

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202292978** (13) **A1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2023.02.08

(51) Int. Cl. **C07K 14/605** (2006.01)
A61K 38/26 (2006.01)
A61K 9/00 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2021.04.16

**(54) СЕЛЕКТИВНЫЕ К РЕЦЕПТОРУ ГЛЮКАГОНА ПЕПТИДЫ ДЛИТЕЛЬНОГО
ДЕЙСТВИЯ И СПОСОБЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ**

(31) **63/011,641**

(32) **2020.04.17**

(33) **US**

(86) **PCT/US2021/027763**

(87) **WO 2021/212026 2021.10.21**

(88) **2021.11.25**

(71) Заявитель:

ИЗО ТЕРАПЬЮТИКС, ИНК. (US)

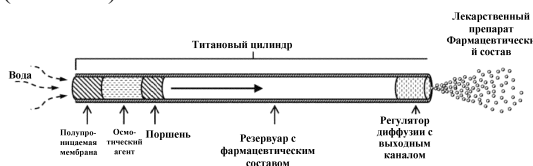
(72) Изобретатель:

**Блэквелл Уилльям, Сривастава
Вед П. (US)**

(74) Представитель:

Медведев В.Н. (RU)

(57) Изобретение относится к полипептидам, представляющим собой аналоги глюкагона человека длительного действия. Представленные в данном документе полипептиды-аналоги глюкагона обладают предпочтительными физико-химическими свойствами по сравнению с эндогенными и известными синтетическими полипептидами-аналогами глюкагона человека, такими свойствами, как более длительные периоды полувыведения ($t_{1/2}$) (т.е. обладают "длительным действием"), улучшенной растворимостью и термической стабильностью. Данное изобретение также относится к способам применения представленных в данном документе полипептидов-аналогов глюкагона в ряде терапевтических показаний, а также к способам получения указанных полипептидов. Представленные в данном документе полипептиды-аналоги глюкагона особенно применимы в способах лечения метаболических заболеваний или нарушений, таких как сахарный диабет 2-го типа, для лечения ожирения и обеспечения потери веса, а также в способах лечения неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП) и/или неалкогольного стеатогепатита (НАСГ).



A1

202292978

202292978

A1

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-576249EA/019

СЕЛЕКТИВНЫЕ К РЕЦЕПТОРУ ГЛЮКАГОНА ПЕПТИДЫ ДЛИТЕЛЬНОГО ДЕЙСТВИЯ И СПОСОБЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ

Перекрестная ссылка на родственные заявки

Данная заявка испрашивает приоритет относительно предварительной заявки на патент США № 63/011641, поданной 17 апреля 2020 года, которая включена в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте.

Область техники

Данное изобретение относится к соединениям, которые представляют собой селективные к рецептору глюкагона пептиды, и способам их получения. В данном изобретении также представлены фармацевтически приемлемые композиции, содержащие соединения согласно данному изобретению, и способы применения указанных композиций в лечении различных нарушений.

Уровень техники

Глюкагон представляет собой пептидный гормон, вырабатываемый альфа-клетками поджелудочной железы, который повышает концентрацию глюкозы в крови. Его действие противоположно таковому инсулина, который снижает концентрацию глюкозы. Поджелудочная железа вырабатывает глюкагон, когда концентрация глюкозы в крови падает слишком низко. Глюкагон стимулирует печень преобразовывать запасенный гликоген в глюкозу, которая поступает в кровоток. Уровни глюкозы в крови стимулируют высвобождение инсулина. Инсулин позволяет глюкозе проникать внутрь и использоваться инсулин-зависимыми тканями. Следовательно, глюкагон и инсулин являются частью системы обратной связи, которая удерживает уровень глюкозы в крови на стабильный уровне.

Глюкагон и глюкагоноподобный пептид-1 (ГПП-1, англ. «GLP-1») - нейропептид, образуются из препроглюкагона - полипептида-предшественника, состоящего из 158 аминокислот, который процессируется в различных тканях с образованием ряда различных пептидов, происходящих из проглюкагона. Данные происходящие из проглюкагона пептиды, которые включают в себя, например, глюкагон, ГПП-1, глюкагоноподобный пептид-2 (ГПП-2, англ. «GLP-2») и оксинтомодулин (ОКМ, англ. «ОХМ»), участвуют в широком спектре физиологических функций, включительно с гомеостазом глюкозы, секрецией инсулина, опорожнением желудка и ростом кишечника, а также регуляцией приема пищи. Глюкагон человека имеет следующую аминокислотную последовательность: HSQGTFTSDYSKYLDSSRAQDFVQWLMNT-OH (SEQ ID NO: 300). Существует потребность в терапевтических агентах и способах терапии, которые имитируют активность глюкагона.

Краткое описание сущности изобретения

В настоящее время обнаружено, что соединения согласно данному изобретению и их фармацевтически приемлемые композиции эффективны в качестве пептидов,

селективных к рецептору глюкагона (т. е. аналогов глюкагона). Такие соединения имеют следующую общую формулу:

Выделенный полипептид, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 80:

X_1 SHGTFTSX₉YSKYLX₁₅X₁₆X₁₇X₁₈AX₂₀X₂₁FX₂₃X₂₄WX₂₆EX₂₈E-Z-хвост-(OH/NH₂) (SEQ ID NO: 80), или его фармацевтически приемлемая соль, где:

X₁ представляет собой Y или ацетил-Y;

X₉ представляет собой D или E;

X₁₅ представляет собой D, E или K;

X₁₆ представляет собой Aib или K;

X₁₇ представляет собой K;

X₁₈ представляет собой K, R или Y;

X₂₀ представляет собой E, K, Q или S;

X₂₁ представляет собой E или K;

X₂₃ представляет собой Aib или V;

X₂₄ представляет собой Aib, E, K, Q или S;

X₂₆ представляет собой E, L или Q;

X₂₈ представляет собой D, E, K, N, Q, S или N-метилглутамат;

Z-хвост отсутствует или выбран из группы, состоящей из PSSGAPPPS (SEQ ID NO: 90), PSSGEPPPS (SEQ ID NO: 91), PSSGKPPPS (SEQ ID NO: 92) или PSSGSPPPS (SEQ ID NO: 93);

при этом, если X₁₅, X₁₆, X₁₇, X₁₈, X₂₀ или X₂₁ представляют собой K, то указанный остаток лизина необязательно ковалентно связан с липофильным заместителем, необязательно через спейсер,

при условии, что полипептид содержит по меньшей мере один остаток, ковалентно связанный с липофильным заместителем, необязательно через спейсер; и

при этом выделенный полипептид необязательно дополнительно содержит лактамный мостик, образованный посредством амидной связи между боковыми цепями лизина и аспарагиновой кислоты или между боковыми цепями лизина и глутаминовой кислоты, при этом остатки, образующие указанный лактамный мостик, расположены в положениях X₂₀ и X₂₄ или в положениях X₂₄ и X₂₈.

Дополнительные иллюстративные соединения представлены в таблице 3 данного документа.

Соединения согласно данному изобретению были разработаны для достижения длительных периодов полужизни ($t_{1/2}$) и, следовательно, описаны в данном документе как селективные к рецептору глюкагона пептиды «длительного действия» (или аналоги глюкагона).

Соединения согласно данному изобретению и их фармацевтически приемлемые композиции полезны для лечения множества заболеваний, нарушений или патологических состояний, связанных с рецептором глюкагона человека. Такие заболевания, нарушения

или патологические состояния включают в себя метаболические заболевания или нарушения, такие как диабет типа 2, ожирение и необходимость достижения потери веса. В определенных вариантах осуществления данное изобретение относится к способам лечения неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП, англ. «NAFLD») и/или неалкогольного стеатогепатита (НАСГ, англ. «NASH»).

Краткое описание графических материалов

На фиг. 1 изображена схема поперечного разреза репрезентативной мини-помпы для доставки лекарственных препаратов.

На фиг. 2 показана активность глюкагона, эксенатида и соединения А6 (SEQ ID NO: 6) в отношении рецепторов ГПП-1 и глюкагона человека, яванской макаки и крысы.

На фиг. 3 показано изменение концентрации А6 в плазме крови после болюсной инъекции и внутривенной инфузии.

Подробное описание сущности изобретения

Общее описание определенных вариантов осуществления данного изобретения

Соединения согласно данному изобретению и их фармацевтические композиции полезны в качестве модуляторов рецептора глюкагона, в частности - в качестве модуляторов рецептора глюкагона человека, и более конкретно - в качестве агонистов рецептора глюкагона человека. Данное изобретение также относится к способам получения и применения таких соединений, т. е. полипептидов - аналогов глюкагона, обладающих длительным действием. Данные полипептиды - аналоги глюкагона особенно полезны в способах лечения метаболических заболеваний или нарушений, таких как диабет типа 2, ожирение, и в способах, обеспечивающих потерю веса. В определенных вариантах осуществления данное изобретение относится к способам лечения неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП) и/или неалкогольного стеатогепатита (НАСГ).

В определенных вариантах осуществления в данном изобретении представлен выделенный полипептид, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 80:

$X_1\text{SHGTFTSX}_9\text{YSKYLX}_{15}\text{X}_{16}\text{X}_{17}\text{X}_{18}\text{AX}_{20}\text{X}_{21}\text{FX}_{23}\text{X}_{24}\text{WX}_{26}\text{EX}_{28}\text{E-Z-хвост-(OH/NH}_2\text{)}$
(SEQ ID NO: 80), или его фармацевтически приемлемая соль.

Определения

Следует понимать, что употребляемая в данном документе терминология предназначена исключительно для описания конкретных вариантов осуществления данного изобретения и не предназначена быть ограничивающей. При употреблении в данном описании и в прилагаемой формуле данного изобретения формы единственного числа включают в себя ссылку на множественное число, если контекст явным образом не указывает иное. Так, например, ссылка на «растворитель» включает в себя комбинацию из двух или большего числа таких растворителей, ссылка на «пептид» включает в себя один или большее число пептидов или смесь пептидов, ссылка на «лекарственный препарат» включает в себя один или большее число лекарственных препаратов, ссылка на

«устройство осмотической доставки» включает в себя одно или большее число устройств осмотической доставки, и тому подобное. Если специально не оговорено или не очевидно из контекста, при употреблении в контексте данного документа термин «или» понимается как включительный и охватывает как «или», так и «и».

Если специально не оговорено или не очевидно из контекста, при употреблении в контексте данного документа 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 не очевидно из контекста, все числовые значения, представленные в данном документе, модифицированы термином «около».

Если конкретно не указано иное или иное не очевидно из контекста, при употреблении в контексте данного документа термин «по существу» понимается как находящийся в пределах узкого диапазона вариаций или иного нормального допуска, принятого 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, употребляемые в данном документе, имеют такое же значение, которое обычно понимается рядовым специалистом в области техники, к которой относится данное изобретение. Хотя в практике данного изобретения могут быть использованы другие способы и материалы, аналогичные или эквивалентные описанным в данном документе, материалы и способы, описанные в данном документе, являются предпочтительными.

В описании и формуле данного изобретения будет употребляться следующая терминология в соответствии с определениями, изложенными ниже.

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

Термины «пептид», «полипептид» и «белок» употребляются в данном документе взаимозаменяемо и обычно относятся к молекуле, содержащей цепь из двух или большего числа аминокислот (например, наиболее типично, L-аминокислот, но также включительно, например, с D-аминокислотами, модифицированными аминокислотами, аналогами аминокислот и миметиками аминокислот).

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения встречающиеся в природе L-аминокислоты обозначены либо стандартными трехбуквенными, либо заглавными однобуквенными обозначениями аминокислот из таблицы 1. В других

вариантах осуществления данного изобретения встречающиеся в природе L-аминокислоты и D-аминокислоты обозначены либо стандартными трехбуквенными, либо заглавными однобуквенными обозначениями аминокислот из таблицы 1. В других вариантах осуществления данного изобретения D-аминокислоты обозначены строчными однобуквенными обозначениями аминокислот, соответствующими однобуквенным обозначениям из таблицы 2, т. е. a, l, m, f, w, k, q, e, s, p, v, i, c, y, h, r, n, d и t.

Таблица 1: встречающиеся в природе аминокислоты

G	Глицин	Gly	P	Пролин	Pro
A	Аланин	Ala	V	Валин	Val
L	Лейцин	Leu	I	Изолейцин	Ile
M	Метионин	Met	C	Цистеин	Cys
F	Фенилаланин	Phe	Y	Тирозин	Tyr
W	Триптофан	Trp	H	Гистидин	His
K	Лизин	Lys	R	Аргинин	Arg
Q	Глутамин	Gln	N	Аспарагин	Asn
E	Глутаминовая кислота	Glu	D	Аспарагиновая кислота	Asp
S	Серин	Ser	T	Треонин	Thr

Таблица 2: подстрочные обозначения относятся к D-стереоизомерам аминокислот

			p	Пролин	D-Pro
a	D-аланин	D-Ala	v	D-валин	D-Val
l	D-лейцин	D-Leu	i	D-изолейцин	D-Ile
m	D-метионин	D-Met	c	D-цистеин	D-Cys
f	D-фенилаланин	D-Phe	y	D-тирозин	D-Tyr
w	D-триптофан	D-Trp	h	D-гистидин	D-His
k	D-лизин	D-Lys	r	D-аргинин	D-Arg
q	D-глутамин	D-Gln	n	D-аспарагин	D-Asn
e	D-глутаминовая кислота	D-Glu	d	D-аспарагиновая кислота	D-Asp
s	D-серин	D-Ser	t	D-треонин	D-Thr

Пептиды могут быть встречающимися в природе, синтетическими или рекомбинантно экспрессированными. Пептиды также могут содержать дополнительные группы, модифицирующие цепи аминокислот, например, функциональные группы, добавленные посредством посттрансляционной модификации. Примеры посттрансляционных модификаций включают в себя, но не ограничиваются ими,

ацетилирование, алкилирование (включительно с метилированием), биотинилирование, глутамилирование, глицилирование, гликозилирование, изопренилирование, липоилирование, фосфопантетеинилирование, фосфорилирование, селенирование и С-концевое амидирование. Термин «пептид» также включает в себя пептиды, содержащие модификации amino-конца и/или карбокси-конца. Модификации концевой аминогруппы включают в себя, но не ограничиваются ими, дезаминирование, модификации N-низшим алкилом, N-ди-низшим алкилом и N-ацилом. Модификации концевой карбоксильной группы включают в себя, но не ограничиваются ими, модификации амидом, низшим алкиламидом, диалкиламидом и сложным эфиром низшего алкила (например, при этом указанный низший алкил представляет собой C₁-C₄-алкил). Термин «пептид» также включает в себя модификации аминокислот, расположенных между amino- и карбокси-концами, такие как описанные выше, но не ограничиваясь ими. В одном варианте осуществления пептид может быть модифицирован добавлением низкомолекулярного лекарственного препарата.

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

Фраза «аминокислотный остаток» при употреблении в контексте данного документа относится к аминокислоте, которая встроена в пептид посредством амидной связи или миметика амидной связи.

Термин «инсулинотропный» при употреблении в контексте данного документа, как правило, относится к способности соединения, например, пептида, стимулировать или влиять на продуцирование и/или активность инсулина (например, инсулинотропный гормон). Такие соединения, как правило, стимулируют или иным образом влияют на секрецию или биосинтез инсулина у субъекта. Следовательно, «инсулинотропный пептид» представляет собой содержащую аминокислоту молекулу, способную стимулировать или иным образом влиять на секрецию или биосинтез инсулина.

Термин «ацилированный» при употреблении в контексте данного документа по отношению к полипептидам, описанным в данном документе, означает, что описываемый полипептид замещен одним или большим числом липофильных заместителей, каждый из которых необязательно присоединен через спейсер, при этом «липофильный заместитель» и «спейсер» определены в данном документе. Определенные липофильные заместители, каждый из которых необязательно присоединен через спейсер, могут связывать альбумин и придавать полученному в результате ацилированному полипептиду аффинность к альбумину. Степень, с которой определенные липофильные заместители, каждый из которых необязательно присоединен через спейсер, связывают альбумин и придают полученному в результате ацилированному полипептиду аффинность к альбумину, варьируется и зависит от многочисленных факторов. Указанные многочисленные факторы

включают в себя природу указанных липофильного заместителя, необязательного спейсера, полипептида и сайта ковалентного присоединения к указанному полипептиду.

Термины «линейный» или «линейный полипептид» при употреблении в контексте данного документа относятся к «неацилированному» полипептиду, другими словами - к описанному в данном документе полипептиду - аналогу глюкагона без липофильных заместителей, каждый из которых необязательно присоединен через спейсер, при этом «липофильный заместитель» и «спейсер» определены в данном документе.

Термины «конъюгированный» или «конъюгированный полипептид» при употреблении в контексте данного документа относятся к «ацилированному» полипептиду, другими словами - к описанному в данном документе полипептиду - аналогу глюкагона, имеющему один или большее число липофильных заместителей, каждый из которых необязательно присоединен через спейсер, при этом «липофильный заместитель» и «спейсер» определены в данном документе.

При употреблении в контексте данного документа термин «фармацевтически приемлемые соли» относится к производным описанных в данном документе полипептидов, в которых родительский полипептид модифицирован путем преобразования существующего кислотного или основного фрагмента в его солевую форму. Перечни подходящих солей можно найти в публикациях Remington's Pharmaceutical Sciences, 17th ed., Mack Publishing Company, Easton, Pa., 1985, p. 1418, и Journal of Pharmaceutical Science, 66, 2 (1977), каждая из которых включена в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте.

Термин «несущая среда» при употреблении в контексте данного документа относится к среде, используемой для несения соединения, например, лекарственного препарата или частицы, содержащей лекарственный препарат. Несущие среды согласно данному изобретению, как правило, содержат такие компоненты, как полимеры и растворители. Несущие среды для суспензии согласно данному изобретению, как правило, содержат растворители и полимеры, которые используются для приготовления суспензионных фармацевтических составов, дополнительно содержащих фармацевтические составы на основе частиц лекарственного препарата.

Фраза «разделение фаз» при употреблении в контексте данного документа относится к образованию множества фаз (например, жидкой и гелевой фаз) в несущей среде для суспензии, например, при контакте указанной несущей среды для суспензии с водной средой. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанная несущая среда для суспензии изготовлена так, что она демонстрирует разделение фаз при контакте с водной средой, содержащей меньше чем около 10% воды.

Термин «однофазный (-ая, -ое, -ые)» при употреблении в контексте данного документа относится к твердой, полутвердой или жидкой гомогенной системе, которая физически и химически равномерна по всему объему.

Термин «диспергированный (-ая, -ое, -ые)» при употреблении в контексте данного документа относится к растворению, диспергированию, суспендированию или иным

образом распределению соединения, например, фармацевтического состава лекарственного препарата, в несущей среде для суспензии.

Фраза «химически стабильный (-ая, -ое, -ые)» при употреблении в контексте данного документа относится к образованию в фармацевтическом составе приемлемого процентного содержания продуктов деградации, продуцируемых в течение определенного периода времени химическими путями, такими как дезамидирование (как правило, посредством гидролиза), агрегация или окисление.

Фраза «физически стабильный (-ая, -ое, -ые)» при употреблении в контексте данного документа относится к образованию в фармацевтическом составе приемлемого процентного содержания агрегатов (например, димеров и других продуктов с более высокими молекулярными массами). Кроме того, физически стабильный фармацевтический состав не изменяет своего физического состояния, например, от жидкости к твердому веществу или от аморфного к кристаллической форме.

Термин «вязкость» при употреблении в контексте данного документа, как правило, относится к значению, определенному на основании отношения напряжения сдвига к скорости сдвига (см., например, работу Considine, D. M. & Considine, G. D., *Encyclopedia of Chemistry*, 4th Edition, Van Nostrand, Reinhold, N.Y., 1984), по существу следующим образом:

$$F/A = \mu * V/L \text{ (Уравнение 1)}$$

где F/A = напряжение сдвига (сила на единицу площади),

μ = коэффициент пропорциональности (вязкость) и

V/L = скорость на толщину слоя (скорость сдвига).

На основании данного соотношения отношение напряжения сдвига к скорости сдвига определяет вязкость. Измерения напряжения сдвига и скорости сдвига, как правило, осуществляют с помощью реометрии с параллельными пластинами, выполненной при выбранных условиях (например, при температуре около 37°C). Другие способы определения вязкости включают в себя измерение кинематической вязкости с использованием вискозиметров, например, вискозиметра Кэннон - Фенске (Cannon-Fenske), вискозиметра Уббеллоде (Ubbelohde) для непрозрачного раствора Кэннон - Фенске или вискозиметра Оствальда (Ostwald). Как правило, несущие среды для суспензии согласно данному изобретению имеют вязкость, достаточную для предотвращения осаждения взвешенных в ней частиц во время хранения и применения в способе доставки, например, в имплантируемом устройстве доставки лекарственного препарата.

Термин «неводный» при употреблении в контексте данного документа относится к общему содержанию влаги, например, в фармацевтическом составе в виде суспензии, которое, как правило, является меньшим или равным около 10% масс., например, меньшим или равным около 7% масс., меньшим или равным около 5% масс., и/или меньшим или равным 4% масс. Кроме того, фармацевтический состав частиц согласно данному изобретению содержит меньше чем около 10% масс., например, меньше чем около 5% масс., остаточной влаги.

Термин «субъект» при употреблении в контексте данного документа относится к любому представителю подтипа Хордовые, в том числе, но не ограничиваясь ими, к людям и другим приматам, включительно с отличными от человека приматами, такими как макаки резус и другие виды обезьян, шимпанзе и другие виды человекообразных обезьян; сельскохозяйственным животным, таким как крупный рогатый скот, овцы, свиньи, козы и лошади; домашним животным, таким как собаки и кошки; лабораторным животным, включительно с грызунами, такими как мыши, крысы и морские свинки; птицам, включительно с домашними, дикими и промысловыми птицами, такими как куры, индейки и другие представители отряда курообразных, утки, гуси и тому подобное. Данный термин не обозначает конкретный возраст или пол. Следовательно, предполагается охватить как взрослых, так и новорожденных.

При употреблении в контексте данного документа термины «лечение», «лечить» и «лечащий» относятся к обращению вспять, облегчению, отсрочке начала или подавлению прогрессирования заболевания или нарушения, или одного или большего числа их симптомов, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления лечение можно применять после развития одного или большего числа симптомов. В других вариантах осуществления лечение можно применять при отсутствии симптомов. Например, лечение можно применять в отношении субъекта с предрасположенностью до появления 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 отсрочки их рецидива.

Термин «устройство осмотической доставки» при употреблении в контексте данного документа, как правило, относится к устройству, используемому для доставки лекарственного препарата (например, описанного в данном документе полипептида - аналога глюкагона) субъекту, при этом указанное устройство содержит, например, резервуар (изготовленный, например, из титанового сплава), имеющий просвет, который содержит фармацевтический состав в виде суспензии, содержащий лекарственный препарат (например, описанный в данном документе полипептид - аналог глюкагона) и фармацевтический состав осмотического агента. Поршневой узел, расположенный в указанном просвете, изолирует указанный фармацевтический состав в виде суспензии от указанного фармацевтического состава осмотического агента. Полупроницаемая мембрана, расположенная на первом дистальном конце указанного резервуара, примыкает к указанному фармацевтическому составу осмотического агента, а регулятор диффузии (который определяет отверстие доставки, через которое указанный фармацевтический состав в виде суспензии выходит из данного устройства) расположен на втором дистальном конце указанного резервуара и примыкает к указанному фармацевтическому составу в виде суспензии. Как правило, устройство осмотической доставки имплантируют субъекту, например, субдермально или подкожно (например, во внутреннюю, наружную или заднюю область верхней части плеча и в области живота). Иллюстративное

устройство осмотической доставки представляет собой устройство доставки DUROS® (ALZA Corporation, г. Маунтин-Вью, штат Калифорния, США). Примеры синонимов к термину «устройство осмотической доставки» включают в себя, но не ограничиваются ими, «устройство осмотической доставки лекарственного препарата», «система осмотической доставки лекарственного препарата», «осмотическое устройство», «устройство осмотической доставки», «система осмотической доставки», «осмотическая помпа», «имплантируемое устройство доставки лекарственного препарата», «система доставки лекарственного препарата», «устройство доставки лекарственного препарата», «имплантируемая осмотическая помпа», «имплантируемая система доставки лекарственного препарата» и «имплантируемая система доставки». Другие термины для «устройства осмотической доставки» известны в данной области техники.

Термин «непрерывная доставка» при употреблении в контексте данного документа, как правило, относится к по существу, непрерывному высвобождению лекарственного препарата из устройства осмотической доставки в ткань вблизи места имплантации, например, в субдермальные и подкожные ткани. Например, устройство осмотической доставки высвобождает лекарственный препарат по существу с заданной скоростью на основании принципа осмоса. Внеклеточная жидкость поступает в указанное устройство осмотической доставки через полупроницаемую мембрану непосредственно в осмотический двигатель, который расширяется, приводя в действие поршень с низкой и стабильной скоростью движения. Движение указанного поршня выталкивает фармацевтический состав лекарственного препарата через отверстие указанного регулятора диффузии. Следовательно, высвобождение лекарственного препарата из указанного устройства осмотической доставки происходит с низкой, контролируемой и стабильной скоростью.

Термин «по существу стабильная доставка» при употреблении в контексте данного документа, как правило, относится к доставке лекарственного препарата в целевой концентрации или в приближенной к целевой концентрации в течение определенного периода времени, при этом количество лекарственного препарата, которое доставляется из устройства осмотической доставки, соответствует доставке по существу нулевого порядка. Доставка активного агента по существу нулевого порядка (например, описанного в данном документе полипептида - аналога глюкагона) означает, что скорость доставки лекарственного препарата постоянна и не зависит от лекарственного препарата, доступного в системе доставки; например, для доставки нулевого порядка, если скорость доставки лекарственного препарата по отношению ко времени изобразить на графике и изображенная линия соответствует данным, то указанная линия имеет наклон около нуля в соответствии с определением с помощью стандартных способов (например, линейной регрессии).

Фраза «период полужизни лекарственного препарата» при употреблении в контексте данного документа относится к тому, сколько времени понадобится для выведения лекарственного препарата из плазмы крови до половины его концентрации.

Период полужизни лекарственного препарата, как правило, измеряют путем мониторинга снижения уровня лекарственного препарата при его введении посредством инъекций или внутривенно. Лекарственный препарат, как правило, выявляют с использованием, например, радиоиммуноанализа (РИА), способа хроматографии, электрохемилюминесцентного (ЭХЛ) анализа, твердофазного иммуноферментного анализа (ТИФА) или иммуноферментного сэндвич-анализа (сэндвич-ТИФА).

Термин «мкг» следует понимать как означающий «микрограммы». Подобным образом, термин «мкл» следует понимать как означающий «микролитр», а термин «мкМ» следует понимать как означающий «микромольный».

Термин «сыворотка крови» предназначен для обозначения любого продукта крови, в котором может быть выявлено вещество. Следовательно, термин «сыворотка крови» включает в себя по меньшей мере цельную кровь, сыворотку крови и плазму крови. Например, «количество [вещества] в сыворотке крови субъекта» будет охватывать «количество [вещества] в плазме крови субъекта».

Базовый уровень определяется как последняя оценка в день первичного размещения устройства осмотической доставки (содержащего лекарственный препарат или плацебо) или до дня указанного первичного размещения.

Иллюстративные соединения: полипептиды - аналоги глюкагона

Определенные описанные в данном документе полипептиды - аналоги глюкагона, включительно с полипептидами, приведенными в таблице 3, представленной ниже, проявляют одно или большее число из следующих свойств: превосходную растворимость, стабильность, биодоступность, биологическую активность и специфичность, а также более длительный период полужизни, чем у эндогенного глюкагона и известных аналогов глюкагона. Определенные описанные в данном документе полипептиды - аналоги глюкагона были разработаны для обеспечения менее частого введения, чем требуется для известных аналогов глюкагона. Определенные описанные в данном документе полипептиды - аналоги глюкагона были разработаны для введения посредством еженедельных или ежемесячных инъекций. Определенные описанные в данном документе полипептиды - аналоги глюкагона были разработаны для введения посредством имплантации устройства доставки, содержащего указанный полипептид - аналог глюкагона, при этом указанное устройство доставки содержит дозу указанного полипептида - аналога глюкагона, достаточную для продолжительности введения, составляющей вплоть до 3 месяцев, 6 месяцев, 9 месяцев, одного года, 18 месяцев или двух лет.

В некоторых вариантах осуществления выделенный полипептид согласно данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из следующих пептидов, перечисленных в таблице 3:

Таблица 3: иллюстративные соединения: полипептиды - аналоги глюкагона, ковалентно связанные с липофильным заместителем, необязательно через спейсер.

Соединение №	Последовательность	SEQ ID NO:
A1	YSHGTFTSDYSKYLK(γ Glu- γ Glu-dpeg- CO(CH ₂) ₁₈ CO ₂ H)(Aib) KYAQEFV(Aib)WLEDEPSSGAPPPS(OH)	SEQ ID NO: 1
A2	YSHGTFTSDYSKYLDK(γ Glu- γ Glu-dpeg- CO(CH ₂) ₁₈ CO ₂ H)KYAQEFV(Aib)WLEDEPSSGAPPPS(OH)	SEQ ID NO: 2
A3	YSHGTFTSDYSKYLD(Aib)K(γ Glu- γ Glu-dpeg- CO(CH ₂) ₁₈ CO ₂ H)Y AQEFV(Aib)WLEDEPSSGAPPPS(OH)	SEQ ID NO: 3
A4	YSHGTFTSDYSKYLD(Aib)KK(γ Glu- γ Glu-dpeg- CO(CH ₂) ₁₈ CO ₂ H)AQEFV(Aib)WLEDEPSSGAPPPS(OH)	SEQ ID NO: 4
A5	YSHGTFTSDYSKYLD(Aib)KYAK(γ Glu- γ Glu-dpeg- CO(CH ₂) ₁₈ CO ₂ H)EFV(Aib)WLEDEPSSGAPPPS(OH)	SEQ ID NO: 5
A6	YSHGTFTSDYSKYLD(Aib)KYAQK(γ Glu- γ Glu-dpeg- CO(CH ₂) ₁₈ CO ₂ H)FV(Aib)WLEDEPSSGAPPPS(OH)	SEQ ID NO: 6
A7	YSHGTFTSDYSKYLDK(γ Glu- γ Glu-dpeg- CO(CH ₂) ₁₈ CO ₂ H)KYAQEF(Aib)QWLEDEPSSGAPPPS(OH)	SEQ ID NO: 7
A8	YSHGTFTSDYSKYLDK(γ Glu- γ Glu-dpeg- CO(CH ₂) ₁₈ CO ₂ H)KYAQEF(Aib)EWLEDEPSSGAPPPS(OH)	SEQ ID NO: 8
A9	YSHGTFTSDYSKYLDK(γ Glu- γ Glu-dpeg- CO(CH ₂) ₁₈ CO ₂ H)KYAQEF(Aib)KWLEDEPSSGAPPPS(OH)	SEQ ID NO: 9
A10	YSHGTFTSDYSKYLDK(γ Glu- γ Glu-dpeg- CO(CH ₂) ₁₈ CO ₂ H)KYAQEF(Aib)SWLEDEPSSGAPPPS(OH)	SEQ ID NO: 10
A11	YSHGTFTSDYSKYLDK(γ Glu- γ Glu-dpeg- CO(CH ₂) ₁₈ CO ₂ H)KYAK*EFVE*WLEDEPSSGAPPPS(OH)	SEQ ID NO: 11
A12	YSHGTFTSDYSKYLDK(γ Glu- γ Glu-dpeg- CO(CH ₂) ₁₈ CO ₂ H)KYAE*EFVK*WLEDEPSSGAPPPS(OH)	SEQ ID NO: 12
A13	YSHGTFTSDYSKYLDK(γ Glu- γ Glu- CO(CH ₂) ₁₈ CO ₂ H)KYAQEFV(Aib)WLEDEPSSGAPPPS(OH)	SEQ ID NO: 13
A14	YSHGTFTSDYSKYLD(Aib)KYAQK(γ Glu- γ Glu- CO(CH ₂) ₁₈ CO ₂ H)FV(Aib)WLEDEPSSGAPPPS(OH)	SEQ ID NO: 14
A15	YSHGTFTSDYSKYLDK(γ Glu- γ Glu-dpeg- CO(CH ₂) ₁₈ CO ₂ H)KYAQEFV(Aib)WLEEPSSGAPPPS(OH)	SEQ ID NO: 15
A16	YSHGTFTSDYSKYLDK(γ Glu- γ Glu-dpeg-	SEQ ID

	CO(CH ₂) ₁₈ CO ₂ H)KYAQEFV(Aib)WLENEPSSGAPPPS(OH)	NO: 16
A17	YSHGTFTSDYSKYLDK(γ Glu- γ Glu-dpeg- CO(CH ₂) ₁₈ CO ₂ H)KYAQEFV(Aib)WLEQEPSSGAPPPS(OH)	SEQ ID NO: 17
A18	YSHGTFTSDYSKYLDK(γ Glu- γ Glu-dpeg- CO(CH ₂) ₁₈ CO ₂ H)KYAQEFV(Aib)WLE(N-Me- Glu)EPSSGAPPPS(OH)	SEQ ID NO: 18
A19	YSHGTFTSDYSKYLDK(γ Glu- γ Glu-dpeg- CO(CH ₂) ₁₈ CO ₂ H)KYAQEFV(Aib)WLESEPSSGAPPPS(OH)	SEQ ID NO: 19
A20	YSHGTFTSDYSKYLDK(γ Glu- γ Glu-dpeg- CO(CH ₂) ₁₈ CO ₂ H)KYAQEFV(Aib)WLEKEPSSGAPPPS(OH)	SEQ ID NO: 20
A21	YSHGTFTSDYSKYLDK(γ Glu- γ Glu-dpeg- CO(CH ₂) ₁₈ CO ₂ H)KYAE*KFVK*WLEDEPSSGAPPPS(OH)	SEQ ID NO: 21
A22	YSHGTFTSDYSKYLDK(γ Glu- γ Glu-dpeg- CO(CH ₂) ₁₈ CO ₂ H)KYAKEFV(Aib)WLESEPSSGAPPPS(OH)	SEQ ID NO: 22
A23	YSHGTFTSDYSKYLDK(γ Glu- γ Glu-dpeg- CO(CH ₂) ₁₈ CO ₂ H)KYAEEFV(Aib)WLESEPSSGAPPPS(OH)	SEQ ID NO: 23
A24	YSHGTFTSDYSKYLDK(γ Glu- γ Glu-dpeg- CO(CH ₂) ₁₈ CO ₂ H)KYASEFV(Aib)WLESEPSSGAPPPS(OH)	SEQ ID NO: 24
A25	YSHGTFTSDYSKYLDK(γ Glu- γ Glu-dpeg- CO(CH ₂) ₁₈ CO ₂ H)KYAE*KFVK*WLEEPSSGAPPPS(OH)	SEQ ID NO: 25
A26	YSHGTFTSDYSKYLDK(γ Glu- γ Glu-dpeg- CO(CH ₂) ₁₈ CO ₂ H)KYAE*KFVK*WLEKEPSSGAPPPS(OH)	SEQ ID NO: 26
A27	YSHGTFTSDYSKYLDK(γ Glu- γ Glu-dpeg- CO(CH ₂) ₁₈ CO ₂ H)KYAE*KFVK*WLENEPSSGAPPPS(OH)	SEQ ID NO: 27
A28	YSHGTFTSDYSKYLDK(γ Glu- γ Glu-dpeg- CO(CH ₂) ₁₈ CO ₂ H)KYAE*KFVK*WLESEPSSGAPPPS(OH)	SEQ ID NO: 28
A29	YSHGTFTSDYSKYLD(Aib)KYAQK(γ Glu- γ Glu-dpeg- CO(CH ₂) ₁₈ CO ₂ H)FVK*WLEE*EPSSGAPPPS(OH)	SEQ ID NO: 29
A30	YSHGTFTSDYSKYLD(Aib)KYAQK(γ Glu- γ Glu-dpeg- CO(CH ₂) ₁₈ CO ₂ H)FVK*WLED*EPSSGAPPPS(OH)	SEQ ID NO: 30
A31	YSHGTFTSDYSKYLDK(γ Glu- γ Glu-dpeg- CO(CH ₂) ₁₈ CO ₂ H)KYAE*KFVK*WLEDEPSSGEPPPS(OH)	SEQ ID NO: 31
A32	YSHGTFTSDYSKYLDK(γ Glu- γ Glu-dpeg- CO(CH ₂) ₁₈ CO ₂ H)KYAE*KFVK*WLEDEPSSGKPPPS(OH)	SEQ ID NO: 32

A33	YSHGTFTSDYSKYLDK(γ Glu- γ Glu-dpeg-CO(CH ₂) ₁₈ CO ₂ H)KYAE*KFVK*WLEDEPSSGSPPPS(OH)	SEQ ID NO: 33
A34	YSHGTFTSDYSKYLDK(γ Glu- γ Glu-dpeg-CO(CH ₂) ₁₈ CO ₂ H)KYAE*KFVK*WLEDEPSSGAPPPS(NH ₂)	SEQ ID NO: 34
A35	YSHGTFTSDYSKYLDK(γ Glu- γ Glu-dpeg-CO(CH ₂) ₁₈ CO ₂ H)KYAE*KFVK*WLEDE(NH ₂)	SEQ ID NO: 35
A36	Ацетил-YSHGTFTSDYSKYLD(Aib)KYAQK(γ Glu- γ Glu-dpeg-CO(CH ₂) ₁₈ CO ₂ H)FVK*WLEE*EPSSGAPPPS(OH)	SEQ ID NO: 36
A37	Ацетил-YSHGTFTSDYSKYLDK(γ Glu- γ Glu-dpeg-CO(CH ₂) ₁₈ CO ₂ H)KYAE*KFVK*WLEDEPSSGAPPPS(OH)	SEQ ID NO: 37
A38	YSHGTFTSDYSKYLD(Aib)KYAEK(γ Glu- γ Glu-dpeg-CO(CH ₂) ₁₈ CO ₂ H)FVK*WLEE*EPSSGAPPPS(OH)	SEQ ID NO: 38
A39	YSHGTFTSDYSKYLD(Aib)KYAKK(γ Glu- γ Glu-dpeg-CO(CH ₂) ₁₈ CO ₂ H)FVK*WLEE*EPSSGAPPPS(OH)	SEQ ID NO: 39
A40	Ацетил-YSHGTFTSDYSKYLDK(γ Glu- γ Glu-dpeg-CO(CH ₂) ₁₈ CO ₂ H)KYAE*KFVK*WLEDEPSSGAPPPS(NH ₂)	SEQ ID NO: 40
A41	YSHGTFTSDYSKYLDK(γ Glu- γ Glu-dpeg-CO(CH ₂) ₁₈ CO ₂ H)KYAE*KFVK*WLEDEPSSGAPPPS(NH ₂)	SEQ ID NO: 41
A42	YSHGTFTSDYSKYLDK(γ Glu- γ Glu-dpeg-CO(CH ₂) ₁₈ CO ₂ H)KYAE*KFVK*WEEDEPSSGAPPPS(OH)	SEQ ID NO: 42
A43	YSHGTFTSDYSKYLDK(γ Glu- γ Glu-dpeg-CO(CH ₂) ₁₈ CO ₂ H)KYAE*KFVK*WQEDEPSSGAPPPS(OH)	SEQ ID NO: 43
A44	YSHGTFTSDYSKYLEK(γ Glu- γ Glu-dpeg-CO(CH ₂) ₁₈ CO ₂ H)KYAE*KFVK*WLEDEPSSGAPPPS(OH)	SEQ ID NO: 44
A45	YSHGTFTSEYSKYLDK(γ Glu- γ Glu-dpeg-CO(CH ₂) ₁₈ CO ₂ H)KYAE*KFVK*WLEDEPSSGAPPPS(OH)	SEQ ID NO: 45
A46	YSHGTFTSDYSKYLD(Aib)K(γ Glu- γ Glu-dpeg-CO(CH ₂) ₁₈ CO ₂ H)YAEFV(Aib)WLEDEPSSGAPPPS(NH ₂)	SEQ ID NO: 46
A47	YSHGTFTSDYSKYLD(Aib)K(γ Glu- γ Glu-dpeg-CO(CH ₂) ₁₈ CO ₂ H)YAEFV(Aib)WLEDEPSSGAPPPS(NH ₂)	SEQ ID NO: 47
A48	YSHGTFTSDYSKYLD(Aib)K(γ Glu- γ Glu-dpeg-CO(CH ₂) ₁₈ CO ₂ H)YAEFV(Aib)WLEDEPSSGAPPPS(OH)	SEQ ID NO: 48
A49	YSHGTFTSDYSKYLD(Aib)K(γ Glu- γ Glu-dpeg-CO(CH ₂) ₁₈ CO ₂ H)YAEFV(Aib)WLEDEPSSGAPPPS(OH)	SEQ ID NO: 49

A50	YSHGTFTSDYSKYLD(Aib)K(γ Glu- γ Glu-dpeg-CO(CH ₂) ₁₈ CO ₂ H)KAQEFV(Aib)WLEDEPSSGAPPPS(NH ₂)	SEQ ID NO: 50
A51	YSHGTFTSDYSKYLD(Aib)K(γ Glu- γ Glu-dpeg-CO(CH ₂) ₁₈ CO ₂ H)YAE*EFVK*WLEDEPSSGAPPPS(OH)	SEQ ID NO: 51
A52	YSHGTFTSDYSKYLD(Aib)K(γ Glu- γ Glu-dpeg-CO(CH ₂) ₁₈ CO ₂ H)YAK*KFVE*WLEDEPSSGAPPPS(OH)	SEQ ID NO: 52
A53	YSHGTFTSDYSKYLD(Aib)K(γ Glu- γ Glu-dpeg-CO(CH ₂) ₁₈ CO ₂ H)YAEQFV(Aib)WLEDE(NH ₂)	SEQ ID NO: 53
A54	YSHGTFTSDYSKYLD(Aib)K(γ Glu- γ Glu-dpeg-CO(CH ₂) ₁₈ CO ₂ H)YAEQFV(Aib)WLEDE(OH)	SEQ ID NO: 54
A55	YSHGTFTSDYSKYLD(Aib)K(γ Glu- γ Glu-dpeg-CO(CH ₂) ₁₈ CO ₂ H)YAE*EFVK*WLEDE(NH ₂)	SEQ ID NO: 55
A56	YSHGTFTSDYSKYLD(Aib)K(γ Glu- γ Glu-dpeg-CO(CH ₂) ₁₈ CO ₂ H)YAE*EFVK*WLEDE(OH)	SEQ ID NO: 56
A57	YSHGTFTSDYSKYLD(Aib)K(γ Glu- γ Glu-dpeg-CO(CH ₂) ₁₈ CO ₂ H)YAE*KFVK*WLEDE(NH ₂)	SEQ ID NO: 57
A58	YSHGTFTSDYSKYLD(Aib)K(γ Glu- γ Glu-dpeg-CO(CH ₂) ₁₈ CO ₂ H)YAE*KFVK*WLEDE(OH)	SEQ ID NO: 58
A59	YSHGTFTSDYSKYLDK(γ Glu- γ Glu-dpeg-CO(CH ₂) ₁₈ CO ₂ H)KYAQKFV(Aib)WLEDEPSSGAPPPS(OH)	SEQ ID NO: 59
A60	YSHGTFTSDYSKYLDK(γ Glu- γ Glu-dpeg-CO(CH ₂) ₁₈ CO ₂ H)KYAQKFV(Aib)WLEEEPPSSGAPPPS(OH)	SEQ ID NO: 60

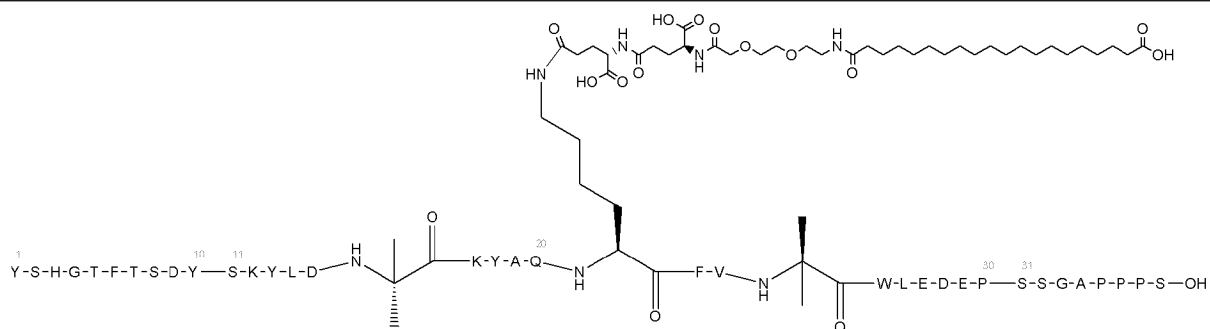
Aib представляет собой 2-аминоизомасляную кислоту

Каждая из пар K* и E* и каждая из пар K* и D* представляют собой ковалентную амидную связь, полученную из амино-боковой цепи K* и карбокси-боковой цепи E* или карбокси-боковой цепи D* (с потерей молекулы воды).

