-сосудистого риска.

[0090] Согласно настоящему документу предложены пептидные конъюгаты, содержащие терапевтический пептид, сшитый с молекулой, такой как увеличивающая период полураспада молекула.

[0091] Согласно определенным вариантам осуществления сшитые пептиды представляют собой инкретиновые пептиды или инкретиновые пептидные миметики. Инкретиновые пептиды обычно связываются с родственными им рецепторами в  $\alpha$ -спиральной конформации, поэтому согласно некоторым вариантам осуществления настоящего изобретения предусмотрены модификации, которые стабилизируют  $\alpha$ -спираль, что в некоторых случаях может повышать сродство к связыванию с соответствующими рецепторами. Кроме того, протеолитическая устойчивость также может быть повышена в спиральной, а не в вытянутой конформации. Согласно некоторым аспектам настоящего изобретения предусмотрены такие конъюгированные пептиды, обладающие увеличенным периодом полувыведения из системы кровообращения и эффективностью в отношении родственных им рецепторов.

[0092] Согласно некоторым аспектам настоящего изобретения предложена стратегия пептидной инженерии, которая используется для получения сшитых пептидных аналогов пролонгированного действия с эффективностью, сравнимой с нативными пептидами, и значительно улучшенными фармакокинетическими свойствами.

#### **Пептид, который модулирует рецептор PYY**

[0093] Согласно одному аспекту настоящего изобретения предложены пептидные конъюгаты, содержащие пептид, специфический для производных рецепторов нейропептидов семейства Y (биологически активный пептид семейства NPY, NPY, пептид YY (PYY) и панкреатический полипептид (PP)). Согласно одному аспекту настоящего изобретения предложены пептидные конъюгаты, содержащие пептид, который модулирует рецептор PYY. Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор PYY, является агонистом рецептора PYY.

[0094] Связывающая способность пептидного конъюгата, который описан в настоящем документе, может отличаться не более чем на около 5% от связывающей способности немодифицированной формы пептида. Связывающая способность пептидного конъюгата, который описан в настоящем документе, может отличаться не более чем на около 10% от связывающей способности немодифицированной формы пептида. Связывающая способность пептидного конъюгата, который описан в настоящем документе, может

отличаться не более чем на около 15% от связывающей способности немодифицированной формы пептида. Связывающая способность пептидного конъюгата, который описан в настоящем документе, может отличаться не более чем на около 20% от связывающей способности немодифицированной формы пептида.

[0095] В некоторых случаях производное NPY представляет собой производное PYY. В некоторых случаях производное NPY представляет собой производное PYY, содержащее аминокислотную последовательность, которая отличается менее чем на 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 10 аминокислот от PYY, содержащего последовательность SEQ ID NO: 1 или 2.

[0096] Производное NPY, например, производное PYY, может содержать один или несколько содержащих сульфгидрильную группу аминокислотных остатков. Один или несколько содержащих сульфгидрильную группу аминокислотных остатков могут быть использованы для присоединения сшивающего фрагмента к PYY. Один или несколько содержащих сульфгидрильную группу аминокислотных остатков могут быть использованы для присоединения НЕМ к производному NPY. Один или несколько содержащих сульфгидрильную группу аминокислотных остатков могут встречаться в природе в производном NPY. Один или несколько содержащих сульфгидрильную группу аминокислотных остатков может быть вставлены в производное PYY. Один или несколько содержащих сульфгидрильную группу аминокислотных остатков могут заменять один или несколько аминокислотных остатков в производном PYY. В технике известны способы замещения и/или вставки аминокислот.

[0097] Производное NPY, например, производное PYY, может содержать один или несколько содержащих аминогруппы остатков. Неограничительные примеры содержащих аминогруппы остатков представляют собой лизин, орнитин, диаминомасляная кислота, диаминопропионовая кислота и гомолизин. Один или несколько содержащих аминогруппы остатков могут быть использованы для присоединения сшивающего фрагмента к производному PYY. Один или несколько один или несколько содержащих аминогруппы остатков могут быть использованы для присоединения НЕМ к производному PYY. Один или несколько один или несколько содержащих аминогруппы остатков могут встречаться в природе в производном PYY. Один или несколько один или несколько содержащих аминогруппы остатков могут быть вставлены в производное PYY. Один или несколько один или несколько содержащих аминогруппы остатков могут заменять один или несколько аминокислотных остатков в производном PYY.

[0098] Производное NPY, например, производное PYY, может содержать по меньшей мере часть пептида дикого типа, содержащего одну или несколько аминокислотных мутаций. Одна или несколько аминокислотных мутаций могут представлять собой удаление, замещение, присоединение или их сочетание. Одна или несколько аминокислотных мутаций могут представлять собой присоединение одного или нескольких аминокислотных остатков к пептиду дикого типа. Одна или несколько аминокислотных мутаций могут представлять собой удаление одного или нескольких аминокислотных остатков пептида дикого типа. Одна или несколько аминокислотных мутаций могут представлять собой замещение одного или нескольких аминокислотных остатков пептида дикого типа. Одна или несколько аминокислотных мутаций могут представлять собой замещение один или несколько аминокислотных остатков пептида дикого типа одним или несколькими цистеиновыми, лизиновыми или другими остатками, содержащими сульфгидрильные группы или аминогруппы. Одна или несколько аминокислотных мутаций могут представлять собой замещение одного или нескольких аминокислотных остатков пептида дикого типа одним или несколькими D-аминокислотными остатками. Один или несколько аминокислотных остатков пептида дикого типа могут представлять собой один или несколько аланиновых, метиониновых, аргининовых, сериновых, треониновых и тирозиновых остатков.

[0099] Производное NPY, например, производное PYY, можно модифицировать, осуществляя, например, ацетилирование, фосфорилирование и метилирование. Модификация пептида может представлять собой химическую модификацию. Модификация пептида может происходить на концевой аминокислотной группе пептида. Модификация пептида может представлять собой ацетилирование аминокислотной группы, представляющей собой концевую аминокислотную группу пептида. В качестве альтернативы или в качестве дополнения, модификация пептида может происходить на концевой карбоксильной группе пептида. Модификация пептида может происходить в одной или нескольких внутренних аминокислотах пептида. Модификация пептида может представлять собой замену карбоксильной группы, представляющей собой концевую карбоксильную группу пептида. Модификация пептида может представлять собой модификацию карбоксильной группы, представляющей собой концевую карбоксильную группу пептида. Карбоксильная группа, представляющая собой концевую карбоксильную группу пептида, может быть модифицирована с получением амидной группы. Карбоксильная группа, представляющая собой концевую карбоксильную группу пептида, может быть модифицирована с получением аминокислотной группы.

[00100] Согласно некоторым вариантам осуществления пептидное производное может представлять собой модифицированный PYY, содержащий D-серин вместо L-серина. Согласно некоторым вариантам осуществления пептидное производное может представлять собой модифицированный PYY, содержащий аминокислотную кислоту [Aib] вместо L-серина. Согласно некоторым вариантам осуществления пептидное производное может представлять собой модифицированный PYY, содержащий нейростатин [Nle] вместо лейцина (Leu).

[00101] Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор PYY, включает укороченный вариант дикого типа пептида PYY, содержащего 36 аминокислотных остатков. Согласно некоторым вариантам осуществления аминокислотный конец укорочен на 1, 2, 3, или 4 остатка. Согласно некоторым вариантам осуществления аминокислотный конец укорочен на 2 остатка. В некоторых случаях производное PYY содержит пептидную последовательность, которая идентична по меньшей мере на около 80%, на около 81%, на около 82%, на около 83%, на около 84%, на около 85%, на около 86%, на около 87%, на около 88%, на около 89%, на около 90%, на около 91%, на около 92%, на около 93%, на около 94%, на около 95%, на около 96%, на около 97%, на около 98% или на около 99% по отношению к последовательности SEQ ID NO: 1 или 2. В некоторых случаях пептидное производное содержит аминокислотную последовательность, которая является идентичной по меньшей мере на около 80% по отношению к любой из последовательностей SEQ ID NO: 1 или 2. В некоторых случаях пептид, который модулирует рецептор PYY, содержит пептидную последовательность, которая идентична по меньшей мере на около 90% по отношению к последовательности SEQ ID NO: 1 или 2. В некоторых случаях пептид, который модулирует рецептор PYY, содержит пептидную последовательность, которая идентична по меньшей мере на около 91% по отношению к последовательности SEQ ID NO: 1 или 2. В некоторых случаях пептид, который модулирует рецептор PYY, содержит пептидную последовательность, которая идентична по меньшей мере на около 92% по отношению к последовательности SEQ ID NO: 1 или 2. В некоторых случаях пептид, который модулирует рецептор PYY, содержит пептидную последовательность, которая идентична по меньшей мере на около 93% по отношению к последовательности SEQ ID NO: 1 или 2. В некоторых случаях пептид, который модулирует рецептор PYY, содержит пептидную последовательность, которая идентична по меньшей мере на около 94% по отношению к последовательности SEQ ID NO: 1 или 2. В некоторых случаях пептид, который модулирует рецептор PYY, содержит пептидную последовательность, которая идентична по меньшей мере на около 95% по отношению к



[00104] Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор PYY, содержит пептидную последовательность, которая представляет собой SEQ ID NO: 10. В некоторых случаях пептид, который модулирует рецептор PYY, содержит пептидную последовательность, которая идентична по меньшей мере на около 80%, на около 81%, на около 82%, на около 83%, на около 84%, на около 85%, на около 86%, на около 87%, на около 88%, на около 89%, на около 90%, на около 91%, на около 92%, на около 93%, на около 94%, на около 95%, на около 96%, на около 97%, на около 98% или на около 99% по отношению к последовательности SEQ ID NO: 10. В некоторых случаях пептид, который модулирует рецептор PYY, содержит пептидную последовательность, которая идентична по меньшей мере на около 90% по отношению к последовательности SEQ ID NO: 10. В некоторых случаях пептид, который модулирует рецептор PYY, содержит пептидную последовательность, которая идентична по меньшей мере на около 95% по отношению к последовательности SEQ ID NO: 10. В некоторых случаях пептид, который модулирует рецептор PYY, содержит пептидную последовательность, которая идентична по меньшей мере на около 99% по отношению к последовательности SEQ ID NO: 10. В некоторых случаях пептид, который модулирует рецептор PYY, представляет собой аминокислотную последовательность, содержащую вплоть до около 1, 2, 3, 4 или 5 вставок, удалений, модификаций или замещений аминокислот по сравнению с последовательностью SEQ ID NO: 10.

[00105] Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор PYY, содержит пептидную последовательность, которая представляет собой SEQ ID NO: 20. В некоторых случаях пептид, который модулирует рецептор PYY, содержит пептидную последовательность, которая идентична по меньшей мере на около 80%, на около 81%, на около 82%, на около 83%, на около 84%, на около 85%, на около 86%, на около 87%, на около 88%, на около 89%, на около 90%, на около 91%, на около 92%, на около 93%, на около 94%, на около 95%, на около 96%, на около 97%, на около 98% или на около 99% по отношению к последовательности SEQ ID NO: 20. В некоторых случаях пептид, который модулирует рецептор PYY, содержит пептидную последовательность, которая идентична по меньшей мере на около 90% по отношению к последовательности SEQ ID NO: 20. В некоторых случаях пептид, который модулирует рецептор PYY, содержит пептидную последовательность, которая идентична по меньшей мере на около 95% по отношению к последовательности SEQ ID NO: 20. В некоторых случаях пептид, который модулирует рецептор PYY, содержит пептидную последовательность, которая идентична по меньшей мере на около 99% по отношению к последовательности SEQ ID NO: 20. В некоторых случаях пептид, который модулирует рецептор PYY, представляет собой аминокислотную последовательность, содержащую вплоть до около 1, 2, 3, 4 или 5 вставок, удалений, модификаций или замещений аминокислот по сравнению с последовательностью SEQ ID NO: 20.

[00106] В некоторых случаях производное PYY имеет такую нумерацию, в которой последняя аминокислота в последовательности занимает положение 36.

[00107] Неограничительные примеры пептидных производных представлены в таблице 1.

Таблица 1. Таблица последовательностей PYY

SEQ ID NO.	Последовательность
1	IKPEAPGEDASPEELNRYASLRHYLNLVTRQRY
2	PKPEAPGKDASPEEWNRYADLRHYLNLWLTRQRY
3	IKPEAPGCDASPEECNRYASLRHYLNLVTRQRY
4	IKPEAPGEDASPEELNRYACLRYLNCVTRQRY
5	PKPEAPGCDASPEECNRYADLRHYLNLWLTRQRY



6	PKPEAPGKDASPEEWNRYYAACLRHYLNCLTRQRY
7	PKPEAPGKDASPEEKNRYYADLRHYLNWLTRQRY
8	PKPEAPGKDASPEEWNRYYAKLRHYLNKLTRQRY
9	PKPEAPGKDASPEEWNRYYA[Om]LRHYLN[Om]LTRQRY
10	PKPEAPGCDASPEEWNRYYADLRHYLNWLTRQRY
11	PKPEAPGKDASPEECNRYYADLRHYLNWLTRQRY
12	PKPEAPGKDASPEEWNRYYAACLRHYLNWLTRQRY
13	PKPEAPGKDASPEEWNRYYADLRHYLNCLTRQRY
14	PKPEAPGCDASPEEWNRYYAACLRHYLNCLTRQRY (*)
15	PKPEAPGCDASPEECNRYYAACLRHYLNWLTRQRY (*)
16	HCIKPEAPCEDASPEELNRYYASLRHYLNLVTRQRY
17	HIKPEAPGCDASPEECNRYYASLRHYLNLVTRQRY
18	HIKPEAPGEDASPEECNRYYASCRHYLNLVTRQRY
19	IKPEAPGEDASPEELCRYYASLCHYLNLVTRQRY
20	IKPEAPGEDASPEELNCYYASLRHYLNLVTRQRY
21	HIKPEAPGEDASPEELNRCYASLRHCLNLVTRQRY
22	IKPEAPGEDASPEELNRYCASLRHYCNLVTRQRY
23	IKPEAPGEDASPEELNRYYCSLRHYLCLVTRQRY
24	HIKPEAPGEDASPEELNRYYASCRHYLNLCVTRQRY
25	IKPEAPGCDASPEELNRYCASLRHYLNLVTRQRY
26	IKPEAPGEDACPEELNRYYASCRHYLNLVTRQRY
27	IKPEAPCEDASPEELNRYYASCRHYLNLVTRQRY
28	IKPEAPGEDASPEELNRYYASLRHYLNCVTRQRY
29	IKPEAPGEDASPEELNRYYASLRHYLNCVTRQRY
30	IKPEAPGEDASPEELNCYYASLRHYLNCVTRQRY
31	IKPEAPGEDASPEELNRYYASLRHYLNLVTRQ[N-MeR]Y
32	IKPEAPGEDASPEELNRYYASLRHYLNWVTRQ[N-MeR]Y
33	IKPEAPGCDASPEECNRYYASLRHYLNWVTRQ[N-MeR]Y
34	IKPEAPGEDASPEELNRYYAACLRHYLNCVTRQ[N-MeR]Y
35	PKPEAPGCDASPEECNRYYADLRHYLNWLTRQ[N-MeR]Y
36	IKPEAPGCDASLEECNRYYASLRHYLNLVTRQRY
37	IKPEAPGCDASVEECNRYYASLRHYLNLVTRQRY
38	IKPECPGEDASPEELQRYYASLRHYLNWVTRQ[βera-hArg]Y
39	HIKPECPGEDASPEELQRYYASLRHYLNWVTRQ[βera-hArg]Y
40	Изовалерил-RPECPGEDASPEELQRYYASLRHYLNWVTRQ[βera-hArg]Y
41	Ac-IC[Pqa]RHYLNWVTRQ[N-MeR]Y
42	Ac-IK[Ahx]CNRYYASCRHYLNWVTRQ[N-MeR]Y
43	Ac-IK[Pqa]CNRYYASCRHYLNWVTRQ[N-MeR]Y
44	YESK[Ahx]CARYYSACRHYINLITRQRY
45	YESK[Ahx]CEDLARYCSALRHYINLITRQRY
46	PKPEHPGKDASPEEWAKYYAALRHYINWVTRQRY

47	H[Aib]EGTFTSDVSSYLEGQAAKEFIAWLVRGRG (*)
----	---

(\*) Означает группу -ОН на концевой карбоксильной группе. Все остальные содержат группу -NH<sub>2</sub> на концевой карбоксильной группе.

#### **Пептид, который модулирует как рецептор GLP-1, так и рецептор GCG**

[00108] Согласно одному аспекту настоящего изобретения предложены пептидные конъюгаты, содержащие пептид, который модулирует рецептор GLP-1, и/или рецептор GCG. Согласно некоторым вариантам осуществления пептид модулирует как рецептор GLP-1, так и рецептор GCG. Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-1, является агонистом рецептора GLP-1. Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GCG, является агонистом рецептора GCG.

[00109] Связывающая способность пептидного конъюгата, который описан в настоящем документе, может отличаться не более чем на около 5% от связывающей способности немодифицированной формы пептида. Связывающая способность пептидного конъюгата, который описан в настоящем документе, может отличаться не более чем на около 10% от связывающей способности немодифицированной формы пептида. Связывающая способность пептидного конъюгата, который описан в настоящем документе, может отличаться не более чем на около 15% от связывающей способности немодифицированной формы пептида. Связывающая способность пептидного конъюгата, который описан в настоящем документе, может отличаться не более чем на около 20% от связывающей способности немодифицированной формы пептида.

[00110] Пептид, который модулирует как рецептор GLP-1, так и рецептор GCG, может содержать один или несколько содержащих сульфгидрильную группу аминокислотных остатков. Один или несколько содержащих сульфгидрильную группу аминокислотных остатков могут быть использованы для присоединения сшивающего фрагмента. Один или несколько содержащих сульфгидрильную группу аминокислотных остатков могут быть использованы для присоединения НЕМ. Один или несколько содержащих сульфгидрильную группу аминокислотных остатков могут встречаться в природе в пептиде, который модулирует как рецептор GLP-1, так и рецептор GCG. Один или несколько содержащих сульфгидрильную группу аминокислотных остатков могут быть вставлены в пептид, который модулирует как рецептор GLP-1, так и рецептор GCG. Один или несколько содержащих сульфгидрильную группу аминокислотных остатков могут заменять один или несколько аминокислотных остатков в пептиде, который модулирует как рецептор GLP-1, так и рецептор GCG. В технике известны способы замещения и/или вставки аминокислот.

[00111] Пептид, который модулирует как рецептор GLP-1, так и рецептор GCG, может содержать один или несколько содержащих аминокислотных остатков. Неограничительные примеры содержащих аминокислотных остатков представляют собой лизин, орнитин, диаминомасляная кислота, диаминопропионовая кислота и гомолизин. Один или несколько содержащих аминокислотных остатков могут быть использованы для присоединения сшивающего фрагмента. Один или несколько содержащих аминокислотных остатков могут быть использованы для присоединения НЕМ. Один или несколько содержащих аминокислотных остатков могут встречаться в природе в пептиде, который модулирует как рецептор GLP-1, так и рецептор GCG. Один или несколько содержащих аминокислотных остатков могут быть вставлены в пептид, который модулирует как рецептор GLP-1, так и рецептор GCG. Один или несколько содержащих аминокислотных остатков могут заменять один или несколько аминокислотных остатков в пептиде, который модулирует как рецептор GLP-1, так и рецептор GCG.

[00112] Пептид, который модулирует как рецептор GLP-1, так и рецептор GCG, может содержать по меньшей мере часть пептида дикого типа, содержащего одну или несколько аминокислотных мутаций. Одна или несколько аминокислотных мутаций могут представлять собой удаление, замещение, присоединение или их сочетание. Одна или несколько аминокислотных мутаций могут представлять собой присоединение одного или нескольких аминокислотных остатков к пептиду дикого типа. Одна или несколько аминокислотных мутаций могут представлять собой удаление одного или нескольких аминокислотных остатков пептида дикого типа. Одна или несколько аминокислотных мутаций могут представлять собой замещение одного или нескольких аминокислотных остатков пептида дикого типа одним или несколькими цистеиновыми, лизиновыми или другими содержащими сульфгидрильные группы или аминокислотными остатками. Одна или несколько аминокислотных мутаций могут представлять собой замещение один или несколько аминокислотных остатков пептида дикого типа одним или несколькими D-аминокислотными остатками. Один или несколько аминокислотных остатков пептида дикого типа могут представлять собой один или несколько аланиновых, метиониновых, аргининовых, сериновых, треониновых и тирозиновых остатков.

[00113] Пептид, который модулирует как рецептор GLP-1, так и рецептор GCG, можно модифицировать, осуществляя, например, ацетилирование, фосфорилирование и метилирование. Модификация пептида может представлять собой химическую модификацию. Модификация пептида может происходить на концевой аминокислотной группе пептида. Модификация пептида может представлять собой ацетилирование аминокислотной группы, представляющей собой концевую аминокислотную группу пептида. В качестве альтернативы или в качестве дополнения, модификация пептида может происходить на концевой карбоксильной группе пептида. Модификация пептида может происходить в одной или нескольких внутренних аминокислотах пептида. Модификация пептида может представлять собой замену карбоксильной группы, представляющей собой концевую карбоксильную группу пептида. Модификация пептида может представлять собой модификацию карбоксильной группы, представляющей собой концевую карбоксильную группу пептида. Карбоксильная группа, представляющая собой концевую карбоксильную группу пептида, может быть модифицирована с получением амидной группы. Карбоксильная группа, представляющая собой концевую карбоксильную группу пептида, может быть модифицирована с получением аминокислотной группы.

[00114] Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует как рецептор GLP-1, так и рецептор GCG, может представлять собой модифицированный пептид, содержащий D-серин вместо L-серина. Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует как рецептор GLP-1, так и рецептор GCG, может представлять собой модифицированный пептид, содержащий аминокислотную кислоту [Aib] вместо L-серина. Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует как рецептор GLP-1, так и рецептор GCG, может представлять собой модифицированный пептид, содержащий нейростатин [Nle] вместо лейцина (Leu).

[00115] Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует как рецептор GLP-1, так и рецептор GCG, содержит пептидную последовательность, которая представляет собой любую из последовательностей SEQ ID NO: 48-61 или 80-82. В некоторых случаях пептид, который модулирует как рецептор GLP-1, так и рецептор GCG, содержит пептидную последовательность, которая идентична по меньшей мере на около 80%, на около 81%, на около 82%, на около 83%, на около 84%, на около 85%, на около 86%, на около 87%, на около 88%, на около 89%, на около 90%, на около 91%, на около 92%, на около









около 89%, на около 90%, на около 91%, на около 92%, на около 93%, на около 94%, на около 95%, на около 96%, на около 97%, на около 98% или на около 99% по отношению к последовательности SEQ ID NO: 60. В некоторых случаях пептид, который модулирует как рецептор GLP-1, так и рецептор GCG, содержит пептидную последовательность, которая идентична по меньшей мере на около 90% по отношению к последовательности SEQ ID NO: 60. В некоторых случаях пептид, который модулирует как рецептор GLP-1, так и рецептор GCG, содержит пептидную последовательность, которая идентична по меньшей мере на около 95% по отношению к последовательности SEQ ID NO: 60. В некоторых случаях пептид, который модулирует как рецептор GLP-1, так и рецептор GCG, содержит пептидную последовательность, которая идентична по меньшей мере на около 99% по отношению к последовательности SEQ ID NO: 60. В некоторых случаях пептид, который модулирует как рецептор GLP-1, так и рецептор GCG, представляет собой аминокислотную последовательность, содержащую вплоть до около 1, 2, 3, 4 или 5 вставок, удалений, модификаций или замещений аминокислот по сравнению с последовательностью SEQ ID NO: 60.

[00125] Неограничительные примеры пептидных производных представлены в таблице 2.

Таблица 2. Таблица последовательностей модуляторов GLP-1R/GCGR

SEQ ID NO.	Последовательность
48	H[D-Ser]QGTFTSDYSKYLDKAAKEFIKWLLNGGPSSGAPPPS
49	H[D-Ser]QGTFTSDYSKYLDKAAKEFIKWLLRA
50	H[Aib]QGTFTSDYSKYLDKAAKEFIKWLLNGRNRNIA
51	H[Aib]QGTFTSDYSKYLDKAAKEFVKWLLN[Aib]GPSSGAPPPS
52	H[Aib]QGTFTSDYSKYLDKAAQEFVKWLLNGPSSGAPPPS
53	H[Aib]QGTFTSDYSKYLDKAAKEFKWLLNGPSSGAPPPS
54	H[Aib]QGTFTSDYSKYLDKAAKEFKWLLN[Aib]GRNRNIA
55	H[D-Ser]QGT[D-Phe]TSDYSEYLDEKAAKEFIKWLLNGGPSSGAPPPS
56	H[D-Ser]QGT[D-Phe]TSDYSEYLDEKAAAREFIKWLLAGGPSSGAPPPS
57	H[D-Ser]QGT[Nle]TSDYSEYLDEKAAKEFIKWLLNGGPSSGAPPPS
58	H[D-Ser]QGTLTSDYSEYLDEKAAKEFIKWLLNGGPSSGAPPPS
59	H[D-Ser]QGTLTSDYSEYLDKRAREFVKWLEAGGPSSGAPPPS
60	H[D-Ser]QGTFTSDYSKYLDKAAKEFICWLLNGGPSSGAPPPS
61	H[D-Ser]QGTFTSDYSKYLDKAAKEFICWLLRA
80	H[D-Ser]QGTFTSDYSKYLDKAAKEFICWLMNTKRNRNIA
81	H[D-Ser]QGTFTSDYSKYLDKAAHDFVCWLLRA
82	H[D-Ser]QGTFTSDYSKYLDKAAKEFICWLLRAGPSSGAPPPS
108	H[Aib]QGTFTSDYSEYLDKAAKEFVKWLLN[Aib]GPSSGAPPPS
109	H[Aib]QGTFTSDYSEYLDKAAQEFVKWLLNGPSSGAPPPS
110	H[D-Ser]QGTFTSDYSEYLDEKAAKEFIKWLLNGGPSSGAPPPS
111	H[D-Ser]QGTFTSDYSKQLDEKAAKEFICWLLQGGPSSGAPPPS

**Пептид, который модулирует как рецептор GLP-1, так и рецептор GIP**

[00126] Согласно одному аспекту настоящего изобретения предложены пептидные конъюгаты, содержащие пептид, который модулирует рецептор GLP-1, и/или рецептор GIP. Согласно некоторым вариантам осуществления пептид модулирует как рецептор GLP-1, так и рецептор GIP. Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-1, является агонистом рецептора



GLP-1. Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GIP, является агонистом рецептора GIP.

[00127] Связывающая способность пептидного конъюгата, который описан в настоящем документе, может отличаться не более чем на около 5% от связывающей способности немодифицированной формы пептида. Связывающая способность пептидного конъюгата, который описан в настоящем документе, может отличаться не более чем на около 10% от связывающей способности немодифицированной формы пептида. Связывающая способность пептидного конъюгата, который описан в настоящем документе, может отличаться не более чем на около 15% от связывающей способности немодифицированной формы пептида. Связывающая способность пептидного конъюгата, который описан в настоящем документе, может отличаться не более чем на около 20% от связывающей способности немодифицированной формы пептида.

[00128] Пептид, который модулирует как рецептор GLP-1, так и рецептор GIP, может содержать один или несколько содержащих сульфгидрильную группу аминокислотных остатков. Один или несколько содержащих сульфгидрильную группу аминокислотных остатков могут быть использованы для присоединения сшивающего фрагмента. Один или несколько содержащих сульфгидрильную группу аминокислотных остатков могут быть использованы для присоединения НЕМ. Один или несколько содержащих сульфгидрильную группу аминокислотных остатков могут встречаться в природе в пептиде, который модулирует как рецептор GLP-1, так и рецептор GIP. Один или несколько содержащих сульфгидрильную группу аминокислотных остатков могут быть вставлены в пептид, который модулирует как рецептор GLP-1, так и рецептор GIP. Один или несколько содержащих сульфгидрильную группу аминокислотных остатков могут заменять один или несколько аминокислотных остатков в пептиде, который модулирует как рецептор GLP-1, так и рецептор GIP. В технике известны способы замещения и/или вставки аминокислот.

[00129] Пептид, который модулирует как рецептор GLP-1, так и рецептор GIP, может содержать один или несколько содержащих аминокислотных остатков. Неограничительные примеры содержащих аминокислотных остатков представляют собой лизин, орнитин, диаминомасляная кислота, диаминопропионовая кислота и гомолизин. Один или несколько содержащих аминокислотных остатков могут быть использованы для присоединения сшивающего фрагмента. Один или несколько содержащих аминокислотных остатков могут быть использованы для присоединения НЕМ. Один или несколько содержащих аминокислотных остатков могут встречаться в природе в пептиде, который модулирует как рецептор GLP-1, так и рецептор GIP. Один или несколько содержащих аминокислотных остатков могут быть вставлены в пептид, который модулирует как рецептор GLP-1, так и рецептор GIP. Один или несколько содержащих аминокислотных остатков могут заменять один или несколько аминокислотных остатков в пептиде, который модулирует как рецептор GLP-1, так и рецептор GIP.

[00130] Пептид, который модулирует как рецептор GLP-1, так и рецептор GIP, может содержать по меньшей мере часть пептида дикого типа, содержащего одну или несколько аминокислотных мутаций. Одна или несколько аминокислотных мутаций могут представлять собой удаление, замещение, присоединение или их сочетание. Одна или несколько аминокислотных мутаций могут представлять собой присоединение одного или нескольких аминокислотных остатков к пептиду дикого типа. Одна или несколько аминокислотных мутаций могут представлять собой удаление одного или нескольких аминокислотных остатков пептида дикого типа. Одна или несколько аминокислотных мутаций могут представлять собой замещение одного или нескольких аминокислотных остатков пептида дикого типа. Одна или несколько

аминокислотных мутаций могут представлять собой замещение один или несколько аминокислотных остатков пептида дикого типа одним или несколькими цистеиновыми, лизиновыми или другими содержащими сульфгидрильные группы или аминогруппы остатками. Одна или несколько аминокислотных мутаций могут представлять собой замещение один или несколько аминокислотных остатков пептида дикого типа одним или несколькими D-аминокислотными остатками. Один или несколько аминокислотных остатков пептида дикого типа могут представлять собой один или несколько аланиновых, метиониновых, аргининовых, сериновых, треониновых и тирозиновых остатков.

[00131] Пептид, который модулирует как рецептор GLP-1, так и рецептор GIP, можно модифицировать, осуществляя, например, ацетилирование, фосфорилирование и метилирование. Модификация пептида может представлять собой химическую модификацию. Модификация пептида может происходить на концевой аминогруппе пептида. Модификация пептида может представлять собой ацетилирование аминогруппы, представляющей собой концевую аминогруппу пептида. В качестве альтернативы или в качестве дополнения, модификация пептида может происходить на концевой карбоксильной группе пептида. Модификация пептида может происходить в одной или нескольких внутренних аминокислотах пептида. Модификация пептида может представлять собой замену карбоксильной группы, представляющей собой концевую карбоксильную группу пептида. Модификация пептида может представлять собой модификацию карбоксильной группы, представляющей собой концевую карбоксильную группу пептида. Карбоксильная группа, представляющая собой концевую карбоксильную группу пептида, может быть модифицирована с получением амидной группы. Карбоксильная группа, представляющая собой концевую карбоксильную группу пептида, может быть модифицирована с получением аминогруппы.

[00132] Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует как рецептор GLP-1, так и рецептор GIP, может представлять собой модифицированный пептид, содержащий D-серин вместо L-серина. Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует как рецептор GLP-1, так и рецептор GIP, может представлять собой модифицированный пептид, содержащий аминомасляную кислоту [Aib] вместо L-серина. Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует как рецептор GLP-1, так и рецептор GIP, может представлять собой модифицированный пептид, содержащий нейролейкин [Nle] вместо лейкина (Leu).

[00133] Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует как рецептор GLP-1, так и рецептор GIP, содержит пептидную последовательность, которая представляет собой любую из последовательностей SEQ ID NO: 62-71. В некоторых случаях пептид, который модулирует как рецептор GLP-1, так и рецептор GIP, содержит пептидную последовательность, которая идентична по меньшей мере на около 80%, на около 81%, на около 82%, на около 83%, на около 84%, на около 85%, на около 86%, на около 87%, на около 88%, на около 89%, на около 90%, на около 91%, на около 92%, на около 93%, на около 94%, на около 95%, на около 96%, на около 97%, на около 98% или на около 99% по отношению к любой из последовательностей SEQ ID NO: 62-71. В некоторых случаях пептид, который модулирует как рецептор GLP-1, так и рецептор GIP, содержит пептидную последовательность, которая идентична по меньшей мере на около 90% по отношению к любой из последовательностей SEQ ID NO: 62-71. В некоторых случаях пептид, который модулирует как рецептор GLP-1, так и рецептор GIP, содержит пептидную последовательность, которая идентична по меньшей мере на около 95% по отношению к любой из последовательностей SEQ ID NO: 62-71. В некоторых случаях пептид, который модулирует как рецептор GLP-1, так и рецептор GIP, содержит пептидную последовательность, которая идентична по меньшей мере





последовательности SEQ ID NO: 63. В некоторых случаях пептид, который модулирует как рецептор GLP-1, так и рецептор GIP, содержит пептидную последовательность, которая идентична по меньшей мере на около 90% по отношению к последовательности SEQ ID NO: 63. В некоторых случаях пептид, который модулирует как рецептор GLP-1, так и рецептор GIP, содержит пептидную последовательность, которая идентична по меньшей мере на около 95% по отношению к последовательности SEQ ID NO: 63. В некоторых случаях пептид, который модулирует как рецептор GLP-1, так и рецептор GIP, содержит пептидную последовательность, которая идентична по меньшей мере на около 99% по отношению к последовательности SEQ ID NO: 63. В некоторых случаях пептид, который модулирует как рецептор GLP-1, так и рецептор GIP, представляет собой аминокислотную последовательность, содержащую вплоть до около 1, 2, 3, 4 или 5 вставок, удалений, модификаций или замещений аминокислот по сравнению с последовательностью SEQ ID NO: 63.

[00137] Неограничительные примеры пептидных производных представлены в таблице 3.

Таблица 3. Таблица последовательностей модуляторов GLP-1R/GIPR

SEQ ID NO.	Последовательность
62	Y[Aib]EGTFTSDYSIYLDKKA[Aib]EFVKWLLAGGPSSGAPPPS
63	Y[Aib]EGTFTSDYSIYKDKQAA[Aib]KFVNWLLAGGPSSGAPPPS
64	Y[Aib]EGTFTSDYSIYKDKQAA[Aib]KFKNWLKAGGPSSGAPPPS
65	Y[Aib]EGTFTSDYSIYLDKKAQ[Aib]AFVKWLIAGGPSSGAPPPS
66	Y[Aib]EGTFHSDYDIYKDKQAA[Aib]KFVQWLLAGGPSSGAPPPS
67	Y[Aib]EGTFHSDYDIYKDKQAA[Nle]KFVAWLLAGGPSSGAPPPS
68	Y[Aib]EGTFT[D-Ser]DY[D-Ser]IYKDKQAA[Nle]KFVAWLLAGGPSSGAPPPS
69	Y[Aib]EGTFTSDYSIYCDKQAA[Aib]CFVNWLLAGGPSSGAPPPS
70	YGEGTFTSDYSIYCDKQAAQCFVNWLLAGGPSSGAPPPS
71	Y[Aib]EGTFTSDYSIYCDKQAAQCFVNWLLAGGPSSGAPPPS
114	Y[Aib]EGTFTSDYSIYLDKCAA[Aib]EFVCWLLAGGPSSGAPPPS
115	Y[Aib]EGTFTSDYSIYLDKCAQ[Aib]AFVCWLIAGGPSSGAPPPS
116	Y[Aib]EGTFTSDYSIYCDKQAA[Aib]CFVNWLIAGGPSSGAPPPS
117	Y[Aib]EGTFISDVSIYCDKQAA[Aib]CFVNWLIAGGPSSGAPPPS
118	Y[Aib]EGTFISDVSIYLDKCAA[Aib]EFVCWLIAGGPSSGAPPPS
119	Y[Aib]EGTFISDLSIYCDKQAA[Aib]CFVQWLIAGGPSSGAPPPS
120	Y[Aib]EGTFISDLSIYLDKCAA[Aib]EFVCWLIAGGPASGAPPPS

#### Пептид, который модулирует рецептор GLP-1

[00138] Согласно одному аспекту настоящего изобретения предложены пептидные конъюгаты, содержащие пептид, который модулирует рецептор GLP-1. Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-1, является агонистом рецептора GLP-1.

[00139] Связывающая способность пептидного конъюгата, который описан в настоящем документе, может отличаться не более чем на около 5% от связывающей способности немодифицированной формы пептида. Связывающая способность пептидного конъюгата, который описан в настоящем документе, может отличаться не более чем на около 10% от связывающей способности немодифицированной формы пептида. Связывающая способность пептидного конъюгата, который описан в настоящем документе, может отличаться не более чем на около 15% от связывающей способности немодифицированной формы пептида.

Связывающая способность пептидного конъюгата, который описан в настоящем документе, может отличаться не более чем на около 20% от связывающей способности немодифицированной формы пептида.

[00140] Пептид, который модулирует рецептор GLP-1, может содержать один или несколько содержащих сульфгидрильную группу аминокислотных остатков. Один или несколько содержащих сульфгидрильную группу аминокислотных остатков могут быть использованы для присоединения сшивающего фрагмента. Один или несколько содержащих сульфгидрильную группу аминокислотных остатков могут быть использованы для присоединения НЕМ. Один или несколько содержащих сульфгидрильную группу аминокислотных остатков могут встречаться в природе в пептиде, который модулирует рецептор GLP-1. Один или несколько содержащих сульфгидрильную группу аминокислотных остатков могут быть вставлены в пептид, который модулирует рецептор GLP-1. Один или несколько содержащих сульфгидрильную группу аминокислотных остатков могут заменять один или несколько аминокислотных остатков в пептиде, который модулирует рецептор GLP-1. В технике известны способы замещения и/или вставки аминокислот.

[00141] Пептид, который модулирует рецептор GLP-1, может содержать один или несколько содержащих аминокислотных остатков. Неограничительные примеры содержащих аминокислотных остатков представляют собой лизин, орнитин, диаминомасляная кислота, диаминопропионовая кислота и гомолизин. Один или несколько содержащих аминокислотных остатков могут быть использованы для присоединения сшивающего фрагмента. Один или несколько содержащих аминокислотных остатков могут быть использованы для присоединения НЕМ. Один или несколько содержащих аминокислотных остатков могут встречаться в природе в пептиде, который модулирует рецептор GLP-1. Один или несколько содержащих аминокислотных остатков могут быть вставлены в пептид, который модулирует рецептор GLP-1. Один или несколько содержащих аминокислотных остатков могут заменять один или несколько аминокислотных остатков в пептиде, который модулирует рецептор GLP-1.

[00142] Пептид, который модулирует рецептор GLP-1, может содержать по меньшей мере часть пептида дикого типа, содержащего одну или несколько аминокислотных мутаций. Одна или несколько аминокислотных мутаций могут представлять собой удаление, замещение, присоединение или их сочетание. Одна или несколько аминокислотных мутаций могут представлять собой присоединение одного или нескольких аминокислотных остатков к пептиду дикого типа. Одна или несколько аминокислотных мутаций могут представлять собой удаление одного или нескольких аминокислотных остатков пептида дикого типа. Одна или несколько аминокислотных мутаций могут представлять собой замещение одного или нескольких аминокислотных остатков пептида дикого типа. Одна или несколько аминокислотных мутаций могут представлять собой замещение один или несколько аминокислотных остатков пептида дикого типа одним или несколькими цистеиновыми, лизиновыми или другими содержащими сульфгидрильные группы или аминокислотными остатками. Одна или несколько аминокислотных мутаций могут представлять собой замещение один или несколько аминокислотных остатков пептида дикого типа одним или несколькими D-аминокислотными остатками. Один или несколько аминокислотных остатков пептида дикого типа могут представлять собой один или несколько аланиновых, метиониновых, аргининовых, сериновых, треониновых и тирозиновых остатков.

[00143] Пептид, который модулирует рецептор GLP-1, можно модифицировать, осуществляя, например, ацетилирование, фосфорилирование и метилирование. Модификация пептида может представлять собой химическую модификацию. Модификация пептида может происходить на концевой

аминогруппе пептида. Модификация пептида может представлять собой ацетилирование аминокруппы, представляющей собой концевую аминокруппу пептида. В качестве альтернативы или в качестве дополнения, модификация пептида может происходить на концевой карбоксильной группе пептида. Модификация пептида может происходить в одной или нескольких внутренних аминокислотах пептида. Модификация пептида может представлять собой замену карбоксильной группы, представляющей собой концевую карбоксильную группу пептида. Модификация пептида может представлять собой модификацию карбоксильной группы, представляющей собой концевую карбоксильную группу пептида. Карбоксильная группа, представляющая собой концевую карбоксильную группу пептида, может быть модифицирована с получением амидной группы. Карбоксильная группа, представляющая собой концевую карбоксильную группу пептида, может быть модифицирована с получением аминокруппы.

[00144] Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-1, может представлять собой модифицированный пептид, содержащий D-серин вместо L-серина. Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-1, может представлять собой модифицированный пептид, содержащий аминамасляную кислоту [Aib] вместо L-серина. Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-1, может представлять собой модифицированный пептид, содержащий нейрорейкин [Nle] вместо лейкина (Leu).

[00145] Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-1, содержит пептидную последовательность, которая представляет собой любую из последовательностей SEQ ID NO: 48-82 или 108-120. В некоторых случаях пептид, который модулирует рецептор GLP-1, содержит пептидную последовательность, которая идентична по меньшей мере на около 80%, на около 81%, на около 82%, на около 83%, на около 84%, на около 85%, на около 86%, на около 87%, на около 88%, на около 89%, на около 90%, на около 91%, на около 92%, на около 93%, на около 94%, на около 95%, на около 96%, на около 97%, на около 98% или на около 99% по отношению к любой из последовательностей SEQ ID NO: 48-82 или 108-120. В некоторых случаях пептид, который модулирует рецептор GLP-1, содержит пептидную последовательность, которая идентична по меньшей мере на около 90% по отношению к любой из последовательностей SEQ ID NO: 48-82 или 108-120. В некоторых случаях пептид, который модулирует рецептор GLP-1, содержит пептидную последовательность, которая идентична по меньшей мере на около 95% по отношению к любой из последовательностей SEQ ID NO: 48-82 или 108-120. В некоторых случаях пептид, который модулирует рецептор GLP-1, содержит пептидную последовательность, которая идентична по меньшей мере на около 99% по отношению к любой из последовательностей SEQ ID NO: 48-82 или 108-120. В некоторых случаях пептид, который модулирует рецептор GLP-1, представляет собой аминокислотную последовательность, содержащую вплоть до около 1, 2, 3, 4 или 5 вставок, удалений, модификаций или замещений аминокислот по сравнению с любой из последовательностей SEQ ID NO: 48-82 или 108-120.

[00146] Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-1, содержит пептидную последовательность, которая представляет собой любую из последовательностей SEQ ID NO: 72-79. В некоторых случаях пептид, который модулирует рецептор GLP-1, содержит пептидную последовательность, которая идентична по меньшей мере на около 80%, на около 81%, на около 82%, на около 83%, на около 84%, на около 85%, на около 86%, на около 87%, на около 88%, на около 89%, на около 90%, на около 91%, на около 92%, на около 93%, на около 94%, на около 95%, на около 96%, на около 97%, на около 98% или на около 99% по отношению к любой из последовательностей SEQ ID NO: 72-79. В некоторых случаях пептид, который модулирует рецептор GLP-1, содержит пептидную последовательность,





2, 3, 4 или 5 вставок, удалений, модификаций или замещений аминокислот по сравнению с любой из последовательностей SEQ ID NO: 76-79.

[00149] Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-1, содержит пептидную последовательность, которая представляет собой SEQ ID NO: 76. В некоторых случаях пептид, который модулирует рецептор GLP-1, содержит пептидную последовательность, которая идентична по меньшей мере на около 80%, на около 81%, на около 82%, на около 83%, на около 84%, на около 85%, на около 86%, на около 87%, на около 88%, на около 89%, на около 90%, на около 91%, на около 92%, на около 93%, на около 94%, на около 95%, на около 96%, на около 97%, на около 98% или на около 99% по отношению к последовательности SEQ ID NO: 76. В некоторых случаях пептид, который модулирует рецептор GLP-1, содержит пептидную последовательность, которая идентична по меньшей мере на около 90% по отношению к последовательности SEQ ID NO: 76. В некоторых случаях пептид, который модулирует рецептор GLP-1, содержит пептидную последовательность, которая идентична по меньшей мере на около 95% по отношению к последовательности SEQ ID NO: 76. В некоторых случаях пептид, который модулирует рецептор GLP-1, содержит пептидную последовательность, которая идентична по меньшей мере на около 99% по отношению к последовательности SEQ ID NO: 76. В некоторых случаях пептид, который модулирует рецептор GLP-1, представляет собой аминокислотную последовательность, содержащую вплоть до около 1, 2, 3, 4 или 5 вставок, удалений, модификаций или замещений аминокислот по сравнению с последовательностью SEQ ID NO: 76.

[00150] Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-1, содержит пептидную последовательность, которая представляет собой SEQ ID NO: 77. В некоторых случаях пептид, который модулирует рецептор GLP-1, содержит пептидную последовательность, которая идентична по меньшей мере на около 80%, на около 81%, на около 82%, на около 83%, на около 84%, на около 85%, на около 86%, на около 87%, на около 88%, на около 89%, на около 90%, на около 91%, на около 92%, на около 93%, на около 94%, на около 95%, на около 96%, на около 97%, на около 98% или на около 99% по отношению к последовательности SEQ ID NO: 77. В некоторых случаях пептид, который модулирует рецептор GLP-1, содержит пептидную последовательность, которая идентична по меньшей мере на около 90% по отношению к последовательности SEQ ID NO: 77. В некоторых случаях пептид, который модулирует рецептор GLP-1, содержит пептидную последовательность, которая идентична по меньшей мере на около 95% по отношению к последовательности SEQ ID NO: 77. В некоторых случаях пептид, который модулирует рецептор GLP-1, содержит пептидную последовательность, которая идентична по меньшей мере на около 99% по отношению к последовательности SEQ ID NO: 77. В некоторых случаях пептид, который модулирует рецептор GLP-1, представляет собой аминокислотную последовательность, содержащую вплоть до около 1, 2, 3, 4 или 5 вставок, удалений, модификаций или замещений аминокислот по сравнению с последовательностью SEQ ID NO: 77.

[00151] Неограничительные примеры пептидных производных представлены в таблице 4.

Таблица 4. Таблица последовательностей модуляторов GLP-1R

SEQ ID NO.	Последовательность
72	HGEGTFTSDLSKQMEEKAVRLFILWLKNGGPSSGAPPPS
73	HGEGTFTSDLSKQLEEKAVRLFILWLKNGGPSSGAPPPS
74	HGEGTFTSDLSKQ[Nle]EEKAVRLFILWLKNGGPSSGAPPPS
75	H[Aib]EGTFTSDVSSYLEGKAAKEFIKWLKGRG (*)
76	HGEGTFTSDLSKQLEECVRLFICWLKNGGPSSGAPPPS

77	HGEGTFTSDLKQMEECAVRLFICWLKNGGPSSGAPPPS
78	HGEGTFTSDVSSYLEGCAAKEFICWLVKGRG (*)
79	H[Aib]EGTFTSDVSSYLEGCAAKEFICWLVKGRG (*)

(\*) Означает группу -ОН на концевой карбоксильной группе. Все остальные содержат группу -NH<sub>2</sub> на концевой карбоксильной группе.

#### **Пролактин-высвобождающий пептид (PrRP)**

[00152] Согласно одному аспекту настоящего изобретения предложены пептидные конъюгаты, содержащие пролактин-высвобождающий пептид (PrRP).

[00153] Связывающая способность пептидного конъюгата, который описан в настоящем документе, может отличаться не более чем на около 5% от связывающей способности немодифицированной формы пептида. Связывающая способность пептидного конъюгата, который описан в настоящем документе, может отличаться не более чем на около 10% от связывающей способности немодифицированной формы пептида. Связывающая способность пептидного конъюгата, который описан в настоящем документе, может отличаться не более чем на около 15% от связывающей способности немодифицированной формы пептида. Связывающая способность пептидного конъюгата, который описан в настоящем документе, может отличаться не более чем на около 20% от связывающей способности немодифицированной формы пептида.

[00154] Пролактин-высвобождающий пептид (PrRP) может содержать один или несколько содержащих сульфгидрильную группу аминокислотных остатков. Один или несколько содержащих сульфгидрильную группу аминокислотных остатков могут быть использованы для присоединения сшивающего фрагмента к пролактин-высвобождающему пептиду (PrRP). Один или несколько содержащих сульфгидрильную группу аминокислотных остатков могут встречаться в природе в пролактин-высвобождающем пептиде (PrRP). Один или несколько содержащих сульфгидрильную группу аминокислотных остатков могут быть вставлены в пролактин-высвобождающий пептид (PrRP). Один или несколько содержащих сульфгидрильную группу аминокислотных остатков могут заменять один или несколько аминокислотных остатков в пролактин-высвобождающем пептиде (PrRP). В технике известны способы замещения и/или вставки аминокислот.

[00155] Пролактин-высвобождающий пептид (PrRP) может содержать по меньшей мере часть пептида дикого типа, содержащего одну или несколько аминокислотных мутаций. Одна или несколько аминокислотных мутаций могут представлять собой удаление, замещение, присоединение или их сочетание. Одна или несколько аминокислотных мутаций могут представлять собой присоединение одного или нескольких аминокислотных остатков к пептиду дикого типа. Одна или несколько аминокислотных мутаций могут представлять собой удаление одного или нескольких аминокислотных остатков пептида дикого типа. Одна или несколько аминокислотных мутаций могут представлять собой замещение одного или нескольких аминокислотных остатков пептида дикого типа. Одна или несколько аминокислотных мутаций могут представлять собой замещение один или несколько аминокислотных остатков пептида дикого типа одним или несколькими цистеиновыми, лизиновыми или другими содержащими сульфгидрильные группы или аминокислотными остатками. Одна или несколько аминокислотных мутаций могут представлять собой замещение один или несколько аминокислотных остатков пептида дикого типа одним или несколькими D-аминокислотными остатками. Один или несколько аминокислотных остатков пептида дикого типа могут представлять собой один или несколько аланиновых, метиониновых, аргининовых, сериновых, треониновых и тирозиновых остатков.

[00156] Пролактин-высвобождающий пептид (PrRP) можно модифицировать, осуществляя, например, ацетилирование, фосфорилирование и метилирование. Модификация пептида может представлять собой химическую модификацию. Модификация пептида может происходить на концевой аминокислоте пептида. Модификация пептида может представлять собой ацетилирование аминокислоты, представляющей собой концевую аминокислоту пептида. В качестве альтернативы или в качестве дополнения, модификация пептида может происходить на концевой карбоксильной группе пептида. Модификация пептида может происходить в одной или нескольких внутренних аминокислотах пептида. Модификация пептида может представлять собой замену карбоксильной группы, представляющей собой концевую карбоксильную группу пептида. Модификация пептида может представлять собой модификацию карбоксильной группы, представляющей собой концевую карбоксильную группу пептида. Карбоксильная группа, представляющая собой концевую карбоксильную группу пептида, может быть модифицирована с получением амидной группы. Карбоксильная группа, представляющая собой концевую карбоксильную группу пептида, может быть модифицирована с получением аминокислоты.

[00157] Согласно некоторым вариантам осуществления пептидное производное может представлять собой модифицированный пролактин-высвобождающий пептид (PrRP), содержащий hArg вместо Arg. Согласно некоторым вариантам осуществления пептидное производное может представлять собой модифицированный пролактин-высвобождающий пептид (PrRP), содержащий  $\beta$ -hArg вместо Arg. Согласно некоторым вариантам осуществления пептидное производное может представлять собой модифицированный пролактин-высвобождающий пептид (PrRP), содержащий NMe-Arg вместо Arg. Согласно некоторым вариантам осуществления пептидное производное может представлять собой модифицированный пролактин-высвобождающий пептид (PrRP), содержащий Nle вместо Met.

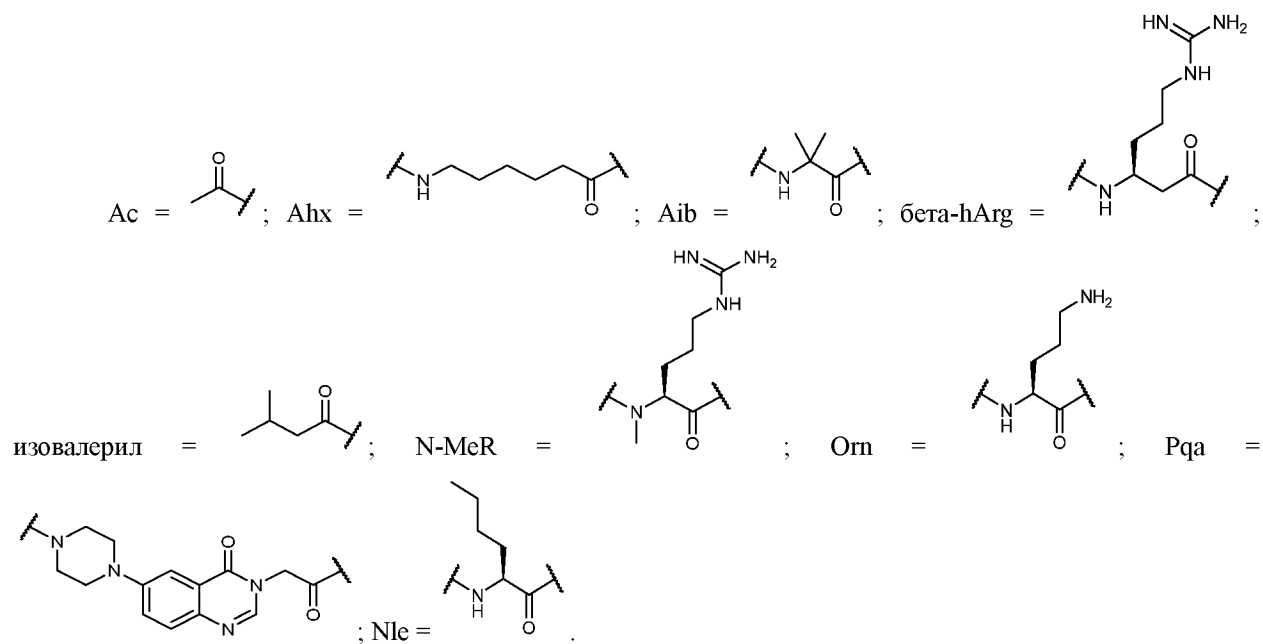
[00158] Неограничительные примеры пролактин-высвобождающего пептида (PrRP) представлены в таблице 5.

[00159] В некоторых случаях пролактин-высвобождающий пептид (PrRP) содержит аминокислотную последовательность, которая идентична по меньшей мере на около 80%, на около 81%, на около 82%, на около 83%, на около 84%, на около 85%, на около 86%, на около 87%, на около 88%, на около 89%, 90%, на около 91%, на около 92%, на около 93%, на около 94%, на около 95%, на около 96%, на около 97%, на около 98% или на около 99% по отношению к любой из последовательностей SEQ ID NO: 83-105. В некоторых случаях пролактин-высвобождающий пептид (PrRP) содержит аминокислотную последовательность, которая идентична по меньшей мере около 80% по отношению к любой из последовательностей SEQ ID NO: 83-105. В некоторых случаях пролактин-высвобождающий пептид (PrRP) содержит аминокислотную последовательность, которая идентична по меньшей мере около 80% по отношению к любой из последовательностей SEQ ID NO: 83-105. В некоторых случаях пролактин-высвобождающий пептид (PrRP) содержит аминокислотную последовательность, которая идентична по меньшей мере около 85% по отношению к любой из последовательностей SEQ ID NO: 83-105. В некоторых случаях пролактин-высвобождающий пептид (PrRP) содержит аминокислотную последовательность, которая идентична по меньшей мере около 90% по отношению к любой из последовательностей SEQ ID NO: 83-105. В некоторых случаях пролактин-высвобождающий пептид (PrRP) содержит аминокислотную последовательность, которая идентична по меньшей мере около 95% по отношению к любой из последовательностей SEQ ID NO: 83-105. В некоторых случаях пролактин-высвобождающий пептид (PrRP) содержит аминокислотную последовательность, которая идентична по меньшей мере около 99% по отношению к любой из последовательностей SEQ ID NO: 83-105. В некоторых случаях PrRP представляет

собой аминокислотную последовательность, содержащую вплоть до около 1, 2, 3, 4 или 5 вставок, удалений, модификаций или замещений аминокислот по сравнению с любой из последовательностей SEQ ID NO: 83-105.

Таблица 5. Таблица последовательностей PrRP

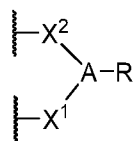
SEQ ID NO.	Пептидная последовательность
103	TC DINPAWCTGRGIRPVGRF-NH <sub>2</sub>
104	TPCINPAWYCGRGIRPVGRF-NH <sub>2</sub>
105	TPDCNPAWYTCRGIRPVGRF-NH <sub>2</sub>
83	TPDICPAWYTGCGIRPVGRF-NH <sub>2</sub>
84	TPDINCAWYTGRCIRPVGRF-NH <sub>2</sub>
85	TPDINPCWYTGRCRPVGRF-NH <sub>2</sub>
86	TPDINPACYTGRGICPVGRF-NH <sub>2</sub>
87	TPDINPAWCTGRGIRCVGRF-NH <sub>2</sub>
88	TPDINPAWYCGRGIRPCGRF-NH <sub>2</sub>
89	CRAHQHSCETRTPDINPAWYTGIRPVGRF-NH <sub>2</sub>
90	SRAHQCSMETRTCDINPAWYTGIRPVGRF-NH <sub>2</sub>
91	SRAHQHSMCTRTPDICPAWYTGIRPVGRF-NH <sub>2</sub>
92	SRAHQHSMETRTCDINPAWCTGRGIRPVGRF-NH <sub>2</sub>
93	SRAHQHSMETRTPDCNPAWYTCRGIRPVGRF-NH <sub>2</sub>
94	SRAHQHSMETRTPDICPAWYTGCGIRPVGRF-NH <sub>2</sub>
95	SRAHQHSMETRTPDINPCWYTGRCRPVGRF-NH <sub>2</sub>
96	SRAHQHSMETRTPDINPAWCTGRGIRCVGRF-NH <sub>2</sub>
97	SRAHQCS-NIe-ETRTCDINPAWYTG-hArg-GIRPVGRF-NH <sub>2</sub>
98	SRAHQCS-NIe-ETRTCDINPAWYTG-β-hArg-GIRPVGRF-NH <sub>2</sub>
99	SRAHQCS-NIe-ETRTCDINPAWYTG-NMe-Arg-GIRPVGRF-NH <sub>2</sub>
100	SRAHQCS-NIe-ETRTCDINPAWYTGIRPVG-hArg-F-NH <sub>2</sub>
101	SRAHQCS-NIe-ETRTCDINPAWYTGIRPVG-β-hArg-F-NH <sub>2</sub>
102	SRAHQCS-NIe-ETRTCDINPAWYTGIRPVG-NMe-Arg-F-NH <sub>2</sub>
106	TPDINPAWYTGIRPVGRF-NH <sub>2</sub>
107	SRAHQHSMETRTPDINPAWYTGIRPVGRF-NH <sub>2</sub>



### Сшивающие фрагменты

[00160] В настоящем документе раскрыты пептидные конъюгаты, содержащие сшивающий фрагмент.

[00161] Согласно некоторым вариантам осуществления сшивающий фрагмент, присоединенный к пептиду, имеет формулу (I):



Формула (I)

причем

A представляет собой необязательно замещенный алкилен, необязательно замещенный арилен, необязательно замещенный гетероарилен, необязательно замещенный  $-NR^3$ -алкилен- $NR^3$ - или  $-N$ -;

$X^1$  и  $X^2$  представляют собой независимо связь,  $-C(=O)-$ , -алкилен- $C(=O)-$ ,  $-C(=O)$ -алкилен-, -алкилен- $C(=O)NR^3$ -, -алкилен- $NR^3C(=O)-$ ,  $-C(=O)NR^3$ -алкилен-,  $-NR^3C(=O)$ -алкилен-, -алкилен- $C(=O)NR^3$ -алкилен- или -алкилен- $NR^3C(=O)$ -алкилен-;

причем  $X^1$  присоединяется к первой аминокислоте пептида, и  $X^2$  присоединяется ко второй аминокислоте пептида;

R представляет собой водород или  $-(L)_s-Y$ ;

каждый L независимо представляет собой  $-(CR^1R^2)_v$ -, -алкилен-O-, -O-алкилен-,  $-C(=O)$ -алкилен-, -алкилен- $C(=O)-$ -,  $-NR^3$ -алкилен-, -алкилен- $NR^3$ -, -S-алкилен-, -алкилен-S-,  $-S(=O)$ -алкилен-, -алкилен- $S(=O)-$ -,  $S(=O)_2$ -алкилен, -алкилен- $S(=O)_2$ -,  $-C(=O)-$ -,  $-C(=O)NR^3$ -,  $-NR^3C(=O)-$ -,  $-NR^3C(=O)NR^3$ -,  $-NR^3C(=O)NR^3$ -алкилен-,  $-NR^3C(=O)$ -алкилен- $NR^3$ -, -алкилен- $C(=O)NR^3$ -,  $-C(=O)NR^3$ -алкилен-, -алкилен- $NR^3C(=O)$ - или  $-NR^3C(=O)$ -алкилен-;

v составляет от 2 до 20;

каждый  $R^1$  или  $R^2$  независимо представляет собой водород, галоген,  $-CN$ -,  $-OR^a$ -,  $-SR^a$ -,  $-S(=O)R^b$ -,  $-NO_2$ -,  $-NR^cR^d$ -,  $-S(=O)_2R^d$ -,  $-NR^aS(=O)_2R^d$ -,  $-S(=O)_2NR^cR^d$ -,  $-C(=O)R^b$ -,  $-OC(=O)R^b$ -,  $-CO_2R^a$ -,  $-OCO_2R^a$ -,  $-C(=O)NR^cR^d$ -,  $-OC(=O)NR^cR^d$ -,  $-NR^aC(=O)NR^cR^d$ -,  $-NR^aC(=O)R^b$ -,  $-NR^aC(=O)OR^a$ -,  $C_1$ - $C_6$ -алкил,  $C_2$ - $C_6$ -алкенил,  $C_2$ - $C_6$ -алкинил,  $C_1$ - $C_6$ -гетероалкил,  $C_3$ - $C_8$ -циклоалкил,  $C_2$ - $C_8$ -гетероциклоалкил, арил или гетероарил, причем алкил, алкенил,

алкинил и гетероалкил необязательно является замещенным и содержит один, два или три атома галогена,  $-OR^a$  или  $-NR^cR^d$ ; и циклоалкил, гетероциклоалкил, арил и гетероарил необязательно является замещенным и содержит один, два или три атома галогена,  $C_1$ - $C_6$ -алкил,  $C_1$ - $C_6$ -галогеналкил,  $-OR^a$  или  $-NR^cR^d$ ;

или  $R^1$  и  $R^2$  совместно образуют  $C_1$ - $C_6$ -циклоалкил или  $C_1$ - $C_6$ -гетероциклоалкил;

каждый  $R^3$  независимо представляет собой водород,  $-S(=O)R^b$ ,  $-S(=O)_2R^a$ ,  $-S(=O)_2NR^cR^d$ ,  $-C(=O)R^b$ ,  $-CO_2R^a$ ,  $-C(=O)NR^cR^d$ ,  $C_1$ - $C_6$ -алкил,  $C_2$ - $C_6$ -алкенил,  $C_2$ - $C_6$ -алкинил,  $C_1$ - $C_6$ -гетероалкил,  $C_3$ - $C_8$ -циклоалкил,  $C_2$ - $C_8$ -гетероциклоалкил, арил или гетероарил; причем алкил, алкенил, алкинил и гетероалкил необязательно является замещенным и содержит один, два или три атома галогена,  $-OR^a$  или  $-NR^cR^d$ ; и циклоалкил, гетероциклоалкил, арил и гетероарил необязательно является замещенным и содержит один, два или три атома галогена,  $C_1$ - $C_6$ -алкил,  $C_1$ - $C_6$ -галогеналкил,  $-OR^a$  или  $-NR^cR^d$ ;

$Y$  представляет собой водород,  $C_1$ - $C_6$ -алкил,  $-CO_2H$ ,  $-CO_2(C_1$ - $C_6$ -алкил),  $-CO_2NH_2$ ,  $-CO_2N$ (алкил) $_2$  или  $-CO_2NH$ (алкил);

$s$  составляет от 0 до 20;

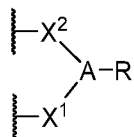
$R^a$  представляет собой водород,  $C_1$ - $C_6$ -алкил,  $C_2$ - $C_6$ -алкенил,  $C_2$ - $C_6$ -алкинил,  $C_1$ - $C_6$ -гетероалкил,  $C_3$ - $C_8$ -циклоалкил,  $C_2$ - $C_8$ -гетероциклоалкил, арил или гетероарил; причем алкил, алкенил, алкинил и гетероалкил необязательно является замещенным и содержит один, два или три атома галогена,  $-OH$ ,  $-OMe$  или  $-NH_2$ ; и циклоалкил, гетероциклоалкил, арил и гетероарил необязательно является замещенным и содержит один, два или три атома галогена,  $C_1$ - $C_6$ -алкил,  $C_1$ - $C_6$ -галогеналкил,  $-OH$ ,  $-OMe$  или  $-NH_2$ ;

$R^b$  представляет собой  $C_1$ - $C_6$ -алкил,  $C_2$ - $C_6$ -алкенил,  $C_2$ - $C_6$ -алкинил,  $C_1$ - $C_6$ -гетероалкил,  $C_3$ - $C_8$ -циклоалкил,  $C_2$ - $C_8$ -гетероциклоалкил, арил или гетероарил; причем алкил, алкенил, алкинил и гетероалкил необязательно является замещенным и содержит один, два или три атома галогена,  $-OH$ ,  $-OMe$  или  $-NH_2$ ; и циклоалкил, гетероциклоалкил, арил и гетероарил необязательно является замещенным и содержит один, два или три атома галогена,  $C_1$ - $C_6$ -алкил,  $C_1$ - $C_6$ -галогеналкил,  $-OH$ ,  $-OMe$  или  $-NH_2$ ; и

каждый  $R^c$  и  $R^d$  независимо представляет собой водород,  $C_1$ - $C_6$ -алкил,  $C_2$ - $C_6$ -алкенил,  $C_2$ - $C_6$ -алкинил,  $C_1$ - $C_6$ -гетероалкил,  $C_3$ - $C_8$ -циклоалкил,  $C_2$ - $C_8$ -гетероциклоалкил, арил или гетероарил; причем алкил, алкенил, алкинил и гетероалкил необязательно является замещенным и содержит один, два или три атома галогена,  $-OH$ ,  $-OMe$  или  $-NH_2$ ; и циклоалкил, гетероциклоалкил, арил и гетероарил необязательно является замещенным и содержит один, два или три атома галогена,  $C_1$ - $C_6$ -алкил,  $C_1$ - $C_6$ -галогеналкил,  $-OH$ ,  $-OMe$  или  $-NH_2$ ;

или  $R^c$  и  $R^d$ , вместе с атомом азота, к которому они присоединены, образуют гетероциклоалкил или гетероарил; причем гетероциклоалкил и гетероарил необязательно является замещенным и содержит один, два или три атома галогена,  $C_1$ - $C_6$ -алкил,  $C_1$ - $C_6$ -галогеналкил,  $-OH$ ,  $-OMe$  или  $-NH_2$ .

[00162] Согласно некоторым вариантам осуществления сшивающий фрагмент, присоединенный к пептиду, имеет формулу (I):



Формула (I)

причем

$A$  представляет собой  $-N-$ ;

$X^1$  и  $X^2$  представляют собой связь,  $-C(=O)-$ ,  $-алкилен-C(=O)-$ ,  $-C(=O)-алкилен-$ ,  $-алкилен-C(=O)NR^3-$ ,  $-алкилен-NR^3C(=O)-$ ,  $-C(=O)NR^3-алкилен-$ ,  $-NR^3C(=O)-алкилен-$ ,  $-алкилен-C(=O)NR^3-алкилен-$  или  $-алкилен-NR^3C(=O)-алкилен-$ ;

причем  $X^1$  присоединяется к первой аминокислоте пептида,  $X^2$  присоединяется ко второй аминокислоте пептида, и  $X^1$  и  $X^2$  являются одинаковыми;

R представляет собой водород или  $-(L)_s-Y$ ;

каждый L независимо представляет собой  $-(CR^1R^2)_v-$ , -алкилен-O-, -O-алкилен-,  $-C(=O)$ -алкилен-, -алкилен- $C(=O)$ -,  $-NR^3$ -алкилен-, -алкилен- $NR^3$ -, -S-алкилен-, -алкилен-S-,  $-S(=O)$ -алкилен-, -алкилен- $S(=O)$ -,  $S(=O)_2$ -алкилен, -алкилен- $S(=O)_2$ -,  $-C(=O)$ -,  $-C(=O)NR^3$ -,  $-NR^3C(=O)$ -,  $-NR^3C(=O)NR^3$ -,  $-NR^3C(=O)NR^3$ -алкилен-,  $-NR^3C(=O)$ -алкилен- $NR^3$ -, -алкилен- $C(=O)NR^3$ -,  $-C(=O)NR^3$ -алкилен-, -алкилен- $NR^3C(=O)$ - или  $-NR^3C(=O)$ -алкилен-;

v составляет от 2 до 20;

каждый  $R^1$  или  $R^2$  независимо представляет собой водород, галоген,  $-CN$ ,  $-OR^a$ ,  $-SR^a$ ,  $-S(=O)R^b$ ,  $-NO_2$ ,  $-NR^cR^d$ ,  $-S(=O)_2R^d$ ,  $-NR^aS(=O)_2R^d$ ,  $-S(=O)_2NR^cR^d$ ,  $-C(=O)R^b$ ,  $-OC(=O)R^b$ ,  $-CO_2R^a$ ,  $-OCO_2R^a$ ,  $-C(=O)NR^cR^d$ ,  $OC(=O)NR^cR^d$ ,  $-NR^aC(=O)NR^cR^d$ ,  $-NR^aC(=O)R^b$ ,  $-NR^aC(=O)OR^a$ ,  $C_1$ - $C_6$ -алкил,  $C_2$ - $C_6$ -алкенил,  $C_2$ - $C_6$ -алкинил,  $C_1$ - $C_6$ -гетероалкил,  $C_3$ - $C_8$ -циклоалкил,  $C_2$ - $C_8$ -гетероциклоалкил, арил или гетероарил; причем алкил, алкенил, алкинил и гетероалкил необязательно является замещенным и содержит один, два или три атома галогена,  $-OR^a$  или  $-NR^cR^d$ ; и циклоалкил, гетероциклоалкил, арил и гетероарил необязательно является замещенным и содержит один, два или три атома галогена,  $C_1$ - $C_6$ -алкил,  $C_1$ - $C_6$ -галогеналкил,  $-OR^a$  или  $-NR^cR^d$ ;

или  $R^1$  и  $R^2$  совместно образуют  $C_1$ - $C_6$ -циклоалкил или  $C_1$ - $C_6$ -гетероциклоалкил;

каждый  $R^3$  независимо представляет собой водород,  $-S(=O)R^b$ ,  $-S(=O)_2R^a$ ,  $-S(=O)_2NR^cR^d$ ,  $-C(=O)R^b$ ,  $-CO_2R^a$ ,  $-C(=O)NR^cR^d$ ,  $C_1$ - $C_6$ -алкил,  $C_2$ - $C_6$ -алкенил,  $C_2$ - $C_6$ -алкинил,  $C_1$ - $C_6$ -гетероалкил,  $C_3$ - $C_8$ -циклоалкил,  $C_2$ - $C_8$ -гетероциклоалкил, арил или гетероарил; причем алкил, алкенил, алкинил и гетероалкил необязательно является замещенным и содержит один, два или три атома галогена,  $-OR^a$  или  $-NR^cR^d$ ; и циклоалкил, гетероциклоалкил, арил и гетероарил необязательно является замещенным и содержит один, два или три атома галогена,  $C_1$ - $C_6$ -алкил,  $C_1$ - $C_6$ -галогеналкил,  $-OR^a$  или  $-NR^cR^d$ ;

Y представляет собой водород,  $C_1$ - $C_6$ -алкил,  $-CO_2H$ ,  $-CO_2(C_1-C_6-алкил)$ ,  $-CO_2NH_2$ ,  $-CO_2N(алкил)_2$  или  $-CO_2NH(алкил)$ ;

s составляет от 0 до 20;

$R^a$  представляет собой водород,  $C_1$ - $C_6$ -алкил,  $C_2$ - $C_6$ -алкенил,  $C_2$ - $C_6$ -алкинил,  $C_1$ - $C_6$ -гетероалкил,  $C_3$ - $C_8$ -циклоалкил,  $C_2$ - $C_8$ -гетероциклоалкил, арил или гетероарил; причем алкил, алкенил, алкинил и гетероалкил необязательно является замещенным и содержит один, два или три атома галогена,  $-OH$ ,  $-OMe$  или  $-NH_2$ ; и циклоалкил, гетероциклоалкил, арил и гетероарил необязательно является замещенным и содержит один, два или три атома галогена,  $C_1$ - $C_6$ -алкил,  $C_1$ - $C_6$ -галогеналкил,  $-OH$ ,  $-OMe$  или  $-NH_2$ ;

$R^b$  представляет собой  $C_1$ - $C_6$ -алкил,  $C_2$ - $C_6$ -алкенил,  $C_2$ - $C_6$ -алкинил,  $C_1$ - $C_6$ -гетероалкил,  $C_3$ - $C_8$ -циклоалкил,  $C_2$ - $C_8$ -гетероциклоалкил, арил или гетероарил; причем алкил, алкенил, алкинил и гетероалкил необязательно является замещенным и содержит один, два или три атома галогена,  $-OH$ ,  $-OMe$  или  $-NH_2$ ; и циклоалкил, гетероциклоалкил, арил и гетероарил необязательно является замещенным и содержит один, два или три атома галогена,  $C_1$ - $C_6$ -алкил,  $C_1$ - $C_6$ -галогеналкил,  $-OH$ ,  $-OMe$  или  $-NH_2$ ; и

каждый  $R^c$  и  $R^d$  независимо представляет собой водород,  $C_1$ - $C_6$ -алкил,  $C_2$ - $C_6$ -алкенил,  $C_2$ - $C_6$ -алкинил,  $C_1$ - $C_6$ -гетероалкил,  $C_3$ - $C_8$ -циклоалкил,  $C_2$ - $C_8$ -гетероциклоалкил, арил или гетероарил; причем алкил, алкенил, алкинил и гетероалкил необязательно является замещенным и содержит один, два или три атома галогена,  $-OH$ ,  $-OMe$  или  $-NH_2$ ; и циклоалкил, гетероциклоалкил, арил и гетероарил необязательно является замещенным и содержит один, два или три атома галогена,  $C_1$ - $C_6$ -алкил,  $C_1$ - $C_6$ -галогеналкил,  $-OH$ ,  $-OMe$  или  $-NH_2$ ;

или  $R^c$  и  $R^d$ , вместе с атомом азота, к которому они присоединены, образуют гетероциклоалкил или гетероарил; причем гетероциклоалкил и гетероарил необязательно является замещенным и содержит один, два или три атома галогена,  $C_1$ - $C_6$ -алкил,  $C_1$ - $C_6$ -галогеналкил, -ОН, -ОМе или  $-NH_2$ .

[00163] Согласно некоторым вариантам осуществления А представляет собой необязательно замещенный алкилен. Согласно некоторым вариантам осуществления А представляет собой  $-(CH_2)_t-$ , причем t составляет от 1 до 12. Согласно некоторым вариантам осуществления А представляет собой  $-(CH_2)_t-$ , причем t составляет от 1 до 10. Согласно некоторым вариантам осуществления А представляет собой  $-(CH_2)_t-$ , причем t составляет от 1 до 8. Согласно некоторым вариантам осуществления А представляет собой  $-(CH_2)_t-$ , причем t составляет от 1 до 6. Согласно некоторым вариантам осуществления А представляет собой  $-(CH_2)_t-$ , причем t составляет от 1 до 4.

[00164] Согласно некоторым вариантам осуществления А представляет собой необязательно замещенный арилен. Согласно некоторым вариантам осуществления А представляет собой арилен, необязательно замещенный и содержащий галоген, алкил или галогеналкил. Согласно некоторым вариантам осуществления А представляет собой незамещенный арилен.

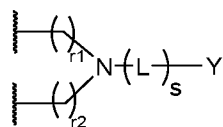
[00165] Согласно некоторым вариантам осуществления А представляет собой  $-NR^3$ -алкилен- $-NR^3$ -. Согласно некоторым вариантам осуществления А представляет собой  $-N$ -.

[00166] Согласно некоторым вариантам осуществления  $X^1$  и  $X^2$  являются одинаковыми. Согласно некоторым вариантам осуществления  $X^1$  и  $X^2$  являются различными.

[00167] Согласно некоторым вариантам осуществления  $X^1$  и  $X^2$  представляют собой  $-C(=O)-$ . Согласно некоторым вариантам осуществления  $X^1$  и  $X^2$  представляют собой независимо -алкилен- $C(=O)-$  или  $-C(=O)$ алкилен-. Согласно некоторым вариантам осуществления  $X^1$  и  $X^2$  представляют собой независимо  $-CH_2-C(=O)-$  или  $-C(=O)-CH_2-$ . Согласно некоторым вариантам осуществления  $X^1$  и  $X^2$  представляют собой независимо -алкилен- $C(=O)NR^3$ - или  $-C(=O)NR^3$ -алкилен-. Согласно некоторым вариантам осуществления  $X^1$  и  $X^2$  представляют собой независимо  $-CH_2-C(=O)NR^3$ - или  $-C(=O)NR^3-CH_2-$ . Согласно некоторым вариантам осуществления  $X^1$  и  $X^2$  представляют собой независимо -алкилен- $C(=O)NR^3$ -алкилен- или -алкилен- $-NR^3C(=O)$ -алкилен-. Согласно некоторым вариантам осуществления  $X^1$  и  $X^2$  представляют собой независимо  $-CH_2-C(=O)NR^3-CH_2CH_2-$  или  $-CH_2-NR^3C(=O)-CH_2CH_2-$ . Согласно некоторым вариантам осуществления  $X^1$  и  $X^2$  представляют собой независимо  $-CH_2-C(=O)NH-CH_2CH_2-$  или  $-CH_2-NHC(=O)-CH_2CH_2-$ .

[00168] Согласно некоторым вариантам осуществления каждый  $R_3$  независимо представляет собой водород или  $C_1$ - $C_6$ -алкил. Согласно некоторым вариантам осуществления каждый  $R^3$  представляет собой водород.

[00169] Согласно некоторым вариантам осуществления  $>A-R$  имеет следующую структуру:

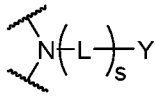


, причем  $g_1$  и  $g_2$  каждый независимо составляет от 0 до 4.

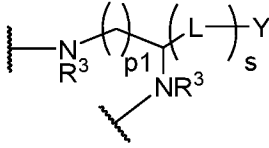
[00170] Согласно некоторым вариантам осуществления  $g_1$  и  $g_2$  каждый независимо составляет от 0 до 2. Согласно некоторым вариантам осуществления  $g_1$  и  $g_2$  каждый составляет 0. Согласно некоторым вариантам осуществления  $g_1$  и  $g_2$  каждый составляет 1. Согласно некоторым вариантам осуществления  $g_1$  и  $g_2$  каждый составляет 3. Согласно некоторым вариантам осуществления  $g_1$  и  $g_2$  каждый составляет 2.

[00171] Согласно некоторым вариантам осуществления  $>A-R$  имеет следующую структуру:





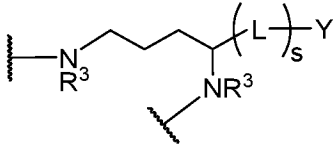
[00172] Согласно некоторым вариантам осуществления >A-R имеет следующую структуру:



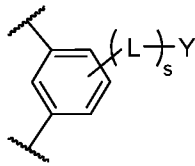
, причем p1 составляет от 1 до 5.

[00173] Согласно некоторым вариантам осуществления p1 составляет от 1 до 3. Согласно некоторым вариантам осуществления p1 составляет от 1 до 2. Согласно некоторым вариантам осуществления p1 составляет 1. Согласно некоторым вариантам осуществления p1 составляет 2. Согласно некоторым вариантам осуществления p1 составляет 3. Согласно некоторым вариантам осуществления p1 составляет 4. Согласно некоторым вариантам осуществления p1 составляет 5.

[00174] Согласно некоторым вариантам осуществления >A-R имеет следующую структуру:



[00175] Согласно некоторым вариантам осуществления >A-R имеет следующую структуру:



[00176] Согласно некоторым вариантам осуществления s составляет от 1 до 15. Согласно некоторым вариантам осуществления s составляет от 1 до 10. Согласно некоторым вариантам осуществления s составляет от 5 до 15. Согласно некоторым вариантам осуществления s составляет от 5 до 10. Согласно некоторым вариантам осуществления s составляет от 5 до 20.

[00177] Согласно некоторым вариантам осуществления Y представляет собой водород или -CO<sub>2</sub>H. Согласно некоторым вариантам осуществления Y представляет собой водород. Согласно некоторым вариантам осуществления Y представляет собой -CO<sub>2</sub>H.

[00178] Согласно некоторым вариантам осуществления каждый L независимо представляет собой - (CR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>)<sub>v</sub>-, -алкилен-O-, -C(=O)-, -C(=O)NR<sup>3</sup>-, -NR<sup>3</sup>C(=O)-, -алкилен-C(=O)NR<sup>3</sup>- или -алкилен-NR<sup>3</sup>C(=O)-; и v составляет от 2 до 20.

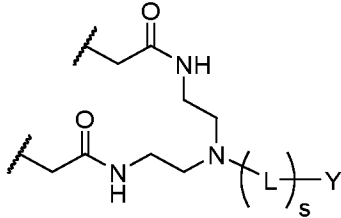
[00179] Согласно некоторым вариантам осуществления каждый L независимо представляет собой - (CR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>)<sub>v</sub>-, -алкилен-O-, -C(=O)-, -C(=O)NR<sup>3</sup>-, -NR<sup>3</sup>C(=O)-, -алкилен-C(=O)NR<sup>3</sup>- или -алкилен-NR<sup>3</sup>C(=O)-; и v составляет от 2 до 16.

