

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202292980** (13) **A1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2022.12.09

(22) Дата подачи заявки
2021.04.20

(51) Int. Cl. **A61K 9/00** (2006.01)
A61K 38/00 (2006.01)
A61P 3/04 (2006.01)
A61P 3/10 (2006.01)
C07K 14/47 (2006.01)
C07K 14/575 (2006.01)

(54) ПРИМЕНЕНИЕ ПОЛИПЕПТИДОВ АНАЛОГОВ АМИЛИНА ЧЕЛОВЕКА ДЛЯ ОБЕСПЕЧЕНИЯ ПРЕВОСХОДНОГО ГЛИКЕМИЧЕСКОГО КОНТРОЛЯ У БОЛЬНЫХ ДИАБЕТОМ 1 ТИПА

(31) **63/012,619**

(32) **2020.04.20**

(33) **US**

(86) **PCT/US2021/028209**

(87) **WO 2021/216586 2021.10.28**

(71) Заявитель:

ИЗО ТЕРАПЬЮТИКС, ИНК. (US)

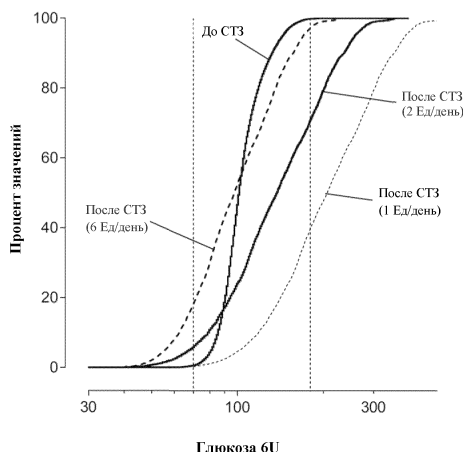
(72) Изобретатель:

Янг Эндрю (US)

(74) Представитель:

Медведев В.Н. (RU)

(57) Изобретение относится к введению аналогов амилина человека для лечения диабета 1 типа. Описанные в данном документе способы дополняют инъекционную или инфузионную терапию инсулином посредством раздельного и непрерывного совместного введения аналога амилина в терапевтически эффективной дозе по меньшей мере 5 мкг на килограмм в сутки или в терапевтически эффективной дозе, которая эквивалентна, по меньшей мере, дозе ED70 аналога амилина, как определено в данном документе.



A1

202292980

202292980

A1

**ПРИМЕНЕНИЕ ПОЛИПЕПТИДОВ АНАЛОГОВ АМИЛИНА ЧЕЛОВЕКА ДЛЯ
ОБЕСПЕЧЕНИЯ ПРЕВОСХОДНОГО ГЛИКЕМИЧЕСКОГО КОНТРОЛЯ У
БОЛЬНЫХ ДИАБЕТОМ 1 ТИПА**

Перекрестная ссылка на родственную заявку

Данная заявка испрашивает приоритет предварительной заявки на патент США № 63/012619, поданной 20 апреля 2020 г., полное содержание которой включено в данный документ посредством ссылки.

Ссылка на перечень последовательностей, представленный в электронном виде

Данная заявка содержит перечень последовательностей, который подан в электронном виде через EFS-Web в виде перечня последовательностей в формате ASCII с именем файла «Seq-Listing-717156_102487-060WO.txt», датой создания 17 апреля 2021 г. и размером 4 КБ. Перечень последовательностей, представленный через EFS-Web, является частью описания и полностью включен в данный документ посредством ссылки.

Область техники

Данное изобретение относится к вариантам лечения диабета 1 типа.

Уровень техники

Диабет 1 типа является разрушительным заболеванием. У больных диабетом 1 типа отсутствуют функциональные β -клетки поджелудочной железы, и поэтому они не могут продуцировать инсулин и амилин, которые в противном случае секретируются функциональными β -клетками относительно здоровых людей. Для выживания больным диабетом 1 типа требуются самостоятельные инъекции инсулина. Однако при таких самостоятельных инъекциях инсулина может быть трудно избежать и свести к минимуму потенциально неблагоприятные, даже опасные для жизни побочные эффекты, связанные с гипогликемией. Существует значительная потребность в улучшенных способах лечения диабета 1 типа.

Потеря функции β -клеток, которая происходит на ранних стадиях заболевания у больных диабетом 1 типа и может проявиться на поздних стадиях заболевания у больных диабетом 2 типа, она приводит к недостаточной секреции инсулина и амилина.

Инсулин - это пептид, который регулирует уровень глюкозы в крови и координирует распределение и поглощение глюкозы в организме. Роль инсулина в организме является, среди прочего, в предотвращении слишком высокого повышения уровня глюкозы в крови, особенно после приема пищи.

Амилин человека, или островковый амилоидный полипептид (IAPP), представляет собой полипептидный гормон из 37 остатков. Про-островковый амилоидный полипептид (т.е., pro-IAPP) продуцируется в β -клетках поджелудочной железы как про-пептид размером 67 аминокислот, и массой 7404 дальтона, который подвергается посттрансляционным модификациям, включая расщепление протеазой для получения

амилина размером 37 остатков. Амилин совместно секретируется с инсулином из β -клеток поджелудочной железы в соотношении приблизительно 100:1 (инсулин:амилин). Уровни амилина и инсулина растут и падают синхронно. Амилин и инсулин дополняют друг друга в регулировании уровня питательных веществ в кровотоке. В то время как инсулин помогает и способствует накоплению питательных веществ, амилин замедляет поступление/хранение питательных веществ в организме.

Амилин функционирует как часть эндокринной поджелудочной железы, тех клеток в поджелудочной железе, которые синтезируют и секретируют гормоны. Амилин способствует гликемическому контролю; он секретируется из островков поджелудочной железы в кровообращение и очищается пептидазами в почках. Метаболическая функция амилина хорошо характеризуется как ингибитор проявления питательных веществ, таких как глюкоза, в плазме. Таким образом, он функционирует как синергетический партнер к инсулину, который регулирует уровень глюкозы в крови и координирует поглощение глюкозы и ее распределение в организме.

Считается, что амилин играет роль в гликемическом регулировании путем замедления опорожнения желудка и способствования сытости (то есть, чувства наполненности), тем самым предотвращая послеобеденные (то есть, после приема пищи) пики уровней глюкозы в крови. Общий эффект представляет собой замедление скорости появления глюкозы в крови после еды. Амилин также снижает секрецию глюкагона поджелудочной железой. Роль глюкагона в организме представляет собой, помимо прочего, предотвращение слишком низкого уровня глюкозы в крови. Это важно, потому что определенные больные диабетом 1 типа, например, подвержены выделению избыточных количеств глюкагона, поднимающего глюкозу в крови сразу после приема пищи.

По многочисленным причинам, амилин человека, имеющий период полужизни в сыворотке около 13 минут, не поддается применению в качестве терапевтического агента. Скорее, прамлинтид был разработан как синтетический аналог человеческого амилина (т.е. агонист амилиновых рецепторов) для лечения пациентов с диабетом 1 или 2 типа, которые используют инсулин во время приема пищи, но не могут достичь желаемого гликемического контроля, несмотря на оптимальную инсулинотерапию. Прамлинтид отличается от амилина человека в 3 из 37 аминокислот. Эти модификации снижают его склонность к агрегации, характерной для человеческого амилина.

Для лечения больных диабетом 1 типа прамлинтид вводят до четырех раз в сутки, посредством подкожной инъекции перед приемом пищи, в качестве добавки к инсулинотерапии, вводимой после приема пищи. Прамлинтид не может быть смешан с инсулином; при этом используются отдельные шприцы. Сообщенные побочные эффекты прамлинтида включают тошноту и рвоту. Нежелательные реакции могут включать серьезную гипогликемию, особенно у больных диабетом 1 типа. Следовательно, дозировка инсулина во время приема пищи снижается для пациентов, которые инициируют введение прамлинтида.

Соответственно, существует потребность в усовершенствованных способах введения полипептидов аналогов амилина в сочетании с инсулином для обеспечения улучшенного гликемического контроля у больных диабетом 1 типа и, в частности, для предотвращения начала индуцированной инсулином гипогликемии (включая ятрогенную гипогликемию).

Сущность изобретения

Заявители обнаружили ряд потенциальных решений для улучшения лечения диабета 1 типа, как описано в данном документе:

В частности, заявители обнаружили схемы лечения, которые переносят так называемую «нагрузку на лечение» (как определено ниже) для контроля уровня глюкозы у больных диабетом 1 типа с инсулина на агонист амилина. По существу, способы в данном документе описывают способы (i) непрерывного введения и (ii) высокой терапевтически эффективной дозы аналога амилина. Путем обеспечения диабетика 1 типа непрерывным введением и высокой терапевтически эффективной дозой аналога амилина требуется меньшее количество инсулина для контроля концентрации сахара в крови и увеличения времени пребывания в диапазоне для пациента (т.е. у 1 пациента с диабетом поддерживается концентрация глюкозы в сыворотке приблизительно от 70 мг/дл до 180 мг/дл.) Таким образом, более низкие дозы инсулина могут быть введены отдельно, поскольку контроль уровня глюкозы в крови в значительной степени обеспечивается агонистом амилина.

Непрерывное введение аналога амилина: Например, для достижения непрерывного введения аналог амилина вводят пациенту через имплантируемое (например, осмотическое) или неимплантируемое (внешний инфузионный насос) устройство для доставки лекарственного средства. Аналоги амилина короткого действия (например, прамлинтид) или аналоги амилина длительного действия (например, соединение A2, описанное в данном документе) можно вводить пациенту с помощью имплантируемого (например, осмотического) или неимплантируемого (внешний инфузионный насос) устройства доставки лекарственного средства для достижения непрерывного введения. Кроме того, постоянное присутствие аналога амилина длительного действия (например, соединения A2) также может быть достигнуто у пациента путем введения посредством нечастых (например, один раз в неделю) инъекций.

Используемый в данном документе термин «аналог амилина короткого действия» имеет период полувыведения ($t_{1/2}$) двенадцать часов или менее, а «аналог амилина длительного действия» имеет период полувыведения ($t_{1/2}$) более двенадцати часов.

Высокая терапевтически эффективная доза аналога амилина: Предложены способы введения пациенту аналога амилина в «высокой» терапевтически эффективной дозе, например по меньшей мере 5 мкг на килограмм в сутки. В некоторых вариантах осуществления предложены способы введения пациенту аналога амилина в высокой терапевтически эффективной дозе, составляющей по меньшей мере 10 мкг на килограмм в сутки, 50 мкг на килограмм в сутки или 100 мкг на килограмм в сутки.

Альтернативно, высокая терапевтически эффективная доза аналога амилина достигается при введении дозы, соответствующей по меньшей мере дозе ED70 агониста амилина. В некоторых вариантах осуществления способы по данному изобретению используют терапевтически эффективную дозу, которая составляет по меньшей мере ED75, ED80, ED85, ED90 или ED95 дозы агониста амилина.

Используемый в данном документе термин «доза ED70» (или доза ED75, ED80, ED85, ED90 или ED95) относится к режиму дозирования, который приводит к концентрации лекарственного средства в плазме, достаточной для активации амилиновых рецепторов, также называемой в данном документе амилиновым ответом(ами), до уровня, который составляет 70% (или 75%, 80%, 85%, 90% или 95% соответственно) от максимально достижимого ответа. В некоторых вариантах осуществления аналог амилина представляет собой агент, который активирует гетеродимерный рецептор, состоящий из рецептора кальцитонина и RAMP3 (пептида 3, модулирующего активность рецептора), также известного как рецептор амилина 3. В некоторых вариантах осуществления рецептор амилина-3 представляет собой рецептор амилина-3 человека.

Известные способы лечения диабета 1 типа инсулином и агонистом амилина (прамлинтидом) в этом отношении несовершенны, поскольку такие способы не обеспечивают (i) непрерывного введения аналога амилина (например, с помощью имплантируемого или неимплантируемого устройства доставки лекарственного средства), а также они не обеспечивают (ii) высокую терапевтически эффективную дозу аналога амилина (например, по меньшей мере 5 мкг на килограмм в сутки; или терапевтически эффективную дозу, которая составляет по меньшей мере дозу ED70 агониста амилина).

В частности, были обнаружены способы введения аналогов амилина человека, которые обеспечивают относительно продолжительное стационарное воздействие аналога амилина для обеспечения улучшенного гликемического контроля у больных диабетом 1 типа по сравнению с (i) только инсулинотерапией или (ii) инсулинотерапией в сочетании с ежедневным (или до 4 раз в сутки) инъекционным введением аналога амилина человека короткого действия, такого как прамлинтид (Symlin®, разработанный Amylin Pharmaceuticals, Inc., Сан-Диего, Калифорния, США и продаваемый AstraZeneca plc, Кембридж, Великобритания). В соответствии со способами, раскрытыми в данном документе, относительно непрерывное стационарное воздействие аналогов человеческого амилина достигается (i) введением с помощью имплантируемого устройства доставки лекарственного средства аналога амилина длительного действия (такого как соединение A2, описанное в данном документе) или короткодействующего аналога амилина (такого как прамлинтид) или (ii) введение посредством нечастой (например, один раз в неделю) инъекции аналога амилина длительного действия, такого как соединение A2.

Таким образом, в данном изобретении предложены способы поддержания гликемического контроля (например, поддержания нормогликемии) у нуждающихся в этом больных диабетом 1 типа и, в частности, предотвращения (или сведения к минимуму вероятности) начала индуцированной инсулином гипогликемии (включая ятрогенную

гипогликемию).

В одном аспекте данного изобретения предложен способ поддержания гликемического контроля (например, поддержания нормогликемии или лечения ятрогенной гипогликемии) у больных диабетом 1 типа, включающий: непрерывное введение высокой терапевтически эффективной дозы агониста амилина, такого как соединение A2 или прамлинтида, посредством (i) инфузии, (ii) инъекции один раз в неделю, (iii) имплантируемого устройства доставки лекарственного средства или (iv) неимплантируемого устройства доставки лекарственного средства. В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает отдельное введение инсулина, такого как инсулин длительного действия.

Нет известных сообщений о том, что аналог амилина применялся клинически в виде непрерывной инфузии. Вместо этого клиническая доставка представляла собой базальную дозу в сочетании с болюсными дозами, связанными с приемом пищи, причем последние составляли большую часть доставляемого лекарственного средства. Кроме того, современные схемы лечения ориентированы на физиологические концентрации амилина и их соотношение с инсулином, исходя из ограничений, присущих болюсному дозированию амилина.

Несмотря на известную терапевтическую ценность аналогов амилина и комбинаций аналога амилина (например, прамлинтида) и инсулина, существующие способы лечения ограничены в ряде аспектов. В основном, современная амилин-инсулиновая терапия не адекватно переносит бремя контроля глюкозы на чувствительную к глюкозе передачу сигналов, опосредованную аналогом амилина. Кроме того, современные способы лечения ограничиваются неприятным болюсным введением и сопутствующими побочными эффектами (например, тошнотой), а также необходимостью тщательного мониторинга уровня глюкозы в крови. Соответственно, в данной области техники существует потребность в улучшенных способах введения аналогов амилина, особенно в сочетании с инсулином, для обеспечения лучшего контроля гликемии и терапевтических результатов.

Краткое описание графических материалов

На **фиг. 1** показано описанное в примере 1, кумулятивное распределение значений уровня глюкозы в крови до (черная линия) и после (красная линия) лечения СТЗ. Значения после СТЗ относились к животным, получавшим инсулин Левемир, ~1, 2 или 6 ЕД/день, n=5. Диапазон 70-180 мг/дл показан вертикальными пунктирными линиями. 98,5% значений до СТЗ попали в диапазон (TIR=98,8%). Значение после СТЗ, получавшего Левемир 2 ЕД/день, составило 64,9%; 5,8% значений были <70 мг/дл.

На **фиг. 2** показано, что амилин (или аналог амилина) и инсулин разделяют бремя контроля уровня глюкозы в плазме. Амилин (или аналог амилина) обеспечивает уникальную возможность контроля уровня глюкозы в плазме, которая активна только в периоды повышенного уровня глюкозы в плазме. При достаточно высокой дозе аналога амилина глюкозозависимые эффекты агонизма амилина смогут заменить

глюкозозависимые эффекты инсулина. Соответственно, результирующая сниженная потребность в инсулине уменьшит риск «превышения» дозы инсулина и ее непреднамеренных последствий для пациентов с гипогликемией, вызванной лечением.

На **фиг. 3** показана терапевтическая цель раскрытых способов лечения, такая как уменьшение эпизодов гипогликемии. Микроваскулярные преимущества более низкого среднего уровня глюкозы не были достижимы с помощью одобренных FDA в настоящее время методов лечения, отчасти из-за начинающейся ятрогенной гипогликемии от болюсного инсулина. Более низкая склонность к гипогликемии позволит снизить гликемическое равновесие.

На **фиг. 4** показана терапевтическая цель раскрытых способов лечения, такая как снижение отклонений уровня глюкозы. Агонизм амилина предлагает способы регуляции глюкозы, которые отличаются от тех, которые достигаются с помощью инсулина. Важно отметить, что действие амилина зависит от глюкозы.

На **фиг. 5** показаны определенные преимущества непрерывной доставки аналога амилина длительного действия (т.е. агониста), вводимого через имплантированное устройство (например, осмотический мининасос) в сочетании с дополнительной терапией инсулином. *Согласно типичному профилю*, требуются многократные ежедневные инъекции аналога инсулина и амилина. Дозировку титруют от приема пищи в зависимости от уровня глюкозы. Относительно высокое соотношение инсулина к аналогу амилина возлагает терапевтическую нагрузку на глюкозо-независимый инсулин. По *разработанному профилю* доставляются фиксированные дозы: (i) аналог амилина короткого или длительного действия с помощью имплантированного устройства (например, осмотического мини-насоса) или (ii) аналог амилина длительного действия с помощью нечастых (например, еженедельных) инъекций. Относительно более низкие дозы инсулина могут снизить риск побочных эффектов, таких как гипогликемия. Относительно высокое соотношение аналога амилина и инсулина возлагает терапевтическую нагрузку на глюкозозависимый гормон амилин.

На **фиг. 6** представлен план клинического исследования для сравнения инъекций и инфузий прамлинтида (постоянное введение). «ПК» означает посещение клиники для загрузки данных и обучения субъекта. «ФК» означает сбор образца ФК прамлинтида. Контакт с пациентом должен быть запланирован по мере необходимости в течение каждого периода титрования.

Подробное описание

Общее описание определенных вариантов осуществления изобретения

Данное изобретение относится к способам применения аналогов амилина для лечения метаболических заболеваний или нарушений, таких как диабет 1 и 2 типа, ожирение, и способам обеспечения снижения веса.