Структурные представления определенных пептидов из таблицы 3 представлены ниже в таблице 4:

Таблица 4: химические структуры иллюстративных пептидов: полипептидов - аналогов глюкагона, содержащих липофильный заместитель через спейсер, два пептида из которых дополнительно содержат мостиковый фрагмент.

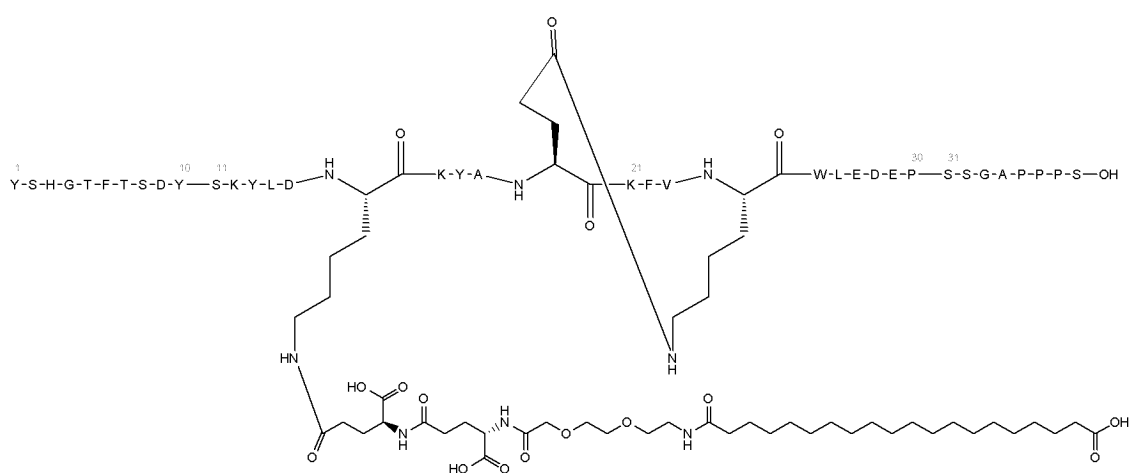
YSHGTFTSDYSKYLD(Aib)KYAQK(γ Glu- γ Glu-dpeg-CO(CH ₂) ₁₈ CO ₂ H)FV(Aib)WLEDEPSSGAPPPS(OH)
A6
SEQ ID NO: 6



YSHGTFTSDYSKYLDK(γ Glu- γ Glu-dpeg-
CO(CH₂)₁₈CO₂H)KYAE*KFVK*WLEDEPSSGAPPPS(OH)

A21

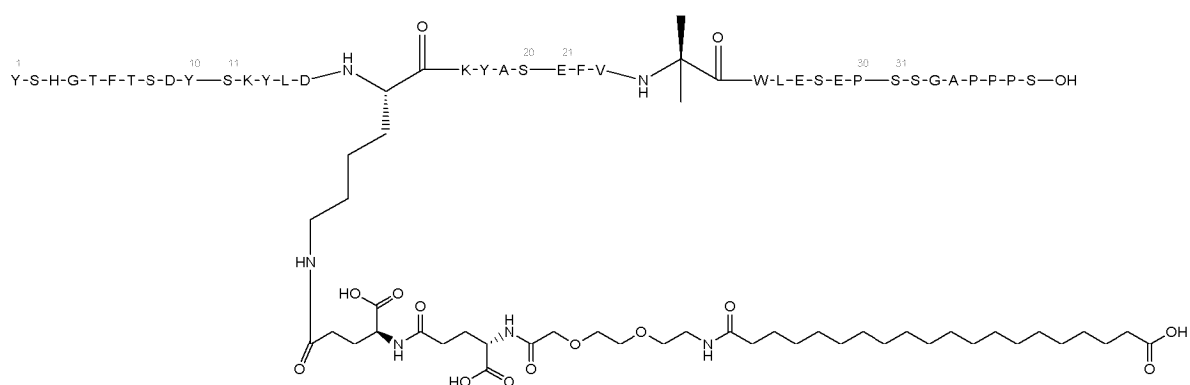
SEQ ID NO: 21



YSHGTFTSDYSKYLDK(γ Glu- γ Glu-dpeg-
CO(CH₂)₁₈CO₂H)KYASEFV(Aib)WLESEPPSSGAPPPS(OH)

A24

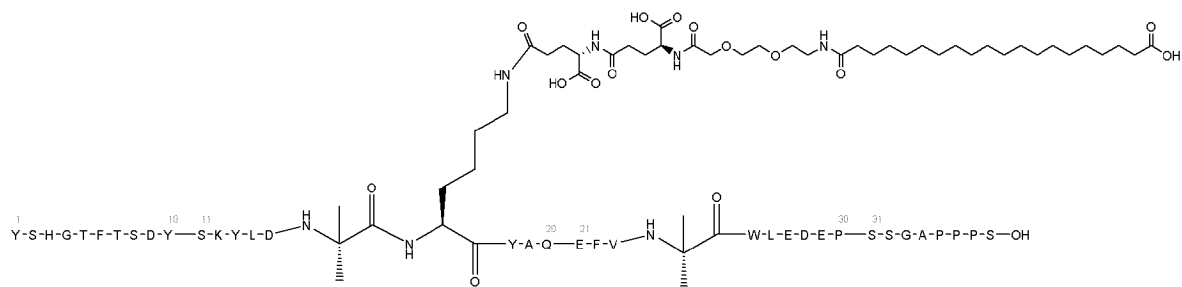
SEQ ID NO: 24



YSHGTFTSDYSKYLD(Aib)K(γ Glu- γ Glu-dpeg-
CO(CH₂)₁₈CO₂H)YAQEFV(Aib)WLEDEPSSGAPPPS(OH)

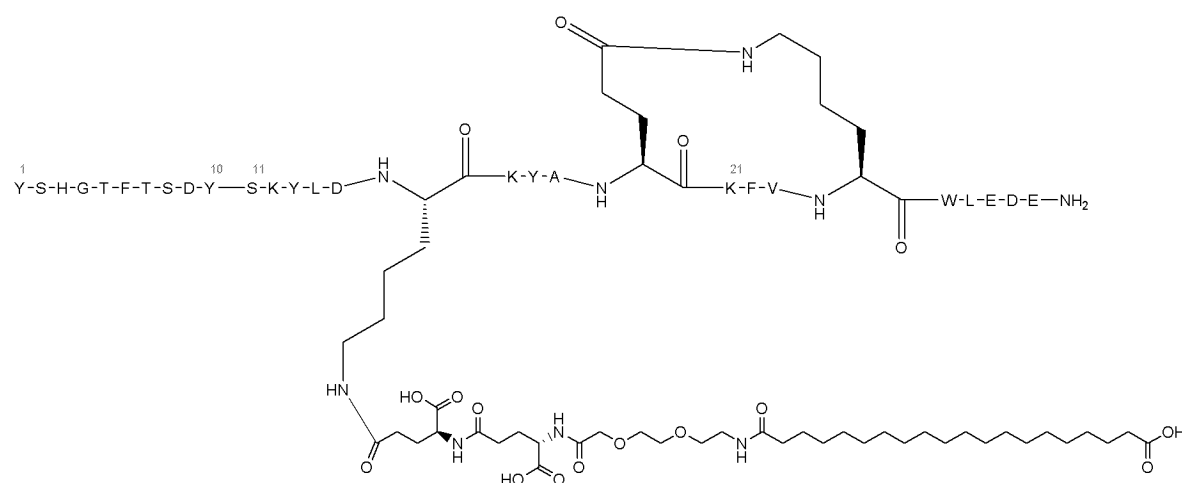
A3

SEQ ID NO: 3

YSHGTFTSDYSKYLDK(γGlu-γGlu-dpeg-CO(CH₂)₁₈CO₂H)KYAE*KFVK*WLEDE(NH₂)

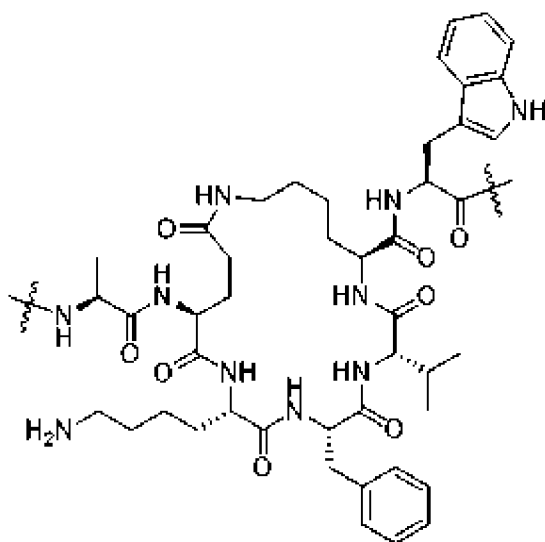
A35

SEQ ID NO: 35



Примечания:

каждая из пар К* и Е* и каждая из пар К* и D* представляют собой ковалентную амидную связь, полученную из amino-боковой цепи К* и карбокси-боковой цепи Е* или карбокси-боковой цепи D* (с потерей молекулы воды). Например, сегмент -AE*KFVK*W- представляет собой:



;

при употреблении в контексте данного документа дрег представляет собой -

$\text{COCH}_2\text{O}(\text{CH}_2)_2\text{O}(\text{CH}_2)_2\text{NH}-$; и dpeg-dpeg представляет собой $-\text{COCH}_2\text{O}(\text{CH}_2)_2\text{O}(\text{CH}_2)_2\text{NH}-$
 $\text{COCH}_2\text{O}(\text{CH}_2)_2\text{O}(\text{CH}_2)_2\text{NH}-$;

амино-концевая аминокислота, т. е. Y_1 , изображенная как ацетил- Y_1 -, обозначает $\text{CH}_3\text{C}(\text{O})-\text{NH}-\text{CH}(\text{CH}_2-(p\text{-гидроксифенил}))- \text{C}(\text{O})-$;

карбокси-концевая аминокислота, т. е. S_{38} , изображенная как $-\text{S}_{38}-(\text{NH}_2)$, обозначает $-\text{NH}-\text{CH}(\text{CH}_2\text{OH})-\text{CONH}_2$; и

карбокси-концевая аминокислота, т. е. S_{38} , изображенная как $-\text{S}_{38}-(\text{OH})$, обозначает $-\text{NH}-\text{CH}(\text{CH}_2\text{OH})-\text{COOH}$.

В некоторых вариантах осуществления выделенный полипептид содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из последовательностей с SEQ ID NO: 1-60, или ее фармацевтически приемлемую соль. В некоторых вариантах осуществления выделенный полипептид содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из последовательностей с SEQ ID NO: 1-39, или ее фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления выделенный полипептид содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из последовательностей с SEQ ID NO: 3, 6, 21 и 24, или ее фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления выделенный полипептид содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3 или ее фармацевтически приемлемую соль. В некоторых вариантах осуществления выделенный полипептид содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6 или ее фармацевтически приемлемую соль. В некоторых вариантах осуществления выделенный полипептид содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 21 или ее фармацевтически приемлемую соль. В некоторых вариантах осуществления выделенный полипептид содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 24 или ее фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления в данном изобретении представлено соединение, указанное в таблице 3, приведенной выше, или его фармацевтически приемлемая соль. В некоторых вариантах осуществления в данном изобретении представлен выделенный полипептид, который содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из последовательностей с SEQ ID NO: 1-60, или его фармацевтически приемлемая соль. В некоторых вариантах осуществления в данном изобретении представлен выделенный полипептид, который содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из последовательностей с SEQ ID NO: 1-39, или его фармацевтически приемлемая соль. В некоторых вариантах осуществления указанная фармацевтически приемлемая соль представляет собой ацетатную соль. В некоторых вариантах осуществления указанная фармацевтически приемлемая соль представляет собой соль трифторуксусной кислоты (ТФК). В некоторых вариантах осуществления указанная фармацевтически приемлемая

В одном варианте осуществления указанное соединение представляет собой выделенный полипептид, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 24, или его фармацевтически приемлемую соль. В некоторых вариантах осуществления указанное соединение представляет собой ацетатную соль выделенного полипептида, содержащего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 24. В некоторых вариантах осуществления указанное соединение представляет собой ТФК-соль выделенного полипептида, содержащего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 24. В некоторых вариантах осуществления указанное соединение представляет собой HCl-соль выделенного полипептида, содержащего аминокислотную последовательность

SEQ ID NO: 24.

В некоторых вариантах осуществления выделенный полипептид согласно данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из следующих пептидов, перечисленных в таблице 5:

Таблица 5: иллюстративные соединения: полипептиды - аналоги глюкагона, необязательно содержащие липофильный заместитель, необязательно - через спейсер; и необязательно дополнительно содержащие мостиковый фрагмент.

Соединение №	Последовательность	SEQ ID NO:
B1	YSHGTFTSDYSKYLK(Aib)KYAQEFV(Aib)WLEDEPSSGAP PPS(OH)	SEQ ID NO: 101
B2	YSHGTFTSDYSKYLDKKY AQEFV(Aib)WLEDEPSSGAPPP S(OH)	SEQ ID NO: 102
B3	YSHGTFTSDYSKYLD(Aib)KYAQEFV(Aib)WLEDEPSSGAP PPS(OH)	SEQ ID NO: 103
B4	YSHGTFTSDYSKYLD(Aib)KKAQEFV(Aib)WLEDEPSSGAP PPS(OH)	SEQ ID NO: 104
B5	YSHGTFTSDYSKYLD(Aib)KYAKEFV(Aib)WLEDEPSSGAP PPS(OH)	SEQ ID NO: 105
B6	YSHGTFTSDYSKYLD(Aib)KYAQKFV(Aib)WLEDEPSSGAP PPS(OH)	SEQ ID NO: 106
B7	YSHGTFTSDYSKYLDKKY AQEF(Aib)QWLEDEPSSGAPPP S(OH)	SEQ ID NO: 107
B8	YSHGTFTSDYSKYLDKKY AQEF(Aib)EWLEDEPSSGAPPPS (OH)	SEQ ID NO: 108
B9	YSHGTFTSDYSKYLDKKY AQEF(Aib)KWLEDEPSSGAPPP S(OH)	SEQ ID NO: 109
B10	YSHGTFTSDYSKYLDKKY AQEF(Aib)SWLEDEPSSGAPPPS (OH)	SEQ ID NO: 110
B11	YSHGTFTSDYSKYLDKKYAKEFVEWLEDEPSSGAPPPS(O H)	SEQ ID NO: 111
B12	YSHGTFTSDYSKYLDKKYAEFVKWLEDEPSSGAPPPS(O H)	SEQ ID NO: 112
B15	YSHGTFTSDYSKYLDKKY AQEFV(Aib)WLEEEPPSSGAPPPS (OH)	SEQ ID NO: 115

B16	YSHGTFTSDYSKYLDKKYAEFV(Aib)WLENEPSSGAPPP S(OH)	SEQ ID NO: 116
B17	YSHGTFTSDYSKYLDKKYAEFV(Aib)WLEQEPSSGAPPP S(OH)	SEQ ID NO: 117
B18	YSHGTFTSDYSKYLDKKYAEFV(Aib)WLE(N-Me- Glu)EPSSGAPPPS(OH)	SEQ ID NO: 118
B19	YSHGTFTSDYSKYLDKKYAEFV(Aib)WLESEPSSGAPPPS (OH)	SEQ ID NO: 119
B20	YSHGTFTSDYSKYLDKKYAEFV(Aib)WLEKEPSSGAPPP S(OH)	SEQ ID NO: 120
B21	YSHGTFTSDYSKYLDKKYAEKFVKWLEDEPSSGAPPPS(O H)	SEQ ID NO: 121
B22	YSHGTFTSDYSKYLDKKYAEFV(Aib)WLESEPSSGAPPPS (OH)	SEQ ID NO: 122
B23	YSHGTFTSDYSKYLDKKYAEFV(Aib)WLESEPSSGAPPPS (OH)	SEQ ID NO: 123
B24	YSHGTFTSDYSKYLDKKYAEFV(Aib)WLESEPSSGAPPPS (OH)	SEQ ID NO: 124
B25	YSHGTFTSDYSKYLDKKYAEKFVKWLEEEPPSSGAPPPS(O H)	SEQ ID NO: 125
B26	YSHGTFTSDYSKYLDKKYAEKFVKWLEKEPSSGAPPPS(O H)	SEQ ID NO: 126
B27	YSHGTFTSDYSKYLDKKYAEKFVKWLENEPSSGAPPPS(O H)	SEQ ID NO: 127
B28	YSHGTFTSDYSKYLDKKYAEKFVKWLESEPSSGAPPPS(O H)	SEQ ID NO: 128
B29	YSHGTFTSDYSKYLD(Aib)KYAQKFVKWLEEEPPSSGAPPP S(OH)	SEQ ID NO: 129
B30	YSHGTFTSDYSKYLD(Aib)KYAQKFVKWLEDEPSSGAPPP S(OH)	SEQ ID NO: 130
B31	YSHGTFTSDYSKYLDKKYAEKFVKWLEDEPSSGEPPPS(O H)	SEQ ID NO: 131
B32	YSHGTFTSDYSKYLDKKYAEKFVKWLEDEPSSGKPPPS(O H)	SEQ ID NO: 132

B33	YSHGTFTSDYSKYLDKKYAEKFVKWLEDEPSSGSPPPS(O H)	SEQ ID NO: 133
B34	YSHGTFTSDYSKYLDKKYAEKFVKWLEDEPSSGAPPPS(N H ₂)	SEQ ID NO: 134
B35	YSHGTFTSDYSKYLDKKYAEKFVKWLEDE(NH ₂)	SEQ ID NO: 135
B36	Ацетил- YSHGTFTSDYSKYLD(Aib)KYAQKFVKWLEEEPSSGAPPP S(OH)	SEQ ID NO: 136
B37	Ацетил- YSHGTFTSDYSKYLDKKYAEKFVKWLEDEPSSGAPPPS(O H)	SEQ ID NO: 137
B38	YSHGTFTSDYSKYLD(Aib)KYAEKFVKWLEEEPSSGAPPPS (OH)	SEQ ID NO: 138
B39	YSHGTFTSDYSKYLD(Aib)KYAKKFVKWLEEEPSSGAPPP S(OH)	SEQ ID NO: 139
B40	Ацетил- YSHGTFTSDYSKYLDKKYAEKFVKWLEDEPSSGAPPPS(N H ₂)	SEQ ID NO: 140
B42	YSHGTFTSDYSKYLDKKYAEKFVKWEEDEPSSGAPPPS(O H)	SEQ ID NO: 142
B43	YSHGTFTSDYSKYLDKKYAEKFVKWQEDEPSSGAPPPS(O H)	SEQ ID NO: 143
B44	YSHGTFTSDYSKYLEKKYAEKFVKWLEDEPSSGAPPPS(O H)	SEQ ID NO: 144
B45	YSHGTFTSEYSKYLDKKYAEKFVKWLEDEPSSGAPPPS(O H)	SEQ ID NO: 145
B46	YSHGTFTSDYSKYLD(Aib)KYAQEFV(Aib)WLEDEPSSGAP PPS(NH ₂)	SEQ ID NO: 146
B47	YSHGTFTSDYSKYLD(Aib)KYAQKFV(Aib)WLEDEPSSGAP PPS(NH ₂)	SEQ ID NO: 147
B49	YSHGTFTSDYSKYLD(Aib)KRAQEFV(Aib)WLEDEPSSGAP PPS(OH)	SEQ ID NO: 149
B50	YSHGTFTSDYSKYLD(Aib)KKAQEFV(Aib)WLEDEPSSGAP	SEQ ID

	PPS(NH ₂)	NO: 150
B51	YSHGTFTSDYSKYLD(Aib)KYAEEFVKWLEDEPSSGAPPPS(OH)	SEQ ID NO: 151
B52	YSHGTFTSDYSKYLD(Aib)KYAKKFVEWLEDEPSSGAPPPS(OH)	SEQ ID NO: 152
B53	YSHGTFTSDYSKYLD(Aib)KYAQEFV(Aib)WLEDE(NH ₂)	SEQ ID NO: 153
B54	YSHGTFTSDYSKYLD(Aib)KYAQEFV(Aib)WLEDE(OH)	SEQ ID NO: 154
B55	YSHGTFTSDYSKYLD(Aib)KYAEEFVKWLEDE(NH ₂)	SEQ ID NO: 155
B56	YSHGTFTSDYSKYLD(Aib)KYAEEFVKWLEDE(OH)	SEQ ID NO: 156
B57	YSHGTFTSDYSKYLD(Aib)KYAEKFVKWLEDE(NH ₂)	SEQ ID NO: 157
B58	YSHGTFTSDYSKYLD(Aib)KYAEKFVKWLEDE(OH)	SEQ ID NO: 158
B59	YSHGTFTSDYSKYLDKKYAKKFV(Aib)WLEDEPSSGAPPPS(OH)	SEQ ID NO: 159
B60	YSHGTFTSDYSKYLDKKYAKKFV(Aib)WLEEEPSSGAPPPS(OH)	SEQ ID NO: 160

В некоторых вариантах осуществления выделенный полипептид содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из последовательностей с SEQ ID NO: 101-112, 115-140, 142-147 и 149-160, или ее фармацевтически приемлемую соль. В некоторых вариантах осуществления выделенный полипептид содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из последовательностей с SEQ ID NO: 101-112 и 115-139, или ее фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления выделенный полипептид содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из последовательностей с SEQ ID NO: 103, 106, 121 и 124, или ее фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления выделенный полипептид содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 103 или ее фармацевтически приемлемую соль. В некоторых вариантах осуществления выделенный полипептид содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 106 или ее фармацевтически

приемлемую соль. В некоторых вариантах осуществления выделенный полипептид содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 121 или ее фармацевтически приемлемую соль. В некоторых вариантах осуществления выделенный полипептид содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 124 или ее фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления в данном изобретении представлено соединение, указанное в таблице 5, приведенной выше, или его фармацевтически приемлемая соль. В некоторых вариантах осуществления в данном изобретении представлен выделенный полипептид, который содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из последовательностей с SEQ ID NO: 101-112, 115-140, 142-147 и 149-160, или его фармацевтически приемлемая соль. В некоторых вариантах осуществления в данном изобретении представлен выделенный полипептид, который содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из последовательностей с SEQ ID NO: 101-112 и 115-139, или его фармацевтически приемлемая соль. В некоторых вариантах осуществления указанная фармацевтически приемлемая соль представляет собой ацетатную соль. В некоторых вариантах осуществления указанная фармацевтически приемлемая соль представляет собой соль трифторуксусной кислоты (ТФК). В некоторых вариантах осуществления указанная фармацевтически приемлемая соль представляет собой соль соляной кислоты (HCl).

В одном варианте осуществления указанное соединение представляет собой выделенный полипептид, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 103, или его фармацевтически приемлемую соль. В некоторых вариантах осуществления указанное соединение представляет собой ацетатную соль выделенного полипептида, содержащего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 103. В некоторых вариантах осуществления указанное соединение представляет собой ТФК-соль выделенного полипептида, содержащего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 103. В некоторых вариантах осуществления указанное соединение представляет собой HCl-соль выделенного полипептида, содержащего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 103.

В одном варианте осуществления указанное соединение представляет собой выделенный полипептид, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 106, или его фармацевтически приемлемую соль. В некоторых вариантах осуществления указанное соединение представляет собой ацетатную соль выделенного полипептида, содержащего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 106. В некоторых вариантах осуществления указанное соединение представляет собой ТФК-соль выделенного полипептида, содержащего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 106. В некоторых вариантах осуществления указанное соединение представляет собой HCl-соль выделенного полипептида, содержащего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 106.

В одном варианте осуществления указанное соединение представляет собой выделенный полипептид, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 121, или его фармацевтически приемлемую соль. В некоторых вариантах осуществления указанное соединение представляет собой ацетатную соль выделенного полипептида, содержащего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 121. В некоторых вариантах осуществления указанное соединение представляет собой ТФК-соль выделенного полипептида, содержащего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 121. В некоторых вариантах осуществления указанное соединение представляет собой HCl-соль выделенного полипептида, содержащего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 121.

В одном варианте осуществления указанное соединение представляет собой выделенный полипептид, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 124, или его фармацевтически приемлемую соль. В некоторых вариантах осуществления указанное соединение представляет собой ацетатную соль выделенного полипептида, содержащего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 124. В некоторых вариантах осуществления указанное соединение представляет собой ТФК-соль выделенного полипептида, содержащего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 124. В некоторых вариантах осуществления указанное соединение представляет собой HCl-соль выделенного полипептида, содержащего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 124.

В некоторых вариантах осуществления выделенный полипептид согласно данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из следующих пептидов, перечисленных в таблице 6:

Таблица 6: иллюстративные соединения: полипептиды - аналоги глюкагона, необязательно ковалентно связанные с липофильным заместителем, необязательно через спейсер

Соединение №	Последовательность	SEQ ID NO:
C11	YSHGTFTSDYSKYLDKKYAK*EFVE*WLEDEPSSGAPPPS(OH)	SEQ ID NO: 211
C12	YSHGTFTSDYSKYLDKKYAE*EFVK*WLEDEPSSGAPPPS(OH)	SEQ ID NO: 212
C21	YSHGTFTSDYSKYLDKKYAE*KFVK*WLEDEPSSGAPPPS(OH)	SEQ ID NO: 221
C25	YSHGTFTSDYSKYLDKKYAE*KFVK*WLEEEPSSGAPPPS(OH)	SEQ ID NO: 225
C26	YSHGTFTSDYSKYLDKKYAE*KFVK*WLEKEPSSGAPPPS(OH)	SEQ ID NO: 226

C27	YSHGTFTSDYSKYLDKKYAE*KFVK*WLENEPSSGAPPPS(OH)	SEQ ID NO: 227
C28	YSHGTFTSDYSKYLDKKYAE*KFVK*WLESEPSSGAPPPS(OH)	SEQ ID NO: 228
C29	YSHGTFTSDYSKYLD(Aib)KYAQKFVK*WLEE*EPSSGAPP PS(OH)	SEQ ID NO: 229
C30	YSHGTFTSDYSKYLD(Aib)KYAQKFVK*WLED*EPSSGAP PPS(OH)	SEQ ID NO: 230
C31	YSHGTFTSDYSKYLDKKYAE*KFVK*WLEDEPSSGEPPPS(OH)	SEQ ID NO: 231
C32	YSHGTFTSDYSKYLDKKYAE*KFVK*WLEDEPSSGKPPPS(OH)	SEQ ID NO: 232
C33	YSHGTFTSDYSKYLDKKYAE*KFVK*WLEDEPSSGSPPPS(OH)	SEQ ID NO: 233
C34	YSHGTFTSDYSKYLDKKYAE*KFVK*WLEDEPSSGAPPPS(NH ₂)	SEQ ID NO: 234
C35	YSHGTFTSDYSKYLDKKYAE*KFVK*WLEDE(NH ₂)	SEQ ID NO: 235
C38	YSHGTFTSDYSKYLD(Aib)KYAEKFVK*WLEE*EPSSGAPP PS(OH)	SEQ ID NO: 238
C39	YSHGTFTSDYSKYLD(Aib)KYAKKFVK*WLEE*EPSSGAPP PS(OH)	SEQ ID NO: 239
C40	Ацетил- YSHGTFTSDYSKYLDKKYAE*KFVK*WLEDEPSSGAPPPS(NH ₂)	SEQ ID NO: 240
C41	YSHGTFTSDYSKYLDKKYAE*KFVK*WLEDEPSSGAPPPS(NH ₂)	SEQ ID NO: 241
C42	YSHGTFTSDYSKYLDKKYAE*KFVK*WEEDEPSSGAPPPS(OH)	SEQ ID NO: 242
C43	YSHGTFTSDYSKYLDKKYAE*KFVK*WQEDEPSSGAPPPS(OH)	SEQ ID NO: 243
C44	YSHGTFTSDYSKYLEKKYAE*KFVK*WLEDEPSSGAPPPS(OH)	SEQ ID NO: 244
C45	YSHGTFTSEYSKYLDKKYAE*KFVK*WLEDEPSSGAPPPS(OH)	SEQ ID

	OH)	NO: 245
C51	YSHGTFTSDYSKYLD(Aib)KYAE*EFVK*WLEDEPSSGAPP PS(OH)	SEQ ID NO: 251
C52	YSHGTFTSDYSKYLD(Aib)KYAK*KFVE*WLEDEPSSGAPP PS(OH)	SEQ ID NO: 252
C55	YSHGTFTSDYSKYLD(Aib)KYAE*EFVK*WLEDE(NH ₂)	SEQ ID NO: 255
C56	YSHGTFTSDYSKYLD(Aib)KYAE*EFVK*WLEDE(OH)	SEQ ID NO: 256
C57	YSHGTFTSDYSKYLD(Aib)KYAE*KFVK*WLEDE(NH ₂)	SEQ ID NO: 257
C58	YSHGTFTSDYSKYLD(Aib)KYAE*KFVK*WLEDE(OH)	SEQ ID NO: 258

Примечание.

Каждая из пар К* и Е* и каждая из пар К* и D* представляют собой ковалентную амидную связь, полученную из amino-боковой цепи К* и карбокси-боковой цепи Е* или карбокси-боковой цепи D* (с потерей молекулы воды).

В некоторых вариантах осуществления выделенный полипептид содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из последовательностей с SEQ ID NO: 211, 212, 221, 225-235, 238-245, 251, 252 и 255-258, или ее фармацевтически приемлемую соль. В некоторых вариантах осуществления выделенный полипептид содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из последовательностей с SEQ ID NO: 211, 212, 221, 225-235, 238 и 239 или ее фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления выделенный полипептид содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 211 или ее фармацевтически приемлемую соль. В некоторых вариантах осуществления выделенный полипептид содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 212 или ее фармацевтически приемлемую соль. В некоторых вариантах осуществления выделенный полипептид содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 221 или ее фармацевтически приемлемую соль. В некоторых вариантах осуществления выделенный полипептид содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 225 или ее фармацевтически приемлемую соль. В некоторых вариантах осуществления выделенный полипептид содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 226 или ее фармацевтически приемлемую соль. В некоторых вариантах осуществления выделенный полипептид содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 227 или ее фармацевтически приемлемую соль. В некоторых вариантах осуществления выделенный полипептид содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 228 или ее фармацевтически приемлемую соль.

приемлемую соль. В некоторых вариантах осуществления выделенный полипептид содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 229 или ее фармацевтически приемлемую соль. В некоторых вариантах осуществления выделенный полипептид содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 230 или ее фармацевтически приемлемую соль. В некоторых вариантах осуществления выделенный полипептид содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 231 или ее фармацевтически приемлемую соль. В некоторых вариантах осуществления выделенный полипептид содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 232 или ее фармацевтически приемлемую соль. В некоторых вариантах осуществления выделенный полипептид содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 233 или ее фармацевтически приемлемую соль. В некоторых вариантах осуществления выделенный полипептид содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 234 или ее фармацевтически приемлемую соль. В некоторых вариантах осуществления выделенный полипептид содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 235 или ее фармацевтически приемлемую соль. В некоторых вариантах осуществления выделенный полипептид содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 238 или ее фармацевтически приемлемую соль. В некоторых вариантах осуществления выделенный полипептид содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 239 или ее фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления указанная фармацевтически приемлемая соль представляет собой ацетатную соль. В некоторых вариантах осуществления указанная фармацевтически приемлемая соль представляет собой соль трифторуксусной кислоты (ТФК). В некоторых вариантах осуществления указанная фармацевтически приемлемая соль представляет собой соль соляной кислоты (HCl).

В одном варианте осуществления указанное соединение представляет собой выделенный полипептид, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 221, или его фармацевтически приемлемую соль. В некоторых вариантах осуществления указанное соединение представляет собой ацетатную соль выделенного полипептида, содержащего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 221. В некоторых вариантах осуществления указанное соединение представляет собой ТФК-соль выделенного полипептида, содержащего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 221. В некоторых вариантах осуществления указанное соединение представляет собой HCl-соль выделенного полипептида, содержащего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 221.

Описание иллюстративных вариантов осуществления данного изобретения

В определенных вариантах осуществления в данном изобретении представлен выделенный полипептид, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: SEQ ID NO: 80:

$X_1SHGTFTSX_9YSKYLX_{15}X_{16}X_{17}X_{18}AX_{20}X_{21}FX_{23}X_{24}WX_{26}EX_{28}E-Z\text{-хвост}-(OH/NH_2)$
(SEQ ID NO: 80), или его фармацевтически приемлемая соль, где:

X₁ представляет собой Y или ацетил-Y;

X₉ представляет собой D или E;

X₁₅ представляет собой D, E или K;

X₁₆ представляет собой Aib или K;

X₁₇ представляет собой K;

X₁₈ представляет собой K, R или Y;

X₂₀ представляет собой E, K, Q или S;

X₂₁ представляет собой E или K;

X₂₃ представляет собой Aib или V;

X₂₄ представляет собой Aib, E, K, Q или S;

X₂₆ представляет собой E, L или Q;

X₂₈ представляет собой D, E, K, N, Q, S или N-метилглутамат;

Z-хвост отсутствует или выбран из группы, состоящей из PSSGAPPPS (SEQ ID NO: 90), PSSGEPPPS (SEQ ID NO: 91), PSSGKPPPS (SEQ ID NO: 92) или PSSGSPPPS (SEQ ID NO: 93);

при этом, если X₁₅, X₁₆, X₁₇, X₁₈, X₂₀ или X₂₁ представляют собой K, то указанный остаток лизина необязательно ковалентно связан с липофильным заместителем, необязательно через спейсер,

при условии, что полипептид содержит по меньшей мере один остаток, ковалентно связанный с липофильным заместителем, необязательно через спейсер; и

при этом выделенный полипептид необязательно дополнительно содержит лактамный мостик, образованный посредством амидной связи между боковыми цепями лизина и аспарагиновой кислоты или между боковыми цепями лизина и глутаминовой кислоты, при этом остатки, образующие указанный лактамный мостик, расположены в положениях X₂₀ и X₂₄ или в положениях X₂₄ и X₂₈.