[00180] Согласно некоторым вариантам осуществления v составляет от 2 до 16. Согласно некоторым вариантам осуществления v составляет от 2 до 5. Согласно некоторым вариантам осуществления v составляет от 5 до 16. Согласно некоторым вариантам осуществления v составляет 5 или 16. Согласно некоторым вариантам осуществления v составляет 2 или 16.

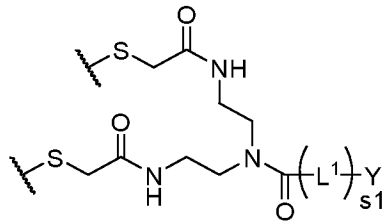
[00181] Согласно некоторым вариантам осуществления каждый R<sup>1</sup> или R<sup>2</sup> независимо представляет собой водород, галоген, -CN, -OR<sup>a</sup>, -NR<sup>c</sup>R<sup>d</sup>, -C(=O)R<sup>b</sup>, -CO<sub>2</sub>R<sup>a</sup>, -C(=O)NR<sup>c</sup>R<sup>d</sup> или C1-C6-алкил.

[00182] Согласно некоторым вариантам осуществления каждый  $R^1$  или  $R^2$  независимо представляет собой водород, галоген,  $-\text{CO}_2\text{R}^a$ ,  $-\text{C}(=\text{O})\text{NR}^c\text{R}^d$  или  $\text{C}_1$ - $\text{C}_6$ -алкил. Согласно некоторым вариантам осуществления каждый  $R^1$  или  $R^2$  независимо представляет собой водород,  $-\text{CO}_2\text{R}^a$  или  $-\text{C}(=\text{O})\text{NR}^c\text{R}^d$ . Согласно некоторым вариантам осуществления каждый  $R^1$  или  $R^2$  независимо представляет собой водород или  $-\text{CO}_2\text{R}^a$ .

[00183] Согласно некоторым вариантам осуществления сшивающий фрагмент представляет собой

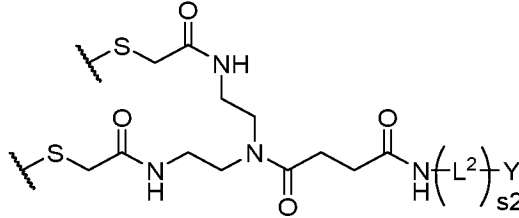


[00184] Согласно некоторым вариантам осуществления сшивающий фрагмент, присоединенный к



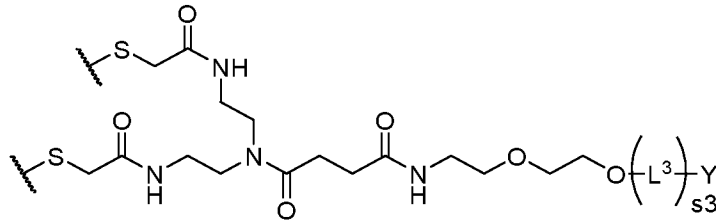
пептиду, представляет собой  $-(\text{CR}^1\text{R}^2)_v-$ ,  $-\text{алкилен-O}-$ ,  $-\text{O-алкилен}-$ ,  $-\text{C}(=\text{O})\text{NR}^3-$ ,  $-\text{NR}^3\text{C}(=\text{O})-$ ,  $-\text{алкилен-C}(=\text{O})\text{NR}^3-$  или  $-\text{алкилен-NR}^3\text{C}(=\text{O})-$ ;  $v$  составляет от 2 до 20; и  $s_1$  составляет от 1 до 15.

[00185] Согласно некоторым вариантам осуществления сшивающий фрагмент, присоединенный к



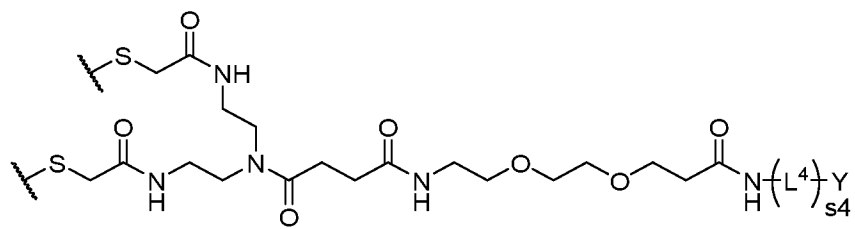
пептиду, представляет собой  $-(\text{CR}^1\text{R}^2)_v-$ ,  $-\text{алкилен-O}-$ ,  $-\text{O-алкилен}-$ ,  $-\text{C}(=\text{O})\text{NR}^3-$ ,  $-\text{NR}^3\text{C}(=\text{O})-$ ,  $-\text{алкилен-C}(=\text{O})\text{NR}^3-$  или  $-\text{алкилен-NR}^3\text{C}(=\text{O})-$ ;  $v$  составляет от 2 до 20; и  $s_2$  составляет от 1 до 15.

[00186] Согласно некоторым вариантам осуществления сшивающий фрагмент, присоединенный к



пептиду, представляет собой  $-(\text{CR}^1\text{R}^2)_v-$ ,  $-\text{алкилен-O}-$ ,  $-\text{O-алкилен}-$ ,  $-\text{C}(=\text{O})\text{NR}^3-$ ,  $-\text{NR}^3\text{C}(=\text{O})-$ ,  $-\text{алкилен-C}(=\text{O})\text{NR}^3-$  или  $-\text{алкилен-NR}^3\text{C}(=\text{O})-$ ;  $v$  составляет от 2 до 20; и  $s_3$  составляет от 1 до 15.

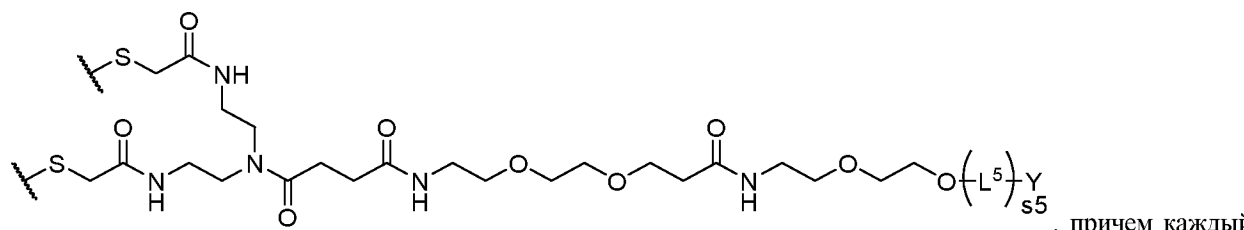
[00187] Согласно некоторым вариантам осуществления сшивающий фрагмент, присоединенный к



пептиду, представляет собой

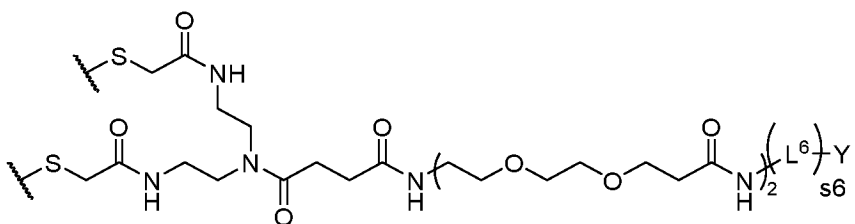
причем каждый  $L^4$  независимо представляет собой  $-(CR_1R_2)_v-$ , -алкилен-O-, -O-алкилен-,  $-C(=O)NR^3-$ ,  $-NR^3C(=O)-$ , -алкилен- $C(=O)NR^3-$  или -алкилен- $NR^3C(=O)-$ ;  $v$  составляет от 2 до 20; и  $s_4$  составляет от 1 до 15.

[00188] Согласно некоторым вариантам осуществления сшивающий фрагмент, присоединенный к пептиду, представляет собой



$L^5$  независимо представляет собой  $-(CR^1R^2)_v-$ ,  $-C(=O)NR^3-$ ,  $-NR^3C(=O)-$ , -алкилен- $C(=O)NR^3-$  или -алкилен- $NR^3C(=O)-$ ;  $v$  составляет от 2 до 20; и  $s_5$  составляет от 1 до 10.

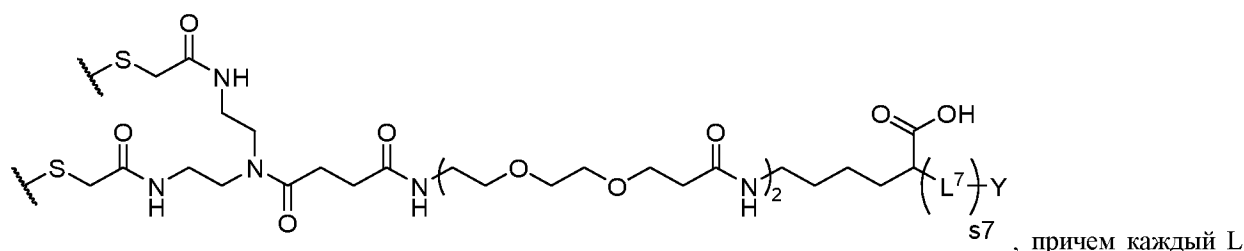
[00189] Согласно некоторым вариантам осуществления сшивающий фрагмент, присоединенный к



пептиду, представляет собой

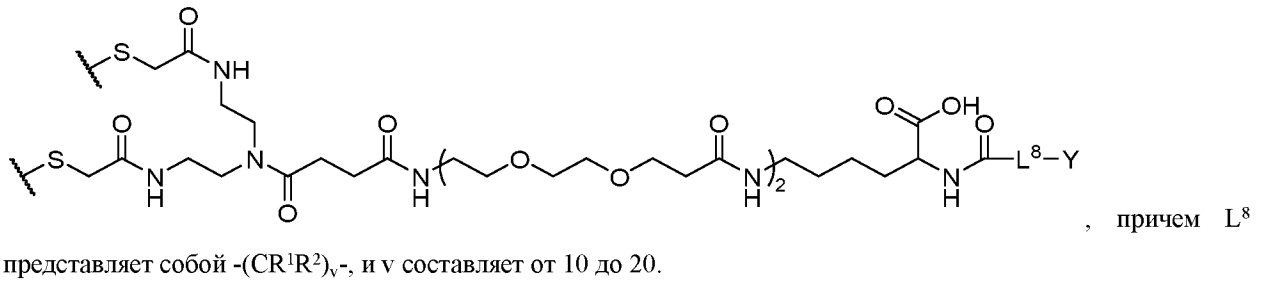
причем каждый  $L^6$  независимо представляет собой  $-(CR^1R^2)_v-$ ,  $-C(=O)NR^3-$ ,  $-NR^3C(=O)-$ , -алкилен- $C(=O)NR^3-$  или -алкилен- $NR^3C(=O)-$ ;  $v$  составляет от 2 до 20; и  $s_6$  составляет от 1 до 5.

[00190] Согласно некоторым вариантам осуществления сшивающий фрагмент, присоединенный к пептиду, представляет собой

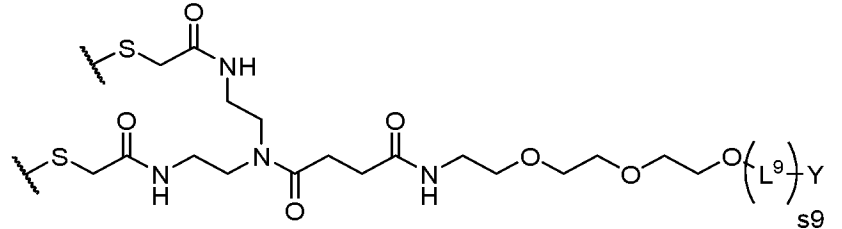


$L^7$  независимо представляет собой  $-(CR^1R^2)_v-$ ,  $-C(=O)NR^3-$  или  $-NR^3C(=O)-$ ;  $v$  составляет от 2 до 20; и  $s_7$  составляет от 1 до 5.

[00191] Согласно некоторым вариантам осуществления сшивающий фрагмент, присоединенный к пептиду, представляет собой



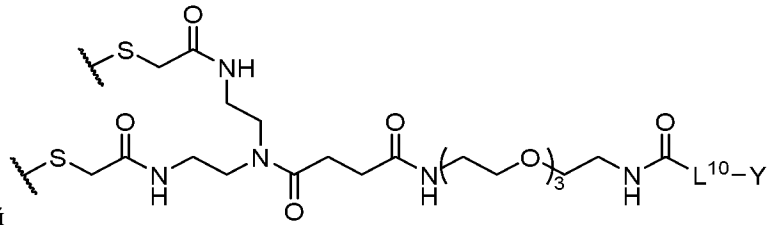
[00192] Согласно некоторым вариантам осуществления сшивающий фрагмент, присоединенный к



пептиду, представляет собой

причем каждый  $L^9$  независимо представляет собой  $-(CR^1R^2)_v-$ ,  $-C(=O)NR^3-$ ,  $-NR^3C(=O)-$ ,  $-алкилен-C(=O)NR^3-$  или  $-алкилен-NR^3C(=O)-$ ;  $v$  составляет от 2 до 20; и  $s_9$  составляет от 1 до 5.

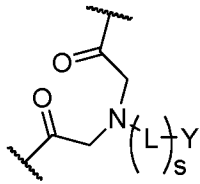
[00193] Согласно некоторым вариантам осуществления сшивающий фрагмент, присоединенный к



пептиду, представляет собой

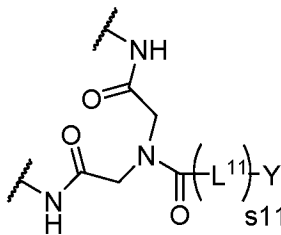
представляет собой  $-(CR^1R^2)_v-$ , и  $v$  составляет от 10 до 20.

[00194] Согласно некоторым вариантам осуществления сшивающий фрагмент, присоединенный к



пептиду, представляет собой

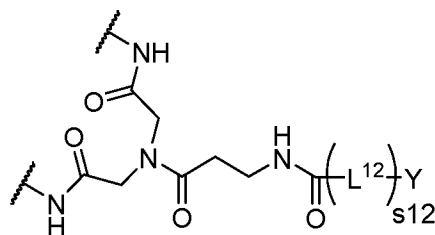
[00195] Согласно некоторым вариантам осуществления сшивающий фрагмент, присоединенный к



пептиду, представляет собой

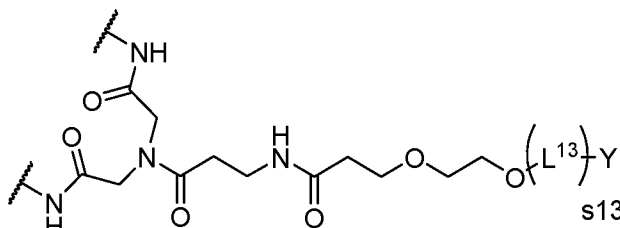
, причем каждый  $L^{11}$  независимо представляет собой  $-(CR^1R^2)_v-$ ,  $-алкилен-O-$ ,  $-O-алкилен-$ ,  $-C(=O)NR^3-$ ,  $-NR^3C(=O)-$ ,  $-алкилен-C(=O)NR^3-$  или  $-алкилен-NR^3C(=O)-$ ;  $v$  составляет от 2 до 20; и  $s_{11}$  составляет от 1 до 15.

[00196] Согласно некоторым вариантам осуществления сшивающий фрагмент, присоединенный к



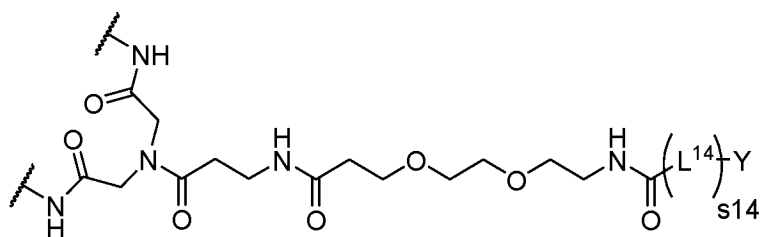
пептиду, представляет собой  $s_{12}$ , причем каждый  $L^{12}$  независимо представляет собой  $-(CR^1R^2)_v-$ ,  $-алкилен-O-$ ,  $-O-алкилен-$ ,  $-C(=O)NR^3-$ ,  $-NR^3C(=O)-$ ,  $-алкилен-C(=O)NR^3-$  или  $-алкилен-NR^3C(=O)-$ ;  $v$  составляет от 2 до 20; и  $s_{12}$  составляет от 1 до 15.

[00197] Согласно некоторым вариантам осуществления сшивающий фрагмент, присоединенный к



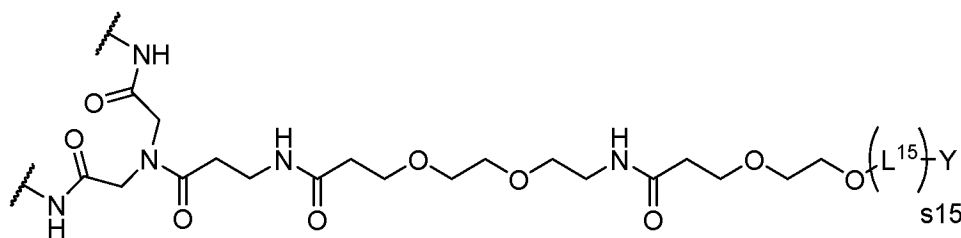
пептиду, представляет собой  $s_{13}$ , причем каждый  $L^{13}$  независимо представляет собой  $-(CR^1R^2)_v-$ ,  $-алкилен-O-$ ,  $-O-алкилен-$ ,  $-C(=O)NR^3-$ ,  $-NR^3C(=O)-$ ,  $-алкилен-C(=O)NR^3-$  или  $-алкилен-NR^3C(=O)-$ ;  $v$  составляет от 2 до 20; и  $s_{13}$  составляет от 1 до 15.

[00198] Согласно некоторым вариантам осуществления сшивающий фрагмент, присоединенный к



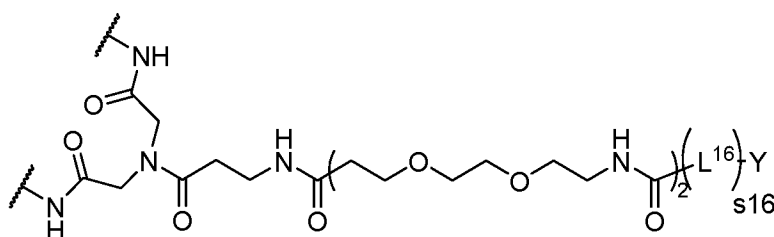
пептиду, представляет собой  $s_{14}$ , причем каждый  $L^{14}$  независимо представляет собой  $-(CR^1R^2)_v-$ ,  $-алкилен-O-$ ,  $-O-алкилен-$ ,  $-C(=O)NR^3-$ ,  $-NR^3C(=O)-$ ,  $-алкилен-C(=O)NR^3-$  или  $-алкилен-NR^3C(=O)-$ ;  $v$  составляет от 2 до 20; и  $s_{14}$  составляет от 1 до 15.

[00199] Согласно некоторым вариантам осуществления сшивающий фрагмент, присоединенный к пептиду, представляет собой



$s_{15}$ , причем каждый  $L^{15}$  независимо представляет собой  $-(CR^1R^2)_v-$ ,  $-C(=O)NR^3-$ ,  $-NR^3C(=O)-$ ,  $-алкилен-C(=O)NR^3-$  или  $-алкилен-NR^3C(=O)-$ ;  $v$  составляет от 2 до 20; и  $s_{15}$  составляет от 1 до 10.

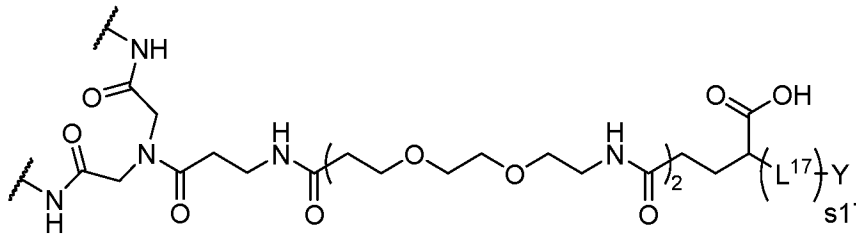
[00200] Согласно некоторым вариантам осуществления сшивающий фрагмент, присоединенный к



пептиду, представляет собой  $s_{16}$ , причем

каждый  $L^{16}$  независимо представляет собой  $-(CR^1R^2)_v-$ ,  $-C(=O)NR^3-$  или  $-NR^3C(=O)-$ ;  $v$  составляет от 2 до 20; и  $s_{16}$  составляет от 1 до 5.

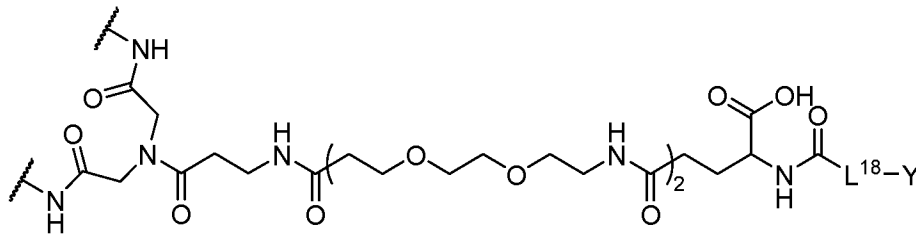
[00201] Согласно некоторым вариантам осуществления сшивающий фрагмент, присоединенный к



пептиду, представляет собой

причем каждый  $L^{17}$  независимо представляет собой  $-(CR^1R^2)_v-$ ,  $-C(=O)NR^3-$  или  $-NR^3C(=O)-$ ;  $v$  составляет от 2 до 20; и  $s_{17}$  составляет от 1 до 5.

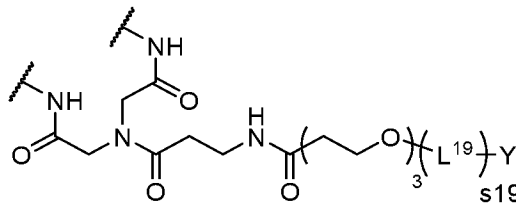
[00202] Согласно некоторым вариантам осуществления сшивающий фрагмент, присоединенный к пептиду, представляет собой



, причем  $L^{18}$  представляет

собой  $-(CR^1R^2)_v-$ , и  $v$  составляет от 10 до 20.

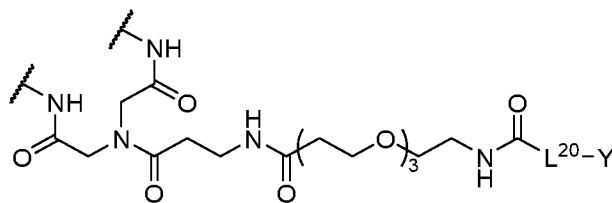
[00203] Согласно некоторым вариантам осуществления сшивающий фрагмент, присоединенный к



пептиду, представляет собой

причем каждый  $L^{19}$  независимо представляет собой  $-(CR^1R^2)_v-$ ,  $-C(=O)NR^3-$ ,  $-NR^3C(=O)-$ ,  $-алкилен-C(=O)NR^3-$  или  $-алкилен-NR^3C(=O)-$ ;  $v$  составляет от 2 до 20; и  $s_{19}$  составляет от 1 до 5.

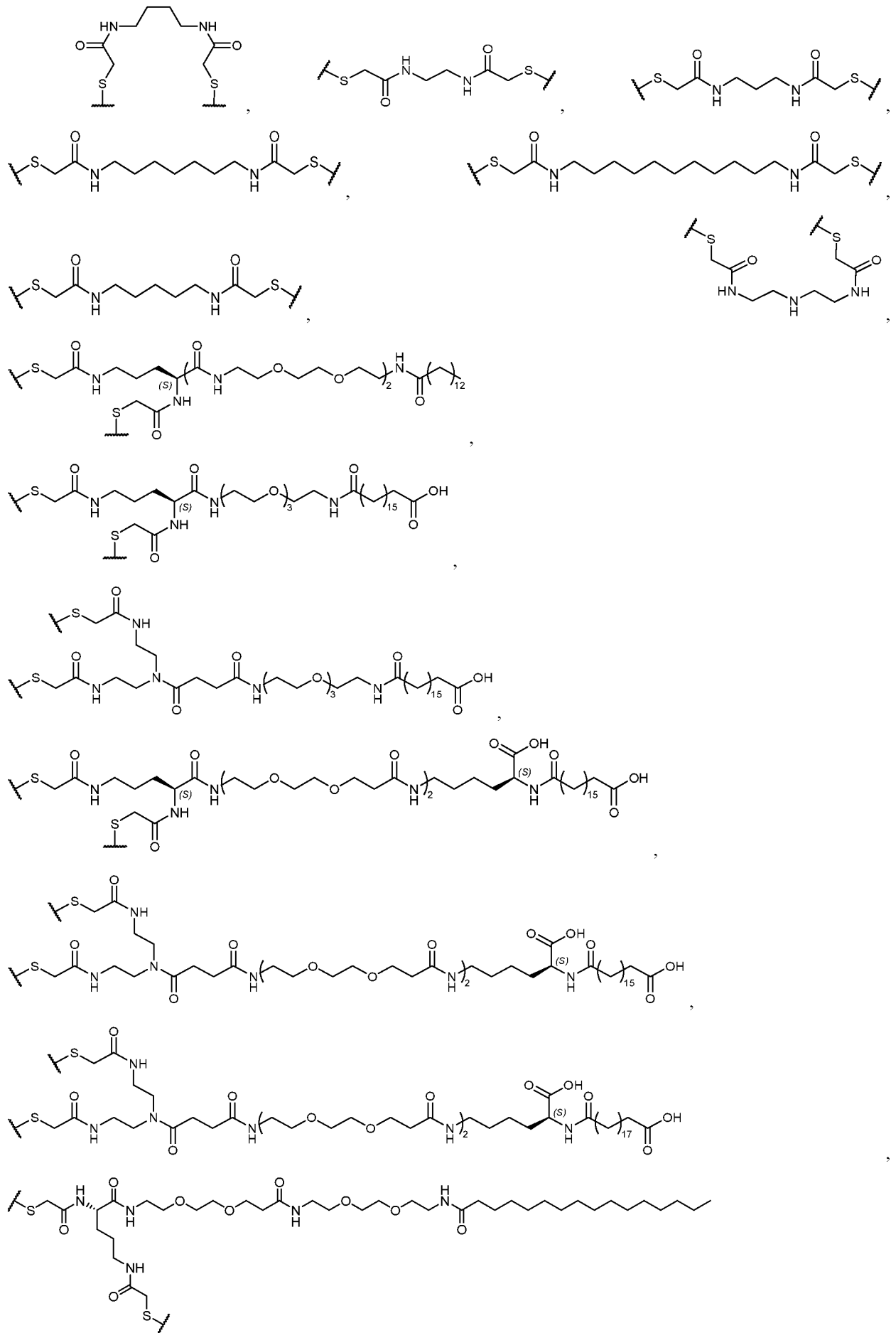
[00204] Согласно некоторым вариантам осуществления сшивающий фрагмент, присоединенный к

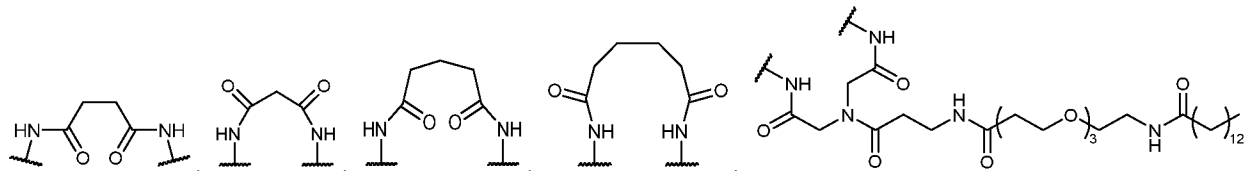
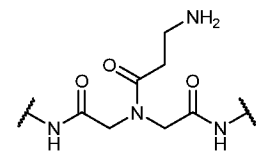
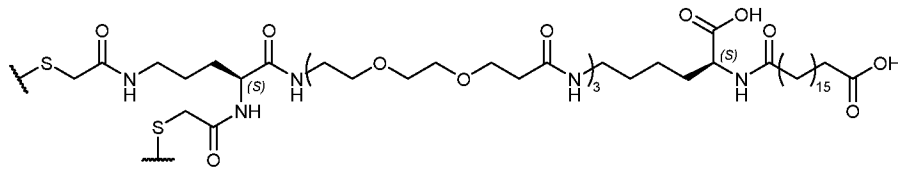
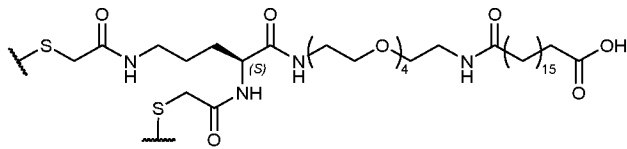
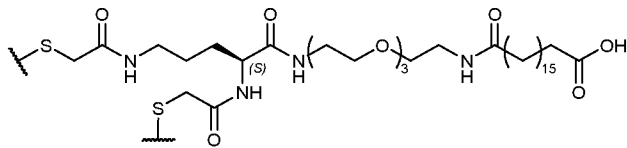
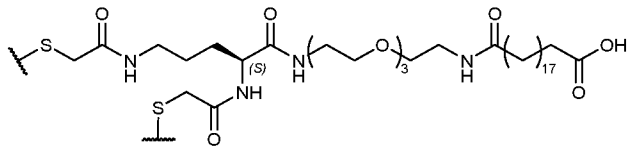
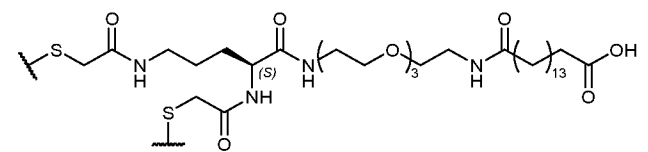
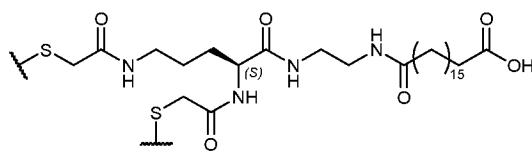
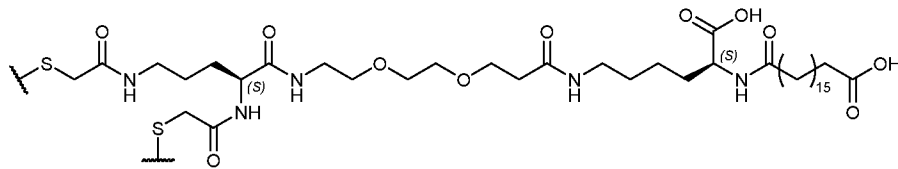
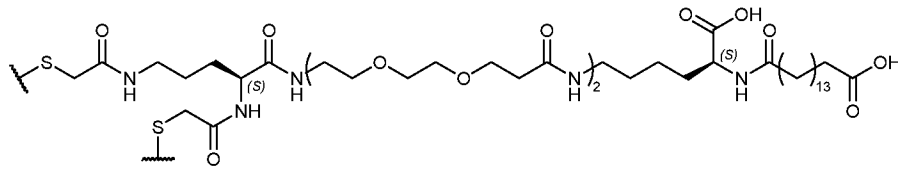
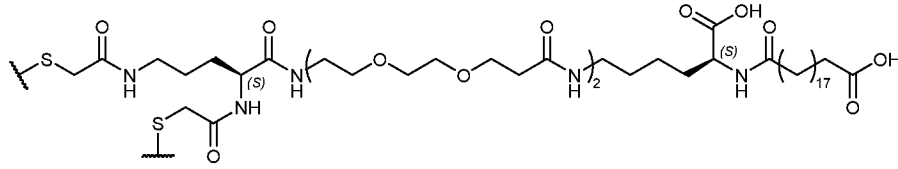
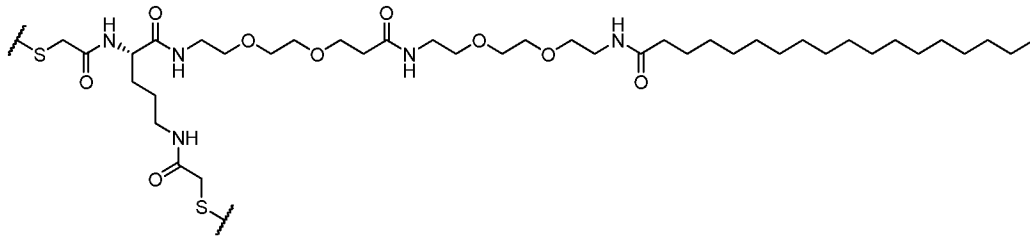


пептиду, представляет собой

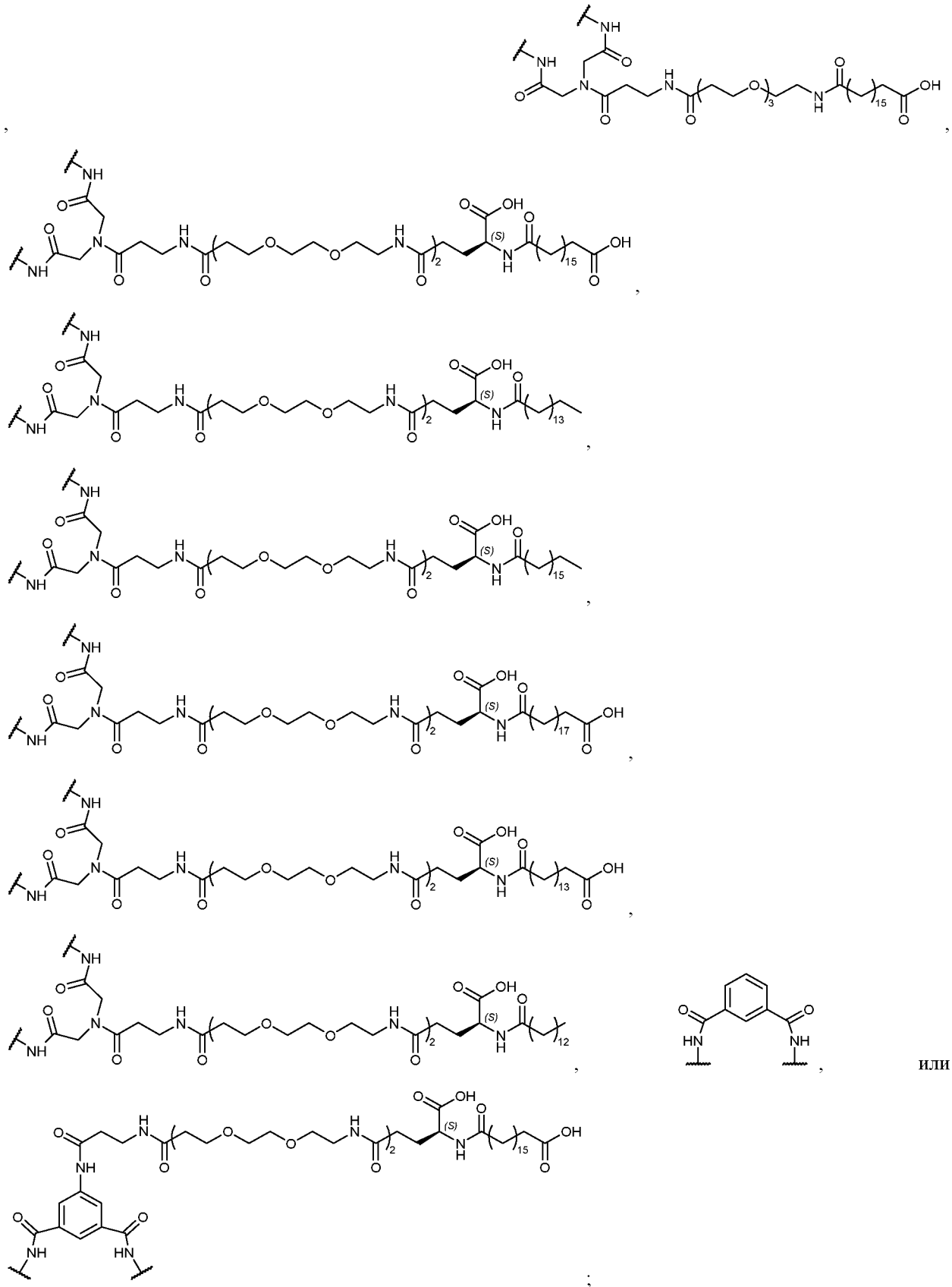
причем  $L^{20}$  представляет собой  $-(CR^1R^2)_v-$ , и  $v$  составляет от 10 до 20.

[00205] Согласно некоторым вариантам осуществления сшивающий фрагмент, присоединенный к пептиду, представляет собой:



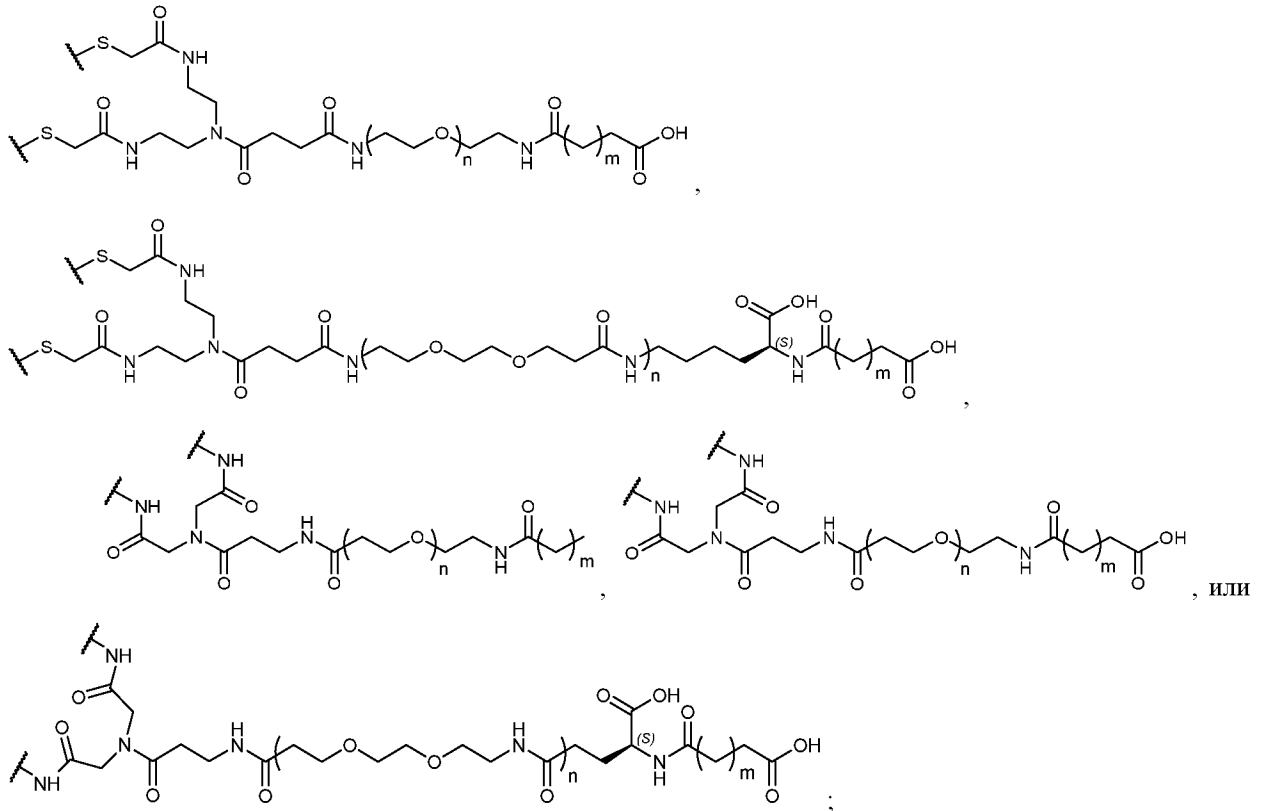






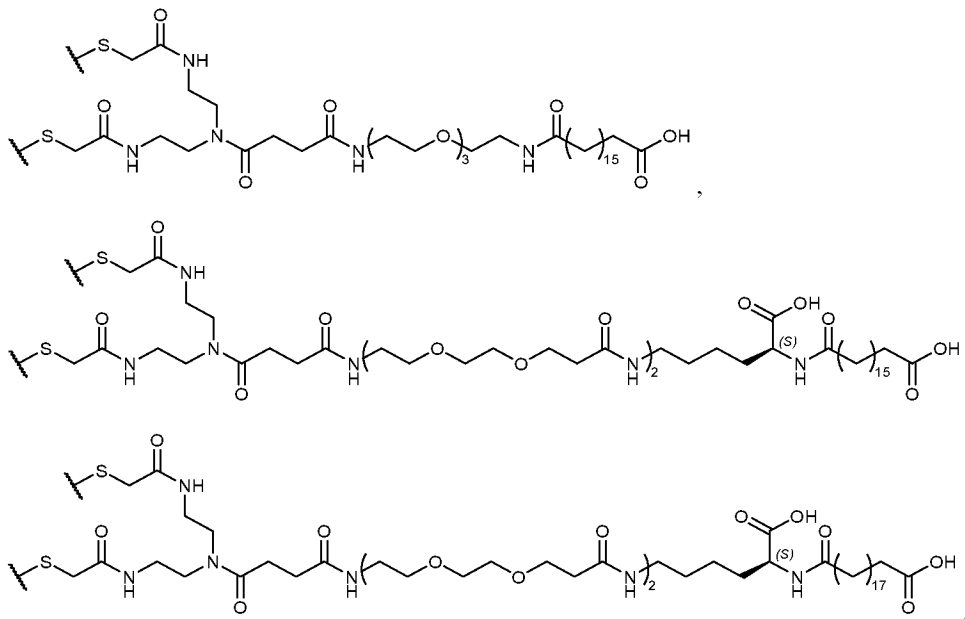
причем «-S» представляет собой часть остатка цистеина, гомоцистеина, 2-амино-5-меркаптопентановой кислоты или 2-амино-6-меркаптогексановой кислоты, и при этом «-NH» представляет собой часть остатка лизина, орнитина, диаминомасляной кислоты, диаминопропионовой кислоты или гомолизина.

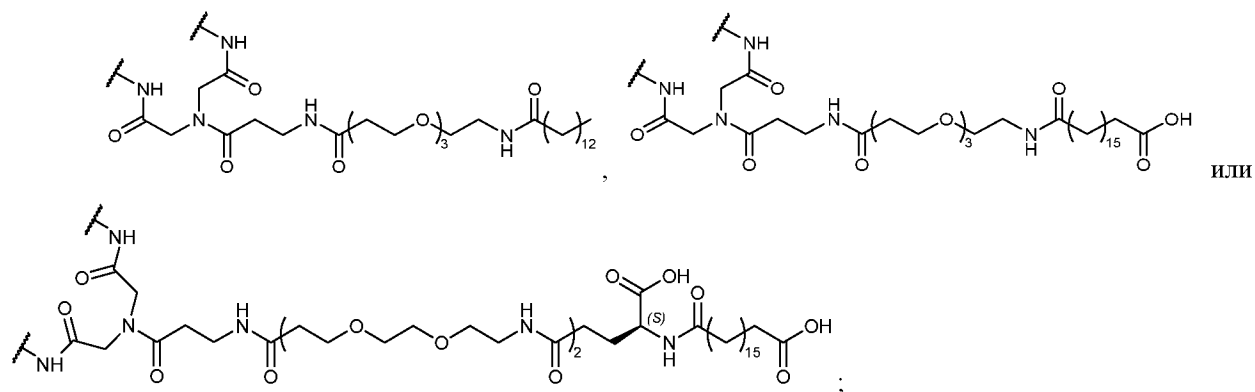
[00206] Согласно некоторым вариантам осуществления сшивающий фрагмент, присоединенный к пептиду, представляет собой:



причем  $n$  составляет от 1 до 4 и  $m$  составляет от 6 до 20; причем « $\{-S\}$ » представляет собой часть остатка цистеина, гомоцистеина, 2-амино-5-меркаптопентановой кислоты или 2-амино-6-меркаптогексановой кислоты, и при этом « $\{-NH\}$ » представляет собой часть остатка лизина, орнитина, диаминомасляной кислоты, диаминопропионовой кислоты или гомолизина.

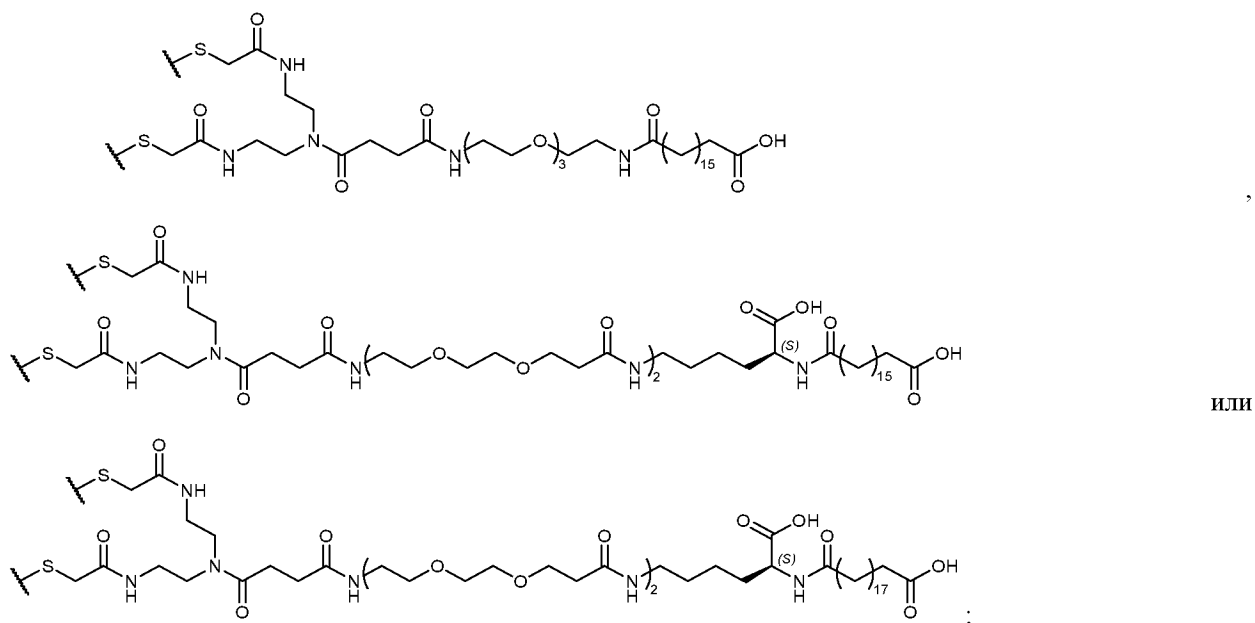
[00207] Согласно некоторым вариантам осуществления сшивающий фрагмент, присоединенный к пептиду, представляет собой:





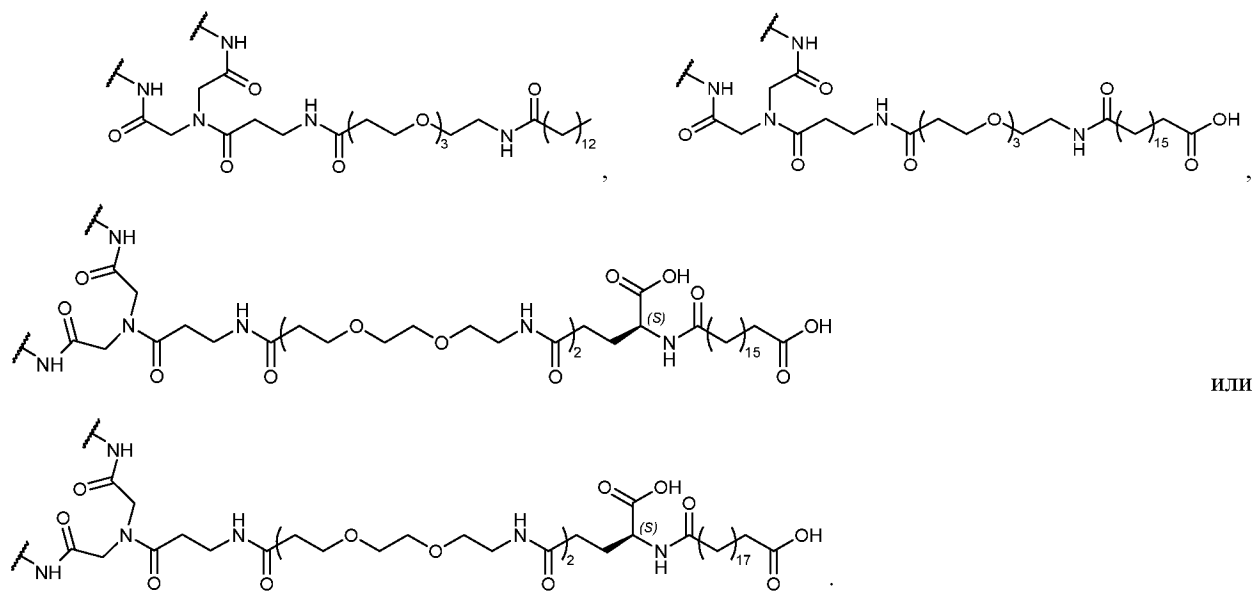
причем « $\{-S\}$ » представляет собой часть остатка цистеина, гомоцистеина, 2-амино-5-меркаптопентановой кислоты или 2-амино-6-меркаптогексановой кислоты, и при этом « $\{-NH\}$ » представляет собой часть остатка лизина, орнитина, диаминасаяной кислоты, диаминопропионовой кислоты или гомолизина.

[00208] Согласно некоторым вариантам осуществления сшивающий фрагмент, присоединенный к пептиду, представляет собой:



причем « $\{-S\}$ » представляет собой часть остатка цистеина, гомоцистеина, 2-амино-5-меркаптопентановой кислоты или 2-амино-6-меркаптогексановой кислоты.

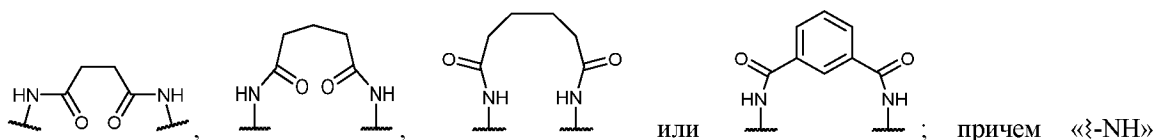
[00209] Согласно некоторым вариантам осуществления сшивающий фрагмент, присоединенный к пептиду, представляет собой:



или

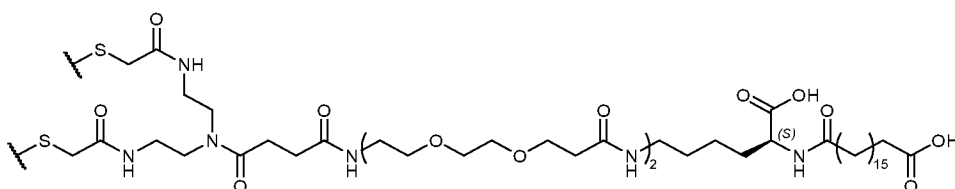
причем «-NH» представляет собой часть остатка лизина, орнитина, диаминомасляной кислоты, диаминопропионовой кислоты или гомолизина.

[00210] Согласно некоторым вариантам осуществления сшивающий фрагмент, присоединенный к пептиду, представляет собой:



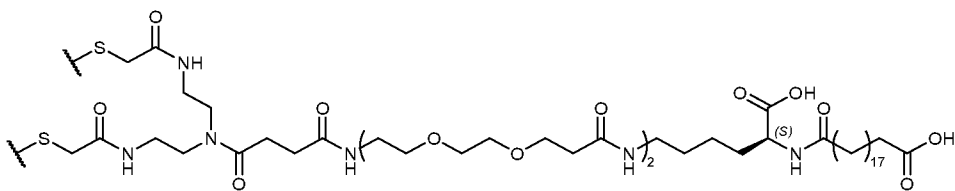
представляет собой часть остатка лизина, орнитина, диаминомасляной кислоты, диаминопропионовой кислоты или гомолизина.

[00211] Согласно некоторым вариантам осуществления сшивающий фрагмент, присоединенный к пептиду, представляет собой:



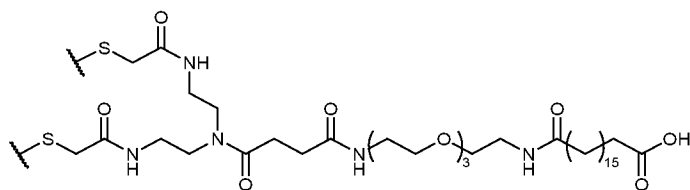
представляет собой часть остатка цистеина, гомоцистеина, 2-амино-5-меркаптопентановой кислоты или 2-амино-6-меркаптогексановой кислоты.

[00212] Согласно некоторым вариантам осуществления сшивающий фрагмент, присоединенный к пептиду, представляет собой:



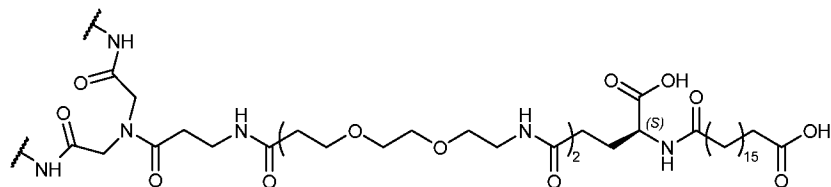
представляет собой часть остатка цистеина, гомоцистеина, 2-амино-5-меркаптопентановой кислоты или 2-амино-6-меркаптогексановой кислоты.

[00213] Согласно некоторым вариантам осуществления сшивающий фрагмент, присоединенный к пептиду, представляет собой:



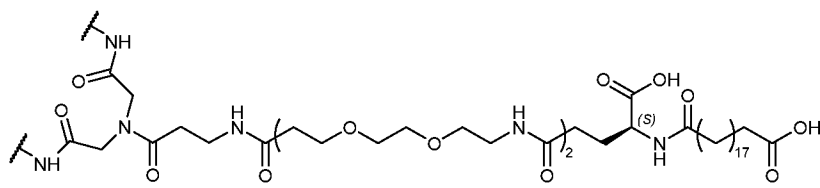
; причем « $\{-S\}$ » представляет собой часть остатка цистеина, гомоцистеина, 2-амино-5-меркаптопентановой кислоты или 2-амино-6-меркаптогексановой кислоты.

[00214] Согласно некоторым вариантам осуществления сшивающий фрагмент, присоединенный к пептиду, представляет собой:



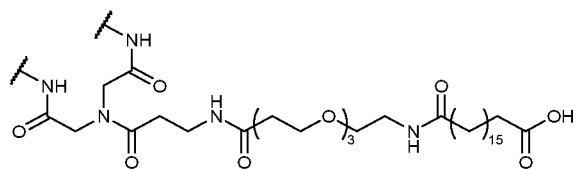
; причем « $\{-NH\}$ » представляет собой часть остатка лизина, орнитина, диаминомасляной кислоты, диаминопропионовой кислоты или гомолизина.

[00215] Согласно некоторым вариантам осуществления сшивающий фрагмент, присоединенный к пептиду, представляет собой:



; причем « $\{-NH\}$ » представляет собой часть остатка лизина, орнитина, диаминомасляной кислоты, диаминопропионовой кислоты или гомолизина.

[00216] Согласно некоторым вариантам осуществления сшивающий фрагмент, присоединенный к пептиду, представляет собой:

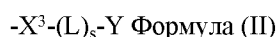


; причем « $\{-NH\}$ » представляет собой часть остатка лизина, орнитина, диаминомасляной кислоты, диаминопропионовой кислоты или гомолизина.

#### Увеличивающий период полураспада фрагмент (НЕМ)

[00217] В настоящем документе раскрыты пептидные конъюгаты, содержащие НЕМ.

[00218] Согласно некоторым вариантам осуществления НЕМ, присоединенный к пептиду, имеет формулу (II):



причем

$X^3$  представляет собой связь,  $-C(=O)-$ ,  $-алкилен-C(=O)-$ ,  $-C(=O)-алкилен-$ ,  $-алкилен-C(=O)NR^3-$ ,  $-алкилен-NR^3C(=O)-$ ,  $-C(=O)NR^3-алкилен-$ ,  $-NR^3C(=O)-алкилен-$ ,  $-алкилен-C(=O)NR^3-алкилен-$  или  $-алкилен-NR^3C(=O)-алкилен-$ ;

причем  $X^3$  присоединяется к первой аминокислоте пептида;

каждый L независимо представляет собой  $-(CR^1R^2)_v-$ , -алкилен-O-, -O-алкилен-, -C(=O)-алкилен-, -алкилен-C(=O)-,  $-NR^3$ -алкилен-, -алкилен- $NR^3$ -, -S-алкилен-, -алкилен-S-, -S(=O)-алкилен-, -алкилен-S(=O)-, -S(=O)<sub>2</sub>-алкилен, -алкилен-S(=O)<sub>2</sub>-, -C(=O)-, -C(=O) $NR^3$ -,  $-NR^3C(=O)-$ ,  $-NR^3C(=O)NR^3-$ ,  $-NR^3C(=O)NR^3$ -алкилен-,  $-NR^3C(=O)$ -алкилен- $NR^3$ -, -алкилен-C(=O) $NR^3$ -, -C(=O) $NR^3$ -алкилен-, -алкилен- $NR^3C(=O)$ - или  $-NR^3C(=O)$ -алкилен-;

v составляет от 2 до 20;

каждый R<sup>1</sup> или R<sup>2</sup> независимо представляет собой водород, галоген, -CN, -OR<sup>a</sup>, -SR<sup>a</sup>, -S(=O)R<sup>b</sup>, -NO<sub>2</sub>, -NR<sup>c</sup>R<sup>d</sup>, -S(=O)<sub>2</sub>R<sup>d</sup>, -NR<sup>a</sup>S(=O)<sub>2</sub>R<sup>d</sup>, -S(=O)<sub>2</sub>NR<sup>c</sup>R<sup>d</sup>, -C(=O)R<sup>b</sup>, -OC(=O)R<sub>b</sub>, -CO<sub>2</sub>R<sup>a</sup>, -OCO<sub>2</sub>R<sup>a</sup>, -C(=O)NR<sup>c</sup>R<sup>d</sup>, -OC(=O)NR<sup>c</sup>R<sup>d</sup>, -NR<sup>a</sup>C(=O)NR<sup>c</sup>R<sup>d</sup>, -NR<sup>a</sup>C(=O)R<sup>b</sup>, -NR<sup>a</sup>C(=O)OR<sup>a</sup>, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкил, C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>-алкенил, C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>-алкинил, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-гетероалкил, C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>-циклоалкил, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>-гетероциклоалкил, арил или гетероарил; причем алкил, алкенил, алкинил и гетероалкил необязательно является замещенным и содержит один, два или три атома галогена, -OR<sup>a</sup> или -NR<sup>c</sup>R<sup>d</sup>; и циклоалкил, гетероциклоалкил, арил и гетероарил необязательно является замещенным и содержит один, два или три атома галогена, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкил, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-галогеналкил, -OR<sup>a</sup>, -NR<sup>c</sup>R<sup>d</sup>,

или R<sup>1</sup> и R<sup>2</sup> совместно образуют C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-циклоалкил или C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-гетероциклоалкил;

каждый R<sub>3</sub> независимо представляет собой водород, -S(=O)R<sup>b</sup>, -S(=O)<sub>2</sub>R<sup>a</sup>, -S(=O)<sub>2</sub>NR<sup>c</sup>R<sup>d</sup>, -C(=O)R<sup>b</sup>, -CO<sub>2</sub>R<sup>a</sup>, -C(=O)NR<sup>c</sup>R<sup>d</sup>, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкил, C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>-алкенил, C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>-алкинил, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-гетероалкил, C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>-циклоалкил, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>-гетероциклоалкил, арил или гетероарил; причем алкил, алкенил, алкинил и гетероалкил необязательно является замещенным и содержит один, два или три атома галогена, -OR<sup>a</sup> или -NR<sup>c</sup>R<sup>d</sup>; и циклоалкил, гетероциклоалкил, арил и гетероарил необязательно является замещенным и содержит один, два или три атома галогена, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкил, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-галогеналкил, -OR<sup>a</sup> или -NR<sup>c</sup>R<sup>d</sup>;

Y представляет собой водород, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкил, -CO<sup>2</sup>H, -CO<sub>2</sub>(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкил), -CO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, -CO<sub>2</sub>N(алкил)<sub>2</sub> или -CO<sub>2</sub>NH(алкил); и

s составляет от 0 до 20;

R<sup>a</sup> представляет собой водород, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкил, C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>-алкенил, C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>-алкинил, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-гетероалкил, C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>-циклоалкил, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>-гетероциклоалкил, арил или гетероарил; причем алкил, алкенил, алкинил и гетероалкил необязательно является замещенным и содержит один, два или три атома галогена, -OH, -OMe или -NH<sub>2</sub>; и циклоалкил, гетероциклоалкил, арил и гетероарил необязательно является замещенным и содержит один, два или три атома галогена, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкил, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-галогеналкил, -OH, -OMe или -NH<sub>2</sub>;

R<sup>b</sup> представляет собой C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкил, C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>-алкенил, C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>-алкинил, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-гетероалкил, C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>-циклоалкил, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>-гетероциклоалкил, арил или гетероарил; причем алкил, алкенил, алкинил и гетероалкил необязательно является замещенным и содержит один, два или три атома галогена, -OH, -OMe или -NH<sub>2</sub>; и циклоалкил, гетероциклоалкил, арил и гетероарил необязательно является замещенным и содержит один, два или три атома галогена, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкил, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-галогеналкил, -OH, -OMe или -NH<sub>2</sub>;

каждый R<sup>c</sup> и R<sup>d</sup> независимо представляет собой водород, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкил, C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>-алкенил, C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>-алкинил, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-гетероалкил, C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>-циклоалкил, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>-гетероциклоалкил, арил или гетероарил; причем алкил, алкенил, алкинил и гетероалкил необязательно является замещенным и содержит один, два или три атома галогена, -OH, -OMe или -NH<sub>2</sub>; и циклоалкил, гетероциклоалкил, арил и гетероарил необязательно является замещенным и содержит один, два или три атома галогена, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкил, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-галогеналкил, -OH, -OMe или -NH<sub>2</sub>;

или R<sup>c</sup> и R<sup>d</sup>, вместе с атомом азота, к которому они присоединены, образуют гетероциклоалкил или гетероарил; причем гетероциклоалкил и гетероарил необязательно является замещенным и содержит один, два или три атома галогена, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкил, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-галогеналкил, -OH, -OMe или -NH<sub>2</sub>.

[00219] Согласно некоторым вариантам осуществления  $X^3$  представляет собой связь.

[00220] Согласно некоторым вариантам осуществления  $X^3$  представляет собой -алкилен-C(=O)- или -C(=O)алкилен-. Согласно некоторым вариантам осуществления  $X^3$  представляет собой -CH<sub>2</sub>-C(=O)- или -C(=O)-CH<sub>2</sub>-. Согласно некоторым вариантам осуществления  $X^3$  представляет собой -алкилен-C(=O)NR<sup>3</sup>- или -C(=O)NR<sup>3</sup>-алкилен-. Согласно некоторым вариантам осуществления  $X^3$  представляет собой -CH<sup>2</sup>-C(=O)NR<sup>3</sup>- или -C(=O)NR<sup>3</sup>-CH<sub>2</sub>-. Согласно некоторым вариантам осуществления  $X^3$  представляет собой -алкилен-C(=O)NR<sup>3</sup>-алкилен- или -алкилен-NR<sup>3</sup>C(=O)-алкилен-. Согласно некоторым вариантам осуществления  $X^3$  представляет собой -CH<sub>2</sub>-C(=O)NR<sup>3</sup>-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>- или -CH<sub>2</sub>-NR<sup>3</sup>C(=O)-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-. Согласно некоторым вариантам осуществления  $X^3$  представляет собой -CH<sub>2</sub>-C(=O)NH-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>- или -CH<sup>2</sup>-NHC(=O)-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-.

[00221] Согласно некоторым вариантам осуществления каждый R<sup>3</sup> независимо представляет собой водород или C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкил. Согласно некоторым вариантам осуществления каждый R<sup>3</sup> представляет собой водород.

[00222] Согласно некоторым вариантам осуществления s составляет от 1 до 15. Согласно некоторым вариантам осуществления s составляет от 1 до 10. Согласно некоторым вариантам осуществления s составляет от 5 до 15. Согласно некоторым вариантам осуществления s составляет от 5 до 10. Согласно некоторым вариантам осуществления s составляет от 5 до 20.

[00223] Согласно некоторым вариантам осуществления Y представляет собой водород или -CO<sub>2</sub>H. Согласно некоторым вариантам осуществления Y представляет собой водород. Согласно некоторым вариантам осуществления Y представляет собой -CO<sub>2</sub>H.

[00224] Согласно некоторым вариантам осуществления каждый L независимо представляет собой -(CR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>)<sub>v</sub>-, -алкилен-O-, -C(=O)-, -C(=O)NR<sup>3</sup>-, -NR<sup>3</sup>C(=O)-, -алкилен-C(=O)NR<sup>3</sup>- или -алкилен-NR<sup>3</sup>C(=O)-; и v составляет от 2 до 20.

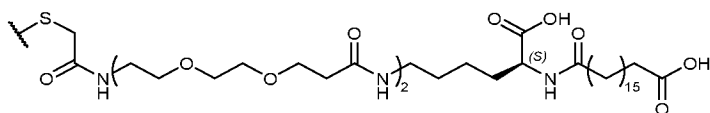
[00225] Согласно некоторым вариантам осуществления каждый L независимо представляет собой -(CR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>)<sub>v</sub>-, -алкилен-O-, -C(=O)-, -C(=O)NR<sup>3</sup>-, -NR<sup>3</sup>C(=O)-, -алкилен-C(=O)NR<sup>3</sup>- или -алкилен-NR<sup>3</sup>C(=O)-; и v составляет от 2 до 16.

[00226] Согласно некоторым вариантам осуществления v составляет от 2 до 16. Согласно некоторым вариантам осуществления v составляет от 2 до 5. Согласно некоторым вариантам осуществления v составляет от 5 до 16. Согласно некоторым вариантам осуществления v составляет 5 или 16. Согласно некоторым вариантам осуществления v составляет 2 или 16.

[00227] Согласно некоторым вариантам осуществления каждый R<sup>1</sup> или R<sup>2</sup> независимо представляет собой водород, галоген, -CN, -OR<sup>a</sup>, -NR<sup>c</sup>R<sup>d</sup>, -C(=O)R<sup>b</sup>, -CO<sub>2</sub>R<sup>a</sup>, -C(=O)NR<sup>c</sup>R<sup>d</sup> или C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкил.

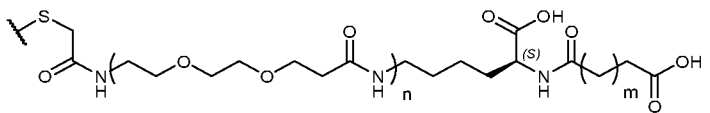
[00228] Согласно некоторым вариантам осуществления каждый R<sup>1</sup> или R<sup>2</sup> независимо представляет собой водород, галоген, -CO<sub>2</sub>R<sup>a</sup>, -C(=O)NR<sup>c</sup>R<sup>d</sup> или C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкил. Согласно некоторым вариантам осуществления каждый R<sup>1</sup> или R<sup>2</sup> независимо представляет собой водород, -CO<sub>2</sub>R<sup>a</sup> или -C(=O)NR<sup>c</sup>R<sup>d</sup>. Согласно некоторым вариантам осуществления каждый R<sup>1</sup> или R<sup>2</sup> независимо представляет собой водород или -CO<sub>2</sub>R<sup>a</sup>.

[00229] Согласно некоторым вариантам осуществления НЕМ, присоединенный к пептиду, представляет собой:



; причем «-S» представляет собой часть остатка цистеина, гомоцистеина, 2-амино-5-меркаптопентановой кислоты или 2-амино-6-меркаптогексановой кислоты.

[00230] Согласно некоторым вариантам осуществления НЕМ, присоединенный к пептиду, представляет собой:



; причем n составляет от 1 до 4 и m составляет от 6 до 20; причем «-S» представляет собой часть остатка цистеина, гомоцистеина, 2-амино-5-меркаптопентановой кислоты или 2-амино-6-меркаптогексановой кислоты.

### Пептидные конъюгаты со сшивающим фрагментом

[00231] Согласно одному аспекту настоящего изобретения предложены пептидные конъюгаты, содержащие: (а) пептид, выбранный из пептида, который модулирует рецептор PYY, пептида, который модулирует как рецептор GLP-1, так и рецептор GCG, пептида, который модулирует как рецептор GLP-1, так и рецептор GIP, и пептида, который модулирует рецептор GLP-1; и (б) сшивающий фрагмент, присоединенный к пептиду через первую аминокислоту и вторую аминокислоту.

[00232] Согласно некоторым вариантам осуществления пептидные конъюгаты содержат (а) пептид, который модулирует рецептор PYY; и (б) сшивающий фрагмент, присоединенный к пептиду через первую аминокислоту и вторую аминокислоту.

[00233] Согласно некоторым вариантам осуществления пептидные конъюгаты содержат (а) пептид, который модулирует как рецептор GLP-1, так и рецептор GCG; и (б) сшивающий фрагмент, присоединенный к пептиду через первую аминокислоту и вторую аминокислоту.

[00234] Согласно некоторым вариантам осуществления пептидные конъюгаты содержат (а) пептид, который модулирует как рецептор GLP-1, так и рецептор GIP; и (б) сшивающий фрагмент, присоединенный к пептиду через первую аминокислоту и вторую аминокислоту.

[00235] Согласно некоторым вариантам осуществления пептидные конъюгаты содержат (а) пептид, который модулирует рецептор GLP-1; и (б) сшивающий фрагмент, присоединенный к пептиду через первую аминокислоту и вторую аминокислоту.

[00236] Неограничительные примеры аминокислот для применения в конъюгации представляют собой цистеин, гомоцистеин, 2-амино-5-меркаптопентановая кислота, 2-амино-6-меркаптогексановая кислота, лизин, орнитин, диаминомасляная кислота, диаминопропионовая кислота, гомолизин, другие содержащие сульфгидрильные группы аминокислоты или другие содержащие аминогруппы аминокислоты. Согласно некоторым вариантам осуществления две аминокислоты, которые соединяет сшивающий фрагмент, разделены около или по меньшей мере около 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16 или большим числом аминокислот. Например, первая аминокислота занимает положение  $i$ , и вторая аминокислота занимает положение  $i + 7$ ,  $i + 11$ ,  $i + 13$ ,  $i + 15$ , или  $i + 16$ . Например, первая аминокислота занимает положение  $i$  в пептиде, и вторая аминокислота занимает положение  $i + n$  в пептиде, причем  $n$  составляет от 4 до 16. Согласно некоторым вариантам осуществления первая аминокислота занимает положение 14, и вторая аминокислота занимает положение 21 в пептиде. Согласно некоторым вариантам



осуществления первая аминокислота занимает положение 17, и вторая аминокислота занимает положение 24 в пептиде.

[00237] Например, первая аминокислота занимает положение  $i$  в пептиде, и вторая аминокислота занимает положение  $i + 4$  в пептиде. Например, первая аминокислота занимает положение  $i$  в пептиде, и вторая аминокислота занимает положение  $i + 5$  в пептиде. Например, первая аминокислота занимает положение  $i$  в пептиде, и вторая аминокислота занимает положение  $i + 6$  в пептиде. Например, первая аминокислота занимает положение  $i$  в пептиде, и вторая аминокислота занимает положение  $i + 7$  в пептиде. Например, первая аминокислота занимает положение  $i$  в пептиде, и вторая аминокислота занимает положение  $i + 8$  в пептиде. Например, первая аминокислота занимает положение  $i$  в пептиде, и вторая аминокислота занимает положение  $i + 9$  в пептиде. Например, первая аминокислота занимает положение  $i$  в пептиде, и вторая аминокислота занимает положение  $i + 10$  в пептиде. Например, первая аминокислота занимает положение  $i$  в пептиде, и вторая аминокислота занимает положение  $i + 11$  в пептиде. Например, первая аминокислота занимает положение  $i$  в пептиде, и вторая аминокислота занимает положение  $i + 12$  в пептиде. Например, первая аминокислота занимает положение  $i$  в пептиде, и вторая аминокислота занимает положение  $i + 13$  в пептиде. Например, первая аминокислота занимает положение  $i$  в пептиде, и вторая аминокислота занимает положение  $i + 14$  в пептиде. Например, первая аминокислота занимает положение  $i$  в пептиде, и вторая аминокислота занимает положение  $i + 15$  в пептиде. Например, первая аминокислота занимает положение  $i$  в пептиде, и вторая аминокислота занимает положение  $i + 16$  в пептиде.

[00238] Согласно некоторым вариантам осуществления первая аминокислота и вторая аминокислота независимо выбраны из группы, которую составляют содержащая аминокислотную группу аминокислота и содержащая сульфгидрильную группу аминокислота.

[00239] Согласно некоторым вариантам осуществления первая аминокислота и вторая аминокислота независимо выбрана из цистеина, гомоцистеина, 2-амино-5-меркаптопентановой кислоты и 2-амино-6-меркаптогексановой кислоты. Согласно некоторым вариантам осуществления первая аминокислота и вторая аминокислота представляют собой цистеины.

[00240] Согласно некоторым вариантам осуществления первая аминокислота и вторая аминокислота независимо выбрана из лизина, орнитина, диаминомасляной кислоты, диаминопропионовой кислоты и гомолизина.

[00241] Согласно некоторым вариантам осуществления первая аминокислота и вторая аминокислота представляют собой лизины.

[00242] Согласно некоторым вариантам осуществления первая аминокислота и вторая аминокислота представляют собой орнитины.

[00243] Согласно некоторым вариантам осуществления пептидный конъюгат дополнительно содержит увеличивающую период полураспада молекулу, присоединенную к содержащей сульфгидрильную группу аминокислоте или к содержащему аминокислотному остатку в пептиде.

[00244] Согласно некоторым вариантам осуществления содержащая аминокислотную группу аминокислота выбрана из лизина, орнитина, диаминомасляной кислоты, диаминопропионовой кислоты и гомолизина.

[00245] Согласно некоторым вариантам осуществления содержащая аминокислотную группу аминокислота представляет собой лизин.

[00246] Согласно некоторым вариантам осуществления содержащая сульфгидрильную группу аминокислота выбрана из цистеина, гомоцистеина, 2-амино-5-меркаптопентановой кислоты и 2-амино-6-меркаптогексановой кислоты.

[00247] Согласно некоторым вариантам осуществления содержащая сульфгидрильную группу аминокислота представляет собой цистеин.

#### **Пептидные конъюгаты с увеличивающим период полураспада фрагментом**

[00248] Согласно одному аспекту настоящего изобретения предложены пептидные конъюгаты, содержащие: (a) пептид, выбранный из пептида, который модулирует рецептор PYY, пептида, который модулирует как рецептор GLP-1, так и рецептор GCG, пептида, который модулирует как рецептор GLP-1, так и рецептор GIP, и пептида, который модулирует рецептор GLP-1; и (b) увеличивающий период полураспада фрагмент (HEM), присоединенный к пептиду через первую аминокислоту.

[00249] Согласно некоторым вариантам осуществления пептидные конъюгаты содержат (a) пептид, который модулирует рецептор PYY; и (b) увеличивающий период полураспада фрагмент (HEM), присоединенный к пептиду через первую аминокислоту.

[00250] Согласно некоторым вариантам осуществления пептидные конъюгаты содержат (a) пептид, который модулирует как рецептор GLP-1, так и рецептор GCG; и (b) увеличивающий период полураспада фрагмент (HEM), присоединенный к пептиду через первую аминокислоту.

[00251] Согласно некоторым вариантам осуществления пептидные конъюгаты содержат (a) пептид, который модулирует как рецептор GLP-1, так и рецептор GIP; и (b) увеличивающий период полураспада фрагмент (HEM), присоединенный к пептиду через первую аминокислоту.

[00252] Согласно некоторым вариантам осуществления пептидные конъюгаты содержат (a) пептид, который модулирует рецептор GLP-1; и (b) увеличивающий период полураспада фрагмент (HEM), присоединенный к пептиду через первую аминокислоту.

[00253] Неограничительные примеры аминокислот для применения в конъюгации представляют собой цистеин, гомоцистеин, 2-амино-5-меркаптопентановая кислота, 2-амино-6-меркаптогексановая кислота, лизин, орнитин, диаминомасляная кислота, диаминопропионовая кислота, гомолизин, другие содержащие сульфгидрильные группы аминокислоты или другие содержащие аминокислоты. Согласно некоторым вариантам осуществления первая аминокислота выбрана из группы, которую составляют содержащая аминокислотную группу аминокислота и содержащая сульфгидрильную группу аминокислота. Согласно некоторым вариантам осуществления первая аминокислота выбрана из цистеина, гомоцистеина, 2-амино-5-меркаптопентановой кислоты и 2-амино-6-меркаптогексановой кислоты. Согласно некоторым вариантам осуществления первая аминокислота представляет собой цистеин. Согласно некоторым вариантам осуществления первая аминокислота выбрана из лизина, орнитина, диаминомасляной кислоты, диаминопропионовой кислоты и гомолизина. Согласно некоторым вариантам осуществления первая аминокислота представляет собой лизин. Согласно некоторым вариантам осуществления первая аминокислота представляет собой орнитин. Согласно некоторым вариантам осуществления пептидный конъюгат дополнительно содержит второй увеличивающий период полураспада фрагмент, присоединенный к содержащему сульфгидрильную группу аминокислотному остатку или к содержащему аминокислотному остатку в пептиде. Согласно некоторым вариантам осуществления содержащая аминокислотную группу аминокислота выбрана из лизина, орнитина, диаминомасляной кислоты, диаминопропионовой кислоты и гомолизина. Согласно некоторым вариантам осуществления содержащая аминокислотную группу аминокислота представляет собой лизин. Согласно некоторым вариантам осуществления

содержащая сульфгидрильную группу аминокислота выбрана из цистеина, гомоцистеина, 2-амино-5-меркаптопентановой кислоты и 2-амино-6-меркаптогексановой кислоты. Согласно некоторым вариантам осуществления содержащая сульфгидрильную группу аминокислота представляет собой цистеин.

[00254] Согласно некоторым вариантам осуществления пептидный конъюгат содержит:

a) пептид, который модулирует рецептор PYY, содержащий пептидную последовательность, которая является идентичной по меньшей мере на около 95% по отношению к любой из последовательностей SEQ ID NO: 3, 5, 6, 8, 14-30, 36 или 37; и

b) сшивающий фрагмент, присоединенный к пептиду через первую аминокислоту и вторую аминокислоту.

[00255] Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор PYY, содержит пептидную последовательность, которая является идентичной по меньшей мере на около 99% по отношению к любой из последовательностей SEQ ID NO: 3, 5, 6, 8, 14-30, 36 или 37.

[00256] Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор PYY, содержит пептидную последовательность, которая представляет собой последовательности SEQ ID NO: 3, 5, 6, 8, 14-30, 36 или 37.

[00257] Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор PYY, содержит последовательность, которая является идентичной по меньшей мере на около 99% по отношению к последовательности SEQ ID NO: 6.

[00258] Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор PYY, содержит последовательность, которая представляет собой SEQ ID NO: 6.

[00259] Согласно некоторым вариантам осуществления пептидный конъюгат содержит:

a) пептид, который модулирует как рецептор GLP-1, так и рецептор GCGR содержащий пептидную последовательность, которая является идентичной по меньшей мере на около 95% по отношению к любой из последовательностей SEQ ID NO: 50-59; и

b) сшивающий фрагмент, присоединенный к пептиду через первую аминокислоту и вторую аминокислоту.

[00260] Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует как рецептор GLP-1, так и рецептор GCG, содержит пептидную последовательность, которая является идентичной по меньшей мере на около 99% по отношению к любой из последовательностей SEQ ID NO: 50-59.

[00261] Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует как рецептор GLP-1, так и рецептор GCG, содержит пептидную последовательность, выбранную из последовательностей SEQ ID NO: 50-59.

[00262] Согласно некоторым вариантам осуществления пептидный конъюгат содержит:

a) пептид, который модулирует как рецептор GLP-1, так и рецептор GIP, содержащий пептидную последовательность, которая является идентичной по меньшей мере на около 95% по отношению к любой из последовательностей SEQ ID NO: 62-71; и

b) сшивающий фрагмент, присоединенный к пептиду через первую аминокислоту и вторую аминокислоту.

[00263] Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует как рецептор GLP-1, так и рецептор GIP, содержит пептидную последовательность, которая является идентичной по меньшей мере на около 99% по отношению к любой из последовательностей SEQ ID NO: 62-71.

[00264] Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует как рецептор GLP-1, так и рецептор GIP, содержит пептидную последовательность, выбранную из последовательностей SEQ ID NO: 62-71.

[00265] Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует как рецептор GLP-1, так и рецептор GIP, содержит последовательность, которая является идентичной по меньшей мере на около 99% по отношению к последовательности SEQ ID NO: 63.

[00266] Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует как рецептор GLP-1, так и рецептор GIP, содержит последовательность, которая представляет собой SEQ ID NO: 63.

[00267] Согласно некоторым вариантам осуществления пептидный конъюгат содержит:

a) пептид, который модулирует рецептор GLP-1, содержащий пептидную последовательность, которая является идентичной по меньшей мере на около 95% по отношению к любой из последовательностей SEQ ID NO: 74 или 79; и

b) сшивающий фрагмент, присоединенный к пептиду через первую аминокислоту и вторую аминокислоту.

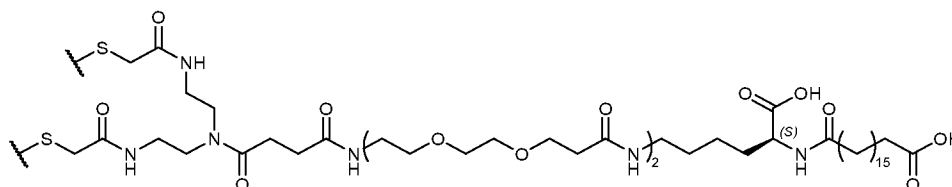
[00268] Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-1, содержит пептидную последовательность, которая является идентичной по меньшей мере на около 99% по отношению к любой из последовательностей SEQ ID NO: 74 или 79.

[00269] Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-1, содержит пептидную последовательность, выбранную из последовательностей SEQ ID NO: 74 или 79.