Определения

Понятно, что использованная в данном документе терминология предназначена исключительно для описания конкретных вариантов осуществления изобретения и не

предназначена для ограничения объема описания. Использование в данном описании и в прилагаемой формуле изобретения форм единственного числа включает ссылку на множественное число, если в контексте явно не указано иное. Так, например, ссылка на «растворитель» включает в себя комбинацию из двух или большего количества таких растворителей, ссылка на «пептид» включает в себя один или несколько пептидов или смесь пептидов, ссылка на «препарат» включает в себя один или несколько препаратов, ссылка на «осмотическое устройство доставки» включает в себя одно или более осмотических устройств доставки, и тому подобное. Если специально не оговорено или не очевидно из контекста, при использовании в данном документе термин «или» понимается как включительный и охватывает как «или», так и «и».

Если специально не оговорено или не очевидно из контекста, при использовании в данном документе термин «около» понимается как «в пределах диапазона нормального допуска» в данной области техники, например, в пределах 2 стандартных отклонений от среднего значения. «Около» или «приблизительно» можно понимать как в пределах 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1%, 0,5%, 0,1%, 0,05%, или 0,01% от указанного значения. Если иное ясно из контекста, все числовые значения, представленные в данном документе, модифицированы термином «около» или «приблизительно».

Если специально не оговорено или не очевидно из контекста, при использовании в данном документе термин «по существу» понимается как «в узком диапазоне изменения» или иным образом в пределах нормального допуска в данной области техники. По существу, можно понимать как в пределах 5%, 4%, 3%, 2%, 1%, 0,5%, 0,1%, 0,05%, 0,01% или 0,001% от указанного значения.

Если не определено иное, все технические и научные термины, используемые в настоящем документе, имеют такое же значение, которое обычно понимается обычным специалистом в области техники, к которой относится изобретение. Хотя в практике настоящего изобретения могут быть использованы другие способы и материалы, аналогичные или эквивалентные описанным в данном документе, описанные в данном документе материалы и способы являются предпочтительными.

Будет использоваться следующая терминология в соответствии с определениями, изложенными ниже.

Термины «нагрузка» и «терапевтическая нагрузка», используемые в данном документе, относятся к контролю концентрации глюкозы в плазме у пациента с диабетом. Существующие основанные на инсулине способы лечения диабета 1 типа возлагают терапевтическую нагрузку на инсулин для достижения контроля концентрации глюкозы в плазме с риском слишком низкого падения глюкозы в плазме и возникновения гипогликемии. В качестве альтернативы, в соответствии со способами, раскрытыми в данном документе, инсулин и аналог амилина вводят отдельно одновременно пациенту с диабетом 1 типа, и при этом аналог амилина вводят в терапевтически эффективной дозе, равной или превышающей дозу ED70 агониста амилина, терапевтическая нагрузка смещается на глюкозозависимый гормон амилин. Способы, описанные в данном

документе, снижают терапевтическую нагрузку при совместном введении инсулина, что позволяет использовать относительно более низкие и более безопасные дозы инсулина, снижая риск развития гипогликемии у пациента.

Термины «лекарственное средство», «терапевтический агент» и «полезное вещество» используются взаимозаменяемо для обозначения любого терапевтически активного вещества, которое доставляется субъекту для получения желаемого положительного эффекта. В одном из вариантов осуществления данного изобретения препарат представляет собой полипептид. В другом варианте осуществления данного изобретения препарат представляет собой малую молекулу, например, гормоны, такие как андрогены или эстрогены. Устройства и способы по данному изобретению хорошо подходят для доставки белков, малых молекул и их комбинаций.

Термины «пептид», «полипептид» и «белок» используются в данном документе взаимозаменяемо и обычно относятся к молекуле, содержащей цепь из двух или более аминокислот (например, наиболее типично, L-аминокислот, но также включая, например, D-аминокислоты, модифицированные аминокислоты, аналоги аминокислот и миметики аминокислот).

Концевая аминокислота на одном конце пептидной цепи, как правило, имеет свободную аминогруппу (например, амино-конец). Концевая аминокислота на другом конце цепи, как правило, имеет свободную карбоксильную группу (например, карбокси-конец). Как правило, аминокислоты, образующие пептид, пронумерованы в порядке начиная с амино-конца с увеличением значений в направлении карбокси-конца пептида.

Фраза «аминокислотный остаток», используемая в данном описании, относится к аминокислоте, которая включена в пептид посредством амидной связи или миметика амидной связи.

Используемый в данном документе термин «HbA1c» относится к гликированному гемоглобину. Он развивается, когда гемоглобин, белок в эритроцитах, который переносит кислород по всему телу, соединяется с глюкозой в крови, становясь «гликированным». Измеряя гликированный гемоглобин (HbA1c), клиницисты могут получить общую картину того, каким был средний уровень сахара в крови в течение нескольких недель/месяцев. Для людей с диабетом это важно, поскольку чем выше уровень HbA1c, тем выше риск развития осложнений, связанных с диабетом. HbA1c также называют гемоглобином A1c или просто A1c.

Термин «инсулинотропный», используемый в данном описании, как правило, относится к способности соединения, например, пептида, стимулировать или влиять на производство и/или активность инсулина (например, инсулинотропное соединение). Такие соединения, как правило, стимулируют или иным образом влияют на секрецию или биосинтез инсулина у субъекта. Таким образом, «инсулинотропный пептид» представляет собой молекулу, содержащую аминокислоту, способную стимулировать или иным образом влиять на секрецию или биосинтез инсулина.

Термин «инсулинотропный пептид», используемый в данном документе, включает,

но не ограничиваясь ими, глюкагон-подобный пептид 1 (GLP-1), а также его производные и аналоги, агонисты рецептора GLP-1, такие как эксенатид.

Используемая в данном документе фраза «миметики инкретина» включает, но не ограничивается ими, пептид GLP-1, агонисты рецептора GLP-1, пептидные производные GLP-1 и пептидные аналоги GLP-1. Инкретиновые миметики также упоминаются в данном документе как «инсулинотропные пептиды».

Термин «GLP-1» относится к полипептиду, который вырабатывается L-клетками, расположенными в основном в подвздошной кишке и ободочной кишке, и в меньшей степени L-клетками в двенадцатиперстной кишке и тощей кишке. GLP-1 представляет собой регуляторный пептид, который связывается с внеклеточной областью рецептора GLP-1 (GLP-1R), рецептора G-связанного белка на β -клетках и посредством аденилциклазной активности и выработки цАМФ стимулирует ответ инсулина на питательные вещества, которые всасываются из кишечника [Baggio 2007, “Biology of incretins: GLP-1 and GIP,” *Gastroenterology*, vol. 132(6):2131-57; Holst 2008, “The incretin system and its role in type 2 diabetes mellitus,” *Mol Cell Endocrinology*, vol. 297(1-2):127-36]. Эффекты агонизма GLP-1R является множественным. GLP-1 поддерживает гомеостаз глюкозы путем усиления зависимой от эндогенной глюкозы секреции инсулина, способствует компетентности и чувствительности β -клеток к глюкозе с завлечением GLP-1, подавляет высвобождение глюкагона, восстанавливает секрецию инсулина во время первой и второй фазы, замедляет опорожнение желудка, снижает потребление пищи, а также увеличение сытости [Holst 2008 *Mol. Cell Endocrinology*; Kjems 2003 “The influence of GLP-1 on glucose- stimulated insulin secretion: effects on beta-cell sensitivity in type 2 and nondiabetic subjects,” *Diabetes*, vol. 52(2): 380-86; Holst 2013 “Incretin hormones and the satiation signal,” *Int J Obes (Lond)*, vol. 37(9):1161-69; Seufert 2014, “The extra-pancreatic effects of GLP-1 receptor agonists: a focus on the cardiovascular, gastrointestinal and central nervous systems,” *Diabetes Obes Metab*, vol. 16(8): 673-88]. Риск гипогликемии минимален, учитывая способ действия GLP-1. Одним примером агониста рецептора GLP-1 является Victoza® (Novo Nordisk A/S, Bagsvaerd D K) (лираглутид; патенты США №№ 6,268,343, 6,458,924 и 7,235,627). Вводимый раз в день инъекционный препарат Виктоза® (лираглутид) является коммерчески доступным в соединенных Штатах, Европе и Японии. Другим примером агониста рецептора GLP-1 является Ozempic® или Rybelsus® (Novo Nordisk A/S, Bagsvaerd D.K.) (семаглутид, препараты для инъекций и для перорального введения, соответственно). Еще одним примером агониста рецептора GLP-1 является эксенатид. Для простоты ссылки, семейство агонистов рецептора GLP-1, пептидов GLP-1, пептидные производные GLP-1 и пептидные аналоги GLP-1, обладающие инсулинотропной активностью, называют общим термином «GLP-1».

Используемый в данном документе термин «амилин» относится к пептидному гормону человека, состоящему из 37 аминокислот, который совместно с инсулином секретируется β -клетками поджелудочной железы. Амилин человека имеет следующую аминокислотную последовательность (трехбуквенный код): Lys-Cys-Asn-Thr-Ala-Thr-Cys-

Ala-Thr-Gln-Arg-Leu-Ala-Asn-Phe-Leu-Val-His-Ser-Ser-Asn-Asn-Phe-Gly-Ala-Ile-Leu-Ser-Ser-Thr-Asn-Val-Gly-Ser-Asn-Thr-Tyr (SEQ ID NO:5). Таким образом, структурная формула представляет собой Lys-Cys-Asn-Thr- Ala-Thr-Cys-Ala-Thr-Gln-Arg-Leu-Ala-Asn-Phe-Leu-Val-His-Ser-Ser-Asn-Asn-Phe-Gly-Ala-Ile-Leu-Ser-Ser-Thr-Asn-Val-Gly-Ser-Asn-Thr-Tyr-NH₂ (SEQ ID NO: 5) с дисульфидным мостиком между двумя остатками Cys и амидной группой, присоединенной к С-концевой аминокислоте посредством пептидной связи. Термин «амилин» также включает варианты амилина, присутствующие в других видах млекопитающих и в выделяемой форме. Что касается встречающегося в природе соединения амилина, этот термин включает такое соединение в выделенной, очищенной или другой форме, которая иначе не встречается в природе.

Используемый в данном документе термин «агонист» используется в самом широком смысле и включает любую молекулу, которая имитирует биологическую активность нативного полипептида, описанного в данном документе. Подходящие молекулы-агонисты, в частности, включают антитела-агонисты или фрагменты антител, фрагменты или варианты аминокислотной последовательности нативных полипептидов, пептидов, малых органических молекул и т. д. Способы идентификации агонистов нативного полипептида могут включать приведение в контакт нативного полипептида с молекулой-кандидатом-агонистом и измерение обнаруживаемое изменение одной или более биологических активностей, обычно связанных с нативным полипептидом.

Используемые в данном документе термины «аналог амилина» и «агонист рецептора амилина» используются в данном документе взаимозаменяемо и относятся к соединению, которое имитирует один или более эффектов (или активности) амилина *in vitro* или *in vivo*. Эффекты амилина включают способность прямо или косвенно взаимодействовать или связываться с одним или более рецепторами, которые активируются или деактивируются амилином. Например, используемые в данном документе агонисты амилина представляют собой соединения, аминокислотная последовательность которых на по меньшей мере 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 или 99% идентична SEQ ID NO: 5 и обладает активностью амилина. Агонисты амилина включают амилин человека, амилины млекопитающих, амилины позвоночных, амилины грызунов, производные амилина, описанные в патенте США № 5656590, CGRP и аналоги, кальцитонины птиц, кальцитонины костистых рыб, включая кальцитонины лосося и угря, кальцитонины, описанные в патенте США № 5321008, давлитид, прамлитид и другие композиции аналогов амилина, описанные в патенте США № 7271238, композиции, описанные в патенте США № 6610824, композиции, заявленные в патенте США № 8497347, композиции, заявленные в заявке на патент США 2012/0046224, патенте США № 9023789, патенте США № 8486890, патенте США № 8575091, патенте США № 8895504, патенте США №8114958 и публикации патентных заявок США 2012/0046224, 2011/0105394, 2011/0152183, 2010/0222269 и 2009/0099085.

Используемые в данном документе термины «аналог», «аналоги» или «аналог-агонист» амилина относятся к соединению, которое сходно по структуре (например,

получено из первичной аминокислотной последовательности амилина путем замены одной или более природных или неприродных аминокислот или пептидомиметиков) амилину и имитирует действие амилина *in vitro* или *in vivo*. Используемый в данном документе термин «агонист амилина» относится к аналогу амилина.

Используемый в данном документе аналог амилина включает, например, амилин, имеющий вставки, делеции и/или замены по меньшей мере в одном или более аминокислотных положениях в SEQ ID NO: 5. Количество аминокислотных вставок, делеций или замен может быть по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6 или 10. Вставки или замены могут быть с другими природными или неприродными аминокислотами, синтетическими аминокислотами, пептидомиметиками или другими химическими соединениями. Агонисты амилина включают человеческий амилин, амилины позвоночных, производные амилина, описанные в патенте США № 5656590, пептид, родственный гену кальцитонина (CGRP) и аналоги, кальцитонины птиц, кальцитонины костистых рыб, включая кальцитонины лосося и угря, кальцитонины, описанные, например, в патенте США № 5321008, патент США № 8486890, прамлинтид, Symlin® и другие композиции аналогов амилина, описанные, например, в патенте США № 7271238, патенте США № 5321008, патенте США № 5367052, композиции заявленные, например, в патенте США № 8497347, композиции заявленные, например, в заявке на патент США с № 12/601884.

Используемый в данном документе термин «производное» амилина относится к амилину, который химически модифицирован, т.е. путем введения боковой цепи в одно или более положений остова амилина, или путем окисления или восстановления групп аминокислотных остатков в амилине, или путем превращения свободной карбоксильной группы в сложноэфирную группу или в амидную группу. Другие производные получают путем ацилирования свободной аминогруппы или гидроксигруппы.

Как более подробно описано ниже, в некоторых вариантах осуществления полипептиды аналога амилина, раскрытые в данном документе, предложены в способах лечения диабета 1 типа, в качестве дополнения к лечению инсулином.

Термин «инсулин», используемый в данном документе, относится к инсулину человека или любым аналогам инсулина. Иллюстративные неограничивающие аналоги инсулина включают приведенные в таблице 1:

Таблица 1: Иллюстративные аналоги инсулина

Тип инсулина и торговое наименование	Начало	Пик	Длительность	Роль в контроле сахара в крови
«Ультра» быстродействующий				
Fiasp® (аспарт)	на около 5 минут раньше, чем <i>быстродействующие инсулины</i>	1-3 часа	3-5 часа	
Быстродействующий (попадает в кровоток в течение нескольких минут, для инъекций в пределах от 5 до 10 минут приема пищи; пиковый период действия 60-120 минут и подвергается клиренсу примерно через четыре часа; используется в непрерывной подкожной инфузии инсулина)				
Humalog® от Lilly (лиспро)	15-30 мин.	30-90 мин	3-5 часа	Быстродействующе ие инсулины охватывают потребности в инсулине, применяемом вместе с приемом пищи в качестве инъекции. Этот тип инсулина часто используется с более длительно действующим инсулином.
Novolog® от Novo (аспарт)	10-20 мин	40-50 мин	3-5 часа	
Apidra® от Sanofi (глулисин)	20-30 мин	30-90 мин	1-2 1/2 часов	
Admelog® от Sanofi (лиспро)	15-30 мин.	30-90 мин	3-5 часа	
Кратковременного действия				
Novolin® от Novo (рекомбинантны й инсулин)	30 мин -1 час	2-5 часа	5-8 часа	Инсулины кратковременного действия охватывают потребности инсулина,
velosulin	30 мин -1 час	1-2 часа	2-3 часа	

(инсулин человека для применения в инсулиновой помпе)				применяемого с пищей, в течение 30-60 минут.
Промежуточного действия				
Инсулин нейтральный протамин Хагедорна (NPH)	1-2 часа	4-12 часа	18-24 часа	Инсулин промежуточного действия охватывает необходимость инсулина в течение примерно половины дня или в течение ночи. Этот тип инсулина часто сочетается с быстродействующим инсулином или инсулином краткосрочного действия.
Долгосрочного действия (подходит для фоновое или исходного замещения инсулина)				
Basaglar® от Lilly (100 ед/мл); Sanofi's Lantus® (100 ед/мл) и Toujeo® (300 ед/мл) (инсулин гларгин) Обычно вводится один раз в сутки, но может быть	1-1 1/2 часов	Отсутствие пикового времени. Доставляет ся на устойчиво м уровне.	20-24 часа	Инсулины длительного действия охватывают потребности в инсулинах на около одни полные сутки. Этот тип часто комбинируется, при

введен два раза в сутки. Инсулин гларгин агрегируется в кластеры при введении. Отдельные инсулиновые агрегаты отделяют от кластера, для поглощения в кровотока. Медленный распад этих кластеров вносит вклад в инсулин гларгин длительного действия.				необходимости, с быстродействующим инсулином или инсулином короткосрочного действия.
Levemir® от Novo (инсулин детемир) Подходит для введения два раза в сутки. Инсулин детемир поглощается в кровотока, связывает сывороточный альбумин человека (ЧСА) и обеспечивает относительно	1-2 часа	6-8 часа	До 24 часов	

устойчивые концентрации, в течение от 12 до 24 часов, низкие уровни несвязанного или «свободного» детемира.				
Tresiba® от Novo (инсулин деглюдек)	30-90 мин	Отсутствие пикового времени	42 часа ***	
Предварительно смешанные* инсулины				
Humulin® 70/30 от Lilly	30 мин.	2-4 часа	14-24 часа	Эти продукты, как правило, принимают два или три раза в сутки перед приемом пищи.
Novolin® 70/30 от Novo	30 мин.	2-12 часа	До 24 часов	
Novolog® 70/30 от Novo	10-20 мин	1-4 часа	До 24 часов	
Humulin® 50/50 от Lilly	30 мин.	2-5 часа	18-24 часа	
Humalog® mix 75/25 от Lilly	15 мин	30 мин -2 1/2 часа	16-20 часа	
*Предварительно смешанные инсулины сочетают в себе инсулин промежуточного действия и быстродействующий инсулин в одной дозе или ручке инсулина. (Числа после торговой марки обозначают процент каждого типа инсулина.)				
Комбинации рецептора агониста инсулин/GLP-1				
Xultophy® от Novo (инсулин деглюдек 100 ед/мл и лираглутид 3,6 мг/мл)	30-90 мин	Отсутствие пикового времени	42 часа	
Soliqua® от	1-1 1/2 часов	Отсутствие	20-24 часа	

Sanofi (инсулин гларгин 100 ед/мл и ликсисенадид 33 мкг/мл)		пикового времени		
---	--	---------------------	--	--

В контексте данного документа термин «инсулин для применения во время приема пищи», относится к составу быстродействующего инсулина, который достигает пиковой концентрации в крови через приблизительно 45-90 минут и пиковую активность приблизительно от 1 до 3 часов после введения, и его вводят во время приема пищи или в ближайшее время с ним.

Специалистам в данной области техники будет понятно, что приведенные выше термины «инсулин» и «амилин» могут быть истолкованы в широком смысле и включать любой полипептид или другой химический класс, обладающий описанной выше желаемой биологической активностью *in vitro* или *in vivo*, которая стимулирует или подавляет, соответственно, включение глюкозы в гликоген в любой из многих тест-систем, в том числе в камбаловидной мышце крысы. Кроме того, такие лица признают, что полипептид может быть предоставлен в форме, которая существенно не влияет на желаемую биологическую активность полипептида. Например, как описано в патенте США № 5124314 или патенте США № 5641744, амилин может быть получен в растворимой форме.