В некоторых вариантах осуществления один из X₁₆, X₁₇ или X₂₁ представляет собой лизин, связанный с липофильным заместителем, необязательно - через спейсер.

В некоторых вариантах осуществления X₁₆ представляет собой Aib или K, ковалентно связанный с липофильным заместителем, необязательно - через спейсер.

В некоторых вариантах осуществления, если X₂₀ представляет собой Q, то X₁₆ представляет собой K, при этом указанный остаток лизина в положении X₁₆ ковалентно связан с липофильным заместителем, необязательно - через спейсер; или X₂₁ представляет собой K, при этом указанный остаток лизина в положении X₂₁ необязательно ковалентно связан с липофильным заместителем, необязательно - через спейсер.

В некоторых вариантах осуществления, если X₂₀ представляет собой Q, то X₂₁ представляет собой K, при этом указанный остаток лизина в положении X₂₁ необязательно ковалентно связан с липофильным заместителем, необязательно - через спейсер.

В некоторых вариантах осуществления, если X₂₁ представляет собой E, то X₂₀ представляет собой E, K или S.

В некоторых вариантах осуществления, если X₂₀ представляет собой Q, то X₂₁ не

представляет собой E.

В некоторых вариантах осуществления X_{24} представляет собой Aib или K.

В некоторых вариантах осуществления X_{28} представляет собой D или S.

В некоторых вариантах осуществления указанный пептид дополнительно содержит лактамный мостик, образованный посредством амидной связи между боковыми цепями лизина и глутаминовой кислоты в положениях X_{20} и X_{24} , соответственно. В некоторых вариантах осуществления указанный пептид дополнительно содержит лактамный мостик, образованный посредством амидной связи между боковыми цепями глутаминовой кислоты и лизина в положениях X_{20} и X_{24} , соответственно.

В некоторых вариантах осуществления X_1 представляет собой Y. В некоторых вариантах осуществления X_1 представляет собой ацетил-Y.

В некоторых вариантах осуществления X_9 представляет собой D. В некоторых вариантах осуществления X_9 представляет собой E.

В некоторых вариантах осуществления X_{15} представляет собой D. В некоторых вариантах осуществления X_{15} представляет собой E. В некоторых вариантах осуществления X_{15} представляет собой K. В некоторых вариантах осуществления X_{15} представляет собой K, ковалентно связанный с липофильным заместителем, необязательно - через спейсер.

В некоторых вариантах осуществления X_{16} представляет собой Aib. В некоторых вариантах осуществления X_{16} представляет собой K. В некоторых вариантах осуществления X_{16} представляет собой K, ковалентно связанный с липофильным заместителем, необязательно - через спейсер.

При употреблении в контексте данного документа Aib относится к 2-аминоизомасляной кислоте, альтернативно известной как α -аминоизомасляная кислота, α -метилаланин или 2-метилаланин.

В некоторых вариантах осуществления X_{17} представляет собой K. В некоторых вариантах осуществления X_{17} представляет собой K, ковалентно связанный с липофильным заместителем, необязательно - через спейсер.

В некоторых вариантах осуществления X_{18} представляет собой K. В некоторых вариантах осуществления X_{18} представляет собой K, ковалентно связанный с липофильным заместителем, необязательно - через спейсер. В некоторых вариантах осуществления X_{18} представляет собой R. В некоторых вариантах осуществления X_{18} представляет собой Y.

В некоторых вариантах осуществления X_{20} представляет собой E. В некоторых вариантах осуществления X_{20} представляет собой K. В некоторых вариантах осуществления X_{20} представляет собой K, ковалентно связанный с липофильным заместителем, необязательно - через спейсер. В некоторых вариантах осуществления X_{20} представляет собой Q. В некоторых вариантах осуществления X_{20} представляет собой S.

В некоторых вариантах осуществления X_{21} представляет собой E. В некоторых вариантах осуществления X_{21} представляет собой K. В некоторых вариантах

осуществления X_{21} представляет собой К, ковалентно связанный с липофильным заместителем, необязательно - через спейсер.

В некоторых вариантах осуществления X_{23} представляет собой Aib. В некоторых вариантах осуществления X_{23} представляет собой V.

В некоторых вариантах осуществления X_{24} представляет собой Aib. В некоторых вариантах осуществления X_{24} представляет собой E. В некоторых вариантах осуществления X_{24} представляет собой К. В некоторых вариантах осуществления X_{24} представляет собой Q. В некоторых вариантах осуществления X_{24} представляет собой S.

В некоторых вариантах осуществления X_{26} представляет собой E. В некоторых вариантах осуществления X_{26} представляет собой L. В некоторых вариантах осуществления X_{26} представляет собой Q.

В некоторых вариантах осуществления X_{28} представляет собой D. В некоторых вариантах осуществления X_{28} представляет собой E. В некоторых вариантах осуществления X_{28} представляет собой К. В некоторых вариантах осуществления X_{28} представляет собой N. В некоторых вариантах осуществления X_{28} представляет собой Q. В некоторых вариантах осуществления X_{28} представляет собой S. В некоторых вариантах осуществления X_{28} представляет собой N-метилглутамат.

В некоторых вариантах осуществления Z-хвост отсутствует. В некоторых вариантах осуществления Z-хвост представляет собой PSSGAPPPS (SEQ ID NO: 90). В некоторых вариантах осуществления Z-хвост представляет собой PSSGEPPPS (SEQ ID NO: 91). В некоторых вариантах осуществления Z-хвост представляет собой PSSGKPPPS (SEQ ID NO: 92). В некоторых вариантах осуществления Z-хвост представляет собой PSSGSPPPS (SEQ ID NO: 93).

Определенные варианты осуществления данного изобретения, касающиеся конкретных аминокислот, представленных консенсусной последовательностью SEQ ID NO: 80, являются следующими:

В некоторых вариантах осуществления X_{16} представляет собой Aib и X_{17} представляет собой К. В некоторых вариантах осуществления X_{16} представляет собой Aib и X_{17} представляет собой К, ковалентно связанный с липофильным заместителем, необязательно - через спейсер. В некоторых вариантах осуществления X_{16} представляет собой Aib и X_{20} представляет собой Q. В некоторых вариантах осуществления X_{16} представляет собой Aib и X_{21} представляет собой E. В некоторых вариантах осуществления X_{16} представляет собой Aib и X_{21} представляет собой К, ковалентно связанный с липофильным заместителем, необязательно - через спейсер. В некоторых вариантах осуществления X_{16} представляет собой Aib, и X_{24} представляет собой Aib. В некоторых вариантах осуществления X_{16} представляет собой Aib и X_{28} представляет собой D.

В некоторых вариантах осуществления X_{16} представляет собой К, ковалентно связанный с липофильным заместителем, необязательно - через спейсер, и X_{17} представляет собой К. В некоторых вариантах осуществления X_{16} представляет собой К,

X_{21} представляет собой К, ковалентно связанный с липофильным заместителем, необязательно - через спейсер. В некоторых вариантах осуществления X_{20} представляет собой Q и X_{24} представляет собой Aib. В некоторых вариантах осуществления X_{20} представляет собой Q и X_{28} представляет собой D.

В некоторых вариантах осуществления X_{20} представляет собой E и X_{21} представляет собой К. В некоторых вариантах осуществления X_{20} представляет собой E и X_{24} представляет собой К. В некоторых вариантах осуществления X_{20} представляет собой E и X_{28} представляет собой D.

В некоторых вариантах осуществления X_{20} представляет собой S и X_{21} представляет собой E. В некоторых вариантах осуществления X_{20} представляет собой S и X_{24} представляет собой Aib. В некоторых вариантах осуществления X_{20} представляет собой S и X_{28} представляет собой S.

В некоторых вариантах осуществления X_{21} представляет собой E и X_{24} представляет собой Aib. В некоторых вариантах осуществления X_{21} представляет собой E и X_{28} представляет собой D. В некоторых вариантах осуществления X_{21} представляет собой E и X_{28} представляет собой S.

В некоторых вариантах осуществления X_{21} представляет собой К и X_{24} представляет собой К. В некоторых вариантах осуществления X_{21} представляет собой К и X_{28} представляет собой D.

В некоторых вариантах осуществления X_{21} представляет собой К, ковалентно связанный с липофильным заместителем, необязательно - через спейсер, и X_{24} представляет собой Aib. В некоторых вариантах осуществления X_{21} представляет собой К, ковалентно связанный с липофильным заместителем, необязательно - через спейсер, и X_{28} представляет собой D.

В некоторых вариантах осуществления X_{24} представляет собой Aib и X_{28} представляет собой D. В некоторых вариантах осуществления X_{24} представляет собой Aib и X_{28} представляет собой S.

В некоторых вариантах осуществления X_{24} представляет собой К и X_{28} представляет собой D.

Определенные варианты осуществления данного изобретения, касающиеся конкретных аминокислот, представленных консенсусной последовательностью SEQ ID NO: 80, являются следующими:

В некоторых вариантах осуществления X_{16} представляет собой Aib, X_{17} представляет собой К, ковалентно связанный с липофильным заместителем, необязательно - через спейсер, и X_{20} представляет собой Q. В некоторых вариантах осуществления X_{16} представляет собой Aib, X_{17} представляет собой К, ковалентно связанный с липофильным заместителем, необязательно - через спейсер, и X_{21} представляет собой E. В некоторых вариантах осуществления X_{16} представляет собой Aib, X_{17} представляет собой К, ковалентно связанный с липофильным заместителем, необязательно - через спейсер, и X_{24} представляет собой Aib. В некоторых вариантах

В некоторых вариантах осуществления X_{17} представляет собой К, X_{20} представляет собой Е и X_{21} представляет собой К. В некоторых вариантах осуществления X_{17} представляет собой К, X_{20} представляет собой Е и X_{24} представляет собой К. В некоторых вариантах осуществления X_{17} представляет собой К, X_{20} представляет собой Е и X_{28}

представляет собой D.

В некоторых вариантах осуществления X_{17} представляет собой K, X_{20} представляет собой S и X_{21} представляет собой E. В некоторых вариантах осуществления X_{17} представляет собой K, X_{20} представляет собой S и X_{24} представляет собой Aib. В некоторых вариантах осуществления X_{17} представляет собой K, X_{20} представляет собой S и X_{28} представляет собой S.

В некоторых вариантах осуществления X_{17} представляет собой K, ковалентно связанный с липофильным заместителем, необязательно - через спейсер, X_{20} представляет собой Q и X_{21} представляет собой E. В некоторых вариантах осуществления X_{17} представляет собой K, ковалентно связанный с липофильным заместителем, необязательно - через спейсер, X_{20} представляет собой Q и X_{24} представляет собой Aib. В некоторых вариантах осуществления X_{17} представляет собой K, ковалентно связанный с липофильным заместителем, необязательно - через спейсер, X_{20} представляет собой Q и X_{28} представляет собой D.

В некоторых вариантах осуществления X_{20} представляет собой Q, X_{21} представляет собой E и X_{24} представляет собой Aib. В некоторых вариантах осуществления X_{20} представляет собой Q, X_{21} представляет собой E и X_{28} представляет собой D.

В некоторых вариантах осуществления X_{20} представляет собой Q, X_{21} представляет собой K, ковалентно связанный с липофильным заместителем, необязательно - через спейсер, и X_{24} представляет собой Aib. В некоторых вариантах осуществления X_{20} представляет собой Q, X_{21} представляет собой K, ковалентно связанный с липофильным заместителем, необязательно - через спейсер, и X_{28} представляет собой D.

В некоторых вариантах осуществления X_{20} представляет собой E, X_{21} представляет собой K и X_{24} представляет собой K. В некоторых вариантах осуществления X_{20} представляет собой E, X_{21} представляет собой K и X_{24} представляет собой D.

В некоторых вариантах осуществления X_{20} представляет собой S, X_{21} представляет собой E и X_{24} представляет собой Aib. В некоторых вариантах осуществления X_{20} представляет собой S, X_{21} представляет собой E и X_{28} представляет собой S.

В определенных вариантах осуществления в данном изобретении представлен выделенный полипептид, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 81: X_1 SHGTFTSDYSKYLX₁₅X₁₆X₁₇X₁₈AX₂₀X₂₁FX₂₃X₂₄WLEX₂₈E-Z-хвост-(OH/NH₂) (SEQ ID NO: 81), или его фармацевтически приемлемая соль, где:

X_1 представляет собой Y или ацетил-Y;

X_{15} представляет собой D или K;

X_{16} представляет собой Aib или K;

X_{17} представляет собой K;

X_{18} представляет собой K или Y;

X_{20} представляет собой E, K, Q или S;

X_{21} представляет собой E или K;

X_{23} представляет собой Aib или V;

X_{24} представляет собой Aib, E, K, Q или S;

X_{28} представляет собой D, E, K, N, Q, S или N-метилглутамат;

Z-хвост отсутствует или выбран из группы, состоящей из PSSGAPPPS (SEQ ID NO: 90), PSSGEPPPS (SEQ ID NO: 91), PSSGKPPPS (SEQ ID NO: 92) или PSSGSPPPS (SEQ ID NO: 93);

при этом, если X_{15} , X_{16} , X_{17} , X_{18} , X_{20} или X_{21} представляют собой K, то указанный остаток лизина необязательно ковалентно связан с липофильным заместителем, необязательно через спейсер,

при условии, что полипептид содержит по меньшей мере один остаток, ковалентно связанный с липофильным заместителем, необязательно через спейсер; и

при этом выделенный полипептид необязательно дополнительно содержит лактамный мостик, образованный посредством амидной связи между боковыми цепями лизина и аспарагиновой кислоты или между боковыми цепями лизина и глутаминовой кислоты, при этом остатки, образующие указанный лактамный мостик, расположены в положениях X_{20} и X_{24} или в положениях X_{24} и X_{28} .

В некоторых вариантах осуществления один из X_{16} , X_{17} или X_{21} представляет собой лизин, связанный с липофильным заместителем, необязательно - через спейсер.

В некоторых вариантах осуществления X_{16} представляет собой Aib или K, ковалентно связанный с липофильным заместителем, необязательно - через спейсер.

В некоторых вариантах осуществления, если X_{20} представляет собой Q, то X_{16} представляет собой K, при этом указанный остаток лизина в положении X_{16} ковалентно связан с липофильным заместителем, необязательно - через спейсер; или X_{21} представляет собой K, при этом указанный остаток лизина в положении X_{21} необязательно ковалентно связан с липофильным заместителем, необязательно - через спейсер.

В некоторых вариантах осуществления, если X_{20} представляет собой Q, то X_{21} представляет собой K, при этом указанный остаток лизина в положении X_{21} необязательно ковалентно связан с липофильным заместителем, необязательно - через спейсер.

В некоторых вариантах осуществления, если X_{21} представляет собой E, то X_{20} представляет собой E, K или S.

В некоторых вариантах осуществления, если X_{20} представляет собой Q, то X_{21} не представляет собой E.

В некоторых вариантах осуществления X_{24} представляет собой Aib или K.

В некоторых вариантах осуществления X_{28} представляет собой D или S.

В некоторых вариантах осуществления указанный пептид дополнительно содержит лактамный мостик, образованный посредством амидной связи между боковыми цепями лизина и глутаминовой кислоты в положениях X_{20} и X_{24} , соответственно. В некоторых вариантах осуществления указанный пептид дополнительно содержит лактамный мостик, образованный посредством амидной связи между боковыми цепями глутаминовой кислоты и лизина в положениях X_{20} и X_{24} , соответственно.

В некоторых вариантах осуществления X_1 представляет собой Y. В некоторых

В некоторых вариантах осуществления X_{17} представляет собой К и X_{20} представляет собой Q. В некоторых вариантах осуществления X_{17} представляет собой К и X_{20} представляет собой Е. В некоторых вариантах осуществления X_{17} представляет собой К и X_{20} представляет собой S. В некоторых вариантах осуществления X_{17} представляет

В некоторых вариантах осуществления X_{21} представляет собой К, ковалентно

В некоторых вариантах осуществления X_{16} представляет собой К, ковалентно связанный с липофильным заместителем, необязательно - через спейсер, X_{17} представляет собой К и X_{20} представляет собой Е. В некоторых вариантах осуществления X_{16} представляет собой К, ковалентно связанный с липофильным заместителем, необязательно - через спейсер, X_{17} представляет собой К и X_{20} представляет собой S. В некоторых вариантах осуществления X_{16} представляет собой К, ковалентно связанный с липофильным заместителем, необязательно - через спейсер, X_{17} представляет собой К и X_{21} представляет собой К. В некоторых вариантах осуществления X_{16} представляет собой К, ковалентно связанный с липофильным заместителем, необязательно - через спейсер, X_{17} представляет собой К и X_{21} представляет собой Е. В некоторых вариантах

В некоторых вариантах осуществления X_{20} представляет собой Q, X_{21} представляет собой K, ковалентно связанный с липофильным заместителем, необязательно - через спейсер, и X_{24} представляет собой Aib. В некоторых вариантах осуществления X_{20}

представляет собой Q, X_{21} представляет собой K, ковалентно связанный с липофильным заместителем, необязательно - через спейсер, и X_{28} представляет собой D.

В некоторых вариантах осуществления X_{20} представляет собой E, X_{21} представляет собой K и X_{24} представляет собой K. В некоторых вариантах осуществления X_{20} представляет собой E, X_{21} представляет собой K и X_{24} представляет собой D.

В некоторых вариантах осуществления X_{20} представляет собой S, X_{21} представляет собой E и X_{24} представляет собой Aib. В некоторых вариантах осуществления X_{20} представляет собой S, X_{21} представляет собой E и X_{28} представляет собой S.

В определенных вариантах осуществления в данном изобретении представлен выделенный полипептид, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 82: X_1 SHGTFTSDYSKYLDX₁₆ X_{17} YAX₂₀ X_{21} FX₂₃ X_{24} WLEX₂₈E-Z-хвост-(OH/NH₂) (SEQ ID NO: 82), или его фармацевтически приемлемая соль, где:

X_1 представляет собой Y или ацетил-Y;

X_{16} представляет собой Aib или K;

X_{17} представляет собой K;

X_{20} представляет собой E, K, Q или S;

X_{21} представляет собой E или K;

X_{23} представляет собой Aib или V;

X_{24} представляет собой Aib, E, K, Q или S;

X_{28} представляет собой D, E, K, N, Q, S или N-метилглутамат;

Z-хвост отсутствует или выбран из группы, состоящей из PSSGAPPPS (SEQ ID NO: 90), PSSGEPPPS (SEQ ID NO: 91), PSSGKPPPS (SEQ ID NO: 92) или PSSGSPPPS (SEQ ID NO: 93);

при этом, если X_{16} , X_{17} или X_{21} представляют собой K, то остаток лизина необязательно ковалентно связан с липофильным заместителем, необязательно через спейсер,

при условии, что полипептид содержит по меньшей мере один остаток, ковалентно связанный с липофильным заместителем, необязательно через спейсер; и

при этом выделенный полипептид необязательно дополнительно содержит лактамный мостик, образованный посредством амидной связи между боковыми цепями лизина и аспарагиновой кислоты или между боковыми цепями лизина и глутаминовой кислоты, при этом остатки, образующие указанный лактамный мостик, расположены в положениях X_{20} и X_{24} или в положениях X_{24} и X_{28} .

В некоторых вариантах осуществления X_{16} представляет собой Aib или K, ковалентно связанный с липофильным заместителем, необязательно - через спейсер.

В некоторых вариантах осуществления, если X_{20} представляет собой Q, то X_{16} представляет собой K, при этом указанный остаток лизина в положении X_{16} ковалентно связан с липофильным заместителем, необязательно - через спейсер; или X_{21} представляет собой K, при этом указанный остаток лизина в положении X_{21} необязательно ковалентно связан с липофильным заместителем, необязательно - через спейсер.

В некоторых вариантах осуществления, если X_{20} представляет собой Q, то X_{21} представляет собой K, при этом указанный остаток лизина в положении X_{21} необязательно ковалентно связан с липофильным заместителем, необязательно - через спейсер.

В некоторых вариантах осуществления, если X_{21} представляет собой E, то X_{20} представляет собой E, K или S.

В некоторых вариантах осуществления, если X_{20} представляет собой Q, то X_{21} не представляет собой E.

В некоторых вариантах осуществления X_{24} представляет собой Aib или K.

В некоторых вариантах осуществления X_{28} представляет собой D или S.

В некоторых вариантах осуществления указанный пептид дополнительно содержит лактамный мостик, образованный посредством амидной связи между боковыми цепями лизина и глутаминовой кислоты в положениях X_{20} и X_{24} , соответственно. В некоторых вариантах осуществления указанный пептид дополнительно содержит лактамный мостик, образованный посредством амидной связи между боковыми цепями глутаминовой кислоты и лизина в положениях X_{20} и X_{24} , соответственно.

В некоторых вариантах осуществления X_1 представляет собой Y. В некоторых вариантах осуществления X_1 представляет собой ацетил-Y.

В некоторых вариантах осуществления X_{16} представляет собой Aib. В некоторых вариантах осуществления X_{16} представляет собой K. В некоторых вариантах осуществления X_{16} представляет собой K, ковалентно связанный с липофильным заместителем, необязательно - через спейсер.

В некоторых вариантах осуществления X_{17} представляет собой K. В некоторых вариантах осуществления X_{17} представляет собой K, ковалентно связанный с липофильным заместителем, необязательно - через спейсер.

В некоторых вариантах осуществления X_{20} представляет собой E. В некоторых вариантах осуществления X_{20} представляет собой K. В некоторых вариантах осуществления X_{20} представляет собой Q. В некоторых вариантах осуществления X_{20} представляет собой S.

В некоторых вариантах осуществления X_{21} представляет собой E. В некоторых вариантах осуществления X_{21} представляет собой K. В некоторых вариантах осуществления X_{21} представляет собой K, ковалентно связанный с липофильным заместителем, необязательно - через спейсер.

В некоторых вариантах осуществления X_{23} представляет собой Aib. В некоторых вариантах осуществления X_{23} представляет собой V.

В некоторых вариантах осуществления X_{24} представляет собой Aib. В некоторых вариантах осуществления X_{24} представляет собой E. В некоторых вариантах осуществления X_{24} представляет собой K. В некоторых вариантах осуществления X_{24} представляет собой Q. В некоторых вариантах осуществления X_{24} представляет собой S.

В некоторых вариантах осуществления X_{28} представляет собой D. В некоторых вариантах осуществления X_{28} представляет собой E. В некоторых вариантах

осуществления X_{28} представляет собой К. В некоторых вариантах осуществления X_{28} представляет собой N. В некоторых вариантах осуществления X_{28} представляет собой Q. В некоторых вариантах осуществления X_{28} представляет собой S. В некоторых вариантах осуществления X_{28} представляет собой N-метилглутамат.

В некоторых вариантах осуществления Z-хвост отсутствует. В некоторых вариантах осуществления Z-хвост представляет собой PSSGAPPPS (SEQ ID NO: 90). В некоторых вариантах осуществления Z-хвост представляет собой PSSGEPPPS (SEQ ID NO: 91). В некоторых вариантах осуществления Z-хвост представляет собой PSSGKPPPS (SEQ ID NO: 92). В некоторых вариантах осуществления Z-хвост представляет собой PSSGSPPPS (SEQ ID NO: 93).

Определенные варианты осуществления данного изобретения, касающиеся конкретных аминокислот, представленных консенсусной последовательностью SEQ ID NO: 82, являются следующими:

В некоторых вариантах осуществления X_{16} представляет собой Aib и X_{17} представляет собой К. В некоторых вариантах осуществления X_{16} представляет собой Aib и X_{17} представляет собой К, ковалентно связанный с липофильным заместителем, необязательно - через спейсер. В некоторых вариантах осуществления X_{16} представляет собой Aib и X_{20} представляет собой Q. В некоторых вариантах осуществления X_{16} представляет собой Aib и X_{21} представляет собой Е. В некоторых вариантах осуществления X_{16} представляет собой Aib и X_{21} представляет собой К, ковалентно связанный с липофильным заместителем, необязательно - через спейсер. В некоторых вариантах осуществления X_{16} представляет собой Aib, и X_{24} представляет собой Aib. В некоторых вариантах осуществления X_{16} представляет собой Aib и X_{28} представляет собой D.

В некоторых вариантах осуществления X_{16} представляет собой К, ковалентно связанный с липофильным заместителем, необязательно - через спейсер, и X_{17} представляет собой К. В некоторых вариантах осуществления X_{16} представляет собой К, ковалентно связанный с липофильным заместителем, необязательно - через спейсер, и X_{20} представляет собой Е. В некоторых вариантах осуществления X_{16} представляет собой К, ковалентно связанный с липофильным заместителем, необязательно - через спейсер, и X_{20} представляет собой S. В некоторых вариантах осуществления X_{16} представляет собой К, ковалентно связанный с липофильным заместителем, необязательно - через спейсер, и X_{21} представляет собой К. В некоторых вариантах осуществления X_{16} представляет собой К, ковалентно связанный с липофильным заместителем, необязательно - через спейсер, и X_{21} представляет собой Е. В некоторых вариантах осуществления X_{16} представляет собой К, ковалентно связанный с липофильным заместителем, необязательно - через спейсер, и X_{24} представляет собой К. В некоторых вариантах осуществления X_{16} представляет собой К, ковалентно связанный с липофильным заместителем, необязательно - через спейсер, и X_{24} представляет собой Aib. В некоторых вариантах осуществления X_{16} представляет собой К, ковалентно связанный с липофильным заместителем, необязательно - через спейсер, и X_{28}

В некоторых вариантах осуществления X_{21} представляет собой Е и X_{24}

представляет собой Aib. В некоторых вариантах осуществления X_{21} представляет собой E и X_{28} представляет собой D. В некоторых вариантах осуществления X_{21} представляет собой E и X_{28} представляет собой S.

В некоторых вариантах осуществления X_{21} представляет собой K и X_{24} представляет собой K. В некоторых вариантах осуществления X_{21} представляет собой K и X_{28} представляет собой D.

В некоторых вариантах осуществления X_{21} представляет собой K, ковалентно связанный с липофильным заместителем, необязательно - через спейсер, и X_{24} представляет собой Aib. В некоторых вариантах осуществления X_{21} представляет собой K, ковалентно связанный с липофильным заместителем, необязательно - через спейсер, и X_{28} представляет собой D.

В некоторых вариантах осуществления X_{24} представляет собой Aib и X_{28} представляет собой D. В некоторых вариантах осуществления X_{24} представляет собой Aib и X_{28} представляет собой S.

В некоторых вариантах осуществления X_{24} представляет собой K и X_{28} представляет собой D.

Определенные варианты осуществления данного изобретения, касающиеся конкретных аминокислот, представленных консенсусной последовательностью SEQ ID NO: 82, являются следующими:

В некоторых вариантах осуществления X_{16} представляет собой Aib, X_{17} представляет собой K, ковалентно связанный с липофильным заместителем, необязательно - через спейсер, и X_{20} представляет собой Q. В некоторых вариантах осуществления X_{16} представляет собой Aib, X_{17} представляет собой K, ковалентно связанный с липофильным заместителем, необязательно - через спейсер, и X_{21} представляет собой E. В некоторых вариантах осуществления X_{16} представляет собой Aib, X_{17} представляет собой K, ковалентно связанный с липофильным заместителем, необязательно - через спейсер, и X_{24} представляет собой Aib. В некоторых вариантах осуществления X_{16} представляет собой Aib, X_{17} представляет собой K, ковалентно связанный с липофильным заместителем, необязательно - через спейсер, и X_{28} представляет собой D.

В некоторых вариантах осуществления X_{16} представляет собой Aib, X_{17} представляет собой K и X_{20} представляет собой Q. В некоторых вариантах осуществления X_{16} представляет собой Aib, X_{17} представляет собой K и X_{21} представляет собой K, ковалентно связанный с липофильным заместителем, необязательно - через спейсер. В некоторых вариантах осуществления X_{16} представляет собой Aib, X_{17} представляет собой K и X_{24} представляет собой Aib. В некоторых вариантах осуществления X_{16} представляет собой Aib, X_{17} представляет собой K и X_{28} представляет собой D.

В некоторых вариантах осуществления X_{16} представляет собой K, ковалентно связанный с липофильным заместителем, необязательно - через спейсер, X_{17} представляет собой K и X_{20} представляет собой E. В некоторых вариантах осуществления X_{16}

X_{28} представляет собой D.

В некоторых вариантах осуществления X_{20} представляет собой Q, X_{21} представляет собой E и X_{24} представляет собой Aib. В некоторых вариантах осуществления X_{20} представляет собой Q, X_{21} представляет собой E и X_{28} представляет собой D.

В некоторых вариантах осуществления X_{20} представляет собой Q, X_{21} представляет собой K, ковалентно связанный с липофильным заместителем, необязательно - через спейсер, и X_{24} представляет собой Aib. В некоторых вариантах осуществления X_{20} представляет собой Q, X_{21} представляет собой K, ковалентно связанный с липофильным заместителем, необязательно - через спейсер, и X_{28} представляет собой D.

В некоторых вариантах осуществления X_{20} представляет собой E, X_{21} представляет собой K и X_{24} представляет собой K. В некоторых вариантах осуществления X_{20} представляет собой E, X_{21} представляет собой K и X_{24} представляет собой D.

В некоторых вариантах осуществления X_{20} представляет собой S, X_{21} представляет собой E и X_{24} представляет собой Aib. В некоторых вариантах осуществления X_{20} представляет собой S, X_{21} представляет собой E и X_{28} представляет собой S.

Конъюгирование липофильного заместителя с любым из пептидов, необязательно с помощью спейсера

В некоторых вариантах осуществления любой из описанных в данном документе полипептидов необязательно замещен одним или большим числом липофильных заместителей, каждый из которых необязательно присоединен через спейсер, при этом «липофильный заместитель» и «спейсер» определены в данном документе. В некоторых вариантах осуществления любой из описанных в данном документе полипептидов, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из аминокислотных последовательностей, представленных любой из консенсусных последовательностей от SEQ ID NO: 1 до SEQ ID NO: 60, либо содержит один или большее число липофильных заместителей, каждый из которых необязательно присоединен через спейсер, либо может быть модифицирован, или дополнительно модифицирован, ковалентным присоединением одного или большего числа липофильных заместителей, каждый из которых необязательно присоединен через спейсер. В некоторых вариантах осуществления любой из описанных в данном документе полипептидов, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из аминокислотных последовательностей, представленных любой из консенсусных последовательностей от SEQ ID NO: 1 до SEQ ID NO: 39, либо содержит один или большее число липофильных заместителей, каждый из которых необязательно присоединен через спейсер, либо может быть модифицирован, или дополнительно модифицирован, ковалентным присоединением одного или большего числа липофильных заместителей, каждый из которых необязательно присоединен через спейсер. В некоторых вариантах осуществления любой из описанных в данном документе полипептидов, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из аминокислотных последовательностей, представленных любой из консенсусных

последовательностей SEQ ID NO: 101-112, 115-140, 142-147 или 149-160, может быть модифицирован ковалентным присоединением одного или большего числа липофильных заместителей, каждый из которых необязательно присоединен через спейсер. В некоторых вариантах осуществления любой из описанных в данном документе полипептидов, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из аминокислотных последовательностей, представленных любой из консенсусных последовательностей от SEQ ID NO: 101 до SEQ ID NO: 112 или от SEQ ID NO: 115 до SEQ ID NO: 139, может быть модифицирован ковалентным присоединением одного или большего числа липофильных заместителей, каждый из которых необязательно присоединен через спейсер. В некоторых вариантах осуществления любой из описанных в данном документе полипептидов, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из аминокислотных последовательностей, представленных любой из консенсусных последовательностей SEQ ID NO: 211, 212, 221, 225-235, 238-245, 251, 252 или 255-258, может быть модифицирован ковалентным присоединением одного или большего числа липофильных заместителей, каждый из которых необязательно присоединен через спейсер. В некоторых вариантах осуществления любой из описанных в данном документе полипептидов, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из аминокислотных последовательностей, представленных любой из консенсусных последовательностей SEQ ID NO: 211, 212, 221, 225-235, 238 или 239, может быть модифицирован ковалентным присоединением одного или большего числа липофильных заместителей, каждый из которых необязательно присоединен через спейсер. В некоторых вариантах осуществления указанный липофильный заместитель может быть присоединен к аминогруппе указанного полипептида (например, ϵ -аминогруппе остатка лизина) посредством карбоксильной группы указанного липофильного заместителя, или, необязательно, посредством аминогруппы указанного спейсера, при этом указанная карбоксильная группа указанного спейсера образует амидную связь с ϵ -аминогруппой остатка лизина.

Липофильный заместитель

Конъюгирование одного или большего числа «липофильных заместителей», каждый из которых необязательно присоединен посредством двухвалентного «спейсера», с любыми из описанных в данном документе полипептидов согласно данному изобретению предназначено для продления действия указанного полипептида путем облегчения связывания с сывороточным альбумином и замедления почечного клиренса указанного конъюгированного полипептида. При употреблении в контексте данного документа термин «липофильный заместитель» охватывает собой заместитель, содержащий от 4 до 40 атомов углерода, от 8 до 25 атомов углерода, от 12 до 22 атомов углерода или от 6 до 20 атомов углерода. Липофильный заместитель может быть присоединен к аминогруппе указанного полипептида (например, ϵ -аминогруппе остатка лизина) посредством карбоксильной группы указанного липофильного заместителя, или,

необязательно, посредством аминокруппы указанного спейсера, при этом указанная карбоксильная группа указанного спейсера в свою очередь образует амидную связь с аминокруппой аминокислотного остатка (например, лизина), к которому он прикреплен. В некоторых вариантах осуществления полипептид содержит три, два или, предпочтительно, один липофильный заместитель, каждый - с необязательным спейсером или без него, что описано более подробно ниже.

В некоторых вариантах осуществления указанный липофильный заместитель содержит неразветвленную или разветвленную алкильную группу. В некоторых вариантах осуществления указанный липофильный заместитель представляет собой ацильную группу неразветвленной или разветвленной жирной кислоты. В некоторых вариантах осуществления указанный липофильный заместитель представляет собой ацильную группу неразветвленной или разветвленной жирной кислоты, дополнительно замещенную одной или большим числом групп карбоновой кислоты и/или гидроксамовой кислоты.

В некоторых вариантах осуществления полипептид содержит три, два или, предпочтительно, один липофильный заместитель, каждый - без необязательного спейсера. В некоторых вариантах осуществления указанный липофильный заместитель представляет собой $-\text{CO}(\text{CH}_2)_{16}\text{CO}_2\text{H}$. В некоторых вариантах осуществления указанный липофильный заместитель представляет собой $-\text{CO}(\text{CH}_2)_{18}\text{CO}_2\text{H}$. В некоторых вариантах осуществления указанный липофильный заместитель представляет собой $-\text{CO}(\text{CH}_2)_{20}\text{CO}_2\text{H}$.

В некоторых вариантах осуществления полипептид содержит три, два или, предпочтительно, один липофильный заместитель, каждый с необязательным спейсером или без него. В некоторых вариантах осуществления указанный липофильный заместитель представляет собой одновалентную группу по формуле I:



Формула I

где

Z представляет собой $-\text{CH}_3$ или $-\text{CO}_2\text{H}$; и

m равно от 4 до 24,

при этом указанный липофильный заместитель образует амидную связь между аминокруппой (например, ϵ -аминокруппой лизина) полипептида, представленного в данном изобретении, и группой CO- указанного липофильного заместителя.

В некоторых вариантах осуществления Z представляет собой $-\text{CO}_2\text{H}$. В некоторых вариантах осуществления m равно от 14 до 20. В некоторых вариантах осуществления указанный липофильный заместитель ковалентно связан с указанным выделенным полипептидом через спейсер. В некоторых вариантах осуществления указанный липофильный заместитель $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_m-\text{Z}$ связан с аминокруппой выделенного полипептида через спейсер, при этом указанный спейсер образует мостик между указанной аминокруппой выделенного полипептида и CO-группой указанного липофильного заместителя.

В некоторых вариантах осуществления m выбран из группы, состоящей из 4-20, 8-20, 12-20, 14-20, 16-20, 14, 16, 18 и 20.

В некоторых вариантах осуществления Z представляет собой $-\text{CO}_2\text{H}$ и указанный липофильный заместитель имеет формулу $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_m-\text{CO}_2\text{H}$. В некоторых вариантах осуществления $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_m-Z$ выбран из группы, состоящей из $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_4-\text{CO}_2\text{H}$, $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_5-\text{CO}_2\text{H}$, $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_6-\text{CO}_2\text{H}$, $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_7-\text{CO}_2\text{H}$, $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_8-\text{CO}_2\text{H}$, $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_9-\text{CO}_2\text{H}$, $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_{10}-\text{CO}_2\text{H}$, $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_{11}-\text{CO}_2\text{H}$, $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_{12}-\text{CO}_2\text{H}$, $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_{13}-\text{CO}_2\text{H}$, $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_{14}-\text{CO}_2\text{H}$, $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_{15}-\text{CO}_2\text{H}$, $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_{16}-\text{CO}_2\text{H}$, $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_{17}-\text{CO}_2\text{H}$, $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_{18}-\text{CO}_2\text{H}$, $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_{19}-\text{CO}_2\text{H}$, $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_{20}-\text{CO}_2\text{H}$.

В некоторых вариантах осуществления указанный липофильный заместитель представляет собой $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_{14}-\text{CO}_2\text{H}$. В некоторых вариантах осуществления указанный липофильный заместитель представляет собой $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_{16}-\text{CO}_2\text{H}$. В некоторых вариантах осуществления указанный липофильный заместитель представляет собой $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_{18}-\text{CO}_2\text{H}$. В некоторых вариантах осуществления указанный липофильный заместитель представляет собой $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_{20}-\text{CO}_2\text{H}$.

В некоторых вариантах осуществления Z представляет собой $-\text{CH}_3$ и указанный липофильный заместитель имеет формулу $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_m-\text{CH}_3$. В некоторых вариантах осуществления $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_m-Z$ выбран из группы, состоящей из $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_4-\text{CH}_3$, $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_5-\text{CH}_3$, $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_6-\text{CH}_3$, $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_7-\text{CH}_3$, $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_8-\text{CH}_3$, $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_9-\text{CH}_3$, $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_{10}-\text{CH}_3$, $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_{11}-\text{CH}_3$, $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_{12}-\text{CH}_3$, $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_{13}-\text{CH}_3$, $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_{14}-\text{CH}_3$, $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_{15}-\text{CH}_3$, $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_{16}-\text{CH}_3$, $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_{17}-\text{CH}_3$, $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_{18}-\text{CH}_3$, $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_{19}-\text{CH}_3$ и $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_{20}-\text{CH}_3$.

Липофильный заместитель и спейсер

В некоторых вариантах осуществления указанный липофильный заместитель присоединен к родительскому пептиду посредством «спейсера». В некоторых вариантах осуществления в данном изобретении представлен любой из описанных в данном документе полипептидов, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из аминокислотных последовательностей, представленных любой из консенсусных последовательностей SEQ ID NO: 1-60, 101-112, 115-140, 142-147, 149-160, 211, 212, 221, 225-235, 238-245, 251, 252 или 255-258, содержащий липофильный заместитель, при этом указанный липофильный заместитель соединен с ϵ -аминогруппой лизина через спейсер, при этом указанный спейсер образует мостик между аминогруппой указанного описанного в данном документе полипептида и группой CO - указанного липофильного заместителя. В некоторых вариантах осуществления в данном изобретении представлен любой из описанных в данном документе полипептидов, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из аминокислотных последовательностей, представленных любой из консенсусных последовательностей SEQ ID NO: 1-39, 101-112, 115-139, 211, 212, 221, 225-235, 238 или 239, содержащий липофильный заместитель, при этом указанный липофильный заместитель соединен с ϵ -аминогруппой лизина через спейсер, при этом указанный

спейсер образует мостик между аминогруппой указанного описанного в данном документе полипептида и группой СО- указанного липофильного заместителя.