[00270] Согласно некоторым вариантам осуществления пептидный конъюгат содержит:

a) пептид, который модулирует рецептор PYY, содержащий пептидную последовательность, которая представляет собой SEQ ID NO: 6; и

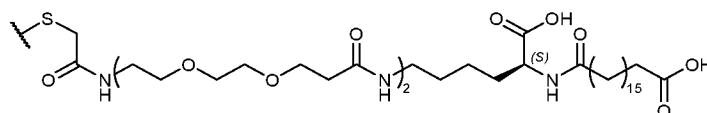
b) сшивающий фрагмент, присоединенный к пептиду через первый цистеин и второй цистеин, имеющий следующую структуру (« $\gamma$ -S» представляет собой часть цистеиновых остатков):



[00271] Согласно некоторым вариантам осуществления пептидный конъюгат содержит:

a) пептид, который модулирует рецептор PYY, содержащий пептидную последовательность, которая представляет собой SEQ ID NO: 10; и

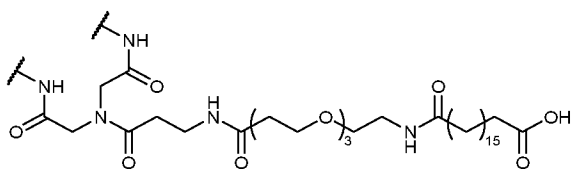
b) НЕМ, присоединенный к пептиду через первый цистеин, имеющий следующую структуру (« $\gamma$ -S» представляет собой часть цистеиновых остатков):



[00272] Согласно некоторым вариантам осуществления пептидный конъюгат содержит:

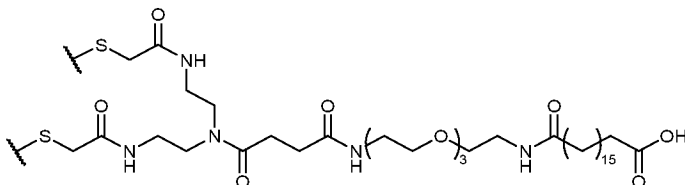
a) пептид, который модулирует как рецептор GLP-1, так и рецептор GCG, содержащий пептидную последовательность, которая представляет собой SEQ ID NO: 48; и

b) сшивающий фрагмент, присоединенный к пептиду через первый лизин и второй лизин, имеющий следующую структуру (« $\epsilon$ -NH» представляет собой часть лизиновых остатков):



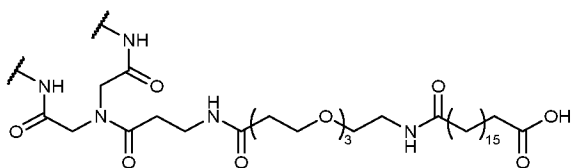
[00273] Согласно некоторым вариантам осуществления пептидный конъюгат содержит:

- пептид, который модулирует как рецептор GLP-1, так и рецептор GCG, содержащий пептидную последовательность, которая представляет собой SEQ ID NO: 60; и
- сшивающий фрагмент, присоединенный к пептиду через первый цистеин и второй цистеин, имеющий следующую структуру (« $\{-S\}$ » представляет собой часть цистеиновых остатков):



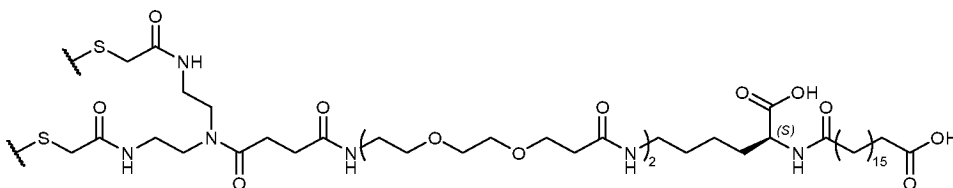
[00274] Согласно некоторым вариантам осуществления пептидный конъюгат содержит:

- пептид, который модулирует как рецептор GLP-1, так и рецептор GIP, содержащий пептидную последовательность, которая представляет собой SEQ ID NO: 63; и
- сшивающий фрагмент, присоединенный к пептиду через первый лизин и второй лизин, имеющий следующую структуру (« $\{-NH\}$ » представляет собой часть лизиновых остатков):



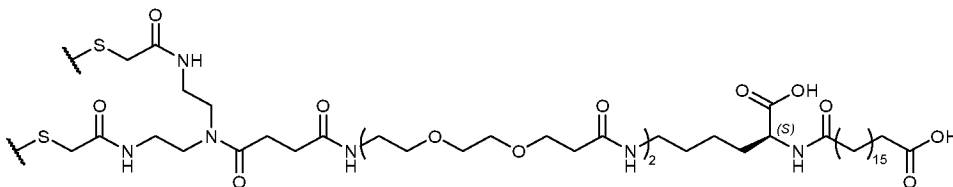
[00275] Согласно некоторым вариантам осуществления пептидный конъюгат содержит:

- пептид, который модулирует рецептор GLP-1, содержащий пептидную последовательность, которая представляет собой SEQ ID NO: 76; и
- сшивающий фрагмент, присоединенный к пептиду через первый цистеин и второй цистеин, имеющий следующую структуру (« $\{-S\}$ » представляет собой часть цистеиновых остатков):



[00276] Согласно некоторым вариантам осуществления пептидный конъюгат содержит:

- пептид, который модулирует рецептор GLP-1, содержащий пептидную последовательность, которая представляет собой SEQ ID NO: 77; и
- сшивающий фрагмент, присоединенный к пептиду через первый цистеин и второй цистеин, имеющий следующую структуру (« $\{-S\}$ » представляет собой часть цистеиновых остатков):



### **Пептидные конъюгаты, содержащие пролактин-высвобождающий пептид (PrRP)**

[00277] Согласно одному аспекту настоящего изобретения предложены пептидные конъюгаты, содержащие пролактин-высвобождающий пептид (PrRP). В примерных случаях пролактин-высвобождающий пептид (PrRP) содержит две аминокислоты, которые соединяет сшивающий фрагмент. Неограничительные примеры аминокислот для применения в конъюгации представляют собой цистеин, гомоцистеин, 2-амино-5-меркаптопентановая кислота, 2-амино-6-меркаптогексановая кислота, или другие содержащие сульфгидрильные группы аминокислоты. Для пролактин-высвобождающего пептида (PrRP), содержащего две аминокислоты, которые соединяет сшивающий фрагмент, эти две аминокислоты разделены около или по меньшей мере около 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 или большим числом аминокислот. Например, первая аминокислота занимает положение  $i$ , и вторая аминокислота занимает положение  $i + 7$ ,  $i + 11$ ,  $i + 13$ ,  $i + 15$ , или  $i + 16$ . Например, первая аминокислота занимает положение  $i$  в пептиде, и вторая аминокислота занимает положение  $i + n$  в пептиде, причем  $n$  составляет от 4 до 16. Например, первая аминокислота занимает положение  $i$  в пептиде, и вторая аминокислота занимает положение  $i + 7$  в пептиде. Например, первая аминокислота занимает положение  $i$  в пептиде, и вторая аминокислота занимает положение  $i + 11$  в пептиде. Например, первая аминокислота занимает положение  $i$  в пептиде, и вторая аминокислота занимает положение  $i + 15$  в пептиде. Например, первая аминокислота занимает положение  $i$  в пептиде, и вторая аминокислота занимает положение  $i + 16$  в пептиде.

[00278] В настоящем документе раскрыты пептидные конъюгаты, содержащие:

- a) пролактин-высвобождающий пептид (PrRP); и
- b) увеличивающую период полураспада молекулу, присоединенную к сшивающему фрагменту, причем сшивающий фрагмент присоединяется к пептиду через первую аминокислоту и вторую аминокислоту.

[00279] Согласно некоторым вариантам осуществления первая аминокислота и вторая аминокислота независимо выбраны из содержащих сульфгидрильные группы аминокислот.

[00280] Согласно некоторым вариантам осуществления первая аминокислота и вторая аминокислота независимо выбрана из цистеина, гомоцистеина, 2-амино-5-меркаптопентановой кислоты и 2-амино-6-меркаптогексановой кислоты. Согласно некоторым вариантам осуществления первая аминокислота и вторая аминокислота представляют собой цистеины.

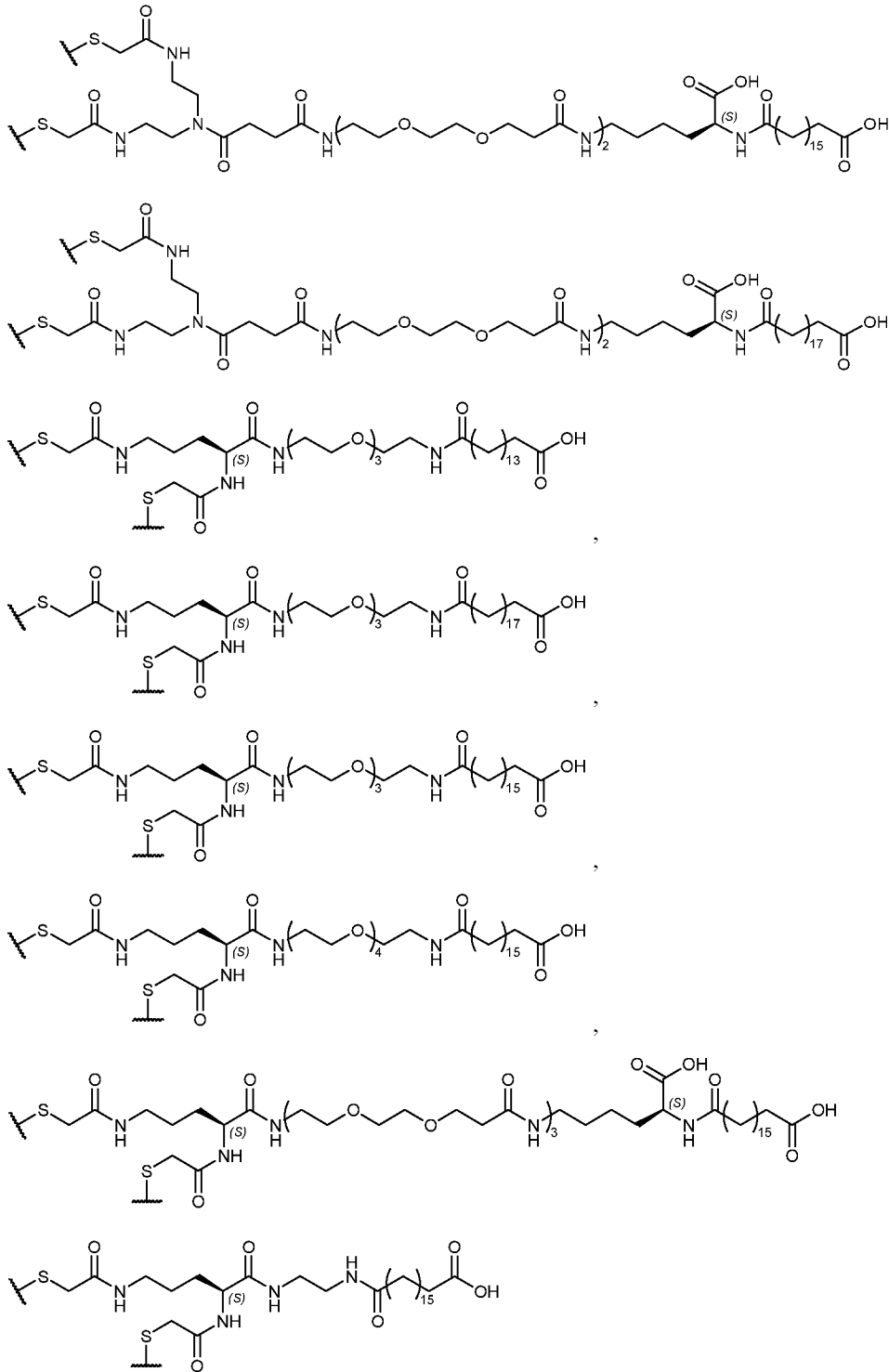
[00281] Согласно некоторым вариантам осуществления пролактин-высвобождающего пептида (PrRP) и увеличивающей период полураспада молекулы, присоединенной к сшивающему фрагменту, пептидный конъюгат содержит:

- a) пролактин-высвобождающий пептид (PrRP) содержащий пептидную последовательность, выбранная из последовательностей SEQ ID NO: 83-105; и

- b) одну увеличивающую период полураспада молекулу, присоединенную к сшивающему фрагменту, причем сшивающий фрагмент присоединяется к пептиду через первый цистеин и второй цистеин;

причем увеличивающая период полураспада молекула, присоединенная к сшивающему фрагменту, имеет следующую структуру (« $\{-S\}$ » представляет собой часть цистеинового остатка):





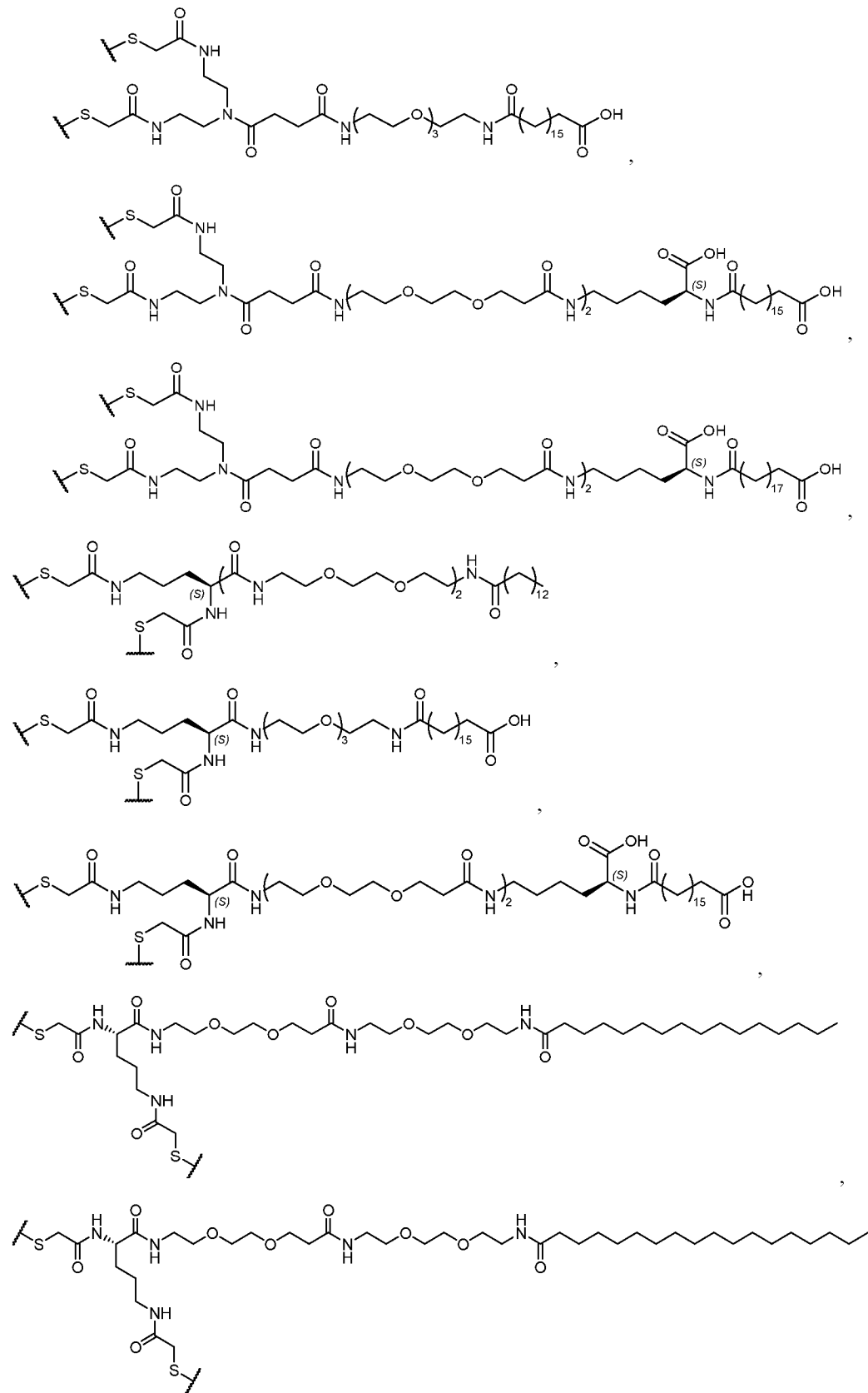
ИЛИ

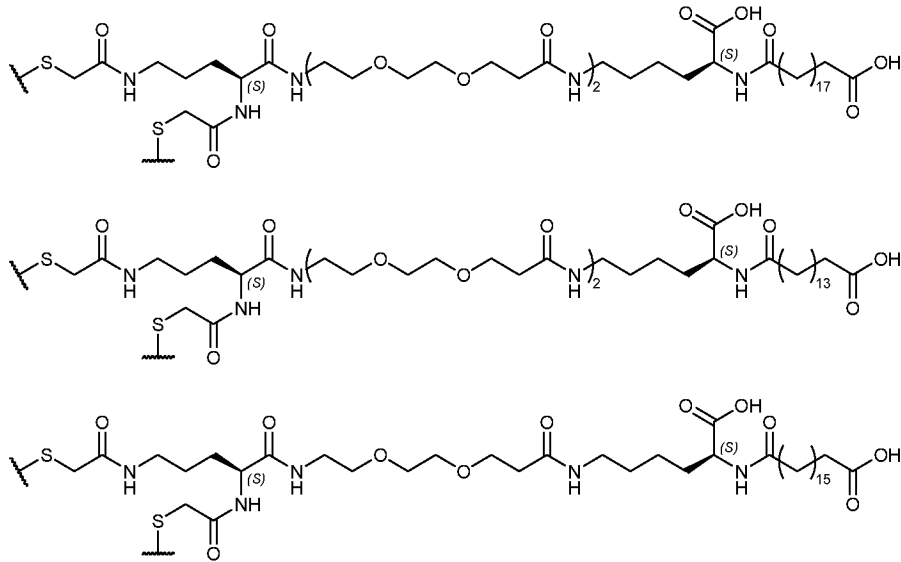
[00282] Согласно некоторым вариантам осуществления пролактин-высвобождающего пептида (PrRP) и увеличивающей период полураспада молекулы, присоединенной к сшивающему фрагменту, пептидный конъюгат содержит:

- а) пролактин-высвобождающий пептид (PrRP), содержащий пептидную последовательность, выбранную из последовательностей SEQ ID NO: 83-105; и
- б) одну увеличивающую период полураспада молекулу, присоединенную к сшивающему фрагменту, причем сшивающий фрагмент присоединяется к пептиду через первый цистеин и второй цистеин;



причем увеличивающая период полураспада молекула, присоединенная к сшивающему фрагменту, имеет следующую структуру («S» представляет собой часть цистеинового остатка):





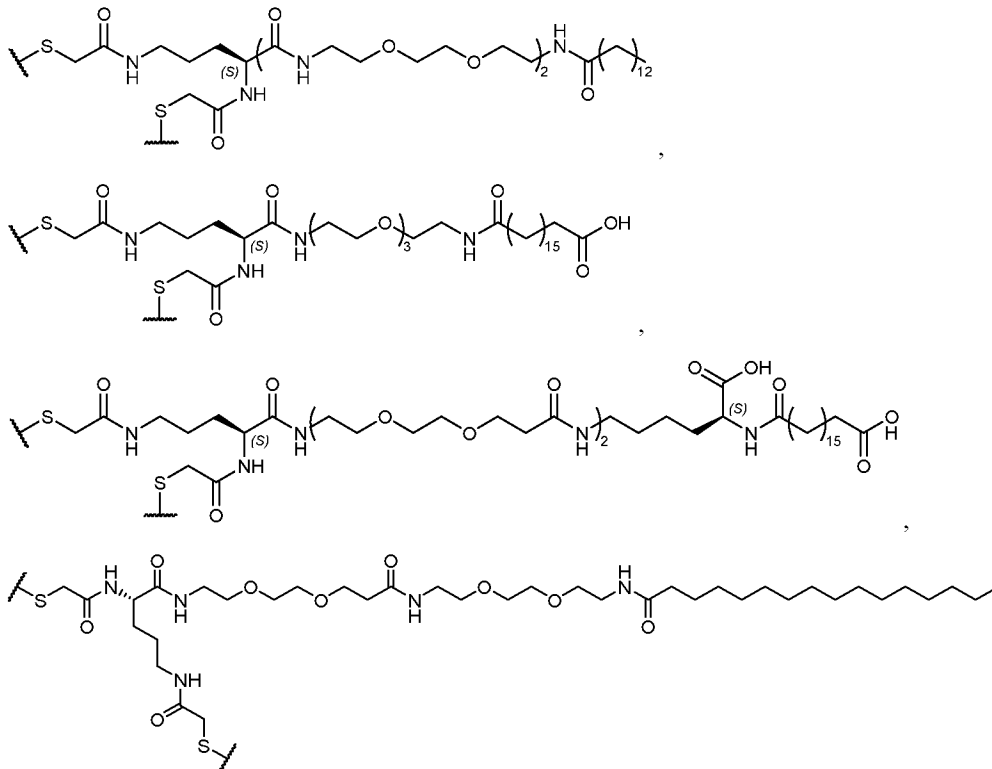
ИЛИ

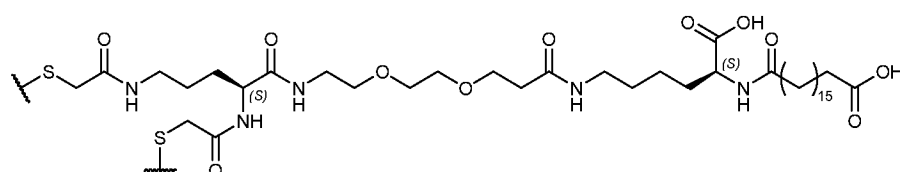
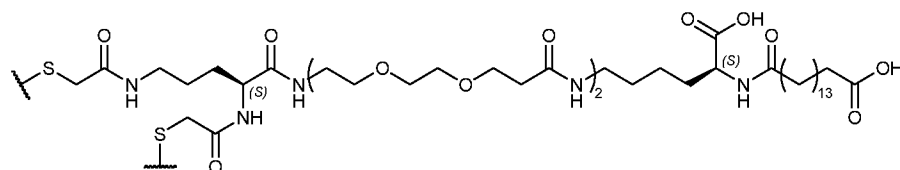
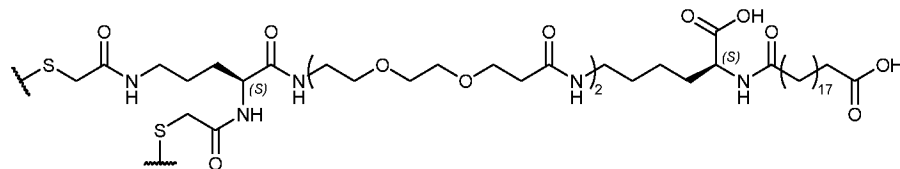
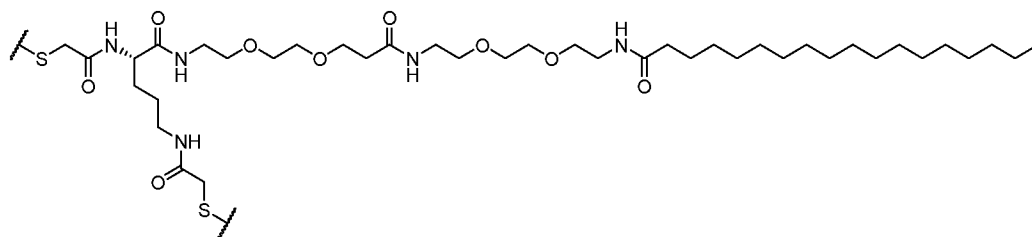
[00283] Согласно некоторым вариантам осуществления пролактин-высвобождающего пептида (PrRP) и увеличивающей период полураспада молекулы, присоединенной к сшивающему фрагменту, пептидный конъюгат содержит:

a) пролактин-высвобождающий пептид (PrRP), содержащий пептидную последовательность, выбранную из последовательностей SEQ ID NO: 83-105; и

b) одну увеличивающую период полураспада молекулу, присоединенную к сшивающему фрагменту, причем сшивающий фрагмент присоединяется к пептиду через первый цистеин и второй цистеин;

причем увеличивающая период полураспада молекула, присоединенная к сшивающему фрагменту, имеет следующую структуру («S» представляет собой часть цистеинового остатка):





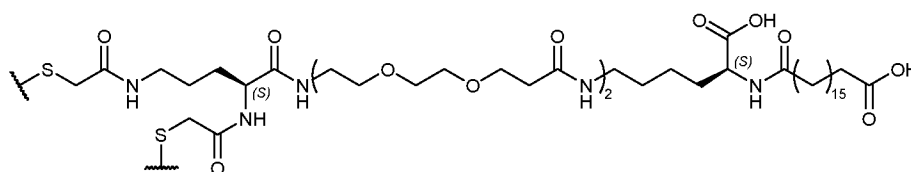
ИЛИ

[00284] Согласно некоторым вариантам осуществления пролактин-высвобождающего пептида (PrRP) и увеличивающей период полураспада молекулы, присоединенной к сшивающему фрагменту, пептидный конъюгат содержит:

a) пролактин-высвобождающий пептид (PrRP), содержащий пептидную последовательность, выбранную из последовательностей SEQ ID NO: 83-105; и

b) одну увеличивающую период полураспада молекулу, присоединенную к сшивающему фрагменту, причем сшивающий фрагмент присоединяется к пептиду через первый цистеин и второй цистеин;

причем увеличивающая период полураспада молекула, присоединенная к сшивающему фрагменту, имеет следующую структуру («S» представляет собой часть цистеинового остатка):

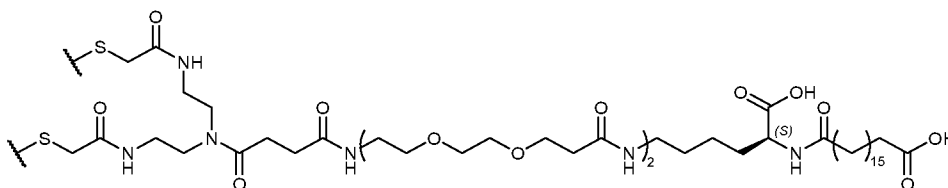


[00285] Согласно некоторым вариантам осуществления пролактин-высвобождающего пептида (PrRP) и увеличивающей период полураспада молекулы, присоединенной к сшивающему фрагменту, пептидный конъюгат содержит:

a) пролактин-высвобождающий пептид (PrRP), содержащий пептидную последовательность, выбранную из последовательностей SEQ ID NO: 83-105; и

b) одну увеличивающую период полураспада молекулу, присоединенную к сшивающему фрагменту, причем сшивающий фрагмент присоединяется к пептиду через первый цистеин и второй цистеин;

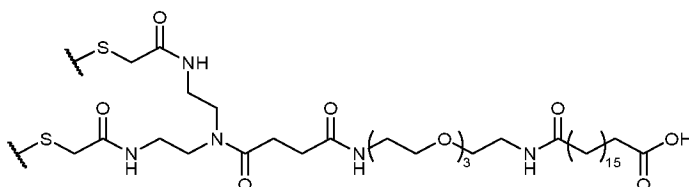
причем увеличивающая период полуразложения молекула, присоединенная к сшивающему фрагменту, имеет следующую структуру («S» представляет собой часть цистеинового остатка):



[00286] Согласно некоторым вариантам осуществления пролактин-высвобождающего пептида (PrRP) и увеличивающей период полуразложения молекулы, присоединенной к сшивающему фрагменту, пептидный конъюгат содержит:

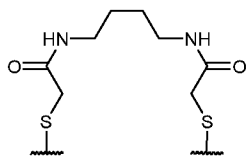
- пролактин-высвобождающий пептид (PrRP), содержащий пептидную последовательность, выбранную из последовательностей SEQ ID NO: 83-105; и
- одну увеличивающую период полуразложения молекулу, присоединенную к сшивающему фрагменту, причем сшивающий фрагмент присоединяется к пептиду через первый цистеин и второй цистеин;

причем увеличивающая период полуразложения молекула, присоединенная к сшивающему фрагменту, имеет следующую структуру («S» представляет собой часть цистеинового остатка):



[00287] Согласно некоторым вариантам осуществления пролактин-высвобождающего пептида (PrRP) пептидный конъюгат содержит:

- пролактин-высвобождающий пептид (PrRP), содержащий пептидную последовательность, выбранную из последовательностей SEQ ID NO: 83-105; и
  - сшивающий фрагмент, присоединенный к пептиду через первый цистеин и второй цистеин;
- причем увеличивающая период полуразложения молекула, присоединенная к сшивающему фрагменту, имеет следующую структуру («S» представляет собой часть цистеинового остатка):



### Фармакокинетика

[0288] Механизмы, посредством которых пептидные конъюгаты производят положительное воздействие на фармакокинетическое или фармакодинамическое поведение, представляют собой, но не ограничиваются этим, (i) предотвращение или ослабление протеолитической деградациии в условиях организма или другой снижающей активность химической модификации терапевтического средства; (ii) увеличение периода полуразложения или улучшение других фармакокинетических свойств за счет снижения почечной фильтрации, уменьшения рецептор-опосредованного выведения или увеличения биодоступности; (iii) снижение токсичности; (iv) повышение растворимости; и/или (v) увеличение биологической активности и/или селективности неконъюгированного терапевтического средства. Терапевтическое средство может содержать модулятор рецептора PYY, модулятор рецептора GLP-1,

модулятор рецептора GCG, модулятор рецептора GIP или вещество, например, пептид, который модулирует их комбинацию.

[0289] Пептидные конъюгаты могут усиливать одно или несколько фармакокинетических свойств терапевтических средств, когда они присоединяются к терапевтическим средствам. Пептидные конъюгаты, описанные в настоящем документе, могут усиливать одно или несколько фармакокинетических свойств терапевтических средств по меньшей мере на около 200% при измерении фармакодинамическими методами по сравнению с индивидуальным терапевтическим средством или немодифицированным терапевтическим пептидом. Пептидные конъюгаты, описанные в настоящем документе, могут усиливать одно или несколько фармакокинетических свойств терапевтических средств по меньшей мере на около 300%, 400%, 500%, 600%, 700%, 800%, 900%, 1000% при измерении фармакодинамическими методами по сравнению с индивидуальным терапевтическим средством или немодифицированным терапевтическим пептидом.

[0290] Фармакокинетические свойства могут представлять собой период полураспада. Период полураспада пептидного конъюгата может быть по меньшей мере около в два раза более продолжительным по сравнению с периодом полураспада индивидуального немодифицированного пептида. Период полураспада пептидного конъюгата, описанного в настоящем документе, может быть по меньшей мере около в 3, 4, 5 или 10 раз более продолжительным по сравнению с периодом полураспада индивидуального терапевтического средства или немодифицированного терапевтического пептида. Период полураспада пептидного конъюгата, описанного в настоящем документе, может быть по меньшей мере около в 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 или 50 раз более продолжительным по сравнению с периодом полураспада индивидуального немодифицированного пептида.

[0291] Согласно некоторым вариантам осуществления период полураспада пептидного конъюгата является по меньшей мере около в 2 раза более продолжительным, чем период полураспада немодифицированной формы пептида. Согласно некоторым вариантам осуществления период полураспада пептидного конъюгата является по меньшей мере около в 5 раз более продолжительным, чем период полураспада немодифицированной формы пептида. Согласно некоторым вариантам осуществления период полураспада пептидного конъюгата является по меньшей мере около в 10 раз более продолжительным, чем период полураспада немодифицированной формы пептида.

[0292] Кроме того, пептидный конъюгат, который описан в настоящем документе, может производить положительный эффект, представляющий собой улучшение производственной технологичности и/или снижение иммуногенности пептида, по сравнению с неконъюгированной формой немодифицированного терапевтического пептида.

#### **Терапевтическое применение**

[0293] Согласно одному аспекту пептидные конъюгаты, описанные в настоящем документе, являются пригодными для применения в целях лечения, ослабления, замедления и/или предотвращения одного или нескольких заболеваний и/или состояний. Заболевание и/или состояние может представлять собой хроническое заболевание или состояние. В качестве альтернативы, заболевание и/или состояние представляет собой острое заболевание или состояние. Заболевание или состояние может быть повторяющимся, трудно поддающимся лечению, ускоренным или находиться в стадии ремиссии. Заболевание или состояние может воздействовать на клетки одного или нескольких типов. Одно или несколько заболеваний и/или состояний могут представлять собой аутоиммунные заболевания, воспалительные заболевания или метаболические заболевания.

[0294] В настоящем документе раскрыт способ лечения заболевания или состояния у нуждающегося в этом субъекта, причем в способе предусмотрено введение субъекту пептидного конъюгата, описанного в настоящем документе. Заболевание или состояние может представлять собой диабет или ожирение, или медицинское состояние, связанное с диабетом или ожирением. Заболевание или состояние может представлять собой неалкогольную жировую болезнь печени (NAFLD), неалкогольный стеатогепатит (NASH) или сердечно-сосудистое заболевание. Заболевание или состояние может представлять собой аутоиммунное нарушение. Заболевание или состояние может представлять собой болезнь Крона или язвенный колит. Заболевание или состояние может представлять собой синдром короткого кишечника (SBS). Заболевание или состояние может представлять собой воспалительное заболевание кишечника (IBD), воспалительный кишечный синдром (IBS) или псориаз. Заболевание или состояние может представлять собой болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона или болезнь Хантингтона. Пептидный грузочный комплекс (PLC) может быть введен совместно с одним или несколькими дополнительными терапевтическими средствами. В настоящем документе раскрыт способ лечения заболевания или состояния у нуждающегося в этом субъекта, причем в способе предусмотрено введение субъекту композиции, описанной в настоящем документе и содержащей один или несколько пептидных конъюгатов.

[0295] Согласно настоящему изобретению предложен способ предотвращения или лечения метаболического заболевания или состояния у нуждающегося в этом субъекта, причем в способе предусмотрено введение субъекту пептидного конъюгата, который описан в настоящем документе. Метаболическое заболевание или состояние может представлять собой диабет. Метаболическое заболевание или состояние может представлять собой ожирение. Метаболическое заболевание или состояние может представлять собой болезнь накопления гликогена, фенилкетонурию, болезнь мочи с запахом кленового сиропа, глутаровую ацидемию первого типа, дефицит карбамоилфосфатсинтетазы I, алькаптонурию, дефицит дегидрогеназы среднепочечного ацил-кофермента A (MCADD), острую перемежающуюся порфирию, синдром Леша-Нихана, липоидную врожденную гиперплазию надпочечников, врожденную гиперплазию надпочечников, дефицит проопиомеланокортина (POMPC), дефицит лептиновых рецепторов (LEPR), синдром Барде-Бидля, синдром Альстрёма, синдром Прадера-Вилли, синдром Кернса-Сейра, синдром Целвегера, болезнь Гоше или болезнь Ниманна-Пика.

[0296] Согласно настоящему изобретению предложен способ предотвращения или лечения неалкогольной жировой болезни печени (NAFLD), неалкогольного стеатогепатита (NASH) или сердечно-сосудистого заболевания у нуждающегося в этом субъекта, причем в способе предусмотрено введение субъекту пептидного конъюгата, описанного в настоящем документе.

[0297] Согласно настоящему изобретению предложен способ предотвращения или лечения синдрома короткого кишечника (SBS) у нуждающегося в этом субъекта, причем в способе предусмотрено введение субъекту пептидного конъюгата, описанного в настоящем документе.

[0298] Согласно настоящему изобретению предложен способ предотвращения или лечения воспалительного заболевания кишечника (IBD), воспалительного кишечного синдрома (IBS) или псориаза у нуждающегося в этом субъекта, причем в способе предусмотрено введение субъекту пептидного конъюгата, описанного в настоящем документе.

[0299] Согласно настоящему изобретению предложен способ предотвращения или лечения болезни Крона или язвенного колита у нуждающегося в этом субъекта, причем в способе предусмотрено введение субъекту пептидного конъюгата, описанного в настоящем документе.

[0300] Согласно настоящему изобретению предложен способ предотвращения или лечения нарушения сна.

[0301] Согласно настоящему изобретению предложен способ предотвращения или лечения абсансного судорожного припадка.

Согласно настоящему изобретению предложен способ предотвращения или лечения хронического почечного заболевания (например, осложнения диабета). Согласно настоящему изобретению предложен способ предотвращения или лечения диабетического сердечного заболевания.

Согласно настоящему изобретению предложен способ предотвращения или лечения сердечно-сосудистых осложнений.

[0302] Согласно настоящему изобретению предложен способ предотвращения или лечения болезни Альцгеймера, болезни Паркинсона или болезни Хантингтона у нуждающегося в этом субъекта, причем в способе предусмотрено введение субъекту пептидного конъюгата, описанного в настоящем документе.

[0303] Согласно настоящему изобретению предложен способ предотвращения или лечения желудочно-кишечных нарушений, например, лечения новорожденных с нарушенной функцией кишечника, остеопорозом и состояниями, опосредованными дипептидилпептидазой-IV (DPP-IV). В качестве примера, желудочно-кишечные нарушения представляют собой язвы, гастриты, нарушения пищеварения, синдромы мальабсорбции, синдром короткой кишки, синдром тупикового мешка, воспалительное заболевание кишечника, болезнь глютеновой недостаточности (которую вызывает, например, глютен-индуцированная энтеропатия или глютенчувствительная целиакия), тропическая глютеновая недостаточность, гипогаммаглобулинемическая глютеновая недостаточность, энтерит, регионарный энтерит (болезнь Крона), язвенный колит, связанный с диареей синдром раздраженного кишечника, повреждение тонкой кишки и синдром короткого кишечника.

[0304] Согласно настоящему изобретению предложен способ предотвращения или лечения радиационного энтерита, инфекционного или постинфекционного энтерита и повреждения тонкой кишки вследствие воздействия токсических или других химиотерапевтических средство. При этом может потребоваться введение пептидного конъюгата до, во течение или после курса химиотерапии или лучевой терапии, чтобы уменьшить побочные эффекты химиотерапии, такие как диарея, спазмы в животе и рвота, а также уменьшить последующее структурное и функциональное повреждение эпителия кишечника, возникающее в результате химиотерапии или лучевой терапии.

[0305] Согласно настоящему изобретению предложен способ предотвращения или лечения нарушений питания, например, таких состояний, как синдром истощения, кахексия и анорексия.

[0306] Согласно настоящему изобретению предложено способ предотвращения или лечения заболевания или состояния, при котором оказывается благоприятным модулятор рецептора PYY, у нуждающегося в этом субъекта, где предусмотрено введение субъекту пептидного конъюгата, описанного в настоящем документе.

[0307] Согласно настоящему изобретению предложено способ предотвращения или лечения заболевания или состояния, при котором оказывается благоприятным модулятор рецептора GLP-1, у нуждающегося в этом субъекта, где предусмотрено введение субъекту пептидного конъюгата, описанного в настоящем документе.

[0308] Согласно настоящему изобретению предложено способ предотвращения или лечения заболевания или состояния, при котором оказывается благоприятным модулятор рецептора GLP-1/GIP, у

нуждающегося в этом субъекта, где предусмотрено введение субъекту пептидного конъюгата, описанного в настоящем документе.

[0309] Согласно настоящему изобретению предложен способ предотвращения или лечения заболевания или состояния, при котором оказывается благоприятным модулятор рецептора GLP-1/GCG, у нуждающегося в этом субъекта, где предусмотрено введение субъекту пептидного конъюгата, описанного в настоящем документе.

[0310] Согласно настоящему изобретению предложен способ предотвращения или лечения заболевания или состояния, при котором оказывается благоприятным модулятор рецептора пролактин-высвобождающего пептида (PrRP), у нуждающегося в этом субъекта, где предусмотрено введение субъекту пептидного конъюгата, описанного в настоящем документе.

### **Комбинации**

[0311] В настоящем документе раскрыты фармацевтические композиции, содержащие пептидный конъюгат, описанный в настоящем документе, и одно или несколько дополнительных терапевтических средств.

[0312] В дополнительных терапевтических средствах могут содержаться в единственном или множественном числе другие диабетические лекарственные средства, ингибиторы DPP4, ингибиторы натрий-зависимого переносчика глюкозы второго типа (SGLT2), гипогликемические лекарственные средства и препараты на основе бигуанидина, стимулирующие секрецию инсулина лекарственные средства и препараты на основе сульфонилкарбамида, лекарственные средства на основе тиазолидинедина (TZD), инсулин и аналоги инсулина, фактор роста фибробластов (FGF21) и аналоги, лептин или аналоги лептина, амилин и аналоги амилина, противовоспалительные лекарственные средства, циклоспорин А или такролимус (FK506), 5-аминосалициловая кислота (5-ASA) или статины, или любые их комбинации. Дополнительное терапевтическое средство может представлять собой аспирин.

[0313] Дополнительные терапевтические средства может содержать терапевтический инкретин или соответствующее производное. Неограничительные примеры инкретинов или соответствующих производных представляют собой GLP-1, глюкагон, оксинтомодулин, эксендин-4, GLP-2, GIP и их комбинации.

[0314] Согласно некоторым вариантам осуществления комбинированное лечение демонстрирует превосходный контроль глюкозы, уменьшение потребления пищи и снижение веса по сравнению с введением индивидуального лекарственного средства. Согласно некоторым вариантам осуществления комбинированное лечение имитирует благоприятные эффекты бариатрической хирургии у страдающих ожирением пациента.

[0315] Согласно некоторым вариантам осуществления модулятор рецептора PYY вводят совместно с модулятором рецептора GLP-1.

[0316] Согласно некоторым вариантам осуществления модулятор рецептора PYY вводят совместно с модулятором рецептора GLP-1/GIP.

[0317] Согласно некоторым вариантам осуществления модулятор рецептора PYY вводят совместно с модулятором рецептора GLP-1/GCG.

[0318] Согласно некоторым вариантам осуществления модулятор рецептора GLP-1/GIP вводят совместно с модулятором рецептора GLP-1.

[0319] Согласно некоторым вариантам осуществления модулятор рецептора GLP-1/GIP вводят совместно с модулятором рецептора GLP-1/GCG.



[0320] Согласно некоторым вариантам осуществления модулятор рецептора GLP-1/GCG вводят совместно с модулятором рецептора GLP-1.

[0321] Согласно некоторым вариантам осуществления комбинация содержит несколько пептидных конъюгатов, которые описаны в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам осуществления дополнительное терапевтическое средство представляет собой конъюгат 187.

### **Композиции**

[0322] В настоящем документе раскрыты фармацевтические композиции, содержащие пептидный конъюгат, описанный в настоящем документе, и фармацевтически приемлемые вспомогательные вещества или разбавители. Фармацевтически приемлемые вспомогательные вещества или разбавители могут представлять собой носители, вспомогательные вещества, разбавители, антиоксиданты, консерванты, красители, ароматизаторы, эмульгаторы, суспендирующие вещества, растворители, наполнители, придающие объем вещества, буферные растворы, средства доставки, повышающие тоничность вещества, вспомогательные растворители, смачивающие вещества, комплексообразователи, буферные вещества, противомикробные средства и поверхностно-активные вещества.

[0323] Примерами подходящих носителей являются нейтральный буферный солевой раствор или солевой раствор, смешанный с сывороточным альбумином. В фармацевтических композициях могут присутствовать антиоксиданты, такие как аскорбиновая кислота; низкомолекулярные полипептиды; белки, такие как сывороточный альбумин, желатин или иммуноглобулины; гидрофильные полимеры, такие как поливинилпирролидон; аминокислоты, такие как глицин, глутамин, аспарагин, аргинин или лизин; моносахариды, дисахариды и другие углеводы, в том числе глюкозу, маннозу или декстрины; хелатообразующие вещества, такие как этилендиаминтетрауксусная кислота (EDTA); сахароспирты, такие как маннит или сорбит; солеобразующие противоионы, такие как ионы натрия; и/или неионогенные поверхностно-активные вещества, такие как Tween, Pluronic или полиэтиленгликоль (PEG). Кроме того, в качестве примера могут присутствовать подходящие повышающие тоничность вещества, такие как галогениды щелочных металлов (предпочтительно хлорид натрия или калия), маннит, сорбит и т. п. Подходящие консерванты представляют собой хлорид бензалкония, тимеросал, фенолиловый спирт, метилпарабен, пропилпарабен, хлоргексидин, сорбиновая кислота и т. д. Пероксид водорода также может быть использован в качестве консерванта. Подходящие вспомогательные растворители представляют собой глицерин, пропиленгликоль и полиэтиленгликоль. Подходящие комплексообразователи представляют собой кофеин, поливинилпирролидон, бета-циклодекстрин или гидроксипропил-бета-циклодекстрин. Подходящие поверхностно-активные вещества или смачивающие вещества агенты представляют собой сложные эфиры сорбитана, полисорбаты, такие как полисорбат 80, триметамин, лецитин, холестерин, тилоксапал и т. п. Буферные вещества могут представлять собой обычные буферные растворы, такие как ацетатный, боратный, цитратный, фосфатный, бикарбонатный или трис-HCl. Ацетатный буферный раствор может иметь значение pH, составляющее около от 4 до 5,5, а трис-буферный раствор может иметь значение pH, составляющее около от 7 до 8,5. Дополнительные фармацевтические вещества представляет работа Remington, «Фармацевтические науки», 18 издание, редактор A. R. Gennaro, издательство Mack Publishing Company, 1990 г.

[0324] Композиция может присутствовать в жидкой форме или в лиофилизированной или лиофилизированной форме и может содержать в единственном или множественном числе лиопротекторы, вспомогательные вещества, поверхностно-активные вещества, высокомолекулярные структурные добавки и/или наполнители. Согласно одному варианту осуществления присутствует лиопротектор, который

представляет собой невосстанавливающий сахар, такой как сахароза, лактоза или трегалоза. Как правило, лиопротектор содержится в таком количестве, что после приготовления раствора полученный состав будет изотоническим, хотя также могут быть пригодны гипертонические или слегка гипотонические составы. Кроме того, количество лиопротектора должно быть достаточным для предотвращения неприемлемой степени деградации и/или агрегации белка при лиофилизации. Типичные концентрации лиопротекторов для сахаров (например, сахарозы, лактозы, трегалозы) в предварительно лиофилизированном составе составляют от около 10 мМ до около 400 мМ. Согласно другому варианту осуществления присутствуют поверхностно-активные вещества, такие как, например, неионогенные поверхностно-активные вещества и ионогенные поверхностно-активные вещества, такие как полисорбаты (например, полисорбат 20, полисорбат 80); полоксамеры (например, полоксамер 188); простые фениловые эфиры полиэтиленгликоля (например, Triton); додецилсульфат натрия (SDS); лаурилсульфат натрия; октилгликозид натрия; лаурил-, миристил-, линолеил- или стеарилсульфобетайн; лаурил-, миристил-, линолеил- или стеарил-саркозин; линолеил-, миристил- или цетилбетайн; лауроамидопропил-, кокамидопропил-, линолеамидопропил-, миристамидопропил-, пальмидопропил- или изостеарамидопропилбетайн (например, лауроамидопропил); миристамидопропил-, пальмидопропил- или изостеарамидопропил-диметиламин; метилкокоилтаурат натрия или метилофилтаурат динатрия; и материалы серии MONAQUAT™ от компании Mona Industries, Inc. (Патерсон, штат Нью-Джерси, США), полиэтиленгликоль, полипропилгликоль и сополимеры этилена и пропиленгликоля (например, Pluronic, PF68 и т.д.). Примерные количества поверхностно-активного вещества, которые могут присутствовать в предварительно лиофилизированной композиции, составляют около от 0,001 до 0,5%. Высокомолекулярные структурные добавки (например, наполнители, связующие вещества) могут представлять собой, например, аравийская камедь, альбумин, альгиновая кислота, фосфат кальция (двухосновный), целлюлоза, карбоксиметилцеллюлоза, натриевая соль карбоксиметилцеллюлозы, гидроксипропилцеллюлоза, гидроксипропилцеллюлоза, гидроксипропилметилцеллюлоза, микрокристаллическая целлюлоза, декстран, декстрин, декстраты, сахароза, тилоза, предварительно желатинизированный крахмал, сульфат кальция, амилоза, глицин, бентонит, мальтоза, сорбит, этилцеллюлоза, гидрофосфат динатрия, фосфат динатрия, пиросульфит динатрия, поливиниловый спирт, желатин, глюкоза, гуаровая камедь, глюкозный сироп, прессованный сахар, алюмосиликат магния, мальтодекстрин, полиэтиленоксид, полиметакрилаты, повидон, альгинат натрия, трагакантовая камедь, микрокристаллическая целлюлоза, крахмал и зеин. Примерные концентрации высокомолекулярных структурных добавок составляют от 0,1% до 10% по массе. Согласно следующим вариантам осуществления может быть присутствовать придающее объем вещество (например, маннит, глицин).

[0325] Композиции могут быть подходящими для парентерального введения. Примерные композиции являются подходящими для инъекции или инфузии животному любым способом, доступным специалисту в данной области техники, таким как внутрисуставный, подкожный, внутривенный, внутримышечный, внутрибрюшинный, внутримозговой (внутрипаренхиматозный), внутрижелудочковый, внутримышечный, внутриглазной, внутриартериальный или внутриочаговый. Парентеральная композиция, как правило, может представлять собой стерильный апирогенный изотонический водный раствор, необязательно содержащий фармацевтически приемлемые консерванты.

[0326] Примерные неводных растворители представляют собой пропиленгликоль, полиэтиленгликоль, растительные масла, такие как оливковое масло, а также предназначенные для инъекций органические сложные эфиры, такие как этилолеат. Водные разбавители представляют собой вода, спиртовые/водные растворы, эмульсии или суспензии, загружаемый физиологический раствор и

буферные среды. Парентеральные разбавители представляют собой раствор натрия хлорида, декстрозный раствор Рингера, декстроза и хлорид натрия, лактатный раствор Рингера или нелетучие масла. Внутривенные разбавители представляют собой восполнители жидкости и питательных веществ, восполнители электролитов, такие как разбавители, основу которых составляет декстрозный раствор Рингера, и подобные материалы. Кроме того, могут присутствовать консерванты и другие добавки, такие как, например, противомикробные препараты, антиоксиданты, хелатообразующие вещества, инертный газ и д. См., в основном, работу Remington, «Фармацевтические науки», 18 издание, редактор A. R. Gennaro, издательство Mack Publishing Company, 1980 г.

[0327] Фармацевтические композиции, описанные в настоящем документе, могут быть составлены для контролируемой или пролонгированной доставки таким образом, который обеспечивает локальную концентрацию продукта (например, болюсный эффект, эффект замедленного всасывания) и/или повышение устойчивости или увеличение периода полураспада в конкретной локальной среде. Композиции могут содержать в своем составе пептидные конъюгатов, полипептиды, нуклеиновые кислоты или векторы, которые описаны в настоящем документе, с препаратами в виде частиц полимерных соединений, таких как полимолочная кислота, полигликолевая кислота и т.д., а также такие материалы, как биоразлагаемая матрица, микросферы для инъекций, микрокапсульные частицы, микрокапсулы, гранулы биоразлагаемых частиц, липосомы и имплантируемые устройства доставки, которые обеспечивают контролируемое или замедленное высвобождение активного вещества, которое затем может быть доставлено в виде инъекций замедленного всасывания. Способы изготовления таких средств пролонгированной или контролируемой доставки известны, и для контролируемого высвобождения и доставки лекарственных средств были разработаны и использованы различные полимеры. Такие полимеры обычно являются биоразлагаемыми и биосовместимыми. Полимерные гидрогели, в том числе образованные путем комплексообразования энантиомерных полимерных или полипептидных сегментов, и гидрогели с чувствительными к температуре или рН свойствами могут оказаться желательными для обеспечения эффекта замедленного всасывания лекарственных средств из-за мягких и водных условий, используемых для в улавливания биоактивных белковых веществ (например, пептидных конъюгатов).

[0328] Подходящие и/или предпочтительные фармацевтические композиции могут быть определены с учетом настоящего изобретения и общих знаний о технологии изготовления композиций в зависимости от предполагаемого пути введения, формы доставки и желаемой дозировки. Независимо от способа введения эффективная доза может быть вычислена в соответствии с массой тела пациента, площадью поверхности тела или размером органа. Дальнейшее уточнение вычислений для определения подходящей дозы для лечения с применением каждой из композиций, описанных в настоящем документе, обычно выполняется в данной области техники и входит в круг задач, обычно выполняемых в данной области техники. Соответствующие дозы могут быть определены с применением соответствующих данных о зависимости эффекта от дозы.

#### **Определения**

[0329] При использовании в настоящем описании и в прилагаемой формуле изобретения грамматические формы единственного числа означают также и множественное число, если иное условие явно не следует из контекста. Таким образом, например, когда упоминается «вещество», это может означать и множество таких веществ, а когда упоминается «клетка», это может означать одну или несколько клеток (или множество клеток), в том числе соответствующие эквиваленты, известные специалистам в данной области техники, и так далее. Когда диапазоны используются в настоящем описании в отношении

физических свойств, таких как молекулярная масса, или химических свойств, таких как химические формулы, предполагается, что при этом включены все комбинации и субкомбинации диапазонов и конкретных вариантов осуществления. Термин «около» в отношении число или числового диапазон означает, что упомянутое число или числовой диапазон представляет собой приближение в пределах экспериментальной изменчивости (или в пределах статистической экспериментальной ошибки), и, таким образом, число или числовой диапазон в некоторых случаях будет варьироваться от 1% до 15% от указанного числа или числового диапазона. Термин «содержащий» (и родственные термины, такие как «содержать» или «содержит» или «имеющий» или «включающий») не предназначен для исключения того, что в других определенных вариантах осуществления, например, в вариантах осуществления любой композиции веществ, композиция, способ или процесс и другие объекты, описанные в настоящем документе, «состоят из» или «в основном состоят из» описанных признаков.

[0330] При использовании в настоящем описании и в прилагаемой формуле изобретения, если не указано иное условие, перечисленные ниже термины имеют следующие значения.

[0331] «Алкил» означает углеводородный монорадикал с неразветвленной или разветвленной цепью, который может быть полностью насыщенным или ненасыщенным и содержащим от одного до около десяти атомов углерода или от одного до шести атомов углерода, причем  $sp^3$ -гибридизованный атом углерода алкильного остатка присоединен к остальной части молекулы одинарной связью. Примеры насыщенного углеводородного монорадикала представляют собой, но без ограничения, метил, этил, н-пропил, изопропил, 2-метил-1-пропил, 2-метил-2-пропил, 2-метил-1-бутил, 3-метил-1-бутил, 2-метил-3-бутил, 2,2-диметил-1-пропил, 2-метил-1-пентил, 3-метил-1-пентил, 4-метил-1-пентил, 2-метил-2-пентил, 3-метил-2-пентил, 4-метил-2-пентил, 2,2-диметил-1-бутил, 3,3-диметил-1-бутил, 2-этил-1-бутил, н-бутил, изобутил, втор-бутил, трет-бутил, н-пентил, изопентил, неопентил, трет-амил и гексил, а также более длинные алкильные группы, такие как гептил, октил и т. п. Каждый раз при упоминании в настоящем документе числовой диапазон, такой как « $C_1$ - $C_6$ -алкил», означает, что алкильная группа состоит из 1 атома углерода, 2 атомов углерода, 3 атомов углерода, 4 атомов углерода, 5 атомов углерода или 6 атомов углерода, хотя настоящее определение также распространяется на применение термина «алкил», для которого не указан числовой диапазон. Согласно некоторым вариантам осуществления алкил представляет собой  $C_1$ - $C_{10}$ -алкил,  $C_1$ - $C_9$ -алкил,  $C_1$ - $C_8$ -алкил,  $C_1$ - $C_7$ -алкил,  $C_1$ - $C_6$ -алкил,  $C_1$ - $C_5$ -алкил,  $C_1$ - $C_4$ -алкил,  $C_1$ - $C_3$ -алкил,  $C_1$ - $C_2$ -алкил или  $C_1$ -алкил. Когда термин «алкил» означает ненасыщенный углеводородный монорадикал с неразветвленной или разветвленной цепью, он известен как «алкенил» или «алкинил». Алкенил может находиться либо в цис-, либо в транс-конфигурации относительно двойной связи (связей), и следует понимать, что он может представлять собой любой из двух изомеров. Примеры алкенилов представляют собой, но без ограничения, этенил ( $CH=CH_2$ ), 1-пропенил ( $CH_2CH=CH_2$ ), изопропенил [ $C(CH_3)=CH_2$ ], бутенил, 1,3-бутадиенил и т. п. Каждый раз при упоминании в настоящем документе , числовой диапазон, такой как « $C_2$ - $C_6$ -алкенил», означает, что алкенильная группа может состоять из 2 атомов углерода, 3 атомов углерода, 4 атомов углерода, 5 атомов углерода или 6 атомов углерода, хотя настоящее определение также распространяется на применение термина «алкенил», для которого не указан числовой диапазон. Согласно некоторым вариантам осуществления алкенил представляет собой  $C_2$ - $C_{10}$ -алкенил,  $C_2$ - $C_9$ -алкенил,  $C_2$ - $C_8$ -алкенил,  $C_2$ - $C_7$ -алкенил,  $C_2$ - $C_6$ -алкенил,  $C_2$ - $C_5$ -алкенил,  $C_2$ - $C_4$ -алкенил,  $C_2$ - $C_3$ -алкенил- или  $C_2$ -алкенил. Примеры алкинила представляют собой, но не ограничиваются этим, этинил, 2-пропенил, 2-бутинил и т. п. Каждый раз при упоминании в настоящем документе числовой диапазон, такой как « $C_2$ - $C_6$ -алкинил», означает, что алкинильная группа может состоять из 2 атомов углерода, 3 атомов

углерода, 4 атомов углерода, 5 атомов углерода или 6 атомов углерода, хотя настоящее определение также распространяется на применение термина «алкинил», для которого не указан числовой диапазон. Согласно некоторым вариантам осуществления алкинил представляет собой C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>-алкинил, C<sub>2</sub>-C<sub>9</sub>-алкинил, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>-алкинил, C<sub>2</sub>-C<sub>7</sub>-алкинил, C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>-алкинил, C<sub>2</sub>-C<sub>5</sub>-алкинил, C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub>-алкинил, C<sub>2</sub>-C<sub>3</sub>-алкинил или C<sub>2</sub>-алкинил. Если в настоящем описании конкретно не указано иное условие, алкильная группа необязательно является замещенной и в ней присутствует, как описано ниже, например, оксо, галоген, amino, нитрил, нитро, гидроксил, галогеналкил, алкокси, арил, циклоалкил, гетероциклоалкил, гетероарил и т. п. Согласно некоторым вариантам осуществления алкил необязательно является замещенным, и в нем присутствует оксо, галоген, -CN, -CF<sub>3</sub>, -OH, -OMe, -NH<sub>2</sub> или -NO<sub>2</sub>. Согласно некоторым вариантам осуществления алкил необязательно является замещенным, и в нем присутствует оксо, галоген, -CN, -CF<sub>3</sub>, -OH или -OMe. Согласно некоторым вариантам осуществления алкил необязательно является замещенным, и в нем присутствует галоген.

[0332] «Алкилен» означает двухвалентный углеводородный радикал с неразветвленной или разветвленной цепью. Каждый раз при упоминании в настоящем документе числовой диапазон, такой как «C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкилен», означает, что алкилен состоит из 1 атома углерода, 2 атомов углерода, 3 атомов углерода, 4 атомов углерода, 5 атомов углерода или 6 атомов углерода, хотя настоящее определение также распространяется на применение термина «алкилен», для которого не указан числовой диапазон. Согласно некоторым вариантам осуществления алкилен представляет собой C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>-алкилен, C<sub>1</sub>-C<sub>9</sub>-алкилен, C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>-алкилен, C<sub>1</sub>-C<sub>7</sub>-алкилен, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкилен, C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>-алкилен, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-алкилен, C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>-алкилен, C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>-алкилен или C<sub>1</sub>-алкилен. Если в настоящем описании конкретно не указано иное условие, алкиленовая группа может быть необязательно замещенной, и в ней присутствует, например, оксо, галоген, amino, нитрил, нитро, гидроксил, галогеналкил, алкокси, арил, циклоалкил, гетероциклоалкил, гетероарил и т. п. Согласно некоторым вариантам осуществления алкилен необязательно является замещенным, и в нем присутствует оксо, галоген, -CN, -CF<sub>3</sub>, -OH, -OMe, -NH<sub>2</sub> или -NO<sub>2</sub>. Согласно некоторым вариантам осуществления алкилен необязательно является замещенным, и в нем присутствует оксо, галоген, -CN, -CF<sub>3</sub>, -OH или -OMe. Согласно некоторым вариантам осуществления алкилен необязательно является замещенным, и в нем присутствует галоген.

[0333] «Алкокси» означает радикал формулы OR<sup>a</sup>, где R<sup>a</sup> представляет собой алкильный радикал, как определено выше. Если в настоящем описании конкретно не указано иное условие, алкоксигруппа может быть необязательно замещенной, и в ней присутствует, например, оксо, галоген, amino, нитрил, нитро, гидроксил, галогеналкил, алкокси, арил, циклоалкил, гетероциклоалкил, гетероарилом и т. п. Согласно некоторым вариантам осуществления алкокси необязательно является замещенным, и в нем присутствует оксо, галоген, -CN, -CF<sub>3</sub>, -OH, -OMe, -NH<sub>2</sub> или -NO<sub>2</sub>. Согласно некоторым вариантам осуществления алкокси необязательно является замещенным, и в нем присутствует оксо, галоген, -CN, -CF<sub>3</sub>, -OH или -OMe. Согласно некоторым вариантам осуществления алкокси необязательно является замещенным, и в нем присутствует галоген.

[0334] «Арил» означает радикал, полученный из системы углеводородных колец, содержащей атомы водорода, от 6 до 30 атомов углерода и по меньшей мере одно ароматическое кольцо. Арильный радикал может представлять собой моноциклическую, бициклическую, трициклическую или тетрациклическую кольцевую систему, в которой могут присутствовать конденсированные (при конденсации с циклоалкильным или гетероциклоалкильным кольцом арил связан через ароматический кольцевой атом) или мостиковые кольцевые системы. Согласно некоторым вариантам осуществления арил

представляет собой арил, содержащий 6-10-членное кольцо. Согласно некоторым вариантам осуществления арил представляет собой 6-членный арил. Арильные радикалы представляют собой, но без ограничения, арильные радикалы, полученные из углеводородных кольцевых систем, таких как антрилен, нафтилен, фенантрилен, антрацен, азулен, бензол, хризен, флуорантен, флуорен, асимметричный индацен, симметричный индацен, индан, инден, нафталин, фенолен, фенантрен, плеяден, пирен и трифенилен. Согласно некоторым вариантам осуществления арил представляет собой фенил. Если в настоящем описании конкретно не указано иное условие, арил может быть необязательно замещенным, и в нем присутствует, например, галоген, amino, нитрил, нитро, гидроксил, алкил, алкенил, алкинил, галогеналкил, алкокси, арил, циклоалкил, гетероциклоалкил, гетероарилом и т. п. Согласно некоторым вариантам осуществления арил необязательно является замещенным, и в нем присутствует метил, этил, -CN, -CF<sub>3</sub>, -OH, -OMe, -NH<sub>2</sub> или -NO<sub>2</sub>. Согласно некоторым вариантам осуществления арил необязательно является замещенным, и в нем присутствует галоген, метил, этил, -CN, -CF<sub>3</sub>, -OH или -OMe. Согласно некоторым вариантам осуществления арил необязательно является замещенным, и в нем присутствует галоген.

[0335] «Циклоалкил» означает устойчивые, частично или полностью насыщенные, моноциклические или полициклические карбоциклические кольцевые системы, которые могут представлять собой конденсированные (при конденсации с арильным или гетероарильным кольцом циклоалкил связан через неароматический атом кольца) или мостиковые кольцевые системы. Типичные циклоалкилы представляют собой, но не ограничиваются ими, циклоалкилы, содержащие от трех до пятнадцати атомов углерода (C<sub>3</sub>-C<sub>15</sub>-циклоалкил), от трех до десяти атомов углерода (C<sub>3</sub>-C<sub>10</sub>-циклоалкил), от трех до восьми атомов углерода (C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>-циклоалкил), от трех до шести атомов углерода (C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>-циклоалкил), от трех до пяти атомов углерода (C<sub>3</sub>-C<sub>5</sub>-циклоалкил) или от трех до четырех атомов углерода (C<sub>3</sub>-C<sub>4</sub>-циклоалкил). В некоторых вариантах осуществления циклоалкил представляет собой 3-6-членный циклоалкил. В некоторых вариантах осуществления циклоалкил представляет собой 5-6-членный циклоалкил. Моноциклические циклоалкилы представляют собой, например, циклопропил, циклобутил, циклопентил, циклогексил, циклогептил и циклооктил. Полициклические циклоалкилы или карбоциклы представляют собой, например, адамантил, норборнил, декалинил, бицикло[3.3.0]октан, бицикло[4.3.0]нонан, цис-декалин, транс-декалин, бицикло[2.1.1]гексан, бицикло[2.2.1]гептан, бицикло[2.2.2]октан, бицикло[3.2.2]нонан и бицикло[3.3.2]декан и 7,7-диметилбицикло[2.2.1]гептан. Частично насыщенные циклоалкилы представляют собой, например, циклопентенил, циклогексенил, циклогептенил и циклооктенил. Если в настоящем описании конкретно не указано иное условие, циклоалкил необязательно является замещенным, и в нем присутствует, например, оксо, галоген, amino, нитрил, нитро, гидроксил, алкилом, алкенил, алкинил, галогеналкил, алкокси, арил, циклоалкил, гетероциклоалкил, гетероарилом и т. п. Согласно некоторым вариантам осуществления циклоалкил необязательно является замещенным, и в нем присутствует оксо, галоген, метил, этил, -CN, -CF<sub>3</sub>, -OH, -OMe, -NH<sub>2</sub> или -NO<sub>2</sub>. Согласно некоторым вариантам осуществления циклоалкил необязательно является замещенным, и в нем присутствует оксо, галоген, метил, этил, -CN, -CF<sub>3</sub>, -OH или -OMe. Согласно некоторым вариантам осуществления циклоалкил необязательно является замещенным, и в нем присутствует галоген.

[0336] «Гало» или «галоген» означает бром, хлор, фтор или йод. Согласно некоторым вариантам осуществления галоген представляет собой фтор или хлор. Согласно некоторым вариантам осуществления галоген представляет собой фтор.

[0337] «Галогеналкил» означает алкильный радикал, который определен выше, который является замещенным и содержит один или несколько галогенных радикалов, которые определены выше, например,

трифторметил, дифторметил, фторметил, трихлорметил, 2,2,2-трифторэтил, 1,2-дифторэтил, 3-бром-2-фторпропил, 1,2-дибромэтил, и т. п.

[0338] «Гетероциклоалкил» означает устойчивый 3-24-членный частично или полностью насыщенный кольцевой радикал, содержащий от 2 до 23 атомов углерода и от одного до 8 гетероатомов, выбранных из азота, кислорода, фосфора и серы. Примерные гетероциклоалкилы представляют собой, но без ограничения, гетероциклоалкилы, содержащие от двух до пятнадцати атомов углерода ( $C_2$ - $C_{15}$ -гетероциклоалкил), от двух до десяти атомов углерода ( $C_2$ - $C_{10}$ -гетероциклоалкил), от двух до восьми атомов углерода ( $C_2$ - $C_8$ -гетероциклоалкил), от двух до шести атомов углерода ( $C_2$ - $C_6$ -гетероциклоалкил), от двух до пяти атомов углерода ( $C_2$ - $C_5$ -гетероциклоалкил) или от двух до четырех атомов углерода ( $C_2$ - $C_4$ -гетероциклоалкил). Согласно некоторым вариантам осуществления гетероциклоалкил представляет собой 3-6-членный гетероциклоалкил. Согласно некоторым вариантам осуществления гетероциклоалкил представляет собой 5-6-членный гетероциклоалкил. Если в настоящем описании конкретно не указано иное условие, гетероциклоалкильный радикал может представлять собой моноциклические, бициклические, трициклические или тетрациклические кольцевые системы, которые могут представлять собой конденсированные (при конденсации с арильным или гетероарильным кольцом гетероциклоалкил связан через неароматический кольцевой атом) или мостовые кольцевые системы; и атомы азота, углерода или серы в радикале гетероциклоалкила могут быть необязательно окислены; атом азота может быть необязательно кватернизованным. Примеры таких гетероциклоалкильных радикалов представляют собой, но без ограничения, азиридины, азетидины, диоксоланы, тиеныл[1,3]дитианы, декагидроизохинолины, имидазолины, имидазолидины, изотиазолидины, изоксазолидины, морфолины, октагидроиндолины, октагидроизоиндолины, 2-оксопиперазины, 2-оксопиперидины, оксопирролидины, оксазолидины, пиперидины, пиперазины, 4-пиперидоны, пирролидины, пиразолидины, хинуклидины, тиазолидины, тетрагидрофурылы, триганылы, тетрагидропиранылы, тиоморфолины, тиаморфолины, 1-оксотиаморфолины, 1,1-диоксотиаморфолины, 1,3-дигидрофуранылы, 1,3-дигидрофуранылы-оксо-1,3-дигидроизобензофуран-1-ил, метил-2-оксо-1,3-диоксол-4-ил и 2-оксо-1,3-диоксол-4-ил. Термин «гетероциклоалкил» также распространяется на все кольцевые формы углеводов, в том числе моносахариды, дисахариды и олигосахариды, но не ограничиваясь ими. Если не указано иное условие, гетероциклоалкилы содержат от 2 до 10 атомов углерода в кольце. Следует понимать, что когда речь идет о числе атомов углерода в гетероциклоалкиле, число атомов углерода в гетероциклоалкиле не совпадает с общим числом атомов (включая гетероатомы), которые составляют гетероциклоалкил (т.е. атомы скелета гетероциклоалкильного кольца). Частично насыщенные гетероциклоалкилы представляют собой, например, дигидропирролылы или тетрагидропиридины. Если в настоящем описании конкретно не указано иное условие, гетероциклоалкил необязательно является замещенным и содержит, например, оксо, галоген, амино, нитрил, нитро, гидроксил, алкил, алкенил, алкинил, галогеналкил, алкокси, арил, циклоалкил, гетероциклоалкил, гетероарил и т. п. Согласно некоторым вариантам осуществления гетероциклоалкил необязательно является замещенным, и в нем присутствует оксо, галоген, метил, этил, -CN, -CF<sub>3</sub>, -OH, -OMe, -NH<sub>2</sub> или -NO<sub>2</sub>. Согласно некоторым вариантам осуществления гетероциклоалкил необязательно является замещенным, и в нем присутствует оксо, галоген, метил, этил, -CN, -CF<sub>3</sub>, OH или -OMe. Согласно некоторым вариантам осуществления гетероциклоалкил необязательно является замещенным, и в нем присутствует галоген.

[0339] «Гетероалкил» означает алкильный радикал, в котором один или более скелетных атомов алкила выбраны из атомов, не представляющих собой углерод, например, атомов кислорода, азота (например, -NH-, -N(алкил)-), серы или их комбинации. Гетероалкил присоединен к остальной части

молекулы через атом углерода гетероалкила. Согласно одному аспекту гетероалкил представляет собой C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-гетероалкил, где гетероалкил состоит из 1-6 атомов углерода и одного или нескольких атомов, не представляющих собой углерод, например, атомов кислорода, азота (например, -NH-, -N(алкил)-), серы или их комбинации, где гетероалкил присоединен к остальной части молекулы по атому углерода гетероалкила. Если в настоящем описании специально не указано иное условие, гетероалкил необязательно является замещенным, и в нем присутствует, например, оксо, галоген, амино, нитрил, нитро, гидроксил, алкил, алкенил, алкинил, галогеналкил, алкокси, арил, циклоалкил, гетероциклоалкил, гетероарил и т. п. Согласно некоторым вариантам осуществления гетероалкил необязательно является замещенным, и в нем присутствует оксо, галоген, метил, этил, -CN, -CF<sub>3</sub>, -OH, -OMe, -NH<sub>2</sub> или -NO<sub>2</sub>. Согласно некоторым вариантам осуществления гетероалкил необязательно является замещенным, и в нем присутствует оксо, галоген, метил, этил, -CN, -CF<sub>3</sub>, -OH или -OMe. Согласно некоторым вариантам осуществления гетероалкил необязательно является замещенным, и в нем присутствует галоген.

[0340] «Гетероарил» означает 5-14-членный радикал с кольцевой системой, содержащей атомы водорода, от одного до тринадцати атомов углерода, от одного до шести гетероатомов, выбранных из азота, кислорода, фосфора и серы, и по меньшей мере одно ароматическое кольцо. Гетероарильный радикал может представлять собой моноциклические, бициклические, трициклические или тетрациклические кольцевые системы, которые могут представлять собой конденсированные (при конденсации с циклоалкильным или гетероциклоалкильным кольцом гетероарил связан через ароматический кольцевой атом) или мостиковые кольцевые системы; и атомы азота, углерода или серы в гетероарильном радикале могут быть необязательно окислены; атом азота может быть необязательно кватернизованным. Согласно некоторым вариантам осуществления гетероарил представляет собой 5-10-членный гетероарил. Согласно некоторым вариантам осуществления гетероарил представляет собой 5-6-членный гетероарил. Согласно некоторым вариантам осуществления гетероарил представляет собой 5-членный гетероарил. Согласно некоторым вариантам осуществления гетероарил представляет собой 6-членный гетероарил. Примеры представляют собой, но без ограничения, азепинил, акридинил, бензимидазолил, бензотиазолил, бензиндолил, бензодиоксолил, бензофуранил, бензооксазолил, бензотиазолил, бензотиадиазолил, бензо[b][1,4]диоксепинил, 1,4-бензодиоксанил, бензоаптофуранил, бензодиоксазолил, бензодиоксинил, бензопиранил, бензопиранонил, бензофуранил, бензофуранил, бензотиенил (бензотиофенил), бензотриазолил, бензо[4,6]имидазо[1,2a]пиридинил, карбазолил, циннолинил, дибензофуранил, дибензотиофенил, фуранил, фуранонил, изотиазолил, имидазолил, индазолил, индолил, индазолил, изоиндолил, индолинил, изоиндолинил, изохинолил, индолизинил, изоксазолил, нафтиридинил, оксадиазолил, 2-оксазепинил, оксазолил, оксиранил, 1-оксидопиридинил, 1-оксидопиримидинил, 1-оксидопиразинил, 1-оксидопиридазинил, фенотиазинил, феноксазинил, фталазинил, птеридинил, пуринил, пирролил, пиразолил, пиридинил, пиразинил, пиримидинил, пиридазинил, хиначолинил, хиноксалинил, хинолинил, хинуклидинил, изохинолинил, тетрагидрохинолинил, тиазолил, тиадиазолил, триазолил, тетразолил, триазинил и тиофенил (т.е. тиенил). Если в настоящем описании конкретно не указано иное условие, гетероарил необязательно является замещенным, и в нем присутствует например, галоген, амино, нитрил, нитро, гидроксил, алкил, алкенил, алкинил, галогеналкил, алкокси, арил, циклоалкил, гетероциклоалкил, гетероарил и т. п. Согласно некоторым вариантам осуществления гетероарил необязательно является замещенным, и в нем присутствует галоген, метил, этил, -CN, -CF<sub>3</sub>, -OH, -OMe, -NH<sub>2</sub> или -NO<sub>2</sub>. Согласно некоторым вариантам осуществления гетероарил необязательно является замещенным, и в нем присутствует



галоген, метил, этил, -CN, -CF<sub>3</sub>, -ОН или -ОМе. Согласно некоторым вариантам осуществления гетероарил необязательно является замещенным, и в нем присутствует галоген.

[0341] Термин «процент идентичности» относится к сравнению двух последовательностей нуклеиновых кислот или аминокислот. Такие сравнения измеряют с применением любого количества методов сопоставления, известных в данной области техники, включая, помимо прочего, глобальное сопоставление (например, алгоритм Нидлмана-Вунша) или локальное сопоставление (например, алгоритм Смита-Уотермана, Селлеса или другой алгоритм). Процент идентичности часто означает процент совпадающих позиций двух последовательностей для непрерывного участка позиций, где две последовательности выровнены таким образом, чтобы максимизировать совпадающие позиции и минимизировать промежутки несовпадающих позиций. В некоторых случаях сопоставление проводят при отсутствии промежутков между двумя последовательностями. В некоторых случаях сопоставление приводит к промежуткам, составляющим менее 5%, менее 3% или менее 1%. Дополнительные способы сравнения или сопоставления последовательностей также согласуются с настоящим изобретением.

[0342] Процентная (%) идентичность последовательности по отношению к последовательности эталонного полипептида представляет собой процентное содержание аминокислотных остатков в последовательности-кандидате, которые идентичны аминокислотным остаткам в последовательности эталонного полипептида, после сопоставления последовательностей и введения разрывов, если это необходимо для достижения максимального процента идентичности последовательности и без учета каких-либо консервативных замен как части идентичности последовательности. Сопоставление для целей определения процентной идентичности аминокислотной последовательности может быть достигнуто различными известными способами, например, с применением общедоступного компьютерного программного обеспечения, такого как программное обеспечение BLAST, BLAST-2, ALIGN или Megalign (DNASTAR). Можно определить соответствующие параметры для сопоставления последовательностей, включая алгоритмы, необходимые для достижения максимального сопоставления по всей длине сравниваемых последовательностей. Однако для целей настоящего изобретения значения процент идентичности аминокислотной последовательности получают с применением компьютерной программы сравнения последовательностей ALIGN-2. Автором компьютерной программы сравнения последовательностей ALIGN-2 является компания Genentech, Inc., а код источника был зарегистрирован вместе с пользовательской документацией в Бюро регистрации авторских прав США, Вашингтон, округ Колумбия, 20559, где он зарегистрирован под регистрационным номером авторского права США № TXU510087. Программа ALIGN-2 является общедоступной от компания Genentech, Inc., (Южный Сан-Франциско, штат Калифорния, США) или может быть скомпилирована из кода источника. Программа ALIGN-2 должна быть скомпилирована для применения в операционной системе UNIX, включая цифровую версию UNIX V4.0D. Все параметры сравнения последовательностей заданы программой ALIGN-2 и не изменяются. В тех ситуациях, когда программа ALIGN-2 используется для сравнения аминокислотных последовательностей, процент идентичности аминокислотной последовательности для данной аминокислотной последовательности А при сравнении или при сопоставлении с данной аминокислотной последовательностью В (что, в качестве альтернативы, может быть выражено тем, что данная аминокислотная последовательность А, которая имеет или содержит определенный процент идентичности аминокислотной последовательности при сравнении или при сопоставлении с данной аминокислотной последовательностью В), вычисляется следующим образом: 100-кратное отношение X/Y, где X представляет собой количество аминокислотных остатков, оцененное в качестве идентичных совпадений с

помощью программы сопоставления последовательностей ALIGN-2 при сопоставлении этой программой А и В, и где Y представляет собой общее количество аминокислотных остатков в В. Следует понимать, что если длина аминокислотной последовательности А не равна длине аминокислотной последовательности В, процент идентичности аминокислотной последовательности А к В не будет равен проценту идентичности аминокислотной последовательности В к А. Если специально не указано иное условие, все значения процента идентичности аминокислотной последовательности, используемые в настоящем документе, получены, как описано в предыдущем абзаце, с применением компьютерной программы ALIGN-2.

[0343] «Фармацевтически приемлемый» означает получивший одобрение или разрешение регулирующего органа федерального правительства или правительства штата или включенный в Фармакопею США или другую общепризнанную фармакопею в целях применения для животных, включая человека.

[0344] «Фармацевтически приемлемая соль» означает соль соединения, которая является фармацевтически приемлемой, и которая обладает желательной фармакологической активностью исходного соединения.

[0345] «Фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество, разбавитель или носитель» означает вспомогательные вещества, разбавители или носители, которые можно вводить субъекту вместе по меньшей мере с одним антигеном согласно настоящему изобретению, и которые не нарушают его фармакологическую активность и являются нетоксичными при введении в дозах, достаточных для доставки терапевтического количества соединения.

[0346] «Фармацевтически приемлемый разбавитель» означает вспомогательные вещества, разбавители или носители, с которыми может быть введено по меньшей мере одно антигеном согласно настоящему изобретению.

[0347] Такие термины, как «лечение» или «излечение», или «лечить», или «облегчение», или «облегчать», могут означать: 1) терапевтические меры, которые излечивают, замедляют, уменьшают симптомы и/или останавливают прогрессирование диагностированного патологического состояния или нарушения; и/или 2) профилактические или предупредительные меры, которые предотвращают и/или замедляют развитие целевого патологического состояния или нарушения. «Лечение» означает клиническое вмешательство в попытке изменить естественное течение особи или клетки, подвергаемой лечению, и может проводиться либо для профилактики, либо во время течения клинической патологии. Желательные эффекты лечения представляют собой предотвращение возникновения или рецидива заболевания, облегчение симптомов и уменьшение любых прямых или косвенных патологических последствий заболевания, предотвращение метастазирования, снижение скорости прогрессирования заболевания, улучшение или временное облегчение болезненного состояния, ремиссию или улучшенный прогноз. Таким образом, в число субъектов, нуждающихся в лечении, могут входить субъекты, уже страдающие данным нарушением; субъекты, которые имеют предрасположенность к нарушению; и субъекты, у которых нарушение должно быть предотвращено.

[0348] «Аминокислота» означает встречающиеся в природе и синтетические аминокислоты, а также аналоги аминокислот и миметики аминокислот, которые функционируют аналогично встречающимся в природе аминокислотам. Встречающиеся в природе аминокислоты представляют собой аминокислоты, которые кодируются генетическим кодом, а также аминокислоты, которые впоследствии модифицируются, например, гидроксипролин, гамма-карбоксиглутамат и О-фосфосерин. Аналоги аминокислот представляют собой соединения, которые имеют ту же основную химическую структуру, что и встречающиеся в природе

аминокислоты, например, атом углерода в альфа-положении, с которым связаны атом с водорода, карбоксильная группа, аминогруппа и группой R, например, гомосерин, норлейцин, метионинсульфоксид, метионинметилсульфоний. Такие аналоги могут содержать модифицированные группы R (например, норлейцин) или модифицированные пептидные остовы, но сохранять ту же основную химическую структуру, что и встречающиеся в природе аминокислоты. Аминокислотные миметики относятся к химическим соединениям, которые имеют структуру, отличную от общей химической структуры аминокислоты, но функционируют аналогично встречающимся в природе аминокислотам.