Термин «пептид, регулирующий глюкозу», используемый в данном документе, относится к любому пептиду, который контролирует метаболизм глюкозы, включая уровни в сыворотке, глюконеогенез, расщепление глюкозы, поглощение глюкозы, хранение глюкозы и высвобождение глюкозы. Репрезентативные пептиды, регулирующие уровень глюкозы, включают амилин и инсулин и их аналоги, раскрытые в данном документе.

Термин «нормогликемия» (или «эугликемия»), используемый в данном документе, означает нормальную концентрацию глюкозы в крови или плазме пациента. Используемый в данном документе термин нормогликемия может относиться к диапазону концентраций глюкозы в крови (нормогликемический диапазон), наблюдаемому у здоровых людей. Специалисты в данной области распознают вариации нормогликемического диапазона в зависимости от рассматриваемого индивида или популяции пациентов.

Используемый в данном документе термин «эффективное» количество или «терапевтически эффективное количество» пептида относится к нетоксичному, но достаточному количеству пептида для обеспечения желаемого эффекта. Например, одним желаемым эффектом может быть предотвращение или лечение гипогликемии, измеряемой, например, повышением уровня глюкозы в крови. Альтернативный желаемый эффект для пептидов по данному изобретению может включать лечение гипергликемии, например, определяемое по изменению уровня глюкозы в крови ближе к нормальному, или индуцирование потери массы тела/предотвращение увеличения массы тела, например,

определяемое по снижению массы тела, или предотвращение или уменьшение увеличения массы тела, или нормализация распределения жира в организме. Количество, которое является «эффективным», будет варьировать от субъекта к субъекту, в зависимости от возраста и общего состояния индивида, способа введения и т.п. Таким образом, не всегда возможно указать точное количественно «эффективное количество». Однако подходящее «эффективное количество» в каждом отдельном случае может быть определено специалистом в данной области с помощью стандартных экспериментов.

Как используется в данном документе, термины «лечение», «лечить» и «лечащий» относятся к обращению вспять, облегчению, отсрочке начала или подавлению прогрессирования заболевания или нарушения или одного или нескольких их симптомов, как описано в данном документе. В некоторых вариантах реализации лечение можно применять после развития одного или более симптомов. В других вариантах реализации лечение можно применять в отсутствие симптомов. Например, лечение можно применять в отношении пациента с предрасположенностью до начала симптомов (например, с учетом анамнеза симптомов и/или с учетом генетических или других факторов предрасположенности). Лечение также можно продолжать после устранения симптомов, например, для предотвращения или замедления их рецидива.

Термин «имплантируемое устройство доставки», используемый в данном документе, обычно относится к устройству доставки, которое полностью имплантируется под поверхность кожи субъекта для осуществления введения лекарственного средства.

Репрезентативные имплантируемые устройства доставки включают Hydron® Implant Technology от Valera Pharmaceuticals, Inc.; имплантат NanoGATE™, от iMEDD Inc.; имплантируемая помпа MIP или DebioStar™ технология доставки лекарств, от Debiotech S.A.; Prozor™, Nanopor™ или Delos Pump™, от Delpor Inc.; или имплантируемое устройство осмотической доставки, например, ITCA-0650, от Intarcia Therapeutics, Inc.

Термины «осмотическое устройство доставки» и «имплантируемое осмотическое устройство доставки» используются в данном документе взаимозаменяемо и обычно относятся к устройству, используемому для доставки лекарственного средства субъекту, при этом устройство содержит, например, резервуар (изготовленный, например, из титановый сплав), имеющий полость, которая содержит состав суспензии, содержащий лекарственное средство и состав осмотического агента. Поршневой узел, расположенный в просвете, изолирует состав в виде суспензии от состава осмотического вещества. Полупроницаемая мембрана, расположенная на первом дистальном конце резервуара, примыкает к составу осмотического вещества; замедлитель диффузии (который определяет отверстие доставки, через которое состав в виде суспензии выходит из устройства) расположен на втором дистальном конце резервуара и примыкает к составу в виде суспензии. Как правило, осмотическое устройство доставки имплантируется субъекту, например, субдермально или подкожно (*например*, во внутреннюю часть, наружную часть или заднюю часть верхней плеча и в области живота). Примером

осмотического устройства доставки является устройство доставки DUROS® (ALZA Corporation, Mountain View, CA). Примеры синонимов терминов «осмотическое устройство доставки» включают, но не ограничиваются ими, «осмотическое устройство доставки лекарственного средства», «осмотическая системой доставки лекарственного средства», «осмотическое устройство», «осмотическое устройство доставки», «осмотическая система доставки», «осмотический насос» «имплантируемое устройство для доставки препаратов», «система доставки препаратов», «устройство для доставки препаратов», «имплантируемый осмотический насос», «имплантируемая система доставки препаратов» и «имплантируемая система доставки». Другие термины для «осмотического устройства доставки» известны в данной области техники.

Как правило, для осмотической системы доставки объем камеры, содержащей лекарственный состав, составляет от около 100 мкл до около 1000 мкл, более предпочтительно от около 140 мкл до около 200 мкл. В одном варианте осуществления изобретения объем камеры, содержащей препарат, составляет около 150 мкл.

Используемый в данном документе термин «неимплантируемое устройство доставки» обычно относится к устройству доставки, включая «неимплантируемый миниатюрный накладной насос», имеющий определенные компоненты, которые не имплантируются под поверхность кожи субъекта для воздействия на введение лекарственного средства.

Типичные неимплантируемые устройства доставки (например, накладные насосы) включают Omnipod®, от Insulet Corp.; Solo™, от Medingo; Finesse™, от Calibra Medical Inc.; насос Cellnovo, от Cellnovo Ltd.; устройство CeQur™, от CeQur Ltd.; Freehand™, от MedSolve Technologies, Inc.; насос Medipacs pump, от Medipacs, Inc.; насос Medtronic и MiniMed Paradigm, от Medtronic, Inc.; Nanopump™, от Debiotech S.A. и STMicroelectronics; NiliPatch pump, от NiliMEDIX Ltd.; PassPort®, от Altea Therapeutics Corp.; накладной насос SteadyMed, от SteadyMed Ltd.; V-Go™, от Valeritas, Inc.; Finesse, от LifeScan; JewelPUMP™, от Debiotech S.A.; накладной насос SmartDose Electronic, от West Pharmaceutical Services, Inc.; SenseFlex FD (одноразовый) или SD (полуодноразовый), от Sensile Medical A.G.; Asante Snap, от Bigfoot Biomedical; PicoSulin device, от PicoSulin; и Animas® OneTouch Ping Pump, от Animas Corp.

В некоторых вариантах осуществления неимплантируемый миниатюрный накладной насос представляет собой, например, JewelPUMP™ (Debiotech S.A.), помещаемый на поверхность кожи. Дозирование устройством JewelPUMP™ является регулируемым и программируемым. JewelPUMP™ основано на микроэлектромеханической системе (MEMS) интегрированной и сверхточной технологии одноразовых насосов-чипов. JewelPUMP™ представляет собой миниатюрный накладной насос с одноразовым блоком, имеющим полезную нагрузку для введения соединения. Одноразовый блок заполняется соединением один раз и выбрасывается после использования, в то время как блок управления (включая электронику) можно использовать в течение 2 лет с несколькими одноразовыми блоками. В некоторых

вариантах осуществления JewelPUMP™ съемный, водонепроницаемый для купания и плавания, включает в себя кнопки прямого доступа к болюсу и незаметный вибрационный и звуковой сигнал на накладном насосе. В некоторых вариантах осуществления JewelPUMP™ управляется дистанционно.

Термин «непрерывная доставка», используемый в данном документе, как правило, относится к по существу, непрерывному высвобождению лекарственного средства из осмотического устройства доставки в ткань вблизи места имплантации, например, в субдермальной и подкожной ткани. Например, осмотическое устройство доставки высвобождает препарат по существу при заданной скорости на основании принципа осмоса. Внеклеточная жидкость поступает в осмотическое устройство доставки через полупроницаемую мембрану непосредственно в осмотический двигатель, который расширяется, приводя в действие поршень при низкой и стабильной скорости движения. Движение поршня выталкивает препарат через отверстие замедлителя диффузии. Таким образом, высвобождение препарата из осмотического устройства доставки происходит с низкой, контролируемой и стабильной скоростью.

Термин «по существу стабильная доставка», используемый в данном документе, как правило, относится к доставке лекарственного средства в целевой концентрации или приближенной к целевой концентрации в течение определенного периода времени, при этом количество лекарственного средства которое доставляется из осмотического устройства доставки, по существу соответствует доставке нулевого порядка. Доставка активного вещества по существу нулевого порядка (например, раскрытого полипептида аналога амилина) означает, что скорость поставки лекарственного средства постоянна и не зависит от лекарственного средства, доступного в системе доставки; например, для доставки нулевого порядка, если скорость поставки лекарственного средства по отношению ко времени изобразить на графике и изображенная линия соответствует данным, то линия имеет наклон около нуля в соответствии с определением с помощью стандартных методов (например, линейной регрессии).

Фраза «период полураспада лекарственного средства», используемая в данном документе, относится к тому, сколько времени понадобится для выведения лекарственного средства из плазмы крови до половины его концентрации. Период полураспада препарата обычно измеряется путем мониторинга снижения уровня препарата при его введении посредством инъекций или внутривенно. Препарат обычно определяют с использованием, например, радиоиммуноанализ (РИА), хроматографического способа анализа, электрохемилюминесцентного (ECL) анализа, иммуноферментного твердофазного анализа (ИФА) или иммуноферментного сэндвич-анализа (сэндвич-ИФА).

Термин «мкг» следует понимать как «микрограммы». Аналогичным образом, термин «мкл» следует понимать как «микролитр», а термин «мкМ» следует понимать как «мкмоль/л».

Термин «сыворотка» предназначен для обозначения любого продукта крови, в

котором может быть обнаружено вещество. Таким образом, термин «сыворотка» включает по меньшей мере цельную кровь, сыворотку и плазму. Например, «количество [вещества] в сыворотке субъекта» будет охватывать «количество [вещества] в плазме субъекта».

Исходный уровень определяются как последняя оценка в день первичного размещения осмотического устройства доставки (содержащего лекарственное средство или плацебо) или до дня первичного размещения.

Эндогенный амилин, связанные пептиды и рецепторы амилина

Амилин человека - полипептидный гормон размером 37 остатков, совместно секретируется с инсулином из β -клеток поджелудочной железы. Потеря функции β -клеток, которая происходит на ранних стадиях заболевания у больных диабетом 1 типа и может проявиться на поздних стадиях заболевания у больных диабетом 2 типа, она приводит к недостаточной секреции инсулина и амилина. Считается, что амилин играет роль в гликемическом регулировании путем замедления опорожнения желудка и способствования сытости, тем самым предотвращая послеобеденные пики уровней глюкозы в крови. Общий эффект представляет собой замедление скорости появления глюкозы в крови после еды.

Аминокислотная последовательность амилина наиболее тесно связана с таковой у пептида, связанного с геном кальцитонина (CGRP). CGRP также имеет одинаково расположенную дисульфидную связь и амидированный С-конец. Это также характерно для кальцитонина, аденомедуллина и аденомедулина 2. Вместе эти пептиды образуют небольшое семейство, объединенное этими характерными чертами. Следовательно, существует степень перекрытия в связывании родственных рецепторов для каждого пептида и фармакологической активности.

Пептиды, как правило, обозначены как пептиды члены семейства кальцитонина (CT), включают пептид, связанный с геном кальцитонина (CGRP), кальцитонин (CT), амилин (AMY), аденомедуллин 1 и аденомедуллин 2/интермедин (ADM1, ADM2 соответственно). Два белка рецептора, сопряженных с G-белком, (рецептор кальцитонина; CTR и рецептор кальцитонин-подобного рецептора; CALCRL) и три белка, модифицирующие активность рецептора, (RAMP1, RAMP2, RAMP3) составляют фармакологически различные рецепторы для всего семейства пептидов (CTR, AMY1, AMY2, AMY3, CGRP, AM1, AM2). Похоже, что есть по меньшей мере пять различных рецепторов, с которыми амилин связывается со значительной аффинностью (AMY1, AMY2, AMY3, CTR, CGRP). CTR димеризирует с RAMP 1, 2 или 3 для восстановления рецепторов AMY1, AMY2 или AMY3 с фармакологией избирательной для амилина по сравнению с кальцитонином. При отсутствии RAMP, фармакология CTR становится кальцитонин селективной по сравнению с амилином. CALCRL, димеризованный с RAMP1, создает CGRP с высокой аффинностью к CGRP и уменьшенной аффинностью для всех других членов семейства пептидов, включая амилин. CALCRL и RAMP2 или RAMP3, восстанавливают фармакологию AM1 и AM2 соответственно с очень низкой

аффинностью к амилину или без нее.

Были разработаны аналоги полипептида амилина, имеющие аффинность связывания с комплексами рецептора амилина. Прамлинтид, например, был разработан Amylin Pharmaceuticals, и утвержден Управлением по надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), в качестве синтетического аналога амилина человека для лечения больных диабетом 1 и 2 типов, которые используют инсулин во время приема пищи, но не могут достичь желаемого гликемического контроля несмотря на оптимальную инсулиновую терапию. Прамлинтид представляет собой амилиномиметичный агент, который имеет по меньшей мере сопоставимую активность с амилином человека. Он также представляет собой полипептид размером 37 аминокислот, и отличается аминокислотной последовательностью от амилина человека путем замены аминокислот на пролин в положениях 25 (аланин), 28 (серин) и 29 (серин). В результате этих замен, прамлинтид растворим, неприлипающий и неагрегирующий, тем самым преодолевается ряд физико-химических недостатков нативного амилина человека. Период полужизни прамлинтида составляет около 48 минут у людей, дольше, чем у нативного амилина человека (около 13 минут). Прамлинтид требует частого и неудобного введения.

Для лечения больных диабетом 1 типа прамлинтид вводят до четырех раз в сутки, посредством подкожной инъекции в бедро или область живота перед приемом пищи, в качестве добавки к инсулиновой терапии, вводимой после приема пищи. Прамлинтид не может быть смешан с инсулином; при этом используются отдельные шприцы. Прамлинтид вводят или перед каждым приемом пищи или перекусом, состоит не менее 250 калорий или 30 г углеводов. Типичная начальная доза для больных диабетом 1 типа составляет 15 мкг прамлинтида подкожно перед каждым приемом пищи, с последующим титрованием до целевой дозы 60 мкг перед каждым приемом пищи. Сообщенные побочные эффекты прамлинтида включают тошноту и рвоту. Нежелательные явления, в частности у больных диабетом 1 типа, могут включать тяжелую гипогликемию. Следовательно, дозировка инсулина во время приема пищи снижается для пациентов с диабетом, которые инициируют введение прамлинтида.

Для лечения больных диабетом 2 типа прамлинтид вводят посредством подкожной инъекции в рекомендованной начальной дозе 60 мкг, с целевой поддерживающей дозе 120 мкг перед каждым приемом пищи.

Давалинтид (AC2307) представляет собой еще один аналог амилина человека. Давалинтид является экспериментальным соединением с периодом полужизни около 26 минут. Как и прамлинтид, давалинтид также требует частого введения посредством инъекции.

В некоторых вариантах осуществления аналог амилина выбран из группы, состоящей из аналогов, раскрытых в заявке на патент США № 16/598915, полное содержание которой включено в данное описание в качестве ссылки. В некоторых вариантах осуществления аналог амилина содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из последовательностей, указанных в таблице 2:

Таблица 2: Примеры полипептидов аналогов амилина

Соединение №	Последовательность	SEQ ID NO
A1	SC*NTSTC*ATQRLANEk*((γ Glu) ₂ - CO(CH ₂) ₁₄ CH ₃)HKSSNNFGPILPP TKVGSETY-NH ₂	SEQ ID NO: 1
A2	K*((γ Glu) ₂ (CO(CH ₂) ₁₈ CO ₂ H))C*NTSTC*ATQRLANELHKSSNN FGPILPPTKVGSETY-(NH ₂)	SEQ ID NO: 2
A3	K*((γ Glu) ₂ (CO(CH ₂) ₁₆ CO ₂ H))C*NTSTC*ATQRLANELHKSSNN FGPILPPTKVGSETY-(NH ₂)	SEQ ID NO: 3
A4	K*(γ Glu- CO(CH ₂) ₁₆ CO ₂ H)C*NTSTC*ATSRLANFLQKSSNNFGPILPPTK VGSETY-NH ₂	SEQ ID NO: 4

Примечание: два остатка цистеина, обозначенные C, связаны дисульфидным мостиком; k представляет собой D-лизин*

В некоторых вариантах осуществления выделенный полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность: SC*NTSTC*ATQRLANEk*((γ Glu)₂-CO(CH₂)₁₄CH₃)HKSSNNFGPILPPTKVGSETY-NH₂ (SEQ ID NO: 1), также называемую в данном документе соединением A1;

В некоторых вариантах осуществления выделенный полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность: K*((γ Glu)₂(CO(CH₂)₁₈CO₂H))C*NTSTC*ATQRLANELHKSSNNFGPILPPTKVGSETY-(NH₂) (SEQ ID NO: 2), также называемую в данном документе соединением A2.

В некоторых вариантах осуществления аналог амилина содержит аминокислотную последовательность:

K*((γ Glu)₂(CO(CH₂)₁₆CO₂H))C*NTSTC*ATQRLANELHKSSNNFGPILPPTKVGSETY-(NH₂) (SEQ ID NO: 3), также называемую в данном документе соединением A3.

В некоторых вариантах осуществления аналог амилина содержит аминокислотную последовательность:

K*(γ Glu-CO(CH₂)₁₆CO₂H)C*NTSTC*ATSRLANFLQKSSNNFGPILPPTKVGSETY-NH₂ (SEQ ID NO: 4), также называемую в данном документе соединением A4.

Определенные раскрытые полипептиды аналога амилина были разработаны для введения посредством еженедельных или ежемесячных инъекций. Определенные раскрытые полипептиды аналога амилина были разработаны для введения посредством имплантации устройства доставки, содержащего полипептид аналога амилина, причем устройство доставки содержит дозу полипептида аналога амилина на 3 месяца, 6 месяцев, 9 месяцев, один год, 18 месяцев или два года.

Описание иллюстративных вариантов осуществления

В определенных вариантах осуществления в данном изобретении предложены

способы (i) непрерывного введения аналога амилина; и (ii) введение аналога амилина в высокой терапевтически эффективной дозе по сравнению с известными схемами лечения амилином.