В некоторых вариантах осуществления указанный спейсер содержит одну или большее число аминокислот, например, одиночную аминокислоту, такую как Glu, Asp, Gly или Lys, дипептид, такой как 2(Glu), Glu-Gly, или полипептид, такой как 3(Glu), 4(Glu), 2(Glu)-Gly и т. д. В некоторых вариантах осуществления, когда указанный спейсер содержит одну или большее число аминокислот, например, Glu, Asp, Gly или Lys, одна карбоксильная группа указанного спейсера может образовывать амидную связь с аминогруппой представленного в данном изобретении полипептида, и аминогруппа указанного спейсера может образовывать амидную связь с карбоксильной группой указанного липофильного заместителя.

В некоторых вариантах осуществления, когда указанный спейсер содержит Glu или Asp, которые дополнительно включают в себя боковую цепь, заканчивающуюся карбоновой кислотой, концевая карбоксильная группа указанной боковой цепи указанного спейсера, содержащего Glu или Asp, может образовывать амидную связь с аминогруппой представленного в данном изобретении полипептида, и аминогруппа указанного спейсера, содержащего Glu или Asp, может образовывать амидную связь с карбоксильной группой указанного липофильного заместителя, т. е. γ Glu или β Asp.

В некоторых вариантах осуществления указанный спейсер представляет собой γ Glu- γ Glu-dpeg-. В некоторых вариантах осуществления указанный спейсер представляет собой γ Glu- γ Glu-dpeg- γ Glu- γ Glu-. В некоторых вариантах осуществления указанный спейсер представляет собой $-\text{[COCH}_2\text{(OCH}_2\text{CH}_2\text{)}_2\text{NH]}_2\text{-}\gamma$ Glu-.

В некоторых вариантах осуществления полипептид содержит три, два или, предпочтительно, один липофильный заместитель, каждый - со спейсером. В некоторых неограничивающих вариантах осуществления указанные липофильный заместитель и спейсер образуют одновалентную группу, выбранную из группы, состоящей из фрагментов, перечисленных в таблице 7.

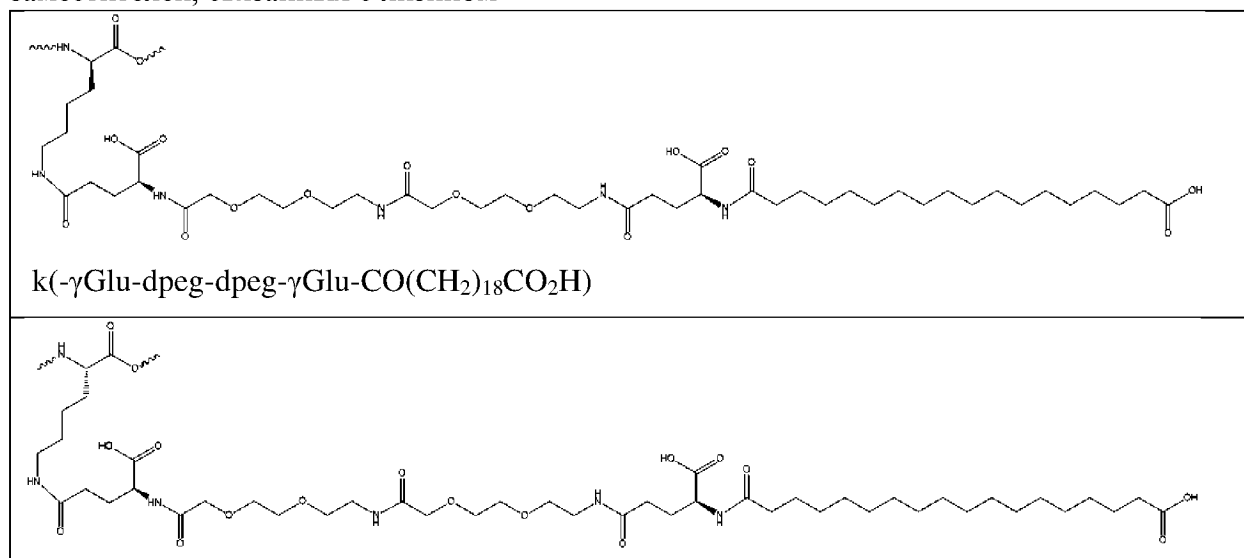
Таблица 7: репрезентативные фрагменты - липофильные заместители и фрагменты-спейсеры

$-\gamma$ Glu- γ Glu-CO(CH ₂) ₁₆ CO ₂ H
$-\gamma$ Glu- γ Glu-CO(CH ₂) ₁₇ CO ₂ H
$-\gamma$ Glu- γ Glu-CO(CH ₂) ₁₈ CO ₂ H
$-\gamma$ Glu- γ Glu-dpeg-CO(CH ₂) ₁₆ CO ₂ H
$-\gamma$ Glu- γ Glu-dpeg-CO(CH ₂) ₁₈ CO ₂ H
$-\gamma$ Glu- γ Glu-dpeg- γ Glu-CO(CH ₂) ₁₆ CO ₂ H
$-\gamma$ Glu- γ Glu-dpeg- γ Glu-CO(CH ₂) ₁₈ CO ₂ H
$-\gamma$ Glu- γ Glu-dpeg- γ Glu- γ Glu-CO(CH ₂) ₁₆ CO ₂ H
$-\gamma$ Glu- γ Glu-dpeg- γ Glu- γ Glu-CO(CH ₂) ₁₈ CO ₂ H

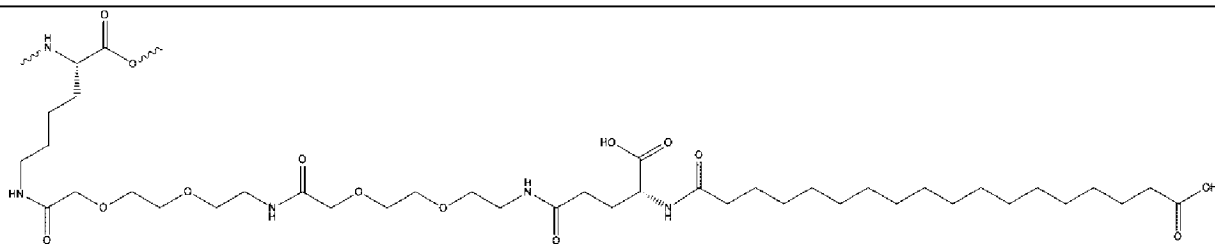
$-\gamma\text{Glu}-\gamma\text{Glu}-\text{dpeg}-\text{dpeg}-\text{CO}(\text{CH}_2)_{16}\text{CO}_2\text{H}$
$-\gamma\text{Glu}-\gamma\text{Glu}-\text{dpeg}-\text{dpeg}-\text{CO}(\text{CH}_2)_{18}\text{CO}_2\text{H}$
$-\gamma\text{Glu}-\gamma\text{Glu}-\text{dpeg}-\text{dpeg}-\gamma\text{Glu}-\text{CO}(\text{CH}_2)_{16}\text{CO}_2\text{H}$
$-\gamma\text{Glu}-\gamma\text{Glu}-\text{dpeg}-\text{dpeg}-\gamma\text{Glu}-\text{CO}(\text{CH}_2)_{18}\text{CO}_2\text{H}$
$-\gamma\text{Glu}-\gamma\text{Glu}-\gamma\text{Glu}-\text{CO}(\text{CH}_2)_{16}\text{CO}_2\text{H}$
$-\gamma\text{Glu}-\gamma\text{Glu}-\gamma\text{Glu}-\text{CO}(\text{CH}_2)_{18}\text{CO}_2\text{H}$
$-\text{dpeg}-\text{dpeg}-\gamma\text{Glu}-\text{CO}(\text{CH}_2)_{16}\text{CO}_2\text{H}$
$-\text{dpeg}-\text{dpeg}-\gamma\text{Glu}-\text{CO}(\text{CH}_2)_{18}\text{CO}_2\text{H}$
$-\gamma\text{Glu}-\text{dpeg}-\text{dpeg}-\gamma\text{Glu}-\text{CO}(\text{CH}_2)_{16}\text{CO}_2\text{H}$
$-\gamma\text{Glu}-\text{dpeg}-\text{dpeg}-\gamma\text{Glu}-\text{CO}(\text{CH}_2)_{18}\text{CO}_2\text{H}$
$-\gamma\text{Glu}-\gamma\text{Glu}-\gamma\text{Glu}-\text{dpeg}-\text{CO}(\text{CH}_2)_{16}\text{CO}_2\text{H}$
$-\gamma\text{Glu}-\gamma\text{Glu}-\gamma\text{Glu}-\text{dpeg}-\text{CO}(\text{CH}_2)_{18}\text{CO}_2\text{H}$
$-\gamma\text{Glu}-\text{dpeg}-\text{CO}(\text{CH}_2)_{16}\text{CO}_2\text{H}$
$-\gamma\text{Glu}-\text{dpeg}-\text{CO}(\text{CH}_2)_{18}\text{CO}_2\text{H}$
$-\text{[COCH}_2(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_2\text{NH]}_2-\gamma\text{Glu}-\text{CO}(\text{CH}_2)_{16}\text{CO}_2\text{H}$

Предпочтительно, указанные липофильный заместитель и спейсер присоединены к аминокгруппе указанного полипептида. В частности, карбоксильная группа указанного липофильного заместителя или, необязательно, карбоксильная группа указанного спейсера образует амидную связь с ϵ -аминогруппой остатка лизина. Указанный остаток лизина, связанный с указанным липофильным заместителем, необязательно - через спейсер, может представлять собой L-лизин или D-лизин. Структурные представления репрезентативных спейсерных фрагментов и липофильных заместителей представлены в таблице 8.

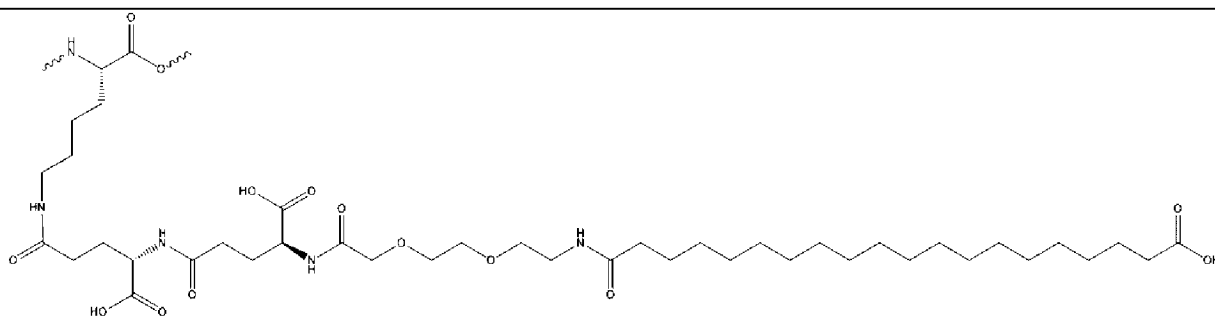
Таблица 8: структуры репрезентативных спейсерных фрагментов и липофильных заместителей, связанных с лизином



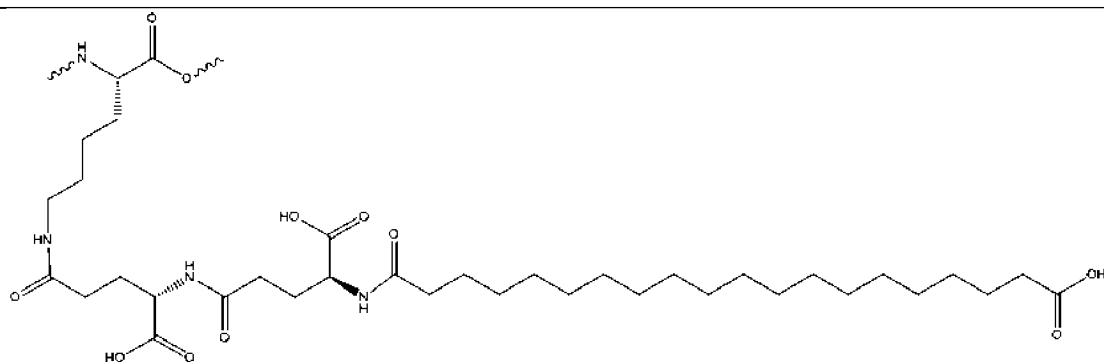
K(- γ Glu-dpeg- γ Glu-CO(CH₂)₁₈CO₂H)



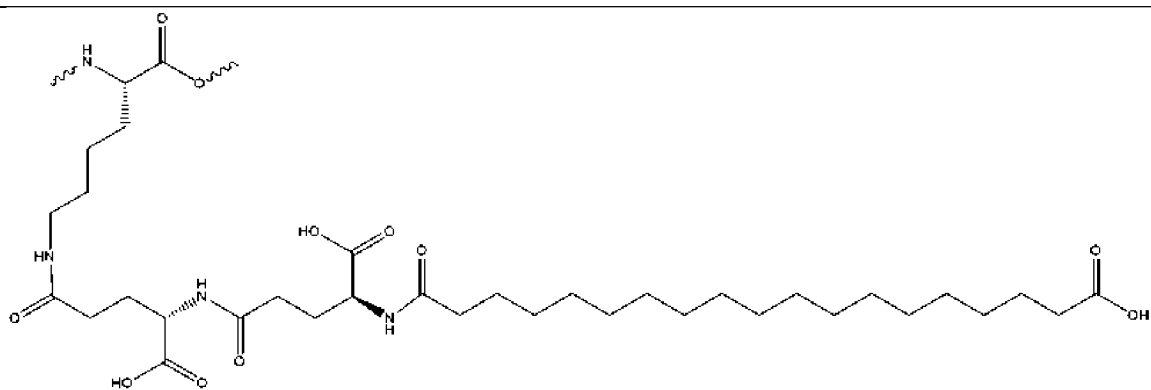
K(-dpeg-dpeg- γ Glu-CO(CH₂)₁₆CO₂H)



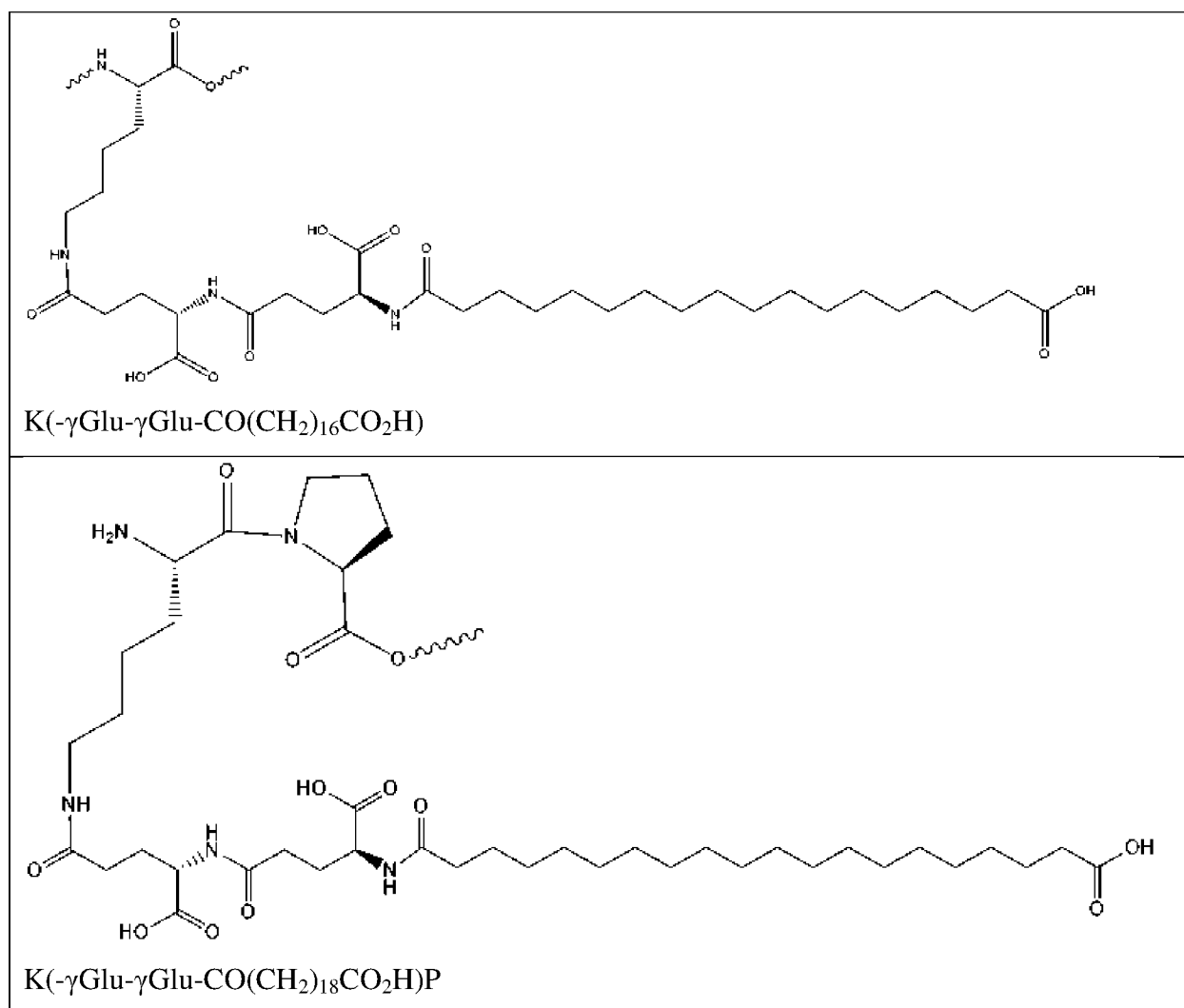
K(- γ Glu- γ Glu-dpeg-CO(CH₂)₁₈CO₂H)



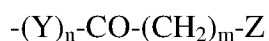
K(- γ Glu- γ Glu-CO(CH₂)₁₈CO₂H)



K(- γ Glu- γ Glu-CO(CH₂)₁₇CO₂H)



В некоторых вариантах осуществления указанные липофильный заместитель и спейсер образуют одновалентную группу по формуле II:



Формула II

где

Y выбран из группы, состоящей из γGlu , Asp, Lys и Gly;

Z представляет собой $-\text{CH}_3$ или $-\text{CO}_2\text{H}$;

m равно от 4 до 24; и

n равно от 1 до 10.

В некоторых вариантах осуществления Z представляет собой $-\text{CO}_2\text{H}$. В некоторых вариантах осуществления m равно от 14 до 20. В некоторых вариантах осуществления Y представляет собой γGlu . В некоторых вариантах осуществления n равно от 1 до 5.

В некоторых вариантах осуществления Y выбран из группы, состоящей из γGlu и Gly. В некоторых вариантах осуществления Y представляет собой γGlu . В некоторых вариантах осуществления Y представляет собой Gly.

В некоторых вариантах осуществления полипептид содержит три, два или, предпочтительно, один липофильный заместитель, каждый - со спейсером. В некоторых вариантах осуществления указанные липофильный заместитель и спейсер представляют

с собой одновалентную группу по формуле III:



Формула III

где

V представляет собой $-[COCH_2(OCH_2CH_2)_tNH]-$;

Y выбран из группы, состоящей из γ Glu, Asp и Gly;

Z представляет собой $-CH_3$ или $-CO_2H$;

m равно от 4 до 24;

n равно от 1 до 10;

r равно от 1 до 6; и

t равно от 1 до 6.

В некоторых вариантах осуществления Z представляет собой $-CO_2H$. В некоторых вариантах осуществления Z представляет собой $-CH_3$.

В некоторых вариантах осуществления Y представляет собой γ Glu. В некоторых вариантах осуществления Y представляет собой Asp. В некоторых вариантах осуществления Y представляет собой Gly.

В некоторых вариантах осуществления m выбран из группы, состоящей из 4-20, 8-20, 12-20, 14-20, 16-20, 14, 16, 18 и 20. В некоторых вариантах осуществления m равно от 14 до 20.

В некоторых вариантах осуществления n выбран из группы, состоящей из 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 и 10. В некоторых вариантах осуществления n равно от 1 до 5. В некоторых вариантах осуществления n равен 1. В некоторых вариантах осуществления n равен 2. В некоторых вариантах осуществления n равен 3. В некоторых вариантах осуществления n равен 4. В некоторых вариантах осуществления n равен 5.

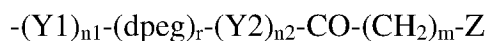
В некоторых вариантах осуществления r равно от 1 до 3. В некоторых вариантах осуществления r равен 1. В некоторых вариантах осуществления r равен 2. В некоторых вариантах осуществления r равен 3. В некоторых вариантах осуществления r равен 4. В некоторых вариантах осуществления r равен 5.

В некоторых вариантах осуществления t равно от 1 до 3. В некоторых вариантах осуществления t выбран из группы, состоящей из 1, 2, 3, 4, 5 и 6.

В некоторых вариантах осуществления Y представляет собой γ Glu; Z представляет собой $-CO_2H$; m равен 16; n равен 1; r равен 2; и t равен 2.

В одном варианте осуществления $-(V)_r-(Y)_n-$ представляет собой $-[COCH_2(OCH_2CH_2)_2NH]_2-\gamma$ Glu-.

В некоторых вариантах осуществления полипептид содержит три, два или, предпочтительно, один липофильный заместитель, каждый - со спейсером. В некоторых вариантах осуществления указанные липофильный заместитель и спейсер представляют собой одновалентную группу по формуле IV:



Формула IV

где

Z представляет собой $-\text{CH}_3$ или $-\text{CO}_2\text{H}$;

m равно от 4 до 24;

Y1 выбран из группы, состоящей из γGlu , Asp и Gly;

Y2 выбран из группы, состоящей из γGlu , Asp и Gly;

dreg представляет собой $-\text{[CO(CH}_2\text{)O(CH}_2\text{)}_2\text{O(CH}_2\text{)NH]-}$;

r равно от 1 до 8;

n1 равно от 0 до 10; и

n2 равно от 0 до 10.

В некоторых вариантах осуществления Z представляет собой $-\text{CO}_2\text{H}$. В некоторых вариантах осуществления Z представляет собой $-\text{CH}_3$.

В некоторых вариантах осуществления m выбран из группы, состоящей из 4-20, 8-20, 12-20, 14-20, 16-20, 14, 16, 18 и 20. В некоторых вариантах осуществления m равно от 14 до 20.

В некоторых вариантах осуществления Y1 представляет собой γGlu . В некоторых вариантах осуществления Y1 представляет собой Asp. В некоторых вариантах осуществления Y1 представляет собой Gly.

В некоторых вариантах осуществления Y2 представляет собой γGlu . В некоторых вариантах осуществления Y2 представляет собой Asp. В некоторых вариантах осуществления Y2 представляет собой Gly.

В некоторых вариантах осуществления n1 выбран из группы, состоящей из 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 и 10. В некоторых вариантах осуществления n1 равно от 0 до 3. В некоторых вариантах осуществления n1 равен 0. В некоторых вариантах осуществления n1 равен 1. В некоторых вариантах осуществления n1 равен 2. В некоторых вариантах осуществления n1 равен 3. В некоторых вариантах осуществления n1 равен 4. В некоторых вариантах осуществления n1 равен 5.

В некоторых вариантах осуществления n2 выбран из группы, состоящей из 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 и 10. В некоторых вариантах осуществления n2 равно от 0 до 3. В некоторых вариантах осуществления n2 равен 0. В некоторых вариантах осуществления n2 равен 1. В некоторых вариантах осуществления n2 равен 2. В некоторых вариантах осуществления n2 равен 3. В некоторых вариантах осуществления n2 равен 4. В некоторых вариантах осуществления n2 равен 5.

В некоторых вариантах осуществления r равно от 1 до 3. В некоторых вариантах осуществления r равен 1. В некоторых вариантах осуществления r равен 2. В некоторых вариантах осуществления r равен 3. В некоторых вариантах осуществления r равен 4. В некоторых вариантах осуществления r равен 5. В некоторых вариантах осуществления r равен 6. В некоторых вариантах осуществления r равен 7. В некоторых вариантах осуществления r равен 8.

В некоторых вариантах осуществления r равен 1, n1 равен 2 и n2 равен 0.

В некоторых вариантах осуществления r равен 1, n1 равен 2 и n2 равен 2.

В некоторых вариантах осуществления Y1 представляет собой γGlu и Y2 представляет собой γGlu .

В некоторых вариантах осуществления Y1 представляет собой γGlu и n_2 равен 0.

В некоторых вариантах осуществления Y1 представляет собой γGlu , r равен 1, n_1 равен 2 и n_2 равен 0.

В некоторых вариантах осуществления $-(Y1)_{n1}-(d\text{peg})_r-(Y2)_{n2}$ выбран из группы, состоящей из $-\gamma\text{Glu}-\gamma\text{Glu}-d\text{peg}-$, $-\gamma\text{Glu}-\gamma\text{Glu}-d\text{peg}-\gamma\text{Glu}-\gamma\text{Glu}-$, $-\gamma\text{Glu}-\gamma\text{Glu}-d\text{peg}-\gamma\text{Glu}-$, $-\gamma\text{Glu}-\gamma\text{Glu}-d\text{peg}-d\text{peg}-$, $-\gamma\text{Glu}-\gamma\text{Glu}-d\text{peg}-d\text{peg}-\gamma\text{Glu}-$, $-d\text{peg}-d\text{peg}-\gamma\text{Glu}-$, $-\gamma\text{Glu}-\gamma\text{Glu}-\gamma\text{Glu}-d\text{peg}-$ и $-\gamma\text{Glu}-d\text{peg}-$.

В некоторых вариантах осуществления полипептид содержит три, два или, предпочтительно, один липофильный заместитель, каждый - со спейсером. В некоторых вариантах осуществления указанные липофильный заместитель и спейсер представляют собой одновалентную группу по формуле V:



Формула V

где

Z представляет собой $-\text{CH}_3$ или $-\text{CO}_2\text{H}$;

m равно от 4 до 24; и

n равно от 1 до 10.

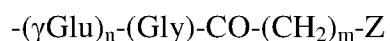
В некоторых вариантах осуществления Z представляет собой $-\text{CH}_3$. В некоторых вариантах осуществления Z представляет собой $-\text{CO}_2\text{H}$.

В некоторых вариантах осуществления m равно от 14 до 20.

В некоторых вариантах осуществления m выбран из группы, состоящей из 4-20, 8-20, 12-20, 14-20, 16-20, 14, 16, 18 и 20.

В некоторых вариантах осуществления n выбран из группы, состоящей из 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 и 10. В некоторых вариантах осуществления n равен 1. В некоторых вариантах осуществления n равен 2. В некоторых вариантах осуществления n равен 3. В некоторых вариантах осуществления n равен 4. В некоторых вариантах осуществления n равен 5.

В некоторых вариантах осуществления полипептид содержит три, два или, предпочтительно, один липофильный заместитель, каждый - со спейсером. В некоторых вариантах осуществления указанные липофильный заместитель и спейсер представляют собой одновалентную группу по формуле VI:



Формула VI

где

Z представляет собой $-\text{CH}_3$ или $-\text{CO}_2\text{H}$;

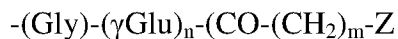
m равно от 4 до 24; и

n равно от 1 до 10.

В некоторых вариантах осуществления $(\gamma\text{Glu})_n$ выбран из группы, состоящей из γGlu ; $2(\gamma\text{Glu})$; $3(\gamma\text{Glu})$; $4(\gamma\text{Glu})$; и $5(\gamma\text{Glu})$. В некоторых вариантах осуществления $-(\gamma\text{Glu})_n-$

(Gly)- выбран из группы, состоящей из 2(γ Glu),Gly; и 3(γ Glu),Gly.

В некоторых вариантах осуществления полипептид содержит три, два или, предпочтительно, один липофильный заместитель, каждый - со спейсером. В некоторых вариантах осуществления указанные липофильный заместитель и спейсер представляют собой одновалентную группу по формуле VII:



Формула VII

где

Z представляет собой $-\text{CH}_3$ или $-\text{CO}_2\text{H}$;

m равно от 4 до 24; и

n равно от 1 до 10.

В некоторых вариантах осуществления некоторые переменные, представленные в некоторых из предшествующих формул, включают в себя следующее.

В некоторых вариантах осуществления Z представляет собой $-\text{CH}_3$. В некоторых вариантах осуществления Z представляет собой $-\text{CO}_2\text{H}$.

В некоторых вариантах осуществления m выбран из группы, состоящей из 4-20, 8-20, 12-20, 14-20, 16-20, 14, 16, 18 и 20.

В некоторых вариантах осуществления n выбран из группы, состоящей из 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 и 10. В некоторых вариантах осуществления n равен 1. В некоторых вариантах осуществления n равен 2. В некоторых вариантах осуществления n равен 3. В некоторых вариантах осуществления n равен 4. В некоторых вариантах осуществления n равен 5.

В некоторых вариантах осуществления n равен 1 и Z представляет собой $-\text{CO}_2\text{H}$. В некоторых вариантах осуществления n равен 1 и Z представляет собой $-\text{CH}_3$. В некоторых вариантах осуществления n равен 2 и Z представляет собой $-\text{CO}_2\text{H}$. В некоторых вариантах осуществления n равен 2 и Z представляет собой $-\text{CH}_3$. В некоторых вариантах осуществления n равен 3 и Z представляет собой $-\text{CO}_2\text{H}$. В некоторых вариантах осуществления n равен 3 и Z представляет собой $-\text{CH}_3$. В некоторых вариантах осуществления n равен 4 и Z представляет собой $-\text{CO}_2\text{H}$. В некоторых вариантах осуществления n равен 4 и Z представляет собой $-\text{CH}_3$. В некоторых вариантах осуществления n равен 5 и Z представляет собой $-\text{CO}_2\text{H}$. В некоторых вариантах осуществления n равен 5 и Z представляет собой $-\text{CH}_3$.

В некоторых вариантах осуществления n равен 1, Z представляет собой $-\text{CO}_2\text{H}$ и m равен 14-20. В некоторых вариантах осуществления n равен 1, Z представляет собой $-\text{CO}_2\text{H}$ и m равен 14. В некоторых вариантах осуществления n равен 1, Z представляет собой $-\text{CO}_2\text{H}$ и m равен 16. В некоторых вариантах осуществления n равен 1, Z представляет собой $-\text{CO}_2\text{H}$ и m равен 18.

В некоторых вариантах осуществления n равен 1, Z представляет собой $-\text{CH}_3$ и m равен 14-20. В некоторых вариантах осуществления n равен 1, Z равен $-\text{CH}_3$ и m равен 14. В некоторых вариантах осуществления n равен 1, Z равен $-\text{CH}_3$ и m равен 16. В некоторых вариантах осуществления n равен 1, Z равен $-\text{CH}_3$ и m равен 18.

В некоторых вариантах осуществления n равен 2, Z равен $-\text{CO}_2\text{H}$ и m равен 14-20. В некоторых вариантах осуществления n равен 2, Z равен $-\text{CO}_2\text{H}$ и m равен 14. В некоторых вариантах осуществления n равен 2, Z равен $-\text{CO}_2\text{H}$ и m равен 16. В некоторых вариантах осуществления n равен 2, Z равен $-\text{CO}_2\text{H}$ и m равен 18.

В некоторых вариантах осуществления n равен 2, Z равен $-\text{CH}_3$ и m равен 14-20. В некоторых вариантах осуществления n равен 2, Z равен $-\text{CH}_3$ и m равен 14. В некоторых вариантах осуществления n равен 2, Z равен $-\text{CH}_3$ и m равен 16. В некоторых вариантах осуществления n равен 2, Z равен $-\text{CH}_3$ и m равен 18.

В некоторых вариантах осуществления n равен 3, Z равен $-\text{CO}_2\text{H}$ и m равен 14-20. В некоторых вариантах осуществления n равен 3, Z равен $-\text{CO}_2\text{H}$ и m равен 14. В некоторых вариантах осуществления n равен 3, Z равен $-\text{CO}_2\text{H}$ и m равен 16. В некоторых вариантах осуществления n равен 3, Z равен $-\text{CO}_2\text{H}$ и m равен 18.

В некоторых вариантах осуществления n равен 3, Z равен $-\text{CH}_3$ и m равен 14-20. В некоторых вариантах осуществления n равен 3, Z равен $-\text{CH}_3$ и m равен 14. В некоторых вариантах осуществления n равен 3, Z равен $-\text{CH}_3$ и m равен 16. В некоторых вариантах осуществления n равен 3, Z равен $-\text{CH}_3$ и m равен 18.

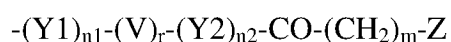
В некоторых вариантах осуществления n равен 4, Z равен $-\text{CO}_2\text{H}$ и m равен 14-20. В некоторых вариантах осуществления n равен 4, Z равен $-\text{CO}_2\text{H}$ и m равен 14. В некоторых вариантах осуществления n равен 4, Z равен $-\text{CO}_2\text{H}$ и m равен 16. В некоторых вариантах осуществления n равен 4, Z равен $-\text{CO}_2\text{H}$ и m равен 18.

В некоторых вариантах осуществления n равен 4, Z равен $-\text{CH}_3$ и m равен 14-20. В некоторых вариантах осуществления n равен 4, Z равен $-\text{CH}_3$ и m равен 14. В некоторых вариантах осуществления n равен 4, Z равен $-\text{CH}_3$ и m равен 16. В некоторых вариантах осуществления n равен 4, Z равен $-\text{CH}_3$ и m равен 18.

В некоторых вариантах осуществления n равен 5, Z равен $-\text{CO}_2\text{H}$ и m равен 14-20. В некоторых вариантах осуществления n равен 5, Z равен $-\text{CO}_2\text{H}$ и m равен 14. В некоторых вариантах осуществления n равен 5, Z равен $-\text{CO}_2\text{H}$ и m равен 16. В некоторых вариантах осуществления n равен 5, Z равен $-\text{CO}_2\text{H}$ и m равен 18.

В некоторых вариантах осуществления n равен 5, Z равен $-\text{CH}_3$ и m равен 14-20. В некоторых вариантах осуществления n равен 5, Z равен $-\text{CH}_3$ и m равен 14. В некоторых вариантах осуществления n равен 5, Z равен $-\text{CH}_3$ и m равен 16. В некоторых вариантах осуществления n равен 5, Z равен $-\text{CH}_3$ и m равен 18.

В некоторых вариантах осуществления полипептид содержит три, два или, предпочтительно, один липофильный заместитель, каждый - со спейсером. В некоторых вариантах осуществления указанные липофильный заместитель и спейсер представляют собой одновалентную группу по формуле VIII:



Формула VIII

где

Z представляет собой $-\text{CH}_3$ или $-\text{CO}_2\text{H}$;

m равно от 4 до 24;

Y1 выбран из группы, состоящей из γ Glu, Asp и Gly;

Y2 выбран из группы, состоящей из γ Glu, Asp и Gly;

V представляет собой $-\text{[COCH}_2\text{(OCH}_2\text{CH}_2\text{)}_t\text{NH]}-$;

r равно от 1 до 6;

n1 равно от 0 до 10;

n2 равно от 0 до 10; и

t равно от 1 до 6.

В некоторых вариантах осуществления полипептид содержит три, два или, предпочтительно, один липофильный заместитель, каждый - со спейсером. В некоторых вариантах осуществления указанные липофильный заместитель и спейсер представляют собой одновалентную группу по формуле IX:



Формула IX

где

Z представляет собой $-\text{CH}_3$ или $-\text{CO}_2\text{H}$;

m равно от 4 до 24;

Y выбран из группы, состоящей из γ Glu, Asp и Gly;

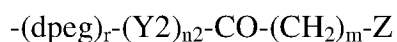
V представляет собой $-\text{[COCH}_2\text{(OCH}_2\text{CH}_2\text{)}_t\text{NH]}-$;

r равно от 1 до 6; и

n равно от 1 до 10; и

t равно от 1 до 6.

В некоторых вариантах осуществления полипептид содержит три, два или, предпочтительно, один липофильный заместитель, каждый - со спейсером. В некоторых вариантах осуществления указанные липофильный заместитель и спейсер представляют собой одновалентную группу по формуле X:



Формула X

где

Z представляет собой $-\text{CH}_3$ или $-\text{CO}_2\text{H}$;

m равно от 4 до 24;

dpeg представляет собой $-\text{[CO(CH}_2\text{)O(CH}_2\text{)}_2\text{O(CH}_2\text{)NH]}-$;

Y2 выбран из группы, состоящей из γ Glu, Asp и Gly;

r равно от 1 до 8; и

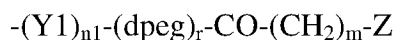
n2 равно от 0 до 10.

В некоторых вариантах осуществления $-(\text{dpeg})_r-(Y2)_{n2}-$ выбран из группы, состоящей из dpeg, γ Glu; и dpeg, dpeg, γ Glu.

В одном варианте осуществления $-(\text{dpeg})_r-(Y2)_{n2}-$ представляет собой $-\text{dpeg-dpeg-}\gamma\text{Glu-}$.

В некоторых вариантах осуществления полипептид содержит три, два или,

предпочтительно, один липофильный заместитель, каждый - со спейсером. В некоторых вариантах осуществления указанные липофильный заместитель и спейсер представляют собой одновалентную группу по формуле XI:



Формула XI

где

Z представляет собой $-CH_3$ или $-CO_2H$;

m равно от 4 до 24;

Y1 выбран из группы, состоящей из γ Glu, Asp и Gly;

dpeg представляет собой $-[CO(CH_2)O(CH_2)_2O(CH_2)NH]-$;

r равно от 1 до 8; и

n1 равно от 0 до 10.

В некоторых вариантах осуществления Z представляет собой $-CO_2H$.

В некоторых вариантах осуществления m выбран из группы, состоящей из 4-20, 8-20, 12-20, 14-20, 16-20, 14, 16, 18 и 20. В некоторых вариантах осуществления m равно от 14 до 20.

В некоторых вариантах осуществления Y1 представляет собой γ Glu. В некоторых вариантах осуществления Y1 представляет собой Asp. В некоторых вариантах осуществления Y1 представляет собой Gly.

В некоторых вариантах осуществления n1 выбран из группы, состоящей из 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 и 10. В некоторых вариантах осуществления n1 равно от 0 до 3. В некоторых вариантах осуществления n1 равен 0. В некоторых вариантах осуществления n1 равен 1. В некоторых вариантах осуществления n1 равен 2. В некоторых вариантах осуществления n1 равен 3. В некоторых вариантах осуществления n1 равен 4. В некоторых вариантах осуществления n1 равен 5.

В некоторых вариантах осуществления r равно от 1 до 3. В некоторых вариантах осуществления r равен 1. В некоторых вариантах осуществления r равен 2. В некоторых вариантах осуществления r равен 3. В некоторых вариантах осуществления r равен 4. В некоторых вариантах осуществления r равен 5. В некоторых вариантах осуществления r равен 6. В некоторых вариантах осуществления r равен 7. В некоторых вариантах осуществления r равен 8.

В некоторых вариантах осуществления r равен 1 и n1 равен 2.

В некоторых вариантах осуществления Y1 представляет собой γ Glu, r равен 1 и n1 равен 2.

В некоторых вариантах осуществления $-(Y1)_{n1}-(dpeg)_r-$ выбран из группы, состоящей из $-\gamma$ Glu- γ Glu-dpeg-, $-\gamma$ Glu- γ Glu-dpeg-dpeg-, $-\gamma$ Glu- γ Glu- γ Glu-dpeg- и $-\gamma$ Glu-dpeg-

.