[0349] «Нарушение» или «заболевание» означает состояние, при котором было бы благоприятным лечение с применением вещества/соединения (например, пептидного конъюгата, описанного в настоящем документе) или способа, описанного в настоящем документе. Этот термин распространяется на хронические и острые расстройства или заболевания, в том числе те патологические состояния, в которых млекопитающее имеет предрасположенность к рассматриваемому нарушению.

[0350] «Млекопитающее» для целей лечения означает любое животное, классифицируемое как млекопитающее, к которым относятся человек, грызуны (например, мыши и крысы) и обезьяны; домашние и сельскохозяйственные животные; а также зоопарковые, спортивные, лабораторные или домашние животные, такие как собаки, кошки, крупный рогатый скот, лошади, овцы, свиньи, козы, кролики и т. д. Согласно некоторым вариантам осуществления млекопитающее выбрано из человека, грызуна или обезьяны.

[0351] «Модулировать» означает способность пептида связываться с белковым рецептором. Согласно некоторым вариантам осуществления модулятор представляет собой лиганд рецептора. Согласно некоторым вариантам осуществления модулятор является агонистом. В некоторых вариантах осуществления модулятор является антагонистом. Например, пептид, который модулирует рецептор GLP-1, связывается с рецептором GLP-1 (GLP-1R). Например, пептид, который модулирует рецептор GCG, связывается с рецептором GCG (GCGR). Например, пептид, который модулирует рецептор GIP, связывается с рецептором GIP (GIPR). Например, пептид, который модулирует рецептор PYY, связывается с рецептором PYY (PYYR). В качестве неограничительных примеров, пептид, который модулирует рецептор GLP-1, является агонистом GLP-1R. В качестве неограничительных примеров, пептид, который модулирует как рецептор GLP-1, так и рецептор GCG, является двойным агонистом GLP-1R/GCGR. В качестве неограничительных примеров пептид, который модулирует как рецептор GLP-1, так и рецептор GIP, является двойным агонистом GLP-1R/GIPR. В качестве неограничительных примеров пептид, который модулирует рецептор PYY, является агонистом PYYR.

[0352] «Немодифицированный пептид» означает немодифицированную последовательность (пептид дикого типа) или модифицированную последовательность без сшивающего фрагмента.

### **Примеры**

[0353] Пептиды синтезировали стандартными способами твердофазного синтеза пептидов (SPPS) и очищали методами высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) (согласно описанию).

[0354] Если не указано иное условие, все реагенты приобретали у коммерческих поставщиков (Sigma Aldrich, Fisher, Oakwood) и использовали без дополнительной очистки. Все реакции с участием чувствительных к воздуху или влаге реагентов или промежуточных продуктов проводили в инертной атмосфере азота или аргона. Все используемые растворители были класса чистоты для ВЭЖХ. Реакции

контролировали методами жидкостной хроматографии и масс-спектрометрии (ЖХ-МС) или тонкослойной хроматографии (ТСХ) на алюминиевых пластинах Merck размером 50 × 100 мм из силикагеля 60, окрашенных с применением водного раствора  $\text{KMnO}_4$ .

[0355] Очистку методом флэш-хроматографии проводили на предварительно заполненных силикагелем колонках (40 мкм, RediSep® Rf от компании Teledyne Isco) на CombiFlash® Rf (Teledyne Isco). Очищенные конечные соединения элюировали в виде одиночных симметричных пиков (тем самым подтверждая чистоту  $\geq 95\%$ ). Полупрепаративную хроматографию выполняли на ВЭЖХ Shimadzu с колонкой Phenomenex Luna (C18, размер пор 100 Å, размер частиц 10 мкм, 250 × 10,0 мм, поток 4 мл/мин) или на ВЭЖХ Agilent 1200 с колонкой Phenomenex Luna (C18, размер пор 100 Å, размер частиц 5 мкм, 150 × 21,2 мм, поток 20 мл/мин).

[0356] Спектры ЯМР  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$  регистрировали с применением системы Bruker 400 в растворителях  $\text{d}_6\text{-DMSO}$ ,  $\text{CDCl}_3$  или  $\text{CD}_3\text{OD}$ . Химические сдвиги представлены в миллионных долях (м. д.) относительно тетраметилсилана в качестве внутреннего стандарта. Используются следующие сокращения: s = синглет, d = дублет, t = триплет, q = квартет, p = пентет, m = мультиплет, dd = дублет дублетов, br = широкий. Константы спин-спинового взаимодействия (значения J) представлены в герцах (Гц).

Масс-спектры низкого разрешения регистрировали на сверхвысокоэффективном жидкостном хроматографе (СВЭЖХ) Waters Acquity с колонкой Phenomenex Luna Omega C18 (C18, размер пор 100 Å, размер частиц 1,6 мкм, 50 × 2,1 мм, поток 0,4 мл/мин). Растворители: А -  $\text{H}_2\text{O}$  + 0,1% муравьиная кислота, В -  $\text{MeCN}$  + 0,1% муравьиная кислота, градиент: 0-1 минут 10-90% В, 1-1,6 минут 90% В, 1,6-1,7 минут 90-10% В, 1,7-2 минут 10% В.

[0357] Масс-спектры высокого разрешения (МСВР) записывали на времяпролетном масс-спектрометре Agilent серии 1200 Accurate Mass Time-of-Flight (TOF) с колонкой Aeris Widepore (XB-C8, размер частиц 3,6 мкм, 150 × 2,1 мм, поток 0,5 мл/мин). Растворители: А -  $\text{H}_2\text{O}$  + 0,1% муравьиная кислота, В -  $\text{MeCN}$  + 0,1% муравьиная кислота, градиент: 0-2 минут 5% В, 2-12 минут 5-60% В, 12-13 минут 60-80% В, 13-14 минут 80-20% В, 14-15 минут 20-80% В, 15-16 минут 80-20% В, 16-17 минут 20-95% В, 17-20 минут 95% В, 20-21 минут 95-5% В.

#### **Общий протокол А для загрузки хлортритилхлоридной смолы**

[0358] Fmoc-Lys(ivDde)-ОН (60 мг, 100 мкмоль) связывали со 2-хлортритилхлоридной смолой (Novabiochem) (100 мг, 80 мкмоль) путем смешивания аминокислоты, смолы и диизопропилэтиламина (DIEA) (70 мкл, 400 мкмоль) в 5 мл диметилформамида (DMF) и перемешивания в течение 30 минут. Затем смолу промывали диметилформамидом (3 раза), дихлорметаном (DCM) (3 раза) и обрабатывали смесью  $\text{CH}_3\text{OH}/\text{DCM}/\text{DIEA}$  (8:1:1) в течение 10 минут, чтобы закрыть непрореагировавшие центры тритилхлорида, сушили в вакууме и хранили в эксикаторе.

#### **Общий протокол В для снятия защиты защитной группы Fmoc (9-флуоренилметоксикарбонил)**

[0359] К смоле добавляли пиперидин в DMF (20%). Смесь встряхивали в течение 5 минут и сливали. Добавляли свежий 20% пиперидин, и на этот раз смесь встряхивали в течение 15 минут. Наблюдали положительный результат анализа с применением нингидрина и/или 2,4,6-тринитробензолсульфоновой кислоты (TNBS). Затем смолу промывали диметилформамидом (3 раза) и дихлорметаном (3 раза).

#### **Общий протокол С для снятия защиты защитной группы ivDde (([1-(4,4-диметил-2,6-диоксоциклогексиден)3-метилбутил])**

[0360] После промывания с применением DMF и DCM смолу обрабатывали раствором 2% гидразина в DMF (5 мл, 2×15 мин). Наблюдали положительный результат анализа с применением нингидрина и/или TNBS. Затем смолу промывали диметилформамидом (3 раза) и дихлорметаном (3 раза).

#### Общий протокол D для связывания пептидов

[0361] Смолу обрабатывали указанным производным карбоновой кислоты (3 экв.), используя в качестве связывающего реагента гексафторфосфат 1-[бис(диметиламино)метилена]-1H-1,2,3-триазоло[4,5-b]пиридиний-3-оксида (HATU) (3,3 экв.) и DIEA (3,3 экв.) в DMF (5 мл) в течение 2 часов или повторяли до отрицательного результата анализа с применением нингидрина и/или TNBS. Затем смолу промывали диметилформамидом (3 раза) и дихлорметаном (3 раза).

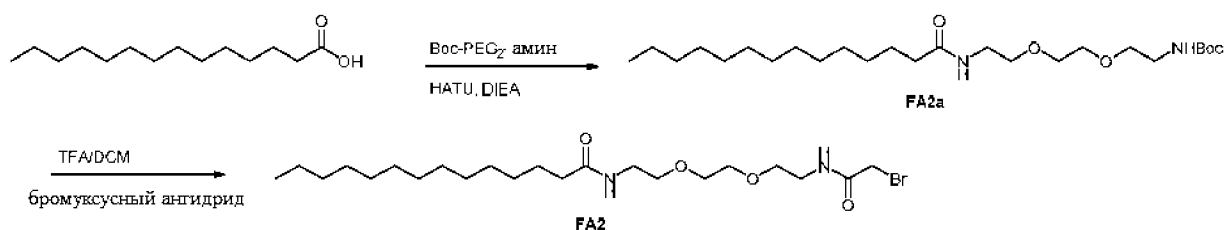
#### Общий протокол E для бромацетилирования на смоле

[0362] Затем смолу обрабатывали бромуксусным ангидридом (2,4 экв.) и DIEA (2,6 экв.) в 200 мл DCM в течение 30 минут.

#### Общий протокол F для удаления пептидов из хлортритилового смолы

[0363] Смолу промывали дихлорметаном (3 раза), продукт удаляли из смолы с применением 5 мл раствора 10% трифторуксусной кислоты (TFA) в DCM, содержащем 10% H<sub>2</sub>O и 10% триизопропилсилана, в течение 1 часа.

#### [0364] Пример 1. Синтез реагента конъюгации жирных кислот (FA2)



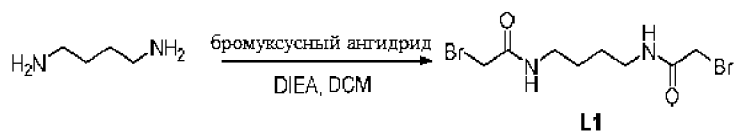
#### [0365] Промежуточное соединение FA2a

Миристиновую кислоту (0,46 г, 2 ммоль) растворяли в 5 мл DMF. Добавляли HATU (0,8 г, 2,1 ммоль) и DIEA (0,4 мл, 2,2 ммоль) с последующим добавлением Hoc-NH-PEG<sub>2</sub>-COOH (0,5 г, 2 ммоль). Затем реакционную смесь перемешивали в течение 6 часов и удаляли растворитель. Продукт экстрагировали EtOAc (3×15 мл). Органический слой последовательно промывали насыщенным раствором NaHCO<sub>3</sub>, охлажденным раствором HCl (1 М) и концентрированным раствором NaCl, сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтровали и концентрировали. В результате очистки методом колоночной флэш-хроматографии на силикагеле получали 0,81 г трет-бутил-(2-(2-(2-тетрадеканамидоэтокси)этокси)этил)карбамата (FA2a) в виде белого твердого вещества с выходом продукта 90%. МС (ИЭР<sup>+</sup>) m/z 459,6 ([M+H]<sup>+</sup>), вычисленная MW 458,4.

#### [0366] FA2

Раствор FA2a (0,23 г, 0,5 ммоль) в DCM (10 мл) обрабатывали TFA (2 мл) в течение 2 часов. Смесь концентрировали с последующим добавлением бромуксусного ангидрида (0,14 г, 0,55 ммоль) и DIEA (0,17 мл, 1 ммоль) в 10 мл DCM при 0°C. Затем реакционную смесь перемешивали в течение 2 часов и удаляли растворитель. Продукт экстрагировали EtOAc (3×15 мл). Органический слой последовательно промывали насыщенным раствором NaHCO<sub>3</sub>, охлажденным раствором HCl (1 М) и концентрированным раствором NaCl, сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтровали и концентрировали. В результате очистки методом колоночной флэш-хроматографии на силикагеле получали 0,2 г FA2 в виде белого твердого вещества с выходом продукта 83%. МС (ИЭР<sup>+</sup>) m/z 480,4 ([M+H]<sup>+</sup>), вычисленная MW 479,5.

#### Пример 2. Синтез L1



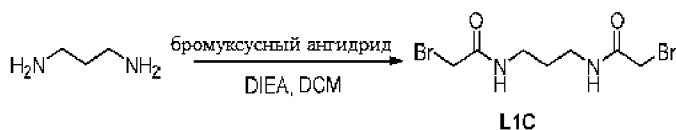
[0367] К раствору 1,4-диаминобутана (80 мкл, 0,795 ммоль, 1 экв.) в DCM (10 мл) при 0°C добавляли DIEA (276 мкл, 1,59 ммоль, 2 экв.), а затем бромуксусный ангидрид (413 г, 1,59 ммоль, 2 экв.), растворенный в 1 мл DCM. Затем реакционную смесь перемешивали в течение 30 минут при 0°C и в течение 90 минут при комнатной температуре и удаляли растворитель. В результате очистки методом колоночной флэш-хроматографии на силикагеле получали L1 в виде белого твердого вещества (162 мг, 0,49 ммоль, 61%). МС (ИЭР<sup>+</sup>)  $m/z$  331,0 ( $[M+H]^+$ ), ЯМР <sup>1</sup>H (400 МГц, метанол-d<sub>4</sub>) δ 3,94 (s, 4H), 3,40-3,30 (m, 4H), 1,68 (p, J = 3,5 Гц, 4H).

### Пример 3. Синтез L1B



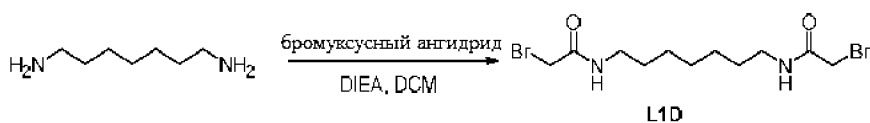
[0368] К раствору 1,2-этилендиамина (30 мкл, 0,448 ммоль, 1 экв.) в DCM (5 мл) при 0°C добавляли DIEA (172 мкл, 0,985 ммоль, 2,2 экв.), а затем бромуксусный ангидрид (233 мг, 0,897 ммоль, 2 экв.), растворенный в 1 мл DCM. Затем реакционную смесь перемешивали в течение 30 минут при 0°C и в течение 90 минут при комнатной температуре и удаляли растворитель. В результате очистки методом колоночной флэш-хроматографии на силикагеле получали L1B в виде белого твердого вещества (43,9 мг, 0,145 ммоль, 32%). МС (ИЭР<sup>+</sup>)  $m/z$  302,55 ( $[M+H]^+$ ), 304,54 ( $[M+H]^+$ ). ЯМР <sup>1</sup>H (400 МГц, метанол-d<sub>4</sub>) δ 2,49 (s, 4H), 2,06 (s, 4H).

### Пример 4. Синтез L1C



[0369] К раствору 1,3-диаминопропана (30 мкл, 0,359 ммоль, 1 экв.) в DCM (5 мл) при 0°C добавляли DIEA (138 мкл, 0,789 ммоль, 2,2 экв.), а затем бромуксусный ангидрид (186 мг, 0,718 ммоль, 2 экв.), растворенный в 1 мл DCM. Затем реакционную смесь перемешивали в течение 30 минут при 0°C и в течение 90 минут при комнатной температуре и удаляли растворитель. В результате очистки методом колоночной флэш-хроматографии на силикагеле получали L1C в виде белого твердого вещества (60,8 мг, 0,19 ммоль, 53%). МС (ИЭР<sup>+</sup>)  $m/z$  316,32 ( $[M+H]^+$ ), 318,6 ( $[M+H]^+$ ). ЯМР <sup>1</sup>H (400 МГц, метанол-d<sub>4</sub>) δ 3,86 (s, 4H), 3,27 (t, J = 6,8 Гц, 4H), 1,74 (p, J = 6,8 Гц, 2H).

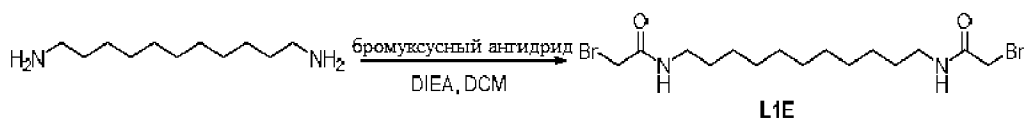
### Пример 5. Синтез L1D



[0370] К раствору 1,7-диаминогексана (65 мг, 0,499 ммоль, 1 экв.) в DCM (15 мл) при 0°C добавляли DIEA (208 мкл, 1,197 ммоль, 2,4 экв.), а затем бромуксусный ангидрид (259 мг, 0,998 ммоль, 2 экв.),

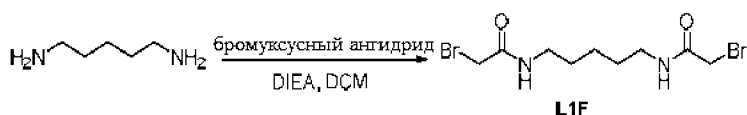
растворенный в 1 мл DCM. Затем реакционную смесь перемешивали в течение 30 минут при 0°C и в течение 90 минут при комнатной температуре и удаляли растворитель. В результате очистки методом колоночной флэш-хроматографии на силикагеле получали L1D в виде белого твердого вещества (120 мг, 0,322 ммоль, 64%). МС (ИЭР<sup>+</sup>) m/z 372,71 ([M+H]<sup>+</sup>), 374,70 ([M+H]<sup>+</sup>). ЯМР <sup>1</sup>H (400 МГц, хлороформ-d) δ 6,55 (s, 2H), 3,91 (s, 4H), 3,30 (q, J = 7,1 Гц, 4H), 1,56 (p, J = 7,1 Гц, 4H), 1,45-1,29 (m, 6H).

#### Пример 6. Синтез L1E



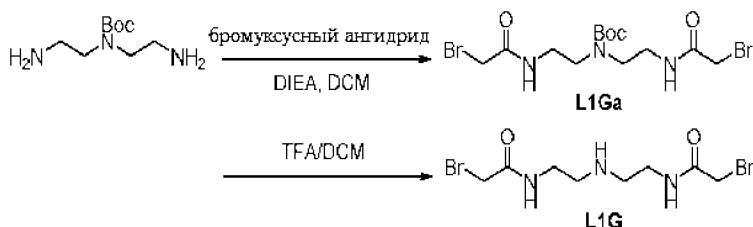
[0371] К раствору 1,11-диаминоундекана (48 мг, 0,257 ммоль, 1 экв.) в DCM (10 мл) при 0°C добавляли DIEA (108 мкл, 0,616 ммоль, 2,4 экв.), а затем бромуксусный ангидрид (134 мг, 0,515 ммоль, 2 экв.), растворенный в 1 мл DCM. Затем реакционную смесь перемешивали в течение 30 минут при 0°C и в течение 90 минут при комнатной температуре и удаляли растворитель. В результате очистки методом колоночной флэш-хроматографии на силикагеле получали L1E в виде белого твердого вещества (62,3 мг, 0,145 ммоль, 56%). МС (ИЭР<sup>+</sup>) m/z 428,33 ([M+H]<sup>+</sup>). ЯМР <sup>1</sup>H (400 МГц, хлороформ-d) δ 6,53 (s, 2H), 3,91 (s, 4H), 3,30 (q, J = 6,8 Гц, 4H), 1,57 (q, J = 7,2 Гц, 4H), 1,42-1,20 (m, 14H).

#### Пример 7. Синтез L1F



[0372] К раствору кадаверина (48 мг, 0,257 ммоль, 1 экв.) в DCM (20 мл) при 0°C добавляли DIEA (284 мкл, 1,63 ммоль, 2,4 экв.), а затем бромуксусный ангидрид (353 мг, 1,36 ммоль, 2 экв.), растворенный в 1 мл DCM. Затем реакционную смесь перемешивали в течение 30 минут при 0°C и в течение 90 минут при комнатной температуре и удаляли растворитель. В результате очистки методом колоночной флэш-хроматографии на силикагеле получали L1F в виде белого твердого вещества (156 мг, 0,453 ммоль, 66%). МС (ИЭР<sup>+</sup>) m/z 344,65 ([M+H]<sup>+</sup>), 346,64 ([M+H]<sup>+</sup>). ЯМР <sup>1</sup>H (400 МГц, метанол-d<sub>4</sub>) δ 3,83 (s, 4H), 3,23 (q, J = 6,8 Гц, 4H), 1,57 (p, J = 7,2 Гц, 4H), 1,44-1,33 (m, 2H).

#### Пример 8. Синтез L1G



#### Промежуточное соединение L1Ga

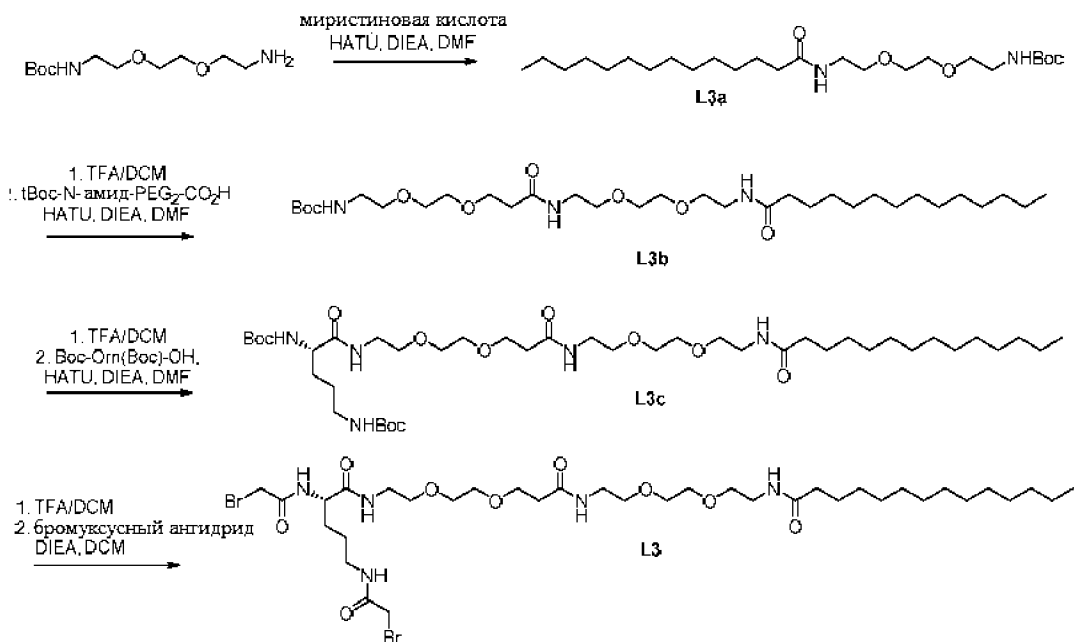
[0373] К раствору трет-бутилбис(2-аминоэтил)карбамата (167 мг, 0,82 ммоль, 1 экв.) в DCM (20 мл) при 0°C добавляли DIEA (342 мкл, 11,96 ммоль, 2,4 экв.) затем бромуксусный ангидрид (426 мг, 1,64 ммоль, 2 экв.), растворенный в 1 мл DCM. Затем реакционную смесь перемешивали в течение 30 минут при 0°C и в течение 90 минут при комнатной температуре и удаляли растворитель. В результате очистки методом колоночной флэш-хроматографии на силикагеле получали L1Ga в виде белого твердого вещества (289 мг,

0,65 ммоль, 79%). МС (ИЭР<sup>+</sup>) m/z 445,71 ([M+H]<sup>+</sup>), 447,7 ([M+H]<sup>+</sup>). ЯМР <sup>1</sup>H (400 МГц, метанол-d<sub>4</sub>) δ 3,85 (s, 4H), 3,39 (s, 9H), 1,50 (s, 10H).

### L1G

[0374] Соединение L1Ga (20 мг) растворяли в смеси TFA/DCM (1:1, об./об., 2 мл), перемешивали в течение 30 минут при комнатной температуре и выпаривали (совместное выпаривание с гексаном) с получением соединения L1G в виде масла. Продукт непосредственно использовали на последующих стадиях. МС (ИЭР<sup>+</sup>) m/z 345,2 ([M+H]<sup>+</sup>).

### **Пример 9. Синтез L3**



### Промежуточное соединение L3a

[0375] Миристиновую кислоту (184 мг, 0,805 ммоль, 1 экв.) растворяли в 4 мл DMF. Добавляли HATU (321 мг, 0,845 ммоль, 1,1 экв.) и DIEA (154 мкл, 0,885 ммоль, 1,1 экв.) с последующим добавлением Boc-NH-PEG<sub>2</sub>-COOH (200 мг, 0,805 ммоль, 1 экв.). Затем реакционную смесь перемешивали в течение 90 минут и удаляли растворитель. Продукт растворяли в EtOAc. Органический слой последовательно промывали раствором 1 М HCl, насыщенным раствором NaHCO<sub>3</sub> и концентрированным раствором NaCl, сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтровали и концентрировали. В результате очистки методом колоночной флэш-хроматографии на силикагеле получали желаемое соединение L3a в виде белого твердого вещества (254 мг, 0,55 ммоль, 69%). ЯМР <sup>1</sup>H (400 МГц, хлороформ-d) δ 3,66-3,54 (m, 8H), 3,49 (q, J = 5,2 Гц, 2H), 3,35 (d, J = 6,1 Гц, 2H), 2,20 (t, J = 7,7 Гц, 2H), 1,63-1,58 (m, 2H), 1,47 (s, 8H), 1,33-1,24 (m, 21H), 0,90 (t, J = 6,9 Гц, 3H). Время удерживания t<sub>R</sub> = 2,21 минут (Agilent). МС (ИЭР<sup>+</sup>) m/z 459,6 ([M+H]<sup>+</sup>).

### Промежуточное соединение L3b

[0376] Раствор соединения L3a (242 мг, 0,527 ммоль, 1 экв.) в DCM (2 мл) обрабатывали TFA (2 мл) в течение 30 минут. Смесь концентрировали путем совместного упаривания с гексаном. К раствору BocNH-PEG<sub>2</sub>-CO<sub>2</sub>H (146 мг, 0,527 ммоль, 1 экв.), растворенного в DMF (5 мл), добавляли HATU (224 мг, 0,59 ммоль, 1,1 экв.). К реакционной смеси добавляли соединение L3a со снятой защитой и DIEA (183 мкл, 1,05 ммоль, 2 экв.) в DMF. Реакционную смесь перемешивали в течение 2 часов при комнатной температуре. Продукт разбавляли EtOAc. Органический слой последовательно промывали раствором 1 М HCl, насыщенным раствором NaHCO<sub>3</sub> и концентрированным раствором NaCl, сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтровали и





Промежуточное соединение L4a

[0379] К раствору Вос-Орт(Вос)-ОН (595 мг, 1,79 ммоль, 1 экв.), растворенного в DMF (5 мл), добавляли НАТУ (750 мг, 1,79 ммоль, 1,1 экв.), DIEA (343 мкл, 1,97 ммоль, 1,1 экв.) и амин-PEG<sub>3</sub>-N<sub>3</sub> (391 мг, 1,79 ммоль, 1 экв.), растворенный в 1 мл DMF. Реакционную смесь перемешивали в течение 16 часов при комнатной температуре. Продукт разбавляли EtOAc. Органический слой последовательно промывали раствором 1 М HCl, насыщенным раствором NaHCO<sub>3</sub> и концентрированным раствором NaCl, сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтровали и концентрировали. В результате очистки методом колоночной флэш-хроматографии на силикагеле получали желаемое соединение L4a в виде масла (558 мг, 1,05 ммоль, 58%). МС (ИЭР<sup>+</sup>) m/z 533,13 ([M+H]<sup>+</sup>). ЯМР <sup>1</sup>H (400 МГц, хлороформ-d) δ 6,82 (s, 1H), 5,25 (d, J = 8,3 Гц, 1H), 4,75 (s, 1H), 4,19 (s, 1H), 3,76-3,60 (m, 10H), 3,57 (t, J = 5,1 Гц, 2H), 3,43 (t, J = 4,6 Гц, 2H), 3,30-3,19 (m, 1H), 3,18-3,03 (m, 1H), 1,85 (s, 4H), 1,68-1,49 (m, 2H), 1,45 (s, 18H).

Промежуточное соединение L4b

[0380] К раствору соединения L4a (548 мг, 1,02 ммоль, 1 экв.) в безводном MeOH (10 мл) в атмосфере аргона добавляли Pd/C (10,9 мг, 0,102 ммоль, 0,1 экв.) и аргон вытесняли водородом. Реакционную смесь перемешивали в течение 6 часов при комнатной температуре, фильтровали на целите и выпаривали с получением соединения L4b в виде масла (516 мг, 1,02 ммоль, количественный выход). Продукт использовали без дополнительной очистки.

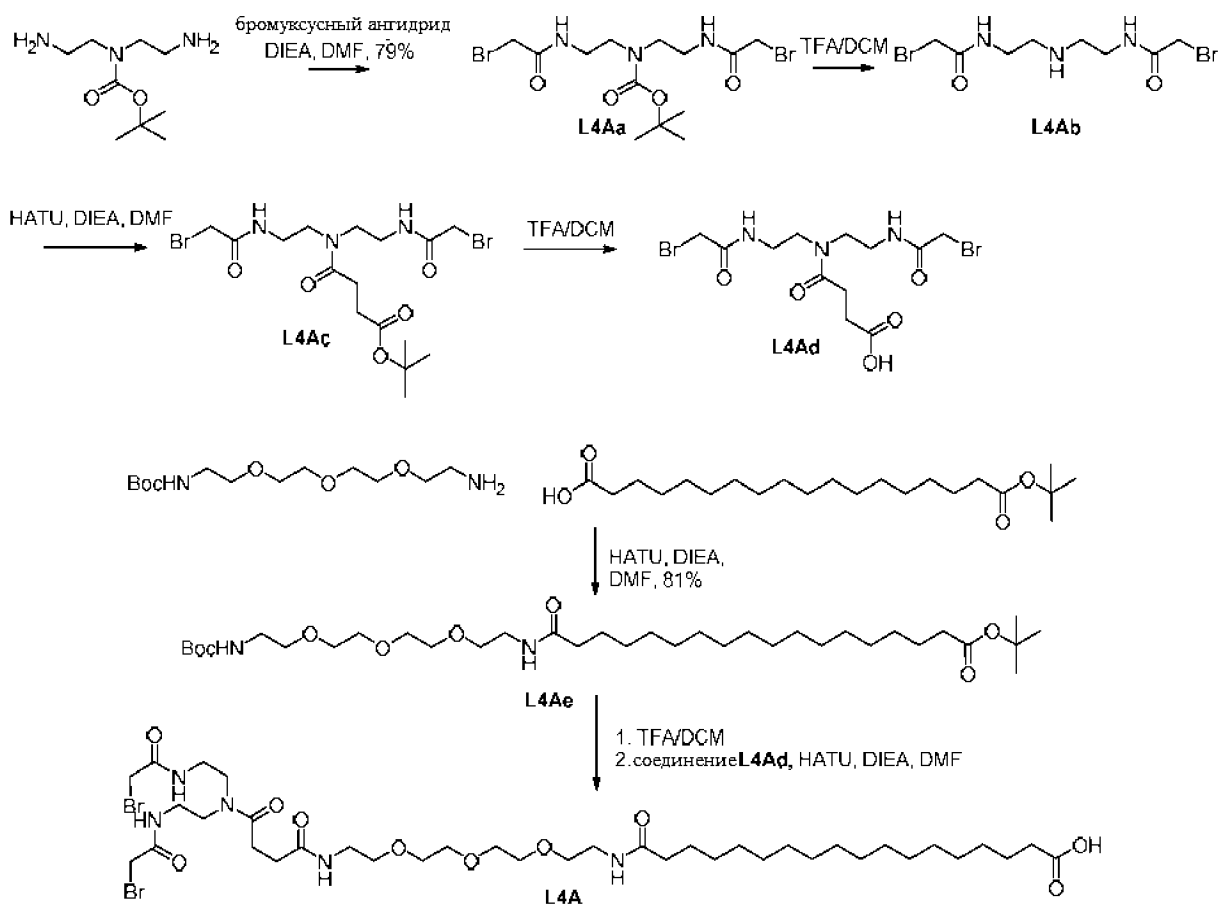
Промежуточное соединение L4c

[0381] К раствору моно-трет-бутилового эфира октадекандикарбоновой кислоты (370 мг, 1,02 ммоль, 1 экв.), растворенного в DMF (5 мл), добавляли НАТУ (387 мг, 1,02 ммоль, 1,1 экв.), DIEA (186 мкл, 1,07 ммоль, 2 экв.) и соединение L4b (516 мг, 1,02 ммоль, 1 экв.), растворенное в 1 мл DMF. Реакционную смесь перемешивали в течение 3 часов при комнатной температуре. Продукт разбавляли EtOAc. Органический слой последовательно промывали раствором 1 М HCl, насыщенным раствором NaHCO<sub>3</sub> и концентрированным раствором NaCl, сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтровали и концентрировали. В результате очистки методом колоночной флэш-хроматографии на силикагеле получали желаемое соединение L4c в виде масла (697 мг, 0,81 ммоль, 79%). ЯМР <sup>1</sup>H (400 МГц, хлороформ-d) δ 6,94 (s, 1H), 6,42 (s, 1H), 4,81 (s, 1H), 4,20 (s, 1H), 3,65 (d, J = 6,7 Гц, 8H), 3,59 (dt, J = 9,7, 5,1 Гц, 4H), 3,51-3,35 (m, 4H), 3,31-3,18 (m, 1H), 3,17-3,06 (m, 1H), 2,20 (q, J = 8,0 Гц, 4H), 1,87 (s, 4H), 1,71-1,53 (m, 6H), 1,45 (s, 26H), 1,26 (s, 24H).

L4

[0382] Раствор L4c (422 мг, 0,49 ммоль, 1 экв.) в DCM (2 мл) обрабатывали TFA (2 мл) в течение 30 минут. Смесь концентрировали, совместно упаривали с гексаном, растворяли в 20 мл DCM и охлаждали до 0°C. Добавляли DIEA (327 мкл, 1,96 ммоль, 4 экв.), а затем бромуксусный ангидрид (254 мг, 0,98 ммоль, 2 экв.), растворенный в 1 мл DCM. Затем реакционную смесь перемешивали в течение 30 минут при 0°C и в течение 90 минут при комнатной температуре и удаляли растворитель. В результате очистки методом колоночной флэш-хроматографии на силикагеле получали L4 в виде белого твердого вещества (53 мг, 0,063 ммоль, 12%). МС (ИЭР<sup>+</sup>) m/z 845,08 ([M+H]<sup>+</sup>), 847,07 ([M+H]<sup>+</sup>) ЯМР <sup>1</sup>H (400 МГц, метанол-d<sub>4</sub>) δ 3,68-3,60 (m, 8H), 3,54 (td, J = 5,4, 3,4 Гц, 4H), 3,43-3,35 (m, 4H), 3,30-3,16 (m, 2H), 2,27 (t, J = 7,5 Гц, 2H), 2,17 (t, J = 7,6 Гц, 2H), 1,86-1,73 (m, 1H), 1,72-1,45 (m, 8H), 1,37-1,19 (m, 28H).

**Пример 11. Синтез L4A**



#### Промежуточное соединение L4Aa

[0383] К раствору трет-бутилбис(2-аминоэтил)карбамата (500 мг, 2,45 ммоль, 1 экв.) и DIEA (1,02 мл, 5,88 ммоль, 2 экв.) в DCM (20 мл) при 0°C добавляли в капельном режиме бромсуксусный ангидрид (1,31 г, 5,04 ммоль, 2,05 экв. в 1 мл DCM). Реакционную смесь перемешивали в течение 30 минут при 0°C и в течение 2 часов при комнатной температуре и упаривали в вакууме. В результате очистки методом колоночной флэш-хроматографии получали продукт в виде масла (883 мг, 81%). ЯМР <sup>1</sup>H (400 МГц, метанол-d<sub>4</sub>) δ 1,50 (s, 9H), 3,39 (s, 8H), 3,85 (s, 4H). Время удерживания t<sub>R</sub> = 1,04 мин. МС (ИЭР<sup>+</sup>) m/z 445,71/447,70 ([M+H]<sup>+</sup>).

#### Промежуточное соединение L4Ab

[0384] Раствор соединения L4Aa (1 экв.) в DCM/TFA (1:1, об./об.) перемешивали при комнатной температуре в течение 30 минут и концентрировали в вакууме (совместно выпаривали с гептаном). Соединение L4Ab использовали непосредственно на последующих стадиях без очистки. Время удерживания t<sub>R</sub> = 0,58 мин. МС (ИЭР<sup>+</sup>) m/z 345,65/347,67 ([M+H]<sup>+</sup>).

#### Промежуточное соединение L4Ac

[0385] К раствору моно-трет-бутилсукцината (1,05 экв.) в DMF добавляли HATU (1,05 экв.). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 5 минут. Соединение L4Ab и DIEA (4 экв.) растворяли в DMF (1 мл) и добавляли к реакционной смеси. Реакционную смесь перемешивали в течение ночи при комнатной температуре и разбавляли AcOEt. Органическую фазу промывали раствором 1 М HCl и насыщенным раствором NaHCO<sub>3</sub>, сушили над MgSO<sub>4</sub> и упаривали. В результате очистки методом колоночной флэш-хроматографии получали продукт в виде масла. Время удерживания t<sub>R</sub> = 1,07 мин. МС (ИЭР<sup>+</sup>) m/z 501,52/503,80 ([M+H]<sup>+</sup>).

#### Промежуточное соединение L4Ad

[0386] Раствор соединения L4Ac (1 экв.) в DCM/TFA (1:1, об./об.) перемешивали при комнатной температуре в течение 30 минут и концентрировали в вакууме (совместно выпаривали с гептаном). Соединение L4Ad использовали непосредственно на последующих стадиях без очистки. Время удерживания  $t_R = 0,57$  мин. МС (ИЭР<sup>+</sup>)  $m/z$  445,71/447,73 ( $[M+H]^+$ ).

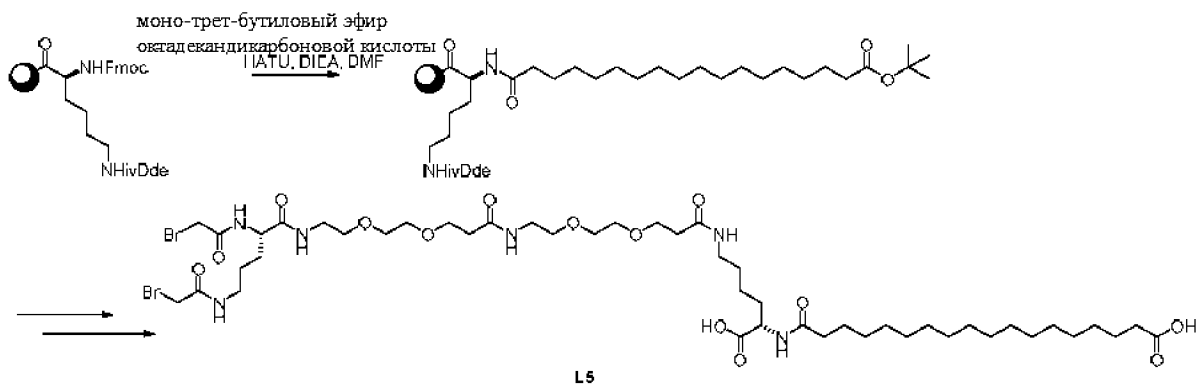
#### Промежуточное соединение L4Ae

[0387] Моно-трет-бутиловый эфир октадекандикарбоновой кислоты (200 мг, 0,54 ммоль, 1 экв.) растворяли в 5 мл DMF. Добавляли NATU (225 мг, 0,59 ммоль, 1,1 экв.) и DIEA (103 мкл, 0,59 ммоль, 1,1 экв.), а затем Вос-NH-PEG<sub>3</sub>-NH<sub>2</sub> (157,8 г, 0,54 ммоль, 1 экв.). Затем реакционную смесь перемешивали в течение 3 часов и удаляли растворитель. Продукт растворяли в EtOAc. Органический слой последовательно промывали насыщенным раствором NaHCO<sub>3</sub>, раствором 1 М HCl, концентрированным раствором NaCl, сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтровали и концентрировали. В результате очистки методом колоночной флэш-хроматографии на силикагеле получали желаемый продукт L4Ae в виде белого твердого вещества (281 мг, 0,43 ммоль, 81%). МС (ИЭР<sup>+</sup>)  $m/z$  645,5 ( $[M+H]^+$ ). ЯМР <sup>1</sup>H (400 МГц, хлороформ-d)  $\delta$  3,76-3,61 (m, 8H), 3,63-3,54 (m, 4H), 3,48 (q, J = 5,1 Гц, 2H), 3,34 (s, 2H), 2,20 (dt, J = 9,8, 7,6 Гц, 4H), 1,67-1,55 (m, 4H), 1,49-1,44 (m, 17H), 1,30 (s, 6H), 1,30-1,24 (m, 19H).

#### L4A

[0388] Раствор соединения L4Ae в DCM обрабатывали TFA в течение 30 минут. Смесь концентрировали, совместно упаривали с гептаном, растворяли в DMF и добавляли к раствору соединения L4Ad, NATU и DIEA в DMF. Реакционную смесь перемешивали в течение 3 часов и очищали полупрепаративной ВЭЖХ с получением желаемого продукта L4A.

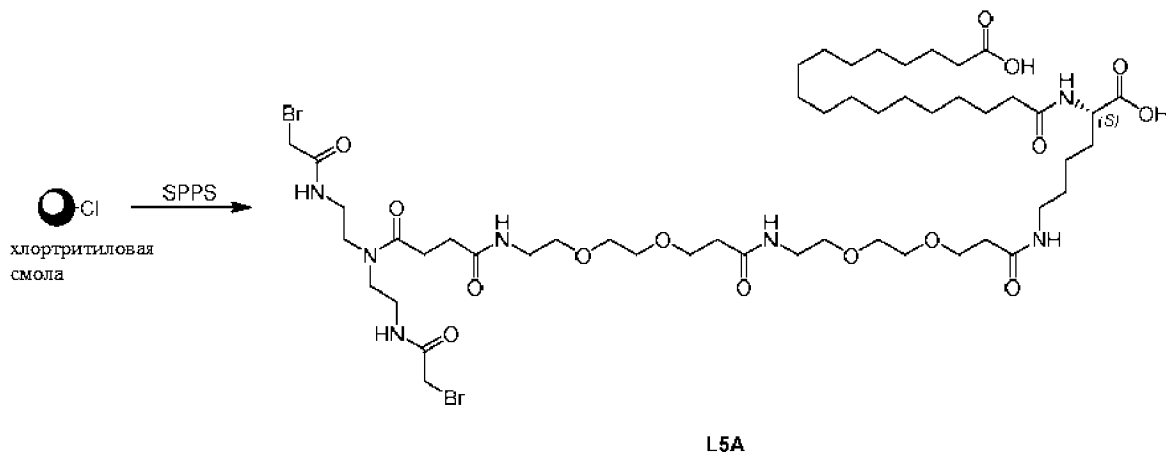
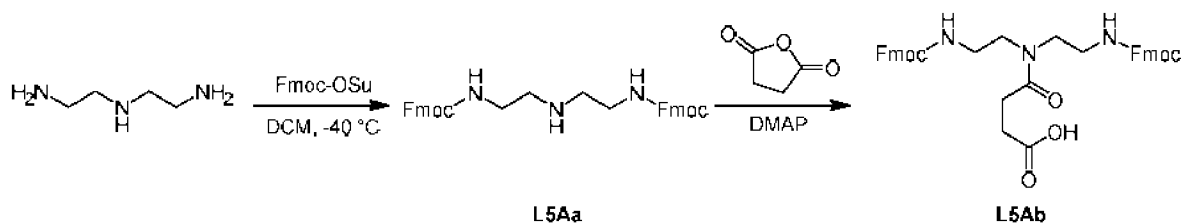
#### **Пример 12. Синтез L5**



[0389] Общий протокол A, B, D (моно-трет-бутиловый эфир октадекандикарбоновой кислоты), C, D (Fmoc-PEG<sub>2</sub>-пропионовая кислота), B, D (Fmoc-PEG<sub>2</sub>-пропионовая кислота), B, D (Fmoc-Orn(Fmoc)-OH), B, E, F.

[0390] Неочищенный продукт очищали полупрепаративной ВЭЖХ с масс-спектрометрическим детектором и получали продукт L5 в виде белого твердого вещества (73 мг, 0,065 ммоль, 11%). ЯМР <sup>1</sup>H (400 МГц, метанол-d<sub>4</sub>)  $\delta$  4,36 (td, J = 8,9, 5,1 Гц, 2H), 3,89 (q, J = 11,4 Гц, 2H), 3,82 (s, 2H), 3,74 (t, J = 6,2 Гц, 2H), 3,60 (s, 4H), 3,54 (t, J = 5,5 Гц, 2H), 3,37 (q, J = 5,2 Гц, 2H), 3,29-3,11 (m, 5H), 2,44 (t, J = 6,2 Гц, 2H), 2,26 (dt, J = 12,3, 7,5 Гц, 4H), 1,89-1,77 (m, 2H), 1,76-1,49 (m, 10H), 1,48-1,38 (m, 2H), 1,37-1,25 (m, 25H).

#### **Пример 13. Синтез L5A**



#### Промежуточное соединение L5Aa

[0391] Раствор Fmoc-OSu (131 г, 388 ммоль) в DCM (200 мл) добавляли в капельном режиме к раствору диэтилентриамин (20 г, 194 ммоль) в DCM (200 мл) при  $-40^{\circ}\text{C}$  в атмосфере азота, перемешивают в течение 2 часов. ЖХ-МС показала, что реакция завершена. Неочищенный продукт в растворе не очищали и использовали непосредственно на следующей стадии. ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  7,88 (d,  $J = 7,6$  Гц, 4H), 7,68 (d,  $J = 7,6$  Гц, 4H), 7,43-7,24 (m, 10H), 4,30 (d,  $J = 6,4$  Гц, 4H), 4,21 (d,  $J = 6,4$  Гц, 2H), 3,06 (d,  $J = 5,6$  Гц, 4H), 2,57 (d,  $J = 7,6$  Гц, 4H). МС (ИЭР $^+$ )  $m/z$  548,2 ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ ).

#### Промежуточное соединение L5Ab

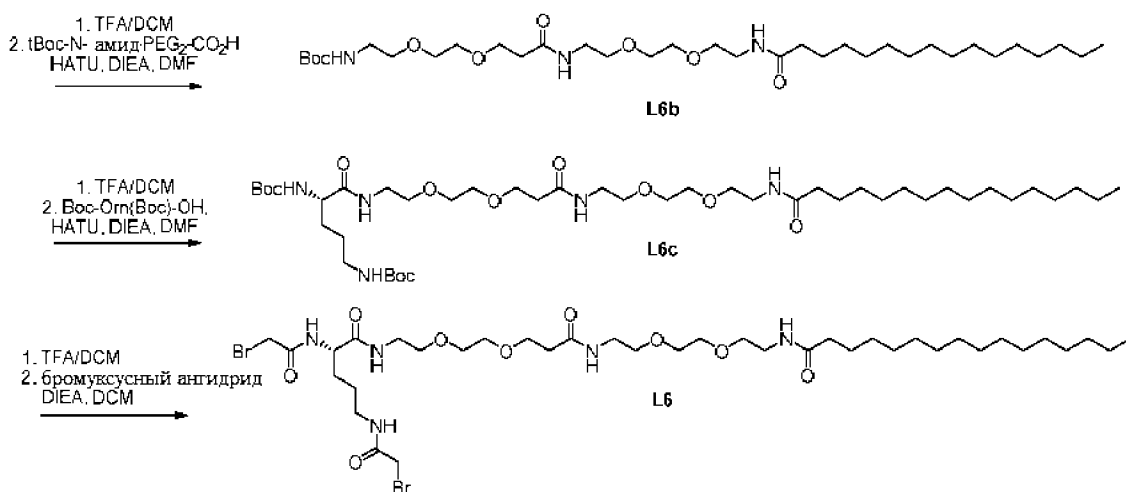
[0392] К раствору соединения L5Aa (106 г, 194 ммоль) в DCM (400 мл) добавляли диметиламинопиридин DMAP (4,74 г, 38,8 ммоль) и тетрагидрофуран-2,5-дион (67,9 г, 678 ммоль), перемешивали при  $25^{\circ}\text{C}$  в течение 14 часов. ЖХ-МС показала, что реакция завершена. К реакционной смеси добавляли 1 М HCl до pH = 5-6, перемешивали в течение 15 минут, органическую фазу отделяли, затем органическую фазу промывали водой и насыщенным раствором NaCl (500 мл), водную фазу дважды экстрагировали DCM (500 мл). Объединенный DCM сушили над безводным  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , концентрировали в вакууме. Неочищенный продукт очищали колоночной хроматографией на силикагеле, используя DCM/MeOH (80:0-5:1) в качестве элюента, с получением соединения L5Ab (57,6 г, выход 45%) в виде белого твердого порошка. ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  12,09 (s, 1 H), 7,87 (d,  $J = 7,5$  Гц, 4 H), 7,66 (d,  $J = 7,0$  Гц, 4 H), 7,23-7,48 (m, 10 H), 4,24-4,33 (m, 4 H), 4,14-4,22 (m, 2 H), 3,27 (s, 4 H), 2,95-3,19 (m, 4 H), 2,37-2,44 (m, 4 H). МС (ИЭР $^+$ )  $m/z$  648,2 ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ ).

#### L5A

[0393] Общий протокол А, В, D (моно-трет-бутиловый эфир октадекандикарбоновой кислоты), С, D (Fmoc-PEG $_2$ -пропионовая кислота), В, D (Fmoc-PEG $_2$ -пропионовая кислота), В, D (соединение L5Ab), В, Е, F.

[0394] Неочищенный продукт очищали полупрепаративной ВЭЖХ с масс-спектрометрическим детектором и получали продукт L5A в виде белого твердого вещества (5,2 г, выход 11%). МС (ИЭР<sup>+</sup>) m/z 1188,5 ([M+H]<sup>+</sup>).

#### Пример 14. Синтез L6



#### Промежуточное соединение L6a

[0395] Пальмитиновую кислоту (235 мг, 0,919 ммоль, 1,05 экв.) растворяли в 4 мл DMF. Добавляли HATU (349 мг, 0,919 ммоль, 1,05 экв.) и DIEA (167 мкл, 0,963 ммоль, 1,1 экв.) с последующим добавлением Boc-NH-PEG<sub>2</sub>-NH<sub>2</sub> (200 мг, 0,875 ммоль, 1 экв.). Затем реакционную смесь перемешивали в течение 2 часов и удаляли растворитель. Продукт растворяли в EtOAc. Органический слой последовательно промывали раствором 1M HCl, насыщенным раствором NaHCO<sub>3</sub>, HCl и насыщенным раствором NaCl, сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтровали и концентрировали с получением желаемого соединения L6a в виде белого твердого вещества (412 мг, 0,84 ммоль, 97%). ЯМР <sup>1</sup>H (400 МГц, хлороформ-d) δ 6,17 (s, 1H), 5,07 (s, 1H), 3,58 (s, 4H), 3,53 (t, J = 5,0 Гц, 3H), 3,43 (q, J = 5,3 Гц, 2H), 3,36-3,21 (m, 2H), 2,15 (t, J = 7,5 Гц, 2H), 1,66-1,54 (m, 2H), 1,32-1,15 (m, 26H), 0,84 (t, J = 6,6 Гц, 3H).

#### Промежуточное соединение L6b

[0396] Раствор соединения L6a (412 мг, 0,84 ммоль, 1 экв.) в DCM (2 мл) обрабатывали TFA (2 мл) в течение 30 минут. Смесь концентрировали путем совместного упаривания с гексаном. К раствору BocNH-PEG<sub>2</sub>-CO<sub>2</sub>H (258 мг, 0,931 ммоль, 1,1 экв.), растворенного в DMF (5 мл), добавляли HATU (353 мг, 0,931 ммоль, 1,1 экв.). К реакционной смеси добавляли соединение L6a со снятой защитой и DIEA (294 мкл, 1,69 ммоль, 2 экв.) в DMF. Реакционную смесь перемешивали в течение 2 часов при комнатной температуре. Продукт разбавляли EtOAc. Органический слой последовательно промывали раствором 1M HCl, насыщенным раствором NaHCO<sub>3</sub>, HCl и концентрированным раствором NaCl, сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтровали и концентрировали. В результате очистки методом колоночной флэш-хроматографии на силикагеле получали желаемое соединение L6b в виде масла (329 мг, 0,51 ммоль, 60%). ЯМР <sup>1</sup>H (400 МГц, хлороформ-d) δ 6,79 (s, 1H), 6,28 (s, 1H), 5,28 (s, 1H), 3,68 (t, J = 5,8 Гц, 2H), 3,61-3,44 (m, 14H), 3,38 (p, J = 5,6 Гц, 4H), 3,24 (q, J = 5,5 Гц, 2H), 2,42 (t, J = 5,8 Гц, 2H), 2,11 (t, J = 7,9 Гц, 2H), 1,55 (p, J = 7,2 Гц, 2H), 1,38 (s, 9H), 1,32-1,10 (m, 24H), 0,81 (t, J = 6,7 Гц, 3H).

#### Промежуточное соединение L6c

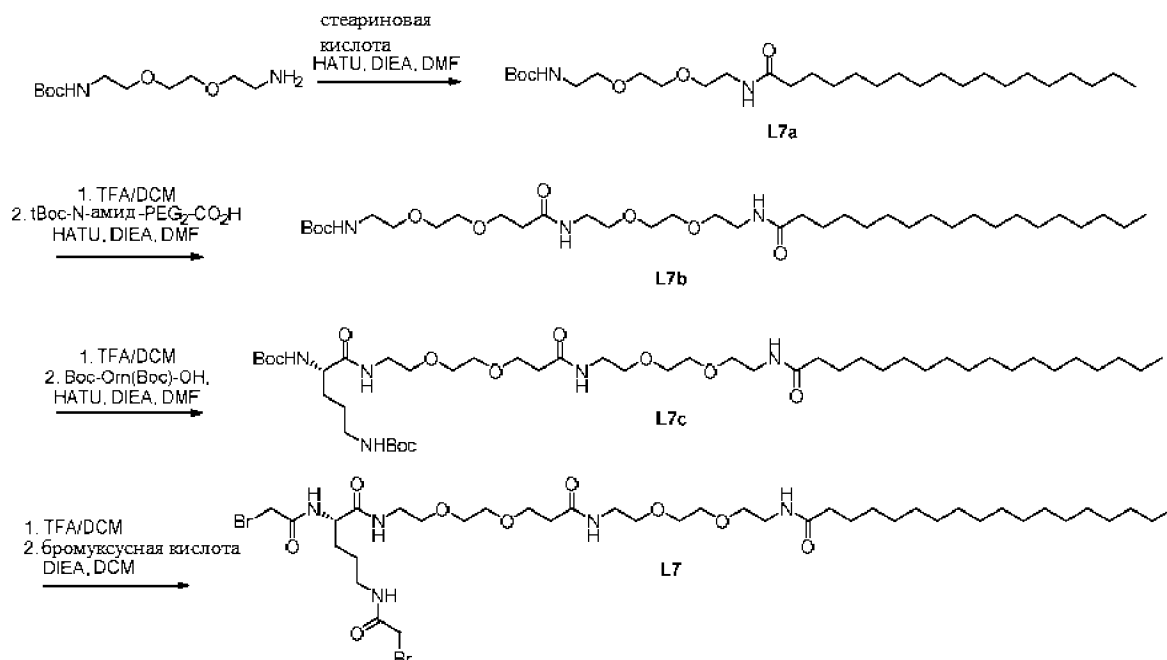
[0397] Раствор соединения L6b (329 мг, 0,51 ммоль, 1 экв.) в DCM (2 мл) обрабатывали TFA (2 мл) в течение 30 минут. Смесь концентрировали путем совместного упаривания с гексаном. К раствору Boc-Orn(Boc)-OH (186 мг, 0,56 ммоль, 1,1 экв.), растворенного в DMF (5 мл), добавляли HATU (213 мг, 0,56

ммоль, 1,1 экв.). К реакционной смеси добавляли соединение L6b со снятой защитой и DIEA (177 мкл, 1,02 ммоль, 2 экв.) в DMF. Реакционную смесь перемешивали в течение 2 часов при комнатной температуре. Продукт разбавляли EtOAc. Органический слой последовательно промывали насыщенным раствором NaHCO<sub>3</sub>, раствором 1 М HCl и концентрированным раствором NaCl, сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтровали и концентрировали. В результате очистки методом колоночной флэш-хроматографии на силикагеле получали желаемое соединение L6c в виде масла (326 мг, 0,37 ммоль, 94%). ЯМР <sup>1</sup>H (400 МГц, хлороформ-d) δ 7,18 (s, 1H), 6,92 (s, 1H), 6,48 (s, 1H), 5,61 (d, J = 8,4 Гц, 1H), 5,08 (t, J = 5,9 Гц, 1H), 4,13 (s, 1H), 3,73-3,65 (m, 2H), 3,59-3,44 (m, 14H), 3,42-3,29 (m, 8H), 3,19-2,86 (m, 2H), 2,42 (t, J = 5,9 Гц, 2H), 2,10 (d, J = 7,3 Гц, 2H), 1,78-1,63 (m, 1H), 1,60-1,40 (m, 5H), 1,35 (s, 18H), 1,26-1,09 (m, 22H), 0,80 (t, J = 6,7 Гц, 3H).

### L6

[0398] Раствор соединения L6c (100 мг, 0,116 ммоль, 1 экв.) в DCM (2 мл) обрабатывали TFA (2 мл) в течение 30 минут. Смесь концентрировали, совместно выпаривали с гексаном, растворяли в 10 мл DCM и охлаждали до 0°C. Добавляли DIEA (80,8 мкл, 0,46 ммоль, 4 экв.), а затем бромуксусный ангидрид (61,9 мг, 0,238 ммоль, 2,05 экв.), растворенный в 1 мл DCM. Затем реакционную смесь перемешивали в течение 30 минут при 0°C и в течение 90 минут при комнатной температуре и удаляли растворитель. В результате очистки методом колоночной флэш-хроматографии на силикагеле получали L6 в виде белого твердого вещества (50,1 мг, 0,055 ммоль, 40%). ЯМР <sup>1</sup>H (400 МГц, метанол-d<sub>4</sub>) δ 4,39 (dd, J = 8,4, 5,5 Гц, 1H), 3,91 (q, J = 11,4 Гц, 2H), 3,84 (s, 2H), 3,76 (t, J = 6,2 Гц, 2H), 3,63 (d, J = 7,1 Гц, 8H), 3,57 (q, J = 5,5 Гц, 6H), 3,43-3,36 (m, 6H), 3,25 (t, J = 13,9, 6,8 Гц, 2H), 2,49 (t, J = 6,2 Гц, 2H), 2,21 (t, J = 7,5 Гц, 2H), 1,91-1,79 (m, 1H), 1,75-1,53 (m, 5H), 1,42-1,25 (m, 24H), 0,92 (t, J = 6,7 Гц, 3H).

### **Пример 15. Синтез L7**



### Промежуточное соединение L7a

[0399] Стеариновую кислоту (261 мг, 0,919 ммоль, 1,05 экв.) растворяли в 4 мл DMF. Добавляли HATU (349 мг, 0,919 ммоль, 1,05 экв.) и DIEA (167 мкл, 0,963 ммоль, 1,1 экв.) с последующим добавлением Boc-NH-PEG<sub>2</sub>-NH<sub>2</sub> (200 мг, 0,875 ммоль, 1 экв.). Затем реакционную смесь перемешивали в течение 2 часов и удаляли растворитель. Продукт растворяли в EtOAc. Органический слой последовательно промывали раствором 1 М HCl, насыщенным раствором NaHCO<sub>3</sub> и концентрированным раствором NaCl, сушили над

Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтровали и концентрировали с получением желаемого соединения L7a в виде белого твердого вещества (430 мг, 0,83 ммоль, 95%). ЯМР <sup>1</sup>H (400 МГц, хлороформ-d) δ 3,69-3,59 (m, 4H), 3,56 (t, J = 5,1 Гц, 4H), 3,46 (q, J = 5,2 Гц, 2H), 3,40-3,23 (m, 2H), 2,18 (t, J = 7,6 Гц, 2H), 1,62 (t, J = 7,3 Гц, 2H), 1,45 (s, 9H), 1,35-1,19 (m, 30H), 0,88 (t, J = 6,7 Гц, 4H).

#### Промежуточное соединение L7b

[0400] Раствор соединения L7a (426 мг, 0,87 ммоль, 1 экв.) в DCM (2 мл) обрабатывали TFA (2 мл) в течение 30 минут. Смесь концентрировали, совместно упаривали с гексаном. К раствору ВосNH-PEG<sub>2</sub>-CO<sub>2</sub>H (266 мг, 0,96 ммоль, 1,1 экв.), растворенного в DMF (5 мл), добавляли HATU (366 мг, 0,96 ммоль, 1,1 экв.). К реакционной смеси добавляли соединение L7a со снятой защитой и DIEA (304 мкл, 1,75 ммоль, 2 экв.) в DMF. Реакционную смесь перемешивали в течение 2 часов при комнатной температуре. Продукт разбавляли EtOAc. Органический слой последовательно промывали раствором 1 М HCl, насыщенным раствором NaHCO<sub>3</sub> и концентрированным раствором NaCl, сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтровали и концентрировали. В результате очистки методом колоночной флэш-хроматографии на силикагеле получали желаемое соединение L7b в виде масла (360 мг, 0,53 ммоль, 61%). ЯМР <sup>1</sup>H (400 МГц, хлороформ-d) δ 6,75 (s, 1H), 6,18 (s, 1H), 5,26 (s, 1H), 3,75 (t, J = 5,8 Гц, 2H), 3,69-3,52 (m, 14H), 3,47 (p, J = 5,4 Гц, 4H), 3,33 (q, J = 5,5 Гц, 2H), 2,50 (t, J = 5,8 Гц, 2H), 2,19 (t, J = 7,5 Гц, 2H), 2,07 (s, 1H), 1,63 (p, J = 7,3 Гц, 2H), 1,46 (s, 9H), 1,37-1,19 (m, 29H), 0,89 (t, J = 6,7 Гц, 3H).

#### Промежуточное соединение L7c

[0401] Раствор соединения L7b (360 мг, 0,53 ммоль, 1 экв.) в DCM (2 мл) обрабатывали TFA (2 мл) в течение 30 минут. Смесь концентрировали, совместно упаривали с гексаном. К раствору Вос-Om(Вос)-ОН (195 мг, 0,58 ммоль, 1,1 экв.), растворенного в DMF (5 мл), добавляли HATU (223 мг, 0,58 ммоль, 1,1 экв.). К реакционной смеси добавляли соединение L7b со снятой защитой и DIEA (186 мкл, 1,07 ммоль, 2 экв.) в DMF. Реакционную смесь перемешивали в течение 2 часов при комнатной температуре. Продукт разбавляли EtOAc. Органический слой последовательно промывали раствором 1 М HCl, насыщенным раствором NaHCO<sub>3</sub> и концентрированным раствором NaCl, сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтровали и концентрировали. В результате очистки методом колоночной флэш-хроматографии на силикагеле получали желаемое соединение L7c в виде масла (373 мг, 0,42 ммоль, 78%). ЯМР <sup>1</sup>H (400 МГц, хлороформ-d) δ 7,14 (s, 1H), 6,84 (s, 1H), 6,35 (s, 1H), 5,53 (d, J = 8,2 Гц, 1H), 5,05-4,88 (m, 1H), 4,20 (s, 1H), 3,82-3,69 (m, 2H), 3,65-3,31 (m, 22H), 3,23-3,00 (m, 2H), 2,48 (t, J = 5,8 Гц, 2H), 2,17 (t, J = 7,8 Гц, 2H), 1,87-1,72 (m, 1H), 1,67-1,48 (m, 5H), 1,42 (s, 18H), 1,34-1,14 (m, 29H), 0,87 (t, J = 6,9 Гц, 3H).

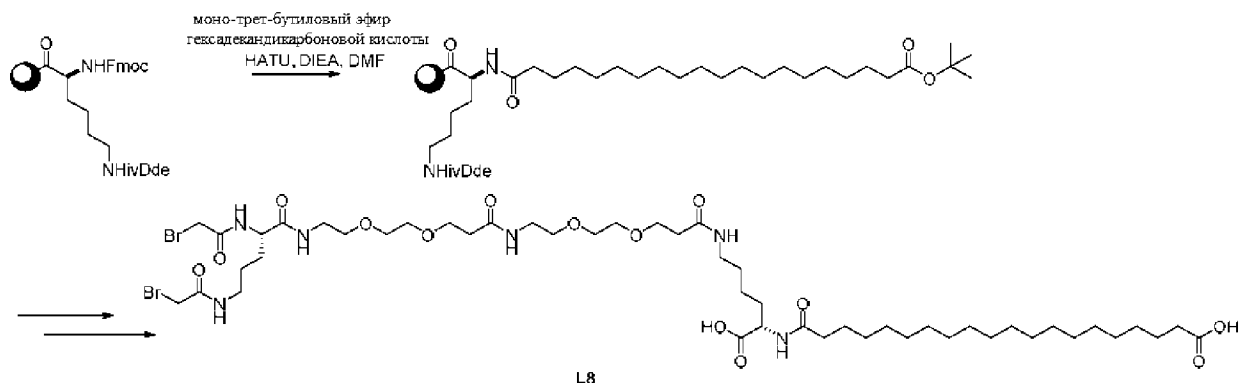
#### L7

[0402] Раствор соединения L7c (100 мг, 0,112 ммоль, 1 экв.) в DCM (2 мл) обрабатывали TFA (2 мл) в течение 30 минут. Смесь концентрировали, совместно выпаривали с гексаном, растворяли в 10 мл DCM и охлаждали до 0°C. Добавляли DIEA (78 мкл, 0,44 ммоль, 4 экв.), а затем бромуксусный ангидрид (62 мг, 0,24 ммоль, 2,05 экв.), растворенный в 1 мл DCM. Затем реакционную смесь перемешивали в течение 30 минут при 0°C и в течение 90 минут при комнатной температуре и удаляли растворитель. Продукт растворяли в EtOAc. Органический слой последовательно промывали раствором 1 М HCl, насыщенным раствором NaHCO<sub>3</sub> и концентрированным раствором NaCl, сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтровали и концентрировали. В результате очистки методом колоночной флэш-хроматографии на силикагеле получали L7 в виде белого твердого вещества (95 мг, 0,10 ммоль, 91%). MS (ИЭР<sup>+</sup>) m/z 931,31 ([M+H]<sup>+</sup>), 933,25 ([M+H]<sup>+</sup>). ЯМР <sup>1</sup>H (400 МГц, метанол-d<sub>4</sub>) δ 4,39 (dd, J = 8,5, 5,4 Гц, 1H), 3,91 (q, J = 11,3 Гц, 2H), 3,84 (s, 2H), 3,76 (t, J = 6,2 Гц, 2H),



3,63 (d,  $J = 7,0$  Гц, 8H), 3,57 (t,  $J = 5,5$  Гц, 6H), 3,42-3,35 (m, 6H), 3,31-3,13 (m, 4H), 2,49 (t,  $J = 6,2$  Гц, 2H), 2,20 (t,  $J = 7,4$  Гц, 2H), 1,91-1,79 (m, 1H), 1,75-1,56 (m, 6H), 1,39-1,26 (m, 26H), 0,92 (t,  $J = 6,3$  Гц, 3H).

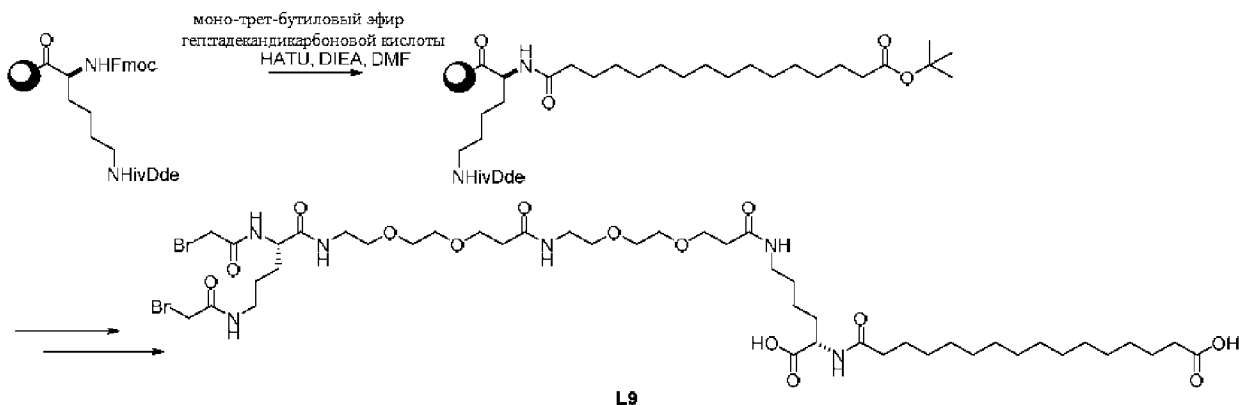
### Пример 16. Синтез L8



[0403] Общий протокол А, В, D (моно-*tert*-бутиловый эфир гексадекандикарбоновой кислоты), С, D (Fmoc-PEG<sub>2</sub>-пропионовая кислота), В, D (Fmoc-PEG<sub>2</sub>-пропионовая кислота), В, D (Fmoc-Orn(Fmoc)-OH), В, Е, F.

[0404] Неочищенный продукт очищали полупрепаративной ВЭЖХ с масс-спектрометрическим детектором и получали продукт L8 в виде белого твердого вещества (42,6 мг, 0,038 ммоль, 22%). ЯМР <sup>1</sup>H (400 МГц, метанол-d<sub>4</sub>) δ 4,38 (td,  $J = 8,6, 5,1$  Гц, 2H), 3,91 (q,  $J = 11,3$  Гц, 2H), 3,84 (s, 2H), 3,76 (q,  $J = 6,1$  Гц, 4H), 3,65-3,59 (m, 8H), 3,56 (td,  $J = 5,5, 1,7$  Гц, 4H), 3,43-3,37 (m, 4H), 3,31-3,16 (m, 4H), 2,48 (dt,  $J = 15,7, 6,2$  Гц, 4H), 2,28 (dt,  $J = 12,6, 7,5$  Гц, 4H), 1,95-1,79 (m, 1H), 1,77-1,51 (m, 10H), 1,49-1,41 (m, 2H), 1,40-1,26 (m, 31H).

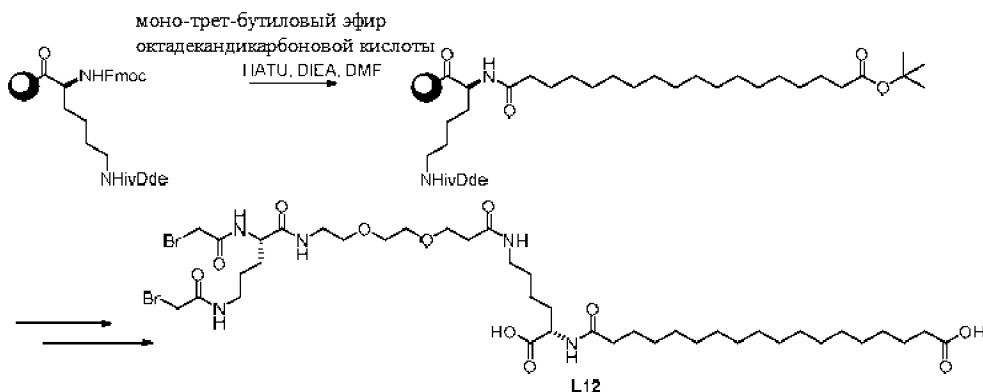
### Пример 17. Синтез L9



[0405] Общий протокол А, В, D (моно-*tert*-бутиловый эфир гептадекандикарбоновой кислоты), С, D (Fmoc-PEG<sub>2</sub>-пропионовая кислота), В, D (Fmoc-Orn(Fmoc)-OH), В, Е, F.

[0406] Неочищенный продукт очищали полупрепаративной ВЭЖХ с масс-спектрометрическим детектором и получали продукт L9 в виде белого твердого вещества (49 мг, 0,089 ммоль, 9%). ЯМР <sup>1</sup>H (400 МГц, метанол-d<sub>4</sub>) δ 4,45-4,33 (m, 2H), 3,92 (t,  $J = 10,9$  Гц, 2H), 3,85 (d,  $J = 1,1$  Гц, 2H), 3,77 (q,  $J = 6,0$  Гц, 4H), 3,63 (s, 8H), 3,57 (t,  $J = 5,6$  Гц, 4H), 3,40 (t,  $J = 5,5$  Гц, 4H), 3,25 (dq,  $J = 22,7, 6,7$  Гц, 4H), 2,48 (dt,  $J = 15,6, 6,2$  Гц, 4H), 2,29 (dt,  $J = 13,2, 7,4$  Гц, 4H), 1,95-1,79 (m, 2H), 1,80-1,50 (m, 10H), 1,51-1,41 (m, 2H), 1,40-1,27 (m, 20H).

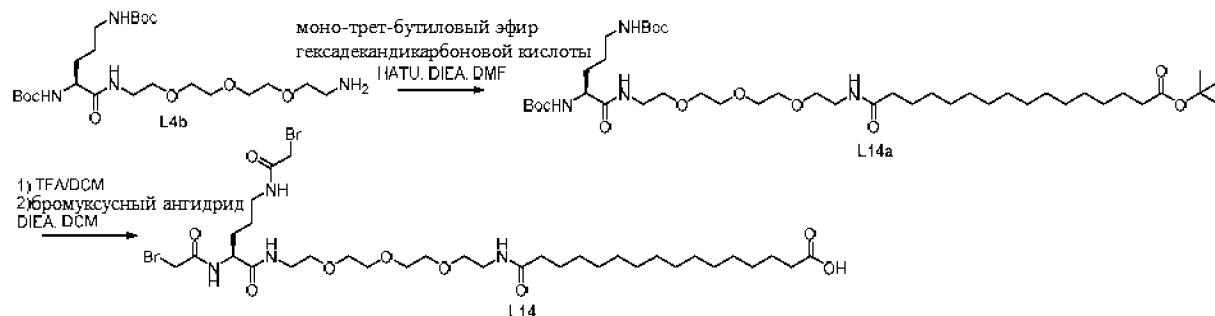
### Пример 18. Синтез L12



[0407] Общий протокол A, B, D (октадекандикарбоновая кислота), C, D (Fmoc-PEG<sub>2</sub>-пропионовая кислота), B, D (Fmoc-Orn(Fmoc)-OH), B, E, F.

[0408] Неочищенный продукт очищали полупрепаративной ВЭЖХ с масс-спектрометрическим детектором и получали продукт L12 в виде белого твердого вещества (51,7 мг, 0,054 ммоль, 3%). ЯМР <sup>1</sup>H (400 МГц, метанол-d<sub>4</sub>) δ 4,39 (td, J = 9,2, 5,1 Гц, 2H), 3,92 (qd, J = 11,4, 1,2 Гц, 2H), 3,85 (s, 2H), 3,76 (t, J = 6,2 Гц, 2H), 3,63 (s, 4H), 3,57 (t, J = 5,5 Гц, 2H), 3,40 (q, J = 5,1 Гц, 2H), 3,30-3,12 (m, 6H), 2,47 (t, J = 6,1 Гц, 2H), 2,29 (dt, J = 12,1, 7,4 Гц, 4H), 1,95-1,77 (m, 2H), 1,78-1,50 (m, 10H), 1,48-1,40 (m, 2H), 1,39-1,26 (m, 22H).

#### Пример 19. Синтез L14



#### Промежуточное соединение L14a

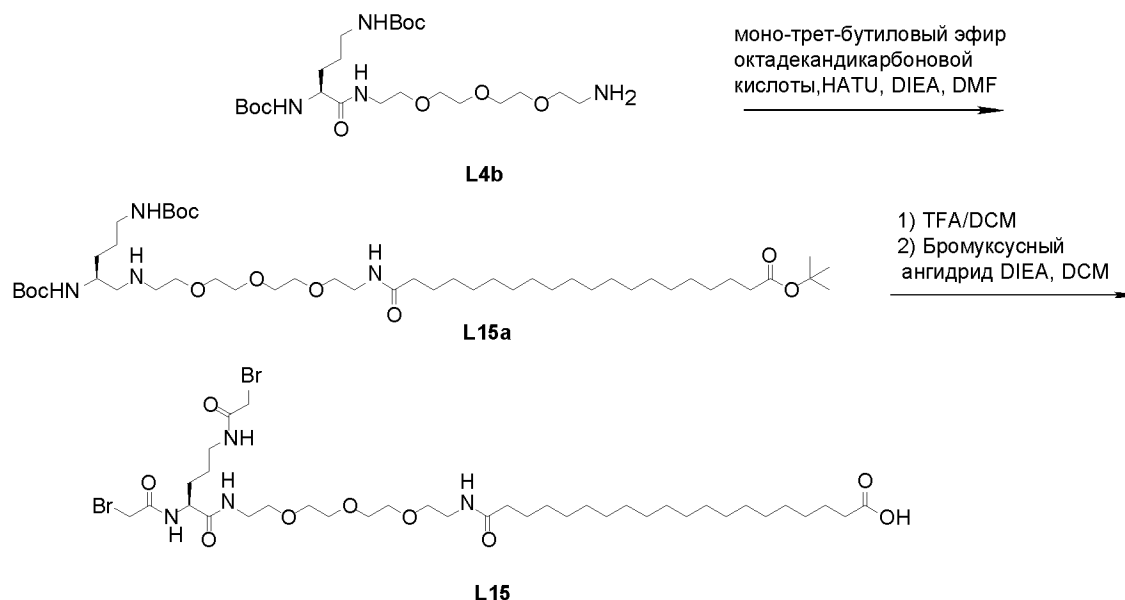
[0409] К раствору моно-трет-бутилового эфира гексадекандикарбоновой кислоты (102 мг, 0,30 ммоль, 1 экв.), растворенного в DMF (5 мл), добавляли HATU (125 мг, 0,33 ммоль, 1,1 экв.), DIEA (51 мкл, 0,33 ммоль, 1,1 экв.) и соединение L4b (151,9 мг, 0,3 ммоль, 1 экв.), растворенное в 1 мл DMF. Реакционную смесь перемешивали 3 часа при комнатной температуре. Продукт разбавляли EtOAc. Органический слой последовательно промывали раствором 1 М HCl, насыщенным раствором NaHCO<sub>3</sub> и концентрированным раствором NaCl, сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтровали и концентрировали. В результате очистки методом колоночной флэш-хроматографии на силикагеле получали желаемое соединение L14a в виде масла (147 мг, 0,176 ммоль, 59%). ЯМР <sup>1</sup>H (400 МГц, хлороформ-d) δ 6,87 (s, 1H), 6,40 (s, 1H), 5,32 (s, 2H), 4,79 (s, 1H), 4,20 (s, 1H), 3,66 (d, J = 7,0 Гц, 8H), 3,60 (dt, J = 10,0, 5,1 Гц, 4H), 3,49-3,45 (m, 3H), 3,31-3,18 (m, 1H), 3,13-3,06 (m, 1H), 2,21 (td, J = 7,8, 6,0 Гц, 4H), 1,88-1,78 (m, 1H), 1,66-1,53 (m, 7H), 1,51-1,42 (m, 27H), 1,36-1,19 (m, 20H).

#### L14

[0410] Раствор соединения L14a (40 мг, 0,048 ммоль, 1 экв.) в DCM (2 мл) обрабатывали TFA (2 мл) в течение 30 минут. Смесь концентрировали, совместно выпаривали с гексаном, растворяли в 20 мл DCM и охлаждали до 0°C. Добавляли DIEA (34 мкл, 0,1924 ммоль, 4 экв.), а затем бромуксусный ангидрид (23,63 мг, 0,098 ммоль, 2,05 экв.), растворенный в 1 мл DCM. Затем реакционную смесь перемешивали в течение 30 минут при 0°C и в течение 90 минут при комнатной температуре и удаляли растворитель. В результате

очистки методом колоночной флэш-хроматографии на силикагеле получали L14 в виде белого твердого вещества (18,3 мг, 0,022 ммоль, 46%). МС (ИЭР<sup>+</sup>) m/z 817,1 ([M+H]<sup>+</sup>), 819,09 ([M+H]<sup>+</sup>). ЯМР <sup>1</sup>H (400 МГц, метанол-d<sub>4</sub>) δ 4,38 (dd, J = 8,4, 5,5 Гц, 1H), 3,92 (q, J = 11,2, 10,6 Гц, 2H), 3,84 (s, 2H), 3,69-3,61 (m, 8H), 3,56 (td, J = 5,5, 2,6 Гц, 4H), 3,44-3,36 (m, 4H), 3,30-3,14 (m, 2H), 2,29 (t, J = 7,4 Гц, 2H), 2,21 (t, J = 7,5 Гц, 2H), 1,91-1,78 (m, 1H), 1,76-1,67 (m, 1H), 1,67-1,54 (m, 6H), 1,40-1,29 (m, 20H).