В некоторых вариантах осуществления непрерывное введение аналога амилина достигается с помощью имплантируемого (например, осмотического) или неимплантируемого (внешний инфузионный насос) устройства для доставки лекарственного средства. Аналоги амилина короткого действия (например, прамлинтид) или аналоги амилина длительного действия (например, соединение A2, описанное в данном документе) можно вводить пациенту с помощью имплантируемого (например, осмотического) или неимплантируемого (внешний инфузионный насос) устройства доставки лекарственного средства для достижения непрерывного введения. Кроме того, постоянное введение аналога амилина длительного действия (например, соединения A2) также может быть достигнуто у пациента путем введения посредством нечастых (например, один раз в неделю) инъекций.

В некоторых вариантах осуществления аналог амилина предоставляется в высокой терапевтически эффективной дозе по сравнению с известными схемами лечения амилином. В некоторых вариантах осуществления предложены способы введения пациенту аналога амилина в высокой терапевтически эффективной дозе по меньшей мере 5 мкг на килограмм в сутки. В некоторых вариантах осуществления предложены способы введения пациенту аналога амилина в высокой терапевтически эффективной дозе по меньшей мере: 6 мкг на килограмм в сутки, 7 мкг на килограмм в сутки, 8 мкг на килограмм в сутки, 9 мкг на килограмм в сутки, 10 мкг на килограмм в сутки, 12 мкг на килограмм в сутки, 14 мкг на килограмм в сутки, 16 мкг на килограмм в сутки, 18 мкг на килограмм в сутки, 20 мкг на килограмм в сутки, 25 мкг на килограмм в сутки, 30 мкг на килограмм в сутки, 35 мкг на килограмм в сутки, 40 мкг на килограмм в сутки, 45 мкг на килограмм в сутки, 50 мкг на килограмм в сутки, 75 мкг на килограмм в сутки или 100 мкг на килограмм в сутки.

В некоторых других вариантах осуществления предложены способы введения пациенту аналога амилина в высокой терапевтически эффективной дозе, которая равна или превышает дозу ED70 агониста амилина. В некоторых других вариантах осуществления предложены способы введения пациенту аналога амилина в терапевтически эффективной дозе, которая равна или превышает дозу ED75, ED80, ED85, ED90 или ED95 агониста амилина.

В одном аспекте данного изобретения предложен способ лечения сахарного диабета, включающий введение пациенту, нуждающемуся в этом, аналога амилина в терапевтически эффективной дозе, которая равна или превышает дозу ED70 агониста амилина.

В одном аспекте данного изобретения предложен способ улучшения и стабилизации или нормализации уровней глюкозы у нуждающегося в этом пациента, включающий введение нуждающемуся в этом пациенту аналога амилина в

терапевтически эффективной дозе, которая равна или превышает дозу ED70 агониста амилина. В некоторых вариантах осуществления аналог амилина представляет собой агент, который активирует гетеродимерный рецептор, состоящий из рецептора кальцитонина и рецептора амилина-3. В некоторых вариантах осуществления рецептор амилина-3 представляет собой рецептор амилина-3 человека.

В одном аспекте данного изобретения предложен способ поддержания нормогликемии у нуждающегося в этом пациента, включающий введение нуждающемуся в этом пациенту аналога амилина в терапевтически эффективной дозе, которая равна или превышает дозу ED70 агониста амилина. В некоторых вариантах осуществления аналог амилина представляет собой агент, который активирует гетеродимерный рецептор, состоящий из рецептора кальцитонина и рецептора амилина-3. В некоторых вариантах осуществления рецептор амилина-3 представляет собой рецептор амилина-3 человека.

В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 70% активация амилиновых рецепторов достигается с использованием системы *in vitro*. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 70% активацию амилина определяют с помощью анализа активности амилина. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 70% активацию амилина определяют с помощью анализа активности амилина, как описано в патенте США № 6048514, содержание которого полностью включено в данное описание посредством ссылки. В некоторых вариантах осуществления анализ активности амилина включает (i) объединение тестируемого образца и тест-системы, причем указанный тест-образец содержит одно или более тестируемых соединений, и указанная тест-система содержит биологическую модель *in vivo*, причем указанная модель *in vivo* характеризуется тем, что она проявляет повышенный уровень лактата и повышенный уровень глюкозы в ответ на введение в указанную модель амилина или агониста амилина; (ii) определение наличия или степени повышения уровня лактата и наличия или степени повышения уровня глюкозы в указанной тест-системе; (iii) определение того, предшествует ли пик повышенного уровня лактата пику повышенного уровня глюкозы; и (iv) идентификацию тех тестируемых соединений, которые привели к пику повышенного уровня лактата, который предшествовал пику повышенного уровня глюкозы в биологической модели *in vivo*, в которой по меньшей мере одно тестируемое соединение в тестируемом образце, объединенном с тест-системой, дает пик в повышенном лактате, который предшествует пику повышенного уровня глюкозы.

Варианты осуществления данного изобретения обеспечивают непрерывное введение аналога амилина в соответствии со способами, известными в данной области техники. Например, аналог амилина может быть обеспечен либо имплантируемым устройством доставки лекарственного средства, таким как осмотическое устройство доставки лекарственного средства, способным к непрерывному введению амилина. В качестве альтернативы аналог амилина может быть обеспечен неимплантируемым устройством доставки лекарственного средства. Аналог амилина может быть обеспечен инфузионными устройствами, такими как насосы, которые непрерывно вводят амилин

пациенту. В некоторых вариантах осуществления непрерывную инфузию обеспечивают с помощью внешнего устройства, допускающего подкожное, внутримышечное, интраперитонеальное, внутрибрюшное, внутривенное введение или любой подходящий способ введения.

Инсулинотерапия для лечения диабета 1 типа требует высокой приверженности пациентов, что требует многочисленных самостоятельных инъекций. Инсулинотерапия склонна к значительным колебаниям концентрации глюкозы в сыворотке крови, которые могут выйти за пределы предполагаемого здорового диапазона приблизительно от 70 мг/дл до 180 мг/дл. Используемый в данном документе термин «время в диапазоне» относится к периоду времени (например, в день, в неделю, в месяц и т. д.), в течение которого пациент с диабетом 1 типа поддерживает на фоне лечения концентрацию глюкозы в сыворотке на уровне примерно от 70 мг/дл до 180 мг/дл. Соответственно, термин «время вне допустимого диапазона» относится к периоду времени (например, в день, в неделю, в месяц и т. д.), в течение которого пациент с диабетом 1 типа не может поддерживать на фоне лечения концентрацию глюкозы в сыворотке на уровне примерно от 70 мг/дл до 180 мг/дл. Гипергликемия возникает, когда концентрация глюкозы в сыворотке пациента превышает 180 мг/дл. Гипергликемия - это нездоровое состояние, которое способствует сердечно-сосудистым и микрососудистым проблемам, но обычно не представляет непосредственной угрозы для здоровья пациента. Гипогликемия по контракту может представлять собой непосредственную угрозу, которая может привести к нарушению когнитивных функций пациента, потере сознания или коме.

Описанные в настоящее время способы открывают значительные возможности для улучшения здоровья и качества жизни пациентов с диабетом 1 типа. Преимущества описанных в настоящее время способов включают значительно упрощенные схемы лечения, меньшую потребность в мониторинге уровня глюкозы, меньшее использование и введение инсулина, снижение нагрузки на лечение, улучшение качества жизни, снижение риска гипогликемии, предотвращение увеличения массы, связанного с инсулином, снижение HbA1c и увеличение время в диапазоне.

В некоторых вариантах осуществления предложен способ лечения диабета 1 типа у субъекта-человека, включающий введение субъекту фармацевтической композиции, содержащей аналог амилина в терапевтически эффективной дозе:

по меньшей мере 5 мкг на килограмм массы тела субъекта в сутки; или
которая соответствует или превышает дозу ED75 аналога амилина.

Также в данном документе раскрыта фармацевтическая композиция, содержащая аналог амилина, для применения при лечении диабета 1 типа у человека, причем применение включает введение субъекту терапевтически эффективной дозы аналога амилина, которая составляет:

по меньшей мере 5 мкг на килограмм массы тела субъекта в сутки; или
которая соответствует или превышает дозу ED75 аналога амилина.

В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает

постоянное поддержание концентрации аналога амилина у субъекта, равной или превышающей дозу EC75 агониста амилина.

В некоторых вариантах осуществления способ включает непрерывное введение аналога амилина. В некоторых вариантах осуществления способ включает непрерывное введение аналога амилина посредством имплантируемого устройства доставки лекарственного средства. В некоторых вариантах осуществления имплантируемое устройство доставки лекарственного средства представляет собой осмотическое устройство доставки лекарственного средства. В некоторых вариантах осуществления способ включает непрерывное введение аналога амилина посредством неимплантируемого устройства доставки лекарственного средства. В некоторых вариантах осуществления способ включает непрерывное введение аналога амилина посредством инъекции два раза в неделю, инъекции один раз в неделю или инъекции реже одного раза в неделю, например инъекции один раз в месяц или инъекции четыре раза в год. В некоторых вариантах осуществления аналог амилина представляет собой прамлинтид. В некоторых вариантах осуществления аналог амилина представляет собой соединение A2 (SEQ ID NO:2). В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает отдельное введение инсулина.

Применение, состав и введение

Композиции

В некоторых вариантах осуществления полипептид аналога амилина по данному изобретению объединен с инсулином или производным инсулина. В некоторых вариантах осуществления полипептид аналога амилина по данному изобретению объединен с инсулином долгосрочного действия или производным инсулина долгосрочного действия.

В вариантах осуществления данного изобретения предложена композиция, содержащая амилин, аналог амилина, инсулин или аналог инсулина или их комбинации, для лечения пациента, страдающего от состояния, при котором показано лечение инсулином или амилином. В определенных вариантах осуществления предложен аналог амилина, отдельно или в сочетании с инсулином, подходящий для непрерывного введения пациенту.

В определенных вариантах осуществления в данном изобретении предложено отношение молярной дозы амилина к инсулину более 1:1, при этом активность амилина сравнима с используемыми в настоящее время агонистами амилина, например, прамлинтидом. В альтернативных вариантах осуществления предложен аналог амилина с большей активностью, чем используемые в настоящее время средства, где молярное соотношение амилина к инсулину 1:1 соответствует более высокой активности амилина, чем в современных композициях. Определения и характеристики «амилиномиметиков» или ответов аналогов амилина, необходимых для такого анализа, были описаны ранее (см., например, патент США № 5234906; Young, A. (2005) *Advances in Pharmacology* **52**: 151-171 2005).

В некоторых вариантах осуществления амилин и инсулин представлены в

молярном соотношении (амилин:инсулин) от около 1:1 до около 67:1, или от около 7:1 до около 67:1, или от около 1:1 до около 40:1, или от около 2,5:1 до около 35:1, или от около 5:1 до около 25:1, или от около 5:1 до около 10:1. В других вариантах осуществления предложена композиция амилина, пригодная для доставки пациенту в дозе по меньшей мере около 5 мкг на килограмм в сутки. В других вариантах осуществления предложен амилин, пригодный для доставки пациенту, в дозе по меньшей мере около 0,5, 1,0, 1,5, 2,0, 2,5, 3,0, 3,5, 4,0 или 4,5 мкг на килограмм в день.

В некоторых вариантах осуществления полипептид аналога амилина по данному изобретению, не будучи объединенным с инсулином или производным инсулина, вводят субъекту в комбинации с инсулином или производным инсулина, то есть в качестве дополнения к терапии инсулина. В некоторых вариантах осуществления пептид аналога амилина по данному изобретению, не будучи объединенным с инсулином или производным инсулина, вводят субъекту в комбинации с инсулином, вводимым во время приема пищи. В некоторых вариантах осуществления субъект имеет диабет 1 типа. В некоторых вариантах осуществления субъект имеет диабет 2 типа.

В некоторых вариантах осуществления полипептид аналога амилина по данному изобретению совместно вводят пациенту-человеку с инсулином или производным инсулина для обеспечения так называемого двойной гормональной терапии «искусственной поджелудочной железы». В некоторых вариантах осуществления полипептид аналога амилина по данному изобретению, не будучи объединенным с инсулином или производным инсулина, совместно вводят субъекту в комбинации с инсулином или производным инсулина для обеспечения так называемого двойной гормональной терапии «искусственной поджелудочной железы». В некоторых вариантах осуществления полипептид аналога амилин по данному изобретению объединяют с инсулином или производным инсулина, и вводят субъекту в комбинации с инсулином или производным инсулина для обеспечения так называемого двойной гормональной терапии «искусственной поджелудочной железы». В некоторых вариантах осуществления терапия искусственной поджелудочной железы включает быстродействующий инсулин или быстродействующее производное инсулина. В некоторых вариантах осуществления терапия искусственной поджелудочной железы включает долгосрочный или фоновый инсулин или долгосрочное или фоновое производное инсулина.

Способы применения

Согласно другому варианту осуществления, в данном изобретении предложен способ лечения метаболического заболевания или расстройства у субъекта, нуждающегося в лечении, включающий предоставление субъекту эффективного количества полипептида аналога амилина по изобретению или его фармацевтической композиции. Метаболические заболевания или расстройства включают диабет 1 типа, диабет 2 типа и ожирение. Кроме того, изобретение относится к способу увеличения потери массы у субъекта, включая субъекта с диабетом, включающий предоставление субъекту эффективного количества полипептида аналога амилина по данному

изобретению.

Данное изобретение также относится к полипептиду аналога амилина по данному изобретению или его фармацевтической композиции для применения при лечении метаболического заболевания или нарушения у субъекта, нуждающегося в лечении, причем применение включает предоставление субъекту эффективного количества полипептида аналога амилина. Кроме того, изобретение относится к полипептиду аналога амилина по данному изобретению или его фармацевтической композиции для применения для снижения массы тела у субъекта, включая субъекта-диабетика, включающему предоставление субъекту эффективного количества полипептида аналога амилина.

Полипептиды аналога амилина по данному изобретению, такие как инсулин, предоставляются (т.е. вводятся) субъекту, страдающему диабетом, для поддержания, контроля или снижения концентрации сахара в крови у субъекта. Субъекты с диабетом, которых лечат полипептидом аналога амилина по данному изобретению в качестве дополнения к инсулинотерапии, подвержены риску гипогликемии (т.е. низкого уровня сахара в крови), особенно тяжелой гипогликемии. Соответственно, сокращение дозы инсулина во время приема пищи субъектам с диабетом при лечении полипептидом аналога амилина по изобретению предназначено для уменьшения риска гипогликемии, особенно тяжелой гипогликемии.

Тяжелая гипогликемия, используемая в данном документе, относится к эпизоду гипогликемии, требующему помощи другого человека (включая помощь во введении перорального углевода) или требующему введение глюкагона, внутривенной глюкозы или другого медицинского вмешательства.

Соответственно, введение полипептида аналога амилина по данному изобретению, в качестве дополнения к терапии инсулином, в частности терапии инсулином при приеме пищи, обычно требует снижения дозы инсулина во время приема пищи, необходимого для поддержания правильной концентрации уровня сахара в крови здорового субъекта. Другими словами, больные диабетом 1 или 2 типа, которые уже самостоятельно вводят инсулин при приеме пищи в определенной дозе перед началом лечения полипептидом аналога амилина по изобретению, уменьшать (например, до 25%, 50%, 75% или 100%) дозу инсулина во время приема пищи, которую они продолжают самостоятельно вводить после начала лечения полипептидом аналога амилина по данному изобретению.

В некоторых вариантах осуществления способ включает обеспечение полипептида аналога амилина по изобретению или его фармацевтической композиции субъекту, нуждающемуся в лечении, посредством инъекции. В некоторых вариантах осуществления способ включает обеспечение полипептида аналога амилина по изобретению или его фармацевтической композиции, предназначенной для перорального введения, субъекту, нуждающемуся в лечении.

В некоторых вариантах осуществления способ включает обеспечение полипептида аналога амилина по изобретению или его фармацевтической композиции субъекту, нуждающемуся в лечении, посредством имплантации. В некоторых вариантах

осуществления способ включает обеспечение непрерывной доставки от осмотического устройства доставки полипептида аналога амилина субъекту, нуждающемуся в лечении. Устройство доставки, такое как осмотическое устройство доставки, содержит достаточное количество полипептида аналога амилина по данному изобретению для непрерывного введения до 3 месяцев, 6 месяцев, 9 месяцев, 12 месяцев, 18 месяцев или 24 месяцев. Как таковое, непрерывное введение полипептида аналога амилина по данному изобретению через осмотическое устройство доставки устраняет ежедневно или несколько ежедневных дозировок существующих полипептидов аналогов амилина, таких как прамлинтид. Больные диабетом, которые получают лечение прамлинтидом, должны согласовывать дозировку прамлинтида перед приемом пищи с инсулином для применения во время приема пищи, вводимым после приема пищи. Напротив, больные диабетом, получающие лечение полипептидом аналога амилина по изобретению через осмотическое доставку, получают непрерывную доставку полипептида аналога амилина и нуждаются только в введении инсулина во время приема пищи в пониженных дозах.

По существу стабильная доставка полипептида аналога амилина, являющегося специфическим агонистом глюкагона, из осмотического устройства доставки является непрерывной в течение периода введения. В некоторых вариантах осуществления субъект или пациент является субъектом-человеком или пациентом-человеком.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения период введения составляет, например, по меньшей мере около 3 месяцев, по меньшей мере от около 3 месяцев до около одного года, по меньшей мере от около 4 месяцев до около одного года, по меньшей мере от около 5 месяцев до около одного года, по меньшей мере от около 6 месяцев до около одного года, по меньшей мере от около 8 месяцев до около одного года, по меньшей мере от около 9 месяцев до около одного года, по меньшей мере от около 10 месяцев до около одного года, по меньшей мере от около одного года до около двух лет, по меньшей мере от около двух лет до около трех лет.

В других вариантах осуществления способы лечения по настоящему изобретению обеспечивают значительное снижение концентрации глюкозы в плазме натощак у субъекта после имплантации осмотического устройства доставки субъекту (по отношению к концентрации глюкозы в плазме натощак у субъекта до имплантации осмотического устройства доставки), которое достигается в течение около 7 суток, 6 суток, 5 суток, 4 суток, 3 суток, 2 суток, 1 суток или менее после имплантации субъекту осмотического устройства доставки. Значительное снижение глюкозы в плазме натощак, как правило, является статистически значимым, как показано путем применения соответствующего статистического теста или признано значимым для субъекта практикующим врачом. Значительное снижение глюкозы в плазме натощак по отношению к базовому уровню перед имплантацией, как правило, сохраняется в течение периода введения.

В некоторых вариантах осуществления в данном изобретении предложен способ лечения заболевания или состояния у субъекта, нуждающегося в лечении. Способ включает непрерывную доставку лекарственного средства из осмотического устройства

доставки, в котором по существу стабильная доставка лекарственного средства в терапевтических концентрациях достигается у субъекта. По существу стабильная доставки препарата из осмотического устройства доставки непрерывна в течение периода введения по меньшей мере около 3 месяцев. Лекарственное средство имеет известный или определенный период полужизни у типичного субъекта. Люди являются предпочтительными субъектами для применения на практике способов по данному изобретению. Настоящее изобретение включает препарат, эффективное для лечения заболевания или состояния, а также осмотическое устройство доставки, содержащее препарат для применения в настоящих способах лечения заболевания или состояния у субъекта, нуждающегося в лечении. Преимущества способов по данному изобретения включают смягчение токсичности препаратов, связанной с пиками, и ослабление субоптимальной лекарственной терапии, связанной с минимальными остаточными концентрациями.

