

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202293212** (13) **A1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2023.04.12

(22) Дата подачи заявки
2021.07.15

(51) Int. Cl. *A61P 35/00* (2006.01)
C12N 15/113 (2010.01)
C12N 9/24 (2006.01)
A61K 47/54 (2017.01)
A61K 31/7125 (2006.01)
A61K 31/7088 (2006.01)
A61K 38/27 (2006.01)
A61K 38/47 (2006.01)

(54) ПОДКОЖНЫЕ КОМПОЗИЦИИ ИНГИБИТОРА ТЕЛОМЕРАЗЫ И СПОСОБЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ

(31) **63/053,455; 63/128,708**

(32) **2020.07.17; 2020.12.21**

(33) **US**

(86) **PCT/US2021/041755**

(87) **WO 2022/015935 2022.01.20**

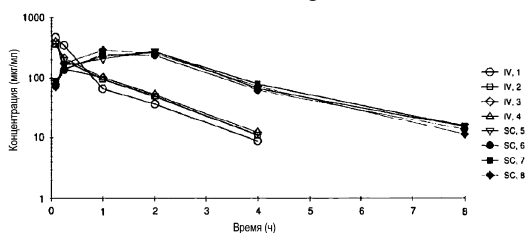
(88) **2022.03.17**

(71) Заявитель:
ДЖЕРОН КОРПОРЕЙШН (US)

(72) Изобретатель:
Капур Анил, Мерфи Патрик (US)

(74) Представитель:
**Поликарпов А.В., Соколова М.В.,
Путинцев А.И., Черкас Д.А., Игнатьев
А.В., Билык А.В., Дмитриев А.В.,
Бучака С.М., Бельтюкова М.В. (RU)**

(57) Аспекты данного изобретения включают композиции ингибитора теломеразы, составленные для подкожного введения. Композиции согласно некоторым вариантам реализации содержат фермент гиалуронидазу и ингибитор теломеразы, содержащий олигонуклеотид и липидный фрагмент, связанный с 5'- и/или 3'-концом олигонуклеотида. Также описаны способы подкожного введения композиций ингибитора теломеразы, например, для лечения неоплазм. Также предложены наборы, содержащие или не содержащие подкожный инъектор.



A1

202293212

202293212

A1

ПОДКОЖНЫЕ КОМПОЗИЦИИ ИНГИБИТОРА ТЕЛОМЕРАЗЫ И СПОСОБЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ

ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

[001] В данной заявке заявлен приоритет по предварительной заявке на патент США № 63/053455, поданной 17 июля 2020 года, и по предварительной заявке на патент США №63/128708, поданной 21 декабря 2020 года, полное содержание которых включено в данный документ посредством ссылки.

ВВЕДЕНИЕ

[002] Гематологические злокачественные заболевания представляют собой формы рака, которые начинаются в клетках кроветворной ткани, такой как костный мозг, или в клетках иммунной системы. Примерами гематологического рака являются острый и хронический лейкозы, лимфомы, множественная миелома и миелодиспластические синдромы.

[003] Миелопролиферативные неоплазмы (MPN) представляют собой группу нарушений крови, которые возникают, если организм вырабатывает слишком много белых или красных кровяных клеток, или тромбоцитов. Чрезмерная выработка кровяных клеток в костном мозге может создавать проблемы для кровотока и приводить к появлению различных симптомов. MPN могут возникать из предшественников миелоидных ростков в костном мозге. MPN характеризуются миелопролиферацией без дисплазии, гиперцеллюлярностью костного мозга и предрасположенностью к тромбозу, кровоизлиянию и фиброзу костного мозга. Существуют различные типы хронических миелопролиферативных расстройств. В спектр заболеваний MPN входят эссенциальная тромбоцитемия (ET), истинная полицитемия (PV), хронический миелогенный лейкоз (CML), миелофиброз (MF), хронический нейтрофильный лейкоз, хронический эозинофильный лейкоз и острый миелогенный лейкоз (AML). Миелодиспластический синдром (MDS) представляет собой группу симптомов, которая включает рак крови и костного мозга. Миелодиспластические синдромы (MDS) включают такие заболевания как рефрактерная анемия, рефрактерная анемия с избытком бластов, рефрактерная цитопения с мультилинейной дисплазией, рефрактерная цитопения с однолинейной дисплазией и хронический миеломоноцитарный лейкоз (CMML).