Дополнительные иллюстративные спейсеры

В некоторых вариантах осуществления указанный спейсер содержит двухвалентную группу по формуле XII:



Формула XII

где

каждый из R_1 и R_3 представляет собой водород или C_1 - C_4 -алкил;

каждый из R_2 представляет собой H или CO_2H ;

p равен 1, 2, 3, 4, 5 или 6;

q равен 1, 2 или 3;

r равен 0 или 1.

Данный спейсер образует мостик между аминогруппой полипептида, представленного в данном изобретении, и группой CO - указанного липофильного заместителя.

В некоторых вариантах осуществления указанный спейсер содержит двухвалентную группу по формуле XIII:



Формула XIII

где

каждый R_3 представляет собой водород или C_1 - C_4 -алкил;

q равен 1, 2 или 3;

r равен 0 или 1.

Данный спейсер образует мостик между аминогруппой полипептида, представленного в данном изобретении, и группой CO - указанного липофильного заместителя.

В некоторых вариантах осуществления некоторые переменные, представленные в некоторых из формул, включают в себя следующее.

В некоторых вариантах осуществления каждый R_1 представляет собой водород. В некоторых вариантах осуществления каждый R_3 представляет собой водород. В некоторых вариантах осуществления каждый R_1 и каждый R_3 представляют собой водород.

В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один R_2 представляет собой CO_2H . В некоторых вариантах осуществления один R_2 представляет собой CO_2H .

В некоторых вариантах осуществления p равен 1. В некоторых вариантах осуществления p равен 2. В некоторых вариантах осуществления p равен 3. В некоторых вариантах осуществления p равен 4. В некоторых вариантах осуществления p равен 5. В некоторых вариантах осуществления p равен 6.

В некоторых вариантах осуществления q равен 1. В некоторых вариантах осуществления q равен 2. В некоторых вариантах осуществления q равен 3.

В некоторых вариантах осуществления r равен 0. В некоторых вариантах осуществления r равен 1.

В некоторых вариантах осуществления указанный спейсер представляет собой γ -глутамил, т. е. $-NH(CH_2CO_2H)(CH_2)_2CO-$. В некоторых вариантах осуществления указанный спейсер представляет собой γ -аминобутаноил, т. е. $-NH(CH_2)_3CO-$. В

некоторых вариантах осуществления указанный спейсер представляет собой β -аспарагил, т. е. $-\text{NH}(\text{CHCO}_2\text{H})(\text{CH}_2)\text{CO}-$. В некоторых вариантах осуществления указанный спейсер представляет собой $-\text{NH}(\text{CH}_2)_2\text{CO}-$. В некоторых вариантах осуществления указанный спейсер представляет собой глицил. В некоторых вариантах осуществления указанный спейсер представляет собой β -аланил.

В некоторых вариантах осуществления указанный спейсер представляет собой $-\text{NHCH}(\text{CO}_2\text{H})(\text{CH}_2)_2\text{CO}-[\text{N}(\text{R}_3)((\text{CH}_2)_2\text{O}(\text{CH}_2)_2\text{O})_q(\text{CH}_2)\text{CO}-]_r$. В некоторых вариантах осуществления указанный спейсер представляет собой $-\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{CO}-[\text{N}(\text{R}_3)((\text{CH}_2)_2\text{O}(\text{CH}_2)_2\text{O})_q(\text{CH}_2)\text{CO}-]_r$. В некоторых вариантах осуществления указанный спейсер представляет собой $-\text{NHCH}(\text{CO}_2\text{H})(\text{CH}_2)_2\text{CO}-\text{NH}((\text{CH}_2)_2\text{O}(\text{CH}_2)_2\text{O})_2(\text{CH}_2)\text{CO}-$. В некоторых вариантах осуществления указанный спейсер представляет собой $-\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{CO}-\text{NH}((\text{CH}_2)_2\text{O}(\text{CH}_2)_2\text{O})_2(\text{CH}_2)\text{CO}-$. В некоторых вариантах осуществления указанный спейсер представляет собой $-\text{NHCH}(\text{CO}_2\text{H})\text{CH}_2\text{CO}-[\text{N}(\text{R}_3)((\text{CH}_2)_2\text{O}(\text{CH}_2)_2\text{O})_q(\text{CH}_2)\text{CO}-]_r$. В некоторых вариантах осуществления указанный спейсер представляет собой $-\text{NH}(\text{CH}_2)_2\text{CO}-[\text{N}(\text{R}_3)((\text{CH}_2)_2\text{O}(\text{CH}_2)_2\text{O})_q(\text{CH}_2)\text{CO}-]_r$.

В некоторых вариантах осуществления указанный спейсер содержит двухвалентную группу по формуле XIV:



Формула XIV

где

Y выбран из группы, состоящей из γGlu , Asp, Lys и Gly;

n равно от 1 до 10.

В некоторых вариантах осуществления Y выбран из группы, состоящей из γGlu и Gly. В некоторых вариантах осуществления Y представляет собой γGlu . В некоторых вариантах осуществления Y представляет собой Gly.

В некоторых вариантах осуществления указанный спейсер образует мостик между аминок группой полипептида, представленного в данном изобретении, и группой CO-указанного липофильного заместителя. В некоторых вариантах осуществления один конец указанного спейсера образует ковалентную связь с аминок группой полипептида, представленного в данном изобретении, и другой конец спейсера образует ковалентную связь с атомом водорода или защитной группой.

В некоторых вариантах осуществления указанный спейсер содержит двухвалентную группу по формуле XV:



Формула XV

где

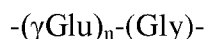
n равно от 1 до 10.

В некоторых вариантах осуществления n выбран из группы, состоящей из 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 и 10. В некоторых вариантах осуществления n равен 1. В некоторых вариантах осуществления n равен 2. В некоторых вариантах осуществления n равен 3. В некоторых

вариантах осуществления n равен 4. В некоторых вариантах осуществления n равен 5.

В некоторых вариантах осуществления указанный спейсер образует мостик между аминок группой полипептида, представленного в данном изобретении, и группой СО-указанного липофильного заместителя. В некоторых вариантах осуществления один конец указанного спейсера образует ковалентную связь с аминок группой полипептида, представленного в данном изобретении, и другой конец спейсера образует ковалентную связь с атомом водорода или защитной группой.

В некоторых вариантах осуществления указанный спейсер содержит двухвалентную группу по формуле XVI:



Формула XVI

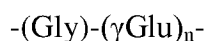
где

n равно от 1 до 10.

В некоторых вариантах осуществления $(\gamma\text{Glu})_n$ выбран из группы, состоящей из γGlu ; $2(\gamma\text{Glu})$; $3(\gamma\text{Glu})$; $4(\gamma\text{Glu})$; и $5(\gamma\text{Glu})$. В некоторых вариантах осуществления $-(\gamma\text{Glu})_n-(\text{Gly})-$ выбран из группы, состоящей из $2(\gamma\text{Glu}),\text{Gly}$; и $3(\gamma\text{Glu}),\text{Gly}$.

В некоторых вариантах осуществления указанный спейсер образует мостик между аминок группой полипептида, представленного в данном изобретении, и группой СО-указанного липофильного заместителя. В некоторых вариантах осуществления один конец указанного спейсера образует ковалентную связь с аминок группой полипептида, представленного в данном изобретении, и другой конец спейсера образует ковалентную связь с атомом водорода или защитной группой.

В некоторых вариантах осуществления указанный спейсер содержит двухвалентную группу по формуле XVII:



Формула XVII

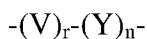
где

n равно от 1 до 10.

В некоторых вариантах осуществления указанный спейсер образует мостик между аминок группой полипептида, представленного в данном изобретении, и группой СО-указанного липофильного заместителя. В некоторых вариантах осуществления один конец указанного спейсера образует ковалентную связь с аминок группой полипептида, представленного в данном изобретении, и другой конец спейсера образует ковалентную связь с атомом водорода или защитной группой.

В некоторых вариантах осуществления n выбран из группы, состоящей из 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 и 10. В некоторых вариантах осуществления n равен 1. В некоторых вариантах осуществления n равен 2. В некоторых вариантах осуществления n равен 3. В некоторых вариантах осуществления n равен 4. В некоторых вариантах осуществления n равен 5.

В некоторых вариантах осуществления указанный спейсер содержит двухвалентную группу по формуле XVIII:



Формула XVIII

где

Y выбран из группы, состоящей из γ Glu, Asp и Gly;

V представляет собой $-[COCH_2(OCH_2CH_2)_tNH]-$;

r равно от 1 до 6;

n равно от 1 до 10; и

t равно от 1 до 6.

В некоторых вариантах осуществления Y представляет собой γ Glu. В некоторых вариантах осуществления Y представляет собой Asp. В некоторых вариантах осуществления Y представляет собой Gly.

В некоторых вариантах осуществления n выбран из группы, состоящей из 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 и 10. В некоторых вариантах осуществления n равно от 1 до 5. В некоторых вариантах осуществления n равен 1. В некоторых вариантах осуществления n равен 2. В некоторых вариантах осуществления n равен 3. В некоторых вариантах осуществления n равен 4. В некоторых вариантах осуществления n равен 5.

В некоторых вариантах осуществления r равно от 1 до 3. В некоторых вариантах осуществления r равен 1. В некоторых вариантах осуществления r равен 2. В некоторых вариантах осуществления r равен 3. В некоторых вариантах осуществления r равен 4. В некоторых вариантах осуществления r равен 5.

В некоторых вариантах осуществления t равно от 1 до 3. В некоторых вариантах осуществления t выбран из группы, состоящей из 1, 2, 3, 4, 5 и 6.

В одном варианте осуществления $-(V)_r-(Y)_n-$ представляет собой $-[COCH_2(OCH_2CH_2)_2NH]_2-\gamma$ Glu-.

В некоторых вариантах осуществления указанный спейсер образует мостик между аминок группой полипептида, представленного в данном изобретении, и группой CO-указанного липофильного заместителя. В некоторых вариантах осуществления один конец указанного спейсера образует ковалентную связь с аминок группой полипептида, представленного в данном изобретении, и другой конец спейсера образует ковалентную связь с атомом водорода или защитной группой.

В некоторых вариантах осуществления указанный спейсер содержит двухвалентную группу по формуле XIX:



Формула XIX

где

Y1 выбран из группы, состоящей из γ Glu, Asp и Gly;

Y2 выбран из группы, состоящей из γ Glu, Asp и Gly;

dpeg представляет собой $-[CO(CH_2)O(CH_2)_2O(CH_2)NH]-$;

r равно от 1 до 8;

n1 равно от 0 до 10; и

n_2 равно от 0 до 10.

В некоторых вариантах осуществления Y_1 представляет собой γGlu . В некоторых вариантах осуществления Y_1 представляет собой Asp. В некоторых вариантах осуществления Y_1 представляет собой Gly.

В некоторых вариантах осуществления Y_2 представляет собой γGlu . В некоторых вариантах осуществления Y_2 представляет собой Asp. В некоторых вариантах осуществления Y_2 представляет собой Gly.

В некоторых вариантах осуществления n_1 выбран из группы, состоящей из 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 и 10. В некоторых вариантах осуществления n_1 равно от 0 до 3. В некоторых вариантах осуществления n_1 равен 0. В некоторых вариантах осуществления n_1 равен 1. В некоторых вариантах осуществления n_1 равен 2. В некоторых вариантах осуществления n_1 равен 3. В некоторых вариантах осуществления n_1 равен 4. В некоторых вариантах осуществления n_1 равен 5.

В некоторых вариантах осуществления n_2 выбран из группы, состоящей из 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 и 10. В некоторых вариантах осуществления n_2 равно от 0 до 3. В некоторых вариантах осуществления n_2 равен 0. В некоторых вариантах осуществления n_2 равен 1. В некоторых вариантах осуществления n_2 равен 2. В некоторых вариантах осуществления n_2 равен 3. В некоторых вариантах осуществления n_2 равен 4. В некоторых вариантах осуществления n_2 равен 5.

В некоторых вариантах осуществления r равно от 1 до 3. В некоторых вариантах осуществления r равен 1. В некоторых вариантах осуществления r равен 2. В некоторых вариантах осуществления r равен 3. В некоторых вариантах осуществления r равен 4. В некоторых вариантах осуществления r равен 5. В некоторых вариантах осуществления r равен 6. В некоторых вариантах осуществления r равен 7. В некоторых вариантах осуществления r равен 8.

В некоторых вариантах осуществления r равен 1, n_1 равен 2 и n_2 равен 0.

В некоторых вариантах осуществления r равен 1, n_1 равен 2 и n_2 равен 2.

В некоторых вариантах осуществления Y_1 представляет собой γGlu и Y_2 представляет собой γGlu .

В некоторых вариантах осуществления Y_1 представляет собой γGlu и n_2 равен 0.

В некоторых вариантах осуществления Y_1 представляет собой γGlu , r равен 1, n_1 равен 2 и n_2 равен 0.

В некоторых вариантах осуществления $-(Y_1)_{n_1}-(\text{dpeg})_r-(Y_2)_{n_2}$ выбран из группы, состоящей из $-\gamma\text{Glu}-\gamma\text{Glu}-\text{dpeg}-$, $-\gamma\text{Glu}-\gamma\text{Glu}-\text{dpeg}-\gamma\text{Glu}-\gamma\text{Glu}-$, $-\gamma\text{Glu}-\gamma\text{Glu}-\text{dpeg}-\gamma\text{Glu}-$, $-\gamma\text{Glu}-\gamma\text{Glu}-\text{dpeg}-\text{dpeg}-$, $-\gamma\text{Glu}-\gamma\text{Glu}-\text{dpeg}-\text{dpeg}-\gamma\text{Glu}-$, $-\text{dpeg}-\text{dpeg}-\gamma\text{Glu}-$, $-\gamma\text{Glu}-\gamma\text{Glu}-\gamma\text{Glu}-\text{dpeg}-$ и $-\gamma\text{Glu}-\text{dpeg}-$.

В некоторых вариантах осуществления указанный спейсер образует мостик между аминокислотной группой полипептида, представленного в данном изобретении, и группой СО-указанного липофильного заместителя. В некоторых вариантах осуществления один конец указанного спейсера образует ковалентную связь с аминокислотной группой полипептида,

представленного в данном изобретении, и другой конец спейсера образует ковалентную связь с атомом водорода или защитной группой.

Соответственно, в некоторых вариантах осуществления выделенный полипептид, представленный в данном документе, содержит аминокислотную последовательность или ее фармацевтически приемлемую соль, выбранные из группы, состоящей из аминокислотных последовательностей, представленных консенсусными последовательностями, выбранными из группы, состоящей из SEQ ID NO: 101-112, 115-139, 211, 212, 221, 225-235, 238 и 239, при этом выделенный полипептид дополнительно содержит липофильный заместитель и необязательно содержит спейсер. В некоторых вариантах осуществления выделенный полипептид, представленный в данном документе, содержит аминокислотную последовательность или ее фармацевтически приемлемую соль, выбранные из группы, состоящей из аминокислотных последовательностей, представленных консенсусными последовательностями, выбранными из группы, состоящей из SEQ ID NO: 101-112, 115-140, 142-147, 149-160, 211, 212, 221, 225-235, 238-245, 251, 252 и 255-258, при этом выделенный полипептид дополнительно содержит липофильный заместитель и необязательно содержит спейсер.

В некоторых вариантах осуществления выделенный полипептид, представленный в данном документе, содержит аминокислотную последовательность или ее фармацевтически приемлемую соль, выбранные из группы, состоящей из аминокислотных последовательностей, представленных консенсусными последовательностями, выбранными из группы, состоящей из SEQ ID NO: 101-112, 115-139, 211, 212, 221, 225-235, 238 и 239, при этом выделенный полипептид дополнительно содержит липофильный заместитель по формуле I. В некоторых вариантах осуществления выделенный полипептид, представленный в данном документе, содержит аминокислотную последовательность или ее фармацевтически приемлемую соль, выбранные из группы, состоящей из аминокислотных последовательностей, представленных консенсусными последовательностями, выбранными из группы, состоящей из SEQ ID NO: 101-112, 115-140, 142-147, 149-160, 211, 212, 221, 225-235, 238-245, 251, 252 и 255-258, при этом выделенный полипептид дополнительно содержит липофильный заместитель по формуле I.

В некоторых вариантах осуществления выделенный полипептид, представленный в данном документе, содержит аминокислотную последовательность или ее фармацевтически приемлемую соль, выбранные из группы, состоящей из аминокислотных последовательностей, представленных консенсусными последовательностями, выбранными из группы, состоящей из SEQ ID NO: 101-112, 115-139, 211, 212, 221, 225-235, 238 и 239, при этом выделенный полипептид дополнительно содержит липофильный заместитель по формуле I и спейсер, выбранный из группы, состоящей из спейсеров, описанных формулами XII, XIII, XIV, XV, XVI, XVII, XVIII и XIX. В некоторых вариантах осуществления выделенный полипептид, представленный в данном документе, содержит аминокислотную последовательность или ее фармацевтически приемлемую

соль, выбранные из группы, состоящей из аминокислотных последовательностей, представленных консенсусными последовательностями, выбранными из группы, состоящей из SEQ ID NO: 101-112, 115-140, 142-147, 149-160, 211, 212, 221, 225-235, 238-245, 251, 252 и 255-258, при этом выделенный полипептид дополнительно содержит липофильный заместитель по формуле I и спейсер, выбранный из группы, состоящей из спейсеров, описанных формулами XII, XIII, XIV, XV, XVI, XVII, XVIII и XIX.

В некоторых вариантах осуществления выделенный полипептид, представленный в данном документе, содержит аминокислотную последовательность или ее фармацевтически приемлемую соль, выбранные из группы, состоящей из аминокислотных последовательностей, представленных консенсусными последовательностями, выбранными из группы, состоящей из SEQ ID NO: 101-112, 115-139, 211, 212, 221, 225-235, 238 и 239, при этом выделенный полипептид дополнительно содержит липофильный заместитель и спейсер, выбранный из группы, состоящей из спейсеров, описанных формулами I, II, III, IV, V, VI, VII, VIII, IX, X и XI. В некоторых вариантах осуществления выделенный полипептид, представленный в данном документе, содержит аминокислотную последовательность или ее фармацевтически приемлемую соль, выбранные из группы, состоящей из аминокислотных последовательностей, представленных консенсусными последовательностями, выбранными из группы, состоящей из SEQ ID NO: 101-112, 115-140, 142-147, 149-160, 211, 212, 221, 225-235, 238-245, 251, 252 и 255-258, при этом выделенный полипептид дополнительно содержит липофильный заместитель и спейсер, выбранный из группы, состоящей из спейсеров, описанных формулами I, II, III, IV, V, VI, VII, VIII, IX, X и XI.

В некоторых вариантах осуществления выделенный полипептид, представленный в данном документе, содержит аминокислотную последовательность или ее фармацевтически приемлемую соль, выбранные из группы, состоящей из аминокислотных последовательностей, представленных консенсусными последовательностями, выбранными из группы, состоящей из SEQ ID NO: 101-112, 115-139, 211, 212, 221, 225-235, 238 и 239, при этом выделенный полипептид дополнительно содержит липофильный заместитель и спейсер, выбранный из группы, состоящей из спейсеров, описанных формулой I. В некоторых вариантах осуществления выделенный полипептид, представленный в данном документе, содержит аминокислотную последовательность или ее фармацевтически приемлемую соль, выбранные из группы, состоящей из аминокислотных последовательностей, представленных консенсусными последовательностями, выбранными из группы, состоящей из SEQ ID NO: 101-112, 115-140, 142-147, 149-160, 211, 212, 221, 225-235, 238-245, 251, 252 и 255-258, при этом выделенный полипептид дополнительно содержит липофильный заместитель и спейсер, выбранный из группы, состоящей из спейсеров, описанных формулой I.

В некоторых вариантах осуществления выделенный полипептид, представленный в данном документе, содержит аминокислотную последовательность или ее фармацевтически приемлемую соль, выбранные из группы, состоящей из аминокислотных

последовательностей, представленных консенсусными последовательностями, выбранными из группы, состоящей из SEQ ID NO: 101-112, 115-139, 211, 212, 221, 225-235, 238 и 239, при этом выделенный полипептид дополнительно содержит липофильный заместитель и спейсер, выбранный из группы, состоящей из спейсеров, описанных формулой II. В некоторых вариантах осуществления выделенный полипептид, представленный в данном документе, содержит аминокислотную последовательность или ее фармацевтически приемлемую соль, выбранные из группы, состоящей из аминокислотных последовательностей, представленных консенсусными последовательностями, выбранными из группы, состоящей из SEQ ID NO: 101-112, 115-140, 142-147, 149-160, 211, 212, 221, 225-235, 238-245, 251, 252 и 255-258, при этом выделенный полипептид дополнительно содержит липофильный заместитель и спейсер, выбранный из группы, состоящей из спейсеров, описанных формулой II.

В некоторых вариантах осуществления выделенный полипептид, представленный в данном документе, содержит аминокислотную последовательность или ее фармацевтически приемлемую соль, выбранные из группы, состоящей из аминокислотных последовательностей, представленных консенсусными последовательностями, выбранными из группы, состоящей из SEQ ID NO: 101-112, 115-139, 211, 212, 221, 225-235, 238 и 239, при этом выделенный полипептид дополнительно содержит липофильный заместитель и спейсер, выбранный из группы, состоящей из спейсеров, описанных формулой III. В некоторых вариантах осуществления выделенный полипептид, представленный в данном документе, содержит аминокислотную последовательность или ее фармацевтически приемлемую соль, выбранные из группы, состоящей из аминокислотных последовательностей, представленных консенсусными последовательностями, выбранными из группы, состоящей из SEQ ID NO: 101-112, 115-140, 142-147, 149-160, 211, 212, 221, 225-235, 238-245, 251, 252 и 255-258, при этом выделенный полипептид дополнительно содержит липофильный заместитель и спейсер, выбранный из группы, состоящей из спейсеров, описанных формулой III.

В некоторых вариантах осуществления выделенный полипептид, представленный в данном документе, содержит аминокислотную последовательность или ее фармацевтически приемлемую соль, выбранные из группы, состоящей из аминокислотных последовательностей, представленных консенсусными последовательностями, выбранными из группы, состоящей из SEQ ID NO: 101-112, 115-139, 211, 212, 221, 225-235, 238 и 239, при этом выделенный полипептид дополнительно содержит липофильный заместитель и спейсер, выбранный из группы, состоящей из спейсеров, описанных формулой IV. В некоторых вариантах осуществления выделенный полипептид, представленный в данном документе, содержит аминокислотную последовательность или ее фармацевтически приемлемую соль, выбранные из группы, состоящей из аминокислотных последовательностей, представленных консенсусными последовательностями, выбранными из группы, состоящей из SEQ ID NO: 101-112, 115-140, 142-147, 149-160, 211, 212, 221, 225-235, 238-245, 251, 252 и 255-258, при этом

выделенный полипептид дополнительно содержит липофильный заместитель и спейсер, выбранный из группы, состоящей из спейсеров, описанных формулой IV.

При употреблении в контексте данного документа как $(\gamma\text{Glu})_2$, так и $2(\gamma\text{Glu})$ обозначают $-(\gamma\text{Glu})-(\gamma\text{Glu})-$ или $-\text{CO}(\text{CH}_2)_2\text{CH}(\text{CO}_2\text{H})\text{NH}-\text{CO}(\text{CH}_2)_2\text{CH}(\text{CO}_2\text{H})\text{NH}-$; как $(\gamma\text{Glu})_3$, так и $3(\gamma\text{Glu})$ обозначают $-(\gamma\text{Glu})-(\gamma\text{Glu})-(\gamma\text{Glu})-$ или $-\text{CO}(\text{CH}_2)_2\text{CH}(\text{CO}_2\text{H})\text{NH}-\text{CO}(\text{CH}_2)_2\text{CH}(\text{CO}_2\text{H})\text{NH}-\text{CO}(\text{CH}_2)_2\text{CH}(\text{CO}_2\text{H})\text{NH}-$; и т. д.; если переменная присутствует в данной формуле больше чем один раз, то значение этой переменной каждый раз определяется независимо. Например, для группы $-(Y)_3-$, где Y может представлять собой γGlu , Asp, Lys или Gly, каждый Y независимо выбран из одной из указанных четырех аминокислот. Соответственно, в неограничивающем примере $-(Y)_3-$ может представлять собой $-(\gamma\text{Glu})-(\gamma\text{Glu})-(\gamma\text{Glu})-$, $-(\gamma\text{Glu})-(\text{Asp})-(\gamma\text{Glu})-$, $-(\text{Gly})-(\text{Asp})-(\gamma\text{Glu})-$, или $-(\text{Gly})-(\gamma\text{Glu})-(\gamma\text{Glu})-$.

Мостиковый фрагмент

В некоторых вариантах осуществления любой из описанных в данном документе полипептидов необязательно замещен одним или большим числом мостиковых фрагментов. При употреблении в контексте данного документа термин «мостиковый фрагмент» означает ковалентную связь или любой двухвалентный линкер или фрагмент, которые соединяют две боковые цепи двух отдельных аминокислотных остатков. В некоторых вариантах осуществления любой из описанных в данном документе полипептидов необязательно замещен одним или большим числом лактамных мостиковых фрагментов. При употреблении в контексте данного документа термин «лактамный мостиковый фрагмент» означает лактамный мостик или лактамную связь, которая соединяет аминосодержащие и карбоксисодержащие боковые цепи двух отдельных аминокислотных остатков. В некоторых вариантах осуществления указанный лактамный мостиковый фрагмент образуется между остатком лизина и остатком аспарагиновой кислоты, и аминосодержащая боковая цепь лизина и карбоксисодержащая боковая цепь аспарагиновой кислоты ковалентно соединяются с потерей воды с образованием лактамного мостикового фрагмента. В некоторых вариантах осуществления указанный лактамный мостиковый фрагмент образуется между остатком лизина и остатком глутаминовой кислоты, и аминосодержащая боковая цепь лизина и карбоксисодержащая боковая цепь глутаминовой кислоты ковалентно соединяются с потерей воды с образованием лактамного мостикового фрагмента. В некоторых вариантах осуществления указанный лактамный мостиковый фрагмент образуется между двумя аминокислотами, которые расположены на расстоянии трех, четырех или пяти остатков друг от друга в указанном пептиде. В некоторых вариантах осуществления указанный лактамный мостиковый фрагмент образуется между двумя аминокислотами, которые расположены на расстоянии четырех остатков друг от друга в указанном пептиде.

Промежуточные продукты-полипептиды и общие способы обеспечения наличия указанных соединений

Соединения согласно данному изобретению можно получать или выделять в

общем синтетическими и/или полусинтетическими способами, известными специалистам в данной области техники для аналогичных соединений, и способами, подробно описанными в примерах, приведенных ниже.

В некоторых схематических изображениях, представленных ниже, в которых изображены конкретная защитная группа («PG»), уходящая группа («LG») или условия трансформации, рядовому специалисту в данной области техники будет понятно, что другие защитные группы, уходящие группы и условия трансформации являются также пригодными и рассматриваются в данном документе. Такие группы и условия трансформации подробно описаны в работах March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure, M. B. Smith and J. March, 5th Edition, John Wiley & Sons, 2001, Comprehensive Organic Transformations, R. C. Larock, 2nd Edition, John Wiley & Sons, 1999, и Protecting Groups in Organic Synthesis, T. W. Greene and P. G. M. Wuts, 3rd edition, John Wiley & Sons, 1999, содержание каждой из которых включено в данный документ посредством ссылки.

При употреблении в контексте данного документа фраза «уходящие группы» (LG) включает в себя, но не ограничивается ими, галогены (например, фторид, хлорид, бромид, йодид), сульфонаты (например, мезилат, тозилат, бензолсульфонат, брозилат, нозилат, трифлат), diazonий и тому подобное.

При употреблении в контексте данного документа фраза «кислородзащитная группа» включает в себя, например, карбонильные защитные группы, гидроксильные защитные группы и т. д. Гидроксильные защитные группы хорошо известны в данной области техники и включают в себя группы, подробно описанные в работе Protecting Groups in Organic Synthesis, T. W. Greene and P. G. M. Wuts, 3rd edition, John Wiley & Sons, 1999, которая включена в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте. Примеры пригодных гидроксильных защитных групп включают в себя, но не ограничивается ими, сложные эфиры (например, ацетиловые, бензиловые), аллиловые эфиры, простые эфиры, силиловые эфиры, алкиловые эфиры, арилалкиловые эфиры, бензиловые эфиры и алкоксиалкиловые эфиры. Примеры таких сложных эфиров включают в себя формиаты, ацетаты, карбонаты и сульфонаты. Конкретные примеры включают в себя формиат, бензоилформиат, хлорацетат, трифторацетат, метоксиацетат, трифенилметоксиацетат, p-хлорфеноксиацетат, 3-фенилпропионат, 4-оксопентаноат, 4,4-(этилендитио)пентаноат, пивалоат (триметилацетил), кротонат, 4-метокси-кротонат, бензоат, p-бенилбензоат, 2,4,6-триметилбензоат, карбонаты, такие как метил, 9-фторенилметил, этил, 2,2,2-трихлорэтил, 2-(триметилсилил)этил, 2-(фенилсульфонил)этил, винил, аллил и p-нитробензил. Примеры таких силиловых эфиров включают в себя триметилсилил, триэтилсилил, t-бутилдиметилсилил, t-бутилдифенилсилил, триизопропилсилил и другие триалкилсилиловые эфиры. Алкиловые эфиры включают в себя метиловые, бензиловые, p-метоксибензиловые, 3,4-диметоксибензиловые, тритиловые, t-бутиловые, аллиловые и аллилоксикарбониловые эфиры или их производные. Алкоксиалкиловые эфиры включают в себя ацетали, такие

как метоксиметилловый, метилтиометилловый, (2-метоксиэтокси)метилловый, бензилоксиметилловый, бета-(триметилсилил)этоксиметилловый и тетрагидропираниловый эфиры. Примеры арилалкиловых эфиров включают в себя бензил, *p*-метоксибензил (MPM), 3,4-диметоксибензил, *O*-нитробензил, *p*-нитробензил, *p*-галогенбензил, 2,6-дихлорбензил, *p*-цианобензил и 2- и 4-пиколил.

Аминозащитные группы хорошо известны в данной области техники и включают в себя группы, подробно описанные в работе *Protecting Groups in Organic Synthesis*, T. W. Greene and P. G. M. Wuts, 3rd edition, John Wiley & Sons, 1999, которая включена в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте. Пригодные аминозащитные группы включают в себя, но не ограничиваются ими, аралкиламины, карбаматы, циклические имиды, аллиламины, амиды и тому подобное. Примеры таких групп включают в себя *t*-бутилоксикарбонил (Boc), этилоксикарбонил, метилоксикарбонил, трихлорэтилоксикарбонил, аллилоксикарбонил (Alloc), бензилоксокарбонил (Cbz), аллил, фталимид, бензил (Bn), диметил-2,6-диоксоциклогекс-1-илиден)этил (Dmb), 1-(4,4-диметил- 2,6-диоксоциклогекс-1-илиден)-3-метилбутил (ivDde), фторенилметилкарбонил (Fmoc), формил, ацетил, хлорацетил, дихлорацетил, трихлорацетил, фенилацетил, трифторацетил, бензоил и тому подобное.

В определенных вариантах осуществления данное изобретение также относится к синтетическим пептидам - промежуточным продуктам представленных в данном документе аналогов глюкагона. В некоторых вариантах осуществления промежуточный продукт-полипептид согласно данному изобретению представляет собой выделенный полипептид, содержащий любую аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 101-112, 115-139, 211, 212, 221, 225-235, 238 и 239, в котором по меньшей мере одна аминокислота ковалентно связана с защитной группой. В некоторых вариантах осуществления промежуточный продукт-полипептид согласно данному изобретению представляет собой выделенный полипептид, содержащий любую аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 101-112, 115-140, 142-147, 149-160, 211, 212, 221, 225-235, 238-245, 251, 252 и 255-258, в котором по меньшей мере одна аминокислота ковалентно связана с защитной группой.

В некоторых вариантах осуществления промежуточный продукт-полипептид согласно данному изобретению представляет собой выделенный полипептид, содержащий любую аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 101-112, 115-139, 211, 212, 221, 225-235, 238 и 239, в котором по меньшей мере одна аминокислота ковалентно связана со спейсером, как определено в данном документе, при этом указанный спейсер дополнительно ковалентно связан с защитной группой или атомом водорода. В некоторых вариантах осуществления промежуточный продукт-полипептид согласно данному изобретению представляет собой выделенный полипептид, содержащий любую аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 101-112, 115-140, 142-147, 149-160, 211, 212, 221, 225-235, 238-245, 251, 252 и 255-258, в котором по меньшей мере одна аминокислота ковалентно связана со спейсером, как определено в данном документе, при

этом указанный спейсер дополнительно ковалентно связан с защитной группой или атомом водорода. В некоторых вариантах осуществления указанный промежуточный продукт-полипептид содержит остаток лизина, связанный с защитной группой через аминогруппу его боковой цепи. В некоторых вариантах осуществления указанный остаток лизина ковалентно связан с Alloc или ivDde. В некоторых вариантах осуществления указанный промежуточный продукт-полипептид содержит остаток аспарагиновой кислоты, связанный с защитной группой через карбоксильную группу его боковой цепи. В некоторых вариантах осуществления указанный остаток аспарагиновой кислоты ковалентно связан с аллильной группой. В некоторых вариантах осуществления указанный промежуточный продукт-полипептид содержит остаток глутаминовой кислоты, связанный с защитной группой через карбоксильную группу его боковой цепи. В некоторых вариантах осуществления указанный остаток глутаминовой кислоты ковалентно связан с аллильной группой.

Способы применения

Согласно другому варианту осуществления данное изобретение относится к способу лечения метаболического заболевания или нарушения у субъекта, нуждающегося в лечении, включающему в себя предоставление указанному субъекту эффективного количества полипептида - аналога глюкагона согласно данному изобретению или его фармацевтической композиции. Метаболические заболевания или нарушения включают в себя сахарный диабет типа 1, сахарный диабет типа 2 и ожирение. Дополнительно данное изобретение относится к способу, вызывающему потерю веса у субъекта, включительно с субъектом-диабетиком, включающему в себя предоставление указанному субъекту эффективного количества полипептида - аналога глюкагона согласно данному изобретению. В определенных вариантах осуществления данное изобретение относится к способам лечения неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП) и/или неалкогольного стеатогепатита (НАСГ).

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения представлен способ лечения ожирения у субъекта-человека, обеспечивающий потерю веса у указанного субъекта-человека или подавление аппетита у указанного субъекта-человека, включающий в себя введение указанному субъекту любого из полипептидов, описанных в данном документе, фармацевтической композиции, содержащей любой из полипептидов, описанных в данном документе, или устройства осмотической доставки, содержащего любой из полипептидов, описанных в данном документе.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения представлен способ лечения сахарного диабета у субъекта-человека, включающий в себя введение указанному субъекту любого из полипептидов, описанных в данном документе, фармацевтической композиции, содержащей любой из полипептидов, описанных в данном документе, или устройства осмотической доставки, содержащего любой из полипептидов, описанных в данном документе. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения сахарный диабет представляет собой сахарный диабет типа 1. В некоторых вариантах

осуществления данного изобретения сахарный диабет представляет собой сахарный диабет типа 2.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения представлен способ лечения неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП) у субъекта-человека, включающий в себя введение указанному субъекту любого из полипептидов, описанных в данном документе, фармацевтической композиции, содержащей любой из полипептидов, описанных в данном документе, или устройства осмотической доставки, содержащего любой из полипептидов, описанных в данном документе.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения представлен способ лечения неалкогольного стеатогепатита (НАСГ) у субъекта-человека, включающий в себя введение указанному субъекту любого из полипептидов, описанных в данном документе, фармацевтической композиции, содержащей любой из полипептидов, описанных в данном документе, или устройства осмотической доставки, содержащего любой из полипептидов, описанных в данном документе.

Полипептиды - аналоги глюкагона согласно данному изобретению особенно полезны для лечения сахарного диабета, при этом указанный способ включает в себя введение субъекту-диабетику эффективного количества полипептида - аналога глюкагона. В некоторых вариантах осуществления полипептид - аналог глюкагона согласно данному изобретению применяют для лечения субъекта с сахарным диабетом типа 1 или типа 2 для контроля или снижения концентраций глюкозы в крови у указанного субъекта, при этом уровни глюкозы в крови можно мониторировать или приближенно оценивать на основании измеренных концентраций гликированного гемоглобина в крови (гемоглобин A1c - HbA1c).

В некоторых вариантах осуществления полипептид - аналог глюкагона согласно данному изобретению применяют для лечения субъекта, имеющего сахарный диабет типа 1;

В некоторых вариантах осуществления полипептид - аналог глюкагона согласно данному изобретению применяют для лечения субъекта, имеющего сахарный диабет типа 2;

В некоторых вариантах осуществления полипептид - аналог глюкагона согласно данному изобретению применяют для лечения ожирения; и

В некоторых вариантах осуществления полипептид - аналог глюкагона согласно данному изобретению применяют для обеспечения потери веса субъекта, например, субъекта-диабетика,

В некоторых вариантах осуществления полипептид - аналог глюкагона согласно данному изобретению применяют для лечения неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП),

В некоторых вариантах осуществления полипептид - аналог глюкагона согласно данному изобретению применяют для лечения неалкогольного стеатогепатита (НАСГ),
при этом указанный полипептид - аналог глюкагона, применяемый согласно п. (i),

(ii), (iii), (iv), (v) или (vi), содержит любой выделенный полипептид, описанный в данном документе, включительно с полипептидами, представленными любой из консенсусных последовательностей от SEQ ID NO: 1 до SEQ ID NO: 39, или его фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления указанный полипептид - аналог глюкагона, применяемый согласно п. (i), (ii), (iii), (iv), (v) или (vi), содержит любой выделенный полипептид, описанный в данном документе, включительно с полипептидами, представленными любой из консенсусных последовательностей от SEQ ID NO: 1 до SEQ ID NO: 60, или его фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления указанный полипептид - аналог глюкагона, применяемый согласно п. (i), (ii), (iii), (iv), (v) или (vi), содержит любой выделенный полипептид, описанный в данном документе, включительно с полипептидами, выбранными из группы, состоящей из последовательностей с SEQ ID NO: 3, 6, 21 и 24, или его фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления указанный полипептид - аналог глюкагона, применяемый согласно п. (i), (ii), (iii), (iv), (v) или (vi), содержит выделенный полипептид согласно SEQ ID NO: 3 или его фармацевтически приемлемую соль. В некоторых вариантах осуществления указанный полипептид - аналог глюкагона, применяемый согласно п. (i), (ii), (iii), (iv), (v) или (vi), содержит выделенный полипептид согласно SEQ ID NO: 6 или его фармацевтически приемлемую соль. В некоторых вариантах осуществления указанный полипептид - аналог глюкагона, применяемый согласно п. (i), (ii), (iii), (iv), (v) или (vi), содержит выделенный полипептид согласно SEQ ID NO: 21 или его фармацевтически приемлемую соль. В некоторых вариантах осуществления указанный полипептид - аналог глюкагона, применяемый согласно п. (i), (ii), (iii), (iv), (v) или (vi), содержит выделенный полипептид согласно SEQ ID NO: 24 или его фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления указанный полипептид - аналог глюкагона применяют для лечения субъекта, имеющего сахарный диабет типа 1, при этом выделенный полипептид имеет последовательность согласно SEQ ID NO: 3, или его фармацевтически приемлемую соль. В некоторых вариантах осуществления указанный полипептид - аналог глюкагона применяют для лечения субъекта, имеющего сахарный диабет типа 1, при этом выделенный полипептид имеет последовательность согласно SEQ ID NO: 6, или его фармацевтически приемлемую соль. В некоторых вариантах осуществления указанный полипептид - аналог глюкагона применяют для лечения субъекта, имеющего сахарный диабет типа 1, при этом выделенный полипептид имеет последовательность согласно SEQ ID NO: 21, или его фармацевтически приемлемую соль. В некоторых вариантах осуществления указанный полипептид - аналог глюкагона применяют для лечения субъекта, имеющего сахарный диабет типа 1, при этом выделенный полипептид имеет последовательность согласно SEQ ID NO: 24, или его фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления указанный полипептид - аналог глюкагона применяют для лечения субъекта, имеющего НАЖБП, при этом выделенный полипептид имеет последовательность согласно SEQ ID NO: 3, или его фармацевтически приемлемую соль. В некоторых вариантах осуществления указанный полипептид - аналог глюкагона применяют для лечения субъекта, имеющего НАЖБП, при этом выделенный полипептид имеет последовательность согласно SEQ ID NO: 6, или его фармацевтически приемлемую соль. В некоторых вариантах осуществления указанный полипептид - аналог глюкагона применяют для лечения субъекта, имеющего НАЖБП, при этом выделенный полипептид имеет последовательность согласно SEQ ID NO: 21, или его фармацевтически приемлемую соль. В некоторых вариантах осуществления указанный полипептид - аналог глюкагона применяют для лечения субъекта, имеющего НАЖБП, при этом выделенный полипептид имеет последовательность согласно SEQ ID NO: 24, или его фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления указанный полипептид - аналог глюкагона применяют для лечения субъекта, имеющего НАСГ, при этом выделенный полипептид имеет последовательность согласно SEQ ID NO: 3, или его фармацевтически приемлемую соль. В некоторых вариантах осуществления указанный полипептид - аналог глюкагона применяют для лечения субъекта, имеющего НАСГ, при этом выделенный полипептид имеет последовательность согласно SEQ ID NO: 6, или его фармацевтически приемлемую соль. В некоторых вариантах осуществления указанный полипептид - аналог глюкагона применяют для лечения субъекта, имеющего НАСГ, при этом выделенный полипептид имеет последовательность согласно SEQ ID NO: 21, или его фармацевтически приемлемую соль. В некоторых вариантах осуществления указанный полипептид - аналог глюкагона применяют для лечения субъекта, имеющего НАСГ, при этом выделенный полипептид имеет последовательность согласно SEQ ID NO: 24, или его фармацевтически приемлемую соль.