В некоторых вариантах осуществления существенная устойчивая доставка лекарственного средства при терапевтических концентрациях достигается в течение срока около 1 месяца, 7 суток, 5 суток, 3 суток или 1 суток после имплантации субъекту устройства осмотического доставки.

Изобретение также обеспечивает способ содействия потере массы у субъекта, нуждающегося в этом, способ лечения избыточной массы или ожирения у субъекта, нуждающегося в этом и/или способ подавления аппетита у субъекта, нуждающегося в этом. Способ включает обеспечение доставки выделенного полипептида аналога амилина. В некоторых вариантах осуществления выделенный полипептид аналога амилина непрерывно доставляется из имплантируемого осмотического устройства доставки. В некоторых вариантах осуществления достигается значительная устойчивая доставка выделенного полипептида аналога амилина из осмотического устройства доставки, и она является существенно непрерывной в течение периода введения. В некоторых вариантах осуществления изобретения субъектом является человек.

Данное изобретение включает выделенный полипептид аналога амилина, а также осмотическое устройство доставки, содержащее выделенный полипептид аналога амилина для применения в данных способах у субъекта, нуждающегося в лечении.

В вариантах осуществления всех аспектов данного изобретения, относящегося к способам лечения заболевания или состояния у субъекта, в качестве примера осмотическое устройство доставки включает в себя следующее: непроницаемый резервуар, содержащий внутреннюю и внешнюю поверхности и первый и второй открытые концы; полупроницаемую мембрану, герметично прикрепленную на первом открытом конце резервуара; осмотический двигатель внутри резервуара, прилегающей к полупроницаемой мембране; поршень, примыкающий к осмотическому двигателю, при этом поршень образует подвижное уплотнение с внутренней поверхностью резервуара, поршень делит резервуар на первую камеру и вторую камеру, первая камера содержит осмотический двигатель; лекарственное средство или состав в виде суспензии,

содержащий лекарственное средство, при этом вторая камера содержит лекарственное средство или состав в виде суспензии, и лекарственное средство или состав в виде суспензии находятся в жидкой форме; и замедлитель диффузии вставлен во второй открытый конец резервуара, замедлитель диффузии примыкает к составу в виде суспензии. В предпочтительных вариантах воплощения резервуар содержит титан или титановый сплав.

В вариантах осуществления всех аспектов данного изобретения, относящегося к способам лечения заболевания или состояния у субъекта, лекарственное средство может содержать лекарственное средство и состав-носитель. В качестве альтернативы, в способах используются препараты в виде суспензии, они могут, например, включать в себя состав из частиц, содержащий частицы препарата и состав-носитель. Составы-носители для использования в составе в виде суспензии по данному изобретению, могут, например, содержать растворитель и полимер.

Резервуар осмотических устройств доставки может, например, содержать титан или титановый сплав.

В вариантах осуществления всех аспектов данного изобретения имплантированное осмотическое устройство доставки может быть использовано для обеспечения подкожной доставки.

В вариантах осуществления всех аспектов данного изобретения непрерывная доставка может, например, контролироваться непрерывной доставкой нулевого порядка.

В определенных вариантах осуществления непрерывное введение агониста амилина обеспечивается насосом Animas® Vibe™ в сочетании с системой непрерывного мониторинга глюкозы DexcomG4® PLATINUM. В некоторых вариантах осуществления насос одновременно вводит и амилин, и инсулин. В альтернативных вариантах осуществления насос доставляет или инсулин, или амилина, а другой насос или устройство доставляет оставшийся агент.

Фармацевтически приемлемые композиции

Согласно другому варианту осуществления изобретение относится к композиции, содержащей соединение, то есть, выделенный полипептид, по данному изобретению или его фармацевтически приемлемое производное, и фармацевтически приемлемый носитель, адъювант или наполнитель. Количество соединения в композициях по данному изобретению является таким, что эффективно для измеримой активации одного или более рецепторов амилина и/или кальцитонина в биологическом образце или у пациента. В определенных вариантах осуществления количество соединения в композициях по данному изобретению является таким, которое эффективно для измерительной активации рецептора амилина 3 человека (hAMY3) и/или кальцитонина человека (hCTR), в отсутствие или наличие человеческого сывороточного альбумина, в биологический образец или у пациента. В некоторых вариантах реализации композиция по данному раскрытию составлена для введения пациенту, нуждающемуся в такой композиции. В некоторых вариантах реализации композиция по данному раскрытию составлена для

инъекционного введения пациенту. В некоторых вариантах осуществления композиция по данному изобретению составлена для введения пациенту с помощью имплантируемого устройства доставки, такого как осмотическое устройство доставки.

Термины «пациент» или «субъект», используемые в данном документе, относятся к животному, предпочтительно млекопитающему, и наиболее предпочтительно человеку.

«Фармацевтически приемлемое производное» означает любую нетоксичную соль, сложный эфир, соль сложного эфира или иное производное соединения данного изобретения, которые при введении реципиенту способны обеспечить прямо или косвенно, соединение по данному изобретению или ингибиторно активный метаболит или его остаток.

Выделенные полипептиды по раскрытию (также называемые в данном описании «активные соединения») и их производные, фрагменты, аналоги и гомологи, могут быть включены в фармацевтические композиции, подходящие для введения. Такие композиции обычно содержат выделенный полипептид или его фармацевтически приемлемую соль, а также фармацевтически приемлемый носитель. Используемый в данном описании, термин «фармацевтически приемлемый носитель» предназначен для включения любых и всех растворителей, дисперсионных сред, покрытий, антибактериальных и противогрибковых средств, изотонических и задерживающие абсорбцию средств и т. п., совместимых с фармацевтическим введением. Подходящие носители описаны в последнем издании Remington Pharmaceutical Sciences, стандартный справочный текст в данной области, который включен в настоящее описание посредством ссылки. Предпочтительные примеры таких носителей или разбавителей включают, но не ограничиваются ими, воду, солевой раствор, растворы Рингера, раствор декстрозы и 5% сывороточный альбумин человека. Также могут быть использованы липосомы и неводные носители, такие как нелетучие масла. Применение таких сред и агентов в отношении фармацевтически активных веществ хорошо известно в данной области техники. За исключением случаев, когда какие-либо традиционные среды или вещества являются несовместимыми с активным соединением, предусматривается их применение в композициях. Также в композиции могут быть включены дополнительные активные соединения.

Фармацевтическая композиция по настоящему изобретению составлена таким образом, чтобы она была совместима с предполагаемым способом введения. Примеры путей введения включают парентеральное, например, внутривенное, внутрикожное, субдермальное, подкожное, пероральное (например, ингаляционное), трансдермальное (т. е., местное), через слизистую оболочку, ректальное или их комбинации. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция или выделенный полипептид по раскрытию изготавливаются для введения местным путем. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция или выделенный полипептид по раскрытию изготавливается для введения путем ингаляции. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция изготавливается для введения с помощью устройства или другого подходящего механизма доставки, подходящего для субдермальной или

подкожной имплантации и доставляющего фармацевтическую композицию, подкожно. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция изготовлена для введения с помощью имплантируемого устройства, которое подходит для субдермальной или подкожной имплантации и доставляет фармацевтическую композицию подкожно. В некоторых вариантах осуществления фармацевтической композиция изготовлена для введения с помощью осмотического устройства доставки, например, имплантируемого осмотического устройства доставки, которое подходит для субдермального или подкожного размещения или другой имплантации и доставляет фармацевтическую композицию подкожно. Растворы или суспензии, используемые для парентерального применения, внутрикожного применения, субдермального применения, подкожного применения или их комбинации могут включать следующие компоненты: стерильный разбавитель, такой как вода для инъекций, физиологический раствор, нелетучие масла, полиэтиленгликоли, глицерин, пропиленгликоль или другие синтетические растворители; антибактериальные средства, такие как бензиловый спирт или метилпарабены; антиоксиданты, такие как аскорбиновая кислота или бисульфит натрия; хелатирующие средства, такие как этилендиаминтетрауксусная кислота (ЭДТУ); буферы, такие как ацетаты, цитраты или фосфаты, и средства для регулировки тоничности, такие как хлорид натрия или декстроза. pH можно регулировать с помощью кислот или оснований, таких как соляная кислота или гидроксид натрия. Парентеральный препарат может находиться в ампулах, одноразовых шприцах или многодозовых флаконах, изготовленных из стекла или пластика.

Фармацевтические композиции, подходящие для инъекции, включают стерильные водные растворы (в случае растворимости в воде) или дисперсии и стерильные порошки для приготовления стерильных инъекционных растворов или дисперсий для немедленного приема. Для внутривенного введения подходящие носители включают физиологический раствор, бактериостатическую воду, Cremophor EL (BASF, Parsippany, N.J.) или фосфатно-солевой буфер (PBS). Во всех случаях композиция должна быть стерильной и текучей в той степени, чтобы ее было легко набрать в шприц. Она должна быть стабильной в условиях производства и хранения и должна быть защищена от загрязняющего действия микроорганизмов, таких как бактерии и грибки. Носитель может представлять собой растворитель или дисперсионную среду, содержащие, например, воду, этанол, полиол (например, глицерин, пропиленгликоль и жидкий полиэтиленгликоль, и т. п.) и их подходящие смеси. Надлежащую сыпучесть можно поддерживать, например, путем применения покрытия, такого как лецитин, путем поддержания необходимого размера частиц в случае дисперсии и путем применения поверхностно-активных веществ. Предотвращение действия микроорганизмов можно обеспечить с помощью различных антибактериальных и противогрибковых агентов, например, парабенов, хлорбутанола, фенола, аскорбиновой кислоты, тимеросала и т. п. Во многих случаях в композицию предпочтительно включать изотонические вещества, например, сахара, полиспирты, такие как маннит, сорбит, или хлорид натрия. Пролонгированное всасывание инъекционных

композиций можно обеспечить путем включения в композицию агента, замедляющего всасывание, например, моностеарата алюминия и желатина.

Стерильные инъекционные растворы можно готовить путем включения активного соединения в необходимом количестве в соответствующий растворитель с одним или с комбинацией ингредиентов, перечисленных выше, в случае необходимости, с последующей стерилизацией фильтрацией. В общем случае дисперсии готовят путем включения активного соединения в стерильный носитель, который содержит основную дисперсионную среду и другие необходимые ингредиенты из перечисленных выше. В случае стерильных порошков для приготовления стерильных инъекционных растворов способами приготовления являются вакуумная сушка и сублимационная сушка, которые приводят к получению порошка активного ингредиента вместе с любым дополнительным активным ингредиентом из его ранее стерильно-профильтрованного раствора.

Композиции для перорального введения обычно включают инертный разбавитель или съедобный носитель. Они могут быть заключены в желатиновые капсулы или спрессованы в таблетки. В целях перорального терапевтического введения активное соединение можно включать вместе со вспомогательными веществами и использовать в форме таблеток, пастилок или капсул. Пероральные композиции также можно готовить, используя жидкий носитель для применения в виде ополаскивателя для рта, при этом соединение в жидком носителе применяется перорально с полосканием и выплевыванием или глотанием. Фармацевтически совместимые связующие агенты и/или адъювантные материалы также могут быть включены в качестве части композиции. Таблетки, пилюли, капсулы, пастилки и т. п. могут содержать любой из следующих ингредиентов или соединения схожей природы: связующее вещество, такое как микрокристаллическая целлюлоза, трагакантовая камедь или желатин; вспомогательное вещество, такое как крахмал или лактоза, разрыхлитель, такой как альгиновая кислота, примогель или кукурузный крахмал; смазывающее вещество, такое как стеарат магния или Sterotes; глидант, такой как коллоидный диоксид кремния; подсластитель, такой как сахароза или сахарин; или ароматизатор, такой как перечная мята, метилсалицилат или апельсиновый ароматизатор.

Для введения путем ингаляции соединения доставляются в форме аэрозольного спрея из находящегося под давлением контейнера или дозатора, который содержит подходящий пропеллент, например, газ, такой как диоксид углерода, или из распылителя.

Системное введение также может осуществляться трансмукозальными или трансдермальными средствами. В случае трансмукозального или трансдермального введения в составе используются пенетранты, подходящие для проникновения через барьер. Такие пенетранты в целом известны в данной области техники и включают, например, в случае трансмукозального введения, детергенты, желчные соли и производные фузидовой кислоты. Введение через слизистую может быть осуществлено за счет использования назальных спреев или суппозиторий. Для трансдермального введения активные соединения изготавливают в виде мазей, бальзамов, гелей или кремов, как в

целом известно в данной области техники.

В одном варианте осуществления активное соединение получают с носителями, которые будут защищать соединение от быстрого выведения из организма, такими как состав с контролируемым высвобождением, включая имплантаты и микрокапсулированные системы доставки. Можно использовать биоразлагаемые, биосовместимые полимеры, такие как этиленвинилацетат, полиангидриды, полигликолевая кислота, коллаген, сложные полиортоэфиры и полимолочная кислота. Способы получения таких составов будут очевидны специалистам в данной области техники. Такие материалы также могут быть получены коммерчески от Alza Corporation и Nova Pharmaceuticals, Inc., липосомные суспензии также могут быть использованы в качестве фармацевтически приемлемых носителей. Их можно получить в соответствии со способами, известными специалистам в данной области техники, например, как описано в патенте США № 4,522,811.

В особенности преимущественно составлять пероральные или парентеральные композиции в единичной дозированной форме для простоты введения и равномерности дозировки. В контексте данного документа единичная дозированная форма относится к физически дискретным единицам, подходящим в качестве единичных дозировок для подлежащего лечению субъекта; каждая единица содержит predetermined количество активного соединения, рассчитанное так, чтобы оказывать необходимый терапевтический эффект, вместе с необходимым фармацевтическим носителем. Спецификации для единичных дозированных форм согласно изобретению обусловлены и напрямую зависят от уникальных характеристик активного соединения и конкретного достигаемого терапевтического действия, и ограничений, свойственных области техники составления соединений, например, активного соединения для лечения индивидов.

Фармацевтические композиции могут быть включены в контейнер, упаковку или диспенсер вместе с инструкцией по применению.

Составы из частиц лекарственного средства

В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложена фармацевтическая композиция, содержащая любой из описанных полипептидов, сформулированных в виде соли трифторуксусной кислоты, соли уксусной кислоты или хлористоводородной соли. В некоторых вариантах осуществления представлена фармацевтическая композиция, содержащая любой из описанных полипептидов, сформулированных в виде соли трифторуксусной кислоты. В некоторых вариантах осуществления представлена фармацевтическая композиция, содержащая любой из описанных полипептидов, сформулированных в виде соли уксусной кислоты. В некоторых вариантах осуществления представлена фармацевтическая композиция, содержащая любой из описанных полипептидов, сформулированных в виде хлористоводородной соли.

Соединения, то есть выделенные полипептиды или их фармацевтически приемлемые соли для применения в практике способов данного изобретения, как правило,

добавляются к составам частиц, которые используются для изготовления частиц, содержащих полипептид, который равномерно суспендируют, растворяют или диспергируют в носителе для суспензии для формирования состава в виде суспензии. В некоторых вариантах осуществления полипептид аналога амилина сформулирован в состав частиц и преобразован (например, высушен распылением) в частицы. В некоторых вариантах осуществления частицы, содержащие полипептид аналога амилина, суспендируются в составе носителя, что приводит к тому, что образованию состава суспензии и суспендированных частиц, содержащих полипептид аналога амилина.

Предпочтительно, составы из частиц могут быть сформированы в виде частиц с использованием способов, таких как сушка распылением, лиофилизация, высушивание, сублимационная сушка, измельчение, гранулирование, распыление ультразвуком, кристаллизация, осаждение, или других методов, доступных в данной области техники для формирования частиц из смеси компонентов. В одном варианте осуществления данного изобретения частицы сушат распылением. Частицы предпочтительно имеют по существу одинаковую форму и размер.

В некоторых вариантах осуществления в данном изобретении предложены составы частиц лекарственного средства для фармацевтического применения. Состав из частиц, как правило, содержит препарат и включает в себя один или более стабилизирующих компонентов (также называемых в данном документе «вспомогательными веществами»). Примеры стабилизирующих компонентов включают, но не ограничиваются ими, углеводы, антиоксиданты, аминокислоты, буферы, неорганические соединения, а также поверхностно-активные вещества. Количества стабилизаторов в составе из частиц могут быть определены экспериментально на основе активности стабилизаторов и желаемых характеристик композиции в соответствии с идеей настоящего описания.

В любом из вариантов осуществления изобретения состав из частиц может содержать от около 50% масс до около 90% масс. лекарственного средства, от около 50% масс. до около 85% масс. лекарственного средства, от около 55% масс. до около 90% масс. лекарственного средства, от около 60% масс до около 90% масс. лекарственного средства, от около 65% масс. до около 85% масс. лекарственного средства, от около 65% масс. до около 90% масс. лекарственного средства, от около 70% масс. до около 90% масс. лекарственного средства, от около 70% масс. до около 85% масс. лекарственного средства, от около 70% масс. до около 80% масс. лекарственного средства или от около 70% масс. до около 75% масс. лекарственного средства.

Как правило, количество углеводов в составе частиц определяется проблемами агрегации. В общем, количество углеводов не должно быть слишком высоким, чтобы избежать стимулирования роста кристаллов в присутствии воды из-за избытка углеводов, не связанных с препаратом.

Как правило, количество антиоксиданта в составе частиц определяется проблемами окисления, в то время как количество аминокислот в препарате определяются проблемами окисления и/или формуемостью частиц во время сушки посредством распыления.

Как правило, количество буфера в составе частиц определяется проблемами предварительной обработки, проблемами устойчивости и деформируемостью частиц во время сушки посредством распыления. Буфер может потребоваться для стабилизации препарата в процессе обработки, например, для приготовления раствора и сушки посредством распыления, когда все стабилизаторы сольбилизованы.

Примерами углеводов, которые могут быть включены в состав из частиц, включают в себя, но не ограничиваются ими, моносахариды (например, фруктоза, мальтоза, галактоза, глюкоза, D-манноза и сорбоза), дисахариды (например, лактоза, сахароза, трегалоза и целлобиоза), полисахариды (например, рафиноза, мелезитоза, мальтодекстрины, декстраны и крахмалы) и полиолы (ациклические полиолы, например, маннит, ксилит, мальтит, лактит, ксилит-сорбит, пиранозил сорбит и миоинозит). Подходящие углеводы включают дисахариды и/или нередуцирующие сахара, такие как сахароза, трегалоза и рафиноза.

Примеры антиоксидантов, которые могут быть включены в состав из частиц, включают в себя, но не ограничиваются ими, метионин, аскорбиновую кислоту, тиосульфат натрия, каталазу, платину, этилендиаминтетрауксусную кислоту (ЭДТА), лимонную кислоту, цистеин, тиоглицерин, тиогликолевую кислоту, тиосорбит, бутилгидроксианизол, бутилгидрокситолуол и пропилгаллат. Кроме того, аминокислоты, которые легко окисляются, могут быть использованы в качестве антиоксидантов, например, цистеин, метионин и триптофан.