[004] Иметелстат или иметелстат натрия представляет собой ингибитор теломеразы, который связывается с высокой аффинностью с матричной областью РНК-компонента теломеразы. В исследованиях было показано, что иметелстат или иметелстат натрия ингибирует активность теломеразы и является эффективным против клеточной

пролиферации в самых разнообразных раковых клеточных линиях и опухолях человека, как описано в патенте США № 7494982. Иметелстат или иметелстат натрия применялся в клинических испытаниях пациентов с гематологическими злокачественными заболеваниями, включая миелодиспластические синдромы и миелопролиферативные неоплазмы, а также солидные опухоли. В клиническом испытании пациентов с меньшим риском миелодиспластического синдрома показано, что иметелстат или иметелстат натрия, введенный внутривенно, у некоторых пациентов может обеспечивать устойчивую независимость от переливаний. Кроме того, в клиническом испытании пациентов с миелофиброзом было показано, что иметелстат или иметелстат натрия, введенный внутривенно, может обеспечивать улучшение общей выживаемости и облегчение фиброза костного мозга, которые коррелируют со снижением мутационной нагрузки и цитогенетических аномалий злокачественных клонов.

[005] При подкожном введении для достижения эффективной дозы вводят большой объем жидкой композиции ингибитора теломеразы. Термин «подкожный» относится к гиподермальному слою кожи, такому как подкожный слой. Подкожный интерстициальный матрикс состоит из фибриллярных белков в вязкоупругих гелях из гликозаминогликанов. Гликозаминогликаны в подкожной ткани включают гликогиалуронан (НА), который является несulfатированным и состоит из повторяющихся дисахаридных звеньев. Доставка большого объема жидкости в подкожную ткань может быть ограниченной и/или болезненной. Фермент гиалуронидаза (например, растворимый гликопротеин гиалуронидазы) способствует быстрой деполимеризации гиалуронана во внеклеточном пространстве подкожной клетчатки и снижает вязкость интерстиция, увеличивая гидравлическую проводимость и обеспечивая возможность введения в подкожную ткань увеличенных объемов жидкости.

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[006] Аспекты данного изобретения включают композиции ингибитора теломеразы, составленные для подкожного введения. Композиции согласно некоторым вариантам реализации содержат фермент гиалуронидазу и ингибитор теломеразы, содержащий олигонуклеотид и липидный фрагмент, связанный с 5' и/или 3'-концом олигонуклеотида. Описаны способы подкожного введения композиции ингибитора теломеразы для лечения рака и облегчения симптомов, связанных с раком. Также описаны способы подкожного введения композиций ингибитора теломеразы для лечения гематологических злокачественных заболеваний. Также описаны способы подкожного введения композиций ингибитора теломеразы для лечения миелодиспластических синдромов (MDS), включая

такие заболевания как рефрактерная анемия, рефрактерная анемия с избытком бластов, рефрактерная цитопения с мультилинейной дисплазией, рефрактерная цитопения с однолинейной дисплазией и хронический миеломоноцитарный лейкоз (CMML). Описаны также способы подкожного введения композиций ингибитора теломеразы для лечения миелопролиферативных неоплазм, таких как эссенциальная тромбоцитемия (ЕТ), истинная полицитемия (PV), хронический миелогенный лейкоз (CML), миелофиброз (MF), хронический нейтрофильный лейкоз, хронический эозинофильный лейкоз и острый миелогенный лейкоз (AML). Также описаны способы подкожного введения композиций ингибитора теломеразы для лечения лимфоидных неоплазм. Также описаны способы подкожного введения композиций ингибитора теломеразы для лечения солидных опухолей. Описана жидкая или лиофилизированная лекарственная форма в единичной дозе, содержащая фермент гиалуронидазу и ингибитор теломеразы. Также предложены наборы, содержащие комбинацию ингибитора теломеразы и фермент гиалуронидазу. Также предложены наборы, содержащие комбинацию ингибитора теломеразы и фермент гиалуронидазу, а также инъектор для подкожного введения.