При употреблении в контексте данного документа термины «пациент» или «субъект» относятся к грызуну или животному, предпочтительно - к млекопитающему, и наиболее предпочтительно - к человеку.

Комбинации

В некоторых вариантах осуществления полипептид - аналог глюкагона согласно данному изобретению составлен в виде фармацевтического состава в комбинации со вторым агентом. В некоторых вариантах осуществления полипептид - аналог глюкагона согласно данному изобретению составлен в виде фармацевтического состава в комбинации со вторым агентом, при этом указанный второй агент представляет собой инкретиновый миметик. В некоторых вариантах осуществления полипептид - аналог глюкагона согласно данному изобретению составлен в виде фармацевтического состава в комбинации со вторым агентом, при этом указанный второй агент представляет собой инсулинотропное соединение.

Фраза «инкретиновые миметики» при употреблении в контексте данного

документа включает в себя, но не ограничивается ими, пептид ГПП-1; ГПП-1 (7-36); агонисты рецептора ГПП-1; пептидные производные ГПП-1; пептидные аналоги ГПП-1; эксенатид; эксенатид, имеющий аминокислотную последовательность эксендина-4 (встречающаяся в природе форма эксенатида; эксенатид-LAR; ликсисенатид; лираглутид; семаглутид; дулаглутид; альбиглутид; таспоглутид; тирцепатид (LY3298176 от Eli Lilly или Y-(Aib)-EGTFTSDYSI-(Aib)-LDKIAQ-[диацид-гамма-Glu-(AEEA)₂-Lys]-AFVQWLIAGGPSSGAPPPS-NH₂) SEQ ID NO: 303); глюкагон, а также его пептидные аналоги и его пептидные производные; глюкагоноподобный полипептид-2 (ГПП-2); PYY, а также его пептидные аналоги и его пептидные производные; PYY(3-36); оксинтомодулин, а также его пептидные аналоги и его пептидные производные); амилин, а также его пептидные аналоги и его пептидные производные; и гастроингибиторный пептид (ГИП). Инкретиновые миметики также указаны в данном документе как «инсулинотропные пептиды». Инкретиновые миметики, которые нацелены на рецептор ГПП-1, также известны в литературе как «агонисты рецептора ГПП-1» или «агонисты ГПП-1», при этом оба данных термина употребляются в данном документе взаимозаменяемо.

Некоторые варианты осуществления данного изобретения включают в себя применение описанного в данном документе полипептида - аналога глюкагона согласно данному изобретению в комбинации со вторым терапевтическим агентом, таким как второй полипептид, такой как, в качестве неограничивающего примера, инсулинотропные пептиды. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическую композицию, содержащую полипептид - аналог глюкагона в комбинации со вторым агентом, применяют для лечения сахарного диабета типа 2.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения представлена фармацевтическая композиция, содержащая любой из выделенных полипептидов, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения представлена фармацевтическая композиция, содержащая любой из выделенных полипептидов, как описано в данном документе, и дополнительно содержащая второй полипептид. В некоторых вариантах осуществления указанный второй полипептид представляет собой аналог PYY. В некоторых вариантах осуществления указанный второй полипептид представляет собой аналог амилина. В предпочтительном варианте осуществления указанный второй полипептид представляет собой агонист рецептора ГПП-1.

Термин «ГПП-1» относится к полипептиду, глюкагоноподобному пептид-1(7-36)-амиду - пептидному гормону, состоящему из 30 аминокислотных остатков, высвобождающемуся из L-клеток кишечника после потребления питательных веществ. ГПП-1 имеет аминокислотную последовательность (NAEGTFTSDVSSYLEGQAAKEFIAWLVKGR-NH₂), SEQ ID NO: 301. ГПП-1 представляет собой регуляторный пептид, который связывается с внеклеточной областью рецептора ГПП-1 (ГПП-1R, англ. «GLP-1R») - рецептора, сопряженного с G-белком, на β-

клетке и посредством активности аденилилциклазы и выработки цАМФ стимулирует инсулиновый ответ 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]. Эффект агонизма ГПП-1Р является множественным. ГПП-1 поддерживает гомеостаз глюкозы путем усиления эндогенной глюкозозависимой секреции инсулина, делая β -клетки глюкозокомпетентными и чувствительными к ГПП-1, подавляя высвобождение глюкагона, восстанавливая секрецию инсулина первой и второй фазы, замедляя опорожнение желудка, уменьшая потребление пищи и увеличивая чувство сытости [Holst 2008 *Mol. Cell Endocrinology*; Kjemis 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]. Учитывая способ действия ГПП-1, риск гипогликемии является минимальным.

Глюкагоноподобный пептид-1(7-36)-амид (ГПП-1) представляет собой пептидный гормон, состоящий из 30 аминокислотных остатков, высвобождающийся из L-клеток кишечника после потребления питательных веществ. Он потенцирует индуцированную глюкозой секрецию инсулина бета-клетками поджелудочной железы, увеличивает экспрессию инсулина, ингибирует апоптоз бета-клеток, способствует неогенезу бета-клеток, уменьшает секрецию глюкагона, задерживает опорожнение желудка, способствует насыщению и увеличивает периферическую утилизацию глюкозы. Эти множественные эффекты вызвали большой интерес к открытию длительно действующих агонистов рецептора ГПП-1 (ГПП-1Р) для лечения сахарного диабета типа 2. Термин «эксенатид» при употреблении в контексте данного документа включает в себя, но не ограничивается ими, эксенатид, эксенатид, имеющий аминокислотную последовательность (HGEFTFTSDLSKQMEEEAVRLFIEWLKNGGPSSGAPPPS-NH₂), SEQ ID NO: 302, нативный эксендин-4, пептиды эксенатида, аналоги пептидов эксенатида и производные пептидов эксенатида.

Эндогенный ГПП-1 высвобождается из кишечника в ответ на потребление питательных веществ. После приема пищи и ее переваривания в просвете кишечника появляются углеводы и жиры, которые стимулируют так называемый инкретиновый эффект - высвобождение инкретинов, таких как ГПП-1, из L-клеток кишечника. Высвобожденный ГПП-1 нацелен на поджелудочную железу, где он усиливает секрецию инсулина «глюкозозависимым образом». Другими словами, данный опосредованный ГПП-1 эффект на инсулин сохраняется при высоком уровне глюкозы, но безопасно рассеивается при падении уровня глюкозы. Следовательно, активность ГПП-1 саморегулируется для снижения риска гипогликемии (состояния, при котором уровень глюкозы падает до опасно низкого уровня). Поскольку ГПП-1 имеет короткий период

полужизни ($t_{1/2}$), составляющий меньше чем пять минут, данный эндогенный пептид с коротким сроком жизни не пригоден для применения в качестве терапевтического агента.

Были разработаны синтетические аналоги ГПП-1 с более длительным периодом полужизни, которые аналогичным образом усиливают секрецию инсулина глюкозозависимым образом, как эндогенный ГПП-1, для применения при лечении сахарного диабета типа 2 и для обеспечения потери веса.

Многочисленные агонисты рецептора ГПП-1 (например, производные пептида ГПП-1 и его аналоги), демонстрирующие инсулинотропное действие, известны в данной области техники (см., например, патенты США № 5118666; № № 5120712; № 5512549; № 5545618; № 5574008; № 5574008; № 5614492; № 5958909; № 6191102; № 6268343; № 6329336; № 6451974; № 6458924; № 6514500; № 6593295; № 6703359; № 6706689; № 6720407; № 6821949; № 6849708; № 6849714; № 6887470; № 6887849; № 6903186; № 7022674; № 7041646; № 7084243; № 7101843; № 7138486; № 7141547; № 7144863; и № 7199217), а также в клинических испытаниях (например, таспоглутид и альбиглутид).

Определенные агонисты рецептора ГПП-1, включительно с препаратами Bydureon[®] (эксенатид) от AstraZeneca, г. Кембридж, Великобритания; Trulicity[®] (дулаглутид) от Eli Lilly and Co., г. Индианаполис, штат Индиана, США; и Victoza[®] (лираглутид), Ozempic[®] (семаглутид для инъекций) и Rybelsus[®] (семаглутид для перорального применения) от Novo Nordisk A/S, Багсвэрд, Дания, были одобрены многочисленными регулирующими органами, включительно с Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и лекарственных препаратов США (U.S. FDA) и Европейским агентством лекарственных средств (EMA), для лечения пациентов, страдающих от сахарного диабета типа 2. Данные коммерчески доступные агонисты рецептора ГПП-1 были разработаны и составлены в виде фармацевтических составов для инъекционного и/или перорального введения пациентам. Однако степень соблюдения пациентами схем приема инъекционных и пероральных препаратов для лечения сахарного диабета типа 2, как известно, низкая, что не позволяет многим пациентам полностью и надолго реализовать терапевтический потенциал агонистов рецептора ГПП-1. Многие пациенты пропускают или прекращают периодическое самостоятельное введение предписанных инъекционных и пероральных агонистов рецептора ГПП-1 и, следовательно, не могут эффективно лечить и контролировать у себя состояние заболевания сахарного диабета типа 2.

В некоторых вариантах осуществления в данном изобретении представлена фармацевтическая комбинация, содержащая полипептид - аналог глюкагона согласно данному изобретению и агонист рецептора ГПП-1, или их фармацевтически приемлемые соли. В некоторых вариантах осуществления в данном изобретении представлена фармацевтическая комбинация, содержащая выделенный полипептид, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из последовательностей с SEQ ID NO: 1-60, и агонист рецептора ГПП-1, или их фармацевтически приемлемые соли. В некоторых вариантах осуществления в данном изобретении представлена фармацевтическая комбинация, содержащая выделенный

полипептид, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из последовательностей с SEQ ID NO: 1-39, и агонист рецептора ГПП-1, или их фармацевтически приемлемые соли.

В некоторых вариантах осуществления указанная фармацевтическая комбинация содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из последовательностей с SEQ ID NO: 3, 6, 21 и 24, вместе с агонистом рецептора ГПП-1, или их фармацевтически приемлемые соли. В некоторых вариантах осуществления указанная фармацевтическая комбинация содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из последовательностей с SEQ ID NO: 3, 6, 21 и 24, вместе с A303, или их фармацевтически приемлемые соли. В некоторых вариантах осуществления указанная фармацевтическая комбинация содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из последовательностей с SEQ ID NO: 3, 6, 21 и 24, вместе с A304, или их фармацевтически приемлемые соли.

В некоторых вариантах осуществления указанная фармацевтическая комбинация содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3 и агонист рецептора ГПП-1, или их фармацевтически приемлемые соли. В некоторых вариантах осуществления указанная фармацевтическая комбинация содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6 и агонист рецептора ГПП-1, или их фармацевтически приемлемые соли. В некоторых вариантах осуществления указанная фармацевтическая комбинация содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 21 и агонист рецептора ГПП-1, или их фармацевтически приемлемые соли. В некоторых вариантах осуществления указанная фармацевтическая комбинация содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 24 и агонист рецептора ГПП-1, или их фармацевтически приемлемые соли.

Было обнаружено, что полипептиды - аналоги глюкагона согласно данному изобретению в комбинации с агонистами рецептора ГПП-1 обеспечивают эффективность, подобную таковой от бариатрической хирургии, для снижения веса. Результаты наблюдений, указывающие на то, что улучшение гликемического контроля после обходного желудочного анастомоза по Ру (ОЖАР, англ. «RYGB») у пациентов с ожирением или с СД2 предшествует потере веса, наблюдаемой после ОЖАР, предполагает, что перестройка кишечника хирургическим путем приводит к физиологическим адаптациям, выходящим за рамки тех, которые обусловлены только потерей веса. Действительно, ОЖАР приводит к усилению постпрандиальной секреции ГПП-1 и глюкагона. Кишечные пептидные гормоны ГПП-1 и глюкагон играют роль в энергетическом балансе всего организма посредством нескольких перекрывающихся биологических реакций на поступление энергии. Эти реакции, главным образом, включают в себя усиление индуцированной глюкозой секреции инсулина, ингибирование опорожнения желудка, индуцирование чувства сытости и ингибирование приема пищи.

Соответственно, комбинации полипептида - аналога глюкагона согласно данному изобретению вместе с агонистом рецептора ГПП-1 подходят для лечения заболеваний и нарушений, описанных в данном документе. В некоторых вариантах осуществления

агонист рецептора ГПП-1 представляет собой агонист рецептора ГПП-1 длительного действия.

Оксинтомодулин представляет собой встречающийся в природе пептидный гормон, состоящий из 37 аминокислот, который выявляется в толстой кишке, и, как было обнаружено, способен подавлять аппетит и способствует потере веса (Wynne K, et al., *Int J Obes (Lond)* 30 (12): 1729-36 (2006)). Последовательности оксинтомодулина, а также его пептидных аналогов и его пептидных производных, известны в данной области техники (например, Bataille D, et al., *Peptides* 2 (Suppl 2): 41-44 (1981); и патентные публикации США № 2005/0070469 и № 2006/0094652).

Гастроингибиторный пептид (ГИП, англ. «GIP») представляет собой инсулинотропный пептидный гормон (Efendic, S., et al., *Horm Metab Res.* 36: 742-6 (2004)) и секретируется слизистой оболочкой двенадцатиперстной кишки и тощей кишки в ответ на поглощенные жиры и углеводы, которые стимулируют поджелудочную железу секретировать инсулин. ГИП циркулирует в качестве биологически активного пептида, состоящего из 42 аминокислот. ГИП также известен как глюкозозависимый инсулинотропный белок. ГИП представляет собой регуляторный пептид желудочно-кишечного тракта, состоящий из 42 аминокислот, который стимулирует секрецию инсулина бета-клетками поджелудочной железы в присутствии глюкозы (Tseng, C., et al., *PNAS* 90: 1992-1996 (1993)). Последовательность ГИП, а также его пептидные аналоги и пептидные производные известны в данной области техники (e.g., Meier J. J., *Diabetes Metab Res Rev.* 21 (2): 91-117 (2005); и Efendic S., *Horm Metab Res.* 36 (11-12): 742-6 (2004)).

Глюкагон представляет собой пептидный гормон, вырабатываемый альфа-клетками поджелудочной железы, который повышает концентрацию глюкозы в крови. Его действие противоположно таковому инсулина, который снижает концентрацию глюкозы. Поджелудочная железа вырабатывает глюкагон, когда концентрация глюкозы в крови падает слишком низко. Глюкагон стимулирует печень преобразовывать запасенный гликоген в глюкозу, которая поступает в кровоток. Уровни глюкозы в крови стимулируют высвобождение инсулина. Инсулин позволяет глюкозе проникать внутрь и использоваться инсулин-зависимыми тканями. Следовательно, глюкагон и инсулин являются частью системы обратной связи, которая удерживает уровень глюкозы в крови на стабильный уровень.

Амилин человека, или островковый амилоидный полипептид (ОАП, англ. «IAPP»), представляет собой полипептидный гормон, состоящий из 37 аминокислотных остатков. Амилин секретируется совместно с инсулином из β -клеток поджелудочной железы в соотношении около 100 : 1 (инсулин : амилин). Предшественник островкового амилоидного полипептида (т. е. про-ОАП, англ. «pro-IAPP») вырабатывается в β -клетках поджелудочной железы в виде пропептида, состоящего из 67 аминокислот и имеющего массу в 7404 Дальтон, который подвергается посттрансляционным модификациям, включительно с протеазным расщеплением, для образования амилина, состоящего из 37

аминокислотных остатков. Потеря функции β -клеток, которая происходит рано у пациентов с сахарным диабетом типа 1 и может произойти поздно у пациентов с сахарным диабетом типа 2, приводит к дефициту секреции инсулина и амилина.

Амилин функционирует как часть эндокринной поджелудочной железы - тех клеток внутри поджелудочной железы, которые синтезируют и секретируют гормоны. Амилин способствует контролю гликемии; он секретируется из островков поджелудочной железы в кровотоки и выводится посредством расщепления пептидазами в почках. Метаболическая функция амилина хорошо охарактеризована как ингибирование появления питательных веществ, таких как глюкоза, в плазме крови. Следовательно, он функционирует как синергический партнер инсулина - пептида, который регулирует уровень глюкозы в крови и координирует распределение и усвоение глюкозы организмом. Роль инсулина в организме заключается, помимо прочего, в предотвращении слишком высокого повышения уровня глюкозы в крови, особенно после приема пищи.

Считается, что амилин играет роль в регуляции гликемии, замедляя опорожнение желудка и способствуя насыщению (т. е. ощущению сытости), тем самым предотвращая постпрандиальные (т. е. происходящие после приема пищи) скачки уровня глюкозы в крови. Общий эффект заключается в замедлении скорости появления глюкозы в крови после приема пищи. Амилин также снижает секрецию глюкагона поджелудочной железой. Роль глюкагона в организме заключается, помимо прочего, в предотвращении падения уровня глюкозы в крови до слишком низкого уровня. Это важно, поскольку некоторые пациенты с сахарным диабетом типа 1, например, склонны к секреции избыточного количества глюкагона, повышающего уровень глюкозы в крови, сразу после приема пищи.

По многим причинам амилин человека, имеющий период полужизни в сыворотке крови, составляющий около 13 минут, не подходит для применения в качестве терапевтического агента. Вместо этого был разработан прамлинтид (Symlin®, разработанный компанией Amylin Pharmaceuticals, Inc., г. Сан-Диего, штат Калифорния, США, и продаваемый AstraZeneca plc, г. Кембридж, Великобритания) как синтетический аналог амилина человека для лечения пациентов с сахарным диабетом типа 1 или типа 2, которые используют инсулин в связи с приемом пищи, но не могут достичь желаемого контроля гликемии, несмотря на оптимальную инсулинотерапию. Прамлинтид отличается от амилина человека по 3 из 37 аминокислот, содержащихся в нем. Данные модификации обеспечивают прамлинтиду более длительный период полужизни, составляющий около 48 минут у человека, и снижают его склонность к агрегации, характерную для амилина человека. Другие аналоги амилина человека описаны, например, в заявке на патент США № 16/598915 (соответствует международной РСТ-заявке № РСТ/US2019/055696), обе поданы 10 октября 2019 года.

Доставка посредством имплантации

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения представлено устройство осмотической доставки, как описано в данном документе, содержащее любой

из полипептидов - аналогов глюкагона длительного действия, как описано в данном документе, или фармацевтическую композицию, содержащую любой из указанных полипептидов - аналогов глюкагона длительного действия.

В некоторых вариантах осуществления указанное устройство осмотической доставки включает в себя непроницаемый резервуар, содержащий внутреннюю и внешнюю поверхности и первый и второй открытые концы; полупроницаемую мембрану, герметично присоединяющуюся к указанному первому открытому концу указанного резервуара; осмотический двигатель внутри указанного резервуара, примыкающий к указанной полупроницаемой мембране; поршень, примыкающий к указанному осмотическому двигателю, при этом указанный поршень образует подвижное уплотнение с указанной внутренней поверхностью указанного резервуара, при этом указанный поршень разделяет указанный резервуар на первую камеру и вторую камеру, при этом указанная первая камера содержит указанный осмотический двигатель; фармацевтический состав лекарственного препарата в виде суспензии, при этом указанная вторая камера содержит указанный фармацевтический состав лекарственного препарата в виде суспензии и указанный фармацевтический состав лекарственного препарата в виде суспензии находится в жидкой форме и содержит указанный выделенный полипептид; и регулятор диффузии, вставленный в указанный второй открытый конец указанного резервуара, при этом указанный регулятор диффузии примыкает к указанному фармацевтическому составу лекарственного препарата в виде суспензии.

Имплантируемое устройство осмотической доставки, как правило, включает в себя резервуар, имеющий по меньшей мере одно отверстие, через которое доставляется фармацевтический состав лекарственного препарата в виде суспензии. Указанный фармацевтический состав лекарственного препарата в виде суспензии может храниться в указанном резервуаре. В предпочтительном варианте осуществления указанное имплантируемое устройство доставки лекарственного препарата представляет собой устройство осмотической доставки, в котором доставка указанного лекарственного препарата выполняется посредством осмоса. Уже описаны некоторые устройства осмотической доставки и их составные части, например, устройство доставки DUROS® или аналогичные устройства (см., например, патенты США № 5609885; № 5728396; № 5985305; № 5997527; № 6113938; № 6132420; № 6156331; № 6217906; № 6261584; № 6270787; № 6287295; № 6375978; № 6395292; № 6508808; № 6544252; № 6635268; № 6682522; № 6923800; № 6939556; № 6976981; № 6997922; № 7014636; № 7207982; и № 7112335; № 7163688; заявки на патент США № 2005/0175701, 2007/0281024, 2008/0091176 и 2009/0202608).

Указанное устройство осмотической доставки, как правило, состоит из цилиндрического резервуара, который содержит указанные осмотический двигатель, поршень и фармацевтический состав лекарственного препарата. Указанный резервуар закрыт с одного конца полупроницаемой мембраной с контролируемой скоростью потока, а с другого конца - регулятором диффузии, через который фармацевтический состав

лекарственного препарата в виде суспензии высвобождается из указанного резервуара с лекарственным препаратом. Указанный поршень отделяет указанный фармацевтический состав лекарственного препарата от указанного осмотического двигателя и использует уплотнение для предотвращения попадания воды из отсека указанного осмотического двигателя в указанный резервуар с лекарственным препаратом. Указанный регулятор диффузии предназначен, в сочетании с указанным фармацевтическим составом лекарственного препарата, для предотвращения попадания жидкостей организма в указанный резервуар с препаратом через указанное отверстие.

Указанное устройство осмотической доставки высвобождает лекарственный препарат с заранее определенной скоростью на основании принципа осмоса. Внеклеточная жидкость поступает в указанное устройство осмотической доставки через полупроницаемую мембрану непосредственно в солевой двигатель, который расширяется для приведения в действие указанного поршня с низкой и равномерной скоростью. Движение указанного поршня выталкивает указанный фармацевтический состав лекарственного препарата через указанное отверстие или выходной порт с заданной скоростью сдвига. В одном варианте осуществления данного изобретения указанный резервуар указанного осмотического устройства заполнен фармацевтическим составом лекарственного препарата в виде суспензии, при этом указанное устройство способно доставлять указанный фармацевтический состав лекарственного препарата в виде суспензии 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 препарата из указанного устройства осмотической доставки, как правило, доставляет субъекту заранее определенную целевую дозу лекарственного препарата, например, терапевтически эффективная суточная доза доставляется в течение суток; то есть, скорость высвобождения указанного лекарственного препарата из указанного устройства обеспечивает по существу стабильную доставку указанному субъекту указанного препарата в терапевтической концентрации.

Как правило, для устройства осмотической доставки объем камеры для полезного агента, содержащей фармацевтический состав указанного полезного агента, составляет от около 100 мкл до около 1000 мкл, более предпочтительно - от около 120 мкл до около 500 мкл, более предпочтительно - от около 150 мкл до около 200 мкл.

Как правило, устройство осмотической доставки имплантируют в тело субъекта, например, субдермально или подкожно, для обеспечения подкожной доставки лекарственного препарата. Указанное (-ые) устройство (-а) может (могут) имплантироваться субдермально или подкожно в одну или обе руки (например, во внутреннюю часть, наружную часть или заднюю часть плеча) или в область живота. Предпочтительные участки в области живота находятся под кожей живота в участках ниже ребер и выше линии пояса. Чтобы обеспечить ряд участков для имплантации одного

или большего числа устройств осмотической доставки в область живота, брюшную стенку можно разделить на 4 квадранта следующим образом: верхний правый квадрант, простирающийся по меньшей мере на 2-3 сантиметра ниже правых ребер, например, по меньшей мере на около 5-8 сантиметров ниже правых ребер, и по меньшей мере на 2-3 сантиметра правее средней линии, например, по меньшей мере на около 5-8 сантиметров правее средней линии; нижний правый квадрант, простирающийся 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 правее средней линии, например, по меньшей мере на около 5-8 сантиметров правее средней линии; верхний левый квадрант, простирающийся по меньшей мере на 2-3 сантиметра ниже левых ребер, например, по меньшей мере на около 5-8 сантиметров ниже левых ребер, и по меньшей мере на 2-3 сантиметра левее средней линии, например, по меньшей мере на около 5-8 сантиметров левее средней линии; и нижний левый квадрант, простирающийся 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 левее средней линии, например, по меньшей мере на около 5-8 сантиметров левее средней линии. Такое деление обеспечивает множество доступных участков для имплантации одного или большего числа устройств за один или большее число раз. Имплантация и удаление устройств осмотической доставки, как правило, выполняются медицинскими работниками с применением местной анестезии (например, лидокаина).

Прекращение лечения путем удаления устройства осмотической доставки из субъекта является простым процессом и обеспечивает важное преимущество немедленного прекращения доставки лекарственного препарата субъекту.

Предпочтительно, устройство осмотической доставки имеет отказоустойчивый механизм для предотвращения непреднамеренной избыточной или болюсной доставки лекарственного препарата в такой теоретической ситуации как засорение или закупоривание выходной части (регулятора диффузии), через которую доставляется фармацевтический состав лекарственного препарата. Для предотвращения непреднамеренной избыточной или болюсной доставки лекарственного препарата устройство осмотической доставки сконструировано и изготовлено так, что давление, необходимое для частичного или полного вытеснения или отделения регулятора диффузии из или от резервуара, превышает давление, необходимое для частичного или полного вытеснения или отделения полупроницаемой мембраны в объеме, необходимом для снятия давления в указанном резервуаре. В таком случае давление будет нарастать внутри указанного устройства до тех пор, пока оно не вытолкнет указанную полупроницаемую мембрану на другом конце наружу, тем самым сбрасывая осмотическое давление. Устройство осмотической доставки затем станет статичным и больше не будет доставить фармацевтический состав лекарственного препарата при условии, что указанный поршень герметично прилегает к указанному резервуару.

Дозу и скорость доставки можно выбирать для достижения желаемой

концентрации лекарственного препарата в крови, как правило, в течение меньше чем около 6 периодов полужизни указанного лекарственного препарата в теле указанного субъекта после имплантации указанного устройства. Концентрацию лекарственного препарата в крови выбирают так, чтобы обеспечить оптимальный терапевтический эффект указанного лекарственного препарата, избегая при этом нежелательных побочных эффектов, которые могут быть вызваны избыточной концентрацией указанного лекарственного препарата, при этом в то же время избегая пиковых и минимальных концентраций, которые могут вызывать побочные эффекты, связанные с пиковыми и минимальными концентрациями указанного лекарственного препарата в плазме крови.

Фармацевтические составы в виде суспензии можно также применять в инфузионных помпах, например, в осмотических помпах ALZET® (DURECT Corporation, г. Купертино, штат Калифорния, США), которые представляют собой миниатюрные инфузионные помпы для непрерывного дозированного введения лабораторным животным (например, мышам и крысам).

Способы введения

В некоторых вариантах осуществления указанный способ включает в себя введение полипептида - аналога глюкагона согласно данному изобретению или его фармацевтической композиции субъекту, нуждающемуся в лечении, посредством инъекции. В некоторых вариантах осуществления указанный способ включает в себя введение полипептида - аналога глюкагона согласно данному изобретению или его фармацевтической композиции, составленной для перорального введения, субъекту, нуждающемуся в лечении.

В некоторых вариантах осуществления указанный способ включает в себя введение полипептида - аналога глюкагона согласно данному изобретению или его фармацевтической композиции субъекту, нуждающемуся в лечении, посредством имплантации. В некоторых вариантах осуществления указанный способ включает в себя обеспечение непрерывного введения полипептида - аналога глюкагона субъекту, нуждающемуся в лечении, из устройства осмотической доставки. Указанное устройство доставки, такое как устройство осмотической доставки, содержит достаточное количество полипептида - аналога глюкагона согласно данному изобретению для непрерывного введения в течение периода времени, составляющего вплоть до 3 месяцев, 6 месяцев, 9 месяцев, 12 месяцев, 18 месяцев или 24 месяцев. Следовательно, непрерывное введение полипептида - аналога глюкагона согласно данному изобретению через устройство осмотической доставки исключает ежесуточное или многократное в течение суток дозирование коммерчески доступных полипептидов - аналогов глюкагона.

По существу стабильная доставка выделенного полипептида - аналога глюкагона из указанного устройства осмотической доставки является непрерывной в течение периода введения. В некоторых вариантах осуществления указанный субъект или пациент представляет собой субъекта-человека или пациента-человека.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный 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 дополнительных вариантах осуществления способы лечения согласно данному изобретению обеспечивают значительное снижение концентрации глюкозы в плазме крови у субъекта натошак после имплантации указанного устройства осмотической доставки указанному субъекту (по сравнению с концентрацией глюкозы в плазме крови у указанного субъекта натошак до имплантации указанного устройства осмотической доставки), которое достигается в течение около 7 суток, около 6 суток, около 5 суток, около 4 суток, около 3 суток, около 2 суток, около 1 суток или меньше число суток после имплантации указанного устройства осмотической доставки указанному субъекту. Указанное значительное снижение глюкозы в плазме крови натошак, как правило, является статистически значимым, как показано путем применения соответствующего статистического теста или признано значимым для указанного субъекта практикующим врачом. Указанное значительное снижение глюкозы в плазме крови натошак по сравнению с базовым уровнем до имплантации, как правило, сохраняется в течение указанного периода введения.

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к способу лечения заболевания или нарушения у субъекта, нуждающегося в лечении. Указанный способ включает в себя обеспечение непрерывной доставки лекарственного препарата из устройства осмотической доставки, при этом у указанного субъекта достигается по существу стабильная доставка указанного лекарственного препарата в терапевтических концентрациях. По существу стабильная доставка указанного лекарственного препарата из указанного устройства осмотической доставки непрерывна в течение периода введения, составляющего по меньшей мере около 3 месяцев. Указанный лекарственный препарат имеет известный или определенный период полужизни у типичного субъекта. Люди являются предпочтительными субъектами для реализации данного изобретения на практике. Данное изобретение включает в себя лекарственный препарат, эффективный для лечения заболевания или состояния, а также устройство осмотической доставки, содержащее указанный лекарственный препарат для применения в указанных способах лечения заболевания или состояния у субъекта, нуждающегося в лечении. Преимущества данного изобретения включают в себя смягчение токсичности лекарственных препаратов, связанной с пиками, и минимизацию субоптимальной лекарственной терапии, связанной с минимальными остаточными концентрациями.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанная по существу стабильная доставка лекарственного препарата в терапевтических

концентрациях достигается в течение периода времени, составляющего около 1 месяца, 7 суток, 5 суток, 3 суток или 1 суток после имплантации указанного устройства осмотической доставки указанному субъекту.

В данном изобретении также представлены способ содействия потере веса у субъекта, нуждающегося в этом, способ лечения избыточного веса или ожирения у субъекта, нуждающегося в этом, и/или способ подавления аппетита у субъекта, нуждающегося в этом. Указанный способ включает в себя обеспечение доставки выделенного полипептида - аналоги глюкагона. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный выделенный полипептид - аналог глюкагона непрерывно доставляется из имплантируемого устройства осмотической доставки. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения достигается значительная стабильная доставка указанного полипептида - аналога глюкагона из указанного устройства осмотической доставки, которая является по существу непрерывной в течение периода введения. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный субъект представляет собой человека.

Данное изобретение включает в себя устройство осмотической доставки, содержащее полипептид - аналог глюкагона, для применения в способах согласно данному изобретению у субъекта, нуждающегося в лечении. Указанный субъект может иметь сахарный диабет типа 2. Указанный субъект, нуждающийся в лечении, может иметь базовый уровень HbA1c %, равный больше чем 10,0%, т. е. может быть субъектом с высоким базовым уровнем (ВБУ). Указанный субъект мог ранее не получать лекарственный препарат для лечения сахарного диабета типа 2.

В дополнительных вариантах осуществления способы лечения согласно данному изобретению обеспечивают значительное снижение концентрации глюкозы в плазме крови натощак у указанного субъекта после имплантации указанного устройства осмотической доставки указанному субъекту (по сравнению с концентрацией глюкозы в плазме крови натощак у указанного субъекта до имплантации указанного устройства осмотической доставки), которое достигается в течение около 7 суток или меньше после имплантации указанного устройства осмотической доставки указанному субъекту, в течение около 6 суток или меньше после имплантации указанного устройства осмотической доставки указанному субъекту, в течение около 5 суток или меньше после имплантации указанного устройства осмотической доставки указанному субъекту, в течение около 4 суток или меньше после имплантации указанного устройства осмотической доставки указанному субъекту, в течение около 3 суток или меньше после имплантации указанного устройства осмотической доставки указанному субъекту, в течение около 2 суток или меньше после имплантации указанного устройства осмотической доставки указанному субъекту, или в течение около 1 суток или меньше после имплантации указанного устройства осмотической доставки указанному субъекту. В предпочтительных вариантах осуществления данного изобретения значительное снижение концентрации глюкозы в плазме крови натощак у указанного субъекта после

имплантации указанного устройства осмотической доставки по сравнению с концентрацией глюкозы в плазме крови натощак у указанного субъекта до имплантации указанного устройства достигается в течение около 2 суток или меньше, предпочтительно - в течение около 1 суток или меньше после имплантации указанного устройства осмотической доставки указанному субъекту, или, более предпочтительно - в течение около 1 суток после имплантации указанного устройства осмотической доставки указанному субъекту. Указанное значительное снижение глюкозы в плазме крови натощак, как правило, является статистически значимым, как показано путем применения соответствующего статистического теста или признано значимым для указанного субъекта практикующим врачом. Указанное значительное снижение глюкозы в плазме крови натощак по сравнению с базовым уровнем до имплантации, как правило, сохраняется в течение указанного периода введения.

В вариантах осуществления всех аспектов данного изобретения, относящихся к способам лечения заболевания или состояния у субъекта, иллюстративное устройство осмотической доставки включает в себя следующее: непроницаемый резервуар, содержащий внутреннюю и внешнюю поверхности и первый и второй открытые концы; полупроницаемую мембрану, герметично присоединяющуюся к указанному первому открытому концу указанного резервуара; осмотический двигатель внутри указанного резервуара, примыкающий к указанной полупроницаемой мембране; поршень, примыкающий к указанному осмотическому двигателю, при этом указанный поршень образует подвижное уплотнение с указанной внутренней поверхностью указанного резервуара, при этом указанный поршень разделяет указанный резервуар на первую камеру и вторую камеру, при этом указанная первая камера содержит указанный осмотический двигатель; фармацевтический состав лекарственного препарата или фармацевтический состав лекарственного препарата в виде суспензии, при этом указанная вторая камера содержит указанный фармацевтический состав лекарственного препарата или указанный фармацевтический состав лекарственного препарата в виде суспензии и указанный фармацевтический состав лекарственного препарата или указанный фармацевтический состав лекарственного препарата в виде суспензии находится в жидкой форме; и регулятор диффузии, вставленный в указанный второй открытый конец указанного резервуара, при этом указанный регулятор диффузии примыкает к указанному фармацевтическому составу лекарственного препарата в виде суспензии. В предпочтительных вариантах осуществления указанный резервуар содержит титан или титановый сплав.

В вариантах осуществления всех аспектов данного изобретения, относящихся к способам лечения заболевания или состояния у субъекта, указанный фармацевтический состав лекарственного препарата может содержать указанный лекарственный препарат и состав-носитель. В качестве альтернативы, в указанных способах используются фармацевтические составы в виде суспензии, и они могут, например, включать в себя фармацевтический состав, содержащий частицы лекарственного препарата и состав-

носитель. Составы-носители для использования в получении фармацевтического состава лекарственного препарата в виде суспензии согласно данному изобретению могут, например, содержать растворитель и полимер.

Резервуары устройств осмотической доставки могут, например, содержать титан или титановый сплав.

В вариантах осуществления всех аспектов данного изобретения указанное имплантируемое устройство осмотической доставки можно использовать для обеспечения подкожной доставки.

В вариантах осуществления всех аспектов данного изобретения непрерывная доставка может, например, представлять собой контролируруемую непрерывную доставку нулевого порядка.

Фармацевтические композиции

Согласно другому варианту осуществления в данном изобретении представлена фармацевтическая композиция, содержащая соединение, т. е. выделенный полипептид согласно данному изобретению или его фармацевтически приемлемое производное, и фармацевтически приемлемый носитель, адъювант или несущую среду.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения представлена фармацевтическая композиция, содержащая любой из описанных в данном документе полипептидов, составленных в виде их фармацевтически приемлемых солей, таких как трифторацетатная соль, ацетатная соль или гидрохлоридная соль. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения представлена фармацевтическая композиция, содержащая любой из описанных в данном документе полипептидов, составленный в виде трифторацетатной соли. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения представлена фармацевтическая композиция, содержащая любой из описанных в данном документе полипептидов, составленный в виде ацетатной соли. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения представлена фармацевтическая композиция, содержащая любой из описанных в данном документе полипептидов, составленный в виде гидрохлоридной соли.

Термин «фармацевтически приемлемый носитель, адъювант или несущая среда» относится к нетоксичному носителю, адъюванту или несущей среде, которые не нарушают фармакологическую активность соединения, с которым они составлены.