Примеры аминокислот, которые могут быть включены в состав из частиц, включают в себя, но не ограничиваются ими, аргинин, метионин, глицин, гистидин, аланин, лейцин, глутаминовую кислоту, изолейцин, L-треонин, 2-фениламин, валин, норвалин, пролин, фенилаланин, триптофан, серин, аспарагин, цистеин, тирозин, лизин и норлейцин. Подходящие аминокислоты включают в себя те, которые легко окисляются, например, цистеин, метионин и триптофан.

Примеры буферов, которые могут быть включены в состав из частиц включают в себя, но не ограничиваются ими, цитрат, гистидин, сукцинат, фосфат, малеат, ТРИС, ацетат, углеводный буфер и gly-gly. Подходящие буфера включают цитрат, гистидин, сукцинат и ТРИС.

Примеры неорганических соединений, которые могут быть включены в состав из частиц включают, но не ограничиваются ими NaCl, Na₂SO₄, NaHCO₃, KCl, KH₂PO₄, CaCl₂ и MgCl₂.

Кроме того, состав частиц может включать другие стабилизаторы/вспомогательные вещества, такие как поверхностно-активные вещества и соли. Примеры поверхностно-активных веществ включают, но не ограничиваются ими, полисорбат 20, полисорбат 80, PLURONIC® (фирма BASF Corporation, Mount Olive, Нью-Джерси) F68, и додецилсульфат натрия (ДСН). Примеры солей включают, но не ограничиваются ими, хлорид натрия, хлорид кальция и хлорид магния.

Частицы, как правило, имеют такие размеры, что они могут быть доставлены с

помощью имплантируемого осмотического устройства доставки. Сходная форма и размер частиц, как правило, помогают обеспечить последовательную и равномерную скорость высвобождения из такого устройства доставки; однако, может быть также использован препарат, состоящий из частиц, частицы которого имеют ненормальный профиль распределения размеров частиц. Например, в типичном имплантируемом осмотическом устройстве доставки, имеющем отверстие доставки, размер частиц составляет менее чем около 30%, более предпочтительно менее чем около 20%, более предпочтительно менее чем около 10% от диаметра отверстия доставки. В одном варианте осуществления состав из частиц для использования с осмотической системой доставки, в котором диаметр отверстия доставки имплантата составляет около 0,5 мм, размер частиц может составлять, например, от менее чем около 150 микрон до около 50 микрон. В одном варианте осуществления состав из частиц для использования с осмотической системой доставки, в котором диаметр отверстия доставки имплантата составляет около 0,1 мм, размер частиц может составлять, например, от менее чем около 30 микрон до около 10 микрон. В одном варианте осуществления размер отверстия составляет около 0,25 мм (250 микрон), а размер частиц - от около 2 микрон до около 5 микрон.

Специалистам в данной области техники будут понятно, что популяция частиц соответствует принципам распределения частиц по размерам. Широко используемые, в данной области техники способы описания распределения частиц по размерам включают в себя, например, средние диаметры и значения D , такие как значения D_{50} , которое обычно используется для представления среднего диаметра в диапазоне размеров частиц данного образца.

Частицы состава из частиц имеют диаметр от около 2 микрон до около 150 микрон, например, менее чем 150 микрон в диаметре, менее чем 100 микрон в диаметре, менее чем 50 микрон в диаметре, менее чем 30 микрон в диаметре, менее чем 10 микрон в диаметре, менее чем 5 микрон в диаметре и около 2 микрон в диаметре. Предпочтительно частицы имеют диаметр от около 2 микрон до около 50 микрон.

Частицы состава частиц, содержащего выделенный полипептид аналога амилина, являющийся аналог имеют средний диаметр в пределах от около 0,3 микрон до около 150 микрон. Частицы состава из частиц, содержащего выделенный полипептид, являющийся полипептидом аналога амилина, имеют средний диаметр в пределах от около 2 микрон до около 150 микрон, например, средний диаметр менее 150 микрон, средний диаметр менее 100 микрон, средний диаметр менее чем 50 микрон, средний диаметр менее 30 микрон, средний диаметр менее чем 10 микрон, средний диаметр менее 5 микрон и средний диаметр около 2 микрон. В некоторых вариантах частица имеет средний диаметр от около 0,3 микрон до 50 микрон, например, от около 2 микрон до около 50 микрон. В некоторых вариантах частицы имеют средний диаметр от 0,3 микрон до 50 микрон, например, между около 2 микрон до около 50 микрон, где каждая частица имеет диаметр менее чем около 50 микрон.

Как правило, частицы составов из частиц при введении в носитель для суспензии

не оседают в течение менее чем около 3 месяцев, предпочтительно не оседают в течение менее чем около 6 месяцев, более предпочтительно, не оседает в течение менее чем около 12 месяцев, более предпочтительно не оседает в течение менее чем 24 месяцев при температуре доставки, и наиболее предпочтительно, не оседает в течение менее чем 36 месяцев при температуре доставки. Носители для суспензий, как правило, имеют вязкость от около 5000 до около 30 000 пуаз, предпочтительно от около 8000 до около 25 000 пуаз, более предпочтительно от около 10 000 до около 20 000 пуаз. В одном варианте осуществления носитель для суспензий имеет вязкость около 15 000 пуаз, плюс или минус около 3000 пуаз. Вообще говоря, более мелкие частицы, как правило, имеют более низкий уровень оседания в вязких носителях для суспензий, чем более крупные частицы. Соответственно, как правило желательными являются частицы с размерами порядков от микронных до наноразмерных. В вязком носителе для суспензии частицы от около 2 микрон до около 7 микрон по данному изобретению не будут оседать в течение по меньшей мере 20 лет при комнатной температуре на основе исследований посредством имитационного моделирования. В одном варианте осуществления состава из частиц по настоящему изобретению для использования в имплантируемом осмотическом устройстве доставки, состав содержит частицы размером менее около 50 микрон, более предпочтительно менее чем около 10 микрон, более предпочтительно в диапазоне от около 2 микрон до около 7 микрон.

Таким образом, раскрытые полипептиды или их фармацевтически приемлемые соли, сформулированные в сухие порошки в твердотельных частицах, которые сохраняют максимальную химическую и биологическую стабильность лекарственного средства. Частицы обеспечивают долговременную стабильность при хранении при высокой температуре, и, следовательно, позволяет доставлять субъекту стабильный и биологически эффективное лекарственное средство в течение длительного периода времени. Частицы суспендированы в носителях для суспензий для введения пациентам.

Частицы суспензии в носителях

В одном аспекте, носитель для суспензии обеспечивает устойчивую среду, в которой диспергируют состав из частиц лекарственного средства. Составы из частиц препарата являются химически и физически стабильными (как описано выше) в носителе для суспензии. Носитель для суспензии, как правило, включает один или более из полимеров и один или более из растворителей, которые образуют раствор с достаточной вязкостью, чтобы равномерно суспендировать частицы, содержащие препарат. Носитель для суспензии может включать дополнительные компоненты, в том числе, но не ограничиваясь ими, поверхностно-активные вещества, антиоксиданты и/или другие соединения, растворимые в носителе.

Вязкость носителя для суспензии, как правило, достаточна для предотвращения осаждения состава из частиц лекарственного средства во время хранения и для использования в способе доставки, например, в имплантируемом, осмотическом устройстве доставки. Носители для суспензии является биоразлагаемым, поскольку

носитель для суспензии распадается или разрушается в течение определенного периода времени в ответ на биологическую среду, в то время как частицы препарата растворяются в биологической среде, а активный фармацевтический ингредиент (т. е., препарат) в частице абсорбируются.

В вариантах осуществления носитель для суспензии является «однофазным» носителем для суспензии, что является твердой, полутвердой или жидкой гомогенной системой, которая физически и химически равномерный по всему объему.

Растворитель, в котором растворен полимер, может повлиять на характеристики композиции в виде суспензии, такие как поведение состава из частиц лекарственного средства во время хранения. Растворитель может быть выбран в комбинации с полимером, так что в результате носитель для суспензии покажет разделение фаз при контакте с водной средой. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения растворитель может быть выбран в комбинации с полимером, так что в результате носитель для суспензии покажет разделение фаз при контакте с водной средой, имеющей менее чем около 10% воды.

Растворитель может быть приемлемым растворителем, который не смешивается с водой. Растворитель также может быть выбран таким образом, чтобы полимер был растворим в растворителе в высоких концентрациях, таких как концентрации полимера более чем около 30%. Примеры растворителей, используемых в практике данного изобретения, включают, но не ограничиваются ими, лауриловый спирт, бензилбензоат, бензиловый спирт, лауриллактат, деканол (также называемый дециловый спирт), этилгексиллактат и длинноцепочечные (C8-C24) алифатические спирты, сложные эфиры или их смеси. Растворитель, используемый в носителе для суспензии может быть «сухим», то есть, иметь низкое содержание влаги. Предпочтительные растворители для применения при изготовлении носителя для суспензии включают лауриллактат, лауриловый спирт, бензилбензоат и их смеси.

Примеры полимеров для изготовления носителя для суспензии по настоящему изобретению, включают в себя, но не ограничиваются ими, сложный полиэфир (например, полимолочная кислота и сополимер полимолочной кислоты и полигликолевой кислоты), полимер, содержащий пирролидоны (например, поливинилпирролидон, имеющий молекулярную массу в диапазоне от около 2000 до около 1 000 000), сложный эфир или простой эфир ненасыщенного спирта (например, винилацетат), блок-сополимер полиоксиэтилена и полиоксипропилена блок-сополимер или их смесь. Поливинилпирролидон можно охарактеризовать по его К-значению (например, К-17), которое является индексом вязкости. В одном варианте осуществления полимер представляет собой поливинилпирролидон, имеющий молекулярную массу от 2000 до 1 000 000. В предпочтительном варианте осуществления полимер представляет собой поливинилпирролидон К-17 (как правило, имеющий приблизительный диапазон средней молекулярной массы 7900-10 800). Полимер, используемый в носителе для суспензии, может включать в себя один или более различных полимеров или могут включать в себя

различные типы одного полимера. Полимер, используемый в носителе для суспензии, также может быть сухим или иметь низкое содержание влаги.

Вообще говоря, носитель для суспензии для использования в данном изобретении может отличаться по составу на основании требуемых рабочих характеристик. В одном варианте осуществления носитель для суспензии может содержать от около 40% масс. до около 80% масс. полимера(-ов) и от около 20% масс. до 60% масс. полимера(-ов). Предпочтительные варианты осуществления носителя для суспензии включают носители, выполненные из комбинации полимера(-ов) и растворителя(ей) следующих соотношениях: около 25% масс. растворителя и около 75% масс. полимера; около 50% масс. растворителя и около 50% масс. полимера; около 75% масс. растворителя и около 25% масс. полимера. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления носитель для суспензии может содержать выбранные компоненты, а в других вариантах осуществления изобретения состоит в основном из выбранных компонентов.

Носители для суспензии может демонстрировать ньютоновскую вязкость. Носители для суспензии, как правило, изготовлены с возможностью обеспечения вязкости, которая поддерживает однородную дисперсию частиц состава в течение предварительно определенного периода времени. Это помогает облегчить изготовление состава в виде суспензии с возможностью обеспечения контролируемой доставки препарата, содержащегося в составе из частиц препарата. Вязкость носителя для суспензии может изменяться в зависимости от желаемого применения, размера и типа состава частиц, и нагрузки состава из частиц в носителе для суспензии. Вязкость носителя для суспензии может быть изменена путем изменения типа или относительного количества растворителя или используемого полимера.

Носитель для суспензии может иметь вязкость в диапазоне от около 100 пуаз до 1000000 пуаз, предпочтительно от около 1000 пуаз до 100000 пуаз. В предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения носители для суспензий, как правило, имеют вязкость при 33 °C от около 5000 до около 30 000 пуаз, предпочтительно от около 8000 до около 25 000 пуаз, более предпочтительно от около 10 000 до около 20 000 пуаз. В одном варианте осуществления носитель для суспензии имеет вязкость около 15000 пуаз, плюс или минус около 3000 пуаз, при температуре 33 °C. Вязкость может быть измерена при 33 °C, при скорости сдвига 10-4/с, с использованием реометра с плоскопараллельным зазором.

Носитель для суспензии может демонстрировать разделение фаз при контакте с водной средой; однако, как правило, носитель для суспензии не показывает по существу никакого разделения фаз в зависимости от температуры. Так, например, при температуре в диапазоне от около 0 °C до около 70 °C и при циклическом изменении температуры, например, циклическом изменении температуры от 4 °C до 37 °C до 4 °C, носитель для суспензии, как правило, не показывает разделения фаз.

Носитель для суспензии может быть получен путем объединения полимера и растворителя в сухих условиях, например, в сухом боксе. Полимер и растворитель, могут

быть объединены при повышенной температуре, например, от около 40 °С до около 70 °С и оставлены для сжижения и образования единой фазы. Ингредиенты могут быть смешаны в вакууме для удаления пузырьков воздуха, выделившихся из сухих ингредиентов. Ингредиенты могут быть объединены с использованием обычного смесителя, такого как смеситель с двойной спиральной лопаткой, или аналогичного смесителя, с установленной скоростью около 40 оборотов в минуту. Однако для смешивания ингредиентов также могут быть использованы более высокие скорости. После получения жидкого раствора из ингредиентов, носитель для суспензии может быть охлажден до комнатной температуры. Данные дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК) могут быть использованы для подтверждения того, что носитель для суспензии представляет собой одну фазу. Кроме того, компоненты носителя (например, растворитель и/или полимер) могут быть обработаны для существенного снижения количества или по существу удаления пероксидов (например, путем обработки метионином, см, например, публикация заявки на патент США № 2007-0027105).

Состав из частиц лекарственного средства добавляют в носитель для суспензии для образования состава в виде суспензии. В некоторых вариантах осуществления изобретения состав в виде суспензии может содержать состав из частиц препарата и носитель для суспензии, а в других вариантах осуществления изобретения он состоит в основном из состава из частиц препарата и носителя для суспензии.

Состав в виде суспензии может быть изготовлен путем диспергирования состава из частиц в носителе для суспензии. Носители для суспензии может быть нагрет и состав из частиц добавлен в носитель для суспензии в сухих условиях. Эти ингредиенты могут быть смешаны в вакууме при повышенной температуре, например, от около 40 °С до около 70 °С. Ингредиенты могут быть смешаны с достаточной скоростью, например, от около 40 об./мин. до около 120 об./мин., а также в течение достаточного количества времени, например, около 15 минут, для достижения однородной дисперсии состава из частиц в носителе для суспензии. Смеситель может быть смесителем с двойной спиральной лопаткой или другим подходящим смесителем. Полученная смесь может быть удалена из смесителя, запечатана в сухом контейнере, чтобы вода не загрязняла состав в виде суспензии, и оставлена для охлаждения до комнатной температуры до дальнейшего использования, например, введения в имплантируемое устройство доставки лекарств, контейнер с одной дозой или контейнер с несколькими дозами.

Состав в виде суспензии обычно имеет общее содержание влаги менее чем около 10% масс., предпочтительно менее чем около 5% масс и более предпочтительно менее чем около 4% масс.

В предпочтительных вариантах осуществления состав в виде суспензии по настоящему изобретению, является по существу однородным и текучим, чтобы обеспечить доставку состава с частицами лекарственного средства из осмотического устройства доставки субъекту.

Таким образом, компоненты носителя для суспензии обеспечивают

биосовместимость. Компоненты носителя для суспензии предлагают соответствующие физико-химические свойства для образования стабильных суспензий составов из частиц препарата. Такие свойства включают в себя, но не ограничиваются ими, следующие: вязкость суспензии; чистота носителя; остаточная влажность носителя; плотность носителя; совместимость с сухими порошками; совместимость с имплантируемыми устройствами; молекулярная масса полимера; устойчивость носителя; и гидрофобность и гидрофильность носителя. Такими свойствами можно манипулировать и контролировать, например, путем изменения состава носителя и манипуляции с соотношением компонентов, используемых в носителе для суспензии.

Составы в виде суспензии, описанные в данном документе, могут быть использованы в имплантируемом, осмотическом устройстве доставки для обеспечения непрерывной контролируемой и устойчивой доставки нулевого порядка соединения в течение продолжительного периода времени, например, в течение нескольких недель, месяцев, или до около одного года или более. Такое имплантируемое осмотическое устройство для доставки, как правило, способно доставлять состав в виде суспензии, содержащий препарат, с желаемой скоростью потока в течение требуемого периода времени. Состав в виде суспензии может быть помещен в имплантируемое осмотическое устройство доставки с помощью обычных способов.

Имплантируемая доставка

Доза и скорость доставки могут быть выбрана для достижения желаемой концентрации лекарственного средства в крови, как правило, в течение менее чем около 6 периодов полураспада лекарственного средства в теле субъекта после имплантации устройства. Концентрация препарата в крови выбрана таким образом, чтобы оказывать оптимальный терапевтический эффект препарата, избегая при этом нежелательных побочных эффектов, которые могут быть вызваны избыточной концентрацией препарата, при этом в то же время избегая пиковых и минимальных концентраций, которые могут вызывать побочные эффекты, связанный с пиковыми и минимальными концентрациями препарата в плазме.

Имплантируемое осмотическое устройство доставки обычно включает в себя резервуар, имеющий по меньшей мере одно отверстие, через которое доставляется состав в виде суспензии. Состав в виде суспензии может храниться в резервуаре. В предпочтительном варианте осуществления имплантируемое устройство доставки препарата представляет собой осмотическое устройство доставки, в котором доставка препарата выполняется посредством осмоса. Некоторые осмотические устройства доставки и их составные части были описаны, например, устройство для доставки DUROS® или аналогичные устройства (см., например, патенты США №№ 5,609,885; 5,728,396; 5,985,305; 5,997,527; 6,113,938; 6,132,420; 6,156,331; 6,217,906; 6,261,584; 6,270,787; 6,287,295; 6,375,978; 6,395,292; 6,508,808; 6,544,252; 6,635,268; 6,682,522; 6,923,800; 6,939,556; 6,976,981; 6,997,922; 7,014,636; 7,207,982 и 7,112,335; 7,163,688; публикации патентов США №№ 2005/0175701, 2007/0281024, 2008/0091176 и

2009/0202608).

Осмотическое устройство доставки, как правило, состоит из цилиндрического резервуара, который содержит осмотический двигатель, поршень и состав, содержащий препарат. Резервуар закрыт с одного конца полупроницаемой мембраной с контролируемой скоростью, а с другого конца - замедлителем диффузии, через который состав в виде суспензии, содержащий лекарственное средство, высвобождается из резервуара с препаратом. Поршень отделяет препарат от осмотического двигателя и использует уплотнение для предотвращения попадания воды из отсека осмотического двигателя в резервуар с препаратом. Замедлитель диффузии предназначен, в сочетании с составом, содержащим препарат, для предотвращения попадания жидкостей организма в резервуар с препаратом через отверстие.