### Пример 20. Синтез L15

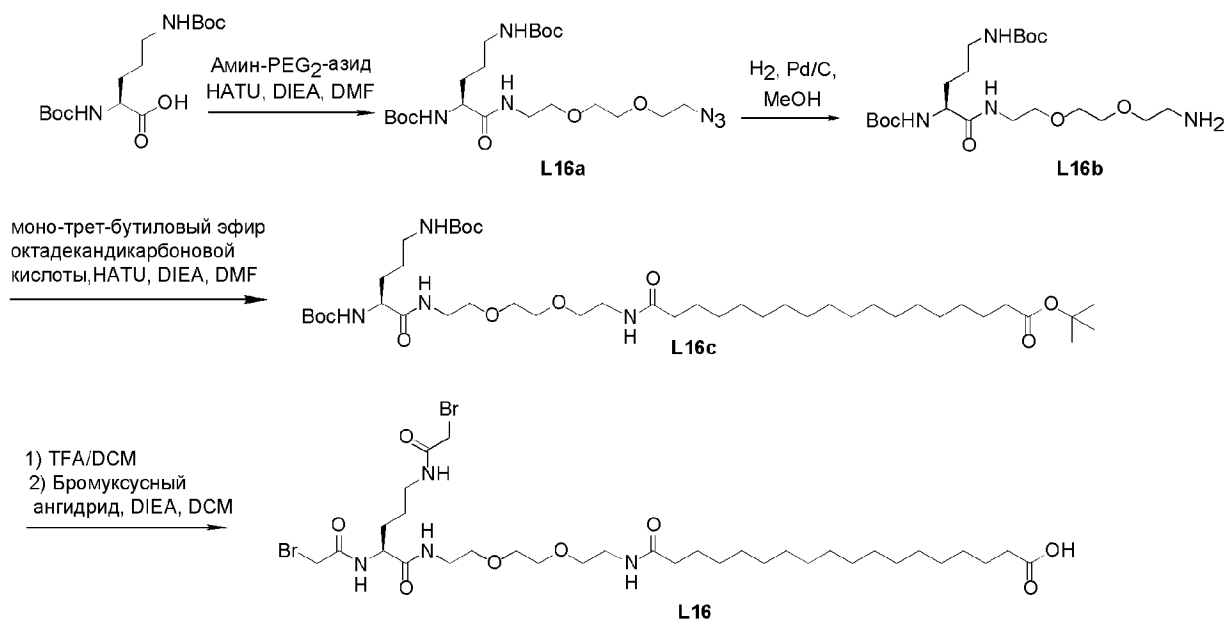


#### Промежуточное соединение L15a

[0411] К раствору 20-(трет-бутокси)-20-оксоикозановой кислоты (360 мг, 0,90 ммоль, 1,05 экв.), растворенной в DMF (5 мл), добавляли HATU (343 мг, 0,90 ммоль, 1,05 экв.), DIEA (300 мкл, 1,71 ммоль, 2 экв.) и соединение L4b (435 мг, 0,858 ммоль, 1 экв.), растворенное в 1 мл DMF. Реакционную смесь перемешивали в течение 3 часов при комнатной температуре. Продукт разбавляли EtOAc. Органический слой последовательно промывали раствором 1 М HCl, насыщенным раствором NaHCO<sub>3</sub> и концентрированным раствором NaCl, сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтровали и концентрировали. В результате очистки методом колоночной флэш-хроматографии на силикагеле получали желаемое соединение L15a в виде масла (555 мг, 0,625 ммоль, 72%). ЯМР <sup>1</sup>H (400 МГц, хлороформ-d) δ 6,87 (s, 1H), 6,40 (s, 1H), 4,79 (s, 1H), 4,21 (s, 1H), 3,76-3,53 (m, 15H), 3,47 (s, 5H), 3,32-3,05 (m, 3H), 2,29-2,17 (m, 4H), 1,90-1,76 (m, 4H), 1,69-1,53 (m, 2H), 1,52-1,41 (m, 33H), 1,36-1,20 (m, 29H).

#### L15

[0412] Раствор соединения L15a (100 мг, 0,112 ммоль, 1 экв.) в DCM (2 мл) обрабатывали TFA (2 мл) в течение 30 минут. Смесь концентрировали, совместно выпаривали с гексаном, растворяли в 20 мл DCM и охлаждали до 0°C. Добавляли DIEA (79 мкл, 0,45 ммоль, 4 экв.), а затем бромуксусный ангидрид (60 мг, 0,231 ммоль, 2,05 экв.), растворенный в 1 мл DCM. Затем реакционную смесь перемешивали в течение 30 минут при 0°C и в течение 90 минут при комнатной температуре и удаляли растворитель. В результате очистки методом колоночной флэш-хроматографии на силикагеле получали L15 в виде белого твердого вещества (17,5 мг, 0,02 ммоль, 18%). МС (ИЭР<sup>+</sup>) m/z 873,21 ([M+H]<sup>+</sup>), 875,20 ([M+H]<sup>+</sup>). ЯМР <sup>1</sup>H (400 МГц, метанол-d<sub>4</sub>) δ 4,38 (dd, J = 8,4, 5,5 Гц, 1H), 3,91 (q, J = 11,4 Гц, 2H), 3,84 (s, 2H), 3,72-3,61 (m, 8H), 3,56 (td, J = 5,5, 2,7 Гц, 4H), 3,44-3,35 (m, 5H), 3,30-3,17 (m, 2H), 2,29 (t, J = 7,4 Гц, 2H), 2,21 (t, J = 7,5 Гц, 2H), 1,92-1,77 (m, 1H), 1,75-1,53 (m, 7H), 1,40-1,27 (m, 27H).

**Пример 21. Синтез L16****Промежуточное соединение L16a**

[0413] К раствору Boc-Orn(Boc)-OH (400 мг, 1,2 ммоль, 1 экв.), растворенного в DMF (10 мл), добавляли HATU (504 мг, 1,32 ммоль, 1,1 экв.), DIEA (230 мкл, 1,32 ммоль, 1,1 экв.) и амин-PEG<sub>2</sub>-N<sub>3</sub> (210 мг, 1,20 ммоль, 1 экв.), растворенные в 1 мл DMF. Реакционную смесь перемешивали в течение 4 часов при комнатной температуре. Продукт разбавляли EtOAc. Органический слой последовательно промывали раствором 1 М HCl, насыщенным раствором NaHCO<sub>3</sub> и концентрированным раствором NaCl, сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтровали и концентрировали. В результате очистки методом колоночной флэш-хроматографии на силикагеле получали желаемое соединение L16a в виде масла (471 мг, 0,96 ммоль, 80%). ЯМР <sup>1</sup>H (400 МГц, метанол-d<sub>4</sub>) δ 4,01 (t, J = 6,6 Гц, 1H), 3,71-3,60 (m, 6H), 3,55 (t, J = 5,5 Гц, 2H), 3,41-3,37 (m, 3H), 3,04 (t, J = 6,2 Гц, 2H), 1,78-1,66 (m, 1H), 1,62-1,48 (m, 3H), 1,48-1,39 (m, 18H).

**Промежуточное соединение L16b**

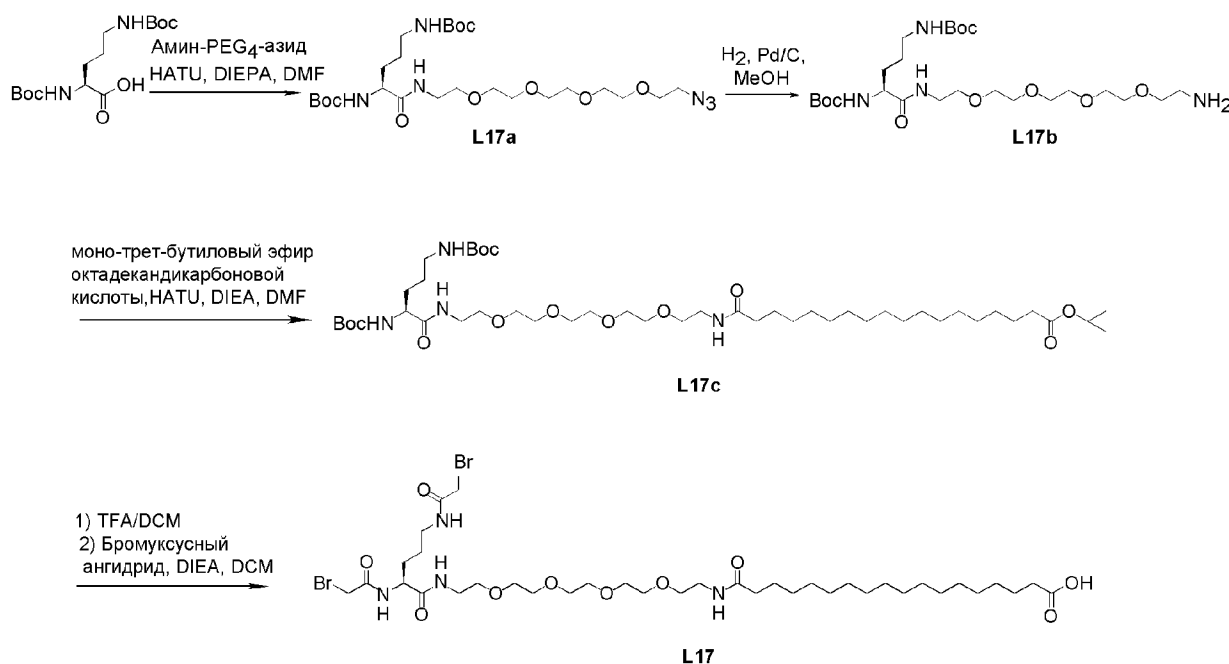
[0414] К раствору соединения L16a (471 мг, 0,9 ммоль, 1 экв.) в безводном MeOH (10 мл) в атмосфере аргона добавляли Pd/C (10,2 мг, 0,09 ммоль, 0,1 экв.), и аргон вытесняли водородом. Реакционную смесь перемешивали в течение 6 часов при комнатной температуре, фильтровали на целите и выпаривали с получением соединения L16b в виде масла (295,5 мг, 0,64 ммоль, 71%). Продукт использовали без дополнительной очистки. MS (ИЭР<sup>+</sup>) m/z 462,51 ([M+H]<sup>+</sup>).

**Промежуточное соединение L16c**

[0415] К раствору моно-трет-бутилового эфира октадекандикарбоновой кислоты (281 мг, 0,76 ммоль, 1 экв.), растворенного в DMF (5 мл), добавляли HATU (288 мг, 0,76 ммоль, 1 экв.), DIEA (132 мкл, 0,76 ммоль, 1 экв.) и соединение L16b (351 мг, 0,76 ммоль, 1 экв.), растворенное в 1 мл DMF. Реакционную смесь перемешивали в течение 3 часов при комнатной температуре. Продукт разбавляли EtOAc. Органический слой последовательно промывали раствором 1 М HCl, насыщенным раствором NaHCO<sub>3</sub> и концентрированным раствором NaCl, сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтровали и концентрировали. В результате очистки методом колоночной флэш-хроматографии на силикагеле получали желаемое соединение L16c в виде масла (351 мг, 0,43 ммоль, 57%). ЯМР <sup>1</sup>H (400 МГц, метанол-d<sub>4</sub>) δ 3,61 (s, 4H), 3,54 (td, J = 5,6, 2,3 Гц, 4H), 3,40-3,34 (m, 4H), 3,04 (t, J = 6,6 Гц, 2H), 2,20 (td, J = 7,6, 5,9 Гц, 4H), 1,77-1,68 (m, 2H), 1,64-1,48 (m, 2H), 1,48-1,42 (m, 28H), 1,35-1,26 (m, 26H).

L16

[0416] Раствор соединения L16с (31 мг, 0,038 ммоль, 1 экв.) в DCM (2 мл) обрабатывали TFA (2 мл) в течение 30 минут. Смесь концентрировали, совместно выпаривали с гексаном, растворяли в 20 мл DCM и охлаждали до 0°C. Добавляли DIEA (27 мкл, 0,152 ммоль, 4 экв.), а затем бромуксусный ангидрид (21 мг, 0,078 ммоль, 2,05 экв.), растворенный в 1 мл DCM. Затем реакцию смесь перемешивали в течение 30 минут при 0°C и в течение 30 минут при комнатной температуре и удаляли растворитель. В результате очистки методом колоночной флэш-хроматографии на силикагеле получали L16 в виде белого твердого вещества (12,6 мг, 0,015 ммоль, 41%). МС (ИЭР<sup>+</sup>) m/z 801,13 ([M+H]<sup>+</sup>), 803,12 ([M+H]<sup>+</sup>). ЯМР <sup>1</sup>H (400 МГц, метанол-d<sub>4</sub>) δ 4,37 (dd, J = 8,5, 5,4 Гц, 1H), 3,91 (q, J = 11,3 Гц, 2H), 3,84 (s, 2H), 3,63 (s, 4H), 3,57 (td, J = 5,6, 2,6 Гц, 4H), 3,43-3,36 (m, 4H), 3,31-3,17 (m, 1H), 2,29 (t, J = 7,4 Гц, 2H), 2,21 (t, J = 7,5 Гц, 2H), 1,90-1,79 (m, 1H), 1,76-1,54 (m, 7H), 1,41-1,30 (m, 26H).

**Пример 22. Синтез L17**Промежуточное соединение L17a

[0417] К раствору Boc-Orn(NHBoc)-OH (400 мг, 1,2 ммоль, 1 экв.), растворенного в DMF (10 мл), добавляли HATU (504 мг, 1,32 ммоль, 1,1 экв.), DIEA (230 мкл, 1,32 ммоль, 1,1 экв.) и амин-PEG<sub>2</sub>-N<sub>3</sub> (316 мг, 1,20 ммоль, 1 экв.), растворенные в 1 мл DMF. Реакционную смесь перемешивали в течение 4 часов при комнатной температуре. Продукт разбавляли EtOAc. Органический слой последовательно промывали раствором 1 М HCl, насыщенным раствором NaHCO<sub>3</sub> и концентрированным раствором NaCl, сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтровали и концентрировали. В результате очистки методом колоночной флэш-хроматографии на силикагеле получали желаемое соединение L17a в виде масла (454 мг, 0,78 ммоль, 66%). ЯМР <sup>1</sup>H (400 МГц, метанол-d<sub>4</sub>) δ 4,04-3,97 (m, 1H), 3,71-3,58 (m, 14H), 3,54 (t, J = 5,4 Гц, 2H), 3,37 (t, J = 5,0 Гц, 4H), 3,04 (t, J = 6,6 Гц, 2H), 1,75-1,67 (m, 1H), 1,62-1,48 (m, 3H), 1,48-1,41 (m, 18H).

Промежуточное соединение L17b

[0418] К раствору соединения L17a (454 мг, 0,9 ммоль, 1 экв.) в безводном MeOH (10 мл) в атмосфере аргона добавляли Pd/C (8,3 мг, 0,078 ммоль, 0,1 экв.), и аргон вытесняли водородом. Реакционную смесь перемешивали в течение 6 часов при комнатной температуре, фильтровали на целите и

выпаривали с получением соединения L17b в виде масла (192 мг, 0,35 ммоль, 45%). Продукт использовали без дополнительной очистки.

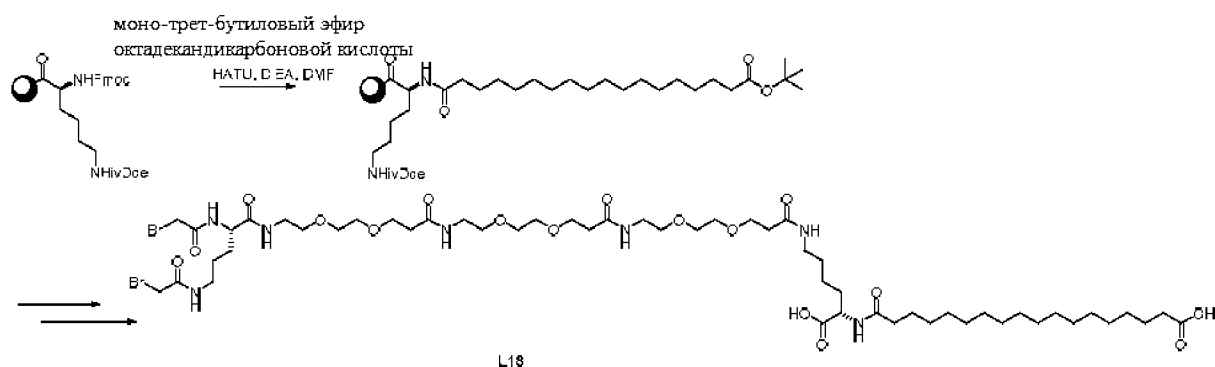
#### Промежуточное соединение L17c

[0419] К раствору моно-трет-бутилового эфира октадекандикарбоновой кислоты (225 мг, 0,61 ммоль, 1 экв.), растворенного в DMF (5 мл), добавляли HATU (231 мг, 0,61 ммоль, 1 экв.), DIEA (106 мкл, 0,61 ммоль, 1 экв.) и соединение L17b (335 мг, 0,61 ммоль, 1 экв.), растворенное в 1 мл DMF. Реакционную смесь перемешивали в течение 2 ч при комнатной температуре. Продукт разбавляли EtOAc. Органический слой последовательно промывали раствором 1 М HCl, насыщенным раствором NaHCO<sub>3</sub> и концентрированным раствором NaCl, сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтровали и концентрировали. В результате очистки методом колоночной флэш-хроматографии на силикагеле получали желаемое соединение L17c в виде масла (178 мг, 0,20 ммоль, 32%). ЯМР <sup>1</sup>H (400 МГц, хлороформ-d) δ 5,32 (s, 2H), 3,74-3,63 (m, 11H), 3,59 (dt, J = 10,9, 5,0 Гц, 4H), 3,52-3,43 (m, 4H), 3,27-3,08 (m, 2H), 2,22 (d, J = 7,6 Гц, 4H), 1,69-1,52 (m, 6H), 1,51-1,42 (m, 27H), 1,27 (s, 26H).

#### L17

[0420] Раствор соединения L17c (45,6 мг, 0,05 ммоль, 1 экв.) в DCM (2 мл) обрабатывали ТФУ (2 мл) в течение 30 мин. Смесь концентрировали, совместно выпаривали с гексаном, растворяли в 20 мл DCM и охлаждали до 0°C. Добавляли DIEA (36 мкл, 0,202 ммоль, 4 экв.), а затем бромуксусный ангидрид (27 мг, 0,103 ммоль, 2,05 экв.), растворенный в 1 мл DCM. Затем реакционную смесь перемешивали в течение 30 мин при 0°C и в течение 90 минут при комнатной температуре и удаляли растворитель. В результате очистки методом колоночной флэш-хроматографии на силикагеле получали L17 в виде белого твердого вещества (14,9 мг, 0,017 ммоль, 33%). МС (ИЭР<sup>+</sup>) m/z 889,18 ([M+H]<sup>+</sup>), 891,17 ([M+H]<sup>+</sup>) ЯМР <sup>1</sup>H (400 МГц, метанол-d<sub>4</sub>) δ 4,38 (dd, J = 8,3, 5,5 Гц, 1H), 3,92 (q, J = 11,3 Гц, 2H), 3,84 (s, 2H), 3,67-3,60 (m, 7H), 3,56 (td, J = 5,5, 3,5 Гц, 4H), 3,45-3,35 (m, 5H), 3,32-3,15 (m, 3H), 2,29 (t, J = 7,4 Гц, 2H), 2,21 (t, J = 7,5 Гц, 2H), 1,90-1,76 (m, 1H), 1,74-1,57 (m, 7H), 1,41-1,26 (m, 25H).

#### **Пример 23. Синтез L18**



[0421] Общий протокол A, B, D (октадекандикарбоновая кислота), C, D (Fmoc-PEG<sub>2</sub>-пропионовая кислота), B, (Fmoc-PEG<sub>2</sub>-пропионовая кислота), B, (Fmoc-PEG<sub>2</sub>-пропионовая кислота), B, D (Fmoc-Om(Fmoc)-OH), B, E, F.

[0422] Неочищенный продукт очищали полупрепаративной ВЭЖХ с масс-спектрометрическим детектором и получали продукт L18 в виде белого твердого вещества (47 мг, 0,036 ммоль, 10%). МС (ИЭР<sup>+</sup>) m/z 1276,39 ([M+H]<sup>+</sup>), 1278,37 ([M+H]<sup>+</sup>).

#### **Общая процедура бромацетилпептидного сшивания/конъюгации**

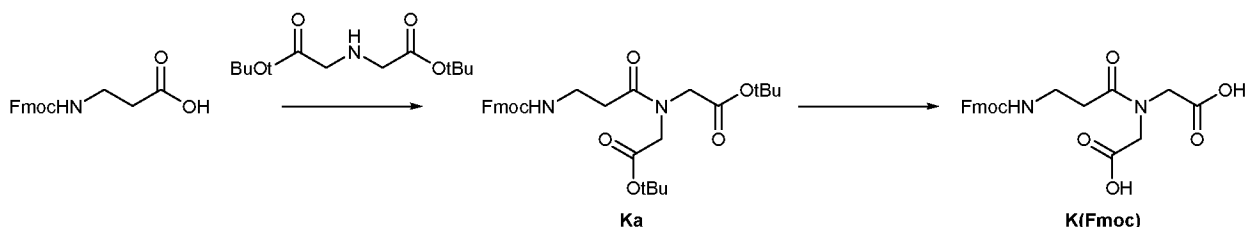
[0423] Пептиды растворяли в концентрации 2 мМ с 1,5 экв. бромацетилового сшивающего вещества в буферном растворе 1:3 (об./об.) MeCN/30 мМ NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub> (pH 8,5). Значение pH реакционной смеси повторно регулировали, добавляя гидроксид аммония, чтобы скорректировать снижение pH, вызванное противоионом пептида TFA. Добавляли дополнительное количество MeCN для особенно нерастворимых пептидов. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2-4 часов, затем подкисляли до pH 5 добавлением уксусной кислоты в капельном режиме. Полученный раствор лиофилизировали и очищали ВЭЖХ с обращенной фазой.

#### Общие твердофазные протоколы лактамного сшивания

[0424] Система пептид-смола, содержащая в качестве ортогональной защиты 1-(4,4-диметил-2,6-диоксоциклогекс-1-илиден)этил/(4-метоксифенил)дифенилметил (Dde/Mmt) боковой цепи амина в каждом положении сшивания, была подвергнута набуханию в DMF в течение 1 часа. Защитную группу Dde удаляли с первой боковой цепи обработкой 2% раствором гидразина в DMF (2 × 15 мин). Наблюдали положительный результат анализа TNBS. Указанный ниже структурный блок линкера связывали согласно описанию и наблюдали отрицательный результат анализа TNBS. Растворитель заменяли DCM, и группу Mmt удаляли со второй боковой цепи путем обработки (5 × 2 мин) раствором 1% TFA в DCM, содержащем 5% TIPS (триизопропилсилиловый эфир). Смолу промывали DCM, 10% DIEA в DMF, DMF и наблюдали положительный тест TNBS. Линкер подвергали циклизации, а участок PEG-жирная кислота сшивающего фрагмента (если применимо) удлиняли, как описано ниже. Полный сшитый пептид отделяли от смолы, используя 95% TFA, 2,5% TIPS, 2,5% H<sub>2</sub>O в течение 3 часов. Смесь для отделения пептидов упаривали до масла, растирали в порошок, промывали диэтиловым эфиром и очищали ВЭЖХ с обращенной фазой.

Для этого подхода также можно использовать схему защиты Dde/Alloc, которая требует добавления аллилового спирта в смесь для снятия защиты Dde в качестве поглотителя для предотвращения одновременного восстановления аллильного фрагмента Alloc (аллилкарбонил).

#### Синтез линкера K(Fmoc)

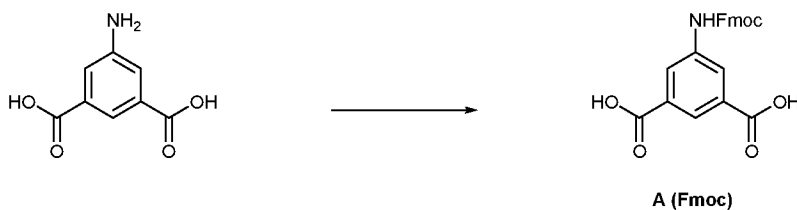


#### Промежуточное соединение Ka

[0425] Fmoc-β-Ala-OH (1,00 г, 3,21 ммоль) и ди-трет-бутилиминодиацетат (0,461 г, 2,68 ммоль) суспендировали в 100 мл DCM. Добавляли HATU (1,02 г, 2,68 ммоль) и DIEA (3,32 мл, 12,8 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3,5 часов. Растворитель выпаривали, а остаток растворяли в MeOH и очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии на силикагеле (гексан/EtOAc) с получением продукта в виде белого твердого вещества (0,802 г, 56%). ЯМР <sup>1</sup>H (400 МГц, хлороформ-d) δ 7,78 (d, J = 7,4 Гц, 2H), 7,62 (d, J = 7,4 Гц, 2H), 7,42 (t, J = 7,4 Гц, 2H), 7,33 (t, J = 7,4 Гц, 2H), 5,66 (t, J = 5,7 Гц, 1H), 4,35 (d, J = 7,3 Гц, 2H), 4,23 (t, J = 7,3 Гц, 1H), 4,10 (s, 2H), 4,02 (s, 2H), 3,56 (q, J = 5,7 Гц, 2H), 2,55 (t, J = 5,7 Гц, 2H), 1,49 (s, 18H).

#### Линкер K(Fmoc)

[0426] Соединение Ka обрабатывали 20 мл 1:1 TFA/DCM в течение 2 часов. Растворитель выпаривали, а остаток растирали и промывали диэтиловым эфиром с получением линкера K(Fmoc) в виде белого твердого вещества (0,371 г, 58%). MS (ИЭР<sup>+</sup>) m/z 427,15 ([M+H]<sup>+</sup>).

**Синтез линкера A(Fmoc)**

[0427] Раствор 5-аминоизофталевой кислоты (1,00 г, 5,5 ммоль) в 10 мл диоксана добавляли к дегазированному раствору  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (1,46 г, 5,5 ммоль) в 15 мл воды. Раствор охлаждали на льду и затем добавляли в капельном режиме раствор хлорида Fmoc (1,42 г, 5,5 ммоль) в 10 мл диоксана при перемешивании в течение 15 минут. После этого реакционную смесь перемешивали в течение 1 часа, а затем в течение 24 часов при комнатной температуре. Диоксан удаляли в вакууме, а оставшийся водный раствор подкисляли 1 М HCl. Затем полученный твердый осадок промывали диэтиловым эфиром ( $4 \times 10$  мл), повторно растворяли в EtOAc, фильтровали, промывали соляным раствором, сушили над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , фильтровали и концентрировали с получением линкера A (Fmoc) в виде белого твердого вещества (119 мг, 5%). ЯМР  $^1\text{H}$  (500 МГц, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  13,24 (s, 2H), 10,12 (s, 1H), 8,33 (d,  $J = 1,5$  Гц, 2H), 8,12 (t,  $J = 1,5$  Гц, 1H), 7,91 (d,  $J = 7,6$  Гц, 2H), 7,76 (dd,  $J = 7,6, 1,2$  Гц, 2H), 7,43 (t,  $J = 7,6$  Гц, 2H), 7,36 (td,  $J = 7,6, 1,2$  Гц, 2H), 4,50 (d,  $J = 6,8$  Гц, 2H), 4,33 (t,  $J = 6,8$  Гц, 1H).

**Общий протокол G для простых лактамных сшивающих фрагментов серии «A1» и «K1»**

[0428] Для связывания линкера соответствующий структурный блок двухосновной кислоты (2 экв.) присоединяли с применением HATU (4 экв.) и DIEA (4 экв.) в DMF,  $1 \times 2$  часа. Стадия циклизации была осуществлена с применением HATU (1 экв.) и DIEA (2 экв.) в DMF,  $1 \times 2$  ч.

**Общий протокол H для трифункциональных лактамных сшивающих фрагментов PEG-жирная кислота серии «K»**

[0429] Для связывания линкера внутримолекулярный симметричный ангидрид структурного блока K(Fmoc) линкера (2 экв.) предварительно получали с применением DIC (2 экв.) и каталитического количества DMAP в сухом DCM в течение 10 минут при комнатной температуре. Растворитель системы пептид-смола заменяли DCM, затем добавляли ангидрид и перемешивали в течение ночи. Смолу осушали, промывали DCM и DMF. Линкер подвергали циклизации в течение ночи путем обработки DIC (1 экв.) и HOBT или HOAt (1 экв.) в DMF, и наблюдали отрицательный результат анализа TNBS. Оставшийся нециклизованный линкер блокировали обработкой 10% уксусным ангидридом в DMF (30 мин). Группа линкера Fmoc была лишена защиты путем обработки 20% пиперидином в DMF ( $2 \times 10$  мин). Наблюдали положительный результат анализа TNBS. Затем сшивающие структурные блоки PEG и жирных кислот были последовательно присоединены к амину, не содержащему линкер, с помощью стандартной процедуры химического сшивания: структурный блок (3 экв.), HATU (3 экв.) и DIEA (6 экв.) в DMF в течение 1 часа при комнатной температуре с применением 20% пиперидина в DMF для циклов снятия защиты ( $5 + 10$  минут при комнатной температуре).

**Общий протокол I для трифункциональных лактамных сшивающих фрагментов PEG-жирная кислота серии «A»**

[0430] Для связывания линкера линкер структурного блока A(Fmoc) (2 экв.) присоединяли с применением HATU (4 экв.) и DIEA (4 экв.) в DMF ( $1 \times 2$  часа). Стадия циклизации была достигнута с применением HATU (1 экв.) и DIEA (2 экв.) в DMF ( $1 \times 2$  часа). Оставшийся нециклизованный линкер блокировали посредством обработки 10% уксусным ангидридом в DMF (30 минут). Линкерную защитную

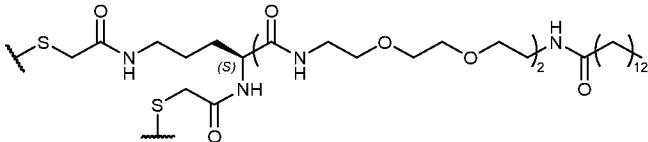
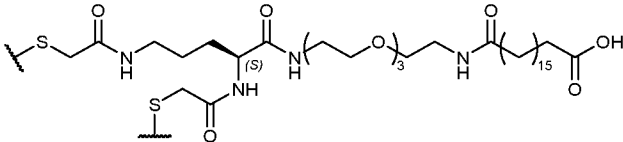
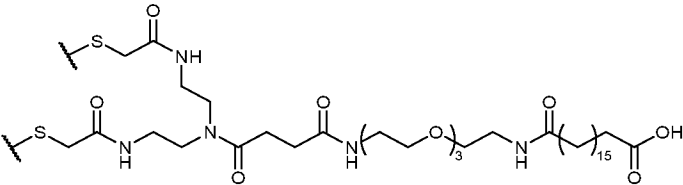
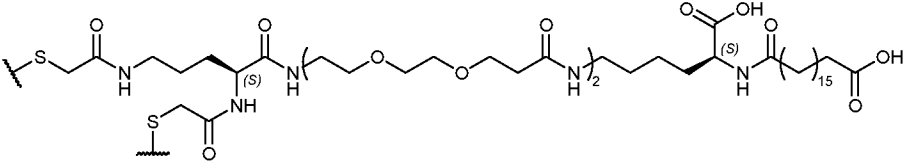
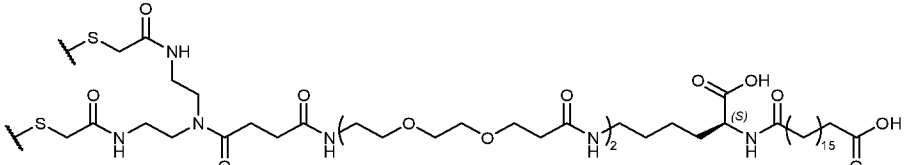
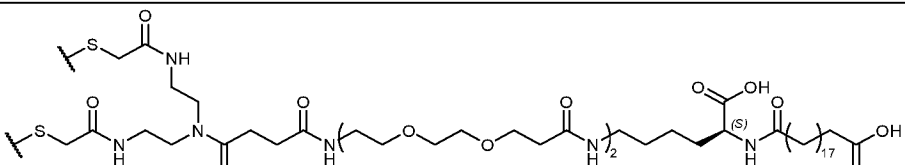
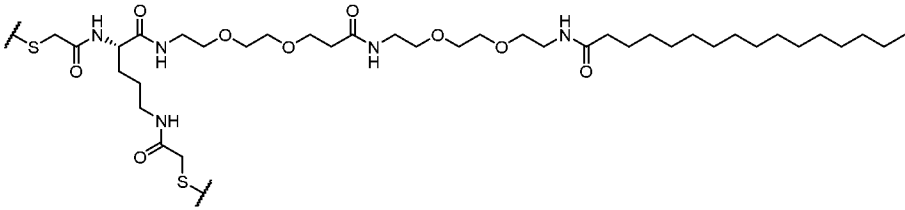
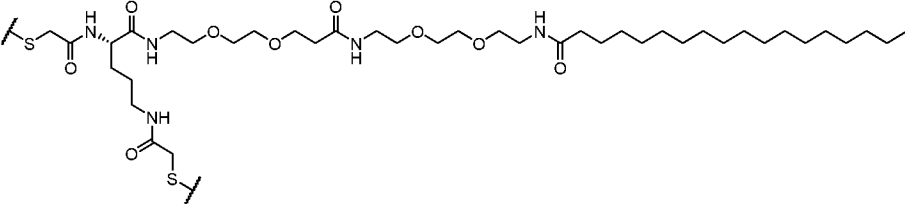
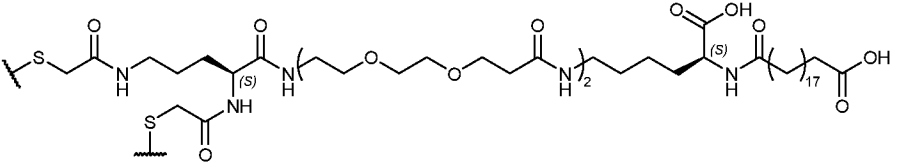


группу Fmoc удаляли посредством обработки 20% пиперидином в DMF (2 × 10 минут). Оказалось невозможным не удалять положительный результат анализа TNBS для анилинового азота. Fmoc-β-Ala-OH (3 экв.) связывали с применением HATU (3 экв.) и DIEA (6 экв.) в DMF (4 × 1 час при комнатной температуре) или в виде симметричного ангидрида с применением DIC/DMAP в ДХМ (2 часа при комнатной температуре). Последующие сшивающие структурные блоки PEG и жирных кислот были последовательно присоединены к амину, не содержащему линкер, с помощью стандартной процедуры химического сшивания: структурный блок (3 экв.), HATU (3 экв.) и DIEA (6 экв.) в DMF в течение 1 часа при комнатной температуре с применением 20% пиперидин в DMF для циклов снятия защиты (5 + 10 минут при комнатной температуре).

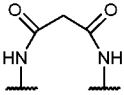
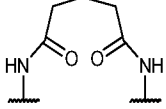
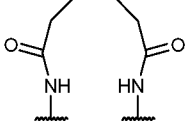
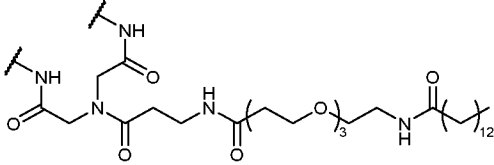
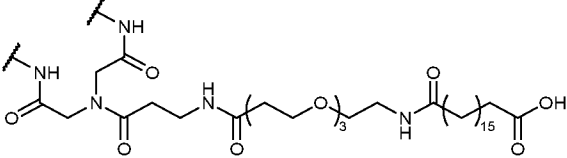
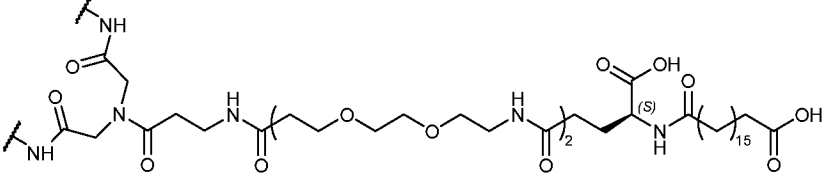
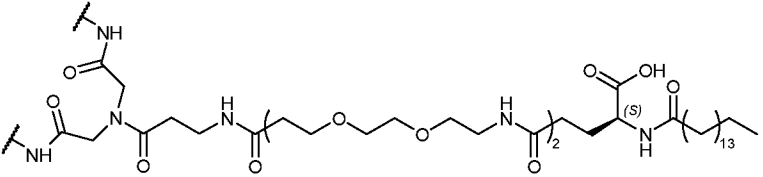
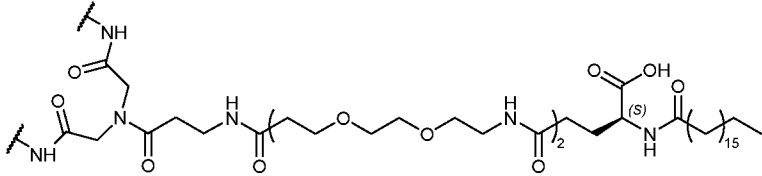
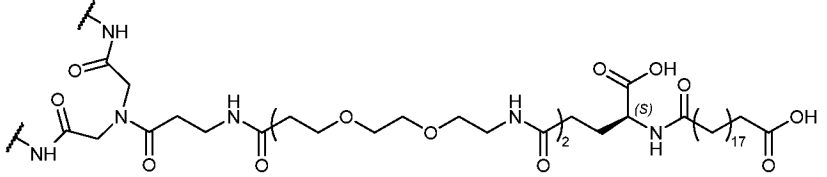
[0431] Согласно некоторым вариантам осуществления пептидный конъюгат, описанный в настоящем документе, содержит увеличивающийся период полуразложения фрагмент или сшивающий фрагмент, представленный в таблице 6.

Таблица 6

Пример	Обозначение	Структура
1	FA2	
2	L1	
3	L1B	
4	L1C	
5	L1D	
6	L1E	
7	L1F	
8	L1G	
	L2	

Пример	Обозначение	Структура
9	L3	
10	L4	
11	L4A	
12	L5	
13	L5A	
	C20L5A	
14	L6	
15	L7	
16	L8	

Пример	Обозначение	Структура
17	L9	
18	L12	
	L13	
19	L14	
20	L15	
21	L16	
22	L17	
23	L18	
	L19	
	K0	
	K1	

Пример	Обозначение	Структура
	K1C	
	K1F	
	K1H	
	K3	
	K4	
	K5	
	K6	
	K7	
	K8	

Пример	Обозначение	Структура
	K9	
	K20	
	A1	
	A5	

[0432] Здесь «-S» представляет собой часть остатка цистина, гомоцистеина, 2-амино-5-меркаптопентановой кислоты или 2-амино-6-меркаптогексановой кислоты, и «-N» представляет собой часть остатка лизина, орнитина, диаминомасляной кислоты, диаминопропионовой кислоты или гомолизина.

[0433] Согласно некоторым вариантам осуществления пептидные конъюгаты PYY, описанные в настоящем документе, являются такими, как представлено в таблице 7.

Таблица 7. Пептидные конъюгаты PYY

Конъюгат	Последовательность	Положение конъюгации	Сшивающий фрагмент	Вычисленная масса	Найденная масса
1	IKPEAPGCDASPEECNRYASLRHYLNLVTRQRY (SEQ ID NO: 3)	8, 15	L1		
2	IKPEAPGCDASPEECNRYASLRHYLNLVTRQRY (SEQ ID NO: 3)	8, 15	L1B	4153,67	4154,12
3	IKPEAPGCDASPEECNRYASLRHYLNLVTRQRY (SEQ ID NO: 3)	8, 15	L1C	4167,70	4168,23
4	IKPEAPGCDASPEECNRYASLRHYLNLVTRQRY (SEQ ID NO: 3)	8, 15	L3	4725,47	4725,90
5	IKPEAPGCDASPEECNRYASLRHYLNLVTRQRY (SEQ ID NO: 3)	8, 15	L4	4696,43	4696,90
6	IKPEAPGCDASPEECNRYASLRHYLNLVTRQRY (SEQ ID NO: 3)	8, 15	L5	4968,73	4969,20

7	IKPEAPGCDASPEECNRYYASLRHYLNLVTRQRY (SEQ ID NO: 3)	8, 15	L5A		
8	IKPEAPGEDASPEELNRYYAACLRHYLNCVTRQRY (SEQ ID NO: 4)	21, 28	L1	4223,76	4224,02
9	IKPEAPGEDASPEELNRYYAACLRHYLNCVTRQRY (SEQ ID NO: 4)	21, 28	L1C	4209,74	4210,00
10	IKPEAPGEDASPEELNRYYAACLRHYLNCVTRQRY (SEQ ID NO: 4)	21, 28	L3	4767,51	4767,89
11	IKPEAPGEDASPEELNRYYAACLRHYLNCVTRQRY (SEQ ID NO: 4)	21, 28	L4	4738,47	4738,97
12	IKPEAPGEDASPEELNRYYAACLRHYLNCVTRQRY (SEQ ID NO: 4)	21, 28	L5	5010,77	5011,18
13	IKPEAPGEDASPEELNRYYAACLRHYLNCVTRQRY (SEQ ID NO: 4)	21, 28	L5A	5081,85	5082,30
14	IKPEAPGEDASPEELNRYYAACLRHYLNCVTRQRY (SEQ ID NO: 4)	21, 28	L8	5038,82	5039,30
15	PKPEAPGCDASPEECNRYYADLRHYLNWLTRQRY (SEQ ID NO: 5)	8, 15	L1	4280,78	4281,20
16	PKPEAPGCDASPEECNRYYADLRHYLNWLTRQRY (SEQ ID NO: 5)	8, 15	L1F	4294,80	4295,00
17	PKPEAPGCDASPEECNRYYADLRHYLNWLTRQRY (SEQ ID NO: 5)	8, 15	L1G	4295,79	4296,10
18	PKPEAPGCDASPEECNRYYADLRHYLNWLTRQRY (SEQ ID NO: 5)	8, 15	L3	4824,52	4825,00
19	PKPEAPGCDASPEECNRYYADLRHYLNWLTRQRY (SEQ ID NO: 5)	8, 15	L4	4795,48	4796,10
20	PKPEAPGCDASPEECNRYYADLRHYLNWLTRQRY (SEQ ID NO: 5)	8, 15	L4A	4863,43	4863,39
21	PKPEAPGCDASPEECNRYYADLRHYLNWLTRQRY (SEQ ID NO: 5)	8, 15	L5	5067,78	5068,30
22	PKPEAPGCDASPEECNRYYADLRHYLNWLTRQRY (SEQ ID NO: 5)	8, 15	L5A	5138,86	5138,51
23	PKPEAPGCDASPEECNRYYADLRHYLNWLTRQRY (SEQ ID NO: 5)	8, 15	L8	5095,84	5096,30
24	PKPEAPGCDASPEECNRYYADLRHYLNWLTRQRY (SEQ ID NO: 5)	8, 15	L9	5039,73	5040,20
25	PKPEAPGCDASPEECNRYYADLRHYLNWLTRQRY (SEQ ID NO: 5)	8, 15	L12	4908,60	4909,00
26	PKPEAPGCDASPEECNRYYADLRHYLNWLTRQRY (SEQ ID NO: 5)	8, 15	L13		
27	PKPEAPGCDASPEECNRYYADLRHYLNWLTRQRY	8, 15	L14	4767,43	4767,90

	(SEQ ID NO: 5)				
28	PKPEAPGCDASPEECNRYYADLRHYLNWLTRQRY (SEQ ID NO: 5)	8, 15	L15	4823,53	4824,00
29	PKPEAPGCDASPEECNRYYADLRHYLNWLTRQRY (SEQ ID NO: 5)	8, 15	L16	4751,43	4751,90
30	PKPEAPGCDASPEECNRYYADLRHYLNWLTRQRY (SEQ ID NO: 5)	8, 15	L17	4839,53	4840,00
31	PKPEAPGCDASPEECNRYYADLRHYLNWLTRQRY (SEQ ID NO: 5)	8, 15	L18	5226,97	5227,40
32	PKPEAPGKDASPEEWNRYYACLRHYLNCLTRQRY (SEQ ID NO: 6)	21, 28	L1	4293,86	4294,34
33	PKPEAPGKDASPEEWNRYYACLRHYLNCLTRQRY (SEQ ID NO: 6)	21, 28	L1C	4279,84	4280,00
34	PKPEAPGKDASPEEWNRYYACLRHYLNCLTRQRY (SEQ ID NO: 6)	21, 28	L1F	4307,89	4308,30
35	PKPEAPGKDASPEEWNRYYACLRHYLNCLTRQRY (SEQ ID NO: 6)	21, 28	L1G	4308,88	4309,00
36	PKPEAPGKDASPEEWNRYYACLRHYLNCLTRQRY (SEQ ID NO: 6)	21, 28	L3	4837,61	4838,10
37	PKPEAPGKDASPEEWNRYYACLRHYLNCLTRQRY (SEQ ID NO: 6)	21, 28	L4	4808,57	4809,00
38	PKPEAPGKDASPEEWNRYYACLRHYLNCLTRQRY (SEQ ID NO: 6)	21, 28	L4A	4876,49	4876,46
39	PKPEAPGKDASPEEWNRYYACLRHYLNCLTRQRY (SEQ ID NO: 6)	21, 28	L5	5080,87	5081,30
40	PKPEAPGKDASPEEWNRYYACLRHYLNCLTRQRY (SEQ ID NO: 6)	21, 28	L5A	5151,95	5152,30
41	PKPEAPGKDASPEEWNRYYACLRHYLNCLTRQRY (SEQ ID NO: 6)	21, 28	L8	5108,92	5109,30
42	PKPEAPGKDASPEEWNRYYACLRHYLNCLTRQRY (SEQ ID NO: 6)	21, 28	L9	5052,81	5053,30
43	PKPEAPGKDASPEEWNRYYACLRHYLNCLTRQRY (SEQ ID NO: 6)	21, 28	L12	4921,68	4922,10
44	PKPEAPGKDASPEEWNRYYACLRHYLNCLTRQRY (SEQ ID NO: 6)	21, 28	L18		
45	PKPEAPGKDASPEEWNRYYACLRHYLNCLTRQRY (SEQ ID NO: 6)	21, 28	FA2 (x2)	5724,04	5723,99
46	PKPEAPGKDASPEEKNRYYADLRHYLNWLTRQR Y (SEQ ID NO: 7)	8, 15	K1		
47	PKPEAPGKDASPEEKNRYYADLRHYLNWLTRQR Y (SEQ ID NO: 7)	8, 15	K3		

48	PKPEAPGKDASPEEKNRYYADLRHYLNWLTRQRY (SEQ ID NO: 7)	8, 15	K4		
49	PKPEAPGKDASPEEKNRYYADLRHYLNWLTRQRY (SEQ ID NO: 7)	8, 15	K5		
50	PKPEAPGKDASPEEKNRYYADLRHYLNWLTRQRY (SEQ ID NO: 7)	8, 15	A5		
51	PKPEAPGKDASPEEWNRYYAKLRHYLNKLTRQRY (SEQ ID NO: 8)	21, 28	K1	4255,18	4255,12
52	PKPEAPGKDASPEEWNRYYAKLRHYLNKLTRQRY (SEQ ID NO: 8)	21, 28	K1C		
53	PKPEAPGKDASPEEWNRYYAKLRHYLNKLTRQRY (SEQ ID NO: 8)	21, 28	K1F	4269,20	4269,13
54	PKPEAPGKDASPEEWNRYYAKLRHYLNKLTRQRY (SEQ ID NO: 8)	21, 28	K1H	4283,21	4283,16
55	PKPEAPGKDASPEEWNRYYAKLRHYLNKLTRQRY (SEQ ID NO: 8)	21, 28	K3		
56	PKPEAPGKDASPEEWNRYYAKLRHYLNKLTRQRY (SEQ ID NO: 8)	21, 28	K4		
57	PKPEAPGKDASPEEWNRYYAKLRHYLNKLTRQRY (SEQ ID NO: 8)	21, 28	K5	5084,69	5084,69
58	PKPEAPGKDASPEEWNRYYAKLRHYLNKLTRQRY (SEQ ID NO: 8)	21, 28	A1	4303,18	4303,15
59	PKPEAPGKDASPEEWNRYYAKLRHYLNKLTRQRY (SEQ ID NO: 8)	21, 28	A5	5132,69	5132,68
60	PKPEAPGKDASPEEWNRYYA[Orn]LRHYLN[Orn]LTRQRY (SEQ ID NO: 9)	21, 28	K5		
61	PKPEAPGKDASPEEWNRYYA[Orn]LRHYLN[Orn]LTRQRY (SEQ ID NO: 9)	21, 28	A5		
62	PKPEAPGCDASPEEWNRYYADLRHYLNWLTRQRY (SEQ ID NO: 10)	8	FA2	4996,69	4997,10
63	PKPEAPGKDASPEECNRYYADLRHYLNWLTRQRY (SEQ ID NO: 11)	15	FA2	4938,65	4939,20
64	PKPEAPGKDASPEEWNRYYACLRHYLNWLTRQRY (SEQ ID NO: 12)	21	FA2	5009,77	5010,20
65	PKPEAPGKDASPEEWNRYYADLRHYLNCLTRQRY (SEQ ID NO: 13)	28	FA2	4938,65	4939,10
66	PKPEAPGCDASPEEWNRYYACLRHYLNCLTRQRY (SEQ ID NO: 14)	8 (FA2), 21 + 28 (L1)	L1 + FA2	5067,51	5066,45
67	PKPEAPGCDASPEECNRYYACLRHYLNWLTRQRY (SEQ ID NO: 15)	8 + 15 (L1), 21	L1 + FA2		



		(FA2)			
68	HCIKPEAPCEDASPEELNRYYYASLRHYLNLVTRQR Y (SEQ ID NO: 16)	2, 9	L1	4504,09	4504,30
69	HCIKPEAPCEDASPEELNRYYYASLRHYLNLVTRQR Y (SEQ ID NO: 16)	2, 9	L3	5047,84	5048,20
70	HCIKPEAPCEDASPEELNRYYYASLRHYLNLVTRQR Y (SEQ ID NO: 16)	2, 9	L4	5018,80	5019,28
71	HCIKPEAPCEDASPEELNRYYYASLRHYLNLVTRQR Y (SEQ ID NO: 16)	2, 9	L5	5291,10	5291,63
72	HIKPEAPGCDASPEECNRYYYASLRHYLNLVTRQR Y (SEQ ID NO: 17)	9, 16	L1	4318,87	4319,05
73	HIKPEAPGCDASPEECNRYYYASLRHYLNLVTRQR Y (SEQ ID NO: 17)	9, 16	L3	4725,47	4725,90
74	HIKPEAPGCDASPEECNRYYYASLRHYLNLVTRQR Y (SEQ ID NO: 17)	9, 16	L4	4696,43	4696,90
75	HIKPEAPGCDASPEECNRYYYASLRHYLNLVTRQR Y (SEQ ID NO: 17)	9, 16	L5	4968,73	4969,20
76	HIKPEAPGEDASPEECNRYYYASCRHYLNLVTRQR Y (SEQ ID NO: 18)	16, 23	L1	4334,82	4335,10
77	HIKPEAPGEDASPEECNRYYYASCRHYLNLVTRQR Y (SEQ ID NO: 18)	16, 23	L3	4878,57	4879,00
78	HIKPEAPGEDASPEECNRYYYASCRHYLNLVTRQR Y (SEQ ID NO: 18)	16, 23	L4	4849,53	4849,72
79	HIKPEAPGEDASPEECNRYYYASCRHYLNLVTRQR Y (SEQ ID NO: 18)	16, 23	L5	5121,83	5121,90
80	IKPEAPGEDASPEELCRYYYASLCHYLNLVTRQRY (SEQ ID NO: 19)	16, 23	L1	4153,71	4153,98
81	IKPEAPGEDASPEELCRYYYASLCHYLNLVTRQRY (SEQ ID NO: 19)	16, 23	L3	4697,46	4697,88
82	IKPEAPGEDASPEELCRYYYASLCHYLNLVTRQRY (SEQ ID NO: 19)	16, 23	L4	4668,41	4668,90
83	IKPEAPGEDASPEELCRYYYASLCHYLNLVTRQRY (SEQ ID NO: 19)	16, 23	L5	4940,72	4941,10
84	IKPEAPGEDASPEELNCYYASLRHYLNLVTRQRY (SEQ ID NO: 20)	17, 24	L1		
85	HIKPEAPGEDASPEELNRCYASLRHCLNLVTRQRY (SEQ ID NO: 21)	19, 26	L1	4234,79	4235,05
86	HIKPEAPGEDASPEELNRCYASLRHCLNLVTRQRY (SEQ ID NO: 21)	19, 26	L3	4778,54	4778,97
87	HIKPEAPGEDASPEELNRCYASLRHCLNLVTRQRY (SEQ ID NO: 21)	19, 26	L4	4749,50	4749,80

88	HIKPEAPGEDASPEELNRCYASLRHCLNLVTRQRY (SEQ ID NO: 21)	19, 26	L5	5021,80	5022,24
89	IKPEAPGEDASPEELNRYCASLRHYCNLVTRQRY (SEQ ID NO: 22)	19, 26	L1	4147,67	4147,96
90	IKPEAPGEDASPEELNRYCASLRHYCNLVTRQRY (SEQ ID NO: 22)	19, 26	L3	4691,41	4691,90
91	IKPEAPGEDASPEELNRYCASLRHYCNLVTRQRY (SEQ ID NO: 22)	19, 26	L4	4662,37	4662,70
92	IKPEAPGEDASPEELNRYCASLRHYCNLVTRQRY (SEQ ID NO: 22)	19, 26	L5	4934,67	4935,10
93	IKPEAPGEDASPEELNRYCYASLRHYLCLVTRQRY (SEQ ID NO: 23)	20, 27	L1	4238,82	4238,82
94	HIKPEAPGEDASPEELNRYYASCRHYLNLCTRQRY (SEQ ID NO: 24)	23, 30	L1	4348,85	4349,20
95	IKPEAPGCDASPEELNRYCASLRHYLNLVTRQRY (SEQ ID NO: 25)	8, 19	L1D	4173,79	4174,09
96	IKPEAPGEDACPEELNRYYASCRHYLNLVTRQRY (SEQ ID NO: 26)	11, 22	L1D	4265,85	4266,00
97	IKPEAPCEDASPEELNRYYASCRHYLNLVTRQRY (SEQ ID NO: 27)	7, 22	L1E	4351,98	4351,26
98	IKPEAPGEDASPCELNRYYASLRHYLNCVTRQRY (SEQ ID NO: 28)	13, 28	L1E	4279,92	4280,06
99	IKPEAPGEDASCEELNRYYASLRHYLNCVTRQRY (SEQ ID NO: 29)	12, 28	L1E		
100	IKPEAPGEDASPEELNCYYASLRHYLNCVTRQRY (SEQ ID NO: 30)	17, 28	L1D	4196,74	4196,98
101	IKPEAPGCDASPEECNRYYASLRHYLNVVTRQ[N- MeR]Y (SEQ ID NO: 33)	8, 15	L1	4267,80	4269,10
102	IKPEAPGCDASPEECNRYYASLRHYLNVVTRQ[N- MeR]Y (SEQ ID NO: 33)	8, 15	L3	4811,55	4812,94
103	IKPEAPGCDASPEECNRYYASLRHYLNVVTRQ[N- MeR]Y (SEQ ID NO: 33)	8, 15	L4	4782,51	4783,94
104	IKPEAPGCDASPEECNRYYASLRHYLNVVTRQ[N- MeR]Y (SEQ ID NO: 33)	8, 15	L5	5054,81	5056,30
105	IKPEAPGEDASPEELNRYYACLRYLNCVTRQ[N- MeR]Y (SEQ ID NO: 34)	21, 28	L1	4235,08	4235,10
106	PKPEAPGCDASPEECNRYYADLRHYLNLVTRQ[N- MeR]Y (SEQ ID NO: 35)	8, 15	L5		
107	IKPEAPGCDASLEECNRYYASLRHYLNLVTRQRY (SEQ ID NO: 36)	8, 15	L1	4197,77	4198,11
108	IKPEAPGCDASLEECNRYYASLRHYLNLVTRQRY	8, 15	L1B	4169,72	4169,97

	(SEQ ID NO: 36)				
109	IKPEAPGCDASLEECNRYASLRHYLNLVTRQRY (SEQ ID NO: 36)	8, 15	L1C	4183,74	4183,98
110	IKPEAPGCDASVEECNRYASLRHYLNLVTRQRY (SEQ ID NO: 37)	8, 15	L1	4183,74	4184,01
111	IKPEAPGCDASVEECNRYASLRHYLNLVTRQRY (SEQ ID NO: 37)	8, 15	L1B	4155,69	4155,97
112	IKPEAPGCDASVEECNRYASLRHYLNLVTRQRY (SEQ ID NO: 37)	8, 15	L1C	4169,72	4169,98
113	IKPECPGEDASPEELQRYASLRHYLNWVTRQ[бета a-hArg]Y (SEQ ID NO: 38)	5	FA2		
114	HIKPECPGEDASPEELQRYASLRHYLNWVTRQ[бета era-hArg]Y (SEQ ID NO: 39)	6	FA2	5117,64	5117,62
115	Изовалерил- RPECPGEDASPEELQRYASLRHYLNWVTRQ[бета -hArg]Y (SEQ ID NO: 40)	4	FA2		
116	Ac-IC[Pqa]RHYLNWVTRQ[N-MeR]Y (SEQ ID NO: 41)	2	FA2		
117	Ac-IK[Ahx]CNRYASCRHYLNWVTRQ[N-MeR]Y (SEQ ID NO: 42)	4, 11	L1		
118	Ac-IK[Pqa]CNRYASCRHYLNWVTRQ[N-MeR]Y (SEQ ID NO: 43)	4, 11	L1		
119	YESK[Ahx]CARYSACRHYINLITRQRY (SEQ ID NO: 44)	6, 13	L1		
120	YESK[Ahx]CEDLARYCSALRHYINLITRQRY (SEQ ID NO: 45)	6, 13	L1		

[0434] Согласно некоторым вариантам осуществления пептидные конъюгаты двойных агонистов GLP-1R/GCGR, описанные в настоящем документе, являются такими, как представлено в таблице 8.

Таблица 8. Пептидные конъюгаты двойных агонистов GLP-1R/GCGR

Конъюгат	Последовательность	Положение конъюгации	Сшивающий фрагмент	Вычисленная масса	Найденная масса
121	H[D-Ser]QGTFTSDYSKYLDEKAAKEFIKWLLNGGPSSGAPPSS (SEQ ID NO: 48)	17, 24	K5	1281,66	1281,91
122	H[D-Ser]QGTFTSDYSKYLDEKAAKEFIKWLLNGGPSSGAPPSS (SEQ ID NO: 48)	17, 24	K4	1220,63	1220,87
123	H[D-Ser]QGTFTSDYSKYLDEKAAKEFIKWLLRA (SEQ ID NO: 49)	17, 24	K4	1026,05	1026,05

124	H[D-Ser]QGTFTSDYSKYLDKAAKEFIKWLLNGGPSSGAPPPS (SEQ ID NO: 48)	17, 24	K0	1095,79	1095,79
125	H[Aib]QGTFTSDYSKYLDKAAKEFIKWLLNGRNRNNIA (SEQ ID NO: 50)	17, 24	K4	1221,15	1221,40
126	H[Aib]QGTFTSDYSKYLDKAAKEFVKWLLN[Aib]GPSSGAPPPS (SEQ ID NO: 51)	17, 24	K4	1227,40	1227,65
127	H[Aib]QGTFTSDYSKYLDKAAQEFVKWLLNGPSSGAPPPS (SEQ ID NO: 52)	17, 24	K4	1206,13	1206,38
128	H[Aib]QGTFTSDYSKYLDKAAKEFKQWLLNGPSSGAPPPS (SEQ ID NO: 53)	16, 23	K4	1209,39	1209,39
129	H[Aib]QGTFTSDYSKYLDKAAKEFKQWLLN[Aib]GRNRNNIA (SEQ ID NO: 54)	16, 23	K4	1260,19	1260,19
130	H[D-Ser]QGT[D-Phe]TSDYSEYLDEKAAKEFIKWLLNGGPSSGAPPPS (SEQ ID NO: 55)	17, 24	K4	1220,87	1220,86
131	H[D-Ser]QGT[D-Phe]TSDYSEYLDEKAAAREFIKWLLAGGPSSGAPPPS (SEQ ID NO: 56)	17, 24	K4	1217,12	1217,11
132	H[D-Ser]QGT[Nle]TSDYSEYLDEKAAKEFIKWLLNGGPSSGAPPPS (SEQ ID NO: 57)	17, 24	K4	1212,37	1212,36
133	H[D-Ser]QGT[LSDYSEYLDEKAAKEFIKWLLNGGPSSGAPPPS (SEQ ID NO: 58)	17, 24	K4	1212,37	1212,37
134	H[D-Ser]QGT[LSDYSEYLDKRRAREFVKWLEAGGPSSGAPPPS (SEQ ID NO: 59)	17, 24	K4	1219,87	1219,86
135	H[D-Ser]QGTFTSDYSKYLDKAAKEFICWLLNGGPSSGAPPPS (SEQ ID NO: 60)	17, 24	L4A	1229,61	1229,86
136	H[D-Ser]QGTFTSDYSKYLDKAAKEFICWLLRA (SEQ ID NO: 61)	17, 24	L4A	1035,03	1035,04
137	H[D-Ser]QGTFTSDYSKYLDKAAKEFICWLLRA (SEQ ID NO: 61)	17, 24	L5A	1103,07	1103,05
138	H[D-Ser]QGTFTSDYSKYLDKAAKEFICWLLNGGPSSGAPPPS (SEQ ID NO: 60)	17, 24	L5A	1297,64	1297,89
188	H[D-Ser]QGTFTSDYSKYLDKAAKEFICWLMNTKRNRNNIA (SEQ ID NO: 80)	17, 24	L1	4524,1	1510,0 ([M+3H] <sup>3+</sup> ), 1132,0

					([M+4H] <sup>4</sup> +)
189	H[D-Ser]QGTFTSDYSKYLDECAAKEFICWLMNTRNRNNIA (SEQ ID NO: 80)	17, 24	L2	4952,7	1651,8 ([M+3H] <sup>3</sup> +), 1239,2 ([M+4H] <sup>4</sup> +)
190	H[D-Ser]QGTFTSDYSKYLDECAAKEFICWLMNTRNRNNIA (SEQ ID NO: 80)	17, 24	L16	5038,8	1680,3 ([M+3H] <sup>3</sup> +), 1260,6 ([M+4H] <sup>4</sup> +)
191	H[D-Ser]QGTFTSDYSKYLDECAAHDFVCWLLRA (SEQ ID NO: 81)	17, 24	L1	3489,9	1164,4 ([M+3H] <sup>3</sup> +), 873,6 ([M+4H] <sup>4</sup> +)
192	H[D-Ser]QGTFTSDYSKYLDECAAHDFVCWLLRA (SEQ ID NO: 81)	17, 24	L2	3918,5	1307,2 ([M+3H] <sup>3</sup> +), 980,6 ([M+4H] <sup>4</sup> +)
193	H[D-Ser]QGTFTSDYSKYLDECAAKEFICWLLRA (SEQ ID NO: 61)	17, 24	L1	3509,0	1170,6 ([M+3H] <sup>3</sup> +), 878,2 ([M+4H] <sup>4</sup> +)
194	H[D-Ser]QGTFTSDYSKYLDECAAKEFICWLLRA (SEQ ID NO: 61)	17, 24	L2	3937,6	1313,6 ([M+3H] <sup>3</sup> +), 985,4 ([M+4H] <sup>4</sup> +)
195	H[D-Ser]QGTFTSDYSKYLDECAAKEFICWLLRA (SEQ ID NO: 61)	17, 24	L16	4065,7	1355,6 ([M+3H] <sup>3</sup> +), 1017,3 ([M+4H] <sup>4</sup> +)
196	H[D-Ser]QGTFTSDYSKYLDECAAKEFICWLLRA (SEQ ID NO: 61)	17, 24	L19	4295,0	1432,6 ([M+3H] <sup>3</sup> +), 1074,7 ([M+4H] <sup>4</sup> +)

					†)
197	H[D-Ser]QGTFTSDYSKYLDECAAKEFICWLLRA (SEQ ID NO: 61)	17, 24	L5	4296,0	1433,0 ([M+3H] <sup>3</sup> †), 1075,1 ([M+4H] <sup>4</sup> †)
198	H[D-Ser]QGTFTSDYSKYLDECAAKEFICWLLRAGPSSGAP PPS (SEQ ID NO: 82)	17, 24	L16	4902,6	1635,2 ([M+3H] <sup>3</sup> †), 1226,6 ([M+4H] <sup>4</sup> †)
199	H[D-Ser]QGTFTSDYSKYLDECAAKEFICWLLRAGPSSGAP PPS (SEQ ID NO: 82)	17, 24	L19	5129,9	1711,0 ([M+3H] <sup>3</sup> †), 1284,2 ([M+4H] <sup>4</sup> †)
200	H[D-Ser]QGTFTSDYSKYLDECAAKEFICWLLRAGPSSGAP PPS (SEQ ID NO: 82)	17, 24	L5	5130,8	1711,3 ([M+3H] <sup>3</sup> †), 1283,8 ([M+4H] <sup>4</sup> †)
201	H[D-Ser]QGTFTSDYSKYLDECAAKEFICWLLNGGPSSGAP PPS (SEQ ID NO: 60)	17, 24	L16	4844,5	1615,6 ([M+3H] <sup>3</sup> †), 1212,2 ([M+4H] <sup>4</sup> †)
202	H[D-Ser]QGTFTSDYSKYLDECAAKEFICWLLNGGPSSGAP PPS (SEQ ID NO: 60)	17, 24	L19	5073,7	1092,2 ([M+3H] <sup>3</sup> †), 1269,4 ([M+4H] <sup>4</sup> †)
203	H[D-Ser]QGTFTSDYSKYLDECAAKEFICWLLNGGPSSGAP PPS (SEQ ID NO: 60)	17, 24	L5	5074,7	1692,6 ([M+3H] <sup>3</sup> †), 1269,8 ([M+4H] <sup>4</sup> †)
	H[D-Ser]QGTFTSDYSKYLDEKAAKEFIKWLLNGGPSSGA PPPS (SEQ ID NO: 48)	17, 24	K8		
	H[D-Ser]QGTFTSDYSKYLDECAAKEFICWLLNGGPSSGAP	17, 24	C20L5A		

	PPS (SEQ ID NO: 60)				
	H[Aib]QGTFTSDYSEYLD SKKAKEFVKWLLN[Aib]GP SSGAPPPS (SEQ ID NO: 108)	17, 24	K4		
	H[Aib]QGTFTSDYSEYLD SKKAKEFVKWLLN[Aib]GP SSGAPPPS (SEQ ID NO: 108)	17, 24	K5		
	H[Aib]QGTFTSDYSEYLD SKKAKEFVKWLLN[Aib]GP SSGAPPPS (SEQ ID NO: 108)	17, 24	K8		
	H[Aib]QGTFTSDYSEYLD SKKAQEFVKWLLNGGPSS GAPPPS (SEQ ID NO: 109)	17, 24	K4		
	H[Aib]QGTFTSDYSEYLD SKKAQEFVKWLLNGGPSS GAPPPS (SEQ ID NO: 109)	17, 24	K5		
	H[Aib]QGTFTSDYSEYLD SKKAQEFVKWLLNGGPSS GAPPPS (SEQ ID NO: 109)	17, 24	K8		
	H[D- Ser]QGTFTSDYSEYLDEKAAKEFIKWLLNGGPSSGAP PPS (SEQ ID NO: 110)	17, 24	K4		
	H[D- Ser]QGTFTSDYSEYLDEKAAKEFIKWLLNGGPSSGAP PPS (SEQ ID NO: 110)	17, 24	K5		
	H[D- Ser]QGTFTSDYSEYLDEKAAKEFIKWLLNGGPSSGAP PPS (SEQ ID NO: 110)	17, 24	K8		
	H[D-Ser]QGT[D- Phe]TSDYSEYLDEKAAKEFIKWLLNGGPSSGAPPPS (SEQ ID NO: 55)	17, 24	K5		
	H[D-Ser]QGT[D- Phe]TSDYSEYLDEKAAKEFIKWLLNGGPSSGAPPPS (SEQ ID NO: 55)	17, 24	K8		
	H[D-Ser]QGT[D- Phe]TSDYSEYLDEKAAAREFIKWLLAGGPSSGAPPPS (SEQ ID NO: 56)	17, 24	K5		
	H[D-Ser]QGT[D- Phe]TSDYSEYLDEKAAAREFIKWLLAGGPSSGAPPPS (SEQ ID NO: 56)	17, 24	K8		
	H[D- Ser]QGTFTSDYSKQLDECAAKEFICWLLQGGPSSGAP PPS (SEQ ID NO: 111)	17, 24	L5A		
	H[D- Ser]QGTFTSDYSKQLDECAAKEFICWLLQGGPSSGAP PPS (SEQ ID NO: 111)	17, 24	C20L5A		

[0435] Согласно некоторым вариантам осуществления пептидные конъюгаты двойных агонистов GLP-1R/GIPR, описанные в настоящем документе, являются такими, как представлено в таблице 9.

Таблица 9. Пептидные конъюгаты двойных агонистов GLP-1R/GIPR

Конъюгат	Последовательность	Положение конъюгации	Сшивающий фрагмент	Вычисленная масса	Найденная масса
139	Y[Aib]EGTFTSDYSIYLDKKA[Aib]EFVKWLLAGGPS SGAPPPS (SEQ ID NO: 62)	17, 24	K5	1258,9	1259,16
140	Y[Aib]EGTFTSDYSIYLDKKA[Aib]EFVKWLLAGGPS SGAPPPS (SEQ ID NO: 62)	17, 24	K4	1197,88	1197,88
141	Y[Aib]EGTFTSDYSIYKDKQAA[Aib]KFVNWLLAGGPS SSGAPPPS (SEQ ID NO: 63)	14, 21	K5	1258,9	1259,15
142	Y[Aib]EGTFTSDYSIYKDKQAA[Aib]KFVNWLLAGGPS SSGAPPPS (SEQ ID NO: 63)	14, 21	K4	1197,87	1197,87
143	Y[Aib]EGTFTSDYSIYLDKKA[Aib]EFVKWLLAGGPS SGAPPPS (SEQ ID NO: 62)	17, 24	K9	1251,9	1252,14
144	Y[Aib]EGTFTSDYSIYKDKQAA[Aib]KFVNWLLAGGPS SSGAPPPS (SEQ ID NO: 63)	14, 21	K9	1251,89	1252,14
145	Y[Aib]EGTFTSDYSIYKDKQAA[Aib]KFKNWLKAGGPS SSGAPPPS (SEQ ID NO: 64)	23, 27	K4	1208,88	1209,38
146	Y[Aib]EGTFTSDYSIYLDKKAQ[Aib]AFVKWLIAQGPS SGAPPPS (SEQ ID NO: 65)	17, 24	K4	1215,39	1215,89
147	Y[Aib]EGTFTSDYSIYLDKKA[Aib]EFVKWLLAGGPS SGAPPPS (SEQ ID NO: 62)	17, 24	K6	1244,4	1244,91
148	Y[Aib]EGTFTSDYSIYLDKKA[Aib]EFVKWLLAGGPS SGAPPPS (SEQ ID NO: 62)	17, 24	K8	1265,91	1266,42
149	Y[Aib]EGTFTSDYSIYLDKKA[Aib]EFVKWLLAGGPS SGAPPPS (SEQ ID NO: 62)	17, 24	K20	1237,4	1237,89
150	Y[Aib]EGTFTSDYSIYLDKKA[Aib]EFVKWLLAGGPS SGAPPPS (SEQ ID NO: 62)	17, 24	K7	1251,41	1251,91
151	Y[Aib]EGTFTSDYSIYKDKQAA[Aib]KFVNWLLAGGPS SSGAPPPS (SEQ ID NO: 63)	14, 21	K6	1244,4	1244,89
152	Y[Aib]EGTFTSDYSIYKDKQAA[Aib]KFVNWLLAGGPS SSGAPPPS (SEQ ID NO: 63)	14, 21	K8	1265,91	1266,41
153	Y[Aib]EGTFTSDYSIYKDKQAA[Aib]KFVNWLLAGGPS SSGAPPPS (SEQ ID NO: 63)	14, 21	K20	1237,4	1237,89
154	Y[Aib]EGTFTSDYSIYKDKQAA[Aib]KFVNWLLAGGPS SSGAPPPS (SEQ ID NO: 63)	14, 21	K7	1251,41	1251,91
155	Y[Aib]EGTFTSDYSIYKDKQAA[Aib]KFKNWLKAGGPS SSGAPPPS (SEQ ID NO: 64)	23, 27	K6	1255,41	1255,91
156	Y[Aib]EGTFTSDYSIYKDKQAA[Aib]KFKNWLKAGGPS SSGAPPPS (SEQ ID NO: 64)	23, 27	K8	1276,92	1277,42



157	Y[Aib]EGTFTSDYSIYKDKQAA[Aib]KFKNWLKAGGP SSGAPPPS (SEQ ID NO: 64)	23, 27	K20	1248,40	1248,89
158	Y[Aib]EGTFTSDYSIYKDKQAA[Aib]KFKNWLKAGGP SSGAPPPS (SEQ ID NO: 64)	23, 27	K5	1269,91	1270,41
159	Y[Aib]EGTFTSDYSIYKDKQAA[Aib]KFKNWLKAGGP SSGAPPPS (SEQ ID NO: 64)	23, 27	K9	1262,90	1263,40
160	Y[Aib]EGTFTSDYSIYLDKKAQ[Aib]AFVKWLIAQGGS SGAPPPS (SEQ ID NO: 65)	17, 24	K6	1261,92	1262,42
161	Y[Aib]EGTFTSDYSIYLDKKAQ[Aib]AFVKWLIAQGGS SGAPPPS (SEQ ID NO: 65)	17, 24	K8	1283,43	1283,93
162	Y[Aib]EGTFTSDYSIYLDKKAQ[Aib]AFVKWLIAQGGS SGAPPPS (SEQ ID NO: 65)	17, 24	K20	1254,91	1255,41
163	Y[Aib]EGTFTSDYSIYLDKKAQ[Aib]AFVKWLIAQGGS SGAPPPS (SEQ ID NO: 65)	17, 24	K5	1276,42	1276,66
164	Y[Aib]EGTFTSDYSIYLDKKAQ[Aib]AFVKWLIAQGGS SGAPPPS (SEQ ID NO: 65)	17, 24	K9	1269,41	1269,91
165	Y[Aib]EGTFHSDYDIYKDKQAA[Aib]KFVQWLLAGGP SSGAPPPS (SEQ ID NO: 66)	14, 21	K4	1622,83	1623,22
166	Y[Aib]EGTFHSDYDIYKDKQAA[Aib]KFVQWLLAGGP SSGAPPPS (SEQ ID NO: 66)	14, 21	K5	1704,19	1704,6
167	Y[Aib]EGTFHSDYDIYKDKQAA[Nle]KFVAWLLAGGP SSGAPPPS (SEQ ID NO: 67)	14, 21	K4	1613,16	1613,56
168	Y[Aib]EGTFHSDYDIYKDKQAA[Nle]KFVAWLLAGGP SSGAPPPS (SEQ ID NO: 67)	14, 21	K5	1694,53	1694,94
169	Y[Aib]EGTFT[D-Ser]DY[D- Ser]IYKDKQAA[Nle]KFVAWLLAGGPSSGAPPPS (SEQ ID NO: 68)	14, 21	K4	1591,83	1592,23
170	Y[Aib]EGTFT[D-Ser]DY[D- Ser]IYKDKQAA[Nle]KFVAWLLAGGPSSGAPPPS (SEQ ID NO: 68)	14, 21	K5	1673,20	1673,60
171	Y[Aib]EGTFTSDYSIYCDKQAA[Aib]CFVNWLLAGGP SSGAPPPS (SEQ ID NO: 69)	14, 21	L5A	1274,88	1275,13
172	Y[Aib]EGTFTSDYSIYCDKQAA[Aib]CFVNWLLAGGP SSGAPPPS (SEQ ID NO: 69)	14, 21	L4A	1206,84	
173	YGEFTFTSDYSIYCDKQAAQCFVNWLLAGGPSSGAP PPS (SEQ ID NO: 70)	14, 21	L4A	1210,59	
174	YGEFTFTSDYSIYCDKQAAQCFVNWLLAGGPSSGAP PPS (SEQ ID NO: 70)	14, 21	L5A	1278,62	
175	Y[Aib]EGTFTSDYSIYCDKQAAQCFVNWLLAGGPSSG APPPS (SEQ ID NO: 71)	14, 21	L4A	1217,59	
176	Y[Aib]EGTFTSDYSIYCDKQAAQCFVNWLLAGGPSSG	14, 21	L5A	1285,63	

	APPPS (SEQ ID NO: 71)				
	Y[Aib]EGTFTSDYSIYCDKQAA[Aib]CFVNWLLAGGPSSGAPPPS (SEQ ID NO: 69)	14, 21	C20L5A		
	Y[Aib]EGTFTSDYSIYLDKCAA[Aib]EFVCWLLAGGPS SGAPPPS (SEQ ID NO: 114)	17, 24	L5A		
	Y[Aib]EGTFTSDYSIYLDKCAA[Aib]EFVCWLLAGGPS SGAPPPS (SEQ ID NO: 114)	17, 24	C20L5A		
	Y[Aib]EGTFTSDYSIYLDKCAQ[Aib]AFVCWLIAQGPPS SGAPPPS (SEQ ID NO: 115)	17, 24	L5A		
	Y[Aib]EGTFTSDYSIYLDKCAQ[Aib]AFVCWLIAQGPPS SGAPPPS (SEQ ID NO: 115)	17, 24	C20L5A		
	Y[Aib]EGTFTSDYSIYCDKQAA[Aib]CFVNWLIAGGPS SGAPPPS (SEQ ID NO: 116)	14, 21	L5A		
	Y[Aib]EGTFTSDYSIYCDKQAA[Aib]CFVNWLIAGGPS SGAPPPS (SEQ ID NO: 116)	14, 21	C20L5A		
	Y[Aib]EGTFISDVSIIYCDKQAA[Aib]CFVNWLIAGGPS SGAPPPS (SEQ ID NO: 117)	14, 21	L5A		
	Y[Aib]EGTFISDVSIIYCDKQAA[Aib]CFVNWLIAGGPS SGAPPPS (SEQ ID NO: 117)	14, 21	C20L5A		
	Y[Aib]EGTFISDVSIIYLDKCAA[Aib]EFVCWLIAGGPSS GAPPPS (SEQ ID NO: 118)	17, 24	L5A		
	Y[Aib]EGTFISDVSIIYLDKCAA[Aib]EFVCWLIAGGPSS GAPPPS (SEQ ID NO: 118)	17, 24	C20L5A		
	Y[Aib]EGTFISDLSIYCDKQAA[Aib]CFVQWLIAGGPSS GAPPPS (SEQ ID NO: 119)	14, 21	L5A		
	Y[Aib]EGTFISDLSIYCDKQAA[Aib]CFVQWLIAGGPSS GAPPPS (SEQ ID NO: 119)	14, 21	C20L5A		
	Y[Aib]EGTFISDLSIYLDKCAA[Aib]EFVCWLIAGGPAS GAPPPS (SEQ ID NO: 120)	17, 24	L5A		
	Y[Aib]EGTFISDLSIYLDKCAA[Aib]EFVCWLIAGGPAS GAPPPS (SEQ ID NO: 120)	17, 24	C20L5A		

[0436] Согласно некоторым вариантам осуществления пептидные конъюгаты GLP-1R, описанные в настоящем документе, являются такими, как представлено в таблице 10.

Таблица 10. Пептидные конъюгаты GLP-1R

Конъюгат	Последовательность	Положение конъюгации	Сшивающий фрагмент	Вычисленная масса	Найденная масса
177	HGEGTFTSDLSKQMEEKAVRLFIKWLKNGGPSSGAPPPS (SEQ ID NO: 72)	17, 24	K5	1274,42	1274,41
178	HGEGTFTSDLSKQMEEKAVRLFIKWLKNGGPSSGAPPPS (SEQ ID NO: 72)	17, 24	A1	1079,04	1079,05

	PPPS (SEQ ID NO: 72)				
179	HGEGTFTSDLSKQLEEKAVRLFILKWLKNGGPSSGA PPPS (SEQ ID NO: 73)	17, 24	K5	1269,93	1269,93
180	HGEGTFTSDLSKQ[Nle]EEKAVRLFILKWLKNGGPSS GAPPPS (SEQ ID NO: 74)	17, 24	K5	1269,93	1269,93
181	H[Aib]EGTFTSDVSSYLEGKAAKEFIKWLKGRG (SEQ ID NO: 75)	17, 24	K5	1085,08	1085,07
182	H[Aib]EGTFTSDVSSYLEGKAAKEFIKWLKGRG (SEQ ID NO: 75)	17, 24	A1	889,70	889,70
183	HGEGTFTSDLSKQLEECVRLFICWLKNGGPSSGA PPPS (SEQ ID NO: 76)	17, 24	L5A	1285,92	1285,92
184	HGEGTFTSDLSKQMEECAVRLFICWLKNGGPSSGA PPPS (SEQ ID NO: 77)	17, 24	L5A	1290,65	1290,40
185	HGEGTFTSDVSSYLEGCAAKEFICWLKGRG (SEQ ID NO: 78)	17, 24	L5A	1094,06	1094,05
186	H[Aib]EGTFTSDVSSYLEGCAAKEFICWLKGRG (SEQ ID NO: 79)	17, 24	L5A	1101,07	1101,06
187	HGEGTFTSDLSKQMEECAVRLFICWLKNGGPSSGA PPPS (SEQ ID NO: 77)	17, 24	L5	1018,99	1018,70

[0437] Согласно некоторым вариантам осуществления пептидный конъюгат, описанный в настоящем документе, является таким, как представлено в таблицах 11 и 12.