При употреблении в контексте данного документа термин «фармацевтически приемлемый носитель» предназначен для включения в себя любых и всех растворителей, полимеров, дисперсионных сред, покрытий, антибактериальных и противогрибковых агентов, изотонических и задерживающих абсорбцию агентов и т. п., совместимых с фармацевтическим введением. Подходящие носители описаны в наиболее позднем издании «Фармацевтических наук Ремингтона» («Remington's Pharmaceutical Sciences») - стандартной цитируемой работе в данной области техники, которая включена в данный документ посредством ссылки. Предпочтительные примеры таких носителей или разбавителей включают в себя, но не ограничиваются ими, воду, солевой раствор,

растворы Рингера, раствор декстрозы и 5% сывороточный альбумин человека. Также можно использовать липосомы и неводные несущие среды, такие как нелетучие масла. Использование таких сред и агентов для фармацевтически активных веществ хорошо известно в данной области техники. Предполагается их использование в указанных композициях, за исключением случаев, когда любая обычная среда или агент несовместимы с активным соединением, предполагается. Также в композиции можно включать дополнительные активные соединения.

Репрезентативные фармацевтически приемлемые носители, адъюванты или несущие среды, которые можно использовать в описанных в данном документе композициях, включают в себя, но не ограничиваются ими, ионообменники, оксид алюминия, стеарат алюминия, лецитин, белки сыворотки, такие как сывороточный альбумин человека, буферные вещества, такие как фосфаты, глицин, сорбиновая кислота, сорбат калия, смеси неполных глицеридов насыщенных растительных жирных кислот, воду, соли или электролиты, такие как протаминсульфат, гидрофосфат динатрия, гидрофосфат калия, хлорид натрия, соли цинка, коллоидный диоксид кремния, трисиликат магния, поливинилпирролидон, вещества на основе целлюлозы, полиэтиленгликоль, карбоксиметилцеллюлозу натрия, полиакрилаты, воски, блок-полимеры полиэтилена и полиоксипропилена, полиэтиленгликоль и шерстяной жир.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения представлена фармацевтическая композиция, содержащая фармацевтически приемлемое производное любого из описанных в данном документе полипептидов, составленных в виде их фармацевтически приемлемых солей, таких как трифторацетатная соль, ацетатная соль или гидрохлоридная соль. «Фармацевтически приемлемое производное» означает любую нетоксичную соль, сложный эфир, соль сложного эфира или другое производное соединения согласно данному изобретению, которое при введении реципиенту способно прямо или косвенно обеспечивать соединение согласно данному изобретению или его активный метаболит или остаток.

Указанная фармацевтическая композиция содержит лекарственный препарат и может быть составлена в виде «фармацевтического состава из частиц», как более подробно описано ниже. Указанные фармацевтическая композиция и/или фармацевтический состав из частиц могут включать в себя стабилизирующие компоненты (также называемые в данном документе «эксципиенты»). Примеры стабилизирующих компонентов включают в себя, но не ограничиваются ими, углеводы, антиоксиданты, аминокислоты, буферы, неорганические соединения и поверхностно-активные вещества.

Количество соединения в композициях согласно данному изобретению является таким, которое эффективно для измеримой активации одного или большего числа рецепторов глюкагона (например, человека, крысы, макаки и т. д.) в биологическом образце или в организме пациента. В определенных вариантах осуществления количество соединения в композициях согласно данному изобретению является таким, которое эффективно для обеспечения измеримого агонизма рецептора глюкагона человека в

отсутствие или присутствии сывороточного альбумина человека, в биологическом образце или в организме пациента. В определенных вариантах осуществления композиция согласно данному изобретению составлена для введения пациенту, нуждающемуся в такой композиции. В некоторых вариантах осуществления композиция согласно данному изобретению составлена для инъекционного введения пациенту. В некоторых вариантах осуществления композиция согласно данному изобретению составлена для введения пациенту посредством имплантируемого устройства доставки, такого как устройство осмотической доставки.

Выделенные полипептиды согласно данному изобретению (также называемые в данном документе «активные соединения») и их производные, фрагменты, аналоги и гомологи, могут быть включены в фармацевтические композиции, подходящие для введения. Такие композиции, как правило, содержат выделенный полипептид или его фармацевтически приемлемую соль и фармацевтически приемлемый носитель.

Фармацевтическую композицию согласно данному изобретению составляют так, чтобы она была совместима с предполагаемым путем введения. Примеры путей введения включают в себя парентеральное (например, внутривенное, интрадермальное, субдермальное, подкожное), пероральное (например, ингаляционное), трансдермальное (т. е. местное), трансмукозальное, ректальное введение, или их комбинации. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция или выделенный полипептид согласно данному изобретению составлены для введения местным путем. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция или выделенный полипептид согласно данному изобретению составлены для введения путем ингаляции. В некоторых вариантах осуществления указанная фармацевтическая композиция составлена для введения с помощью устройства или другого подходящего механизма доставки, которые подходят для субдермальной или подкожной имплантации и доставляют указанную фармацевтическую композицию подкожно. В некоторых вариантах осуществления указанная фармацевтическая композиция составлена для введения с помощью имплантируемого устройства, которое подходит для субдермальной или подкожной имплантации и доставляет указанную фармацевтическую композицию подкожно. В некоторых вариантах осуществления указанная фармацевтическая композиция составлена для введения с помощью устройства осмотической доставки, например, имплантируемого устройства осмотической доставки, которое подходит для субдермального или подкожного размещения, или другой имплантации, и доставляет указанную фармацевтическую композицию подкожно. Растворы или суспензии, используемые для парентерального применения, внутрикожного применения, субдермального применения, подкожного применения, или их комбинации, могут включать в себя следующие компоненты: стерильный разбавитель, такой как вода для инъекций, физиологический раствор, нелетучие масла, полиэтиленгликоли, глицерин, пропиленгликоль или другие синтетические растворители; антибактериальные агенты, такие как бензиловый спирт или метилпарабены; антиоксиданты, такие как аскорбиновая кислота или бисульфит натрия;

хелатирующие агенты, такие как этилендиаминтетрауксусная кислота (ЭДТУ); буферы, такие как ацетаты, цитраты или фосфаты, и агенты 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 в себя стерильные водные растворы (в случае растворимости в воде) или дисперсии и стерильные порошки для приготовления стерильных инъекционных растворов или дисперсий для немедленного приема. Подходящие носители для внутривенного введения включают в себя физиологический раствор, бактериостатическую воду, Stremphor EL (BASF, г. Парсиппани, штат Нью-Джерси, США) или фосфатно-солевой буфер (ФСБ). Во всех случаях указанная композиция должна быть стерильной и текучей в такой 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 агенты, 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 изготавливать путем включения активного соединения в необходимом количестве в соответствующий растворитель с одним или с комбинацией ингредиентов, перечисленных выше, по мере необходимости, с последующей стерилизацией фильтрацией. В общем случае дисперсии готовят путем включения активного соединения в стерильную несущую среду, которая 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, как правило, включают в себя 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 с эксципиентами и использовать в форме таблеток, пастилок или капсул. Композиции для перорального введения также можно изготавливать, 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: связующий агент, такой как микрокристаллическая целлюлоза, трагакантовая камедь или желатин; эксципиент, такой как крахмал или лактоза, разрыхлитель, такой как альгиновая кислота, примогель или кукурузный крахмал; смазывающее вещество, такое как стеарат магния или Sterotes; скользящее вещество, такое как коллоидный диоксид кремния; подсластитель, такой как сахароза или сахарин; или ароматизатор, такой как перечная мята, метилсалицилат или апельсиновый ароматизатор.

В случае введения путем ингаляции соединения доставляют в форме аэрозоля, спрея из находящегося под давлением контейнера или распределителя, который содержит подходящий пропеллент, например, газ, такой как диоксид углерода, или из небулайзера.

Системное введение можно также осуществлять трансмукозальными или трансдермальными способами. В случае трансмукозального или трансдермального введения в составе используются пенетранты, подходящие для проникновения через данный барьер. Такие пенетранты в целом известны в данной области техники и включают в себя, например в случае трансмукозального введения, детергенты, желчные соли и производные фузидовой кислоты. Трансмуккозальное введение можно осуществлять путем использования назальных спреев или суппозиторий. Для трансдермального введения активные соединения составляют в виде мазей, бальзамов, гелей или кремов, как в целом известно в данной области техники.

В одном варианте осуществления активные соединения изготавливают с носителями, которые будут защищать указанное соединение от быстрого выведения из организма, например, состав с контролируемым высвобождением, включительно с имплантатами и микрокапсулированными системами доставки. Можно использовать биоразлагаемые, биосовместимые полимеры, такие как этиленвинилацетат, полиангидриды, полигликолевая кислота, коллаген, сложные полиортоэфир и полимолочная кислота. Способы приготовления таких фармацевтических составов будут очевидны для специалистов в данной области техники. Материалы можно приобрести коммерческим путем у Alza Corporation и Nova Pharmaceuticals, Inc. В качестве фармацевтически приемлемых носителей можно также использовать липосомальные суспензии. Их можно получать в соответствии со способами, известными специалистам в данной области техники, например, как описано в патенте США № 4522811.

В особенности предпочтительно составлять композиции для перорального или парентерального введения в единичной дозированной форме для простоты введения и постоянства дозы. В контексте данного документа единичная дозированная форма относится к физически дискретным единицам, подходящим в качестве единичных доз 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 данному 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 субъектов.

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

Фармацевтические составы из частиц лекарственного препарата

Соединения, т. е. выделенные полипептиды или их фармацевтически приемлемые соли, для применения данного изобретения на практике, как правило, добавляют в фармацевтические составы из частиц, которые используют для получения содержащих полипептид частиц, которые равномерно суспендируют, растворяют или диспергируют в несущей среде для суспензии с образованием суспензионного фармацевтического состава. В некоторых вариантах осуществления указанный полипептид - аналог глюкагона составляют в виде фармацевтического состава из частиц и преобразуют (например, высушивают распылением) в частицы. В некоторых вариантах осуществления частицы, содержащие указанный полипептид - аналог глюкагона, суспендируют в составеносителе, в результате чего получают суспензионный фармацевтический состав-носитель и суспендированные частицы, содержащие указанный полипептид - аналог глюкагона.

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

В некоторых вариантах осуществления в данном изобретении представлены фармацевтические составы из частиц лекарственного препарата для фармацевтического применения. Фармацевтический состав из частиц, как правило, содержит лекарственный препарат и включает в себя один или большее число стабилизирующих компонентов (также называемых в данном документе «эксципIENTы»). Примеры стабилизирующих компонентов включают в себя, но не ограничиваются ими, углеводы, антиоксиданты, аминокислоты, буферы, неорганические соединения и поверхностно-активные вещества. Количества стабилизаторов в фармацевтическом составе из частиц могут быть

определены экспериментально на основании активности стабилизаторов и желательных характеристик указанного фармацевтического состава в соответствии с идеями, представленными в данном документе.

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

Как правило, количество углеводов в указанном фармацевтическом составе 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 лекарственным препаратом.

Как правило, количество антиоксиданта в фармацевтическом составе из частиц определяется проблемами окисления, в то время как количество аминокислот в фармацевтическом составе определяются проблемами окисления и/или образования частиц во время сушки распылением.

Как правило, количество буфера в фармацевтическом составе из частиц определяется проблемами предварительной обработки, проблемами устойчивости и образования частиц во время сушки распылением. Буфер может потребоваться для стабилизации лекарственного препарата в процессе обработки, например, для приготовления раствора и сушки распылением, когда все стабилизаторы солюбилизированы.

Примеры углеводов, которые могут быть включены в фармацевтический состав из частиц, включают в себя, но не ограничиваются ими, моносахариды (например, фруктозу, мальтозу, галактозу, глюкозу, D-маннозу и сорбозу), дисахариды (например, лактозу, сахарозу, трегалозу и целлобиозу), полисахариды (например, рафинозу, мелезитозу, мальтодекстрины, декстраны и крахмалы) и альдитолы (ациклические полиолы, например, маннитол, ксилитол, мальтитол, лактитол, ксилитол-сорбитол, пиранозилсорбитол и миоинозитол). Подходящие углеводы включают в себя дисахариды и/или невосстанавливающие сахара, такие как сахароза, трегалоза и рафиноза.

Примеры антиоксидантов, которые могут быть включены в фармацевтический состав из частиц, включают в себя, но не ограничиваются ими, метионин, аскорбиновую кислоту, тиосульфат натрия, каталазу, платину, этилендиаминтетрауксусную кислоту (ЭДТУ), лимонную кислоту, цистеин, тиоглицерол, тиогликолевую кислоту, тиосорбитол, 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 фармацевтический 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 фармацевтический состав из частиц, включают в себя, но не ограничиваются ими, цитрат, гистидин, сукцинат, фосфат, малеат, ТРИС, ацетат, углеводный буфер и Gly-Gly. Подходящие буферы включают в себя цитрат, гистидин, сукцинат и ТРИС.

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

Кроме того, фармацевтический состав из частиц может включать в себя другие стабилизаторы/эксципиенты, такие как поверхностно-активные вещества и соли. Примеры поверхностно-активных веществ включают в себя, но не ограничиваются ими, полисорбат 20, полисорбат 80, PLURONIC® (BASF Corporation, г. Маунт-Олив, штат Нью-Джерси, США) F68 и додецилсульфат натрия (SDS). Примеры солей включают в себя, 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 устройства осмотической доставки. Однородная форма и размер частиц, как правило, помогают обеспечить последовательную и равномерную скорость высвобождения из такого устройства доставки; однако, можно также применять препарат из частиц, частицы которого имеют ненормальный профиль распределения размеров частиц. Например, в типичном имплантируемом устройстве осмотической доставки, имеющем отверстие доставки, размер частиц составляет меньше чем около 30%, более предпочтительно - меньше чем около 20%, более предпочтительно - меньше чем около 10% от диаметра указанного отверстия доставки. В одном варианте осуществления указанного фармацевтического состава из частиц для применения с системой осмотической доставки, при котором диаметр отверстия доставки в указанном имплантате составляет около 0,5 мм, размер частиц может составлять, например, от меньше чем около 150 микрон до около 50 микрон. В одном варианте осуществления указанного фармацевтического состава из частиц для применения с системой осмотической доставки, при котором диаметр отверстия доставки в указанном имплантате составляет около 0,1 мм, размер частиц может составлять, например, от меньше чем около 30 микрон до около 10 микрон. В одном варианте осуществления размер указанного отверстия составляет около 0,25 мм (250 микрон), а размер частиц - от около 2 микрон до около 5 микрон.

Рядовым специалистам в данной области техники будут понятно, что популяция

частиц соответствует принципам распределения частиц по размерам. Широко используемые, признанные 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 широко используется для представления среднего диаметра в диапазоне размеров частиц данного образца.

Частицы фармацевтического состава из частиц имеют средний диаметр, составляющий от около 2 микрон до около 150 микрон, например, диаметр меньше чем 150 микрон, диаметр меньше чем 100 микрон, диаметр меньше чем 50 микрон, диаметр меньше чем 30 микрон, диаметр меньше чем 10 микрон, диаметр меньше чем 5 микрон и диаметр около 2 микрон. Предпочтительно частицы имеют диаметр от около 2 микрон до около 50 микрон.

Частицы фармацевтического состава из частиц, содержащего выделенный полипептид - аналог глюкагона, имеют средний диаметр, составляющий от около 0,3 микрон до около 150 микрон. Частицы фармацевтического состава из частиц, содержащего выделенный полипептид - аналог глюкагона, имеют средний диаметр, составляющий от около 2 микрон до около 150 микрон, например, средний диаметр меньше чем 150 микрон, средний диаметр меньше чем 100 микрон, средний диаметр меньше чем 50 микрон, средний диаметр меньше чем 30 микрон, средний диаметр меньше чем 10 микрон, средний диаметр меньше чем 5 микрон и средний диаметр около 2 микрон. В некоторых вариантах осуществления частицы имеют средний диаметр, составляющий от около 0,3 микрон до 50 микрон, например, от около 2 микрон до около 50 микрон. В некоторых вариантах осуществления указанные частицы имеют средний диаметр, составляющий от 0,3 микрон до 50 микрон, например, от около 2 микрон до около 50 микрон, при этом каждая частица имеет диаметр, составляющий меньше чем около 50 микрон.

Как правило, частицы фармацевтических составов из частиц, введенные в несущую среду для суспензии, не оседают в течение меньше чем около 3 месяцев, предпочтительно - не оседают в течение меньше чем около 6 месяцев, более предпочтительно - не оседают в течение меньше чем около 12 месяцев, более предпочтительно - не оседают в течение меньше чем около 24 месяцев при температуре доставки, и наиболее предпочтительно - не оседает в течение меньше чем около 36 месяцев при температуре доставки. Несущие среды для суспензий, как правило, имеют вязкость, составляющую от около 5000 до около 30000 пуаз, предпочтительно - от около 8000 до около 25000 пуаз, более предпочтительно - от около 10000 до около 20000 пуаз. В одном варианте осуществления несущая среда для суспензии имеет вязкость, составляющую около 15000 пуаз, плюс или минус около 3000 пуаз. Говоря в общем, более мелкие частицы, как правило, имеют более низкий уровень оседания в вязких несущих средах для суспензий, чем более крупные частицы. Соответственно, как правило желательными являются частицы с размерами от микронных до нанометровых. В вязком составе-носителе для суспензии частицы размером от около 2 микрон до около 7 микрон согласно данному изобретению не будут оседать в течение по

меньшей мере 20 лет при комнатной температуре на основании исследований посредством имитационного моделирования. В одном варианте осуществления фармацевтический состав из частиц согласно данному изобретению для использования в имплантируемом устройстве осмотической доставки содержит частицы размером меньше около 50 микрон, более предпочтительно - меньше чем около 10 микрон, более предпочтительно - в диапазоне от около 2 микрон до около 7 микрон.

Подводя итог, представленные в данном документе полипептиды или их фармацевтически приемлемые соли составляют в качестве высушенных порошков в виде частиц в твердом состоянии, которые сохраняют максимальную химическую и биологическую стабильность лекарственного препарата. Частицы обеспечивают долговременную стабильность при хранении при высокой температуре, и, следовательно, позволяют доставлять субъекту стабильный и биологически эффективный лекарственный препарат на протяжении длительных периодов времени. Частицы суспендируют в несущих средах для суспензий для введения пациентам.

Суспензии частиц в несущих средах

В одном аспекте несущая среда для суспензии обеспечивает устойчивую среду, в которой диспергирован фармацевтический состав из частиц лекарственного препарата. Фармацевтические составы из частиц лекарственного препарата являются химически и физически стабильными (как описано выше) в несущей среде для суспензии. Несущая среда для суспензии, как правило, содержит один или большее число полимеров и один или большее число растворителей, которые образуют раствор с вязкостью, достаточной чтобы равномерно суспендировать частицы, содержащие лекарственный препарат. Указанная несущая среда для суспензии может содержать дополнительные компоненты, включительно со следующими, но не ограничиваясь ими: поверхностно-активные вещества, антиоксиданты и/или другие соединения, растворимые в указанной несущей среде.

Вязкость несущей среды для суспензии, как правило, достаточна для предотвращения осаждения фармацевтического состава из частиц лекарственного препарата во время хранения и применения в способе доставки, например, в имплантируемом устройстве осмотической доставки. Несущая среда для суспензии является биоразлагаемой, поскольку указанная несущая среда для суспензии распадается или разрушается в течение периода времени в ответ на биологическую среду, в то время как частицы лекарственного препарата растворяются в указанной биологической среде и активный фармацевтический ингредиент (т. е. лекарственный препарат) в указанной частице абсорбируется.

В вариантах осуществления несущая среда для суспензии является «однофазной» несущей средой для суспензии и представляет собой твердую, полутвердую или жидкую гомогенную систему, которая физически и химически равномерна по всему объему.

Растворитель, в котором растворен полимер, может повлиять на характеристики фармацевтического состава в виде суспензии, такие как поведение фармацевтического

состава из частиц лекарственного препарата во время хранения. Растворитель может быть выбран в комбинации с полимером, так что получаемая в результате несущая среда для суспензии покажет разделение фаз при контакте с водной средой. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный растворитель может быть выбран в комбинации с полимером, так что получаемая в результате несущая среда для суспензии покажет разделение фаз при контакте с водной средой, имеющей меньше чем около 10% воды.

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

Примеры полимеров для изготовления несущих сред для суспензии согласно данному 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 1000000), сложный эфир или простой эфир ненасыщенного спирта (например, винилацетат), блок-сополимер полиоксиэтилена и полиоксипропилена, или их смеси. Поливинилпирролидон можно охарактеризовать по его К-значению (например, К-17), которое является индексом вязкости. В одном варианте осуществления указанный полимер представляет собой поливинилпирролидон, имеющий молекулярную массу от 2000 до 1000000. В предпочтительном варианте осуществления указанный полимер представляет собой поливинилпирролидон К-17 (как правило, имеющий приблизительный диапазон средней молекулярной массы 7900-10800). Полимер, используемый в несущей среде для суспензии, может включать в себя один или большее число различных полимеров, или может включать в себя различные типы одного полимера. Полимер, используемый в несущей среде для суспензии, также может быть сухим или иметь низкое содержание влаги.

Говоря в целом, несущая среда для суспензии для применения в данном изобретении может отличаться по составу на основании желаемых рабочих характеристик. В одном варианте осуществления несущая среда для суспензии может содержать от около 40% масс. до около 80% масс. полимера (-ов) и от около 20% масс. до

около 60% масс. растворителя (-ей). Предпочтительные варианты осуществления несущих сред для суспензии включают в себя несущие среды, выполненные из комбинации полимера (-ов) и растворителя (-ей) в 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 несущая среда для суспензии может содержать выбранные компоненты, а в других вариантах осуществления - состоять по существу из выбранных компонентов.

Несущая среда для суспензии может демонстрировать природу ньютоновской жидкости. Несущую среду для суспензии, как правило, составляют с возможностью обеспечения вязкости, которая поддерживает однородную дисперсию частиц фармацевтического состава в течение предварительно определенного периода времени. Это помогает облегчить изготовление фармацевтического состава в виде суспензии с возможностью обеспечения контролируемой доставки лекарственного препарата, содержащегося в фармацевтическом составе из частиц лекарственного препарата. Вязкость несущей среды для суспензии может варьироваться в зависимости от желаемого применения, размера и типа частиц фармацевтического состава, и нагрузки указанного фармацевтического состава из частиц в указанной несущей среде для суспензии. Вязкость несущей среды для суспензии можно изменять путем изменения типа или относительного количества используемых растворителя или полимера.

Несущая среда для суспензии может иметь вязкость в диапазоне от около 100 пуаз до около 1000000 пуаз, предпочтительно - от около 1000 пуаз до около 100000 пуаз. В предпочтительных вариантах осуществления несущие среды для суспензий, как правило, имеют вязкость, которая при температуре 33°C равна от около 5000 до около 30000 пуаз, предпочтительно - от около 8000 до около 25000 пуаз, более предпочтительно - от около 10000 до около 20000 пуаз. В одном варианте осуществления несущая среда для суспензии имеет вязкость около 15000 пуаз, плюс или минус около 3000 пуаз, при температуре 33°C. Вязкость можно измерять при температуре 33°C, при скорости сдвига 10-4/с, с использованием реометра с плоскопараллельным зазором.

Несущая среда для суспензии может демонстрировать разделение фаз при контакте с водной средой; однако, как правило, несущая среда для суспензии не демонстрирует по существу никакого разделения фаз в зависимости от температуры. 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, несущая среда для суспензии, как правило, не демонстрирует разделение фаз.

Несущую среду для суспензии можно получать путем объединения полимера и растворителя в сухих условиях, например, в сухом боксе. Полимер и растворитель можно объединять при повышенной температуре, например, от около 40°C до около 70°C, и оставлять для сжижения и образования единой фазы. Указанные ингредиенты можно смешивать в вакууме для удаления пузырьков воздуха, выделившихся из сухих

ингредиентов. Указанные ингредиенты можно объединять с помощью обычного миксера, такого как лопастной миксер с двойной спиралью или аналогичный миксер, установленный на скорость, составляющую около 40 об./мин. Однако для смешивания ингредиентов можно также применять более высокие скорости. После получения жидкого раствора из ингредиентов несущую среду для суспензии можно охлаждать до комнатной температуры. Для подтверждения того, что несущая среда для суспензии представляет собой одну фазу, можно использовать данные дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК). Кроме того, компоненты несущей среды (например, растворитель и/или полимер) могут быть обработаны для существенного снижения количества или по существу удаления пероксидов (например, путем обработки метионином; см., например, публикацию заявки на патент США № 2007-0027105).

Фармацевтический состав из частиц лекарственного препарата добавляют в несущую среду для суспензии для образования фармацевтического состава в виде суспензии. В некоторых вариантах осуществления указанный фармацевтический состав в виде суспензии может содержать фармацевтический состав из частиц лекарственного препарата и несущую среду для суспензии, а в других вариантах осуществления он по существу состоит из фармацевтического состава из частиц лекарственного препарата и несущей среды для суспензии.

Указанный фармацевтический состав в виде суспензии можно получать путем диспергирования фармацевтического состава из частиц в несущей среде для суспензии. Несущую среду для суспензии можно нагревать и фармацевтический состав из частиц добавлять в указанную несущую среду для суспензии в сухих условиях. Указанные ингредиенты можно смешивать в вакууме при повышенной температуре, например, от около 40°C до около 70°C. Указанные ингредиенты можно смешивать 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 фармацевтического состава из частиц в несущей среде для суспензии. Указанный смеситель может представлять собой смеситель с двойной спиральной лопаткой или другой подходящий смеситель. Полученную смесь можно удалять из указанного смесителя, запечатывать в сухом контейнере, чтобы вода не загрязняла фармацевтический состав в виде суспензии, и оставлять для охлаждения до комнатной температуры до дальнейшего использования, например, введения в имплантируемое устройство доставки лекарственного препарата, контейнер с одной дозой или контейнер с множественными дозами.

Фармацевтический состав в виде суспензии, как правило, имеет общее содержание влаги, составляющее меньше чем около 10% масс., предпочтительно - меньше чем около 5% масс и более предпочтительно - меньше чем около 4% масс.

В предпочтительных вариантах осуществления фармацевтические составы в виде суспензии согласно данному изобретению являются по существу однородным и текучим, чтобы обеспечить доставку указанному субъекту указанного фармацевтического состава

из частиц лекарственного препарата из указанного устройства осмотического доставки.

Подводя итог, компоненты указанной несущей среды для суспензии обеспечивают биосовместимость. Компоненты указанной несущей среды для суспензии предлагают соответствующие физико-химические свойства для образования стабильных суспензий фармацевтических составов из частиц лекарственных препаратов. Указанные свойства включают в себя следующие, но не ограничиваются ими: вязкость суспензии; чистоту несущей среды; остаточную влажность несущей среды; плотность несущей среды; совместимость с сухими порошками; совместимость с имплантируемыми устройствами; молекулярную массу полимера; стабильность несущей среды; а также гидрофобность и гидрофильность несущей среды. Указанными свойствами можно манипулировать и контролировать их, например, путем изменения состава несущей среды и манипуляции с соотношением компонентов, используемых в указанной несущей среде для суспензии.

Фармацевтические составы в виде суспензии, описанные в данном документе, можно использовать в имплантируемом устройстве осмотической доставки для обеспечения непрерывной, контролируемой и устойчивой доставки нулевого порядка соединения на протяжении длительного периода времени, например, на протяжении недель, месяцев, или до около одного года или дольше. Такое имплантируемое устройство осмотической доставки, как правило, способно доставлять указанный фармацевтический состав в виде суспензии, содержащий лекарственный препарат, с желательной скоростью потока на протяжении желательного периода времени. Указанный фармацевтический состав в виде суспензии можно помещать в указанное имплантируемое устройство осмотической доставки с помощью обычных методик.

Примеры

Следующие ниже примеры представлены для того, чтобы предоставить рядовым специалистам в данной области техники полное раскрытие и описание того, как применять на практике данное изобретение, и они не предназначены для ограничения объема того, что авторы данного изобретения рассматривают как свое изобретение. Были приняты меры для того, чтобы сохранить точность по отношению к использованным цифрам (например, количествам, концентрациям и процентным изменениям), 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: получение полипептидов - аналогов глюкагона, обладающих длительным действием

Полипептиды - аналоги глюкагона, обладающие длительным действием, представленные в таблице 3, синтезировали на пептидном синтезаторе Prelude (Protein Technologies Inc., г. Тусон, штат Аризона, США)) твердофазными способами с использованием стратегии Fmoc с активацией N-[(диметиламино)-1H-1,2,3-триазоло-[4,5-b]пиридин-1-илметил]-N-метилметанаминий-гексафторфосфат-N-оксидом (HATU) или 2-(6-хлор-1H-бензотриазол-1-ил)-1,1,3,3-тетраметиламиний-гексафторфосфатом (HCTU)

(5-кратный молярный избыток по отношению к аминокислоте) в N,N-диметилформамиде (DMF), а N,N-диизопропилэтиламин (DIEA) использовали в качестве основания. Для снятия защиты Fmoc использовали 20% раствор пиперидина/DMF. Использовали смолу Rink Amide MBHA LL (Novabiochem) с нагрузкой (0,30-0,40) ммоль/г по шкале (20-400) мкмоль.

После завершения твердофазного синтеза линейного полипептида смолу промывали дихлорметаном (DCM) и сушили под вакуумом в течение 30 минут. Для аналогов, содержащих аллилоксикарбонильную (Alloc) защитную группу, удаление осуществляли с помощью раствора Pd (PPh₃)₃ в смеси (хлороформ/уксусная кислота/n-метил-морфолин, 37:2:1). Для аналогов, содержащих *трет*-бутилоксикарбонил (BOC)-Lys--фторенилметилоксикарбонил (Fmoc)-ОН, защитную группу Fmoc удаляли с использованием 20% пиперидина/DMF. Полученную в результате смолу, не защищенную Fmoc, промывали в DMF (6 x 30 секунд). Затем поэтапно осуществляли удлинение спейсерной области с добавлением каждого строительного блока вручную в условиях предварительной активации. Добавление липофильного заместителя (также называемого «ацильной цепью») осуществляли в условиях твердофазного пептидного синтеза (ТФПС, англ. «SPPS») без стадии предварительной активации. Окончательное снятие защиты и отщепление пептида от твердой подложки осуществляли путем обработки смолы смесью (95% TFA, 2% воды, 2% тиаоанизола и 1% триизопропилсилана) в течение 2-3 часов. Отщепленный пептид осаждали с помощью холодного диэтилового эфира. Слой диэтилового эфира декантировали и твердое вещество снова растирали с холодным диэтиловым эфиром и осаждали центрифугированием.

Для аналогов, содержащих лактамный мостик, соответствующие аминокислотные строительные блоки, защищенные аллилом, встраивали в нормальных условиях твердофазного синтеза, как описано выше. Кроме того, встраивали Fmoc-Lys-ε-1-(4,4-диметил-2,6-диоксоциклогекс-1-илиден)-3-метилбутил(ivDde)-ОН в качестве фрагмента, способствующего последующему включению ацильного спейсера и боковой цепи. По завершении получения линейного пептида аллил-защитные группы удаляли, как описано выше. Образование лактамных мостиков обеспечивали с помощью твердофазного протокола с использованием активации бензотриазол-1-ил-окситрипирролидинофосфоний гексафторфосфатом (PyBOP, 0,5 M) и DIEA в качестве основания. Удаление защитных групп Fmoc и ivDde обеспечивали с помощью 4% раствора гидразина в DMF. Полученную в результате смолу без указанных защитных групп промывали в DMF (6 x 30 секунд). Удлинение спейсерной области и добавление липофильного заместителя осуществляли, как описано в предшествующих параграфах. Окончательное снятие защиты и отщепление пептида от твердой подложки осуществляли путем обработки смолы смесью (95% TFA, 2% воды, 2% тиаоанизола и 1% триизопропилсилана) в течение 2-3 часов. Отщепленный пептид осаждали с помощью холодного диэтилового эфира. Диэтиловый эфир декантировали и твердое вещество снова растирали с холодным диэтиловым эфиром и осаждали центрифугированием.

Затем неочищенный продукт растворяли в растворе ацетонитрила (ACN)/H₂O, 0,1% TFA. К каждому раствору неочищенного пептидного продукта добавляли 10%-й раствор уксусной кислоты и перемешивали до тех пор, пока анализ с помощью жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией (ЖХ/МС, англ. «LC/MS») показал удаление любых аддуктов CO₂. Полученный раствор замораживали и лиофилизировали. Очистку осуществляли способами, описанными в примере 2.

Пример 2: очистка и характеристика обладающих длительным действием полипептидов - агонистов рецептора глюкагона, т. е. линейного полипептида, без какого-либо липофильного заместителя и необязательного спейсера

Продукт из примера 1 лиофилизировали и анализировали с помощью комбинации жидкостной хроматографии и масс-спектрометрии с ионизацией электрораспылением (ЖХ/МС-ИЭР, англ. «ESI-LC/MS») и аналитической высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ, англ. «HPLC»), и получили показатель высокой чистоты указанного продукта (>98%). Результаты масс-спектрометрии соответствовали расчетным значениям.

Характеризацию пептидных аналогов осуществляли посредством C18 ВЭЖХ, анализа ЖХ/МС (Acquity SQD Waters Corp, г. Милфорд, штат Массачусетс, США) и УФ-детектирования, выполненного на основании двойных сигналов абсорбции при 215 нм и 280 нм с использованием одного из трех способов: способа А, способа В, способа С или способа D.

Способ А, условия ЖХ/МС: выполняли с использованием анализатора Phenomenex HPLC Aeris™ Peptide XB, колонка C18 35, 1,7 мкм, 2,1 X 100 мм или колонка Acquity VEN300, или VEN130 CT8, 1,77 мкм, 2,1 X 100 мм с использованием 5-65% ацетонитрила/воды с 0,05% TFA в течение 30 минут, со скоростью потока, составляющей 0,5 мл/мин, λ составляла 215 нм, 280 нм.

Способ В, условия C18 ВЭЖХ: анализ ВЭЖХ выполняли на колонке Acquity VEN130, C18, 1,7 мкм, 100 X 2,10 мм при температуре 25°C, 5-65% ацетонитрила/воды с 0,05% TFA в течение 30 минут, скорость потока составляла 0,5 мл/мин, λ составляла 215 нм, 280 нм.

Способ С, условия ВЭЖХ: анализ ВЭЖХ выполняли на колонке Acquity VEN130, C18, 1,7 мкм, 100 X 2,10 мм при температуре 25°C, 5-65% ацетонитрила/воды с 0,05% TFA в течение 20 минут, скорость потока составляла 0,5 мл/мин, λ составляла 215 нм, 280 нм.

Способ D, условия ВЭЖХ: анализ ВЭЖХ выполняли на колонке Acquity VEN130, C18, 1,7 мкм, 100 X 2,10 мм при температуре 25°C, 5-65% ацетонитрила/воды с 0,05% TFA в течение 10 минут, скорость потока составляла 0,5 мл/мин, λ составляла 215 нм, 280 нм. 5,0 мкл образца вводили в инъекционном режиме PLNO («частичная петля с переполнением иглы»).

В таблице 9 представлены иллюстративные полипептиды - агонисты рецептора глюкагона, обладающие длительным действием, согласно данному изобретению.

Полипептиды-аналоги без липофильного заместителя и необязательного спейсера

иногда указаны в данном документе как «линейные полипептиды». Полипептиды-аналоги, имеющие по меньшей мере один ковалентно связанный липофильный заместитель и необязательный спейсер, иногда указаны в данном документе как «конъюгированные полипептиды».

Таблица 9: иллюстративные соединения: полипептиды - аналоги глюкагона, обладающие длительным действием

Соединение №	SEQ ID NO:	Родительское соединение Молекулярная масса	Рассчитанная масса (M+3)	Наблюдаемая масса (M+3)
A1	SEQ ID NO: 1	5011,57	1671,52	1673
A2	SEQ ID NO: 2	5041,55	1681,52	1682,9
A3	SEQ ID NO: 3	4998,49	1667,16	1668,5
A4	SEQ ID NO: 4	4963,48	1655,49	1656,8
A5	SEQ ID NO: 5	4998,53	1667,18	Будет определено
A6	SEQ ID NO: 6	4997,55	1666,85	1668
A7	SEQ ID NO: 7	5070,55	1692	1692
A8	SEQ ID NO: 8	5071,54	1691,9	1691,9
A9	SEQ ID NO: 9	5070,6	1692	1692
A10	SEQ ID NO: 10	5029,5	1678,6	1678,6
A11	SEQ ID NO: 11	5067,59	1691,3	1691,3
A12	SEQ ID NO: 12	5067,59	1691,2	1691,2
A13	SEQ ID NO: 13	4896,4	1633,13	1633,9
A14	SEQ ID NO: 14	4852,39	1618,46	1619,6
A15	SEQ ID NO: 15	5055,58	1687,6	1687,6
A16	SEQ ID NO: 16	5040,57	1682,4	1682,4
A17	SEQ ID NO: 17	5054,6	1687,2	1687,2
A18	SEQ ID NO: 18	5069,61	1692	1692
A19	SEQ ID NO: 19	5013,54	1673,5	1673,5
A20	SEQ ID NO: 20	5054,64	1687,1	1687,1
A21	SEQ ID NO: 21	5066,65	1689,88	1691,3
A22	SEQ ID NO: 22	5013,59	1672,2	1673,9
A23	SEQ ID NO: 23	5014,53	1672,51	1673,6
A24	SEQ ID NO: 24	4972,49	1658,5	1659,8

A25	SEQ ID NO: 25	5080,68	1695,4	1695,4
A26	SEQ ID NO: 26	5079,74	1695,2	1695,2
A27	SEQ ID NO: 27	5065,67	1691,1	1691,1
A28	SEQ ID NO: 28	5038,64	1681,7	1681,7
A29	SEQ ID NO: 29	5036,63	1681	1681
A30	SEQ ID NO: 30	5022,6	1680,9	1680,9
A31	SEQ ID NO: 31	5124,69	1709,23	1710
A32	SEQ ID NO: 32	5123,75	1708,92	1710
A33	SEQ ID NO: 33	5082,65	1695,22	1696,1
A34	SEQ ID NO: 34	5065,67	1689,56	1691
A35	SEQ ID NO: 35	4287,84	1430,28	1431,3
A36	SEQ ID NO: 36	5108,69	1705,9	1705,9
A37	SEQ ID NO: 37	5037,61	1680,8	1680,8
A38	SEQ ID NO: 38	5036,67	1680,8	1680,8
A39	SEQ ID NO: 39	4995,57	1667,6	1667,6

Пример 3: функциональные анализы полипептидов - агонистов рецептора глюкагона, обладающих длительным действием: рецепторы человека и крысы

Активация рецепторов глюкагона (РГ, англ. «GCGR») человека, яванской макаки и крысы, и рецепторов ГПП-1 (ГПП-1Р, англ. «GLP-1R») человека, яванской макаки и крысы приводит к повышению клеточного уровня циклического аденозинмонофосфата (цАМФ, англ. «сAMP»). В присутствии неспецифического ингибитора фосфодиэстеразы цАМФ/цГМФ - 3-изобутил-1-метилксантина (IBMX) - накопление цАМФ можно измерять *in vitro* с использованием обычных способов детекции. Следовательно, можно оценить *in vitro*-активность (pEC50) пептидов, активирующих каждый из указанных рецепторов, используя встроенные в модель кривые доза - реакция для накопления цАМФ.