Осмотическое устройство высвобождает лекарственное средство с заранее определенной скоростью на основании принципа осмоса. Внеклеточная жидкость поступает в осмотическое устройство для доставки через проницаемую мембрану пола непосредственно в солевом двигатель, который расширяется для приведения в действие поршня в медленной и даже доставках скорости. Движение поршня выталкивает препарат через отверстие или выходное отверстие при заданной скорости сдвига. В одном из вариантов осуществления данного изобретения резервуар осмотического устройства заполняется составом в виде суспензии, при этом устройство способно доставлять суспензионную композицию субъекту в течение длительного периода времени (например, около 1, около 3, около 6, около 9, около 10 и около 12 месяцев) с заранее определенной, терапевтически эффективной скоростью доставки.

Скорость высвобождения лекарственного средства из осмотического устройства для доставки, как правило, доставляет субъекту заранее определенную целевую дозу лекарственного средства, например, терапевтически эффективная суточная доза доставляется в течение суток; то есть, скорость высвобождения лекарственного средства из устройства обеспечивает по существу стабильную доставку субъекту лекарственного средства в терапевтической концентрации.

Как правило, для осмотического устройства доставки, объем полезной камеры для средства, содержащий состав с полезным средством, составляет от около 100 мкл до около 1000 мкл, более предпочтительно от около 120 мкл до 500 мкл, более предпочтительно между около 150 мкл и около 200 мкл.

Как правило, осмотическое устройство доставки имплантируется субъекту, например, субдермально или подкожно, для обеспечения подкожной доставки лекарственного средства. Устройство(-а) могут быть имплантированы субдермально или подкожно в одну или обе руки (например, во внутреннюю часть, наружную часть или заднюю часть плеча) или в брюшную полость. Предпочтительные места в брюшной области находятся под кожей живота в области ниже ребер и выше линии пояса. Для обеспечения количества мест для имплантации одного или более осмотических устройств доставки внутри брюшной полости, брюшная стенка может быть разделена на 4 квадранта

следующим образом: верхний правый квадрант расположен по меньшей мере на 2-3 сантиметра ниже правого ребра, например, по меньшей мере на около 5-8 сантиметров ниже правого ребра, и по меньшей мере 2-3 сантиметра вправо от срединной линии живота, например, по меньшей мере на около 5-8 сантиметров вправо от срединной линии живота; нижний правый квадрант расположен по меньшей мере на 2-3 сантиметра выше линии пояса, например, по меньшей мере на около 5-8 сантиметров выше линии пояса, и, по меньшей мере на 2-3 сантиметра вправо от срединной линии живота, например, по меньшей мере на около 5-8 сантиметров вправо от срединной линии живота; верхний левый квадрант расположен по меньшей мере на 2-3 сантиметра ниже левого ребра, например, по меньшей мере на около 5-8 сантиметров ниже левого ребра, и по меньшей мере на 2-3 сантиметра влево от срединной линии живота, например, по меньшей мере на около 5-8 сантиметров влево от срединной линии живота; а нижний левый квадрант расположен по меньшей мере на 2-3 сантиметра выше линии пояса, например, по меньшей мере на около 5-8 сантиметров выше линии пояса, и по меньшей мере на 2-3 сантиметра влево от срединной линии живота, например, по меньшей мере на около 5-8 сантиметров влево от срединной линии живота. Такое деление обеспечивает множество доступных мест для имплантации одного или более устройств за один или более раз. Имплантация и удаление осмотических устройств доставки, как правило, осуществляется медицинскими работниками с использованием местной анестезии (например, лидокаин).

Прекращение лечения пути удаления осмотического устройства доставки из субъекта является простым и обеспечивает важное преимущество немедленного прекращения доставки лекарственного средства субъекту.

Предпочтительно, осмотическое устройство доставки имеет отказоустойчивый механизм для предотвращения непреднамеренной избыточной или болюсной доставки лекарственного средства в такой теоретической ситуации как засорение или закупоривание выходной части (замедлителя диффузии), через которую доставляется лекарственное средство. Для предотвращения непреднамеренной избыточной или болюсной доставки препарата осмотического устройство для доставки сконструировано и изготовлено таким образом, что давление, необходимое для частичного или полного вытеснения или отделения замедлителя диффузии из резервуара превышает давление, необходимое для частичного или полного вытеснения или отделения полупроницаемой мембраны в объеме, необходимом для снятия давления в резервуаре. В таком случае давление будет нарастать внутри устройства до тех пор, пока оно не вытолкнет полупроницаемую мембрану на другом конце наружу, тем самым сбрасывая осмотическое давление. Осмотическое устройство доставки затем статичным и больше не будет доставить препарат при условии, что поршень герметично прилегает к резервуару.

Составы в виде суспензии могут быть также использованы в инфузионных насосах, например, осмотических насосах ALZET® (DURECT Corporation, Купертино, Калифорния), которые представляют собой миниатюрные инфузионные насосы для

непрерывного дозированного введения лабораторным животным (например, мышам и крысам).

Наборы

В данном изобретении также предложен набор для лечения диабета типа I, содержащий аналог амилина в стандартной дозировке, которая составляет (i) по меньшей мере 5 мкг на килограмм массы тела субъекта в сутки или (ii) дозу ED75 или выше аналога амилина. В некоторых вариантах осуществления наборы содержат аналог амилина в форме, совместимой с непрерывным введением.

В определенных вариантах осуществления набор содержит фармацевтическую композицию по данному изобретению. В некоторых вариантах осуществления набор содержит фармацевтическую композицию, содержащую аналог амилина по данному изобретению и фармацевтически приемлемый носитель, адъювант или наполнитель.

В определенных вариантах осуществления набор содержит имплантируемое осмотическое устройство доставки по данному изобретению. В определенных вариантах осуществления набор содержит аналог амилина по данному изобретению или его фармацевтическую композицию.

В некоторых вариантах осуществления набор дополнительно содержит инсулин.

В определенных вариантах осуществления набор содержит герметичный контейнер, одобренный для хранения фармацевтических композиций, контейнер, содержащий одну из вышеописанных фармацевтических композиций. В некоторых вариантах осуществления герметичный контейнер сводит к минимуму контакт воздуха с ингредиентами. В комплекте должна быть инструкция по применению состава и информация о составе.

Представленные в данном документе наборы могут включать информацию о назначении, например, для пациента или поставщика медицинских услуг, или в виде этикетки на упакованном фармацевтическом составе. Информация о назначении может включать, например, информацию об эффективности, дозировке и введении, противопоказаниях и побочных реакциях, относящихся к фармацевтическому составу.

Предложенный в данном документе комплект может быть разработан для условий, необходимых для надлежащего обслуживания компонентов, находящихся в нем (например, для охлаждения или замораживания). Набор может содержать этикетку или вкладыш в упаковку, включая идентифицирующую информацию о компонентах и инструкции по их применению (например, параметры дозирования, клиническую фармакологию активного ингредиента(ов), включая механизм(ы) действия, фармакокинетику и фармадинамику, побочные эффекты, противопоказания и др.).

Каждый компонент набора может быть заключен в отдельный контейнер, и все различные контейнеры могут находиться в одной упаковке. Этикетки или вкладыши могут содержать информацию о производителе, такую как номера партий и даты истечения срока годности. Этикетка или вкладыш в упаковку могут быть, например, интегрированы в физическую структуру, содержащую компоненты, содержаться отдельно в физической

структуре или прикреплены к компоненту набора.

Пример

Следующие пример приводится с тем, чтобы предоставить специалистам в данной области техники полное раскрытие и описание того, как применять на практике способов настоящее изобретение, однако он не претендует ни на ограничение объема того, что заявители рассматривают как свое изобретение. Были приняты меры для того, чтобы сохранить точность по отношению к использованным цифрам (например, количествам, концентрациям и процентные изменения), однако следует учитывать некоторые экспериментальные ошибки и отклонения. Если не указано иное, температура указана в градусах по Цельсию, а давление равно атмосферному или близко к нему.

Пример 1: Доклиническая оценка постоянной высокой активности аналога амилина в сочетании с инсулинотерапией для лечения диабета 1 типа

Методы

Животные модели

Самцам крыс Wistar внутривенно (датчик в брюшной аорте) имплантировали монитор непрерывного уровня глюкозы HD-XG (Data Sciences, Сент-Пол, Миннесота) (Brockway, Tiesma et al. 2015). Эта система позволяет непрерывно регистрировать концентрацию глюкозы в крови в течение 8 недель.

После восстановления после хирургического вмешательства и возобновления нормального приема пищи начинали регистрировать показания глюкозы таким образом, чтобы включить по меньшей мере 4 дня записи без диабета для каждой крысы.

Чтобы вызвать инсулинопенический диабет (тип 1), крыс не кормят в течение ночи и им внутривенно вводили дозу стрептозотоцина (СТЗ) 60 мг/кг (Gajdosik, Gajdosikova et al. 1999). Показатели уровня глюкозы, полученные с помощью телеметрической системы, используются для повышения выживаемости после СТЗ путем подкожного введения добавки глюкозы в случае гипогликемии, которая часто сопровождает первоначальный выброс инсулина после токсичности β -клеток. Затем телеметрию используют для подтверждения гипергликемии (среднее значение уровня глюкозы в плазме >300 мг/дл) и для определения необходимости повторного лечения СТЗ крысам с недостаточной гипергликемией.

При развитии гипергликемии животным ежедневно вводят по скользящей шкале инсулин длительного действия (инсулин детемир; Levemir NOVO), чтобы устранить кетоны с мочой, но сохранить глюкозурию на уровне 5%, что определяется ежедневным тестированием KETOSTIX и GLUCOSTIX соответственно (Young, Crocker et al. 1991).

Обработка

Животных относят к одной из 3 групп дозирования инсулина ($n=5$ /группа). Одна когорта определяется как группа, необходимая для достижения -ve мочевых кетонов и +ve мочевой глюкозы, как только что описано, но не превышающая общую дозу 2 Ед/день. Вторая когорта представляет собой группу с высокой дозой инсулина, в 3 раза превышающую группу 1. В третьей когорте доза инсулина составляет 50% от дозы в

когорте 1.

После по меньшей мере 1 недели стабилизации дозы инсулина животных подвергают каждому из 5 дополнительных курсов лечения, включающих введение агониста амилина длительного действия, соединения A2, в дозах 1, 3, 10, 30 или 100 мкг/день в виде однократной ежедневной дозы в дополнение к фиксированной суточной дозе Левемира. (В качестве альтернативы в этих исследованиях можно было бы использовать прамлинтид относительно короткого действия в качестве аналога амилина.) Период полувыведения соединения A2 у крыс составляет 32-37 часов, что аналогично таковому у связанного с альбумином инсулина детемира. Таким образом, ежедневная доза каждого из них поддерживает относительно постоянные концентрации каждого и относительное соотношение концентраций.

Каждый уровень дозы соединения A2 поддерживается в течение 1 недели, в течение которой данные об уровне глюкозы регистрируются с помощью телеметрии. Порядок изменения доз соединения A2 определяется ортогональным латинским квадратом 5×5. То есть каждое животное получает каждую дозу соединения A2, но в порядке, который уникален по сравнению с другими 4 животными в той же когорте инсулина. Это лечение уравнивает зависящие от времени или порядка изменения метаболического статуса каждого животного, такие как восстановление способности секретировать инсулин и приспособление к эффектам агониста амилина. Пример такого латинского квадрата показан в таблице 3.

Таблица 3. Порядок каждой из 5 обработок (1-5) показан сверху вниз в столбцах для каждой из 5 разных крыс.

1	2	3	4	5
2	3	5	1	4
3	5	4	2	1
4	1	2	5	3
5	4	1	3	2

Анализ данных

Значения уровня глюкозы в плазме за последние 4 дня каждой комбинации инсулин/A2 суммируют и анализируют в соответствии с частотой появления (кумулятивное распределение). По аналогии с оценкой клинической пользы (иногда называемой «клинической полезностью») по времени в диапазоне (TIR) в исследованиях диабета на людях (Beck, Bergenstal et al. 2018), значения глюкозы классифицируются по категориям (<70, 70-180 и >180 мг/дл). Также производятся дальнейшие сокращения (> 250 мг/дл). Для каждой комбинации также выводятся параметрические дескрипторы значений глюкозы (средние значения и значения SD, линейные и логарифмические, где данные не являются нормальными, а являются логарифмически нормальными).

Интерпретация данных

Более высокая польза (т. е. полезность) указывается при наибольшем TIR, при

условии, что значения ниже 70 мг/дл не встречаются чаще. Более высокая польза также указывается, когда стандартное отклонение для распределения значений глюкозы является наименьшим.

Возможные результаты: Распределение значений глюкозы крови до и после СТЗ

Кумулятивное распределение значений уровня глюкозы в крови до и после лечения СТЗ показано на фиг. 1. Диапазон 70-180 мг/дл показан вертикальными пунктирными линиями. 98,5% значений до СТЗ попали в диапазон (TIR=98,8%). Значение после СТЗ, получавшего Левемир 2 ЕД/день, составило 64,9%; 5,8% значений были <70 мг/дл.

Индексы опасности

Концентрация глюкозы в крови: Время ниже 70 мг/дл (гипогликемический)

Более высокие дозы инсулина в отсутствие соединения А2 заметно увеличивают долю времени, проведенного ниже 70 мг/дл. Более высокие числовые значения указывают на большую интенсивность признаков опасности.

Таблица 4: Соотношения инсулина (ЕД/день) и соединения А2 (мкг/кг/день) при раздельном совместном введении. Значения в каждой ячейке соответствуют «показателям опасности», где более высокие значения приписываются менее эффективным соотношениям, которые способствуют гипогликемии.

<i>единицы (Ед)</i> <i>инсулин</i> <i>в сутки</i>	<i>Введение А2 в мкг/кг/сутки</i>					
	0	1	3	10	30	100
До СТЗ	0,6					
1 Ед/сутки	1,2	1,2	1,2	1,2	1,1	1,0
2 Ед/сутки	5,8	5,8	5,8	5,7	5,5	4,6
6 Ед/сутки	18,3	18,3	18,2	17,9	17,2	14,6

Примечательно, что в табл. 4, относительно высокие дозы инсулина пролонгированного действия (6 ЕД/день) соответствуют менее эффективным соотношениям, допускающим относительно высокие «показатели риска» возникновения гипогликемии.

Концентрация глюкозы в крови: Время выше 180 мг/дл (гипергликемический)

Более низкие дозы инсулина, как правило, связаны с большей долей значений глюкозы, превышающей 180 мг/дл. Эта пропорция снижается при одновременном введении соединения А2. Более высокие числовые значения указывают на большую интенсивность признаков опасности.

Таблица 5: Соотношения инсулина (ЕД/день) и соединения А2 (мкг/кг/день) при раздельном совместном введении

<i>единицы (Ед)</i> <i>инсулин</i>	<i>Введение А2 в мкг/кг/сутки</i>					
	0	1	3	10	30	100

<i>в сутки</i>						
До СТЗ	0,2					
1 Ед/сутки	60,2	59,8	59,9	56,0	47,6	18,1
2 Ед/сутки	29,4	29,2	28,8	27,3	23,2	8,8
6 Ед/сутки	2,8	2,8	2,7	2,6	2,2	0,8

Примечательно что в таблице 5, относительно низкие дозы инсулина пролонгированного действия (6 ЕД/день) и низкие дозы соединения А2 (0-10 мкг/кг/день) соответствуют менее эффективным соотношениям, допускающим относительно высокие «индексы опасности» для возникновения гипергликемии.

Индексы выгоды

Время в диапазоне

Ниже показана доля времени, проведенного с уровнем выше 70, но ниже 180 мг/дл. Наибольшее число наблюдалось при высокой дозе инсулина и высокой дозе соединения А2. Однако высокие дозы инсулина также влекли за собой гораздо более высокий риск гипогликемии. Таким образом, создается индекс выгоды во времени (таблица 6). Более высокие числовые значения указывают на большую интенсивность знаков преимущества (т. е. там, где TIR максимально).

Таблица 6: Соотношения инсулина (ЕД/день) и соединения А2 (мкг/кг/день) при раздельном совместном введении

<i>единицы (Ед)</i> <i>инсулин</i> <i>в сутки</i>	<i>Введение А2 в мкг/кг/сутки</i>					
	0	1	3	10	30	100
До СТЗ	99,2					
1 Ед/сутки	39,5	39,0	39,9	42,8	51,3	81,0
2 Ед/сутки	64,9	65,0	65,5	67,0	71,3	86,5
6 Ед/сутки	78,9	79,0	79,1	79,5	80,6	84,5

Примечательно, что в таблице 6, относительно высокие дозы соединения А2 (100 мкг/кг/день), даже при отдельном совместном введении с низкими дозами инсулина длительного действия (1 ЕД/сутки), соответствуют более эффективным соотношениям, которые обеспечивают относительно высокие «показатели пользы» для времени в диапазоне (TIR, т. е. время, в течение которого пациент с диабетом 1 типа поддерживает концентрацию глюкозы в крови примерно от 70 мг/дл до 180 мг/дл).

Индекс избегания гипогликемии

Показатели полезного действия по времени в таблице 6, часто используемые для описания преимуществ различных терапевтических вмешательств, не учитывают тот факт, что риски гипергликемии и гипогликемии не обязательно симметричны. Длительные периоды гипергликемии способствуют развитию необратимых микрососудистых заболеваний, и их следует избегать. Гипергликемия также вызывает

осмотические и электролитные нарушения, поэтому ее следует избегать. Однако отклонения в пределах гипергликемического диапазона, например, в течение часа, не представляют такой опасности, как отклонения в гипогликемическом диапазоне той же продолжительности. Опасность гипогликемии редко бывает цитотоксической, но чаще носит контекстуальный характер и связана с потерей волевого контроля в ситуациях, когда контроль необходим. Примеры включают вождение автомобиля, работу с механизмами или уход за детьми. Чтобы учесть насущную необходимость избегать острой гипогликемии, в данном документе построен индекс, отражающий асимметрию опасностей. Этот индекс пользы взвешен таким образом, что опасность быть ниже 70 мг/дл в 5 раз выше, чем опасность быть выше 180 мг/дл. Более высокие числовые значения указывают на большую интенсивность признаков выгоды (т. е. там, где TIR максимально, с учетом взвешенного снижения опасностей). Наиболее выгодные соотношения теперь смещаются в сторону более низких доз инсулина и высоких фиксированных доз соединения A2, в отличие от модели, показанной в таблице 6 для времени в диапазоне:

Таблица 7: Соотношения инсулина (ЕД/день) и соединения A2 (мкг/кг/день) при раздельном совместном введении

<i>единицы (ЕД)</i> <i>инсулин</i> <i>в сутки</i>	<i>Введение A2 в мкг/кг/сутки</i>					
	0	1	3	10	30	100
До СТЗ	98,8					
1 ЕД/сутки	33,8	34,2	35,1	38,1	46,8	77,1
2 ЕД/сутки	41,6	41,9	42,4	44,2	49,5	68,0
6 ЕД/сутки	5,7	5,9	6,3	7,7	11,8	26,0

Примечательно что в таблице 7, относительно высокие дозы соединения A2 (100 мкг/кг/день) и низкие дозы инсулина пролонгированного действия (1 ЕД/день) соответствуют более эффективным соотношениям, которые обеспечивают относительно высокие «показатели пользы» для TIR.