Таблица 11. Пептидные последовательности сшитого PrRP20<sup>a</sup>

Конъюгат	Пептидная последовательность	Сшивающий фрагмент/HEM	Вычисленная масса	Найденная масса
204	TCDINPAWCTGRGIRPVGRF-NH2 (SEQ ID NO: 103)	L1	2386,79	1194,1, [M+2H] <sup>2+</sup>
205	TPCINPAWYCGRGIRPVGRF-NH2 (SEQ ID NO: 104)	L1	2429,88	1216,1, [M+2H] <sup>2+</sup>
206	TPDCNPAWYTTCRGIRPVGRF-NH2 (SEQ ID NO: 105)	L1	2475,86	1239,1, [M+2H] <sup>2+</sup>
207	TPDICPAWYTGCGIRPVGRF-NH2 (SEQ ID NO: 83)	L1	2376,79	1189,1, [M+2H] <sup>2+</sup>
208	TPDINCAWYTGRCIRPVGRF-NH2 (SEQ ID NO: 84)	L1	2491,90	831,7, [M+3H] <sup>3+</sup>
209	TPDINPCWYTGRCRVPVGRF-NH2 (SEQ ID NO: 85)	L1	2461,83	1232,1, [M+2H] <sup>2+</sup>
210	TPDINPACYTGRGICPVGRF-NH2 (SEQ ID NO: 86)	L1	2304,68	1153,1, [M+2H] <sup>2+</sup>
211	TPDINPAWCTGRGIRCVGRF-NH2 (SEQ ID NO: 87)	L1	2385,78	1194,1, [M+2H] <sup>2+</sup>
212	TPDINPAWYCGRGIRPCGRF-NH2 (SEQ	L1	2446,84	1224,1,

	ID NO: 88)			[M+2H] <sup>2+</sup>
213	TCDINPAWCTGRGIRPVGRF-NH2 (SEQ ID NO: 103)	L3	2930,53	1465,8, [M+2H] <sup>2+</sup>
214	TCDINPAWCTGRGIRPVGRF-NH2 (SEQ ID NO: 103)	L4	2901,49	967,9, [M+3H] <sup>3+</sup>
215	TCDINPAWCTGRGIRPVGRF-NH2 (SEQ ID NO: 103)	L5	3173,79	1058,6, [M+3H] <sup>3+</sup>
216	TPDCNPAWYTCRGIRPVGRF-NH2 (SEQ ID NO: 105)	L3	3019,61	1007,5, [M+3H] <sup>3+</sup>
217	TPDCNPAWYTCRGIRPVGRF-NH2 (SEQ ID NO: 105)	L4	2990,56	997,9, [M+3H] <sup>3+</sup>
218	TPDCNPAWYTCRGIRPVGRF-NH2 (SEQ ID NO: 105)	L5	3262,86	1088,9, [M+3H] <sup>3+</sup>
219	TPDICPAWYTGCGIRPVGRF-NH2 (SEQ ID NO: 83)	L3	2920,53	1460,8, [M+2H] <sup>2+</sup>
220	TPDICPAWYTGCGIRPVGRF-NH2 (SEQ ID NO: 83)	L4	2891,49	964,5, [M+3H] <sup>3+</sup>
221	TPDICPAWYTGCGIRPVGRF-NH2 (SEQ ID NO: 83)	L5	3163,79	1055,6, [M+3H] <sup>3+</sup>
222	TPDINPCWYTGRGCRPVGRF-NH2 (SEQ ID NO: 85)	L3	3005,58	1002,8, [M+3H] <sup>3+</sup>
223	TPDINPCWYTGRGCRPVGRF-NH2 (SEQ ID NO: 85)	L4	2976,54	993,2, [M+3H] <sup>3+</sup>
224	TPDINPCWYTGRGCRPVGRF-NH2 (SEQ ID NO: 85)	L5	3248,84	1084,2, [M+3H] <sup>3+</sup>

<sup>a</sup> Для всех пептидов чистота выше 95% подтверждена методом ВЭЖХ (ЖХ-МС).

Таблица 12. Пептидные последовательности сшитого PrRP31<sup>a</sup>

Конъюгат	Пептидная последовательность	Сшивающий фрагмент / НЕМ	Вычисленная масса	Найденная масса
225	CRAHQHSCETRTPDINPAWYTCRGIRPVGRF-NH2 (SEQ ID NO: 89)	L1	3750,25	626,1, [M+6H] <sup>6+</sup>
226	SRAHQCSMETRTPDINPAWYTCRGIRPVGRF-NH2 (SEQ ID NO: 90)	L1	3734,26	747,8, [M+5H] <sup>5+</sup>
227	SRAHQHSMCTRTPDICPAWYTCRGIRPVGRF-NH2 (SEQ ID NO: 91)	L1	3725,30	621,8, [M+6H] <sup>6+</sup>
228	SRAHQHSMETRTPDINPAWCTGRGIRPVGRF-NH2 (SEQ ID NO: 92)	L1	3708,23	619,0, [M+6H] <sup>6+</sup>
229	SRAHQHSMETRTPDCNPAWYTCRGIRPVGRF-NH2 (SEQ ID NO: 93)	L1	3797,30	760,6, [M+5H] <sup>5+</sup>

230	SRAHQHSMETRTPDICPAWYTGCGIRPVGRF-NH2 (SEQ ID NO: 94)	L1	3698,23	740,6, [M+5H] <sup>5+</sup>
231	SRAHQHSMETRTPDINPCWYTGRGCRPVGRF-NH2 (SEQ ID NO: 95)	L1	3783,27	757,8, [M+5H] <sup>5+</sup>
232	SRAHQHSMETRTPDINPAWCTGRGIRCVGRF-NH2 (SEQ ID NO: 96)	L1	3707,22	742,6, [M+5H] <sup>5+</sup>
233	CRAHQHSCETRTPDINPAWYTGIRPVGRF-NH2 (SEQ ID NO: 89)	L3	4294,00	4294,2, [M+H] <sup>+</sup>
234	CRAHQHSCETRTPDINPAWYTGIRPVGRF-NH2 (SEQ ID NO: 89)	L4	4264,95	4265,3, [M+H] <sup>+</sup>
235	CRAHQHSCETRTPDINPAWYTGIRPVGRF-NH2 (SEQ ID NO: 89)	L5	4537,26	4537,5, [M+H] <sup>+</sup>
236	SRAHQCSMETRTCDINPAWYTGIRPVGRF-NH2 (SEQ ID NO: 90)	L3	4278,01	4278,3, [M+H] <sup>+</sup>
237	SRAHQCSMETRTCDINPAWYTGIRPVGRF-NH2 (SEQ ID NO: 90)	L4	4248,97	4249,3, [M+H] <sup>+</sup>
238	SRAHQCSMETRTCDINPAWYTGIRPVGRF-NH2 (SEQ ID NO: 90)	L5	4521,27	4521,5, [M+H] <sup>+</sup>
239	SRAHQHSMETRTRCDINPAWCTGRGIRPVGRF-NH2 (SEQ ID NO: 92)	L3	4251,97	4252,2, [M+H] <sup>+</sup>
240	SRAHQHSMETRTRCDINPAWCTGRGIRPVGRF-NH2 (SEQ ID NO: 92)	L4	4222,93	4223,1, [M+H] <sup>+</sup>
241	SRAHQHSMETRTRCDINPAWCTGRGIRPVGRF-NH2 (SEQ ID NO: 92)	L5	4495,23	4495,5, [M+H] <sup>+</sup>
242	SRAHQHSMETRTPDCNPAWYTCRGIRPVGRF-NH2 (SEQ ID NO: 93)	L3	4341,05	4342,4, [M+H] <sup>+</sup>
243	SRAHQHSMETRTPDCNPAWYTCRGIRPVGRF-NH2 (SEQ ID NO: 93)	L4	4312,01	4313,3, [M+H] <sup>+</sup>
244	SRAHQHSMETRTPDCNPAWYTCRGIRPVGRF-NH2 (SEQ ID NO: 93)	L5	4584,31	4585,5, [M+H] <sup>+</sup>
245	SRAHQHSMETRTPDICPAWYTGCGIRPVGRF-NH2 (SEQ ID NO: 94)	L3	4241,97	4242,0, [M+H] <sup>+</sup>
246	SRAHQHSMETRTPDICPAWYTGCGIRPVGRF-NH2 (SEQ ID NO: 94)	L4	4212,93	4213,1, [M+H] <sup>+</sup>
247	SRAHQHSMETRTPDICPAWYTGCGIRPVGRF-NH2 (SEQ ID NO: 94)	L5	4485,23	4485,5, [M+H] <sup>+</sup>
248	SRAHQHSMETRTPDINPCWYTGRGCRPVGRF-NH2 (SEQ ID NO: 95)	L3	4327,02	4328,5, [M+H] <sup>+</sup>
249	SRAHQHSMETRTPDINPCWYTGRGCRPVGRF-NH2 (SEQ ID NO: 95)	L4	4297,98	4299,4, [M+H] <sup>+</sup>
250	SRAHQHSMETRTPDINPCWYTGRGCRPVGRF-NH2 (SEQ ID NO: 95)	L5	4570,28	4571,9, [M+H] <sup>+</sup>

	NO: 95)			[M+H] <sup>+</sup>
251	SRAHQCS-Nle-ETRTCDINPAWYTG-hArg-GIRPVGRF-NH2 (SEQ ID NO: 97)	L1	3730,26	747,0, [M+5H] <sup>5+</sup>
252	SRAHQCS-Nle-ETRTCDINPAWYTG-?-hArg-GIRPVGRF-NH2 (SEQ ID NO: 98)	L1	3730,26	747,0, [M+5H] <sup>5+</sup>
253	SRAHQCS-Nle-ETRTCDINPAWYTG-NMe-Arg-GIRPVGRF- NH2 (SEQ ID NO: 99)	L1	3730,26	747,0, [M+5H] <sup>5+</sup>
254	SRAHQCS-Nle-ETRTCDINPAWYTGGRGIRPVG-NMe-Arg-F- NH2 (SEQ ID NO: 102)	L1	3730,26	747,0, [M+5H] <sup>5+</sup>
255	SRAHQCS-Nle-ETRTCDINPAWYTG-hArg-GIRPVGRF-NH2 (SEQ ID NO: 97)	L3	4274,00	4274,1, [M+H] <sup>+</sup>
256	SRAHQCS-Nle-ETRTCDINPAWYTG-?-hArg-GIRPVGRF-NH2 (SEQ ID NO: 98)	L3	4274,00	4274,4, [M+H] <sup>+</sup>
257	SRAHQCS-Nle-ETRTCDINPAWYTG-NMe-Arg-GIRPVGRF- NH2 (SEQ ID NO: 99)	L3	4274,00	4274,1, [M+H] <sup>+</sup>
258	SRAHQCS-Nle-ETRTCDINPAWYTGGRGIRPVG-NMe-Arg-F- NH2 (SEQ ID NO: 102)	L3	4274,00	4274,3, [M+H] <sup>+</sup>
259	SRAHQCS-Nle-ETRTCDINPAWYTG-hArg-GIRPVGRF-NH2 (SEQ ID NO: 97)	L4	4244,96	4245,4, [M+H] <sup>+</sup>
260	SRAHQCS-Nle-ETRTCDINPAWYTG-?-hArg-GIRPVGRF-NH2 (SEQ ID NO: 98)	L4	4244,96	4245,3, [M+H] <sup>+</sup>
261	SRAHQCS-Nle-ETRTCDINPAWYTG-NMe-Arg-GIRPVGRF- NH2 (SEQ ID NO: 99)	L4	4244,96	4245,4, [M+H] <sup>+</sup>
262	SRAHQCS-Nle-ETRTCDINPAWYTGGRGIRPVG-NMe-Arg-F- NH2 (SEQ ID NO: 102)	L4	4244,96	4245,2, [M+H] <sup>+</sup>
263	SRAHQCS-Nle-ETRTCDINPAWYTG-hArg-GIRPVGRF-NH2 (SEQ ID NO: 97)	L5	4517,26	753,9, [M+6H] <sup>6+</sup>
264	SRAHQCS-Nle-ETRTCDINPAWYTG-?-hArg-GIRPVGRF-NH2 (SEQ ID NO: 98)	L5	4517,26	4517,8, [M+H] <sup>+</sup>
265	SRAHQCS-Nle-ETRTCDINPAWYTG-NMe-Arg-GIRPVGRF- NH2 (SEQ ID NO: 99)	L5	4517,26	4517,4, [M+H] <sup>+</sup>
266	SRAHQCS-Nle-ETRTCDINPAWYTGGRGIRPVG-NMe-Arg-F- NH2 (SEQ ID NO: 102)	L5	4517,26	4517,8, [M+H] <sup>+</sup>
267	SRAHQCS-Nle-ETRTCDINPAWYTG-hArg-GIRPVGRF-NH2 (SEQ ID NO: 97)	L8	4545,31	4545,8, [M+H] <sup>+</sup>
268	SRAHQCS-Nle-ETRTCDINPAWYTG-hArg-GIRPVGRF-NH2 (SEQ ID NO: 97)	L9	4489,21	4489,3, [M+H] <sup>+</sup>
269	SRAHQCS-Nle-ETRTCDINPAWYTG-hArg-GIRPVGRF-NH2 (SEQ ID NO: 97)	L12	4358,08	4358,4, [M+H] <sup>+</sup>
270	SRAHQCS-Nle-ETRTCDINPAWYTG-hArg-GIRPVGRF-NH2 (SEQ ID NO: 97)	L6	4302,06	4302,4, [M+H] <sup>+</sup>

271	SRAHQCS-Nle-ETRTCDINPAWYTG-hArg-GIRPVGRF-NH2 (SEQ ID NO: 97)	L7	4330,11	4330,8, [M+H] <sup>+</sup>
-----	---	----	---------	-------------------------------

<sup>a</sup> Для всех пептидов чистота выше 95% подтверждена методом ВЭЖХ (ЖХ-МС).

### **Протоколы биологических исследований**

#### Анализ рекрутирования $\beta$ -аррестина для активации GPR10

[0438] Клетки линии CHO-K1 PathHunter GPR101  $\beta$ -Arrestin Orphan GPCR были приобретены у DiscoverX. Вкратце, клетки (20 мкл по 5000 клеток на лунку) высевали в сплошной белый 384-луночный планшет, закрытый металлической крышкой, и инкубировали в течение ночи. На второй день культуральную среду заменяли свежей средой (эмбриональная телячья сыворотка (FBS) отсутствовала для группы с 0% FBS). Клетки обрабатывали, используя 5 мкл 12 разведений PrRP31 в качестве положительного контроля и образцы пептидов (с начальной концентрацией 400 нМ и последовательными разведениями 1:3) в буферном растворе для разведения белков (0,1% бычий сывороточный альбумин (BSA)) (из набора для обнаружения PathHunter®) в трех экземплярах в течение 90 минут при температуре 37°C в атмосфере 5% CO<sub>2</sub>. Для обнаружения использовали набор обнаружения PathHunter®, приобретенный у компании DiscoverX. Добавляли по 12,5 мкл рабочего раствора для обнаружения на лунку и инкубировали в течение 1 часа при комнатной температуре в темноте. Сигнал люминесценции измеряли на приборе ViewLux (PerkinElmer). Значение EC<sub>50</sub> было получено с применением программного обеспечения Prism.

#### Анализ циклического аденозинмонофосфата (сAMP) для активации NPFF2R

[0439] Клетки яичника китайского хомячка (CHO), устойчиво сверхэкспрессирующие NPFF2R человека (20 мкл, 5000 клеток на лунку; получены из лаборатории Кристофера Маккарди, Фармацевтический колледж Университета Флориды), высевали в белый сплошной 384-луночный планшет, закрытый металлической крышкой, и инкубировали в течение ночи. На второй день культуральную среду заменяли свежей средой (не содержащей FBS для группы с 0% FBS). Клетки обрабатывали, используя 5 мкл PrRP31 или аналогов в 12 точках исследования зависимости эффекта от дозы (с начальной концентрацией 20 мкМ и последующими последовательными разведениями 1:3), 20 мкМ форсколина в качестве положительного контроля в культуральной среде и 0,5 мМ IBMX (3-изобутил-1-метилксантин) для ингибирования деградации сAMP. Анализ проводили в трех экземплярах в течение 30 минут при температуре 37°C в атмосфере 5% CO<sub>2</sub>. Для определения уровня сAMP использовали набор сAMP dynamic 2 от Cisbio. Вкратце, добавляли 25 мкл реагента для обнаружения сAMP (1:1:38 сAMP-d2, криптаный конъюгат, лизирующий буферный раствор) на лунку и инкубировали при комнатной температуре в течение 1 часа. В лунки отрицательного контроля клеток добавляли реагент для обнаружения сAMP без d2. Затем планшеты считывали при длине волны возбуждения Ex320 нм и длинах волны эмиссии Em-1 665 нм и Em-2 615 нм. Графики строили, используя соотношение или значение  $\Delta F$  с применением программного обеспечения Prism, после чего получали значение EC<sub>50</sub>. Соотношение =  $A_{665 \text{ нм}}/B_{620 \text{ нм}} \times 10^4$ .  $\Delta F$  (%) = (соотношение для стандарта или образца - соотношение для отрицательного контроля/соотношение для отрицательного контроля) × 100.

#### Устойчивость пептидов в плазме

[0440] 12 мкл 1 мМ маточного раствора пептида (в DMSO) добавляли к 300 мкл мышинной плазмы (конечная концентрация 20 мкМ). Образцы инкубировали при 37°C в течение 48 часов. Через определенные промежутки времени (0, 0,25, 0,5, 1, 2, 4, 8, 24 и 48 часов) отбирали по 25 мкл плазмы и добавляли к 150 мкл холодной смеси ацетонитрила и воды (9:1, об./об.), содержащей 0,1% TFA, для осаждения белков плазмы. Образцы инкубировали при 0°C в течение 30 минут и центрифугировали при 17 об/мин в течение 10 минут

(4°C). Образцы анализировали методом ЖХ-МС, используя квадрупольный времяпролетный масс-спектрометр (QTOF).

#### Фармакокинетическое исследование в условиях организма

[0441] Фармакокинетическое исследование в условиях организма было проведено компанией WuXi AppTec Co., Ltd. в соответствии со стандартными процедурами для животных компании WuXi, а также рекомендациями Комитета по содержанию и использованию лабораторных животных (IACUC), которые соответствуют закону о защите животных и руководству по содержанию и использованию лабораторных животных, а также в соответствии с применимыми стандартными операционными процедурами компании WuXi и общепризнанной надлежащей лабораторной практикой. Получающие пищу самцы мышей C57 (7-9 недель) от компании SLAC Laboratory Animal Co. Ltd. или SIPPR/BK Laboratory Animal Co. Ltd. (Шанхай, КНР) акклиматизировались в течение по меньшей мере 3 суток, а затем получали подкожно дозу 5 мл на кг массы тела раствора соединения 60 (18-S4) с концентрацией 0,2 мг/мл (доза 1 мг/кг), растворенного в физиологическом растворе (0,9% NaCl). Образцы крови (70 мкл) отбирали из ретроорбитального синуса или подкожной вены в следующие моменты времени: 0,25, 0,5, 1, 3, 7, 24, 48 и 72 часов (n = 3 на группу, 3 группы). Животных содержали группами во время акклиматизации и индивидуально во время исследования. В помещении для животных поддерживали условия температуры от 18 до 26°C, относительной влажности от 30 до 70%, 12 часов искусственного освещения и 12 часов темноты. Всем животным был обеспечен доступ к сертифицированному корму для грызунов (SLAC Laboratory Animal Co. Ltd) и воде без ограничений. Все образцы крови переносили в микроцентрифужные пробирки, содержащие 2 мкл 0,5 М антикоагулянта K<sub>2</sub>EDTA, и помещали на влажный лед до центрифугирования, которое проводили в течение 30 минут после отбора образцов при ускорении 3000 g в течение 15 минут и температуре 4°C. Плазму хранили в полипропиленовых пробирках, быстро замораживали над сухим льдом и хранили при температуре -70°C до анализа методом жидкостной хроматографии с tandemной масс-спектрометрией (ЖХ-МС/МС).

#### Анализ методом ЖХ-МС образцов плазмы от фармакокинетического исследования

[0442] Фармакокинетический биоанализ был выполнен компанией WuXi AppTec. Аликвоту образца плазмы объемом 8 мкл добавляли к 8 мкл раствора 4% H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, и белки плазмы осаждали, используя 160 мкл метанола, содержащего 100 нг/мл глибурида в качестве внутреннего стандарта. Смесь интенсивно встряхивали и центрифугировали при ускорении 3220 g в течение 15 минут при 4°C. 10 мкл надосадочного раствора вводили в колонку ACQUITY UPLC® HSS T3 (1,8 мкм, 2,1 × 50 мм), встроенную в систему ЖХ-МС/МС (ИЭР+) SCIEX Triple Quad™ 6500+. Для анализа использовали градиент растворителя 10-60% В в течение 1 минуты, где А представлял собой раствор 0,1% муравьиной кислоты в воде, и В представлял собой раствор 0,1% муравьиной кислоты в ацетонитриле (скорость потока 0,6 мл/мин, температура колонки 60°C). Время удерживания соединения 60 (18-S4) составляло 0,96 мин. Данные ЖХ-МС анализировали с применением программного обеспечения Analyst 1.6.3. Калибровочную кривую строили с применением восьми ненулевых калибровочных стандартов, состоящих из высоких, средних и низких концентраций, в том числе с нижним пределом количественного определения (LLOQ), который составлял от 1 до 3 нг/мл. Анализ исследуемых образцов проводили одновременно с анализом набора калибровочных стандартов и двух наборов образцов с применением калибровочной кривой. Данные о концентрации в плазме в зависимости от времени анализировали посредством некомпартментных подходов с применением программного обеспечения Phoenix WinNonlin 6.3. Из-за ограничений по объему/выборке для мышей была использована разреженная выборка. Таким образом, посредством объединения концентраций от различных



животных был получен единый фармакокинетический профиль, а оценки фармакокинетических параметров были усреднены.

**Пример А. Анализ cAMP (PYU) методом гомогенной разрешенной во времени флуоресценции (HTRF)**

[0443] Для измерения эффектов индуцированного пептидом NPY2R-опосредованного ингибирования образования cAMP проводили анализ cAMP методом HTRF в соответствии с инструкциями производителя (динамический набор cAMP-Gs от компании Cisbio). Вкратце, клетки cAMP Hunter CHO, экспрессирующие NPY2R (DiscoverRx), высевали в течение ночи в белые 384-луночные планшеты по 5000 клеток на лунку в 20 мкл среды F12 при температуре 37°C в атмосфере 5% CO<sub>2</sub>. На следующий день среду удаляли и заменяли 20 мкл среды Opti-MEM (Gibco) в присутствии 10% FBS или при отсутствии FBS. Добавляли пептиды (приготовленные в виде 5-кратного раствора в Opti-MEM) различной концентрации и форсколин (конечная концентрация 10 мкМ, прямой активатор фермента аденилатциклазы) и инкубировали в течение 30 мин при температуре 37°C. Добавляли детекторный реагент, дополнительно инкубировали в течение 60 минут при комнатной температуре и считывали на совместимом считывателе HTRF (PHERAstar). Кривые концентрационной зависимости были построены методом нелинейного регрессионного анализа с применением программного обеспечения Prism от компании GraphPad Software Inc.

Таблица 13. Данные HTRF для cAMP (номера последовательностей)

SEQ ID	hNPY2R - cAMP 0% FBS, нМ	hNPY2R - cAMP 10% FBS, нМ
1	1,2 ± 0,3	1,0 ± 0,1
2	0,29 ± 0,07	0,5 ± 0,1
3	Н. О.	1,5
4	Н. О.	5,6
5	Н. О.	0,32
6	Н. О.	0,32
10	Н. О.	0,47
11	Н. О.	0,25
12	Н. О.	0,55
13	Н. О.	0,5
16	Н. О.	2,9
17	Н. О.	4,7
18	Н. О.	15
19	Н. О.	750
20	Н. О.	69
21	Н. О.	4,7
22	Н. О.	190
23	Н. О.	>10000
24	Н. О.	630
25	Н. О.	18
26	Н. О.	98
27	Н. О.	23
28	Н. О.	7,6

30	Н. О.	7,6
31	Н. О.	0,18
32	Н. О.	0,33
33	Н. О.	92
34	Н. О.	61
35	140	82
36	Н. О.	8,9
37	Н. О.	6,3

Н. О. = не определено.

Таблица 14. Данные HTRF cAMP HTRF (пептидные конъюгаты)

Конъюгат	hNPY2R - cAMP 0% FBS, нМ	hNPY2R - cAMP 10% FBS, нМ
1	2,7	4,8
2	Н. О.	6,1
3	2,9	8,1
4	2,3	170
5	22.	250
6	44	310
8	0,95	0,9
10	1,2	5,6
11	3,1	150
12	40	340
13	6,9	160
14	Н. О.	28
15	0,18	0,18
16	0,21	0,18
17	0,58	0,5
18	0,62	5,2
19	0,45	21
20	0,27	Н. О.
21	1,2	15
22	0,65	14
23	5,8	160
24	0,85	20
25	1,2	77
27	Н. О.	1,3
28	Н. О.	32
29	Н. О.	14
30	Н. О.	8,7
31	2,4	47
32	0,51	0,64
34	0,37	0,29

35	0,53	0,41
36	0,44	4,9
37	0,91	9,2
39	$3,7 \pm 0,7$	$170 \pm 20$
40	$5 \pm 2$	$36 \pm 5$
41	H. O.	28
42	H. O.	15
43	H. O.	24
44	H. O.	H. O.
45	220	1600
51	0,4	0,38
53	0,2	0,21
54	0,56	0,51
57	3,4	130
58	0,12	0,15
59	4,2	84
62	$1,0 \pm 0,5$	$9,2 \pm 0,4$
63	$2,3 \pm 0,8$	$40 \pm 10$
64	$1,0 \pm 0,4$	$10 \pm 1$
65	$56 \pm 6$	210
66	$10 \pm 1$	$29 \pm 3$
68	H. O.	4,4
69	H. O.	5,6
70	H. O.	340
71	H. O.	1700
72	H. O.	1,5
73	H. O.	2,3
74	H. O.	19
75	H. O.	>10000
76	H. O.	4,3
77	H. O.	9,5
78	H. O.	2700
79	H. O.	>10000
80	H. O.	2,6
81	H. O.	6,5
82	H. O.	40
83	H. O.	630
85	H. O.	5,4
86	H. O.	2,4
87	H. O.	490
88	H. O.	520

89	Н. О.	4
90	Н. О.	4,1
91	Н. О.	200
92	Н. О.	660
93	Н. О.	14
94	Н. О.	160
95	Н. О.	3,1
96	Н. О.	22
97	Н. О.	32
98	Н. О.	15
100	Н. О.	8,4
101	Н. О.	9,7
102	Н. О.	45
103	Н. О.	56
104	Н. О.	48
105	Н. О.	0,27
107	Н. О.	3,2
108	Н. О.	1,4
109	Н. О.	0,24
110	Н. О.	2,5
111	Н. О.	1,7
112	Н. О.	0,29
113	Н. О.	90
114	120	450

Н. О. = не определено.

### **Пример В. Исследования в условиях организма**

#### Внутривенная инфузия

[0444] Соединения растворяли в стерильном физиологическом растворе и вводили в процессе односторонней внутривенной инфузии самцам крыс линии Sprague-Dawley, которые не находились на тощак (n=3 на группу) через канюлю бедренной вены в конечной дозе 0,033 мг/кг. Композиции вводили со скоростью 1,67 мл/кг/ч. Образцы крови (приблизительно 250 мкл) собирали для фармакокинетического анализа через канюлю яремной вены через 0,25, 0,5, 0,75, 1, 1,17, 1,33, 1,5, 2, 4, 6, 8, 24, 30 и 48 часов после начала введения в пробирки Microtainer, содержащие K<sub>2</sub>EDTA в качестве антикоагулянта и 25 мкл смеси ингибиторов протеазы. Плазму получали посредством центрифугирования и хранили при температуре -80°C до анализа.

#### Приготовление образцов плазмы

[0445] Аликвоту каждого образца плазмы помещали в 96-луночный планшет. В каждую лунку добавляли Tween-20 до конечной концентрации 0,05%. Планшеты затем встряхивали, перемешивали перед тем, как в каждую лунку добавляли 3 объема раствора 0,1% TFA в смеси этанола и ацетонитрила в соотношении 2:1, содержащего соответствующий внутренний стандарт. Планшеты снова обрабатывали на встряхивающем устройстве, а затем центрифугировали в течение 10 минут при ускорении 2844 g.

Надосадочные растворы помещали в чистый 96-луночный планшет и упаривали в токе азота при 45°C. Остатки растворяли в водном растворе 20% ацетонитрила, содержащем 0,1% муравьиной кислоты.

Количественное определение пептидов в плазме методом ЖХ-МС

[0446] Все калибровочные стандарты готовили в контрольной крысиной плазме, содержащей K<sub>2</sub>EDTA и смесь ингибиторов протеазы.

Образцы и стандарты анализировали методом СВЖХ-МС/МС TurboIonSpray™ с применением системы, которую составляли автоматический инжектор CTC HTS PAL от компании Leap (Кэппборо, штат Северная Каролина, США), система с колоночной печью Infinity 1290 от компании Agilent (Пало-Альто, штат Калифорния, США), переключающий клапан от компании Valco (Хьюстон, штат Техас, США) и масс-спектрометр AB Sciex API 5600 TripleTOF™ или API 4000QTrap от компании Sciex (Фреймингем, штат Массачусетс, США). Образцы вводили в аналитическую колонку C18 с обращенной фазой 2,1 × 50 мм, обычно Waters ACQUITY UPLC HSS T3, 1,8 мкм от компании Waters Corporation (Милфорд, Массачусетс, США) или аналогичную. Хроматографическое разделение осуществляли градиентным методом с применением воды, содержащей 0,1% муравьиной кислоты (А), и ацетонитрила, содержащего 0,1% муравьиной кислоты (В), в качестве подвижной фазы. Исходная смесь состояла из 95% А и 5% В. Содержание органического компонента повышали до 95% В в течение 3-4 минут, в зависимости от пептида. Типичные скорости потока составляли 600 мкл/мин. Температуру колонки поддерживали постоянной на уровне 40 или 45°C. Пептиды количественно определяли, наблюдая за одним или несколькими ионами-продуктами, образующимися из многозарядного исходного иона.

Таблица 15. Период полураспада и скорость клиренса у крысы (последовательности)

Последовательность SEQ ID	Период полураспада T <sub>1/2</sub> для крысы, час	Скорость клиренса CL для крысы, мл/кг/мин
2	1,2	6,8
46	0,92	8,6

Таблица 16. Период полураспада и скорость клиренса у крысы (пептидные конъюгаты)

Конъюгат	Период полураспада T <sub>1/2</sub> для крысы, час	Скорость клиренса CL для крысы, мл/кг/мин
5	0,5 ± 0,1	12 ± 3
6	5 ± 5	2 ± 1
11	2,4 ± 0,2	2,4 ± 0,2
12	3,9 ± 0,6	0,4 ± 0,1
19	2 ± 1	2,9 ± 0,3
21	2,0 ± 0,4	0,95 ± 0,07
37	4,5	2,2
39	15	0,23
40	14	0,23
59	8 ± 2	20 ± 3
62	12 ± 1	0,45 ± 0,04
63	5,7	0,78 ± 0,04
64	5 ± 3	1,2 ± 0,3

Пример С. Оптимизация длины сшивающего фрагмента и положения в аналогах РУУ

[00447] Выбор положений сшивания на PYY был определен исследованием структуры гомологичного нейропептида Y (NPY), связанного с человеческим рецептором Y2 нейропептида Y, связанным с G-белком (NPY2R). Остатки на поверхности, взаимодействующие с рецептором (Y20, L24, Y27 и I28), были предотвращены при выборе участков для ковалентной модификации, чтобы сократить до минимума нарушение важнейших взаимодействий пептида и рецептора. Быстрое расщепление на N-конце PYY дипептидилпептидазой-4 (DPP-4) после секреции приводит к укороченному пептиду PYY<sub>3-36</sub> (PYY1: SEQ ID NO: 1), который представляет собой преобладающую форму в системе кровообращения. Поскольку PYY1 проявляет более высокую специфичность к подтипу рецептора Y<sub>2</sub>, чем PYY, мы решили использовать эту укороченную форму для разработки. Был синтезирован набор аналогов PYY1, включающий мутации дицистеина в выбранных положениях сшивания, представляющих собой сканирование всей последовательности. Цис-замещения были выбраны для обеспечения возможности присоединения сшивающих фрагментов, функционализированных бромацетилом, с применением ранее описанных химических процессов в фазе раствора.<sup>40</sup>

[00448] Сначала проводили скрининг мутантов i, i + 7 diCys, чтобы найти наилучшее положение в последовательности для сшивания с применением 10-атомного сшивающего фрагмента L1.

[00449] Для измерения индуцированного пептидом NPY2R-опосредованного ингибирования образования cAMP проводили анализ HTRF cAMP (гомогенной флуоресценции с временным разрешением циклического аденозинмонофосфата) в соответствии с инструкциями производителя (динамический набор cAMP-Gs от компании Cisbio). Вкратце, клетки cAMP Hunter CHO, экспрессирующие NPY2R (DiscoverX), высевали в течение ночи в белые 384-луночные планшеты по 5000 клеток на лунку в 20 мкл среды F12 при температуре 37°C в атмосфере 5% CO<sub>2</sub>. На следующий день среду удаляли и заменяли, используя 20 мкл среды Opti-MEM (Gibco) в присутствии 10% FBS или при отсутствии FBS. Добавляли пептиды (приготовленные в виде 5-кратного раствора в Opti-MEM) различных концентраций и форсколин (прямой активатор фермента аденилатциклазы, конечная концентрация 10 мкМ) и инкубировали в течение 30 минут при температуре 37°C. Добавляли детекторный реагент, дополнительно инкубировали в течение 60 минут при комнатной температуре и считывали на совместимом считывателе HTRF (PHERAstar). Кривые концентрационной зависимости были построены методом нелинейного регрессионного анализа с применением программного обеспечения Prism от компании GraphPad Software Inc.

[00450] Для несшитого PYY1 было допущено множество положений замещения diCys (2-9, 10-17, 20-27 и 23-30), а сшивание в положении 23-30 с L1 приводило к субнанолярной активности, сходной с активностью нативной последовательности (таблица 17). Также было предусмотрено, что более длинные сшивающие фрагменты в положениях i, i + 11 и i, i + 15 потенциально могут повышать протеолитическую устойчивость пептидов, однако сшивание L1D и L1E соответствующей длины, соответственно, неблагоприятно влияло на их активность. Кроме того, в последовательность PYY1 были введены мутации для повышения активности нативного пептида (последовательность «PYY2» или SEQ ID NO. 2). Аналоги PYY2, сшитые в положениях 10-17 и 23-30, также оказались мощными агонистами NPY2R. Сшивающие фрагменты L1F и L1G (которые немного длиннее L1) также допустимы в позициях 10-17. Таким образом, последовательности PYY1 и PYY2, сшитые в положениях 10-17 и 23-30, были использованы для конъюгации жирных кислот в целях улучшения связывания с сывороткой.

Таблица 17. Значения EC<sub>50</sub> сшитых аналогов PYY

Последовательность	Цистеиновые замещения	EC <sub>50</sub> hNPY2R, нМ		
		Отсутствие сшивающего	L1 10 атом	Другие сшивающие фрагменты

		фрагмента							
PYY1	Отсутствуют	0,97							
	i, i + 7	2, 9	2,9	4,4					
		10, 17	1,5	4,8	L1B (8 атом)	6,1	L1C (9 атом)	8,1	
		17, 24	15	4,3					
		18, 25	750	2,6					
		19, 26	69						
		20, 27	4,7	5,4					
		21, 28	190	4					
		22, 29	>10000	14					
		23, 30	5,6	0,9					
		24, 31	630	160					
		i, i + 11	10, 21	18					
			13, 24	98		L1D (13 атом)	2,2		
	19, 30		7,6		“	8,4			
	i, i + 15	9, 24	23		L1E (17 атом)	32			
		15, 30	7,6		“	15			
	PYY2	Отсутствуют	0,45						
		i, i + 7	10, 17	0,32	0,18	L1F (11 атом)	0,18	L1G (11 атом)	0,5
			23, 30	0,32	0,64				

**Пример D. Конъюгация с жирными кислотами усиливает связывание с белками сыворотки и продлевает период полураспада**

[00451] Была синтезирована библиотека сшивающих фрагментов, содержащая широкое разнообразие линкеров PEG и типов жирных кислот, что облегчало быструю проверку конъюгатов. Для измерения индуцированного пептидом NPY2R-опосредованного ингибирования образования cAMP

проводили анализ HTRF cAMP (гомогенная флуоресценция с временным разрешением циклического аденозинмонофосфата) в соответствии с инструкциями производителя (динамический набор cAMP-Gs от компании Cisbio). Вкратце, клетки cAMP Hunter CHO, экспрессирующие NPY2R (DiscoverX), высевали в течение ночи в белые 384-луночные планшеты по 5000 клеток на лунку в 20 мкл среды F12 при температуре 37°C в атмосфере 5% CO<sub>2</sub>. На следующий день среду удаляли и заменяли, используя 20 мкл среды Opti-MEM (Gibco) в присутствии 10% FBS или при отсутствии FBS. Добавляли пептиды (приготовленные в виде 5-кратного раствора в Opti-MEM) различных концентраций и форсколин (прямой активатор фермента аденилатциклазы, конечная концентрация 10 мкМ) и инкубировали в течение 30 минут при температуре 37°C. Добавляли детекторный реагент, дополнительно инкубировали в течение 60 минут при комнатной температуре и считывали на совместимом считывателе HTRF (PHERAstar). Кривые концентрационной зависимости были построены методом нелинейного регрессионного анализа с применением программного обеспечения Prism от компании GraphPad Software Inc.

[00452] Результаты этого анализа представлены в таблице 18. В целом наблюдался большой сдвиг между активностью, определенной в присутствии и в отсутствие сыворотки для сшивающих фрагментов L4 и L5. Например, при сравнении конъюгатов PYY1, исследованных в условиях с 10% FBS, конъюгаты со сшивающими фрагментами L4 и L5 имели значение EC<sub>50</sub>, составляющее 250 нМ и 310 нМ, соответственно, в положениях 10-17, и значение EC<sub>50</sub>, составляющее 150 нМ и 340 нМ, соответственно, в положениях 23-30 по сравнению с EC<sub>50</sub> 0,97 нМ в несшитом PYY1, исследованном в таких же условиях. Точно так же при сравнении конъюгатов PYY2 с 10% FBS конъюгаты со сшивающими фрагментами L4 и L5 имели значение EC<sub>50</sub>, составляющее 21 и 15, соответственно в положениях 10-17, и значение EC<sub>50</sub>, составляющее 9,2 и 170, соответственно в положениях 23-30, по сравнению с EC<sub>50</sub> 0,45 нМ в несшитом PYY2, исследованном в таких же условиях.

Таблица 18. Активация NPYR2 сшитых жирными кислотами конъюгатов PYY

Конъюгат	Последовательность	Цистеиновые замещения	Сшивающий фрагмент	EC <sub>50</sub> hNPY2R, нМ		
				сAMP		
				0% FBS	10% FBS	Соотношение 10:0%
SEQ ID NO: 1	PYY1	Отсутствуют	-	1,2	0,97	0,81
1		10, 17	L1	2,7	4,8	1,8
4			L3	2,3	170	74
5			L4	22	250	11
6			L5	44	310	7,0
8		23, 30	L1	0,95	0,9	0,95
10			L3	1,2	5,6	4,7
11			L4	3,1	150	48
12			L5	40	340	8,5
SEQ ID NO: 2	PYY2	Отсутствуют	-	0,29	0,45	1,6
15		10, 17	L1	0,18	0,18	1
18			L3	0,62	5,2	8,4
19			L4	0,45	21	47
21			L5	1,2	15	13



32		23, 30	L1	0,51	0,64	1,3
36			L3	0,44	4,9	11
37			L4	0,91	9,2	10
39			L5	3,7	170	46

**Пример Е. Симметрично сшитые конъюгаты проявляют активность против NPY2R**

[00453] «Симметричный» сшивающий фрагмент L5A был введен, чтобы избежать образования региоизомеров, которое может происходить при сшивании с «асимметричным» L5. Для измерения индуцированного пептидом NPY2R-опосредованного ингибирования образования cAMP проводили анализ HTRF cAMP (гомогенная флуоресценция с временным разрешением циклического аденозинмонофосфата) в соответствии с инструкциями производителя (динамический набор cAMP-Gs от компании Cisbio). Вкратце, клетки cAMP Hunter CHO, экспрессирующие NPY2R (DiscoverX), высевали в течение ночи в белые 384-луночные планшеты по 5000 клеток на лунку в 20 мкл среды F12 при температуре 37°C в атмосфере 5% CO<sub>2</sub>. На следующий день среду удаляли и заменяли, используя 20 мкл среды Opti-MEM (Gibco) в присутствии 10% FBS или при отсутствии FBS. Добавляли пептиды (приготовленные в виде 5-кратного раствора в Opti-MEM) различных концентраций и форсколин (прямой активатор фермента аденилатциклазы, конечная концентрация 10 мкМ) и инкубировали в течение 30 минут при температуре 37°C. Добавляли детекторный реагент, дополнительно инкубировали в течение 60 минут при комнатной температуре и считывали на совместимом считывателе HTRF (PHERAstar). Кривые концентрационной зависимости были построены методом нелинейного регрессионного анализа с применением программного обеспечения Prism от компании GraphPad Software Inc.

[00454] Активность конъюгатов, сшитых L5A, представлена в таблице 19. Значение EC<sub>50</sub> симметрично сшитых конъюгатов составляло 160 нМ при 10% FBS для сшивающих фрагментов в положениях 23, 30 в PYY1. Для PYY2 симметрично сшитые конъюгаты проявляли значение EC<sub>50</sub>, составляющее 14 нМ и 36 нМ при 10% FBS для сшивающих фрагментов в положениях 10-17 и 23-30, соответственно.

Таблица 19. Активность симметрично сшитых конъюгатов

Конъюгат	Последовательность	Цистеиновые замещения	Сшивающий фрагмент / липид	EC <sub>50</sub> hNPY2R, нМ		
				cAMP		
				0% FBS	10% FBS	Соотношение 10:0%
SEQ ID NO: 1	PYY1	Отсутствуют	-	1,2	0,97	0,81
13		23, 30	L5A	6,9	160	23
SEQ ID NO: 2	PYY2	Отсутствуют	-	0,29	0,45	1,6
22		10, 17	L5A	0,65	14	22
40		23, 30	“	5,3	36	6,8
62		10	FA2	1,0	9,2	9,2
63		17	“	2,3	41	18
64		23	“	1,0	9,7	9,7
65		30	“	56	210	3,8

[00455] Кроме того, было обнаружено, что в результате простого липидирования конъюгатов (без сшивания) с применением FA2 образуются NPY2R с впечатляющей активностью. Четкий сдвиг в сыворотке наблюдался для конъюгированных с жирными кислотами аналогов PYY, сшитых (мутант diCys40) или липидизированных в одном положении конъюгации Cys (62), на что указывают кривые зависимости

эффекта от дозы в присутствии и при отсутствии сыворотки, что подразумевает усиление связывания с сывороткой и более длительный период полураспада в условиях организма.

#### **Пример F. Конъюгаты РУУ проявляют увеличенный период полураспада**

[00456] Фармакокинетические свойства конъюгатов исследовали в условиях организма, чтобы определить эффект увеличения периода полураспада. Конъюгаты растворяли в стерильном физиологическом растворе и вводили в процессе однократной внутривенной инфузии самцам крыс линии Sprague-Dawley, которые не находились на тощак ( $n=3$  на группу) через канюлю бедренной вены в конечной дозе 0,033 мг/кг. Композиции вводили со скоростью 1,67 мл/кг/ч. Образцы крови (приблизительно 250 мкл) собирали для фармакокинетического анализа через канюлю яремной вены через 0,25, 0,5, 0,75, 1, 1,17, 1,33, 1,5, 2, 4, 6, 8, 24, 30 и 48 часов после начала введения в пробирки Microtainer, содержащие  $K_2EDTA$  в качестве антикоагулянта и 25 мкл смеси ингибиторов протеазы. Плазму получали посредством центрифугирования и хранили при температуре  $-80^{\circ}C$  до анализа.

[00457] Аликвоту каждого образца плазмы помещали в 96-луночный планшет. В каждую лунку добавляли Tween-20 до конечной концентрации 0,05%. Планшеты затем встряхивали, перемешивали перед тем, как в каждую лунку добавляли 3 объема раствора 0,1% TFA в смеси этанола и ацетонитрила в соотношении 2:1, содержащего соответствующий внутренний стандарт. Планшеты снова обрабатывали на встряхивающем устройстве, а затем центрифугировали в течение 10 минут при ускорении 2844 g. Надосадочные растворы помещали в чистый 96-луночный планшет и упаривали в токе азота при  $45^{\circ}C$ . Остатки растворяли в водном растворе 20% ацетонитрила, содержащем 0,1% муравьиной кислоты.

[00458] Все калибровочные стандарты готовили в контрольной крысиной плазме, содержащей  $K_2EDTA$  и смесь ингибиторов протеазы. Образцы и стандарты анализировали методом СВЖХ-МС/МС TurboIonSpray™ с применением системы, которую составляли автоматический инжектор CTC HTS PAL от компании Leap (Каррборо, штат Северная Каролина, США), система с колоночной печью Infinity 1290 от компании Agilent (Пало-Альто, штат Калифорния, США), переключающий клапан от компании Valco (Хьюстон, штат Техас, США) и масс-спектрометр AB Sciex API 5600 TripleTOF™ или API 4000QTrap от компании Sciex (Фреймингем, штат Массачусетс, США). Образцы вводили в аналитическую колонку C18 с обращенной фазой  $2,1 \times 50$  мм, обычно Waters ACQUITY UPLC HSS T3, 1,8 мкм от компании Waters Corporation (Милфорд, Массачусетс, США) или аналогичную. Хроматографическое разделение осуществляли градиентным методом с применением воды, содержащей 0,1% муравьиной кислоты (А), и ацетонитрила, содержащего 0,1% муравьиной кислоты (В), в качестве подвижной фазы. Исходная смесь состояла из 95% А и 5% В. Содержание органического компонента повышали до 95% В в течение 3-4 минут, в зависимости от пептида. Типичные скорости потока составляли 600 мкл/мин. Температуру колонки поддерживали постоянной на уровне 40 или  $45^{\circ}C$ . Пептиды количественно определяли, наблюдая за одним или несколькими ионами-продуктами, образующимися из многозарядного исходного иона.

[00459] Аналоги РУУ1, сшитые в положениях 10-17 с применением L4 и L5, показали для крыс период полураспада, составляющий 0,45 часа и 5,4 часа, соответственно, как показано в таблице 20. Аналоги РУУ1, сшитые в положениях 23, 30 с применением L4 и L5, показали для крыс период полураспада, составляющий 2,4 часа и 3,9 часа, соответственно. Аналоги РУУ2 со сшивающими фрагментами в положениях 10-17 сохраняют активность с периодом полураспада, составляющим 1,9 и 2,0 часа, соответственно. РУУ2, сшитый сшивающими фрагментами в положениях 23-30, проявлял превосходный эффект длительного действия для крыс с периодом полураспада, составляющим вплоть до 15 часов, как представлено на фиг. 2 и в таблице 21. Липидирование в положении 10 также приводило к



			$l \cdot \text{кг}^{-1}$				1	$l \cdot \text{кг}^{-1}$	
SEQ ID NO:	0,1	3	6,76	3,00	86,2	1,21	237	-	-
2-									
40	0,033	1	0,234	1,11	246	14,4	1870	0,027	4,5
62	0,033	1	0,446	1,00	111	11,6	1130	0,10	1,9

**Пример G. Сшитые конъюгаты РYУ имеют продолжительный прогнозируемый период полураспада в плазме человека**

[00461] Средство связывания сывороточного альбумина конъюгата измеряли непосредственно с применением анализа поверхностного плазмонного резонанса (SPR) Biacore, который использовали для вычисления несвязанной фракции ( $f_u$ ) для каждого конъюгата. Период полураспада вычисляли с применением стационарного объема распределения ( $V_{ss}$ ) и клиренса (CL) по следующему уравнению:

$$T_1 = \frac{\ln 2 \cdot V_{ss}}{CL}$$

Для метаболически устойчивого конъюгата с точки зрения почечного клиренса (CLR) и скорости клубочковой фильтрации (GFR):

$$CL \cong CL_R = f_u \cdot GFR$$

Таким образом:

$$T_1 = \frac{\ln 2 \cdot V_{ss}}{f_u \cdot GFR}$$

[00462] Прогнозируемые периоды полураспада для человека на основе аллометрического масштабирования с поправкой на связывание альбумина показаны в таблице 19 наряду с экспериментально определенными параметрами сывороточного альбумина как крысы (RSA), так и для человека (HSA). Было обнаружено, что все соединения имеют относительно высокое средство как к RSA, так и к HSA, сопоставимое с семаглутидом. Кроме того, не наблюдали больших видовых различий.

Таблица 22. Прогнозируемые периоды полураспада для человека

Конъюгат	$T_{1/2}$ для крысы, час	CL для крысы, $\text{мл} \cdot \text{мин}^{-1} \cdot \text{кг}^{-1}$	$V_{ss}$ для крысы, $\text{мл} \cdot \text{кг}^{-1}$	$K_d$ , мкМ		$f_u$ , %		Прогноз. $T_{1/2}$ для человека, сутки	Прогноз. CL для человека, $\text{мл} \cdot \text{мин}^{-1} \cdot \text{кг}^{-1}$
				HSA	RSA	HSA	RSA		
семаглутид	-	-	-	4,4	17	0,69	3,3	-	-
39	15	0,23	270	4,4	2,3	0,69	0,47	1,4	0,095
40	14	0,23	250	0,96	1,8	0,15	0,37	4,5	0,027
62	$12 \pm 1$	$0,45 \pm 0,04$	390	3,3	3,0	0,51	0,60	1,9	0,10
63	5,7	$0,78 \pm 0,04$	230	2,5	3,8	0,40	0,37	1,0	0,11
64	$5 \pm 3$	$1,2 \pm 0,3$	310	3,0	1,8	0,48	0,37	0,4	0,41

[00463] Конъюгат 40, в частности, продемонстрировал значительно увеличенный период полураспада, составляющий 14 часов, у крысы и прогнозируемый период полураспада у человека, составляющий около 4,5 суток. Дальнейшие исследования в условиях организма выявили весьма благоприятный контроль потребления пищи и значительный эффект снижения веса в хроническом исследовании эффективности в сочетании с нашим ранее открытым конъюгатом агониста GLP-1R длительного действия 187. Сравнение с одобренным пептидным терапевтическим семаглутидом

предполагает наблюдаемый период полураспада у грызунов, вероятно, приведет к прогнозируемому фармакокинетическому профилю у людей, подходящему для дозирования один раз в неделю.

#### **Пример Н. Аналоги РУУ проявляли высокую специфичность в отношении NPY2R**

[00464] Специфичность аналогов РУУ в отношении NPY2R оценивали с применением люциферазного анализа. Клетки HEK293 инфицировали лентивирусом, кодирующим ген люциферазы светлячка под контролем промотора cAMP-чувствительного элемента (CRE) от компании Qiagen (Нидерланды), а затем выбирали с применением 1 мкг/мл пурамицина от компании Life Technologies (Карлсбад, штат Калифорния, США) в течение 1 недели. Выжившие клетки (обозначаемые как CRE-HEK293) размножали и затем трансфицировали селективной экспрессионной плазмидой млекопитающих G418, кодирующей NPY1R, NPY2R, NPY4R и NPY5R человека. Плазмиду трансфицировали в клетки CRE-HEK293 с применением липофектамина 2000 и выбирали с применением 400 мкг/мл генетицина компании Life Technologies (Карлсбад, штат Калифорния, США). Затем была создана устойчивая линия клеток с одной колонией, сверхэкспрессирующая как CRE-люциферазу, так и рецептор NPY, для анализа активности в лабораторных условиях для каждого рецептора NPY. Эти клетки высевали в 384-луночные планшеты с плотностью 5000 клеток на лунку и культивировали в течение 18 часов в среде DMEM с 10% FBS при температуре 37°C в атмосфере 5% CO<sub>2</sub>. Клетки обрабатывали конъюгатами в течение 24 часов, и активацию рецепторов определяли по интенсивности люминесценции с применением реагента люциферазы One-Glo от компании Promega (Мэдисон, штат Висконсин, США) в соответствии с инструкциями производителя. Значение EC<sub>50</sub> каждого конъюгата определяли с применением программного обеспечения GraphPad Prism 6 от компании GraphPad (Сан-Диего, штат Калифорния, США).

[00465] SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 и конъюгат 21 показали высокую специфичность в отношении NPY2R по сравнению с другими рецепторами NPY, как показано в таблице 23. Для несшитого аналога РУУ1 значение EC<sub>50</sub> составляло 1900 нМ, 6700 нМ и 410 нМ в отношении NPY1R, NPY4R и NPY5R, соответственно, по сравнению с EC<sub>50</sub> 0,49 против NPY2R. Для несшитого аналога РУУ2 EC<sub>50</sub> значение EC<sub>50</sub> составляло более 10000 нМ в отношении NPY1R и NPY4R и 1200 нМ в отношении NPY5R по сравнению с 2,2 нМ против NPY2R. Для конъюгата 21, аналога РУУ2 со сшивающим фрагментом L5 в положениях 10-17 значение EC<sub>50</sub> составляло 0,39 для NPY2R и более 10000 нМ для всех других исследованных рецепторов NPY.

Таблица 23. Специфичность аналогов РУУ в отношении рецепторов NPY

Конъюгат	EC <sub>50</sub> , нМ			
	NPY1R	NPY2R	NPY4R	NPY5R
SEQ ID NO: 1	1900	0,49	6700	410
SEQ ID NO: 2	>10000	2,2	>10000	1200
21	>10000	0,39	>10000	>10000

#### **Пример I. Аналоги РУУ сокращали потребление пищи для мышей**

[00466] Учитывая хорошо установленный анорексигенный эффект введения РУУ, исследование потребления пищи проводили на мышах дикого типа C57BL/6 с применением конъюгата 40 в дозах 0,04 и 0,2 мг/кг посредством подкожной инъекции. Конъюгат 40 также исследовали в сочетании с ранее опубликованным агонистом GLP-1R длительного действия, конъюгатом 187.

[00467] Самцы мышей дикого типа C57BL/6 (возраст 15 недель из Jackson Labs, Бар-Харбор, Мэн), которых содержали на обычном рационе питания, подвергали акклиматизации в обратном световом цикле и вводили им однократную дозу конъюгата (5 мл/кг) посредством подкожной инъекции (n = 6, группу

содержалась по две мыши на клетку). Наблюдали потребление пищи через 0 (начало темного цикла), 3, 6, 12 и 24 часов и массу тела через 0 и 48 часов после введения дозы.

[00468] Все группы демонстрировали значительное снижение потребления пищи, как представлено на фиг. 3А, причем при дозировании только конъюгата 40 наблюдали зависимое от дозы снижение потребления пищи на модели дикого типа. В то время как конъюгат 187 в дозе 0,01 мг/кг демонстрировали снижение потребления пищи, сравнимое с конъюгатом 40 в дозе 0,04 мг/кг, наиболее устойчивый эффект снижения потребления пищи наблюдали в случае применения конъюгата 187 в комбинации с конъюгатом 40 в дозах 0,04 и 0,2 мг/кг, что приводило к снижению совокупного потребления пищи через 24 часа на 64% и 90% соответственно. Однократная комбинированная доза конъюгата 187 и 40 вызывала значительную потерю массы тела (-5%), наблюдаемую через 48 часов после введения дозы, как представлено на фиг. 3В, что свидетельствовало о продолжительном эффекте.

#### **Пример J. Введение аналогов PYY приводило к уменьшению массы тела мышей**

[00469] Двухнедельное хроническое исследование для изучения влияния ежедневного введения конъюгата 40 на массу тела и гомеостаз глюкозы, либо индивидуально, либо в комбинации с конъюгатом 187, проводили на мышинной модели алиментарного ожирения (DIO).

[00470] Представляющим собой модель алиментарного ожирения (DIO) самцам мышей (в возрасте 18 недель от компании Taconic Biosciences), которых содержали на диете с высоким содержанием жиров (D12492, диета с содержанием жира 60%) в течение 12 недель, вводили конъюгат путем ежедневной подкожной инъекции в течение вплоть до 13 суток (n = 6, группу содержали по две особи в клетке с обычным световым циклом). Средняя масса тела в начале эксперимента составляла 50 г. Массу тела мыши измеряли в дни 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12 и 13. Мышей не кормили в течение ночи перед пероральным глюкозотолерантным исследованием (OGTT) на 14 день, а затем им вводили дозу конъюгата. Через 6 часов перорально вводили 1 г раствора глюкозы на 1 кг массы тела и измеряли уровень глюкозы в крови хвоста мыши до (0 минут) и после введения глюкозы в течение 2 часов. Данные сравнивали с применением непарного t-критерия Стьюдента. При необходимости данные сравнивали с применением повторных измерений или однофакторного дисперсионного анализа с последующим ретроспективным анализом Стьюдента-Ньюмана-Кейлса.

[00471] Обе дозы аналога PYY (40) по отдельности продемонстрировали зависимое снижение от дозы потребления пищи в день 1 (фиг. 4А), хотя этот эффект, по-видимому, уменьшался с течением временем (день 5, фиг. 4В). индивидуально в высокой дозе конъюгат 40 также показал значительное снижение массы тела по сравнению с контрольным носителем, как представлено на фиг. 4С. Как наблюдали в исследовании кратковременного приема пищи, конъюгат 187 индивидуально проявлял некоторую эффективность, но в обеих комбинированных группах было продемонстрировано превосходное снижение массы тела. Доза 0,01 мг/кг конъюгата 187 в сочетании с высокой дозой (0,2 мг/кг) конъюгата 40 через 13 суток обеспечивала снижение массы тела, составляющее около 25%. Кроме того, снижение массы тела в группах комбинированной терапии существенно превышало прогнозируемый профиль, основанный только на аддитивном эффекте (ожидаемая аддитивность на основании графика), что свидетельствует о синергетическом повышении эффективности при комбинированном введении доз. Аналогичным образом, комбинированное лечение продемонстрировало большее подавляющее действие на потребление пищи по сравнению с индивидуальным конъюгатом 187 агониста GLP-1R после 5 суток дозирования, как представлено на фиг. 4В.

[00472] Гомеостаз глюкозы в крови в день 14 оценивали с применением перорального глюкозотолерантного исследования (OGTT, фиг. 4D-4F). Лечение одним аналогом PYY 40 не оказывало значительного влияния на результат OGTT или уровень глюкозы в крови в состоянии натощак. В то же время в группах, получавших агонист GLP-1R (конъюгат 187), наблюдались значительные улучшения согласно ожиданиям, а в группах, получавших комбинацию, наблюдался несколько лучший контроль уровня глюкозы. Продемонстрированный относительно умеренный эффект контроля уровня глюкозы не был неожиданным и, возможно, связан с несколько легкой гипергликемией, наблюдаемой в преддиабетической модели DIO. Четкое различие между группами, получавшими конъюгат 187, и группами, не получавшими его, указывает на то, что именно эффект агониста GLP-1R определяет эффект контроля уровня глюкозы в этом исследовании. Однако группы, получавшие комбинацию, продемонстрировали превосходный эффект на уровне глюкозы в состоянии натощак, как представлено на фиг. 4F, и это свидетельствует о том, что комбинированное лечение может оказывать некоторый устойчивый аддитивный эффект на контроль глюкозы.

**[00473] Пример К. Получение устойчивой линии клеток CRE-Luc, сверхэкспрессирующих GLP-1R или GCGR**

Клетки HEK293 инфицировали лентивирусом, кодирующим ген люциферазы светлячка под контролем промотора cAMP-чувствительного элемента (CRE) от компании Qiagen (Нидерланды), а затем отбирали с применением 1 мкг/мл пурамицина от компании Life Technologies (Карлсбад, штат Калифорния, США) в течение 1 недели. Выжившие клетки (называемые CRE-HEK293) размножали и затем трансфицировали селективной экспрессионной плазмидой млекопитающих G418, кодирующей GLP-1R или GCGR человека. Вкратце, плазмиду GLP-1R или GCGR трансфицировали в клетки CRE-HEK293 с применением липофектамина 2000 и отбирали с помощью 400 мкг/мл генетицина от компании Life Technologies (Карлсбад, штат Калифорния, США). Затем была создана устойчивая линия с одной колонией клеток, сверхэкспрессирующих CRE-люциферазу и GLP1R или GCGR (HEK293-GLP-1R-CRE или HEK293-GCGR-CRE), для анализа активности в лабораторных условиях.

**Пример L. Репортерный анализ активации рецептора в лабораторных условиях (лабораторных условиях синтез cAMP)**

[00474] Клетки HEK293-GLP-1R-CRE или HEK293-GCGR-CRE высевали в 384-луночные планшеты с плотностью 5000 клеток на лунку и культивировали в течение 18 часов в DMEM (среда Игла, модифицированная по способу Дульбекко) с 10% FBS при температуре 37°C в атмосфере 5% CO<sub>2</sub>. Клетки обрабатывали пептидами в зависимости от дозы в течение 24 часов, и активацию рецепторов определяли по интенсивности люминесценции с применением реагента люциферазы One-Glo от компании Promega (Мэдисон, штат Висконсин, США) в соответствии с инструкциями производителя. Значение EC<sub>50</sub> каждого пептида определяли с применением программного обеспечения GraphPad Prism 6 от компании GraphPad (Сан-Диего, штат Калифорния, США).

Таблица 24. Данные cAMP (пептидные конъюгаты)

	GLP-1R/GCGR - cAMP 0% FBS, нМ
121	1,357/2,543
122	0,0037 / 0,070
123	2,371 / 0,4512
124	0,049 / 0,319
125	0,210 / 0,626

126	0,119 / 0,092
127	0,148 / 0,009
128	6,640 / 16,22
129	31,080 / 55,95
135	0,0075/0,0068
136	2,8735/0,5589
137	2,018/0,4443
138	0,9076/1,4214

#### **Пример М. Исследование cAMP**

[00475] Клетки CHO-K1, устойчиво сверхэкспрессирующие GLP-1R или GCGR человека (20 мкл по 5000 клеток на лунку), высевали в сплошной белый 384-луночный планшет, закрытый металлической крышкой, и инкубировали в течение ночи. На второй день культуральную среду заменяли свежей средой, не содержащей FBS (для группы с 0% FBS). Клетки обрабатывали 5 мкл пептида в зависимости от дозы реакции по 12 точкам в культуральной среде с 0,5 мМ изобутилметилксантина (IBMX) в трех экземплярах в течение 30 минут при температуре 37°C в атмосфере 5% CO<sub>2</sub>. Для определения уровня cAMP использовали (динамический набор cAMP 2 от компании Cisbio). Вкратце, добавляли 25 мкл реагента для обнаружения cAMP (1:1:38 cAMP-d2, криптаный конъюгат, буферный раствор для лизиса) на лунку и инкубировали при комнатной температуре в течение 1 часа. В лунки отрицательного контроля клеток добавляли реагент для обнаружения cAMP без d2. Затем планшеты считывали при длине волны возбуждения Ex320 нм и длинах волны эмиссии Em-1 665 нм и Em-2 615 нм. Графики строили, используя соотношение или значение  $\Delta F$  с применением программного обеспечения Prism, после чего получали значение EC<sub>50</sub>. Соотношение =  $A_{665 \text{ нм}}/B_{620 \text{ нм}} \times 10^4$ .  $\Delta F$  (%) = (соотношение для стандарта или образца - соотношение для отрицательного контроля/соотношение для отрицательного контроля) × 100. Результаты представлены на фиг. 5A-5C.

#### **Пример N. Фармакокинетические исследования**

[00476] Самок мышей CD-1 (n = 3 или 4 на группу) из Charles River Laboratory не кормили в течение ночи и вводили 100 мкл каждого пептида в фосфатно-солевом буферном растворе (pH = 8,2) внутривенным или подкожным способом. Пищу давали мышам через 3 часа после сбора крови. Кровь собирали в пробирки с гепарином и центрифугировали при ускорении 3000 g в течение 15 минут. Полученную плазму затем хранили при температуре -80°C для определения концентрации пептида. Концентрации пептидов в плазме в каждый момент времени определяли анализом активности клеток в лабораторных условиях. Вкратце, клетки HEK293-GLP-1R-CRE обрабатывали образцами плазмы в разные моменты времени (зависимая от дозы эффективность по 5 точкам при разведении от 1:10 до 1:100 каждого образца плазмы) и инкубировали в течение 16 часов в DMEM с 10% FBS при температуре 37°C в атмосфере 5% CO<sub>2</sub>, после чего измеряли активность люциферазы светлячка. Одновременно те же пептиды использовали, чтобы получить стандартные кривые и параметры для нижнего и верхнего значений, EC<sub>50</sub> и угловой коэффициент Хилла. Относительную единицу люциферазы (RLU) для каждого образца плазмы использовали для вычисления концентрации пептида в плазме (нмоль/л) с применением параметров, полученных из стандартной кривой ( $RLU = \text{нижнее значение} + (\text{верхнее значение} - \text{нижнее значение}) / (1 + 10^{((\text{LogEC}_{50} - \text{конц.}) \times \text{угловой коэффициент Хилла}))}$ ). Концентрации пептидов в плазме получали и наносили на график в зависимости от моментов времени для получения периода полураспада в условиях организма каждого пептида с применением программного обеспечения WinNonLin Phoenix от компании Pharsight Corp. (Сент-Луис, штат Миссури, США).

[00477] Результаты для пептида 122 и 135 представлены на фиг. 6A-6B и в таблицах 25a и 25b.



Таблица 25а. Фармакокинетические параметры для внутривенного введения анализируемых веществ

Пептид	Доза	Животное	$T_{1/2}$	$T_{max}$	$C_{max}$	$AUC_{last}$	$AUC_{\infty}$	Cl
	(мг/кг)		(ч)	(ч)	(нг/мл)	(ч·нг/мл)	(ч·нг/мл)	
122	0,3	Животное № 7	8,95	0,08	11800	101000	101000	2,96
	0,3	Животное № 8	8,37	1	13300	97600	97800	3,07
	0,3	Животное № 9	9,5	0,08	24700	139000	140000	2,14
		Среднее значение	8,94	0,389	16600	113000	113000	2,72
		Среднеквадратическое отклонение	0,565	0,529	7060	23100	23300	0,504
135	0,3	Животное № 1	10,76	1	10300	78900	79300	3,78
	0,3	Животное № 2	9,49	1	9920	87100	87400	3,43
		Среднее значение	10,1	1	10100	83000	83400	3,61
		Среднеквадратическое отклонение	0,896	0	298	5850	5780	0,25

Таблица 25б. Фармакокинетические параметры для подкожного введения анализируемых веществ

Пептид	Доза	Животное	$T_{1/2}$	$T_{max}$	$C_{max}$	$AUC_{last}$	$AUC_{\infty}$	Cl	%F
	(мг/кг)		(ч)	(ч)	(нг/мл)	(ч·нг/мл)	(ч·нг/мл)		
122	1	Животное № 10	9,65	7	9870	282000	284000	3,51	
	1	Животное № 11	8,47	24	8050	276000	278000	3,59	
	1	Животное № 12	7,09	24	7990	250000	250000	3,99	
		Среднее значение	8,4	18,3	8630	269000	271000	3,7	72%
		Среднеквадратическое отклонение	1,28	9,81	1070	17300	18200	0,257	
135	1	Животное № 4	10,61	3	7650	242000	246000	4,06	
	1	Животное № 5	10,97	3	12700	245000	248000	4,04	
	1	Животное № 6	11,52	7	13300	260000	264000	3,79	
		Среднее значение	11	4,33	11200	249000	253000	3,96	91%
		Среднеквадратическое отклонение	0,457	2,31	3100	9770	9760	0,15	

[00478] Концентрация пептида 142 в плазме с течением времени представлена на фиг. 6С. Фармакокинетические параметры представлены в таблицах 26а и 26б. Пептид 142 имел средний период полураспада, составляющий 10,71 часов при внутривенном введении и 11,56 часов при подкожном введении.

Таблица 26а. Фармакокинетические параметры для внутривенного введения пептида 142

Животное	$T_{1/2}$ (ч)	$T_{max}$ (ч)	$C_{max}$ (нг/мл)	$AUC_{last}$ (ч·нг/мл)	$AUC_{INF\_obs}$ (ч·нг/мл)	$V_{ss\_obs}$ (л/кг)	$Cl_{obs}$ (мл/мин/кг)
1	10,52	0,08	3900	15700	15800	0,21	0,32
2	11,25	0,08	3550	21300	21400	0,12	0,23
3	10,35	0,08	3930	18000	18100	0,19	0,28
Среднее значение	10,71	0,08	3790	18300	18400	0,175	0,276

Среднеквадратическое отклонение	0,478	0	209	2840	2850	0,05	0,042
Коэффициент вариации, %	4,5	0	5,5	15,5	15,4	28,3	15,2

Таблица 26b. Фармакокинетические параметры для подкожного введения пептида 142

Животное	T <sub>½</sub> (ч)	T <sub>max</sub> (ч)	C <sub>max</sub> (нг/мл)	AUC <sub>last</sub> (ч·нг/мл)	AUC <sub>INF_obs</sub> (ч·нг/мл)	V <sub>ss_obs</sub> (л/кг)	Cl <sub>obs</sub> (мл/мин/кг)
4	11,15	3	3980	54900	55400	0,29	0,3
5	12,54	1	4880	67100	67700	0,27	0,25
6	10,99	3	5270	55600	55900	0,28	0,3
Среднее значение	11,56	2,33	4710	59200	59700	0,28	0,282
Среднеквадратическое отклонение	0,849	1,16	659	6810	6970	0,012	0,031
Коэффициент вариации, %	7,3	49,5	14	11,5	11,7	4,3	10,9

[00479] Концентрация пептида 183 в плазме с течением времени представлена на фиг. 6D. Фармакокинетические параметры представлены в таблицах 26с и 26d. Пептид 183 имел средний период полураспада, составляющий 6,335 часов при внутривенном введении и 7,87 часов при подкожном введении.

Таблица 26с. Фармакокинетические параметры для внутривенного введения пептида 183

Животное	T <sub>½</sub> (ч)	T <sub>max</sub> (ч)	C <sub>max</sub> (нг/мл)	AUC <sub>last</sub> (ч·нг/мл)	AUC <sub>INF_obs</sub> (ч·нг/мл)	V <sub>ss_obs</sub> (л/кг)	Cl <sub>obs</sub> (мл/мин/кг)
7	5,88	0,08	12000	31400	31400	0,08	0,16
8	6,69	0,08	9720	35600	35600	0,07	0,14
9	6,44	0,08	7970	37400	37500	0,07	0,13
Среднее значение	6,335	0,08	9890	34800	34800	0,077	0,144
Среднеквадратическое отклонение	0,413	0	2010	3120	3120	0,005	0,013
Коэффициент вариации, %	6,5	0	20,3	9	9	6,6	9,3

Таблица 26d. Фармакокинетические параметры для подкожного введения пептида 183

Животное	T <sub>½</sub> (ч)	T <sub>max</sub> (ч)	C <sub>max</sub> (нг/мл)	AUC <sub>last</sub> (ч·нг/мл)	AUC <sub>INF_obs</sub> (ч·нг/мл)	V <sub>ss_obs</sub> (л/кг)	Cl <sub>obs</sub> (мл/мин/кг)
10	8,23	3	6220	90300	90500	0,13	0,18
11	7,65	7	8100	136000	137000	0,08	0,12
12	8,08	3	7770	139000	139000	0,08	0,12
Среднее значение	7,987	4,33	7360	122000	122000	0,098	0,142
Среднеквадратическое отклонение	0,301	2,31	1000	27400	27500	0,028	0,037
Коэффициент вариации, %	3,8	53,3	13,6	22,5	22,5	28,7	25,8

**Пример О. Эффективность в условиях организма**

[00480] Мышей C57BL/6J (n = 6/группа) в возрасте 10-12 недель не кормили в течение ночи, а затем подкожным путем вводили 5 мл/кг каждого пептида в PBS (pH=8,2). Через 6 часов мышам перорально или внутрибрюшинно вводили 2 г раствора глюкозы на 1 кг массы тела и измеряли уровень глюкозы в крови хвоста до (0 мин) и после введения глюкозы в течение 2 часов. Последующее пероральное глюкозотолерантное исследование (OGTT) также проводили через 48 и 96 часов после введения исходной дозы у тех же мышей после голодания в течение ночи.

[00481] Затем эффективность двойного агониста GLP-1R/GCGR 135 оценивали в пероральном глюкозотолерантном исследовании (OGTT) на ослабленных мышах. В качестве положительного контроля использовали вводимый один раз в неделю одиночный агонист GLP-1R семаглутид и двойной агонист GLP-1R/GCGR пептид котадутид, вводимый один раз в день, который в настоящее время проходит испытания фазы II в компании AstraZeneca.

[00482] Эффекты соединений в пероральном глюкозотолерантном исследовании (OGTT) через 6 часов, 48 часов и 96 часов после введения дозы по сравнению с контрольным носителем (PBS pH 8,2) показаны на фиг. 7A-7C. фиг. 7A-7C отображают влияние соединений на уровень глюкозы в крови с течением времени. На фиг. 7D-7F представлено влияние соединений на уровни глюкозы, измеренное по площади под кривой. На фиг. 7G-7I представлено влияние соединений на уровень глюкозы натощак. Для всех фигур A: 122 4, B: 135, C: 138, D: котадутид, E: семаглутид. Все пептиды значительно снижали уровень глюкозы в крови до аналогичного уровня через 6 часов после введения по сравнению с носителем. Аналогичные результаты наблюдались для уровня глюкозы в крови в состоянии натощак для всех пептидов. Однако значительные различия в уровнях глюкозы наблюдались через 48 ч после введения пептидов. Котадутид не показал каких-либо улучшений по сравнению с носителем через 48 часов, что согласуется с его пригодностью для введения человеку путем инъекции один раз в день людям. С другой стороны, у мышей, получавших конъюгат 135, через 48 ч наблюдались более значительные улучшения в при введении глюкозы по сравнению с семаглутидом. Кроме того, конъюгат 135 был способен значительно снижать уровень глюкозы в состоянии натощак, в то время как остальные пептиды не приводили к повышению эффективности. Наблюдаемая здесь повышенная эффективность конъюгата 135 в условиях организма, вероятно, представляет собой результат как более высокой двойной агонистической активности, так и увеличенного периода полураспада в условиях организма. В предположении наличия прямого соотношения между активностью и фармакокинетикой результаты этого эксперимента показывают, что пептидный конъюгат 135 имеет более длительный период полураспада, чем семаглутид, и, таким образом, он является перспективным для введения один раз в неделю или два раза в месяц с соответствующей композицией.

**Пример Р. Получение устойчивой линии клеток CRE-Luc со сверхэкспрессией GLP-1R или GCGR**

[00483] Клетки HEK293 инфицировали лентивирусом, кодирующим ген люциферазы светлячка под контролем промотора cAMP-чувствительного элемента (CRE) от компании Qiagen (Нидерланды), а затем отбирали с применением 1 мкг/мл пурамицина от компании Life Technologies (Карлсбад, штат Калифорния, США) в течение 1 недели. Выжившие клетки (называемые CRE-HEK293) размножали и затем трансфицировали селективной экспрессионной плазмидой млекопитающих G418, кодирующей GLP-1R или GCGR человека. Вкратце, плазмиду GLP-1R или GCGR трансфицировали в клетки CRE-HEK293 с применением липофектамина 2000 и отбирали с помощью 400 мкг/мл генетицина от компании Life

Technologies (Карлсбад, штат Калифорния, США). Затем была получена устойчивая линия клеток с одной колонией, сверхэкспрессирующая CRE-люциферазу и GLP1R или GIPR (HEK293-GLP-1R-CRE или HEK293-GIPR-CRE), для исследования активности в лабораторных условиях.

**Пример Q. Репортерный анализ активации рецептора (опосредованный рецептором синтез cAMP) HEK293 в лабораторных условиях**

[00484] Клетки GLP-1R-CRE или HEK293-GIPR-CRE высевали в 384-луночные планшеты с плотностью 5000 клеток на лунку и культивировали в течение 18 ч в среде DMEM с 10% FBS при температуре 37°C в атмосфере 5% CO<sub>2</sub>. Клетки обрабатывали конъюгатами в течение 24 часов, и активацию рецепторов определяли по интенсивности люминесценции с применением реагента люциферазы One-Glo от компании Promega (Мэдисон, штат Висконсин, США) в соответствии с инструкциями производителя. Значение EC<sub>50</sub> каждого конъюгата определяли с применением программного обеспечения GraphPad Prism 6 от компании GraphPad (Сан-Диего, штат Калифорния, США). Результаты представлены на фиг. 8A-8B.

Таблица 27. Данные Creluc (пептидные конъюгаты)

	GLP-1R/GIPR - Creluc, нМ
141	0,01 / 0,02
142	0,02 / 0,02
165	13,77 / 5,31
166	83,92 / 12,55
167	18,77 / 20,43
168	>1000 / 303
169	1,32 / 11,29
170	3,74 / 15,66

**Пример R. Исследование cAMP**

[00485] Клетки CHOК1, устойчиво сверхэкспрессирующие GLP-1R или GIPR человека (20 мкл по 5000 клеток на лунку), высевали в сплошной белый 384-луночный планшет, закрытый металлической крышкой, и инкубировали в течение ночи. На второй день культуральную среду заменяли свежей средой, не содержащей FBS (для группы с 0% FBS). Клетки обрабатывали 5 мкл пептида в зависимости от дозы реакции по 12 точкам в культуральной среде с 0,5 мМ изобутилметилксантина (IBMX) в трех экземплярах в течение 30 минут при температуре 37°C в атмосфере 5% CO<sub>2</sub>. Для определения уровня cAMP использовали (динамический набор cAMP 2 от компании Cisbio). Вкратце, добавляли 25 мкл реагента для обнаружения cAMP (1:1:38 cAMP-d2, криптаный конъюгат, буферный раствор для лизиса) на лунку и инкубировали при комнатной температуре в течение 1 часа. В лунки отрицательного контроля клеток добавляли реагент для обнаружения cAMP без d2. Затем планшеты считывали при длине волны возбуждения Ex320 нм и длинах волны эмиссии Em-1 665 нм и Em-2 615 нм. Графики строили, используя соотношение или значение ΔF с применением программного обеспечения Prism, после чего получали значение EC<sub>50</sub>. Соотношение =  $A_{665 \text{ нм}}/B_{620 \text{ нм}} \times 10^4$ . ΔF (%) = (соотношение для стандарта или образца - соотношение для отрицательного контроля/соотношение для отрицательного контроля)×100. Результаты представлены на фиг. 5A-5C.

Таблица 28. Данные cAMP (пептидные конъюгаты)

	GLP-1R/GIPR - cAMP 0% FBS, нМ
139	0,061 / 0,0026
140	0,034 / 0,0028

141	0,022 / 0,0048
142	0,026 / 0,0080
143	0,068 / 0,0020
144	0,012 / 0,0022
145	61,37 / 14,99
146	0,11 / 0,03
147	0,07 / 0,02
148	0,46 / 0,03
149	0,05 / 0,01
150	0,06 / 0,02
151	0,03 / 0,02
152	0,49 / 0,05
153	0,05 / 0,01
154	0,03 / 0,02
155	4,08 / 1,66
156	14,64 / 2,82
157	16,45 / Н. О.
158	98,29 / 30,52
159	1179 / 0,0312
160	0,03 / 7,297
161	0,4 / 0,01
162	0,05 / 0,02
163	0,24 / 0,05
164	0,14 / 68,29
171	0,32 / 0,17
272	0,46 / 0,03
273	0,49 / 0,05
274	0,40 / 0,01

**Пример S. Пероральное глюкозотолерантное исследование (OGTT)**

[00486] Мышей C57BL/6J (n = 6/группа) в возрасте 10-12 недель не кормили в течение ночи, а затем подкожным путем вводили 5 мл/кг каждого пептида в PBS (pH = 8,2). маршрут. Через 6 часов мышам перорально или внутривенно вводили 2 г раствора глюкозы на 1 кг массы тела и измеряли уровень глюкозы в крови хвоста до (0 мин) и после введения глюкозы в течение 2 часов. Последующие пероральные глюкозотолерантные исследования (OGTT) также проводили через 72 часа, 96 часов и 144 часа после введения исходной дозы тем же мышам после голодания в течение ночи.

Для всех фигур А: 141, 4, В: 171, С: тирзепатид, D: 142, E: семаглутид.

Пероральное глюкозотолерантное исследование (OGTT) проводили через 2 часа, 72 часа, 96 часов и 144 часа после введения дозы, как представлено на фиг. 9А-9Д. Через 2 часа наблюдали значительное снижение уровней глюкозы в крови, измеренное с помощью площади под кривой (AUC), у мышей, получавших соединение 141, соединение 171, соединение 142, семаглутид и тирзепатид, по сравнению с мышами, получавшими только носитель, как представлено на фиг. 9Е. В OGTT, проведенном через 72 часа

после введения дозы, наблюдали значительное снижение уровней глюкозы в крови, измеренное с помощью AUC, у мышей, получавших соединение 141, соединение 171, соединение 142 и семаглутид, по сравнению с мышами, получавшими только носитель, как представлено на фиг. 9F. В OGTT, проведенном через 96 часов после введения дозы, наблюдали значительное снижение уровней глюкозы в крови, измеренное с помощью AUC, у мышей, получавших соединение 141, соединение 142 и семаглутид, по сравнению с мышами, получавшими только носитель, как представлено на фиг. 9G. В OGTT, проведенном через 144 часа после введения дозы, наблюдали значительное снижение уровней глюкозы в крови, измеренное по AUC, у мышей, получавших соединение 141, соединение 142 и семаглутид, по сравнению с мышами, получавшими только носитель, как представлено на фиг. 9F.

В результате лечения с применением соединения 141, соединения 171, соединения 142, семаглутида и тирзепатида наблюдали значительное снижение уровней глюкозы в состоянии натощак через 2 часа после введения по сравнению с применением одного разбавителя, как представлено на фиг. 9I. В результате лечения с применением соединения 141, соединения 171 и семаглутида наблюдали значительное снижение уровней глюкозы в состоянии натощак через 72 часа после введения по сравнению с применением одного разбавителя, как представлено на фиг. 9J. В результате лечения с применением соединения 141, соединения 142 и семаглутида наблюдали значительное снижению уровней глюкозы в состоянии натощак через 96 часов и 144 часа после введения по сравнению с применением одного разбавителя, как представлено на фиг. 9K-9L.

#### **Пример Т. Исследование мышей с алиментарным ожирением (DIO)**

[00487] Результаты выражены как среднее значение  $\pm$  среднеквадратическое отклонение, и данные сравнивали с применением непарного t-критерия Стьюдента. При необходимости данные сравнивали с применением повторных измерений или однофакторного дисперсионного анализа с последующим ретроспективным анализом Стьюдента-Ньюмана-Кейлса. Увеличение площади под кривой (AUC) для содержания глюкозы в плазме вычисляли с применением программного обеспечения GraphPad Prism 6. Группы данных считали значительно различающимися, если  $p < 0,01$ .

#### Измерение массы тела, потребления пищи и массы висцерального жира

Мышей DIO (C57BL/6, самцы, 37-недельный возраст) рандомизировали в зависимости от массы тела, и им ежедневно или два раза в неделю подкожно вводили пептид или носитель ( $n = 6$ /группа). Массу тела и потребление пищи наблюдали ежедневно на протяжении всего исследования.