Обработка клеток и анализы накопления цАМФ

Клетки CHO-K1, стабильно экспрессирующие ГПП-1Р человека (регистрационный номер в Genebank: NM_002062), выращивали в 90%-ной среде F12-K с добавлением 10% эмбриональной телячьей сыворотки (ЭТС, англ. «FBS») и 250 мкг/мл G418. Для экспрессии ГПП-1Р крысы фрагмент кДНК, кодирующий полноразмерную открытую рамку считывания ГПП-1Р крысы (регистрационный номер в Genebank: NM_012728), включали в вектор экспрессии pcDNA3.1+, чтобы обеспечить кратковременную экспрессию указанного рецептора в клетках CHO-K1.

Фрагмент кДНК, кодирующий полноразмерную открытую рамку считывания ГПП-1Р яванской макаки (регистрационный номер в Genebank: XM_028847603), клонировали в pcDNA3.1+ для экспрессии в клетках CHO-K1. Фрагмент кДНК, кодирующий полноразмерную открытую рамку считывания рецептора глюкагона человека (чРГ, англ.

«hGCGR»; регистрационный номер в Genebank: NM_000160), клонировали в pcDNA3.1+ для экспрессии в клетках CHO-K1. Фрагмент кДНК, кодирующий полноразмерную открытую рамку считывания рецептора глюкагона крысы (кРГ, англ. «rGCGR»; регистрационный номер в Genebank: NM_172091), клонировали в pcDNA3.1+ для экспрессии в клетках CHO-K1. Фрагмент кДНК, кодирующий полноразмерную открытую рамку считывания рецептора глюкагона яванской макаки (ямРГ, англ. «cGCGR»; регистрационный номер в Genebank: XM_005585255), клонировали в pcDNA3.1+ для экспрессии в клетках CHO-K1.

В 1-е сутки клетки CHO-K1 высевали в количестве по 1,5 млн клеток на флакон T75 в 90% среде F12-K с добавлением 10% ЭТС. В 3-е сутки клетки трансфицировали 40 мкг каждой экспрессирующей плазмиды с использованием реагента для трансфекции - липофектамина 2000. В 5-е сутки клетки высевали по 1000 клеток на лунку в белые 384-луночные планшеты OptiPlates в 5 мкл буфера для анализа, состоящего из 1X HBSS, 5 mM HEPES, 0,5 mM IBMX и 0,1% казеина.

Пептиды последовательно разводили в 4 раза в буфере для анализа до конечных концентраций в диапазоне от 1×10^{-9} М до $9,5 \times 10^{-16}$ М. Также готовили два контрольных образца, состоящих из 50 мкМ форсколина (максимум системы цАМФ) или только буфера для анализа (минимум системы цАМФ). По пять микролитров каждой концентрации пептида или контрольного образца добавляли в лунки в трех повторностях и инкубировали в течение тридцати минут при комнатной температуре. На этой стадии инкубации готовили 4-кратный меченный европием раствор индикатора цАМФ и 4-кратный раствор Ulight®-анти-цАМФ (состоящий из моноклонального антитела против цАМФ, меченного красителем Ulight™) в соответствии с протоколом производителя (PerkinElmer, набор реактивов LANCE Ultra cAMP kit). После указанной инкубации в каждую лунку добавляли по 5 мкл меченного европием цАМФ и по 5 мкл Ulight-анти-цАМФ. Планшет запечатывали для предотвращения испарения и инкубировали в течение 60 минут при комнатной температуре в темноте. Планшеты считывали с помощью анализатора флуоресценции планшетов Envision (PerkinElmer).

Анализ данных

Значения показателей сначала нормализовали относительно усредненных максимальных и минимальных значений в системе в Excel по формуле: (значение показателя - среднее минимальное значение в системе) / (среднее максимальное значение в системе - среднее минимальное значение в системе) * 100. Нормализованные значения показателей отображают скорректированный относительно базового уровня процент от максимального, т. е. индуцированного форсколином, ответа цАМФ в системе. Для каждого пептида анализировали данные, полученные от вплоть 3 повторностей. Значения активности оценивали с использованием программного обеспечения GraphPad Prism (версия 7.04) путем встраивания данных в 4-параметрическую модель логистической кривой: $Y = \text{низ кривой} + (\text{верх кривой} - \text{низ кривой}) / (1 + 10^{-(\text{LogEC50} - X)})$. Коэффициент Хилла ограничивали равным 1,0. Значения EC50 преобразовывали в значения pEC50 по

формуле: $pEC50 = -\log(EC50)$. Средние значения $pEC50$ для аналогов глюкагона согласно данному изобретению приведены в таблице 10. Сравнительные данные по активности глюкагона, эксенатида и соединения А6 (SEQ ID NO: 6) в отношении рецепторов глюкагона человека («чРГ»), яванской макаки («ямРГ») и крысы («кРГ»), и в отношении рецепторов ГПП-1 человека («чГПП-1Р»), яванской макаки («ямГПП-1Р») и крысы («кГПП-1Р») представлены в таблице 11 и на фиг. 2.

Таблица 10: активность полипептидов - аналогов глюкагона в отношении рецептора глюкагона и рецептора ГПП-1

Соединение №	Рецептор глюкагона $pEC50$	Рецептор ГПП-1 $pEC50$
A1	11,5	N/O
A2	12,5	N/O
A3	12,5	N/O
A4	11,7	N/O
A5	11,6	N/O
A6	12,2	<7
A7	10,7	<9
A8	9,9	<9
A9	10,6	<9
A10	10,4	<9
A11	11,7	<9
A12	11,8	<9
A13	12	<9
A14	11,2	<9
A15	12,1	<9
A16	12,2	<9
A17	12,1	<9
A18	10,4	<9
A19	12,1	<9
A20	12,1	<9
A21	12,1	<9
A22	11,7	<9
A23	11,5	<9
A24	12,5	<9
A25	11,9	<9

Соединение №	Рецептор глюкагона pEC50	Рецептор ГПП-1 pEC50
A26	11,1	<9
A27	12	<9
A28	11,7	<9
A29	12,4	<9
A30	12,5	<9
A31	11,9	<9
A32	11,7	<9
A33	11,9	<9
A34	11,9	<9
A35	11,9	<9
A36	10,8	<9
A37	11,5	<9
A38	11,4	<9
A39	11,7	<9

H/O=«не определено»

Таблица 11: активность (в виде значений EC₅₀) соединения A6 в отношении рецепторов глюкагона человека, яванской макаки и крысы, и в отношении рецепторов ГПП-1 человека, яванской макаки и крысы

	чРГ	ямРГ	кРГ	чГПП-1Р	ямГПП-1Р	кГПП-1Р	чГПП-Р
Глюкагон	12,1	10,3	10,2	9,24	<7	<7	<9
Эксенатид	8,61	<7	<7	12,1	11,4	11,8	<9
Соединение A6	12,2	9,77	10,3	<7	H/O	H/O	<9
чГПП	H/O	H/O	H/O	H/O	H/O	H/O	11,8

H/O=«не определено»

Пример 4: исследования метаболической стабильности аналогов глюкагона *in vitro*

Мембраны щеточной каймы почек крысы и человека (МЩКП, англ. «kBBM»)

In vitro-инкубации в гомогенатах подкожной (п/к) ткани использовали для характеристики способности пептидов противостоять предсистемной деградации протеазами и пептидазами после п/к-введения. Неклинические исследования *in vivo* показали, что активность пептидазы в п/к-пространстве может ограничивать биодоступность пептида после п/к-введения. Пептиды с высокой п/к-биодоступностью

являются стабильными в данном анализе, в то время как пептиды с низкой п/к-биодоступностью являются нестабильными в данном анализе.

Мембраны щеточной каймы из ткани почек крысы и человека получали центрифугированием и хранили при температуре -70°C . Размороженные запасы МЩКП крысы или человека разводили до соответствующей концентрации в 25 мМ буфере HEPES (pH 7,4), содержащем 1% казеина, и аликвотировали в 96-луночный планшет. Растворы МЩКП предварительно нагревали в течение 10 минут при температуре 37°C . Реакции запускали добавлением тестируемого пептида (конечная концентрация 1 мкМ), также растворенного в 25 мМ буфере HEPES (pH 7,4), содержащем 1% казеина. Конечная концентрация МЩКП в каждой инкубации составляла 50 мкг белка/мл. Реакции поддерживали при температуре 37°C в водяной бане со встряхиванием. В моменты времени 0, 0,25, 0,5, 1,0, 2,0 и 4,0 ч после запуска реакций удаляли по 30 мкл реакционной смеси и помещали в 96-луночный планшет, содержащий 120 мкл ледяного метанола, содержащего 2,5% муравьиной кислоты. После остановки реакции образцы центрифугировали при $2178 \times g$ в течение 10 мин, а затем часть надосадочной жидкости переносили в чистый 96-луночный планшет и разбавляли водой 1:1. Образцы анализировали с помощью сверхэффективной жидкостной хроматографии (СВЭЖХ, англ. «UPLC») в комбинации с МС/МС. Результаты данного анализа для соединения A6 (SEQ ID NO: 6) представлены в таблице 12.

Гомогенаты подкожной ткани человека

In vitro-инкубации в гомогенатах подкожной (п/к) ткани использовали для характеристики способности пептидов противостоять предсистемной деградации протеазами и пептидазами после п/к-введения. Неклинические исследования in vivo показали, что активность пептидазы в п/к-пространстве может ограничивать биодоступность пептида после п/к-введения. Пептиды с высокой п/к-биодоступностью являются стабильными в данном анализе, в то время как пептиды с низкой п/к-биодоступностью являются нестабильными в данном анализе.

П/к-ткань человека гомогенизировали в холодном 25 мМ буфере HEPES (pH 7,4, 10-кратный объем в пересчете на массу образца), а затем фильтровали через двойной слой марли. Фильтраты аликвотировали, мгновенно замораживали на бане с метанолом/сухим льдом и хранили при температуре -80°C . Концентрацию белка в каждой объединенной партии определяли с помощью ВСА-анализа белка. Размороженные образцы гомогенатов п/к-ткани человека разбавляли до 1,0 мг белка/мл в 25 мМ буфере HEPES (pH 7,4) и аликвотировали в 96-луночный планшет. Разведенные п/к-гомогенаты предварительно нагревали в течение 10 минут при температуре 37°C . Реакции запускали добавлением тестируемого пептида (конечная концентрация 10 мкМ), также растворенного в 25 мМ буфере HEPES (pH 7,4). Реакции поддерживали при температуре 37°C в водяной бане со встряхиванием. В моменты времени 0, 0,25, 0,5, 1,0, 2,0 и 4,0 ч после запуска реакций удаляли по 50 мкл реакционной смеси и помещали в 96-луночный планшет, содержащий 150 мкл ледяного метанола, содержащего 2,5% муравьиной кислоты. После остановки

реакции образцы центрифугировали при $2178 \times g$ в течение 10 мин, а затем часть надосадочной жидкости переносили в чистый 96-луночный планшет и разбавляли водой 1:10. Образцы анализировали с помощью СВЭЖХ-МС/МС. Результаты данного анализа для соединения А6 (SEQ ID NO: 6) представлены в таблице 12.

Доля несвязанного соединения ($f_{\text{несв.}}$) в плазме крови

Традиционные способы измерения связывания с белками плазмы крови, такие как равновесный диализ, ультрафильтрация и ультрацентрифугирование, ненадежны в отношении пептидов вследствие их склонности адсорбироваться на поверхности пластиковых трубок, диализных мембран и фильтров с отсечением по молекулярной массе. В результате степень связывания ацилированных пептидов с сывороточным альбумином оценивали с помощью поверхностного плазмонного резонанса (ППР, англ. «SPR»). Полезность данной методики для обеспечения надежной оценки доли лекарственного препарата, связанного с белками плазмы крови, была продемонстрирована в литературе. Результаты данного анализа для соединения А6 (SEQ ID NO: 6) представлены в таблице 12.

Таблица 12: фармакокинетика метаболической стабильности и доля несвязанного соединения А6 - аналога глюкагона

	МЦКП t1/2 (ч)	Стабильность в гомогенате ПКТ t1/2 (ч)	% $f_{\text{несв.}}$
Крыса	6,6	9,0	0,83%
Макака	>12	5,0	0,48%
Человек	>72	10,6	0,72%

Пример 5: фармакокинетический анализ полипептидов - аналогов глюкагона

Внутривенная инфузия полипептидов - аналогов глюкагона, обладающих длительным действием, для оценки внутривенной фармакокинетики полипептидов

Пептиды растворяли в 0,05% Твин-20 в фосфатно-солевом растворе и вводили в виде 1-часовой внутривенной инфузии не натощак крысам-самцам линии Спрег-Доули (n=3 на группу) через канюлю в бедренной вене в конечной дозе 0,033 мг/кг. Фармацевтические составы вводили со скоростью 1,67 мл/кг/ч. Образцы крови (около 250 мкл) собирали для фармакокинетического анализа через канюлю в яремной вене через 0,25, 0,5, 0,75, 1, 1,17, 1,33, 1,5, 2, 4, 8, 24, 48, 72 и 96 часов после начала инфузии в пробирки Microtainer, содержащие K_2EDTA в качестве антикоагулянта и 25 мкл смеси ингибиторов протеаз. Плазму получали центрифугированием и хранили при температуре -80°C до проведения анализа.

Подкожная болюсная инъекция полипептидов - аналогов глюкагона, обладающих длительным действием, для оценки биодоступности (F) полипептидов

Пептиды растворяли в стерильном физиологическом растворе и вводили не натощак крысам-самцам линии Спрег-Доули (n=3 на группу) в дозе 0,1 мг/кг посредством однократной болюсной инъекции в подкожное пространство в области между лопатками.

Образцы крови (около 250 мкл) собирали для фармакокинетического анализа через канюлю в яремной вене через 0,083, 0,25, 0,5, 1, 2, 4, 8, 24, 48, 72, 96 и 120 ч после введения дозы в пробирки Microtainer, содержащие K_2EDTA в качестве антикоагулянта и 25 мкл смеси ингибиторов протеаз. Плазму получали центрифугированием и хранили при температуре $-80^{\circ}C$ до проведения анализа.

Подготовка образцов плазмы крови для фармакокинетических исследований

Аликвоту каждого образца плазмы крови объемом 70 мкл помещали в 96-луночный планшет. В каждую лунку добавляли по 210 мкл 0,1% TFA в соотношении 2:1 этанол:ацетонитрил, содержащей соответствующий внутренний стандарт. Планшеты перемешивали вихревым способом в течение 10 мин при 1300 об./мин, а затем центрифугировали в течение 10 мин при 500 x g. Надосадочные жидкости (по 210 мкл) помещали в чистый 96-луночный планшет и выпаривали под струей азота при температуре $45^{\circ}C$. Оставшийся материал восстанавливали в 80 мкл 20% ацетонитрила (водн.), содержащего 0,1% муравьиной кислоты.

Количественное определение полипептидов - аналогов глюкагона в плазме крови способом ЖХ/МС

Все калибровочные стандарты готовили в контрольной плазме крови крысы, содержащей K_2EDTA и смесь ингибиторов протеаз.

Образцы и стандарты анализировали с помощью УЭЖХ-МС/МС с ионизацией электрораспылением (ИЭР) с использованием системы, состоящей из автоинжектора CTC HTS PAL (Leap, г. Каррборо, штат Северная Каролина, США), системы Agilent Infinity 1290 с колоночным термостатом (г. Пало-Альто, штат Калифорния, США), переключающего клапана Valco (г. Хьюстон, штат Техас, США), и масс-спектрометра Sciex TripleTOF® 5600 (г. Фреймингхем, штат Массачусетс, США). Образцы вводили в аналитическую обращенно-фазовую колонку C18 с размерами $2,1 \times 50$ мм, как правило - Waters CORTECS UPLC C18+, 1,6 мкм (Waters Corporation, г. Милфорд, штат Массачусетс, США) или аналогичную. Хроматографическое разделение осуществляли посредством градиентного способа с использованием воды, содержащей 0,1% муравьиной кислоты (А) и ацетонитрила, содержащего 0,1% муравьиной кислоты (В), в качестве подвижной фазы. Начальные условия состояли из 95% А и 5% В. Органический компонент повышали линейно до 95% В в течение 3-4 минут в зависимости от пептида. Типичные скорости потока составляли 550 мкл/мин. Температуру колонки поддерживали постоянной на уровне $45^{\circ}C$. Пептиды определяли количественно путем мониторинга одного или большего числа ионов продукта, полученных из многозарядного исходного иона. Результаты данного анализа для соединения А6 (SEQ ID NO: 6) представлены в таблице 13. Изменения концентрации А6 в плазме крови после болюсной инъекции и внутривенной инфузии представлены на фиг. 3.

Таблица 13: профиль фармакокинетики и профиль ADME для соединения А6

Путь	Доза (мг/кг)	Клиренс (мл/мин/кг)	$V_{равновесн}$	$T_{1/2}$ (ч)	T_{max} (ч)	C_{max} (нг/мл)	F (%)
------	-----------------	------------------------	-----------------	------------------	------------------	----------------------	----------

			(мл/кг)				
в/в- инфузия	0,033	0,0829	86,7	13,0	Н/О	Н/О	Н/О
п/к-болюс	0,11	Н/О	Н/О	15,8	8-24	462	94,9

Н/О=«не определено»

Другие варианты осуществления данного изобретения

Хотя данное изобретение было изложено в сочетании с его подробным описанием, вышеприведенное описание предназначено для иллюстрации, а не для ограничения объема данного изобретения, который определяется объемом прилагаемой формулы изобретения. Другие аспекты, преимущества и модификации находятся в рамках объема следующей формулы изобретения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Выделенный полипептид, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 80:

X_1 SHGTFTSX₉YSKYLX₁₅X₁₆X₁₇X₁₈AX₂₀X₂₁FX₂₃X₂₄WX₂₆EX₂₈E-Z-хвост-(OH/NH₂)
(SEQ ID NO: 80), или его фармацевтически приемлемая соль, где:

X₁ представляет собой Y или ацетил-Y;

X₉ представляет собой D или E;

X₁₅ представляет собой D, E или K;

X₁₆ представляет собой Aib или K;

X₁₇ представляет собой K;

X₁₈ представляет собой K, R или Y;

X₂₀ представляет собой E, K, Q или S;

X₂₁ представляет собой E или K;

X₂₃ представляет собой Aib или V;

X₂₄ представляет собой Aib, E, K, Q или S;

X₂₆ представляет собой E, L или Q;

X₂₈ представляет собой D, E, K, N, Q, S или N-метилглутамат;

Z-хвост отсутствует или выбран из группы, состоящей из PSSGAPPPS (SEQ ID NO: 90), PSSGEPSPS (SEQ ID NO: 91), PSSGKPPPS (SEQ ID NO: 92) или PSSGSPPPS (SEQ ID NO: 93);

при этом, если X₁₅, X₁₆, X₁₇, X₁₈, X₂₀ или X₂₁ представляют собой K, то остаток лизина необязательно ковалентно связан с липофильным заместителем, необязательно через спейсер,

при условии, что полипептид содержит по меньшей мере один остаток, ковалентно связанный с липофильным заместителем, необязательно через спейсер; и

при этом выделенный полипептид необязательно дополнительно содержит лактамный мостик, образованный посредством амидной связи между боковыми цепями лизина и аспарагиновой кислоты или между боковыми цепями лизина и глутаминовой кислоты, при этом остатки, образующие лактамный мостик, расположены в положениях X₂₀ и X₂₄ или в положениях X₂₄ и X₂₈.

2. Выделенный полипептид, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 81:

X_1 SHGTFTSDYSKYLX₁₅X₁₆X₁₇X₁₈AX₂₀X₂₁FX₂₃X₂₄WLEX₂₈E-Z-хвост-(OH/NH₂)
(SEQ ID NO: 81), или его фармацевтически приемлемая соль, где:

X₁ представляет собой Y или ацетил-Y;

X₁₅ представляет собой D или K;

X₁₆ представляет собой Aib или K;

X₁₇ представляет собой K;

X₁₈ представляет собой K или Y;

X₂₀ представляет собой E, K, Q или S;

X₂₁ представляет собой E или K;

X₂₃ представляет собой Aib или V;

X₂₄ представляет собой Aib, E, K, Q или S;

X₂₈ представляет собой D, E, K, N, Q, S или N-метилглутамат;

Z-хвост отсутствует или выбран из группы, состоящей из PSSGAPPPS (SEQ ID NO: 90), PSSGEPPPS (SEQ ID NO: 91), PSSGKPPPS (SEQ ID NO: 92) или PSSGSPPPS (SEQ ID NO: 93);

при этом, если X₁₅, X₁₆, X₁₇, X₁₈, X₂₀ или X₂₁ представляют собой K, то остаток лизина необязательно ковалентно связан с липофильным заместителем, необязательно через спейсер,

при условии, что полипептид содержит по меньшей мере один остаток, ковалентно связанный с липофильным заместителем, необязательно через спейсер; и

при этом выделенный полипептид необязательно дополнительно содержит лактамный мостик, образованный посредством амидной связи между боковыми цепями лизина и аспарагиновой кислоты или между боковыми цепями лизина и глутаминовой кислоты, при этом остатки, образующие лактамный мостик, расположены в положениях X₂₀ и X₂₄ или в положениях X₂₄ и X₂₈.

3. Выделенный полипептид, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 82:

X₁SHGTFTSDYSKYLDX₁₆X₁₇YAX₂₀X₂₁FX₂₃X₂₄WLEX₂₈E-Z-хвост-(OH/NH₂) (SEQ ID NO: 82), или его фармацевтически приемлемая соль, где:

X₁ представляет собой Y или ацетил-Y;

X₁₆ представляет собой Aib или K;

X₁₇ представляет собой K;

X₂₀ представляет собой E, K, Q или S;

X₂₁ представляет собой E или K;

X₂₃ представляет собой Aib или V;

X₂₄ представляет собой Aib, E, K, Q или S;

X₂₈ представляет собой D, E, K, N, Q, S или N-метилглутамат;

Z-хвост отсутствует или выбран из группы, состоящей из PSSGAPPPS (SEQ ID NO: 90), PSSGEPPPS (SEQ ID NO: 91), PSSGKPPPS (SEQ ID NO: 92) или PSSGSPPPS (SEQ ID NO: 93);

при этом, если X₁₆, X₁₇ или X₂₁ представляют собой K, то остаток лизина необязательно ковалентно связан с липофильным заместителем, необязательно через спейсер,

при условии, что полипептид содержит по меньшей мере один остаток, ковалентно связанный с липофильным заместителем, необязательно через спейсер; и

при этом выделенный полипептид необязательно дополнительно содержит лактамный мостик, образованный посредством амидной связи между боковыми цепями лизина и аспарагиновой кислоты или между боковыми цепями лизина и глутаминовой

кислоты, при этом остатки, образующие лактамный мостик, расположены в положениях X_{20} и X_{24} или в положениях X_{24} и X_{28} .

4. Выделенный полипептид по п. 1 или п. 2, где один из X_{16} , X_{17} или X_{21} представляет собой лизин, связанный с липофильным заместителем, необязательно через спейсер.

5. Выделенный полипептид по любому из пп. 1-3, причем, если X_{20} представляет собой Q,

то X_{16} представляет собой K, при этом остаток лизина в положении X_{16} необязательно ковалентно связан с липофильным заместителем, необязательно через спейсер; или

X_{21} представляет собой K, при этом остаток лизина в положении X_{21} необязательно ковалентно связан с липофильным заместителем, необязательно через спейсер.

6. Выделенный полипептид по любому из пп. 1-3, причем, если X_{20} представляет собой Q, то X_{21} представляет собой K, при этом остаток лизина в положении X_{21} необязательно ковалентно связан с липофильным заместителем, необязательно через спейсер.

7. Выделенный полипептид по любому из пп. 1-3, причем, если X_{21} представляет собой E, то X_{20} представляет собой E, K или S.

8. Выделенный полипептид по любому из пп. 1-3, где X_{16} представляет собой Aib или K, ковалентно связанный с липофильным заместителем, необязательно через спейсер.

9. Выделенный полипептид по любому из пп. 1-3, где X_{24} представляет собой Aib или K.

10. Выделенный полипептид по любому из пп. 1-3, где X_{28} представляет собой D или S.

11. Выделенный полипептид по любому из пп. 1-3, причем липофильный заместитель образует амидную связь между аминогруппой выделенного полипептида и СО-группой липофильного заместителя.

12. Выделенный полипептид по п. 11, причем липофильный заместитель имеет формулу I:



Формула I

где

Z представляет собой $-\text{CH}_3$ или $-\text{CO}_2\text{H}$; и

m равно от 4 до 24.

13. Выделенный полипептид по п. 12, где Z представляет собой $-\text{CO}_2\text{H}$.

14. Выделенный полипептид по п. 12, причем m равно от 14 до 20.

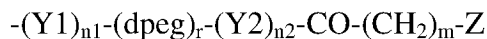
15. Выделенный полипептид по п. 12, причем m равно 16, 17 или 18.

16. Выделенный полипептид по любому из пп. 1-3, причем липофильный заместитель ковалентно связан с выделенным полипептидом через спейсер.

17. Выделенный полипептид по п. 16, причем липофильный заместитель-СО-

$(\text{CH}_2)_m\text{-Z}$ связан с аминогруппой выделенного полипептида через спейсер, при этом спейсер образует мостик между аминогруппой выделенного полипептида и группой $-\text{CO}-$ липофильного заместителя.

18. Выделенный полипептид по п. 16, причем липофильный заместитель и спейсер имеют формулу IV:



Формула IV

где

Z представляет собой $-\text{CH}_3$ или $-\text{CO}_2\text{H}$;

m равно от 4 до 24;

Y1 выбран из группы, состоящей из γGlu , Asp и Gly;

Y2 выбран из группы, состоящей из γGlu , Asp и Gly;

dpeg представляет собой $-\text{[CO(CH}_2\text{)O(CH}_2\text{)}_2\text{O(CH}_2\text{)NH]-}$;

r равно от 1 до 8;

n1 равно от 0 до 10; и

n2 равно от 0 до 10.

19. Выделенный полипептид по п. 18, где Z представляет собой $-\text{CO}_2\text{H}$.

20. Выделенный полипептид по п. 18, причем m равно от 14 до 20.

21. Выделенный полипептид по п. 18, причем m равно 16, 17 или 18.

22. Выделенный полипептид по п. 18, где Y1 представляет собой γGlu .

23. Выделенный полипептид по п. 18, причем n1 равно 2.

24. Выделенный полипептид по п. 18, причем n2 равно 0.

25. Выделенный полипептид по п. 18, причем r равно 1.

26. Выделенный полипептид, содержащий любую аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 1-60, или его фармацевтически приемлемая соль.

27. Выделенный полипептид по п. 26, содержащий любую аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 1-39, или его фармацевтически приемлемая соль.

28. Выделенный полипептид по п. 27, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3, или его фармацевтически приемлемая соль.

29. Выделенный полипептид по п. 27, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6, или его фармацевтически приемлемая соль.

30. Выделенный полипептид по п. 27, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 21, или его фармацевтически приемлемая соль.

31. Выделенный полипептид по п. 27, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 24, или его фармацевтически приемлемая соль.

32. Фармацевтическая композиция, содержащая выделенный полипептид по любому из пп. 1-3 или 26-31, или его фармацевтически приемлемую соль, и фармацевтически приемлемый адъювант, носитель или несущую среду.

33. Фармацевтическая комбинация, содержащая выделенный полипептид по любому из пп. 1-3 или 26-31, или его фармацевтически приемлемую соль и агонист

рецептора ГПП-1.

34. Устройство осмотической доставки, содержащее выделенный полипептид по любому из пп. 1-3 или 26-31.

35. Устройство осмотической доставки по п. 34, содержащее:

непроницаемый резервуар, содержащий внутреннюю и внешнюю поверхности и первый и второй открытые концы;

полупроницаемую мембрану, герметично присоединяющуюся к первому открытому концу резервуара;

осмотический двигатель внутри резервуара, примыкающий к полупроницаемой мембране;

поршень, примыкающий к осмотическому двигателю, при этом поршень образует подвижное уплотнение с внутренней поверхностью резервуара, при этом поршень разделяет резервуар на первую камеру и вторую камеру, при этом первая камера содержит осмотический двигатель;

фармацевтический состав лекарственного препарата в виде суспензии, при этом вторая камера содержит фармацевтический состав лекарственного препарата в виде суспензии, а фармацевтический состав лекарственного препарата в виде суспензии находится в жидкой форме и содержит выделенный полипептид; и

регулятор диффузии, вставленный во второй открытый конец резервуара, при этом регулятор диффузии примыкает к фармацевтическому составу лекарственного препарата в виде суспензии.

36. Способ лечения ожирения у субъекта-человека, обеспечивающий потерю веса субъектом-человеком или подавления аппетита у субъекта-человека, включающий в себя введение субъекту фармацевтической композиции, содержащей выделенный полипептид по любому из пп. 1-3 или 26-31.

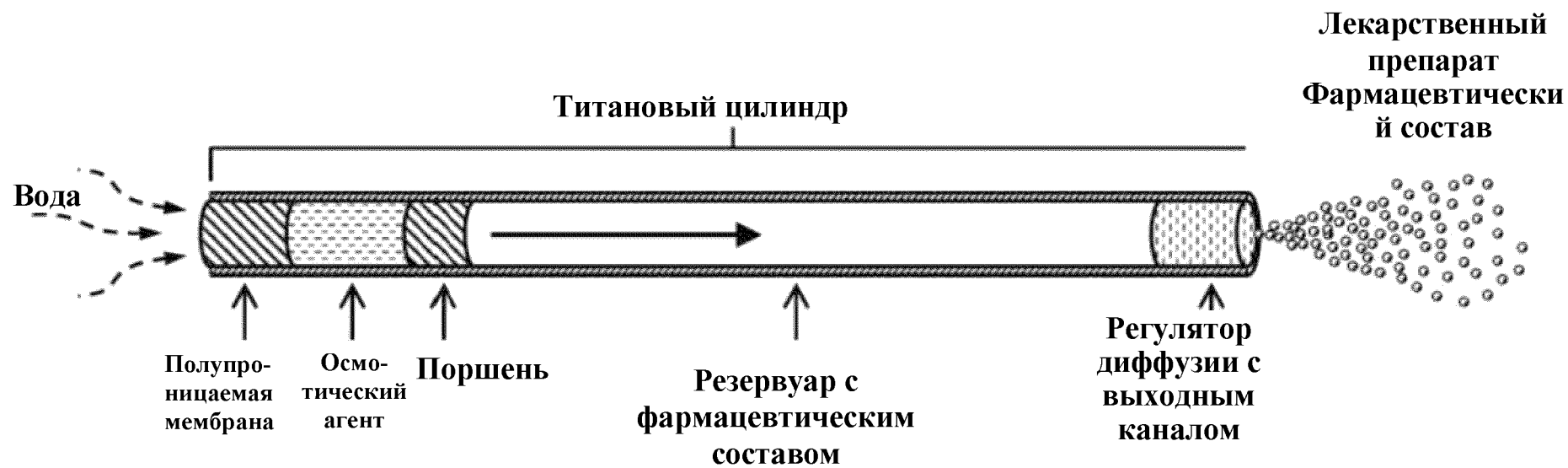
37. Способ лечения сахарного диабета у субъекта-человека, включающий в себя введение субъекту фармацевтической композиции, содержащей выделенный полипептид по любому из пп. 1-3 или 26-31.

38. Способ по п. 37, в котором сахарный диабет представляет собой сахарный диабет 1-го типа.

39. Способ по п. 37, в котором сахарный диабет представляет собой сахарный диабет 2-го типа.

40. Способ лечения неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП) и/или неалкогольного стеатогепатита (НАСГ) у субъекта-человека, включающий в себя введение субъекту фармацевтической композиции, содержащей выделенный полипептид по любому из пп. 1-3 или 26-31.

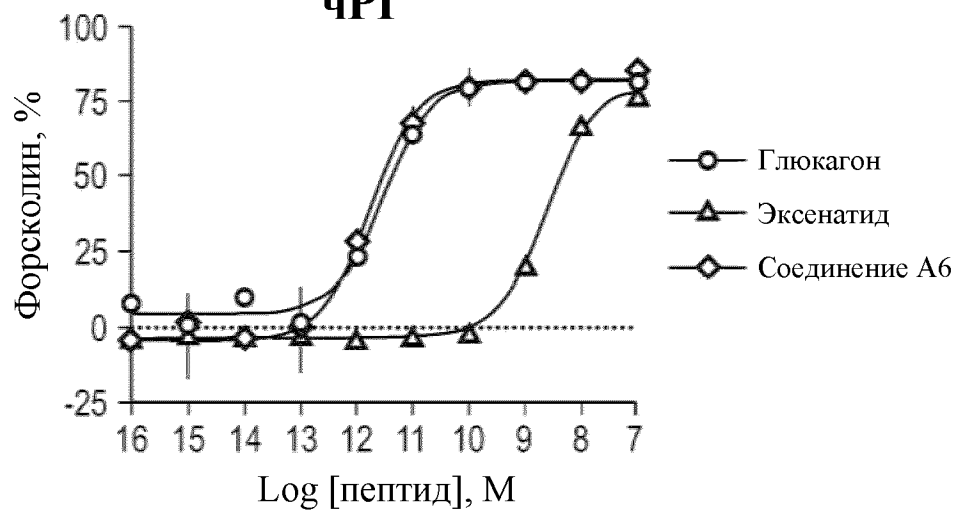
По доверенности



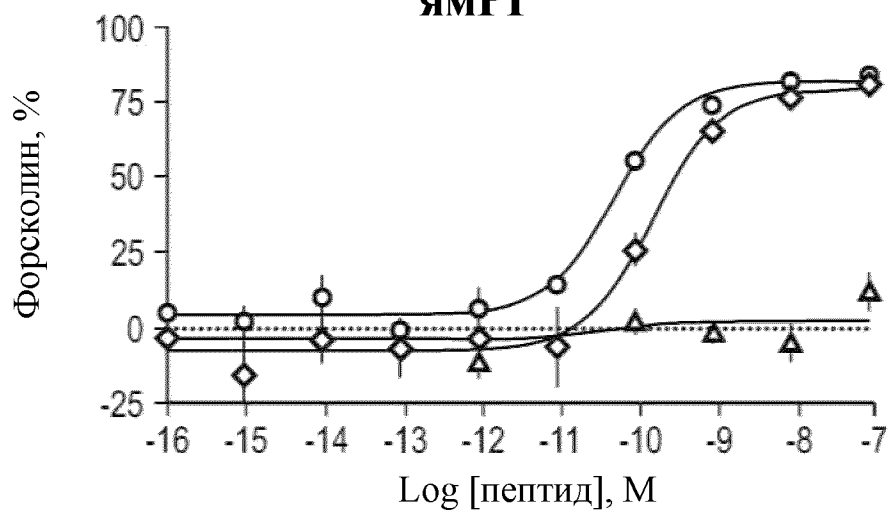
ФИГ. 1

2/3

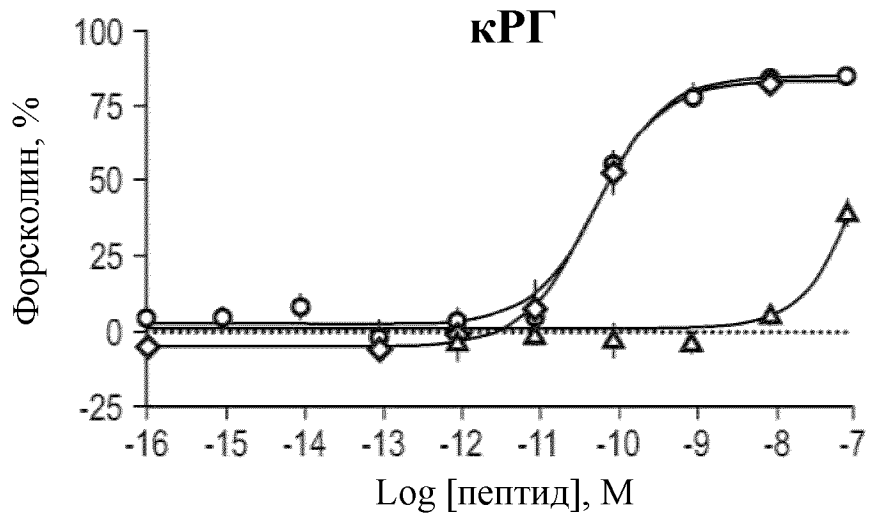
чРГ



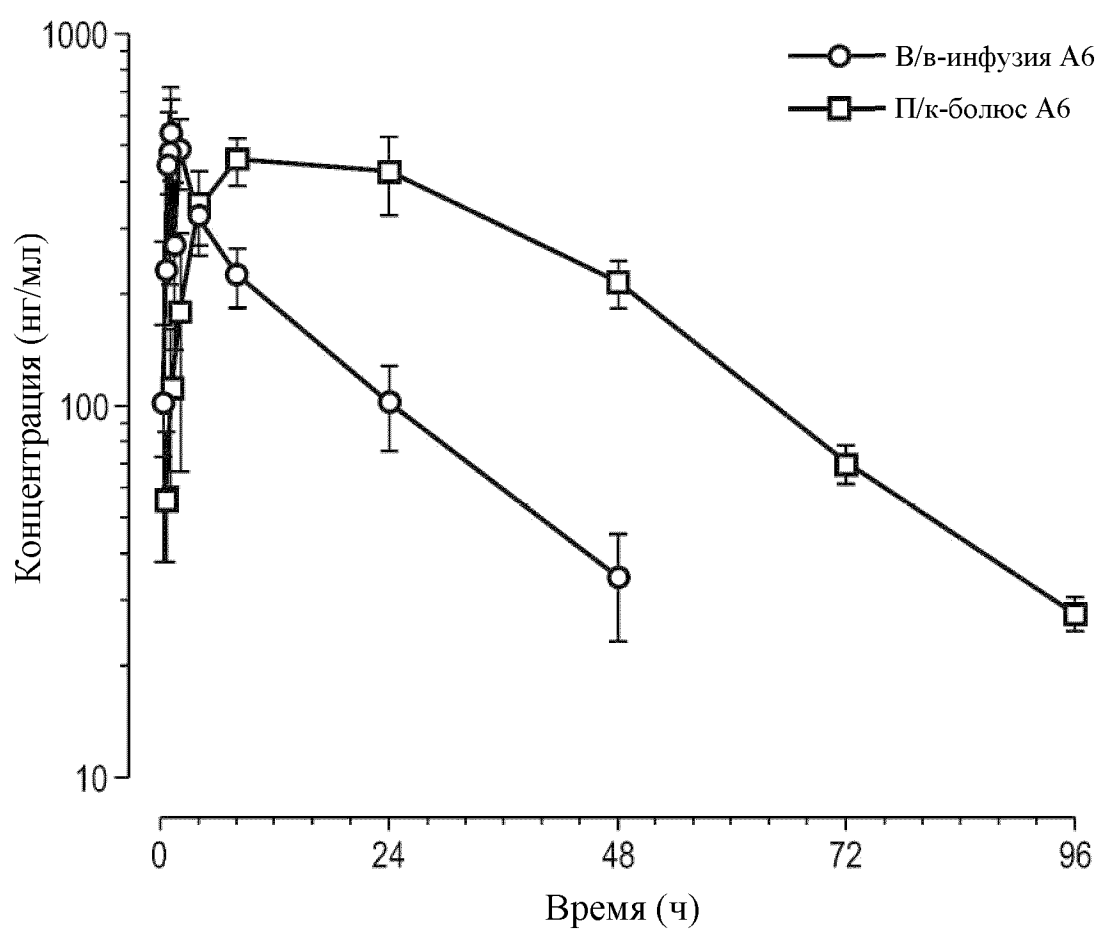
ямРГ



кРГ



ФИГ. 2



ФИГ. 3