Сущность изобретения

Комбинации фиксированной дозы аналога амилаина и переменного дозирования инсулина по-разному влияют на распределение значений глюкозы. Людям с инсулинозависимым диабетом (диабет 1 типа и диабет 2 типа в терминальной стадии) необходимо сбалансировать минимизацию долгосрочной опасности микрососудистых заболеваний из-за устойчивой гипергликемии и острых рисков гипогликемии, которые включают не только ее телесные эффекты, но и также ситуационные опасности, возникающие при нейрогликопении.

Если придать более высокое значение опасности гипогликемии, становится очевидным, что наибольшая польза наблюдается при сниженных дозах инсулина в сочетании с высокой (супрафизиологической) активностью амилаина.

Ссылки

Beck, R. W., R. M. Bergenstal, T. D. Riddlesworth, C. Kollman, Z. Li, A. S. Brown and K. L. Close (2018). "Validation of Time in Range as an Outcome Measure for Diabetes Clinical Trials." *Diabetes Care*.

Brockway, R., S. Tiesma, H. Bogie, K. White, M. Fine, L. O'Farrell, M. Michael, A. Cox and T. Coskun (2015). "Fully Implantable Arterial Blood Glucose Device for Metabolic Research Applications in Rats for Two Months." *Journal of Diabetes Science and Technology* 9(4): 771-781.

Gajdosik, A., A. Gajdosikova, M. Stefek, J. Navarova and R. Hozova (1999). "Streptozotocin-induced experimental diabetes in male Wistar rats." *Gen Physiol Biophys* 18 Spec No: 54-62.

Young, A. A., L. B. Crocker, D. Wolfe-Lopez and G. J. Cooper (1991). "Daily amylin replacement reverses hepatic glycogen depletion in insulin-treated streptozotocin diabetic rats." *FEBS Lett* 287(1-2): 203-205.

Young, A. A., W. Vine, B. R. Gedulin, R. Pittner, S. Janes, L. S. L. Gaeta, A. Percy, C. X. Moore, J. E. Koda, T. J. Rink and K. Beaumont (1996). "Preclinical pharmacology of pramlintide in the rat: comparisons with human and rat amylin." *Drug Dev Res* 37(4): 231-248.

Другие варианты осуществления

Хотя способы данного изобретения были описаны вместе с их подробным описанием, вышеприведенное описание предназначено для иллюстрации, а не для ограничения объема данных способов, которые определяются объемом прилагаемой формулы изобретения. Другие аспекты, преимущества и модификации находятся в рамках объема следующей формулы изобретения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения диабета 1 типа у субъекта-человека, включающий введение субъекту фармацевтической композиции, содержащей аналог амилина в терапевтически эффективной дозе:

по меньшей мере 5 мкг на килограмм массы тела субъекта в сутки; или
которая соответствует или превышает дозу ED75 аналога амилина.

2. Способ по п. 1, дополнительно включающий постоянное поддержание концентрации аналога амилина у субъекта, равной или превышающей дозу аналога амилина EC75.

3. Способ по п. 1 или п. 2, включающий непрерывное введение аналога амилина.

4. Способ по п. 1 или п. 2, включающий непрерывное введение аналога амилина посредством имплантируемого устройства доставки лекарственного средства.

5. Способ по п. 4, в котором имплантируемое устройство доставки лекарственного средства представляет собой осмотическое устройство доставки лекарственного средства.

6. Способ по п. 1 или п. 2, включающий непрерывное введение аналога амилина посредством неимплантируемого устройства доставки лекарственного средства.

7. Способ по п. 1 или п. 2, включающий непрерывное введение аналога амилина посредством инъекции один раз в неделю.

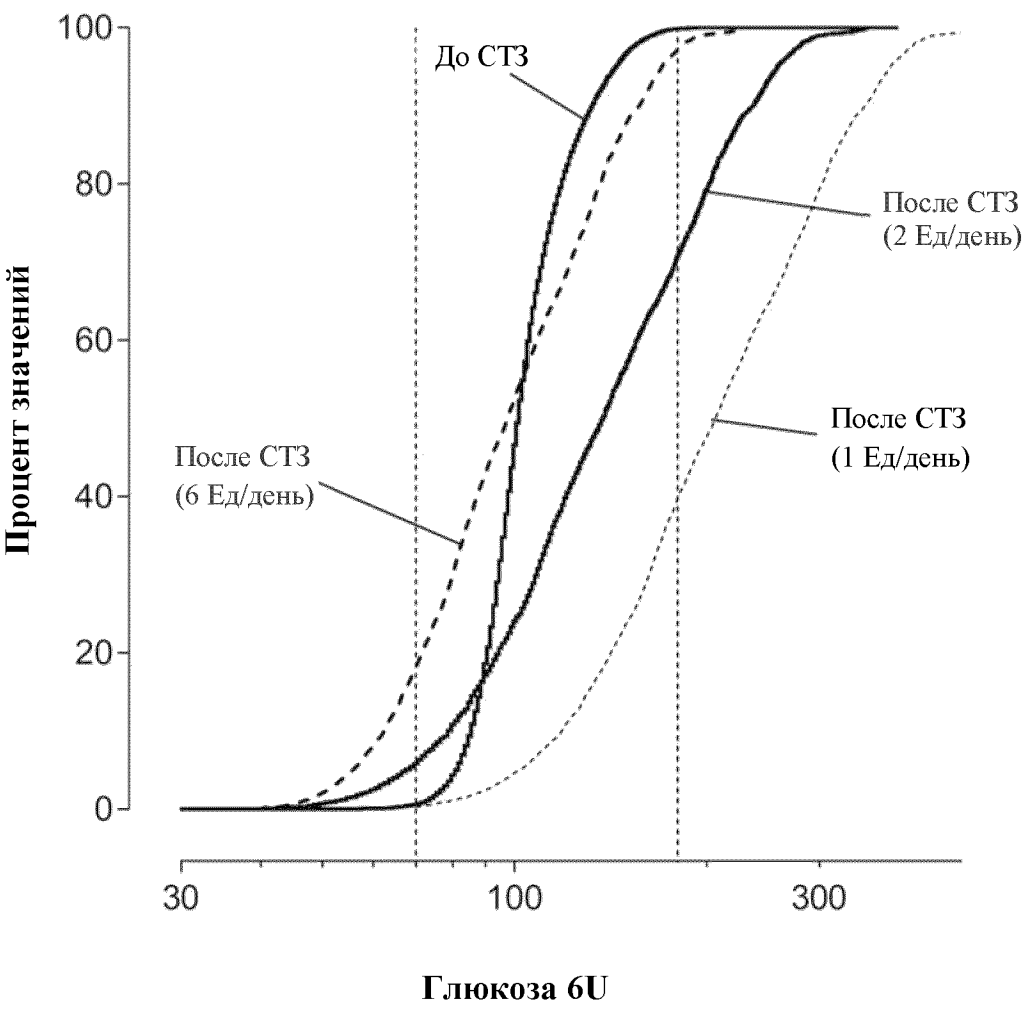
8. Способ по п. 1 или п. 2, в котором аналог амилина представляет собой прамлинтид.

9. Способ по п. 1 или п. 2, в котором аналог амилина представляет собой соединение A2 (SEQ ID NO:2).

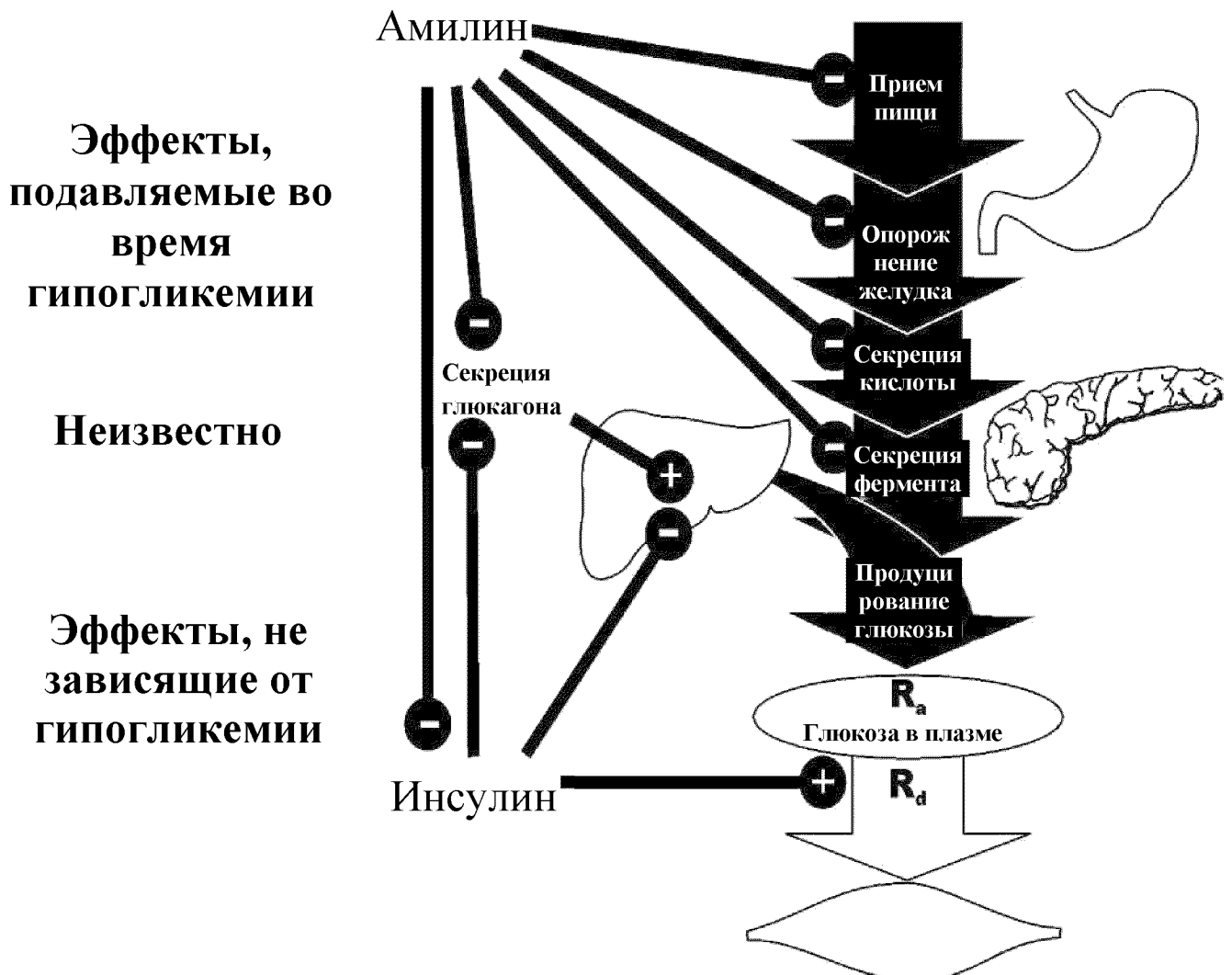
10. Способ по п. 1 или п. 2, дополнительно включающий отдельное введение инсулина.

По доверенности

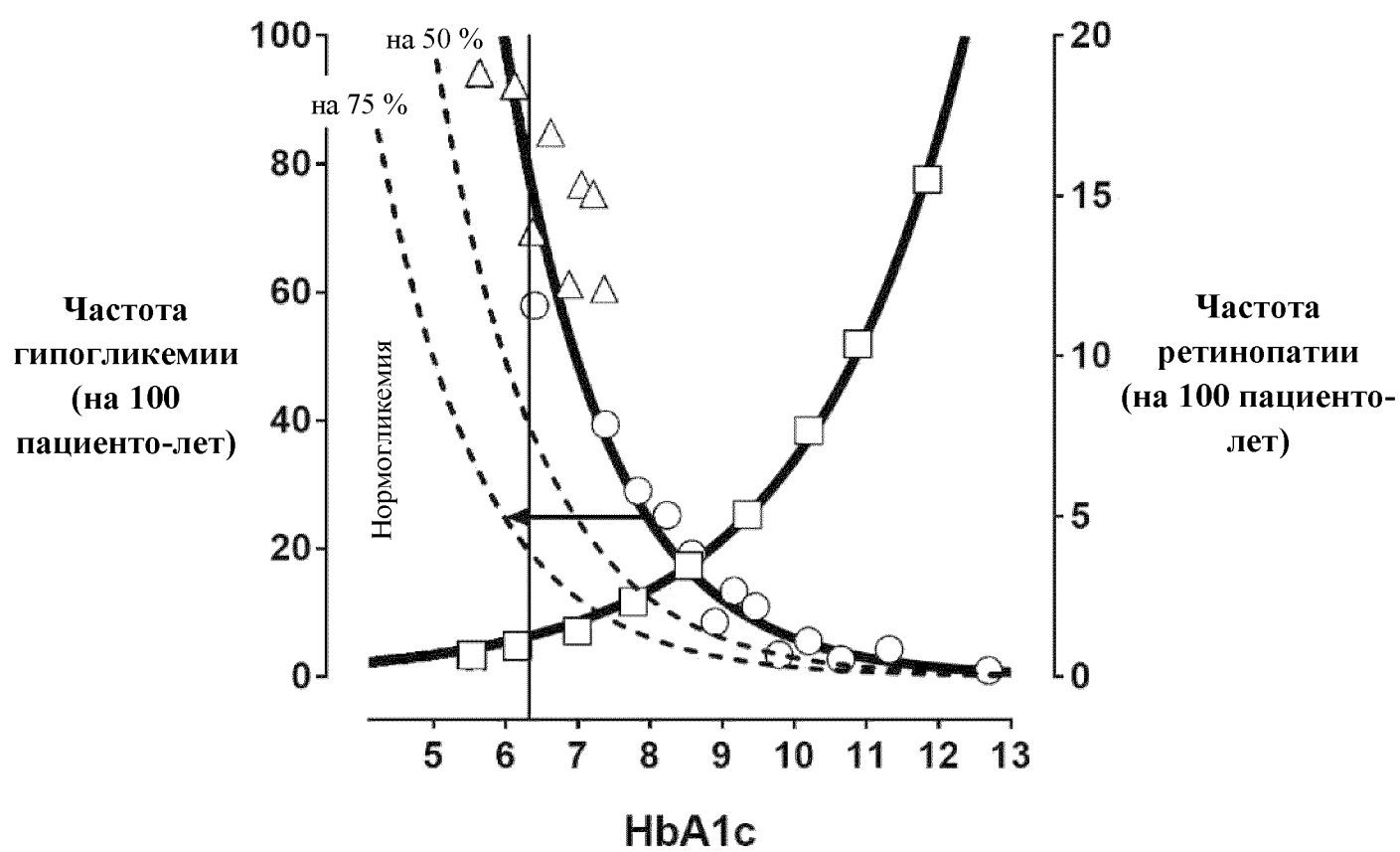
Фиг. 1



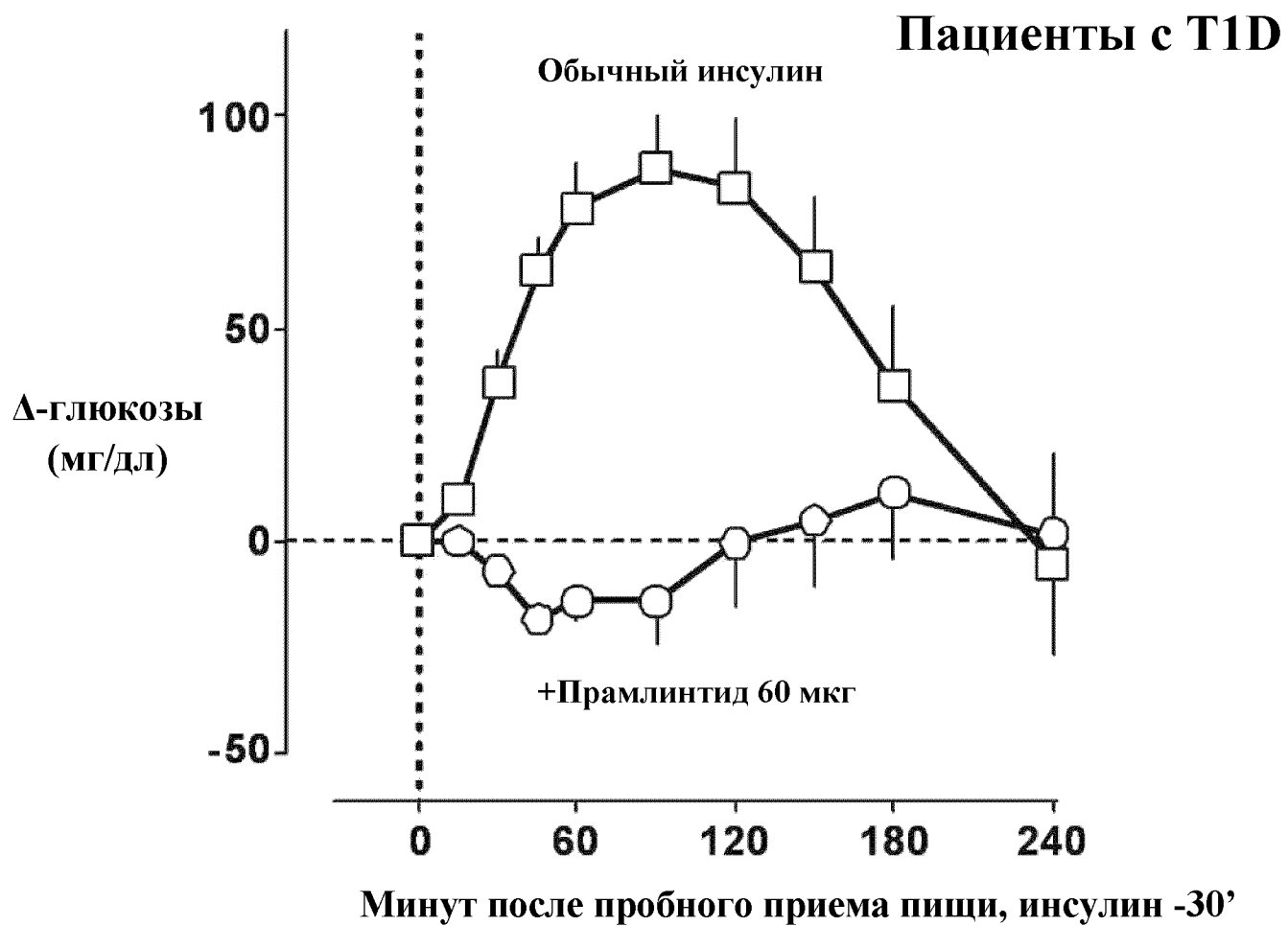
Фиг. 2



Фиг. 3



Фиг. 4



Фиг. 5