[00488] У мышей, получавших соединение 142 или тирзепатид, наблюдали снижение общей массы тела и процентного изменения массы тела с течением времени по сравнению с мышами, получавших только разбавитель, как представлено показано на фиг. 10A-10B. Кроме того, у мышей, получавших соединение 142 или тирзепатид, наблюдали снижение кумулятивного потребления пищи по сравнению с мышами, получавшими только разбавитель, как представлено на фиг. 10C. В пероральном глюкозотолерантном исследовании (OGTT) уровни глюкозы в крови с течением времени снижались у мышей, получавших соединение 142 или тирзепатид, по сравнению с мышами, получавших только носитель, как представлено на фиг. 10D. Кроме того, наблюдали значительное снижение общего уровня глюкозы, измеренное по площади под кривой (AUC), у мышей, получавших лечение с применением соединения 142 или тирзепатида, по сравнению с мышами, получавшими только разбавитель. У мышей, получавших это соединение, также наблюдали снижение уровня глюкозы после ночного голодания в день 8 по сравнению с мышами, получавшими только разбавитель. У мышей, получавших соединение 142 7 раз в неделю, наблюдали снижение уровня глюкозы на 53%, у мышей, получавших соединение 142 два раза в неделю, наблюдали

снижение уровня глюкозы в крови на 42%, а у мышей, получавших тирзепатид, наблюдали снижение уровня глюкозы в крови на 30%.

#### Животные и статистический анализ

[00489] Все процедуры по уходу за животными и экспериментальные процедуры были одобрены Комитетом по содержанию и использованию лабораторных животных (IACUC) Калифорнийского института биомедицинских исследований (CALIBR) и строго соответствовали рекомендациям Национального института здравоохранения (NIH) по гуманному обращению с животными. Результаты выражены как среднее значение  $\pm$  среднееквадратическое отклонение, и данные сравнивали с применением непарного t-критерия Стьюдента. При необходимости данные сравнивали с применением повторных измерений или однофакторного дисперсионного анализа с последующим ретроспективным анализом Стьюдента-Ньюмана-Кейлса. Увеличение площади под кривой (AUC) для содержания глюкозы в плазме вычисляли с применением программного обеспечения GraphPad Prism 6. Группы данных считали значительно различающимися, если  $p < 0,01$ .

#### Измерение массы тела, потребления пищи и массы висцерального жира

[00490] Мышей с алиментарным ожирением (DIO) (C57BL/6, самцы, возраст 28 недель) рандомизировали в зависимости от массы тела и подвергали ежедневным подкожным инъекциям пептида или разбавителя ( $n = 7$ /группа). Массу тела и потребление пищи наблюдали ежедневно на протяжении всего исследования. В конце эксперимента мышей забивали и измеряли массу висцерального жира. Собранную плазму использовали для определения уровня холестерина в соответствии с руководством производителя с применением набора для анализа холестерина от компании Abscam (Кембридж, Англия) и уровня триглицеридов с применением набора для колориметрического анализа триглицеридов от компании Cayman Chemical (Анн-Арбор, штат Мичиган, США).

#### Определение уровня холестерина

[00491] Собранную плазму использовали для определения уровня холестерина в соответствии с руководством производителя с применением набора для анализа холестерина от компании Abscam (Кембридж, Англия). Вкратце, плазму разбавляли с применением буферного раствора для анализа холестерина, а затем вводили в реакцию с таким же объемом реакционной смеси, содержащей буферный раствор для анализа холестерина, индикатор холестерина, смесь ферментов и холестеринэстеразу. После инкубации при температуре 37°C в течение 1 часа измеряли оптическую плотность при 560 нм с применением многофункционального планшетного анализатора Envision от компании PerkinElmer (Уолтем, штат Массачусетс, США). В дальнейшем концентрацию холестерина в плазме вычисляли по калибровочной кривой.

#### Измерение уровня триглицеридов

[00492] Собранную плазму использовали для определения уровня триглицеридов с применением набора для колориметрического анализа триглицеридов от компании Cayman Chemical (Анн-Арбор, штат Мичиган, США). 5 мкл образцов плазмы или стандарта помещали в 384-луночный планшет с последующим добавлением в каждую лунку 75 мкл разбавленного ферментного буфера. Смесь инкубировали при комнатной температуре в течение 15 минут и измеряли оптическую плотность при 560 нм с применением многофункционального планшетного анализатора Envision от компании PerkinElmer (Уолтем, штат Массачусетс, США). Концентрацию триглицеридов в плазме вычисляли по калибровочной кривой.

#### Биохимические и гистологические анализы

[00493] Конечные анализируемые вещества в составе сыворотки, в том числе общий холестерин, триглицериды, аланинаминотрансфераза (ALT), аспартатаминотрансфераза (AST), щелочная фосфатаза (ALP), были определены с применением клинического анализатора Alfa Wassermann Vet Axccl®. Печеночные триглицериды измеряли в гомогенатах печени, полученных с применением колориметрического набора для определения триглицеридов от компании Cayman Chemical. Фиксированную параформальдегидом печень заливали парафином, делали срезы и окрашивали, используя гематоксилин-эозин и краситель Picro-Sirius красный в лаборатории HistoTox Labs (Боулдер, штат Колорадо, США). Все гистологические исследования (оценки стеатоза и фиброза) были выполнены сертифицированным гистопатологом, не имеющим отношения к лечению (HistoTox Labs), на основе классификации, изложенной в работе Kleiner и др.<sup>3</sup>

#### Результаты

[00494] Результаты представлены на фиг. 11A-11Q. Для всех фигур A: 122, B: 142, C: семаглутид, D: котадутид. Контрольный разбавитель представляет собой PBS с pH 8,2. У мышей, получавших соединение 122, соединение 142 или семаглутид, наблюдали снижение потребления пищи в течение 20 суток по сравнению с мышами, получавшими только разбавитель, как представлено на фиг. 11A. Кроме того, у мышей, получавших соединение 122, соединение 142 или семаглутид, наблюдали снижение как общей массы тела, так и процентного изменения от исходной массы тела в течение 21 суток по сравнению с мышами, получавшими только носитель, как представлено на фиг. 11B-11C. Лечение с применением этих соединений также воздействовало на уровни глюкозы. Как представлено на фиг. 11D-11E, у мышей, получавших соединение 122, соединение 142 или семаглутид, наблюдали значительное снижение колебаний уровня глюкозы в плазме в состоянии после приема пищи в день 20 и в состоянии натощак в день 21 по сравнению с мышами, получавшими только разбавитель. У мышей, получавших котадутид, наблюдали значительное снижение колебаний уровня глюкозы в плазме только в состоянии натощак. В пероральном глюкозотолерантном исследовании (OGTT), проведенном в день 21, у мышей, получавших соединение 122, соединение 142 или семаглутид, наблюдали значительное снижение уровня глюкозы с течением времени и по площади под кривой по сравнению с мышами, получавшими только разбавитель, как представлено на фиг. 11F-11G.

[00495] Лечение с применением этих соединений воздействует на уровни маркеров функции печени в плазме. Лечение с применением соединения 122 или семаглутида значительно снижало уровни ALT, ALP, холестерина и триглицеридов по сравнению с применением одного разбавителя, в то время как лечение с применением соединения 142 значительно снижало уровни AST, ALT, ALP, холестерина и триглицеридов по сравнению с применением одного разбавителя, как представлено на фиг. 11J-11L. Отношение печени к массе тела, масса печени и уровень триглицеридов в печени были значительно снижены у мышей, получавших соединение 122, соединение 142, семаглутид или котадутид, по сравнению с мышами, получавшими только разбавитель, как представлено на фиг. 11M, 11O и 11P. Лечение с применением соединения 122, соединения 142 или семаглутида значительно снижало массу жира по сравнению с мышами, получавшими только разбавитель, как представлено на фиг. 11N. Степень стеатоза была снижена у мышей, получавших соединение 122, соединение 142 или семаглутид, по сравнению с мышами, получавшими только разбавитель.

#### **Пример U. Исследование cAMP (одиночные агонисты GLP-1R)**

[00496] Клетки HEK293 инфицировали лентивирусом, кодирующим ген люциферазы светлячка под контролем промотора cAMP-чувствительного элемента (CRE) от компании Qiagen (Нидерланды), а затем



отбирали с применением 1 мкг/мл пуromицина от компании Life Technologies (Карлсбад, штат Калифорния, США) в течение 1 недели. Выжившие клетки (обозначенные как CRE-HEK293) размножали и затем трансфицировали селективной экспрессионной плазмидой млекопитающих G418, кодирующей GLP-1R человека. Вкратце, плазмиду GLP-1R трансфицировали в клетки CRE-HEK293 с применением липофектамина 2000 и отбирали с применением 400 мкг/мл генетицина от компании Life Technologies (Карлсбад, штат Калифорния, США). Затем для исследования активности в лабораторных условиях была получена устойчивая линия клеток с одной колонией, сверхэкспрессирующая как CRE-люциферазу, так и GLP-1R (HEK293-GLP-1R-CRE).

[00497] Клетки HEK293-GLP-1R-CRE высевали в 384-луночные планшеты с плотностью 5000 клеток на лунку и культивировали в течение 18 часов в DMEM с 10% FBS при температуре 37°C в атмосфере 5% CO<sub>2</sub>. Клетки обрабатывали пептидами зависимым от дозы образом в течение 24 часов, и активацию рецепторов определяли по интенсивности люминесценции с применением реагента люциферазы One-Glo от компании Promega (Мэдисон, штат Висконсин, США) в соответствии с инструкциями производителя. Значение EC<sub>50</sub> каждого пептида определяли с применением программного обеспечения GraphPad Prism 6 от компании GraphPad (Сан-Диего, штат Калифорния, США).

Таблица 29. Данные cAMP (пептидные конъюгаты)

	GLP-1R - cAMP 0% FBS, нМ	GLP-1R - cAMP 10% FBS, нМ	GLP-1R - Cre-Luc, нМ
177	0,025	6,4	Н. О.
181	0,026	Н. О.	Н. О.
183	0,043	Н. О.	0,03 (0,04 рекомб.)
184	0,047	7,8	Н. О.
186	Н. О.	Н. О.	7,3

#### Пример А. Исследование рекрутирования β-аррестина

[0498] Результаты представлены в таблицах 30-32.

Таблица 30. Активность производных PrRP20 и PrRP31 в отношении рецептора GPR10

SEQ ID NO	GPR10 EC <sub>50</sub> , нМ <sup>a</sup>					
	Di-Cys	Отсутствие сшивающего фрагмента	Присутствие S1	Присутствие S2	Присутствие S3	Присутствие S4
106 (PrRP20)	-	13 ± 1	-	-	-	-
103	2-9	33 ± 3	12 ± 1	33 ± 4	230 ± 30	620 ± 60
104	3-10	16 ± 2	21 ± 2	Н. О.	Н. О.	Н. О.
105	4-11	10 ± 1	7,3 ± 0,6	3,9 ± 0,2	77 ± 9	81 ± 7
83	5-12	44 ± 6	13 ± 1	25 ± 3	610 ± 80	840
84	6-13	18 ± 2	15 ± 2	Н. О.	Н. О.	Н. О.
85	7-14	33 ± 4	10 ± 1	5,2 ± 0,6	>1000	>1000
86	8-15	6800	720 ± 80	Н. О.	Н. О.	Н. О.
87	9-16	120 ± 10	160 ± 20	Н. О.	Н. О.	Н. О.
88	10-17	1600	>10000	Н. О.	Н. О.	Н. О.
107 (PrRP31)	-	12 ± 3	-	-	-	-
89	1-8	16 ± 2	24 ± 3	17 ± 2	230 ± 20	330 ± 30

90	6-13	29 ± 5	20 ± 3	13 ± 2	80 ± 10	260 ± 20
91	9-16	41 ± 4	85 ± 10	Н. О.	Н. О.	Н. О.
92	13-20	18 ± 2	40 ± 6	17 ± 2	630 ± 80	1500
93	15-22	17 ± 2	10 ± 1	6,1 ± 0,4	80 ± 10	230 ± 20
94	16-23	70 ± 7	29 ± 3	23 ± 3	360 ± 40	2800
95	18-25	33 ± 4	18 ± 2	7,5 ± 0,9	>1000	>1000
96	20-27	920	130 ± 20	Н. О.	Н. О.	Н. О.

<sup>a</sup>Значение EC<sub>50</sub> определяли посредством исследования рекрутирования β-аррестина с применением клеток CHO-K1 со сверхэкспрессией GPR10. Клетки обрабатывали пептидами в различных концентрациях в трех экземплярах в течение 90 минут при температуре 37°C в атмосфере 5% CO<sub>2</sub>. Люминесценцию измеряли и наносили на график в зависимости от логарифмической концентрации агониста. Наклон был подобран с применением программного обеспечения Prism для получения значения EC<sub>50</sub>, представленного как среднее значение ± среднее квадратическое отклонение (n = 3).

Таблица 31. Оптимизация последовательности и сшивающего фрагмента MEG-FA для C(6-13) PrRP31

SEQ ID NO	GPR10 EC <sub>50</sub> , нМ <sub>a</sub>				
	Отсутствие сшивающего фрагмента	Присутствие S1	Присутствие S2	Присутствие S3	Присутствие S4
107 (PrRP31)	12 ± 3	-	-	-	-
90	29 ± 5	20 ± 3	13 ± 2	80 ± 10	260 ± 20
97	17 ± 2	10 ± 1	9,1 ± 0,9	26 ± 3	80 ± 10
98	13 ± 2	16 ± 2	5,1 ± 0,7	60 ± 7	81 ± 8
99	44 ± 5	34 ± 4	8,8 ± 0,8	120 ± 20	160 ± 20
100	>200	Н. О.	Н. О.	Н. О.	Н. О.
101	>200	Н. О.	Н. О.	Н. О.	Н. О.
102	100 ± 10	100 ± 10	10 ± 1	280 ± 30	1100

<sup>a</sup>Значение EC<sub>50</sub> определяли посредством исследования рекрутирования β-аррестина с применением клеток CHO-K1 со сверхэкспрессией GPR10 и представляли как среднее значение ± среднее квадратическое отклонение (n = 3).

Таблица 32. Оптимизация сшивающего фрагмента MEG-FA для Nle8, hArg23, C(6-13) PrRP31

	EC <sub>50</sub> , нМ <sup>a</sup>			NPFF2R		
	10% FBS	0% FBS	Соотношение 10% / 0% FBS	EC <sub>50</sub> , нМ <sup>b</sup>	Соотношение NPFF2R / GPR10 <sup>c</sup>	
251 (97-L1)	10 ± 1	5,9 ± 0,8	1,7	1200	920	160
255 (97-L3)	9,1 ± 0,9	8,0 ± 0,7	1,1	220 ± 20	150	19
259 (97-L4)	26 ± 3	12 ± 1	2,2	>10 000	470	39
263 (97-L5)	80 ± 10	7,8 ± 0,6	10	>10 000	520	67
270 (97-L6)	42 ± 4	12 ± 1	3,5	310 ± 30	270	23

271 (97-L7)	39 ± 5	9 ± 1	4,3	140 ± 20	130	14
267 (97-L8)	830	24 ± 3	35	~ 10 000	560	23
268 (97-L9)	120 ± 10	8,2 ± 0,9	15	>10 000	9000	1100
269 (97-L12)	120 ± 20	10 ± 1	12	~ 8000	1600	160

<sup>a</sup>Значение  $EC_{50}$  определяли посредством исследования рекрутирования  $\beta$ -аррестина с применением клеток CHO-K1 со сверхэкспрессией GPR10 в присутствии (10%) или при отсутствии (0%) FBS.

<sup>b</sup>Значение  $EC_{50}$  определяли в репортерном анализе cAMP с применением клеток CHO со сверхэкспрессией NPFF2R в присутствии (10%) или при отсутствии (0%) FBS как среднее значение  $\pm$  среднеквадратическое отклонение ( $n = 3$ ). Клетки CHO со сверхэкспрессией NPFF2R обрабатывали пептидами в 12-точечной зависимости эффекта от дозы в культуральной среде, содержащей 0,5 мМ IBMX (3-изобутил-1-метилксантин) для ингибирования деградации cAMP и 20 мкМ форсколина в качестве положительного контроля. Анализ проводили в трех экземплярах в течение 30 минут при температуре 37°C в атмосфере 5%  $CO_2$ , и для количественного определения накопления cAMP использовали набор для обнаружения cAMP от Cisbio.

<sup>c</sup>Соотношение вычисляли с применением значений  $EC_{50}$ , полученных при 0% FBS.

#### **Пример В. Устойчивость в плазме**

[0499] Для исследования устойчивости конъюгатов в плазме PrRP31 конъюгат 255 (97-L3) и конъюгат 263 (97-L5) инкубировали в плазме мыши в течение вплоть до 24 часов (фиг. 12). Уровни оставшихся интактных пептидов количественно определяли с помощью ЖХ с квадрупольной времяпролетной масс-спектрометрией после осаждения белков сыворотки. Наблюдали быструю деградацию PrRP31 в плазме мыши с периодом полуразложения, составляющим около 11 минут, и полным исчезновением через 1 час. Сшивание L3 в положении 6-13 повышало устойчивость, увеличивая период полуразложения до 30-60 мин. При конъюгации со сшивающим фрагментом L5 период полуразложения дополнительно увеличивался до около 3 часов.

[0500] Устойчивость в плазме определяли в одном экземпляре с инкубацией пептидов в плазме мыши в различные моменты времени с последующим осаждением белков плазмы в метаноле и количественным определением с помощью ЖХ-МС.

#### **Пример С. Фармакокинетические исследования**

[0501] Фармакокинетический профиль конъюгата 263 (97-L5) оценивали на самцах мышей C57 после подкожной инъекции в дозе 1 мг/кг (фиг. 13). Концентрацию пептида в плазме в различные моменты времени (0,25, 0,5, 1, 3, 7, 24, 48 и 72 ч) определяли с помощью ЖХ-МС. Значение  $C_{max}$ , составляющее около 1,67 мкг/мл, было достигнуто около через 3 часа после введения, с периодом полуразложения, составляющим 8 часов, близким к периоду полуразложения семаглутида у грызунов.

[0502] Фармакокинетические исследования мышей проводили с применением однократной подкожной инъекции 1 мг/кг конъюгата 263 (97-L5) мышам, и образцы плазмы собирали в различные моменты времени и количественно исследовали с применением ЖХ-МС. Фармакокинетические параметры вычисляли путем аппроксимации данных с применением программного обеспечения WinNonlin. Из-за ограничений по объему/выборке у мышей использовали разреженная выборка. Таким образом, путем объединения концентраций от различных животных был получен единый фармакокинетический профиль, и оценки фармакокинетических параметров были усреднены. Поэтому не представлена стандартная погрешность среднего значения.

[0503] Дополнительное фармакокинетическое исследование проводили при дозировке 5 мг/кг, и аналогичный фармакокинетический профиль наблюдали, когда концентрации в плазме определяли с помощью функционального анализа на основе клеток (фиг. 14).

	$T_{1/2}$ , ч	$C_{max}$ , мкг·мл <sup>-1</sup>	$AUC_{last}$ , ч·мкг·мл <sup>-1</sup>	$AUC_{\infty}$ , ч·мкг·мл <sup>-1</sup>	$AUC_{0-24}$ ч, ч·мкг·мл <sup>-1</sup>
Среднее значение	8,44	32,4	648	652	444
Среднеквадратическое отклонение	0,31	7,93	92,2	92,6	113
Коэффициент вариации, %	3,78	24,4	14,2	14,2	25,5

#### Пример D. Исследование эффективности в условиях организма

[0504] Чтобы продемонстрировать перевод увеличенного периода полураспада конъюгата 263 (97-L5) в эффективность в условиях организма, было проведено 12-суточное исследование массы тела на модели мышей с алиментарным ожирением (DIO) ( $n = 8$  в группе) с ежедневным введением подкожных инъекций (фиг. 15). Эффект значительного снижения массы тела наблюдали для конъюгата 263 (97-L5) в дозе 0,5 мг/кг. Более высокая доза соединения 263 (97-L5) в суточной дозе 5 мг/кг давала эффективность, аналогичную дозе 0,5 мг/кг (фиг. 16), и это свидетельствовало, что значение  $ED_{50}$  для конъюгата 263 (97-L5) составляло менее чем 0,5 мг/кг. Хотя эта селективность, по-видимому, приводит к уменьшению анорексигенного эффекта, сделано предположение, что конъюгат 263 (97-L5) будет демонстрировать более благоприятный профиль безопасности в отношении нежелательных сердечно-сосудистых побочных эффектов, связанных с агонизмом NPFF2R. Концентрации в плазме крови в течение 24 часов для фармакокинетических исследований доз 5 мг/кг и 1 мг/кг значительно выше, чем значение  $EC_{50}$  для конъюгата 263 (97-L5), и это может указывать на то, что для проявления зависящего от дозы эффекта требуются более низкие дозы. В настоящее время проводятся подробные исследования зависимости от дозы эффекта и эффективности на моделях хронического ожирения и метаболических заболеваний.

[0505] Эффективность определяли для мышей с алиментарным ожирением (DIO), которым ежедневно подкожно вводили конъюгат 263 (97-L5) в дозе 0,5 мг/кг или разбавитель в течение 12 суток ( $n = 8$ ). Масса тела была значительно снижена по сравнению с введением разбавителя; \*\*\*\* =  $p \leq 0,0001$ , \*\*\* =  $p \leq 0,001$ , \*\* =  $p \leq 0,01$ .

#### Пример E. Исследование массы тела и пероральное глюкозотолерантное исследование (OGTT) в условиях организма

[0506] Все процедуры по уходу за животными и экспериментальные процедуры были одобрены Комитетом по содержанию и использованию лабораторных животных (IACUC) Калифорнийского института биомедицинских исследований (CALIBR) и строго соответствовали рекомендациям Национального института здравоохранения (NIH) по гуманному обращению с животными. В качестве модели алиментарного ожирения (DIO) использовали самцов мышей Charles River (возраст 24 недели, лаборатория Jackson Labs, Бар-Харбор, штат Мэн, США), которых содержали на диете с высоким содержанием жиров (D12492, диета с 60% жира) в течение 18 недель, и которым ежедневно вводили пептид путем подкожной инъекции в дозе 0,5 или 5 мг/кг в течение вплоть до 12 суток (группа содержала по две особи на клетку). Средняя масса тела в начале эксперимента составляла 50 г. Массу тела мышей наблюдали ежедневно на протяжении всего исследования и потребления пищи в дни 1, 2, 6 и 9. Мышей не кормили в течение ночи перед пероральным глюкозотолерантным исследованием (OGTT) в день 14, а затем им вводили дозу пептида. Через 6 ч перорально вводили 1 г раствора глюкозы на 1 кг массы тела и измеряли уровень глюкозы в крови хвоста мыши до (0 мин) и после введения глюкозы в течение 2 часов. Данные сравнивали с

помощью непарного t-критерия Стьюдента. При необходимости данные сравнивали с применением повторных измерений или однофакторного дисперсионного анализа с последующим ретроспективным анализом Стьюдента-Ньюмана-Кейлса. Уровни глюкозы и значения AUC представлены на фиг. 17 и фиг. 18 после перорального введения PrRP31 и конъюгата 263 (97-L5).

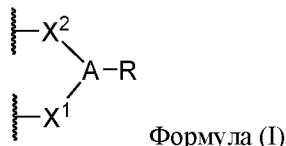
**ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ**

1. Пептидный конъюгат, содержащий:

а) пептид, выбранный из пептида, который модулирует рецептор PYY, пептида, который модулирует как рецептор GLP-1, так и рецептор GCG, пептида, который модулирует как рецептор GLP-1, так и рецептор GIP, и пептида, который модулирует рецептор GLP-1; и

б) сшивающий фрагмент, присоединенный к пептиду через первую содержащую сульфгидрильную группу аминокислоту и вторую содержащую сульфгидрильную группу аминокислоту;

причем сшивающий фрагмент имеет формулу (I):



причем

A представляет собой -N-;

X<sup>1</sup> и X<sup>2</sup> представляют собой связь, -C(=O)-, -алкилен-C(=O)-, -C(=O)-алкилен-, -алкилен-C(=O)NR<sup>3</sup>-, -алкилен-NR<sup>3</sup>C(=O)-, -C(=O)NR<sup>3</sup>-алкилен-, -NR<sup>3</sup>C(=O)-алкилен-, -алкилен-C(=O)NR<sup>3</sup>-алкилен- или -алкилен-NR<sup>3</sup>C(=O)-алкилен-;

причем X<sup>1</sup> присоединяется к содержащей сульфгидрильную группу аминокислоте пептида, X<sup>2</sup> присоединяется к содержащей сульфгидрильную группу аминокислоте пептида, и X<sup>1</sup> и X<sup>2</sup> являются одинаковыми;

R представляет собой водород или -(L)<sub>s</sub>-Y;

каждый L независимо представляет собой -(CR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>)<sub>v</sub>-, -алкилен-O-, -O-алкилен-, -C(=O)-алкилен-, -алкилен-C(=O)-, -NR<sup>3</sup>-алкилен-, -алкилен-NR<sup>3</sup>-, -S-алкилен-, -алкилен-S-, -S(=O)-алкилен-, -алкилен-S(=O)-, -S(=O)<sub>2</sub>-алкилен-, -алкилен-S(=O)<sub>2</sub>-, -C(=O)-, -C(=O)NR<sup>3</sup>-, -NR<sup>3</sup>C(=O)-, -NR<sup>3</sup>C(=O)NR<sup>3</sup>-, -NR<sup>3</sup>C(=O)NR<sup>3</sup>-алкилен-, -NR<sup>3</sup>C(=O)-алкилен-NR<sup>3</sup>-, -алкилен-C(=O)NR<sup>3</sup>-, -C(=O)NR<sup>3</sup>-алкилен-, -алкилен-NR<sup>3</sup>C(=O)- или -NR<sup>3</sup>C(=O)-алкилен-;

v составляет от 2 до 20;

каждый R<sup>1</sup> или R<sup>2</sup> независимо представляет собой водород, галоген, -CN, -OR<sup>a</sup>, -SR<sup>a</sup>, -S(=O)R<sup>b</sup>, -NO<sub>2</sub>, -NR<sup>c</sup>R<sup>d</sup>, -S(=O)<sub>2</sub>R<sup>d</sup>, -NR<sup>a</sup>S(=O)<sub>2</sub>R<sup>d</sup>, -S(=O)<sub>2</sub>NR<sup>c</sup>R<sup>d</sup>, -C(=O)R<sup>b</sup>, -OC(=O)R<sup>b</sup>, -CO<sub>2</sub>R<sup>a</sup>, -OCO<sub>2</sub>R<sup>a</sup>, -C(=O)NR<sup>c</sup>R<sup>d</sup>, -OC(=O)NR<sup>c</sup>R<sup>d</sup>, -NR<sup>a</sup>C(=O)NR<sup>c</sup>R<sup>d</sup>, -NR<sup>a</sup>C(=O)R<sup>b</sup>, -NR<sup>a</sup>C(=O)OR<sup>a</sup>, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкил, C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>-алкенил, C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>-алкинил, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-гетероалкил, C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>-циклоалкил, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>-гетероциклоалкил, арил или гетероарил; причем алкил, алкенил, алкинил и гетероалкил необязательно является замещенным и содержит один, два или три атома галогена, -OR<sup>a</sup> или -NR<sup>c</sup>R<sup>d</sup>; и циклоалкил, гетероциклоалкил, арил и гетероарил необязательно является замещенным и содержит один, два или три атома галогена, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкил, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-галогеналкил, -OR<sup>a</sup> или -NR<sup>c</sup>R<sup>d</sup>;

или R<sup>1</sup> и R<sup>2</sup> совместно образуют C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-циклоалкил или C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-гетероциклоалкил;

каждый R<sup>3</sup> независимо представляет собой водород, -S(=O)R<sup>b</sup>, -S(=O)<sub>2</sub>R<sup>a</sup>, -S(=O)<sub>2</sub>NR<sup>c</sup>R<sup>d</sup>, -C(=O)R<sup>b</sup>, -CO<sub>2</sub>R<sup>a</sup>, -C(=O)NR<sup>c</sup>R<sup>d</sup>, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкил, C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>-алкенил, C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>-алкинил, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-гетероалкил, C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>-циклоалкил, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>-гетероциклоалкил, арил или гетероарил; причем алкил, алкенил, алкинил и гетероалкил необязательно является замещенным и содержит один, два или три атома галогена, -OR<sup>a</sup> или -NR<sup>c</sup>R<sup>d</sup>; и циклоалкил, гетероциклоалкил, арил и гетероарил необязательно является замещенным и содержит один, два или три атома галогена, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкил, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-галогеналкил, -OR<sup>a</sup> или -NR<sup>c</sup>R<sup>d</sup>;

Y представляет собой водород, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкил, -CO<sub>2</sub>H, -CO<sub>2</sub>(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкил), -CO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, -CO<sub>2</sub>N(алкил)<sub>2</sub> или -CO<sub>2</sub>NH(алкил);

s составляет от 0 до 20;

R<sup>a</sup> представляет собой водород, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкил, C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>-алкенил, C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>-алкинил, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-гетероалкил, C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>-циклоалкил, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>-гетероциклоалкил, арил или гетероарил; причем алкил, алкенил, алкинил и гетероалкил необязательно является замещенным и содержит один, два или три атома галогена, -ОН, -ОМе или -NH<sub>2</sub>; и циклоалкил, гетероциклоалкил, арил и гетероарил необязательно является замещенным и содержит один, два или три атома галогена, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкил, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-галогеналкил, -ОН, -ОМе или -NH<sub>2</sub>;

R<sup>b</sup> представляет собой C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкил, C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>-алкенил, C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>-алкинил, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-гетероалкил, C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>-циклоалкил, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>-гетероциклоалкил, арил или гетероарил; причем алкил, алкенил, алкинил и гетероалкил необязательно является замещенным и содержит один, два или три атома галогена, -ОН, -ОМе или -NH<sub>2</sub>; и циклоалкил, гетероциклоалкил, арил и гетероарил необязательно является замещенным и содержит один, два или три атома галогена, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкил, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-галогеналкил, -ОН, -ОМе или -NH<sub>2</sub>; и

каждый R<sup>c</sup> и R<sup>d</sup> независимо представляет собой водород, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкил, C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>-алкенил, C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>-алкинил, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-гетероалкил, C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>-циклоалкил, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>-гетероциклоалкил, арил или гетероарил; причем алкил, алкенил, алкинил и гетероалкил необязательно является замещенным и содержит один, два или три атома галогена, -ОН, -ОМе или -NH<sub>2</sub>; и циклоалкил, гетероциклоалкил, арил и гетероарил необязательно является замещенным и содержит один, два или три атома галогена, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкил, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-галогеналкил, -ОН, -ОМе или -NH<sub>2</sub>;

или R<sup>c</sup> и R<sup>d</sup>, вместе с атомом азота, к которому они присоединены, образуют гетероциклоалкил или гетероарил; причем гетероциклоалкил и гетероарил необязательно является замещенным и содержит один, два или три атома галогена, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкил, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-галогеналкил, -ОН, -ОМе или -NH<sub>2</sub>.

2. Пептидный конъюгат по п. 1, в котором первая содержащая сульфгидрильную группу аминокислота и вторая содержащая сульфгидрильную группу аминокислота независимо выбрана из цистеина, гомоцистеина, 2-амино-5-меркаптопентановой кислоты и 2-амино-6-меркаптогексановой кислоты.

3. Пептидный конъюгат по п. 1 или 2, в котором первая содержащая сульфгидрильную группу аминокислота и вторая содержащая сульфгидрильную группу аминокислота представляют собой цистеины.

4. Пептидный конъюгат по любому из пп. 1-3, дополнительно содержащий увеличивающую период полураспада молекулу, присоединенную к содержащей сульфгидрильную группу аминокислоте или к содержащей аминокислотному остатку в пептиде.

5. Пептидный конъюгат по п. 4, в котором содержащая аминокислотную группу аминокислота выбрана из лизина, орнитина, диаминамасляной кислоты, диаминопропионовой кислоты и гомолизина.

6. Пептидный конъюгат по п. 4 или 5, в котором содержащая аминокислотную группу аминокислота представляет собой лизин.

7. Пептидный конъюгат по п. 4, в котором содержащая сульфгидрильную группу аминокислота выбрана из цистеина, гомоцистеина, 2-амино-5-меркаптопентановой кислоты и 2-амино-6-меркаптогексановой кислоты.

8. Пептидный конъюгат по п. 4 или 7, в котором содержащая сульфгидрильную группу аминокислота представляет собой цистеин.

9. Пептидный конъюгат по любому из пп. 1-8, в котором первая содержащая сульфгидрильную группу аминокислота занимает положение i в пептиде, и вторая содержащая сульфгидрильную группу аминокислота занимает положение i + n в пептиде, причем n составляет от 4 до 16.

10. Пептидный конъюгат по любому из пп. 1-8, в котором первая содержащая сульфгидрильную группу аминокислота занимает положение  $i$  в пептиде, и вторая содержащая сульфгидрильную группу аминокислота занимает положение  $i + 4$  в пептиде.

11. Пептидный конъюгат по любому из пп. 1-8, в котором первая содержащая сульфгидрильную группу аминокислота занимает положение  $i$  в пептиде, и вторая содержащая сульфгидрильную группу аминокислота занимает положение  $i + 7$  в пептиде.

12. Пептидный конъюгат по любому из пп. 1-8, в котором первая содержащая сульфгидрильную группу аминокислота занимает положение  $i$  в пептиде, и вторая содержащая сульфгидрильную группу аминокислота занимает положение  $i + 11$  в пептиде.

13. Пептидный конъюгат по любому из пп. 1-8, в котором первая содержащая сульфгидрильную группу аминокислота занимает положение  $i$  в пептиде, и вторая содержащая сульфгидрильную группу аминокислота занимает положение  $i + 15$  в пептиде.

14. Пептидный конъюгат по любому из пп. 1-8, в котором первая содержащая сульфгидрильную группу аминокислота занимает положение  $i$  в пептиде, и вторая содержащая сульфгидрильную группу аминокислота занимает положение  $i + 16$  в пептиде.

15. Пептидный конъюгат по любому из пп. 1-14, содержащий пептид, который модулирует рецептор PYY.

16. Пептидный конъюгат по п. 15, в котором пептид, который модулирует рецептор PYY, содержит пептидную последовательность, которая является идентичной по меньшей мере на около 90% по отношению к любой из последовательностей SEQ ID NO: 3-45.

17. Пептидный конъюгат по п. 15, в котором пептид, который модулирует рецептор PYY, содержит пептидную последовательность, которая является идентичной по меньшей мере на около 95% по отношению к любой из последовательностей SEQ ID NO: 3-45.

18. Пептидный конъюгат по п. 15, в котором пептид, который модулирует рецептор PYY, содержит пептидную последовательность, которая является идентичной по меньшей мере на около 99% по отношению к любой из последовательностей SEQ ID NO: 3-45.

19. Пептидный конъюгат по п. 15, в котором пептид, который модулирует рецептор PYY, содержит пептидную последовательность, выбранную из последовательностей SEQ ID NO: 3-45.

20. Пептидный конъюгат по п. 15, в котором пептид, который модулирует рецептор PYY, содержит последовательность, которая является идентичной по меньшей мере на около 90% по отношению к последовательности SEQ ID NO: 6.

21. Пептидный конъюгат по п. 15, в котором пептид, который модулирует рецептор PYY, содержит последовательность, которая является идентичной по меньшей мере на около 95% по отношению к последовательности SEQ ID NO: 6.

22. Пептидный конъюгат по п. 15, в котором пептид, который модулирует рецептор PYY, содержит последовательность, которая является идентичной по меньшей мере на около 99% по отношению к последовательности SEQ ID NO: 6.

23. Пептидный конъюгат по п. 15, в котором пептид, который модулирует рецептор PYY, содержит последовательность, которая представляет собой SEQ ID NO: 6.

24. Пептидный конъюгат по любому из пп. 1-14, содержащий пептид, который модулирует как рецептор GLP-1, так и рецептор GCG.







53. Пептидный конъюгат по п. 46, в котором пептид, который модулирует рецептор GLP-1, содержит последовательность, которая является идентичной по меньшей мере на около 99% по отношению к последовательности SEQ ID NO: 76.

54. Пептидный конъюгат по п. 46, в котором пептид, который модулирует рецептор GLP-1, содержит последовательность, которая представляет собой SEQ ID NO: 76.

55. Пептидный конъюгат по п. 46, в котором пептид, который модулирует рецептор GLP-1, содержит последовательность, которая является идентичной по меньшей мере на около 90% по отношению к последовательности SEQ ID NO: 77.

56. Пептидный конъюгат по п. 46, в котором пептид, который модулирует рецептор GLP-1, содержит последовательность, которая является идентичной по меньшей мере на около 95% по отношению к последовательности SEQ ID NO: 77.

57. Пептидный конъюгат по п. 46, в котором пептид, который модулирует рецептор GLP-1, содержит последовательность, которая является идентичной по меньшей мере на около 99% по отношению к последовательности SEQ ID NO: 77.

58. Пептидный конъюгат по п. 46, в котором пептид, который модулирует рецептор GLP-1, содержит последовательность, которая представляет собой SEQ ID NO: 77.

59. Пептидный конъюгат по любому из пп. 1-58, причем период полураспада пептидного конъюгата является по меньшей мере около в 2 раза более чем период полураспада немодифицированной формы пептида.

60. Пептидный конъюгат по любому из пп. 1-58, причем период полураспада пептидного конъюгата является по меньшей мере около в 5 раз более продолжительным, чем период полураспада немодифицированной формы пептида.

61. Пептидный конъюгат по любому из пп. 1-58, причем период полураспада пептидного конъюгата является по меньшей мере около в 10 раз более продолжительным, чем период полураспада немодифицированной формы пептида.

62. Пептидный конъюгат по любому из пп. 1-61, причем связывающая способность пептидного конъюгата отличается не более чем на около 5% от связывающей способности немодифицированной формы пептида.

63. Пептидный конъюгат по любому из пп. 1-62, причем связывающая способность пептидного конъюгата отличается не более чем на около 10% от связывающей способности немодифицированной формы пептида.

64. Пептидный конъюгат по любому из пп. 1-63, причем связывающая способность пептидного конъюгата отличается не более чем на около 15% от связывающей способности немодифицированной формы пептида.

65. Пептидный конъюгат по любому из пп. 1-64, причем связывающая способность пептидного конъюгата отличается не более чем на около 20% от связывающей способности немодифицированной формы пептида.

66. Пептидный конъюгат по любому из пп. 1-65, в котором  $X^1$  и  $X^2$  представляют собой  $-C(=O)-$ .

67. Пептидный конъюгат по любому из пп. 1-65, в котором  $X^1$  и  $X^2$  представляют собой  $-алкилен-C(=O)-$  или  $-C(=O)алкилен-$ .

68. Пептидный конъюгат по любому из пп. 1-65, в котором  $X^1$  и  $X^2$  представляют собой  $-CH_2-C(=O)-$  или  $-C(=O)-CH_2-$ .

69. Пептидный конъюгат по любому из пп. 1-65, в котором  $X^1$  и  $X^2$  представляют собой -алкилен- $C(=O)NR^3$ - или  $-C(=O)NR^3$ -алкилен-.

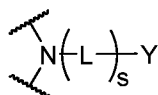
70. Пептидный конъюгат по любому из пп. 1-65, в котором  $X^1$  и  $X^2$  представляют собой  $-CH_2-C(=O)NR^3$ - или  $-C(=O)NR^3-CH_2$ -.

71. Пептидный конъюгат по любому из пп. 1-65, в котором  $X^1$  и  $X^2$  представляют собой -алкилен- $C(=O)NR^3$ -алкилен- или -алкилен- $NR^3C(=O)$ -алкилен-.

72. Пептидный конъюгат по любому из пп. 1-65, в котором  $X^1$  и  $X^2$  представляют собой  $-CH_2-C(=O)NR^3-CH_2CH_2$ - или  $-CH_2-NR^3C(=O)-CH_2CH_2$ -.

73. Пептидный конъюгат по любому из пп. 1-65, в котором  $X^1$  и  $X^2$  представляют собой  $-CH_2-C(=O)NH-CH_2CH_2$ - или  $-CH_2-NHC(=O)-CH_2CH_2$ -.

74. Пептидный конъюгат по любому из пп. 1-73, в котором  $>A-R$  имеет следующую структуру:



75. Пептидный конъюгат по любому из пп. 1-74, в котором  $s$  составляет от 1 до 15.

76. Пептидный конъюгат по любому из пп. 1-75, в котором  $s$  составляет от 1 до 10.

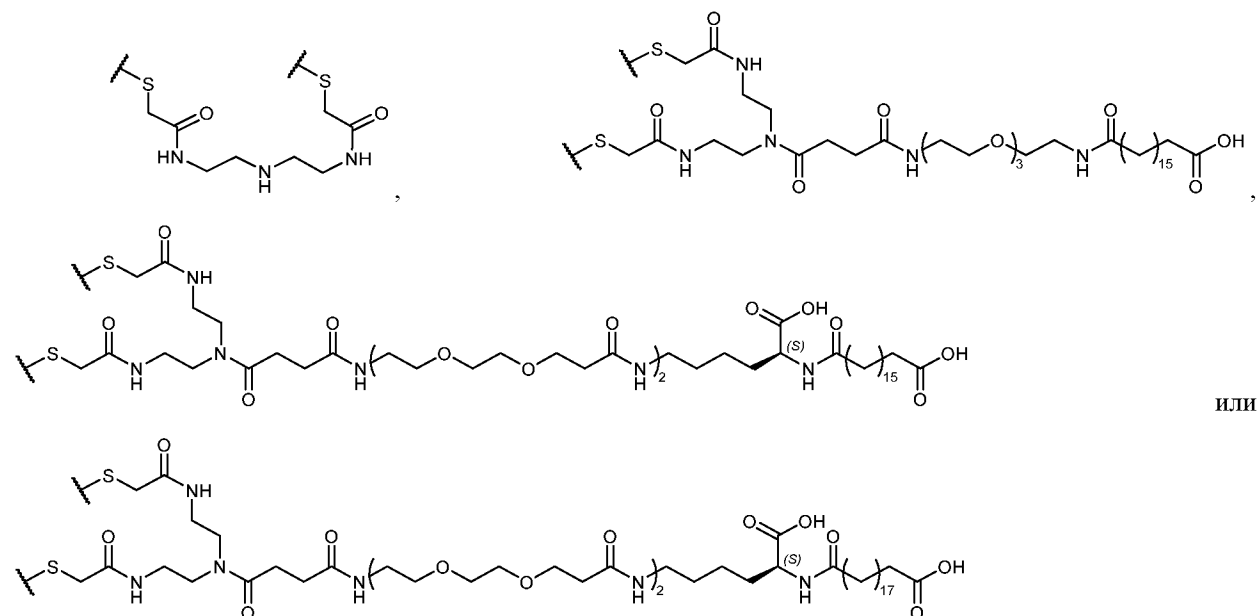
77. Пептидный конъюгат по любому из пп. 1-76, в котором  $s$  составляет от 5 до 15.

78. Пептидный конъюгат по любому из пп. 1-77, в котором  $s$  составляет от 5 до 10.

79. Пептидный конъюгат по любому из пп. 1-78, в котором  $Y$  представляет собой водород или  $-CO_2H$ .

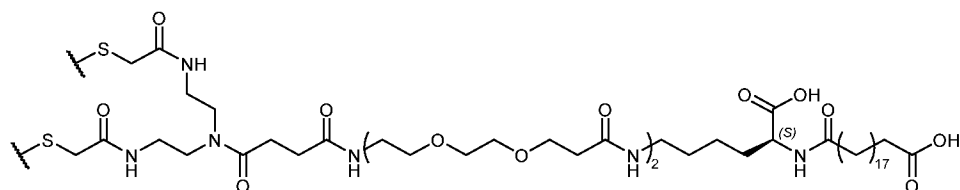
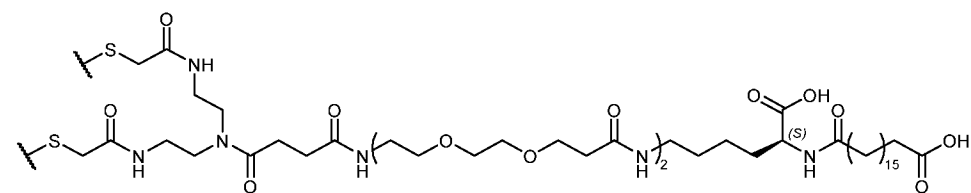
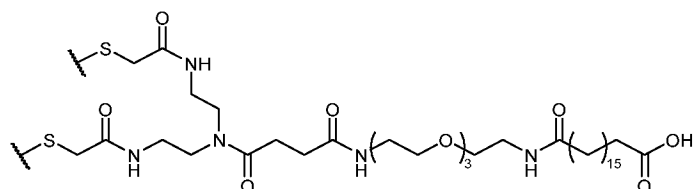
80. Пептидный конъюгат по любому из пп. 1-79, в котором каждый  $L$  независимо представляет собой  $-(CR_1R_2)_v$ -, -алкилен- $O$ -,  $-C(=O)$ -,  $-C(=O)NR^3$ -,  $-NR^3C(=O)$ -, -алкилен- $C(=O)NR^3$ - или -алкилен- $NR^3C(=O)$ -; и  $v$  составляет от 2 до 20.

81. Пептидный конъюгат по п. 1, причем пептидный конъюгат содержит:



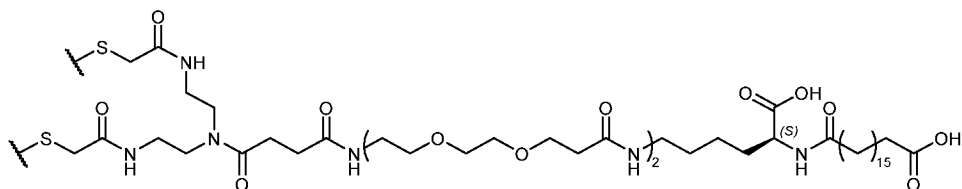
ИЛИ

82. Пептидный конъюгат по п. 1, причем пептидный конъюгат содержит:

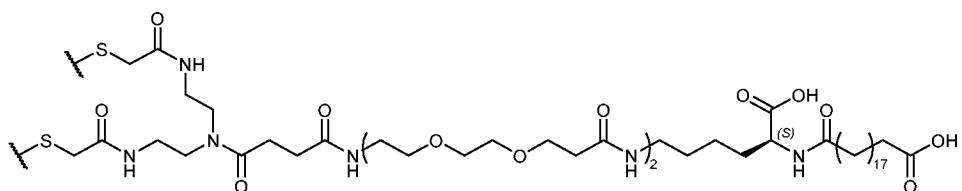


ИЛИ

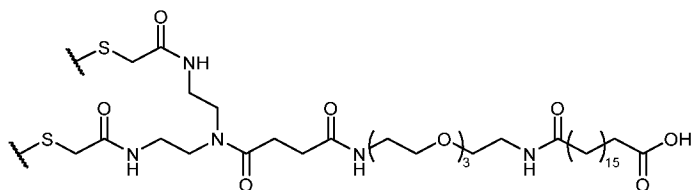
83. Пептидный конъюгат по п. 1, причем пептидный конъюгат содержит:



84. Пептидный конъюгат по п. 1, причем пептидный конъюгат содержит:



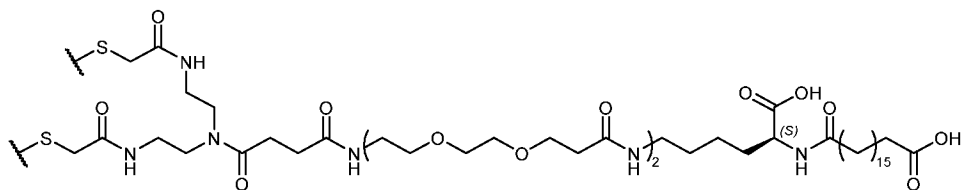
85. Пептидный конъюгат по п. 1, причем пептидный конъюгат содержит:



86. Пептидный конъюгат по п. 1, причем пептидный конъюгат содержит:

а) пептид, который модулирует рецептор PYY, содержащий пептидную последовательность, которая представляет собой SEQ ID NO: 6; и

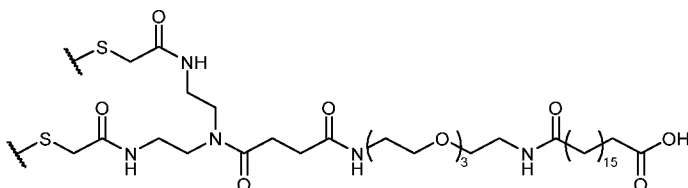
б) сшивающий фрагмент, присоединенный к пептиду через первый цистеин и второй цистеин, имеющий следующую структуру («-S-» представляет собой часть цистеиновых остатков):



87. Пептидный конъюгат по п. 1, причем пептидный конъюгат содержит:

a) пептид, который модулирует как рецептор GLP-1, так и рецептор GCG, содержащий пептидную последовательность, которая представляет собой SEQ ID NO: 60; и

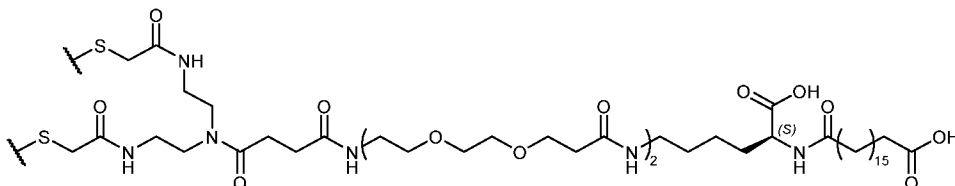
b) сшивающий фрагмент, присоединенный к пептиду через первый цистеин и второй цистеин, имеющий следующую структуру («-S» представляет собой часть цистеиновых остатков):



88. Пептидный конъюгат по п. 1, причем пептидный конъюгат содержит:

a) пептид, который модулирует рецептор GLP-1, содержащий пептидную последовательность, которая представляет собой SEQ ID NO: 76; и

b) сшивающий фрагмент, присоединенный к пептиду через первый цистеин и второй цистеин, имеющий следующую структуру («-S» представляет собой часть цистеиновых остатков):



89. Пептидный конъюгат, содержащий:

a) пептид, который модулирует рецептор PYY, содержащий пептидную последовательность, которая является идентичной по меньшей мере на около 95% по отношению к любой из последовательностей SEQ ID NO: 3, 5, 6, 8, 14-30, 36 или 37; и

b) сшивающий фрагмент, присоединенный к пептиду через первую аминокислоту и вторую аминокислоту.

90. Пептидный конъюгат по п. 89, в котором пептид, который модулирует рецептор PYY, содержит пептидную последовательность, которая является идентичной по меньшей мере на около 99% по отношению к любой из последовательностей SEQ ID NO: 3, 5, 6, 8, 14-30, 36 или 37.

91. Пептидный конъюгат по п. 89, в котором пептид, который модулирует рецептор PYY, содержит пептидную последовательность, которая представляет собой SEQ ID NO: 3, 5, 6, 8, 14-30, 36 или 37.

92. Пептидный конъюгат по п. 89, в котором пептид, который модулирует рецептор PYY, содержит последовательность, которая является идентичной по меньшей мере на около 99% по отношению к последовательности SEQ ID NO: 6.

93. Пептидный конъюгат по п. 89, в котором пептид, который модулирует рецептор PYY, содержит последовательность, которая представляет собой SEQ ID NO: 6.

94. Пептидный конъюгат, содержащий:

a) пептид, который модулирует как рецептор GLP-1, так и рецептор GCGR содержащий пептидную последовательность, которая является идентичной по меньшей мере на около 95% по отношению к любой из последовательностей SEQ ID NO: 50-59; и

b) сшивающий фрагмент, присоединенный к пептиду через первую аминокислоту и вторую аминокислоту.

95. Пептидный конъюгат по п. 94, в котором пептид, который модулирует как рецептор GLP-1, так и рецептор GCG, содержит пептидную последовательность, которая является идентичной по меньшей мере на около 99% по отношению к любой из последовательностей SEQ ID NO: 50-59.

96. Пептидный конъюгат по п. 94, в котором пептид, который модулирует как рецептор GLP-1, так и рецептор GCG, содержит пептидную последовательность, выбранную из последовательностей SEQ ID NO: 50-59.

97. Пептидный конъюгат, содержащий:

а) пептид, который модулирует как рецептор GLP-1, так и рецептор GIP, содержащий пептидную последовательность, которая является идентичной по меньшей мере на около 95% по отношению к любой из последовательностей SEQ ID NO: 62-71; и

б) сшивающий фрагмент, присоединенный к пептиду через первую аминокислоту и вторую аминокислоту.

98. Пептидный конъюгат по п. 97, в котором пептид, который модулирует как рецептор GLP-1, так и рецептор GIP, содержит пептидную последовательность, которая является идентичной по меньшей мере на около 99% по отношению к любой из последовательностей SEQ ID NO: 62-71.

99. Пептидный конъюгат по п. 97, в котором пептид, который модулирует как рецептор GLP-1, так и рецептор GIP, содержит пептидную последовательность, выбранную из последовательностей SEQ ID NO: 62-71.

100. Пептидный конъюгат по п. 88, в котором пептид, который модулирует как рецептор GLP-1, так и рецептор GIP, содержит последовательность, которая является идентичной по меньшей мере на около 99% по отношению к последовательности SEQ ID NO: 63.

101. Пептидный конъюгат по п. 97, в котором пептид, который модулирует как рецептор GLP-1, так и рецептор GIP, содержит последовательность, которая представляет собой SEQ ID NO: 63.

102. Пептидный конъюгат, содержащий:

а) пептид, который модулирует рецептор GLP-1, содержащий пептидную последовательность, которая является идентичной по меньшей мере на около 95% по отношению к любой из последовательностей SEQ ID NO: 74 и 79; и

б) сшивающий фрагмент, присоединенный к пептиду через первую аминокислоту и вторую аминокислоту.

103. Пептидный конъюгат по п. 102, в котором пептид, который модулирует рецептор GLP-1, содержит пептидную последовательность, которая является идентичной по меньшей мере на около 99% по отношению к любой из последовательностей SEQ ID NO: 74 и 79.

104. Пептидный конъюгат по п. 102, в котором пептид, который модулирует рецептор GLP-1, содержит пептидную последовательность, выбранную из последовательностей SEQ ID NO: 74 и 79.

105. Пептидный конъюгат по любому из пп. 89-104, в котором первая аминокислота и вторая аминокислота независимо выбраны из группы, которую составляют содержащая аминокислотную группу аминокислота и содержащая сульфгидрильную группу аминокислота.

106. Пептидный конъюгат по любому из пп. 89-105, в котором первая аминокислота и вторая аминокислота независимо выбрана из цистеина, гомоцистеина, 2-амино-5-меркаптопентановой кислоты и 2-амино-6-меркаптогексановой кислоты.

107. Пептидный конъюгат по любому из пп. 89-106, в котором первая аминокислота и вторая аминокислота представляют собой цистеины.

108. Пептидный конъюгат по любому из пп. 89-104, в котором первая аминокислота и вторая аминокислота независимо выбрана из лизина, орнитина, диаминамасляной кислоты, диаминопропионовой кислоты и гомолизина.

109. Пептидный конъюгат по любому из пп. 89-104 или 108, в котором первая аминокислота и вторая аминокислота представляют собой лизины.

110. Пептидный конъюгат по любому из пп. 89-108, дополнительно содержащий увеличивающая период полураспада молекула, присоединенная к содержащей сульфгидрильную группу аминокислоте или к содержащему аминокислотному остатку в пептиде.

111. Пептидный конъюгат по п. 110, в котором содержащая аминокислотная группа выбрана из лизина, орнитина, диаминамасляной кислоты, диаминопропионовой кислоты и гомолизина.

112. Пептидный конъюгат по п. 110 или 111, в котором содержащая аминокислотная группа представляет собой лизин.

113. Пептидный конъюгат по п. 110, в котором содержащая сульфгидрильную группу аминокислота выбрана из цистеина, гомоцистеина, 2-амино-5-меркаптопентановой кислоты и 2-амино-6-меркаптогексановой кислоты.

114. Пептидный конъюгат по п. 110 или 113, в котором содержащая сульфгидрильную группу аминокислота представляет собой цистеин.

115. Пептидный конъюгат по любому из пп. 89-114, в котором первая аминокислота занимает положение  $i$  в пептиде, и вторая аминокислота занимает положение  $i + n$  в пептиде, в котором  $n$  составляет от 4 до 16.

116. Пептидный конъюгат по любому из пп. 89-115, в котором первая аминокислота занимает положение  $i$  в пептиде, и вторая аминокислота занимает положение  $i + 7$  в пептиде.

117. Пептидный конъюгат по любому из пп. 89-116, причем период полураспада пептидного конъюгата является по меньшей мере около в 2 раза более чем период полураспада немодифицированной формы пептида.

118. Пептидный конъюгат по любому из пп. 89-116, причем период полураспада пептидного конъюгата является по меньшей мере около в 5 раз более продолжительным, чем период полураспада немодифицированной формы пептида.

119. Пептидный конъюгат по любому из пп. 89-116, причем период полураспада пептидного конъюгата является по меньшей мере около в 10 раз более продолжительным, чем период полураспада немодифицированной формы пептида.

120. Пептидный конъюгат по любому из пп. 89-116, причем связывающая способность пептидного конъюгата отличается не более чем на около 5% от связывающей способности немодифицированной формы пептида.

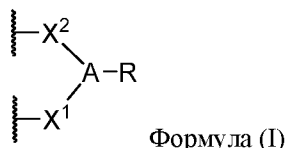
121. Пептидный конъюгат по любому из пп. 89-116, причем связывающая способность пептидного конъюгата отличается не более чем на около 10% от связывающей способности немодифицированной формы пептида.

122. Пептидный конъюгат по любому из пп. 89-116, причем связывающая способность пептидного конъюгата отличается не более чем на около 15% от связывающей способности немодифицированной формы пептида.



123. Пептидный конъюгат по любому из пп. 89-116, причем связывающая способность пептидного конъюгата отличается не более чем на около 20% от связывающей способности немодифицированной формы пептида.

124. Пептидный конъюгат по любому из пп. 89-123, причем сшивающий фрагмент имеет формулу (I):



причем

A представляет собой необязательно замещенный алкилен, необязательно замещенный арилен, необязательно замещенный гетероарилен, необязательно замещенный  $-NR^3$ -алкилен- $-NR^3$ - или  $-N$ -;

$X^1$  и  $X^2$  представляют собой независимо связь,  $-C(=O)-$ , -алкилен- $-C(=O)-$ ,  $-C(=O)$ -алкилен-, -алкилен- $-C(=O)NR^3$ -, -алкилен- $-NR^3C(=O)-$ ,  $-C(=O)NR^3$ -алкилен-,  $-NR^3C(=O)$ -алкилен-, -алкилен- $-C(=O)NR^3$ -алкилен- или -алкилен- $-NR^3C(=O)$ -алкилен-;

причем  $X^1$  присоединяется к первой аминокислоте пептида, и  $X^2$  присоединяется ко второй аминокислоте пептида;

R представляет собой водород или  $-(L)_s-Y$ ;

каждый L независимо представляет собой  $-(CR^1R^2)_v$ -, -алкилен-O-, -O-алкилен-,  $-C(=O)$ -алкилен-, -алкилен- $-C(=O)-$ -,  $-NR^3$ -алкилен-, -алкилен- $-NR^3$ -, -S-алкилен-, -алкилен-S-,  $-S(=O)$ -алкилен-, -алкилен- $-S(=O)-$ -,  $-S(=O)_2$ -алкилен, -алкилен- $-S(=O)_2$ -,  $-C(=O)-$ -,  $-C(=O)NR^3$ -,  $-NR^3C(=O)-$ -,  $-NR^3C(=O)NR^3$ -,  $-NR^3C(=O)NR^3$ -алкилен-,  $-NR^3C(=O)$ -алкилен- $-NR^3$ -, -алкилен- $-C(=O)NR^3$ -,  $-C(=O)NR^3$ -алкилен-, -алкилен- $-NR^3C(=O)-$  или  $-NR^3C(=O)$ -алкилен-;

v составляет от 2 до 20;

каждый  $R^1$  или  $R^2$  независимо представляет собой водород, галоген,  $-CN$ -,  $-OR^a$ -,  $-SR^a$ -,  $-S(=O)R^b$ -,  $-NO_2$ -,  $-NR^cR^d$ -,  $-S(=O)_2R^d$ -,  $-NR^aS(=O)_2R^d$ -,  $-S(=O)_2NR^cR^d$ -,  $-C(=O)R^b$ -,  $-OC(=O)R^b$ -,  $-CO_2R^a$ -,  $-OCO_2R^a$ -,  $-C(=O)NR^cR^d$ -,  $-OC(=O)NR^cR^d$ -,  $-NR^aC(=O)NR^cR^d$ -,  $-NR^aC(=O)R^b$ -,  $-NR^aC(=O)OR^a$ -,  $C_1$ - $C_6$ -алкил,  $C_2$ - $C_6$ -алкенил,  $C_2$ - $C_6$ -алкинил,  $C_1$ - $C_6$ -гетероалкил,  $C_3$ - $C_8$ -циклоалкил,  $C_2$ - $C_8$ -гетероциклоалкил, арил или гетероарил; причем алкил, алкенил, алкинил и гетероалкил необязательно является замещенным и содержит один, два или три атома галогена,  $-OR^a$  или  $-NR^cR^d$ ; и циклоалкил, гетероциклоалкил, арил и гетероарил необязательно является замещенным и содержит один, два или три атома галогена,  $C_1$ - $C_6$ -алкил,  $C_1$ - $C_6$ -галогеналкил,  $-OR^a$  или  $-NR^cR^d$ ;

или  $R^1$  и  $R^2$  совместно образуют  $C_1$ - $C_6$ -циклоалкил или  $C_1$ - $C_6$ -гетероциклоалкил;

каждый  $R^3$  независимо представляет собой водород,  $-S(=O)R^b$ -,  $-S(=O)_2R^a$ -,  $-S(=O)_2NR^cR^d$ -,  $-C(=O)R^b$ -,  $-CO_2R^a$ -,  $-C(=O)NR^cR^d$ -,  $C_1$ - $C_6$ -алкил,  $C_2$ - $C_6$ -алкенил,  $C_2$ - $C_6$ -алкинил,  $C_1$ - $C_6$ -гетероалкил,  $C_3$ - $C_8$ -циклоалкил,  $C_2$ - $C_8$ -гетероциклоалкил, арил или гетероарил; причем алкил, алкенил, алкинил и гетероалкил необязательно является замещенным и содержит один, два или три атома галогена,  $-OR^a$  или  $-NR^cR^d$ ; и циклоалкил, гетероциклоалкил, арил и гетероарил необязательно является замещенным и содержит один, два или три атома галогена,  $C_1$ - $C_6$ -алкил,  $C_1$ - $C_6$ -галогеналкил,  $-OR^a$  или  $-NR^cR^d$ ;

Y представляет собой водород,  $C_1$ - $C_6$ -алкил,  $-CO_2H$ -,  $-CO_2(C_1-C_6-алкил)$ -,  $-CO_2NH_2$ -,  $-CO_2N(алкил)_2$  или  $-CO_2NH(алкил)$ ;

s составляет от 0 до 20;

$R^a$  представляет собой водород,  $C_1$ - $C_6$ -алкил,  $C_2$ - $C_6$ -алкенил,  $C_2$ - $C_6$ -алкинил,  $C_1$ - $C_6$ -гетероалкил,  $C_3$ - $C_8$ -циклоалкил,  $C_2$ - $C_8$ -гетероциклоалкил, арил или гетероарил; причем алкил, алкенил, алкинил и

гетероалкил необязательно является замещенным и содержит один, два или три атома галогена, -ОН, -ОМе или -NH<sub>2</sub>; и циклоалкил, гетероциклоалкил, арил и гетероарил необязательно является замещенным и содержит один, два или три атома галогена, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкил, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-галогеналкил, -ОН, -ОМе или -NH<sub>2</sub>;

R<sup>b</sup> представляет собой C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкил, C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>-алкенил, C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>-алкинил, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-гетероалкил, C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>-циклоалкил, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>-гетероциклоалкил, арил или гетероарил; причем алкил, алкенил, алкинил и гетероалкил необязательно является замещенным и содержит один, два или три атома галогена, -ОН, -ОМе или -NH<sub>2</sub>; и циклоалкил, гетероциклоалкил, арил и гетероарил необязательно является замещенным и содержит один, два или три атома галогена, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкил, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-галогеналкил, -ОН, -ОМе или -NH<sub>2</sub>; и

каждый R<sup>c</sup> и R<sup>d</sup> независимо представляет собой водород, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкил, C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>-алкенил, C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>-алкинил, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-гетероалкил, C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>-циклоалкил, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>-гетероциклоалкил, арил или гетероарил; причем алкил, алкенил, алкинил и гетероалкил необязательно является замещенным и содержит один, два или три атома галогена, -ОН, -ОМе или -NH<sub>2</sub>; и циклоалкил, гетероциклоалкил, арил и гетероарил необязательно является замещенным и содержит один, два или три атома галогена, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкил, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-галогеналкил, -ОН, -ОМе или -NH<sub>2</sub>;

или R<sup>c</sup> и R<sup>d</sup>, вместе с атомом азота, к которому они присоединены, образуют гетероциклоалкил или гетероарил; причем гетероциклоалкил и гетероарил необязательно является замещенным и содержит один, два или три атома галогена, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкил, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-галогеналкил, -ОН, -ОМе или -NH<sub>2</sub>.

125. Пептидный конъюгат по п. 124, в котором А представляет собой необязательно замещенный алкилен.

126. Пептидный конъюгат по п. 124 или 125, в котором А представляет собой -(CH<sub>2</sub>)<sub>t</sub>-, причем t составляет от 1 до 12.

127. Пептидный конъюгат по п. 124, в котором А представляет собой необязательно замещенный арилен.

128. Пептидный конъюгат по п. 124, в котором А представляет собой -NR<sup>3</sup>-алкилен-NR<sup>3</sup>-.

129. Пептидный конъюгат по п. 124, в котором А представляет собой -N-.

130. Пептидный конъюгат по любому из пп. 124-129, в котором X<sup>1</sup> и X<sup>2</sup> являются одинаковыми.

131. Пептидный конъюгат по любому из пп. 124-129, в котором X<sup>1</sup> и X<sup>2</sup> являются различными.

132. Пептидный конъюгат по любому из пп. 124-129, в котором X<sup>1</sup> и X<sup>2</sup> представляют собой -C(=O)-

133. Пептидный конъюгат по любому из пп. 124-129, в котором X<sup>1</sup> и X<sup>2</sup> представляют собой независимо -алкилен-C(=O)- или -C(=O)алкилен-.

134. Пептидный конъюгат по любому из пп. 124-129, в котором X<sup>1</sup> и X<sup>2</sup> представляют собой независимо -CH<sub>2</sub>-C(=O)- или -C(=O)-CH<sub>2</sub>-.

135. Пептидный конъюгат по любому из пп. 124-129, в котором X<sup>1</sup> и X<sup>2</sup> представляют собой независимо -алкилен-C(=O)NR<sup>3</sup>- или -C(=O)NR<sup>3</sup>-алкилен-.

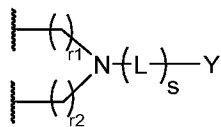
136. Пептидный конъюгат по любому из пп. 124-129, в котором X<sup>1</sup> и X<sup>2</sup> представляют собой независимо -CH<sub>2</sub>-C(=O)NR<sup>3</sup>- или -C(=O)NR<sup>3</sup>-CH<sub>2</sub>-.

137. Пептидный конъюгат по любому из пп. 124-129, в котором X<sup>1</sup> и X<sup>2</sup> представляют собой независимо -алкилен-C(=O)NR<sup>3</sup>-алкилен- или -алкилен-NR<sup>3</sup>C(=O)-алкилен-.

138. Пептидный конъюгат по любому из пп. 124-129, в котором X<sup>1</sup> и X<sup>2</sup> представляют собой независимо -CH<sub>2</sub>-C(=O)NR<sup>3</sup>-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>- или -CH<sub>2</sub>-NR<sup>3</sup>C(=O)-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-.

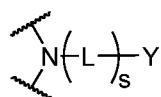
139. Пептидный конъюгат по любому из пп. 124-129, в котором  $X^1$  и  $X^2$  представляют собой независимо  $-\text{CH}_2-\text{C}(=\text{O})\text{NH}-\text{CH}_2\text{CH}_2-$  или  $-\text{CH}_2-\text{NHC}(=\text{O})-\text{CH}_2\text{CH}_2-$ .

140. Пептидный конъюгат по любому из пп. 124-139, в котором  $>\text{A-R}$  имеет следующую структуру:

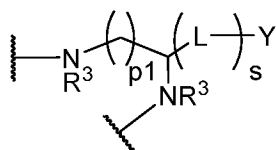


причем  $g_1$  и  $g_2$  каждый независимо составляет от 0 до 4.

141. Пептидный конъюгат по любому из пп. 124-140, в котором  $>\text{A-R}$  имеет следующую структуру:

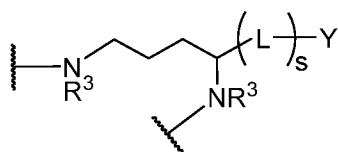


142. Пептидный конъюгат по любому из пп. 124-139, в котором  $>\text{A-R}$  имеет следующую структуру:

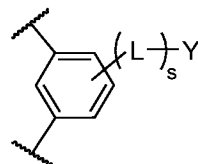


причем  $p_1$  составляет от 1 до 5.

143. Пептидный конъюгат по любому из пп. 124-139 или 142, в котором  $>\text{A-R}$  имеет следующую структуру:



144. Пептидный конъюгат по любому из пп. 124-139, в котором  $>\text{A-R}$  имеет следующую структуру:



145. Пептидный конъюгат по любому из пп. 124-144, в котором  $s$  составляет от 1 до 15.

146. Пептидный конъюгат по любому из пп. 124-145, в котором  $s$  составляет от 1 до 10.

147. Пептидный конъюгат по любому из пп. 124-145, в котором  $s$  составляет от 5 до 15.

148. Пептидный конъюгат по любому из пп. 124-145, в котором  $s$  составляет от 5 до 10.

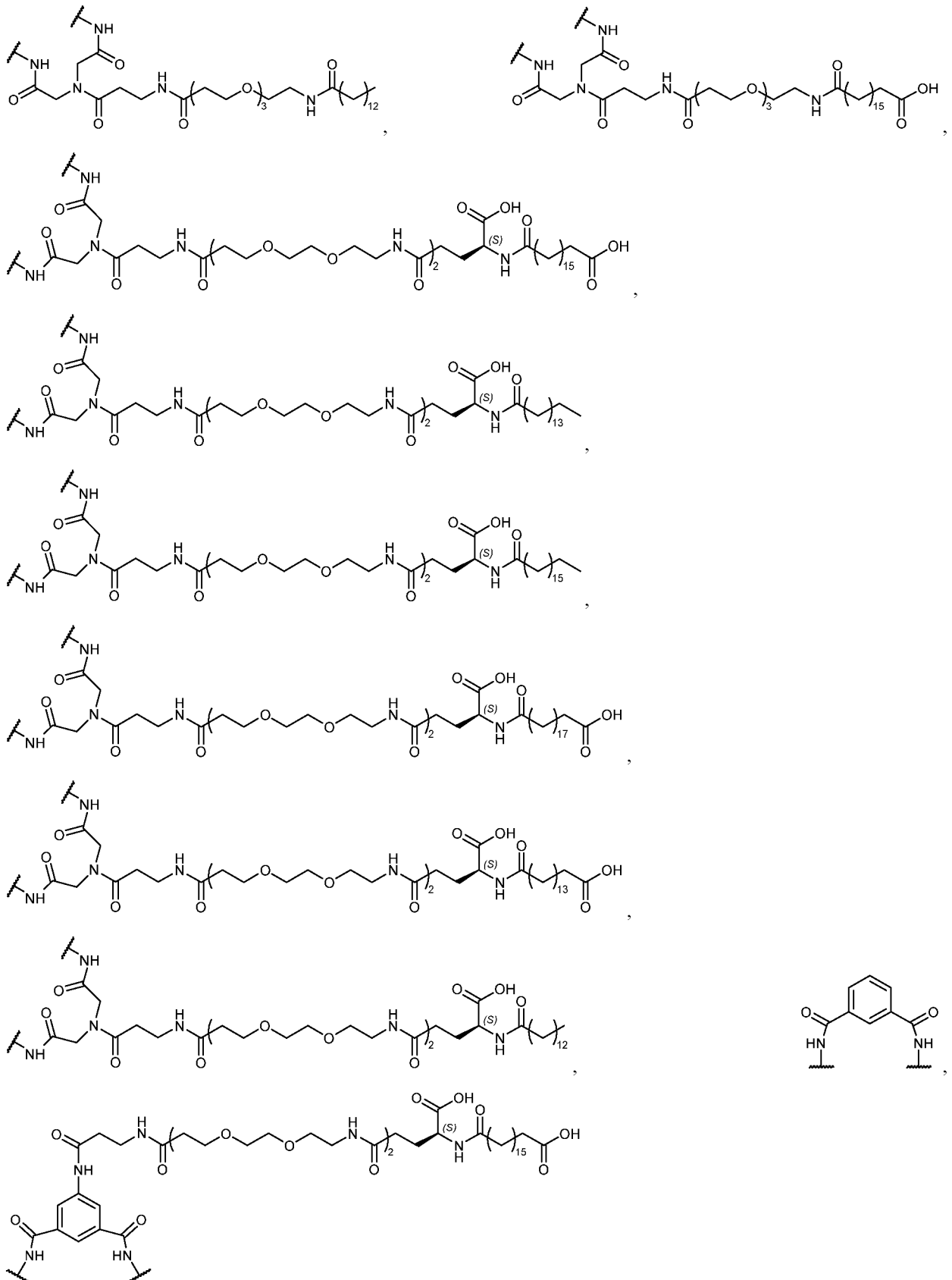
149. Пептидный конъюгат по любому из пп. 124-148, в котором  $Y$  представляет собой водород или  $-\text{CO}_2\text{H}$ .

150. Пептидный конъюгат по любому из пп. 124-149, в котором каждый  $L$  независимо представляет собой  $-(\text{CR}^1\text{R}^2)_v-$ ,  $-\text{алкилен-O}-$ ,  $-\text{C}(=\text{O})-$ ,  $-\text{C}(=\text{O})\text{NR}^3-$ ,  $-\text{NR}^3\text{C}(=\text{O})-$ ,  $-\text{алкилен-C}(=\text{O})\text{NR}^3-$  или  $-\text{алкилен-NR}^3\text{C}(=\text{O})-$ ; и  $v$  составляет от 2 до 20.

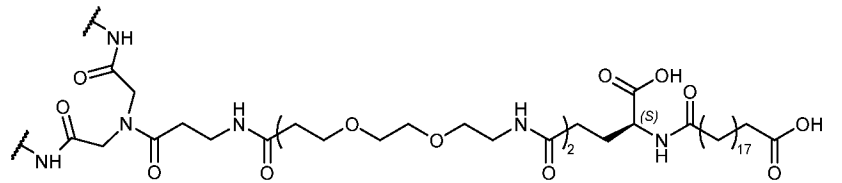
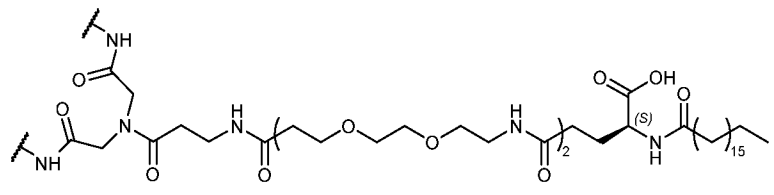
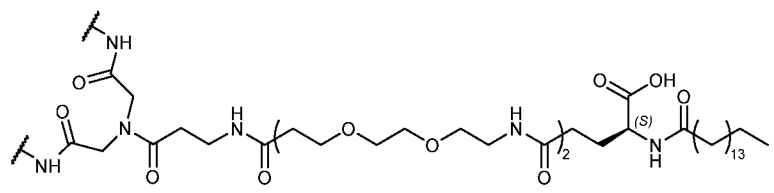
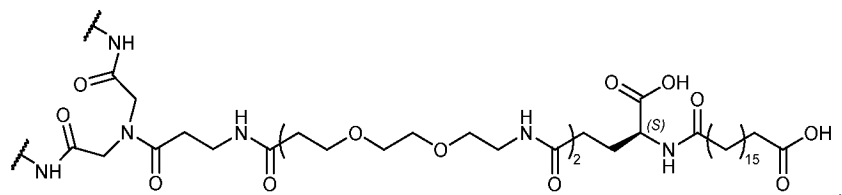
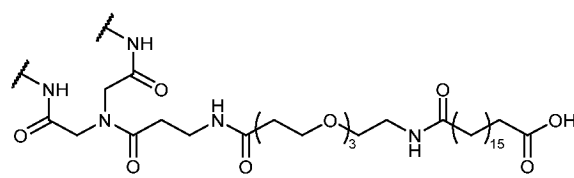
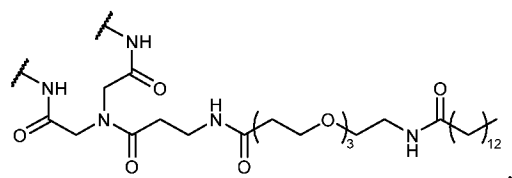
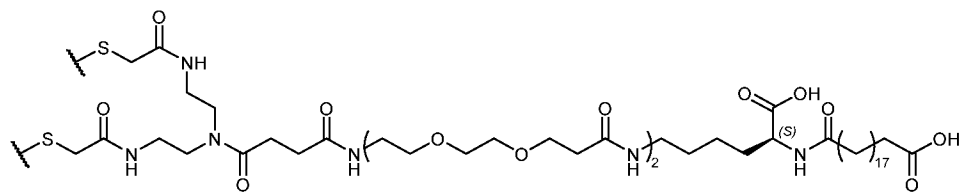
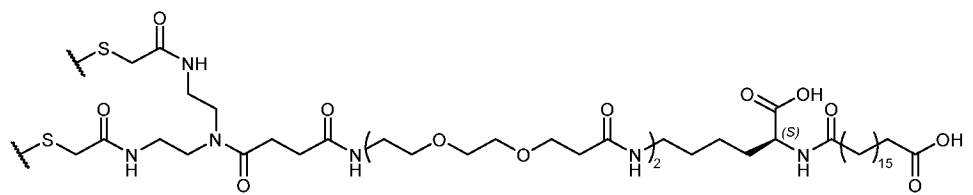
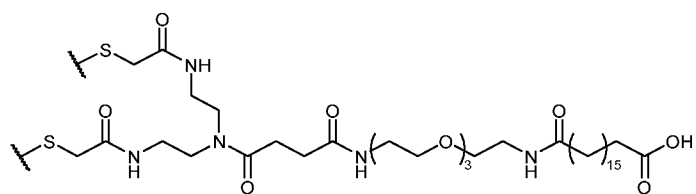
151. Пептидный конъюгат по любому из пп. 89-145, причем пептидный конъюгат содержит:

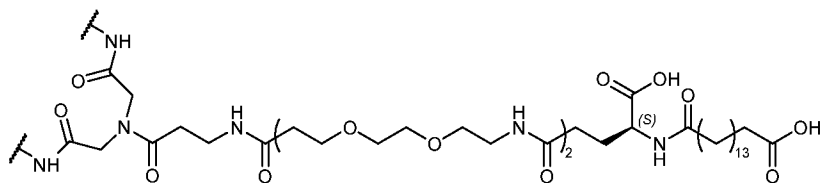




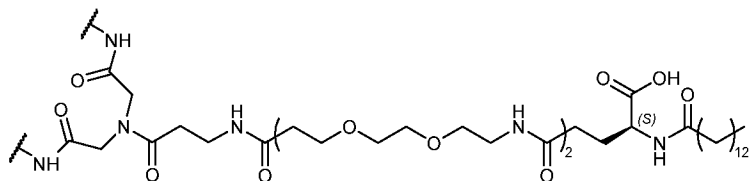


152. Пептидный конъюгат по любому из пп. 89-145, причем пептидный конъюгат содержит:

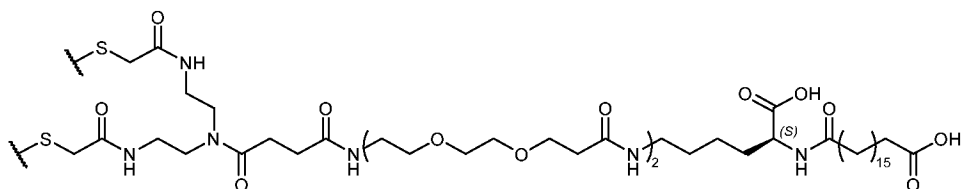
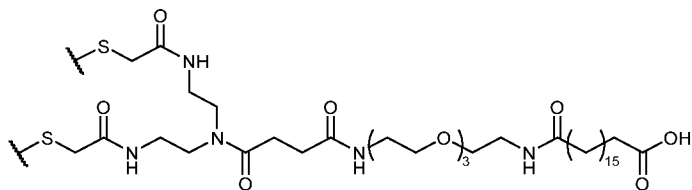




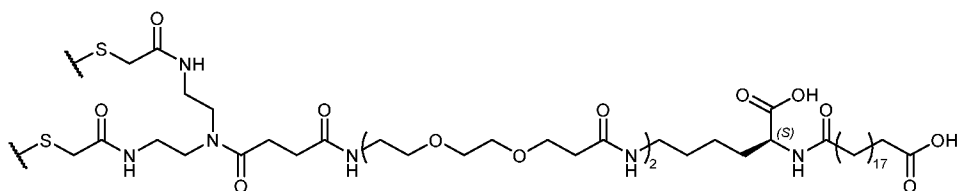
ИЛИ



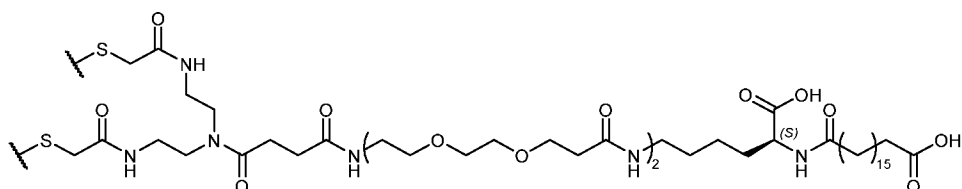
153. Пептидный конъюгат по любому из пп. 89-145, причем пептидный конъюгат содержит:



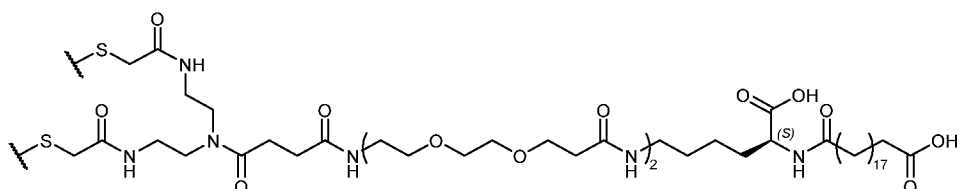
ИЛИ



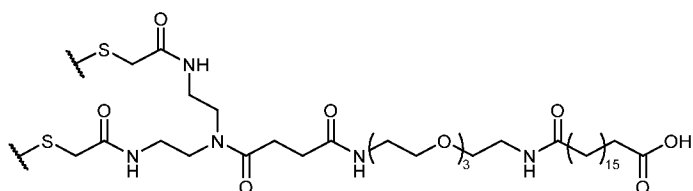
154. Пептидный конъюгат по любому из пп. 89-145, причем пептидный конъюгат содержит:



155. Пептидный конъюгат по любому из пп. 89-145, причем пептидный конъюгат содержит:

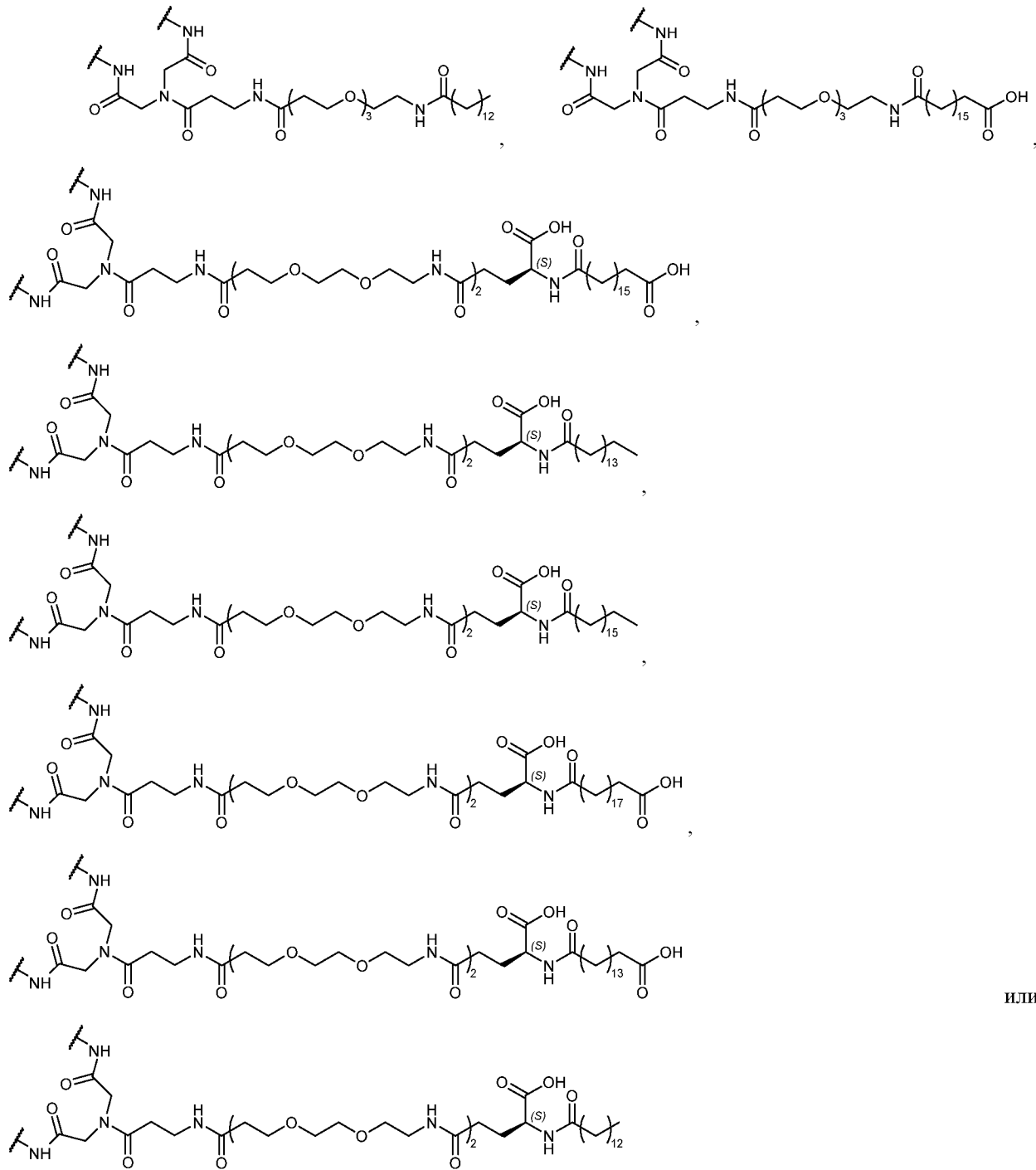


156. Пептидный конъюгат по любому из пп. 89-145, причем пептидный конъюгат содержит:



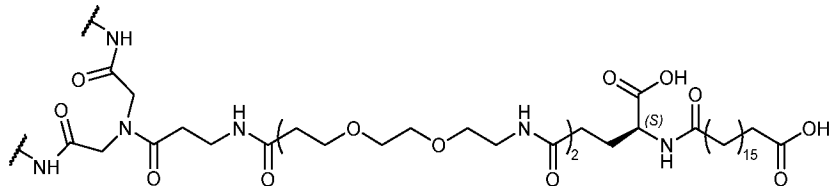
157. Пептидный конъюгат по любому из пп. 89-145, причем пептидный конъюгат содержит:



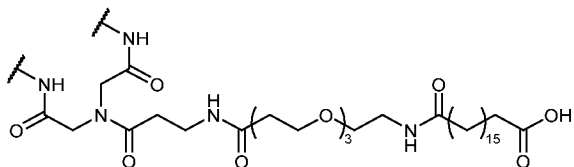


ИЛИ

158. Пептидный конъюгат по любому из пп. 89-145, причем пептидный конъюгат содержит:



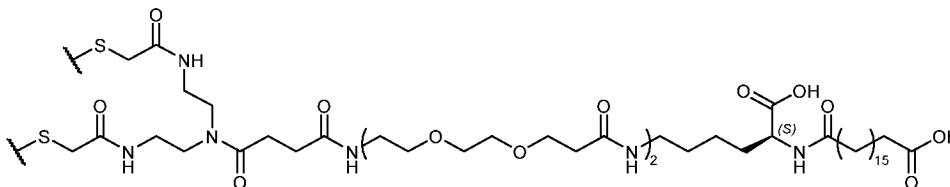
159. Пептидный конъюгат по любому из пп. 89-145, причем пептидный конъюгат содержит:



160. Пептидный конъюгат по любому из пп. 89-145, причем пептидный конъюгат содержит:

a) пептид, который модулирует рецептор PYY, содержащий пептидную последовательность, которая представляет собой SEQ ID NO: 6; и

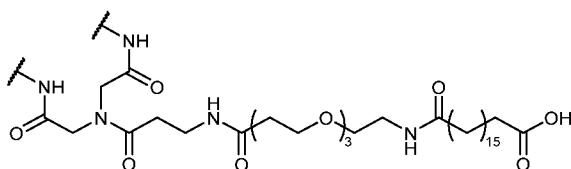
b) сшивающий фрагмент, присоединенный к пептиду через первый цистеин и второй цистеин, имеющий следующую структуру («-S-» представляет собой часть цистеиновых остатков):



161. Пептидный конъюгат по любому из пп. 89-145, причем пептидный конъюгат содержит:

a) пептид, который модулирует как рецептор GLP-1, так и рецептор GCG, содержащий пептидную последовательность, которая представляет собой SEQ ID NO: 48; и

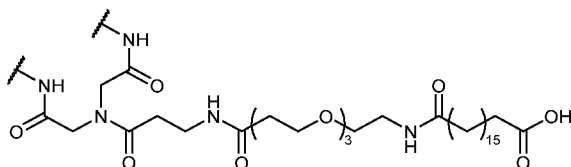
b) сшивающий фрагмент, присоединенный к пептиду через первый лизин и второй лизин, имеющий следующую структуру («-NH-» представляет собой часть лизиновых остатков):



162. Пептидный конъюгат по любому из пп. 89-145, причем пептидный конъюгат содержит:

a) пептид, который модулирует как рецептор GLP-1, так и рецептор GIP, содержащий пептидную последовательность, которая представляет собой SEQ ID NO: 63; и

b) сшивающий фрагмент, присоединенный к пептиду через первый лизин и второй лизин, имеющий следующую структуру («-NH-» представляет собой часть лизиновых остатков):



163. Фармацевтическая композиция, содержащая пептидный конъюгат по любому из пп. 1-62 и фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество.

164. Способ лечения заболевания или состояния у нуждающегося в этом субъекта, причем способ включает введение субъекту композиции, содержащей терапевтически эффективное количество пептидного конъюгата по любому из пп. 1-162.

165. Способ по п. 164, в котором заболевание или состояние представляет собой диабет или ожирение.

166. Способ по п. 164, в котором заболевание или состояние представляет собой неалкогольную жировую болезнь печени (NAFLD), неалкогольный стеатогепатит (NASH) или сердечно-сосудистое заболевание.

167. Способ по п. 164, в котором заболевание или состояние представляет собой синдром короткого кишечника (SBS).

168. Способ по п. 164, в котором заболевание или состояние представляет собой воспалительное заболевание кишечника (IBD), воспалительный кишечный синдром (IBS) или псориаз.

169. Способ по п. 164, в котором заболевание или состояние представляет собой болезнь Крона или язвенный колит.

170. Способ по п. 164, в котором заболевание или состояние представляет собой болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона или болезнь Хантингтона.

171. Способ по любому из пп. 164-170, дополнительно включающий введение субъекту одного или нескольких дополнительных терапевтических средств.

172. Способ по п. 171, в котором одно или несколько дополнительных терапевтических средств содержат инкретиновый гормон или соответствующее производное.

173. Способ по п. 172, в котором в качестве инкретинового гормона или соответствующего производного выбирают GLP-1, эксендин-4, глюкагон (GCG), глюкозозависимый инсулиноотропный пептид (GIP), окситомодулин и их комбинации.

174. Пептидная последовательность, которая представляет собой SEQ ID NO: 3.

175. Пептидная последовательность, которая представляет собой SEQ ID NO: 5.

176. Пептидная последовательность, которая представляет собой SEQ ID NO: 6.

177. Пептидная последовательность, которая представляет собой SEQ ID NO: 8.

178. Пептидная последовательность, которая представляет собой SEQ ID NO: 14.

179. Пептидная последовательность, которая представляет собой SEQ ID NO: 15.

180. Пептидная последовательность, которая представляет собой SEQ ID NO: 16.

181. Пептидная последовательность, которая представляет собой SEQ ID NO: 17.

182. Пептидная последовательность, которая представляет собой SEQ ID NO: 18.

183. Пептидная последовательность, которая представляет собой SEQ ID NO: 19.

184. Пептидная последовательность, которая представляет собой SEQ ID NO: 20.

185. Пептидная последовательность, которая представляет собой SEQ ID NO: 21.

186. Пептидная последовательность, которая представляет собой SEQ ID NO: 22.

187. Пептидная последовательность, которая представляет собой SEQ ID NO: 23.

188. Пептидная последовательность, которая представляет собой SEQ ID NO: 24.

189. Пептидная последовательность, которая представляет собой SEQ ID NO: 25.

190. Пептидная последовательность, которая представляет собой SEQ ID NO: 26.

191. Пептидная последовательность, которая представляет собой SEQ ID NO: 27.

192. Пептидная последовательность, которая представляет собой SEQ ID NO: 28.

193. Пептидная последовательность, которая представляет собой SEQ ID NO: 29.

194. Пептидная последовательность, которая представляет собой SEQ ID NO: 30.

195. Пептидная последовательность, которая представляет собой SEQ ID NO: 36.

196. Пептидная последовательность, которая представляет собой SEQ ID NO: 37.

197. Пептидная последовательность, которая представляет собой SEQ ID NO: 50.

198. Пептидная последовательность, которая представляет собой SEQ ID NO: 51.

199. Пептидная последовательность, которая представляет собой SEQ ID NO: 52.

200. Пептидная последовательность, которая представляет собой SEQ ID NO: 53.

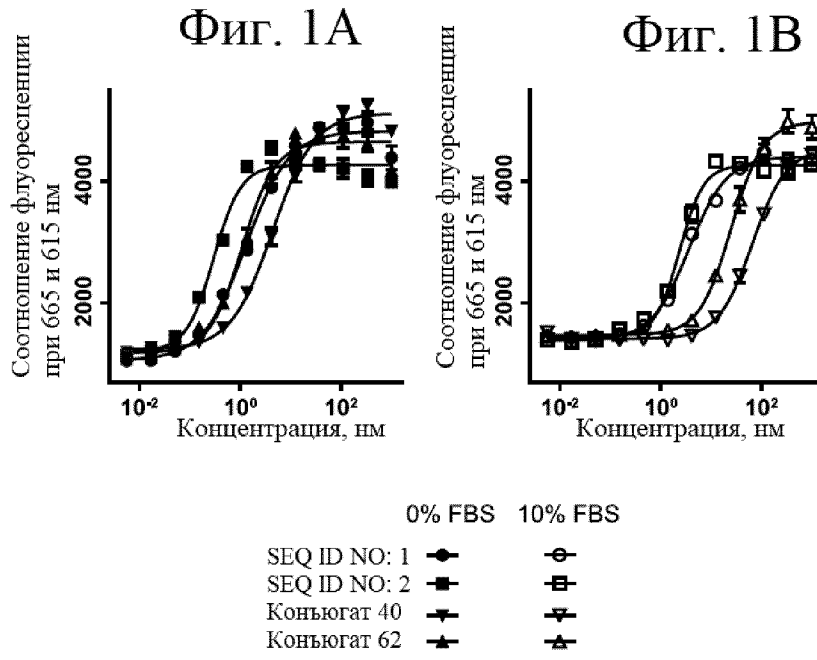
201. Пептидная последовательность, которая представляет собой SEQ ID NO: 54.

202. Пептидная последовательность, которая представляет собой SEQ ID NO: 55.

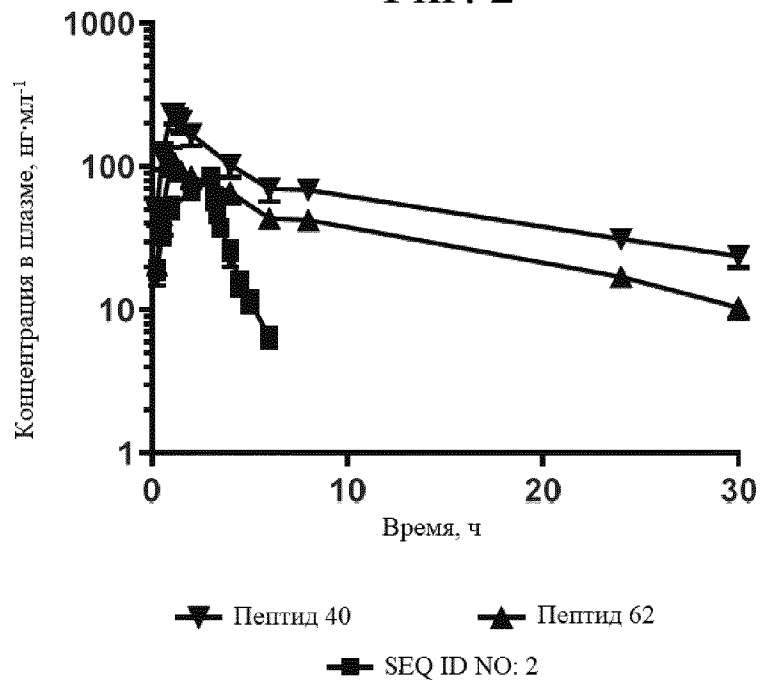
203. Пептидная последовательность, которая представляет собой SEQ ID NO: 56.

204. Пептидная последовательность, которая представляет собой SEQ ID NO: 57.

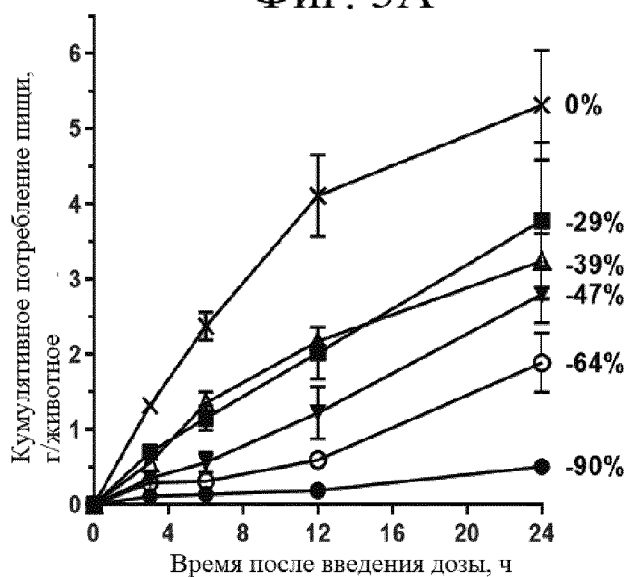




Фиг. 2

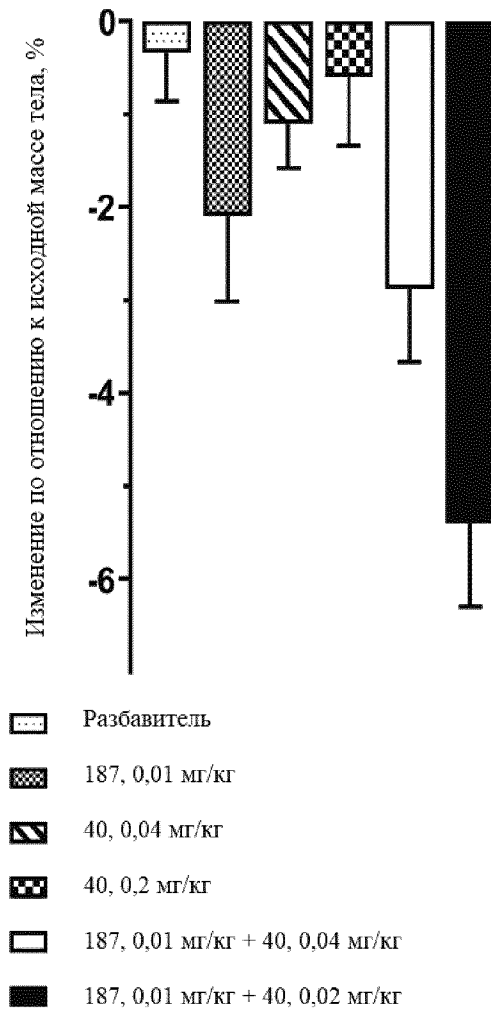


Фиг. 3А



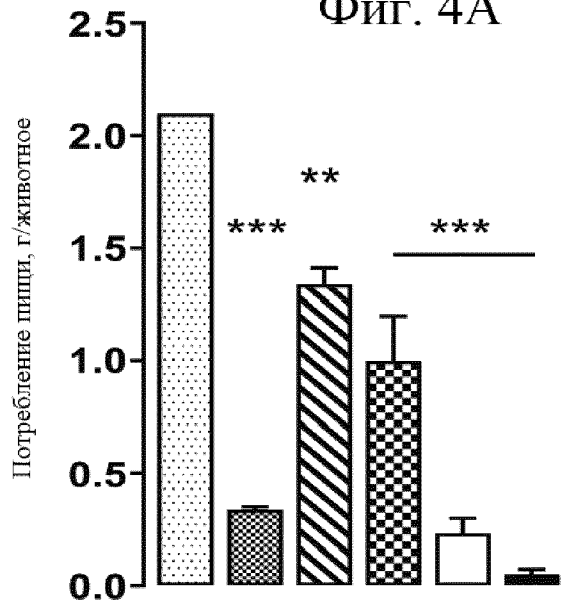
- ✕ Разбавитель
- 187, 0,01 мг/кг
- ▲ 40, 0,04 мг/кг
- ▼ 40, 0,2 мг/кг
- 187, 0,01 мг/кг + 40, 0,04 мг/кг
- 187, 0,01 мг/кг + 40, 0,02 мг/кг







Фиг. 3В

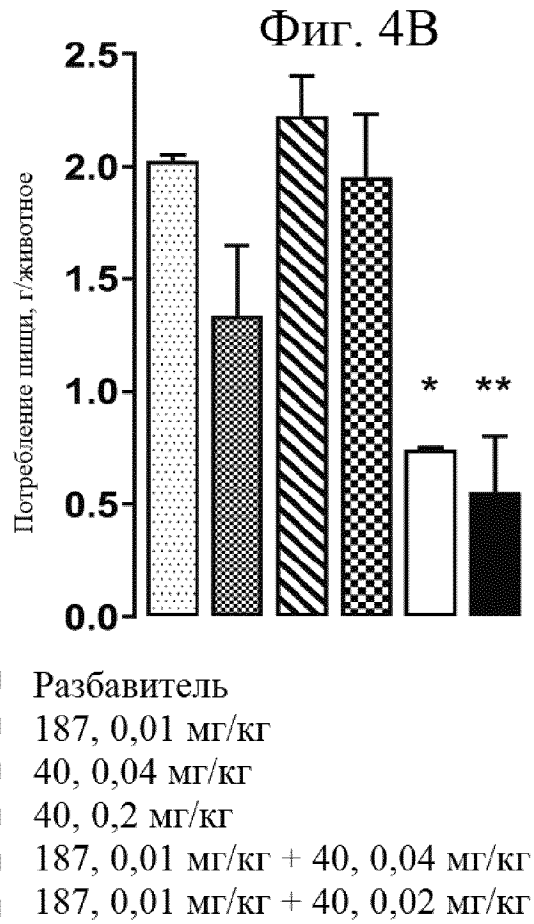




Фиг. 4А

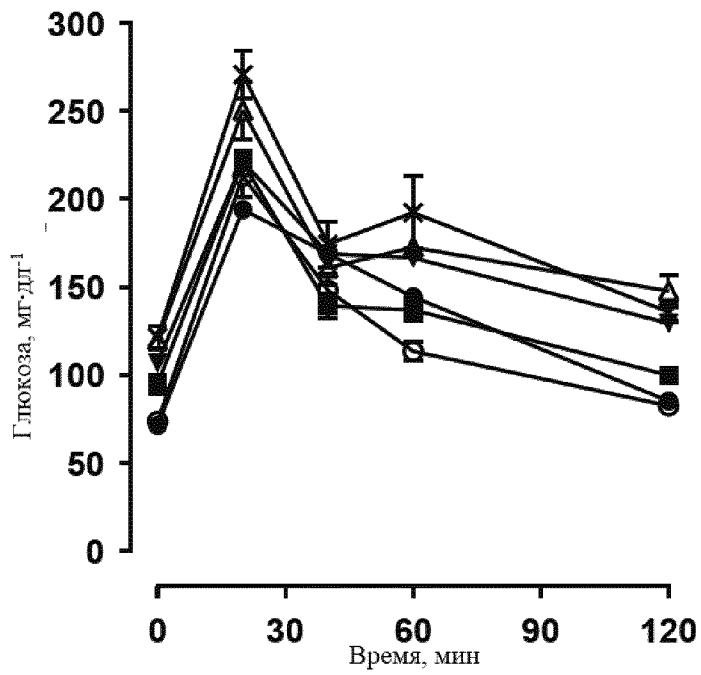


-  Разбавитель
-  187, 0,01 мг/кг
-  40, 0,04 мг/кг
-  40, 0,2 мг/кг
-  187, 0,01 мг/кг + 40, 0,04 мг/кг
-  187, 0,01 мг/кг + 40, 0,02 мг/кг

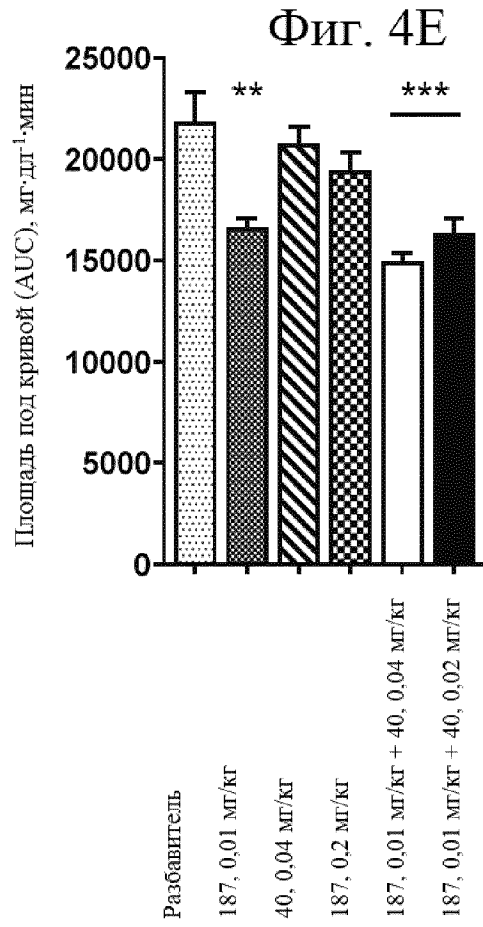


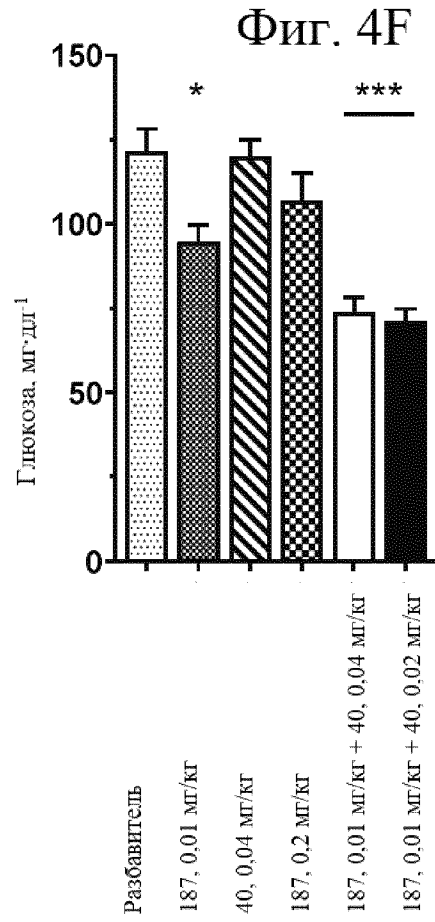


Фиг. 4D



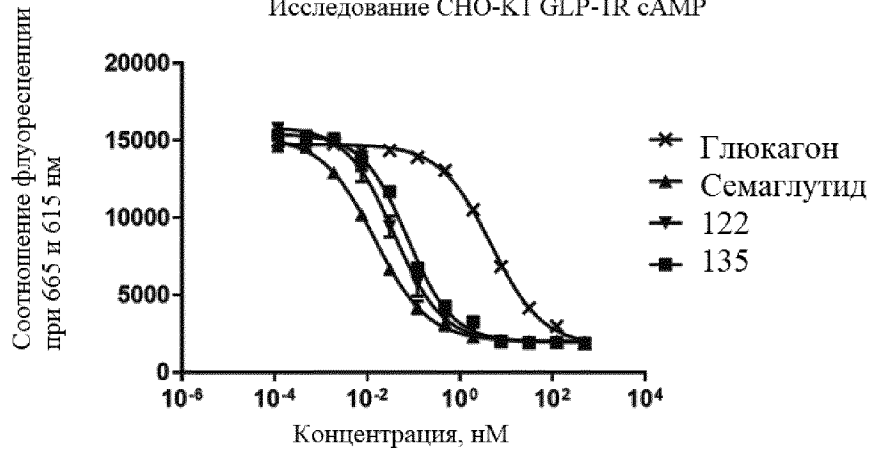
- ✱ Разбавитель
- 187, 0,01 мг/кг
- ▲ 40, 0,04 мг/кг
- ▼ 40, 0,2 мг/кг
- ⊖ 187, 0,01 мг/кг + 40, 0,04 мг/кг
- 187, 0,01 мг/кг + 40, 0,02 мг/кг





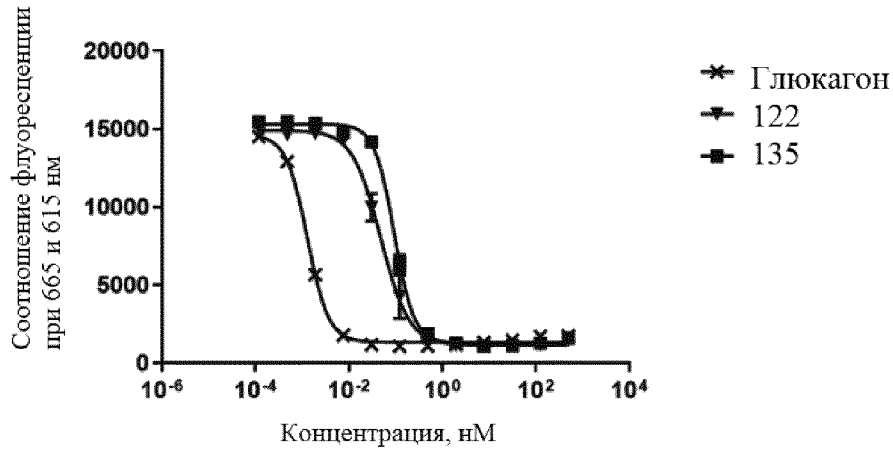
## Фиг. 5А

Исследование CHO-K1 GLP-1R cAMP



## Фиг. 5В

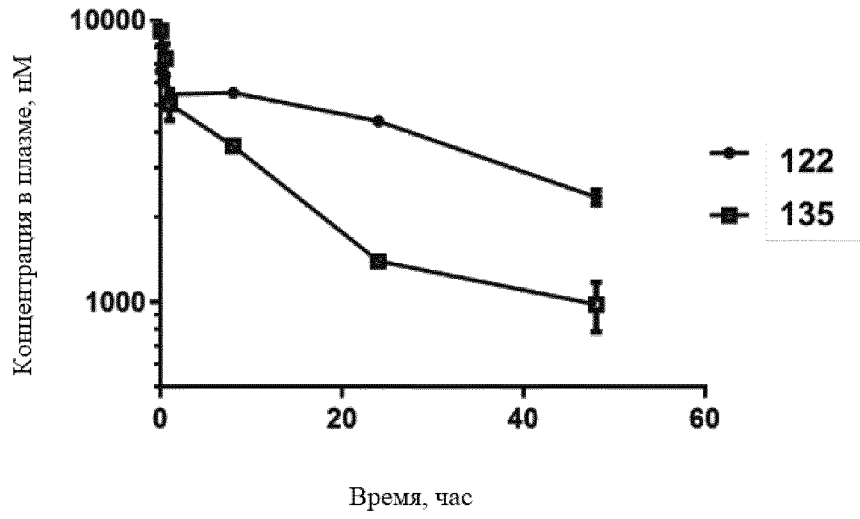
Исследование CHO-K1 GCGR cAMP



## Фиг. 5С

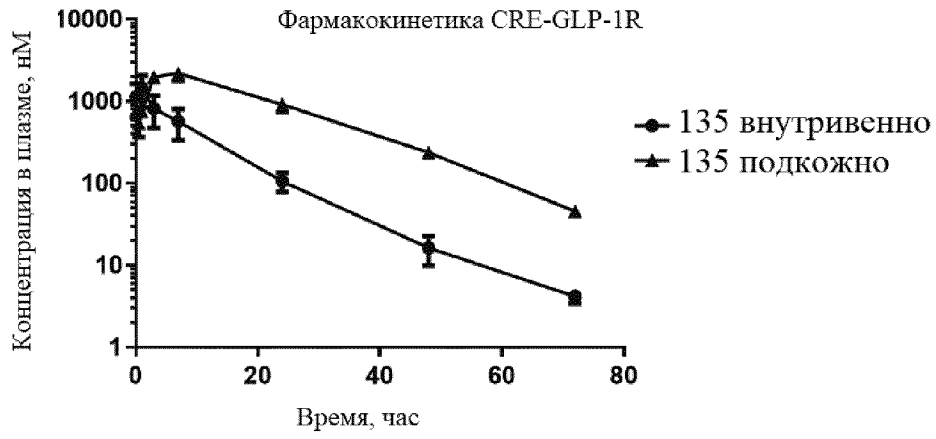
Устойчивость в 2% плазме в течение 50 часов

Устойчивость CRE-GLP-1R





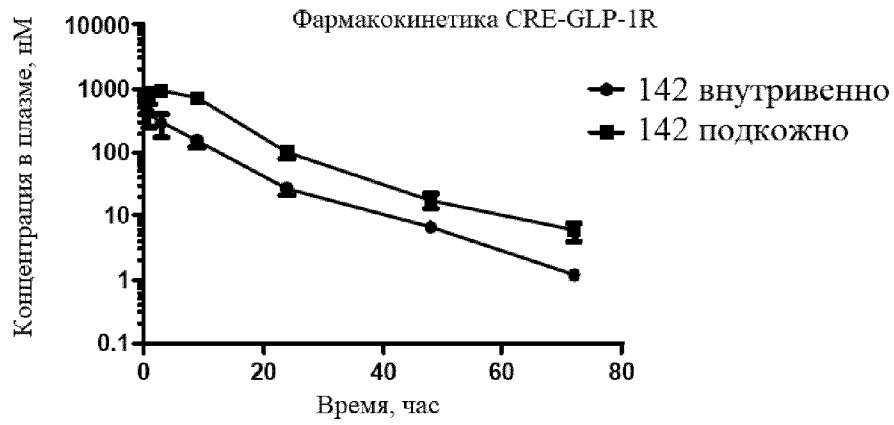
Фиг. 6А



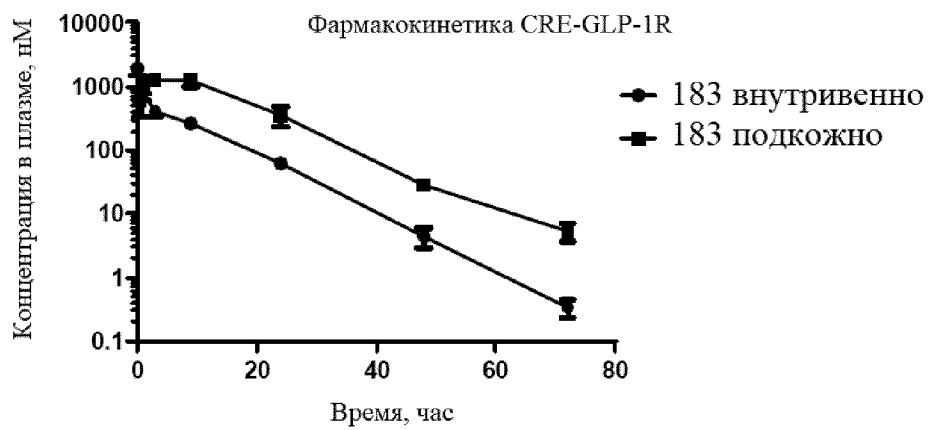
Фиг. 6В



Фиг. 6С

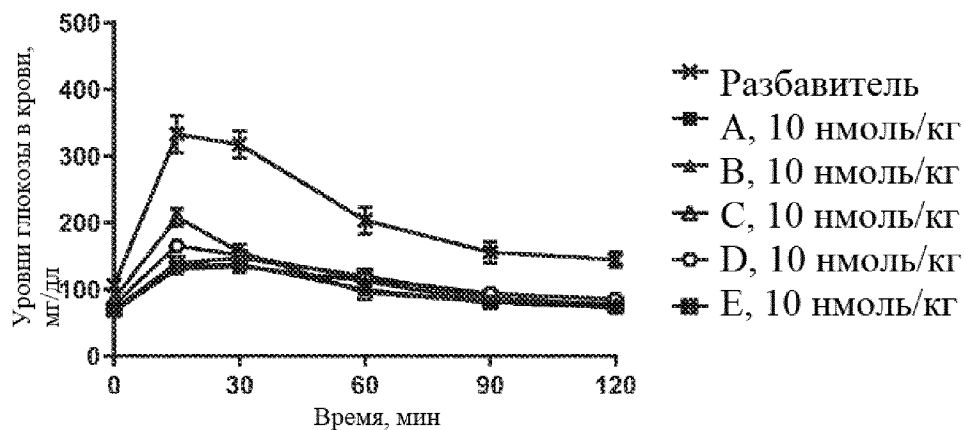


Фиг. 6D



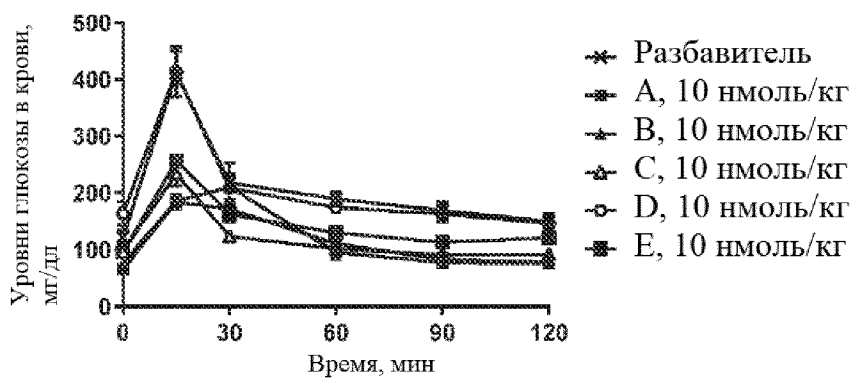
### Фиг. 7А

Пероральное глюкозотолерантное исследование  
через 6 часов после введения дозы



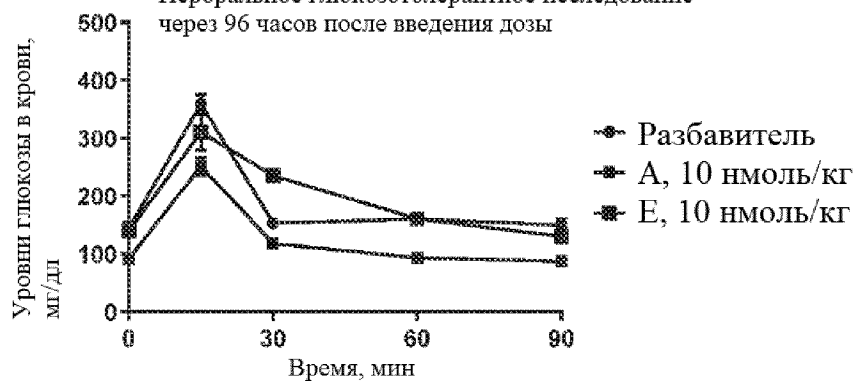
### Фиг. 7В

Пероральное глюкозотолерантное исследование  
через 48 часов после введения дозы



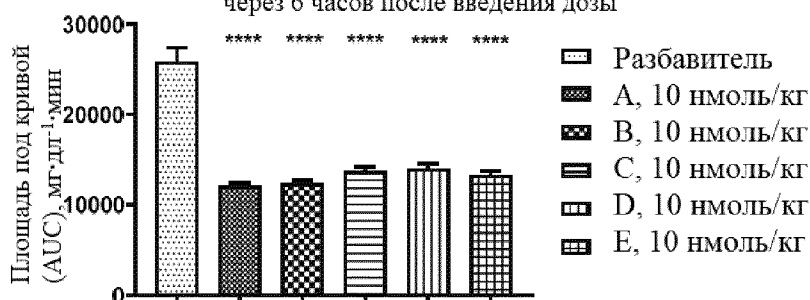
### Фиг. 7С

Пероральное глюкозотолерантное исследование  
через 96 часов после введения дозы



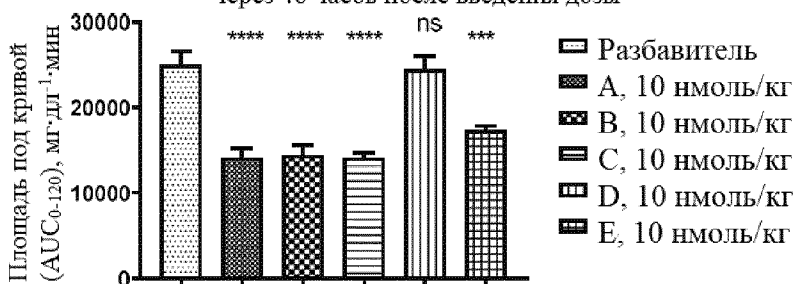
## Фиг. 7D

Пероральное глюкозотолерантное исследование  
через 6 часов после введения дозы



## Фиг. 7E

Пероральное глюкозотолерантное исследование  
через 48 часов после введения дозы



## Фиг. 7F

Пероральное глюкозотолерантное исследование  
через 96 часов после введения дозы



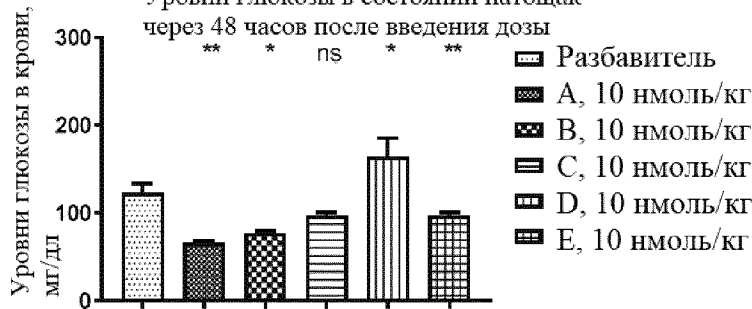
Фиг. 7G

Уровни глюкозы в состоянии натощак  
через 6 часов после введения дозы



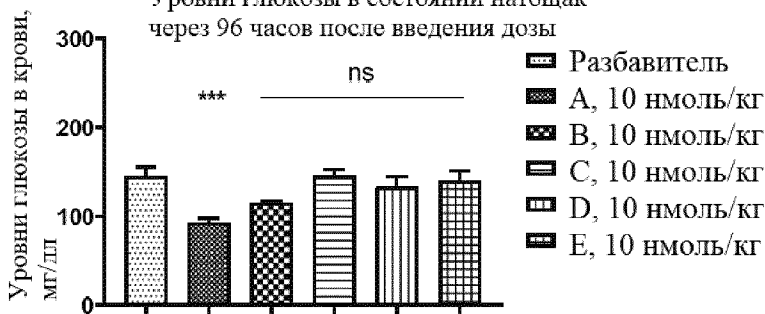
Фиг. 7H

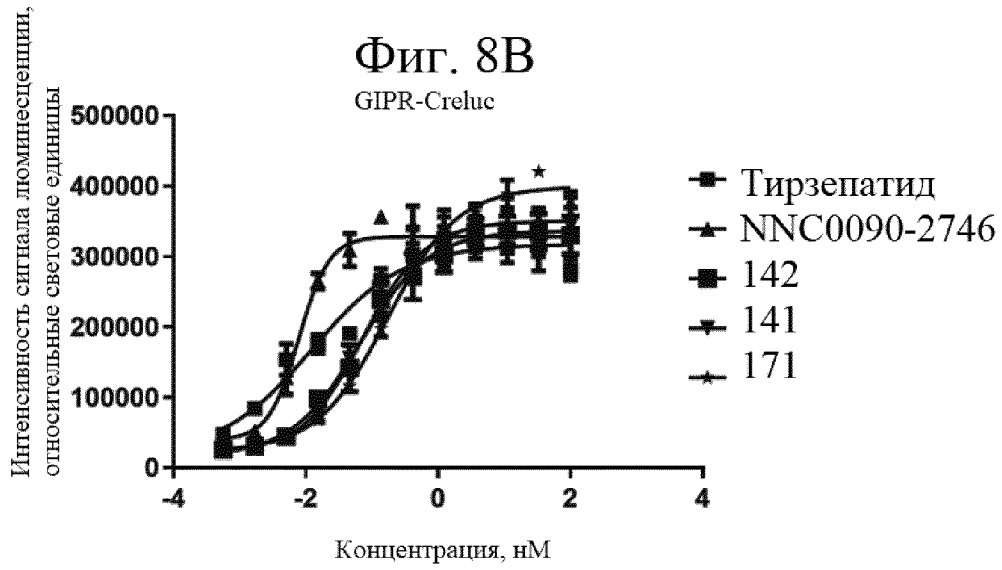
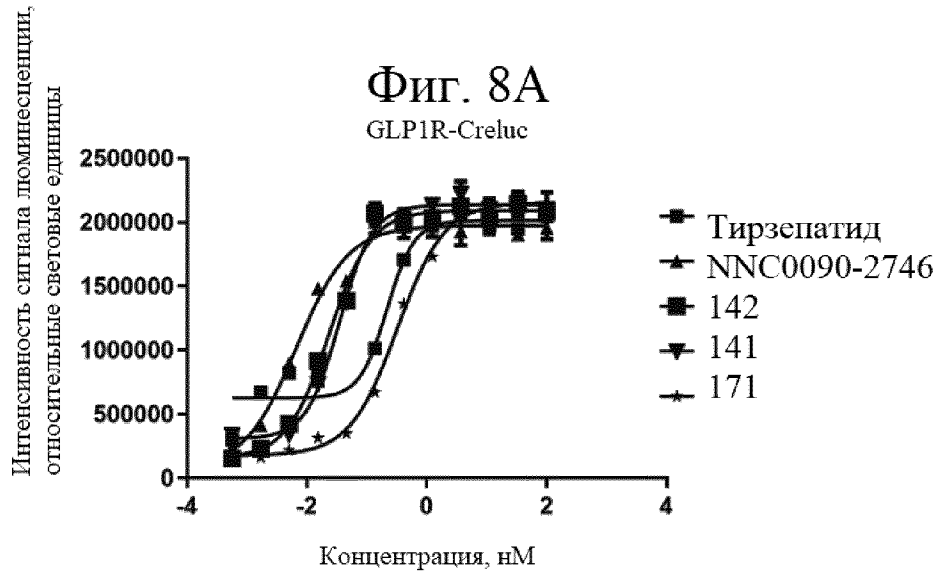
Уровни глюкозы в состоянии натощак  
через 48 часов после введения дозы



Фиг. 7I

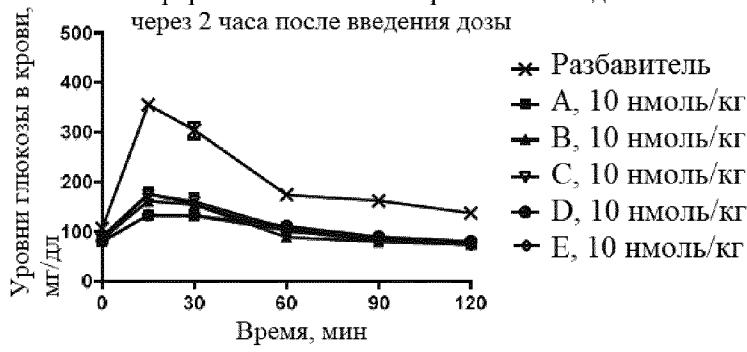
Уровни глюкозы в состоянии натощак  
через 96 часов после введения дозы





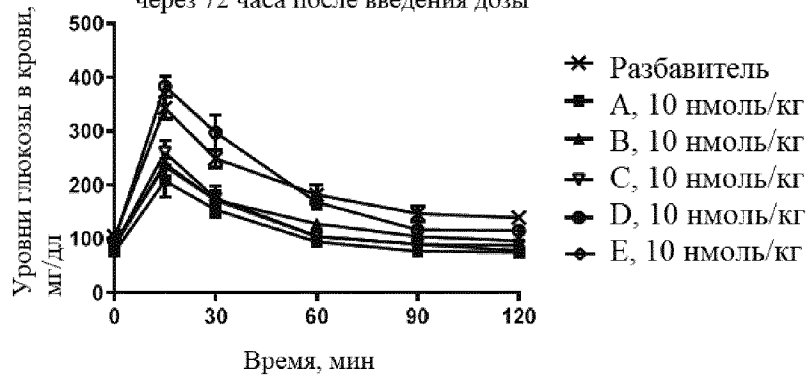
Фиг. 9А

Пероральное глюкозотолерантное исследование  
через 2 часа после введения дозы



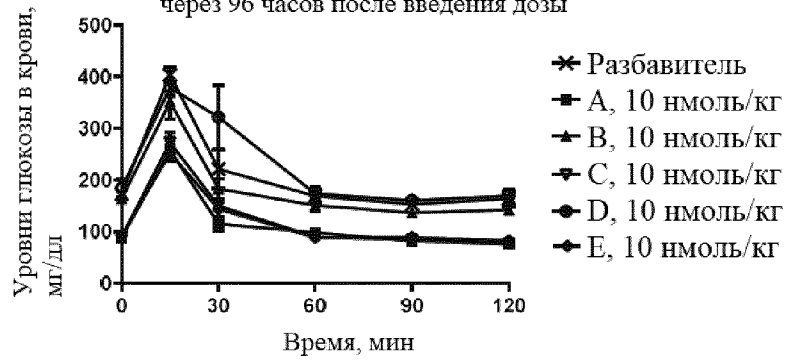
Фиг. 9В

Пероральное глюкозотолерантное исследование  
через 72 часа после введения дозы



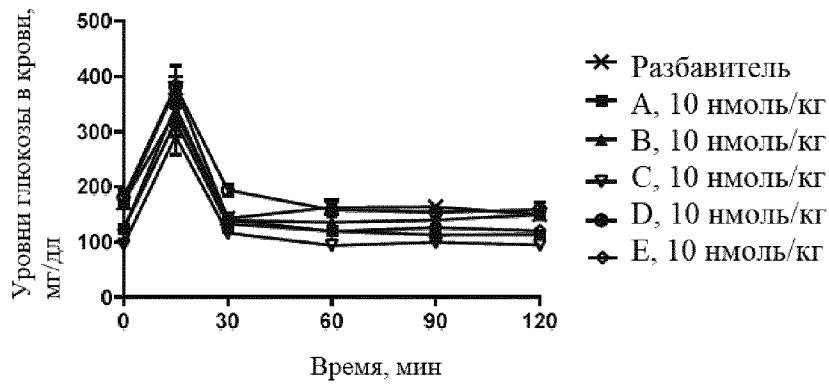
Фиг. 9С

Пероральное глюкозотолерантное исследование  
через 96 часов после введения дозы



Фиг. 9D

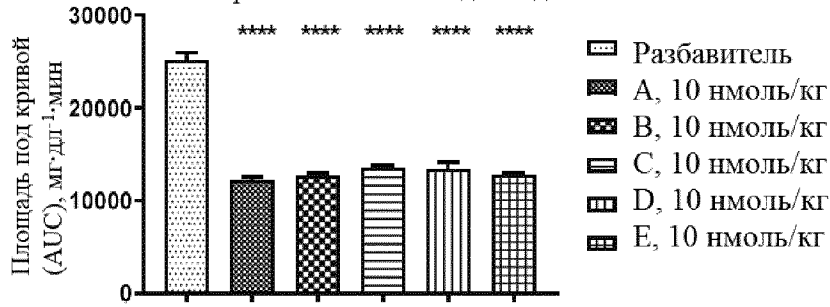
Пероральное глюкозотолерантное исследование  
через 144 часа после введения дозы





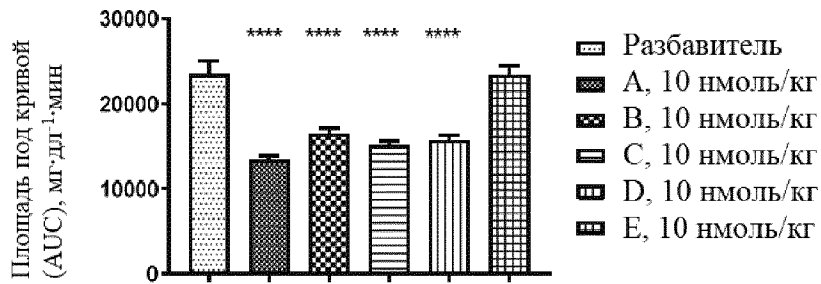
### Фиг. 9Е

Пероральное глюкозотолерантное исследование  
через 2 часа после введения дозы



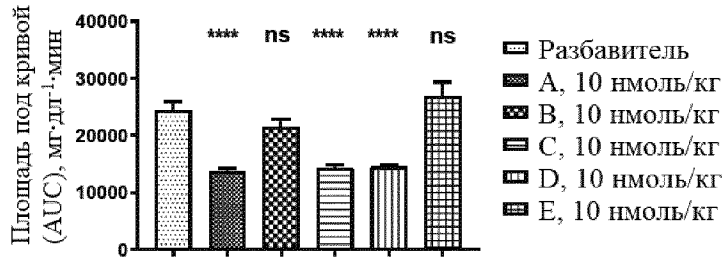
### Фиг. 9F

Пероральное глюкозотолерантное исследование  
через 72 часа после введения дозы



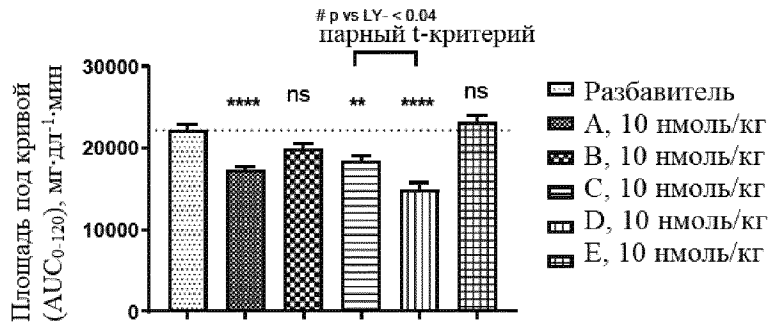
## Фиг. 9G

Пероральное глюкозотолерантное исследование  
через 96 часов после введения дозы



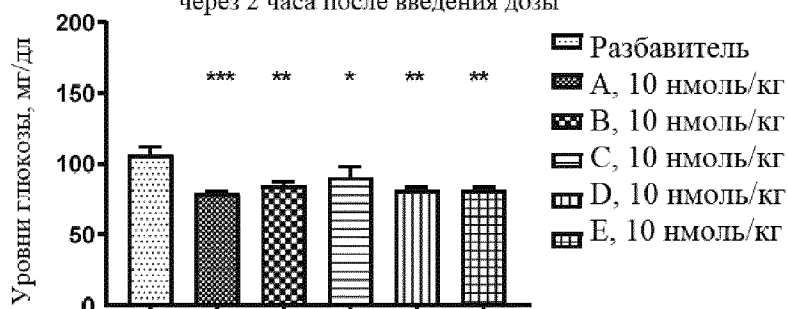
## Фиг. 9H

Пероральное глюкозотолерантное исследование  
через 144 часа после введения дозы



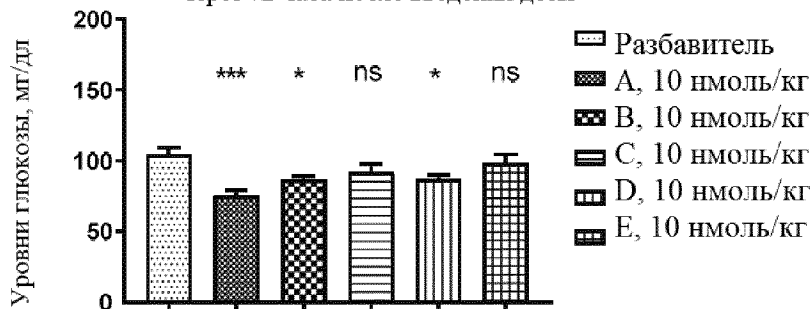
Фиг. 9I

Уровни глюкозы в состоянии натощак  
через 2 часа после введения дозы



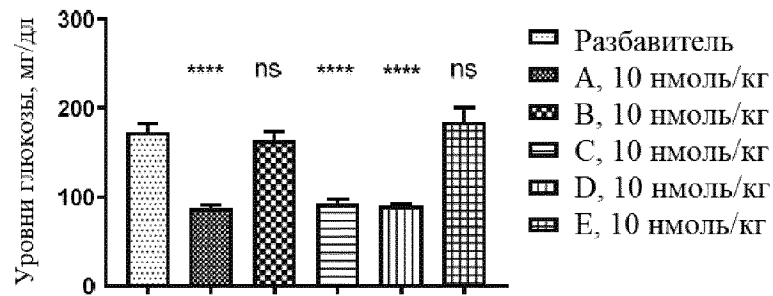
Фиг. 9J

Уровни глюкозы в состоянии натощак  
через 72 часа после введения дозы



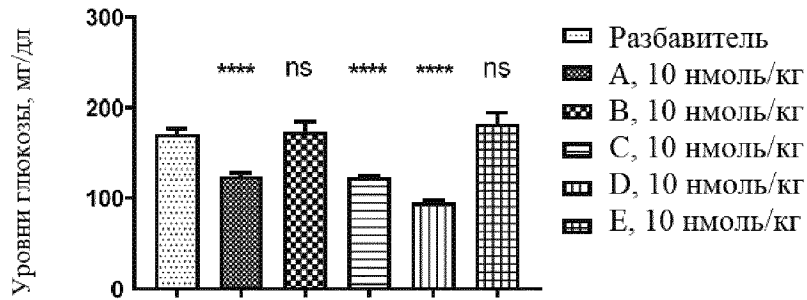
## Фиг. 9К

Уровни глюкозы в состоянии натошак  
через 96 часов после введения дозы

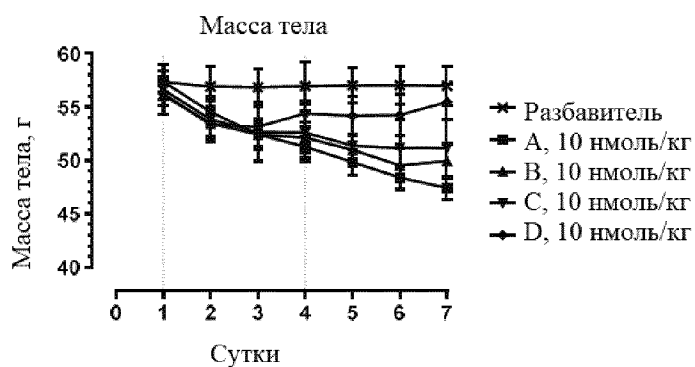


## Фиг. 9L

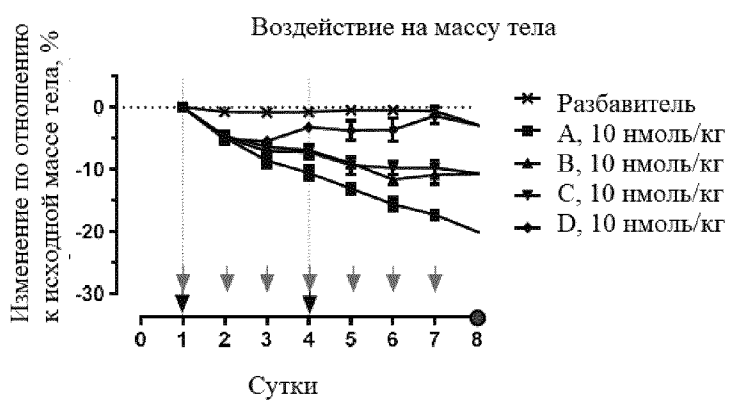
Уровни глюкозы в состоянии натошак  
через 144 часа после введения дозы



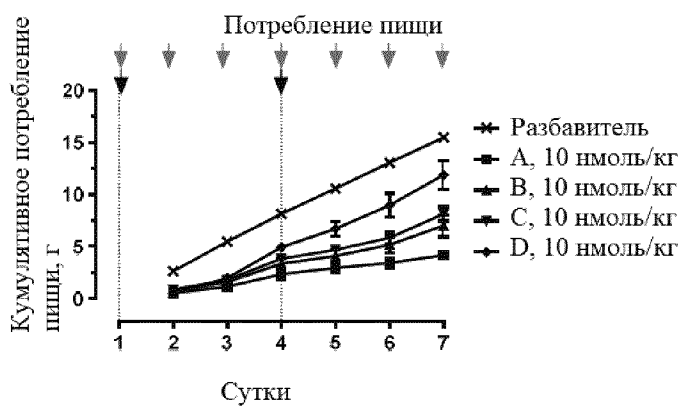
Фиг. 10А



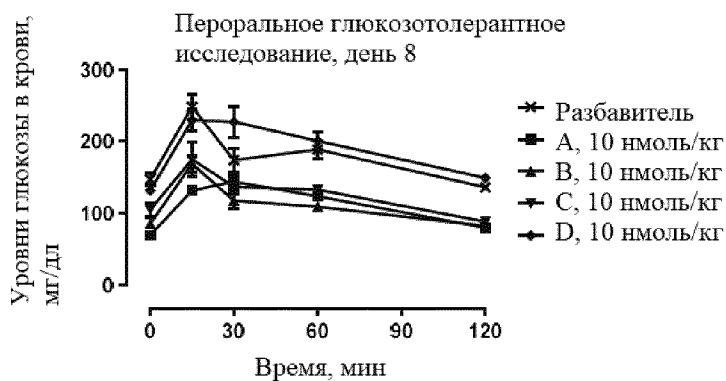
Фиг. 10В



Фиг. 10С



Фиг. 10D

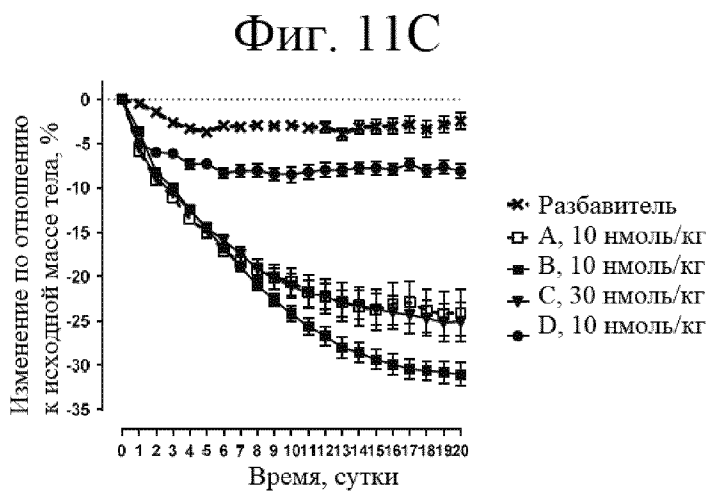
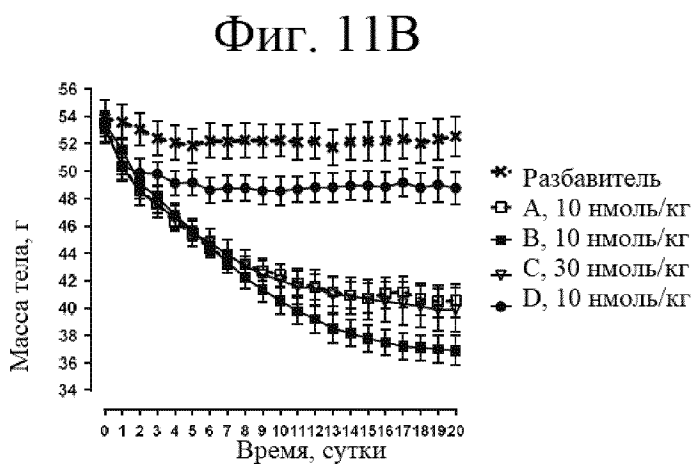
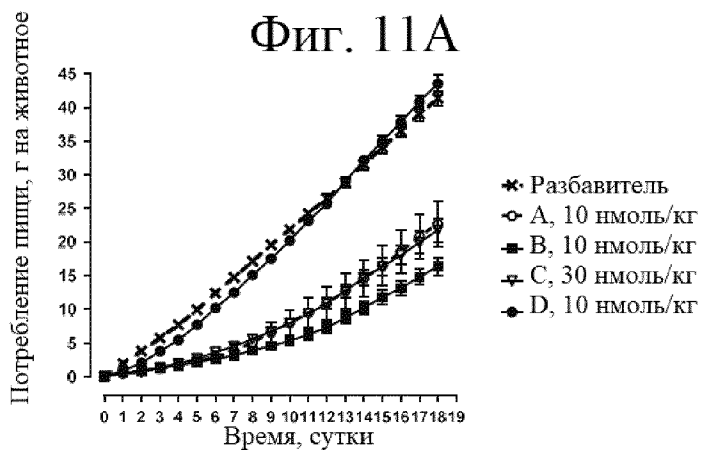


Фиг. 10E



Фиг. 10F





Фиг. 11D



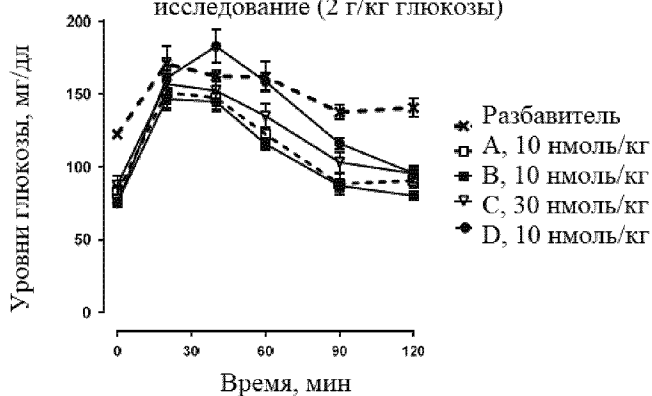
Фиг. 11E





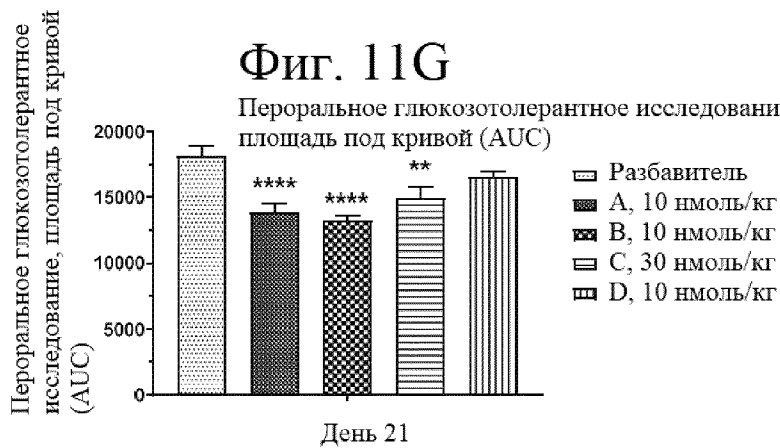
Фиг. 11F

Пероральное глюкозотолерантное исследование (2 г/кг глюкозы)



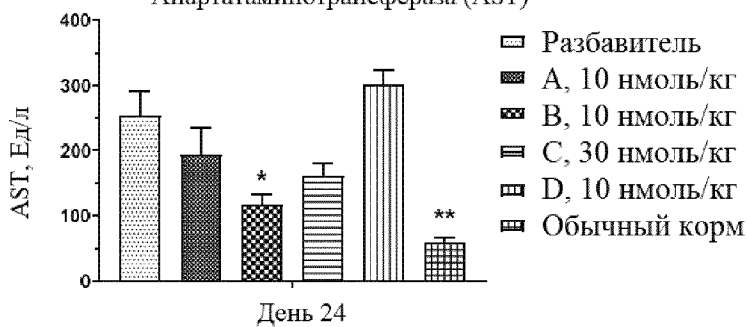
Фиг. 11G

Пероральное глюкозотолерантное исследование, площадь под кривой (AUC)

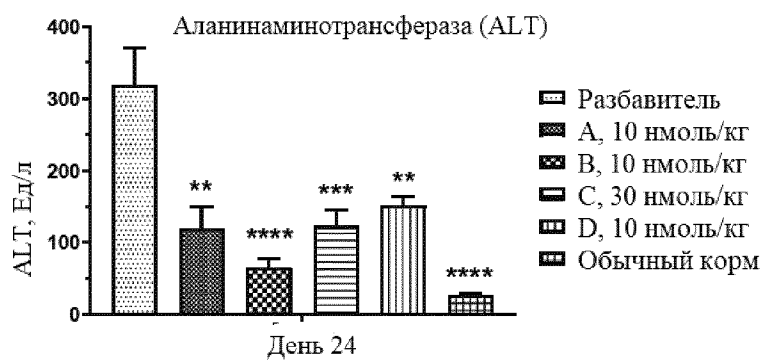


Фиг. 11H

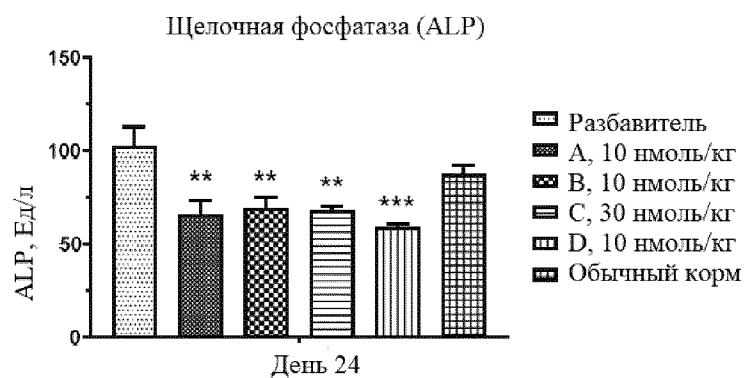
Аспартатаминотрансфераза (AST)



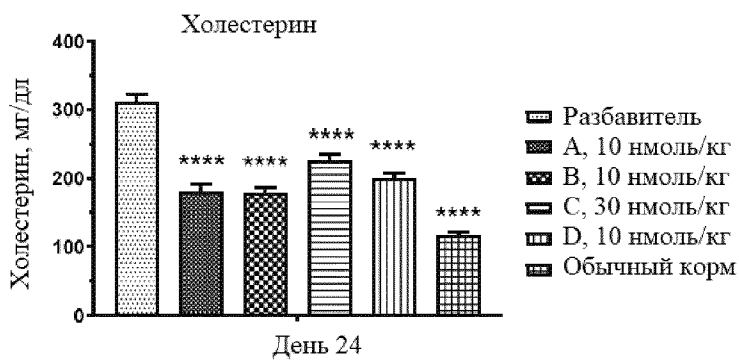
Фиг. 11I



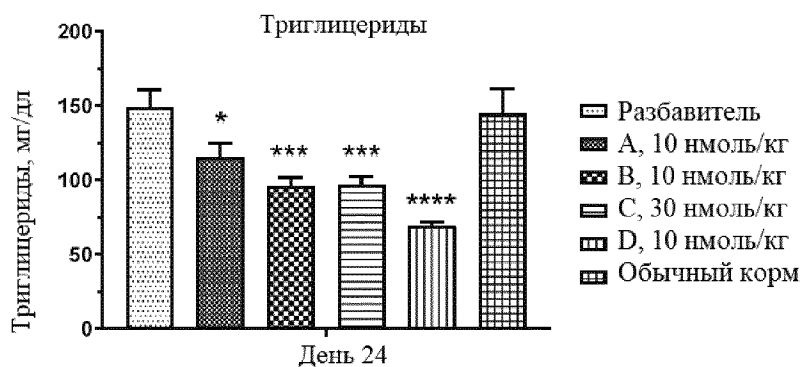
Фиг. 11J



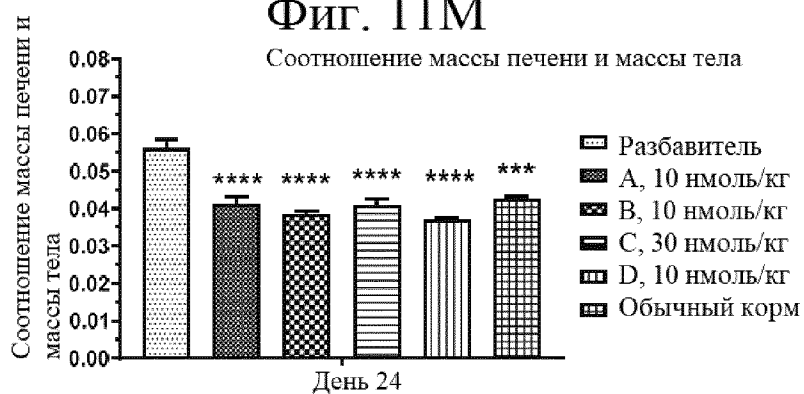
Фиг. 11K



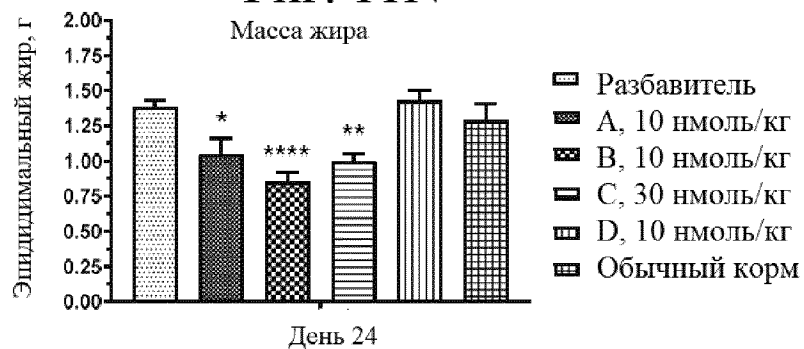
Фиг. 11L



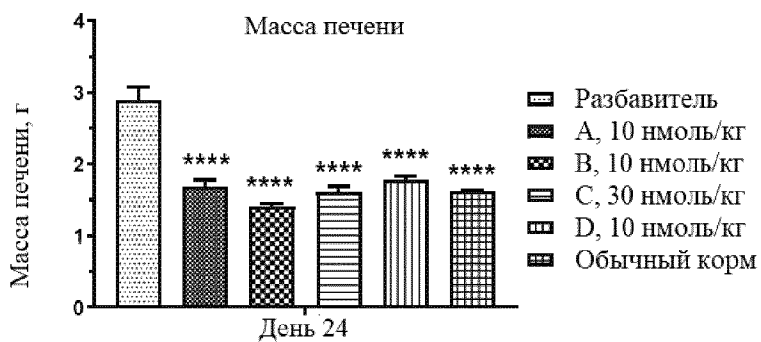
Фиг. 11M



Фиг. 11N



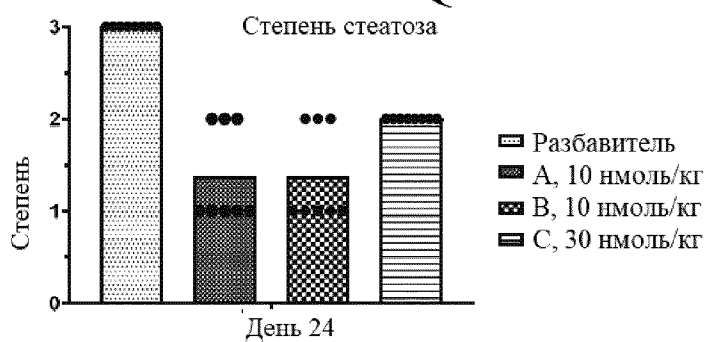
Фиг. 11O



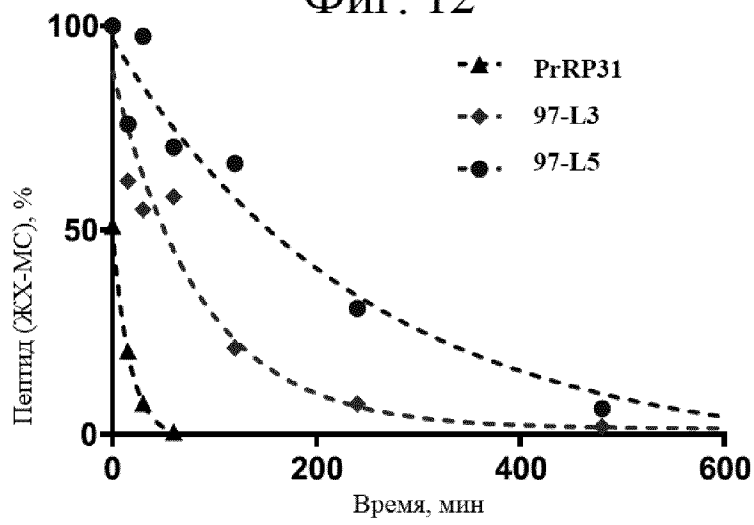
Фиг. 11P



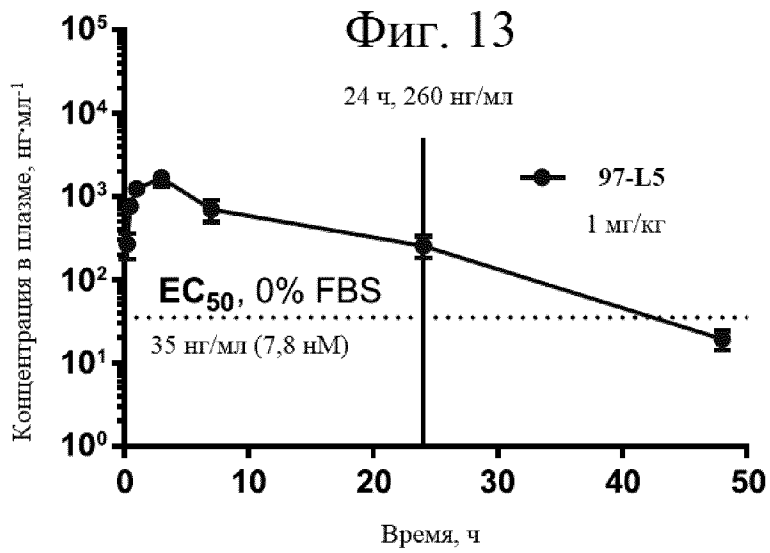
Фиг. 11Q



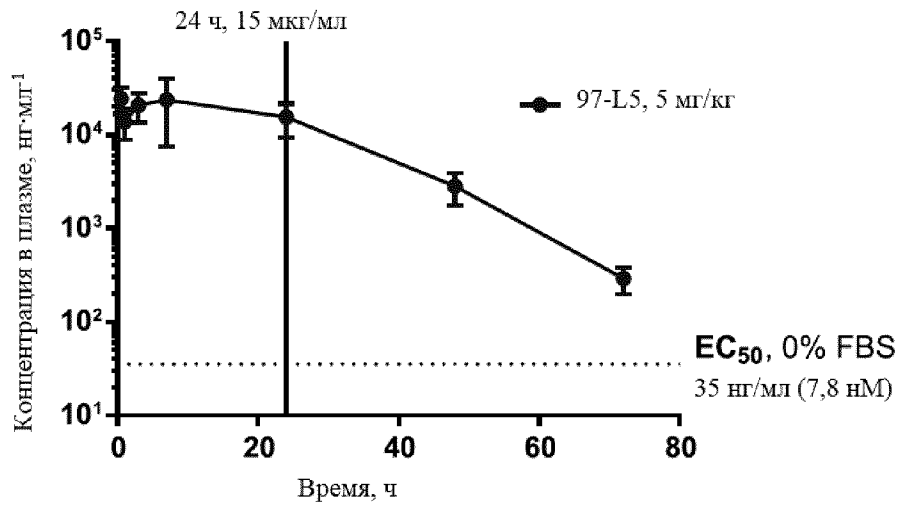
Фиг. 12



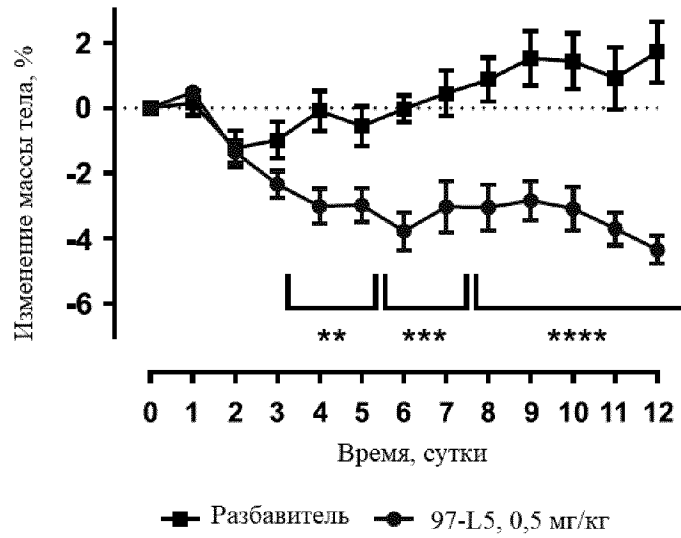
Фиг. 13



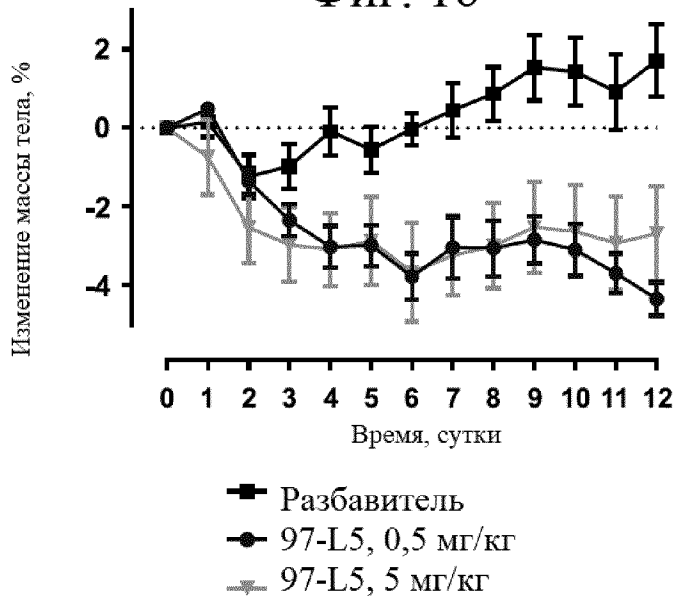
Фиг. 14



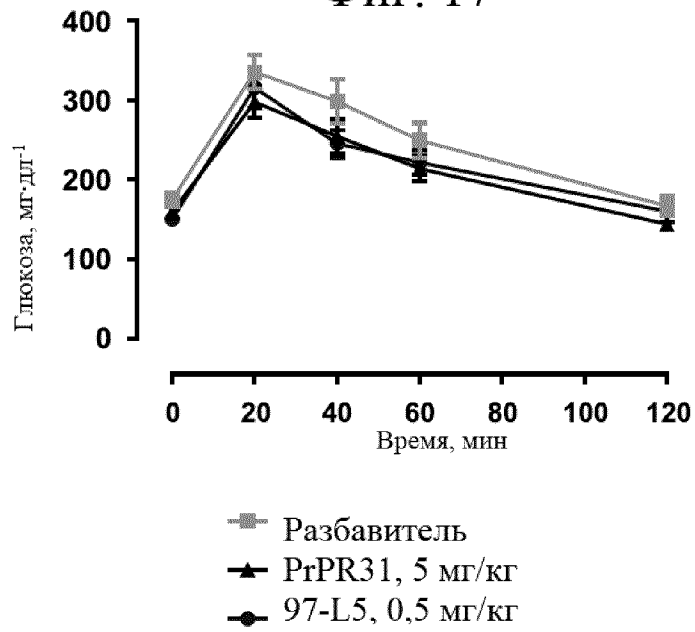
Фиг. 15



Фиг. 16



Фиг. 17



Фиг. 18