[007] В некоторых вариантах реализации фермент гиалуронидаза представляет собой рекомбинантную гиалуронидазу человека. В некоторых вариантах реализации фермент гиалуронидаза представляет собой гHuPH20. В некоторых вариантах реализации подкожные композиции ингибитора теломеразы содержат один или более растворимых гликопротеинов гиалуронидазы. В различных вариантах реализации фермент гиалуронидаза присутствует в композиции в количестве от 100 ед. до 50000 ед. В некоторых случаях фермент гиалуронидаза присутствует в композиции в количестве от 100 ед./мл до 50000 ед./мл. В некоторых случаях фермент гиалуронидаза присутствует в композиции в количестве от 100 ед./мл до 2000 ед./мл. В некоторых вариантах реализации фермент гиалуронидаза (например, растворимый гликопротеин гиалуронидазы) присутствует в количестве, которое облегчает подкожное введение рассматриваемой композиции ингибитора теломеразы. В некоторых случаях фермент гиалуронидаза присутствует в количестве, которое способствует быстрой деполимеризации гиалуронана во внеклеточном пространстве подкожной клетчатки и снижает вязкость интерстиция, увеличивая гидравлическую проводимость и обеспечивая возможность введения в подкожную ткань увеличенных объемов композиции ингибитора теломеразы.

[008] В некоторых вариантах реализации фермент гиалуронидаза представляет собой вариант рекомбинантной гиалуронидазы человека. В некоторых вариантах реализации фермент гиалуронидаза представляет собой вариант гиалуронидазы PH20, содержащий одно или более присоединений, делеций или замен аминокислотных остатков в

аминокислотной последовательности РН20 дикого типа, такой как вариант гиалуронидазы РН20, содержащий одно или более присоединений, делеций или замен аминокислотных остатков в аминокислотной последовательности зрелой РН20 дикого типа. В некоторых вариантах реализации фермент гиалуронидаза представляет собой фрагмент гиалуронидазы РН20 дикого типа. В некоторых вариантах реализации фермент РН20 представляет собой фрагмент гиалуронидазы РН20 дикого типа, содержащий одно или более присоединений, делеций или замен аминокислотных остатков в аминокислотной последовательности гиалуронидазы РН20 дикого типа.

[009] Рассматриваемые композиции могут содержать одно или более фармацевтически приемлемых вспомогательных веществ. В некоторых вариантах реализации композиция содержит один или более сахаридов. В некоторых случаях сахариды включают один или более моносахаридов. Моносахариды могут присутствовать в композиции в количестве от 1 мМ до 1000 мМ, например, от 10 мМ до 500 мМ. В некоторых случаях сахариды включают один или более полисахаридов. В некоторых случаях полисахариды включают сахарозу. В других случаях полисахариды включают трегалозу. Полисахариды могут присутствовать в композиции в количестве от 1 мМ до 1000 мМ, например, от 10 мМ до 500 мМ. В некоторых случаях полисахариды присутствуют в композиции в количестве от 100 мМ до 300 мМ.

[0010] В некоторых вариантах реализации композиция содержит одну или более аминокислот. В некоторых вариантах реализации композиция содержит определенное количество метионина. В других вариантах реализации композиция содержит определенное количество гистидина. В таких вариантах реализации аминокислоты могут присутствовать в композиции в количестве от 1 мМ до 200 мМ, например, от 1 мМ до 100 мМ. В некоторых вариантах реализации указанные аминокислоты присутствуют в композиции в количестве от 1 мМ до 50 мМ.

[0011] Композиции также могут содержать один или более буферов. В некоторых случаях буферы присутствуют в композиции в таком количестве, которое обеспечивает поддержание определенного уровня рН композиции. Например, в композиции могут присутствовать один или более буферов для поддержания уровня рН композиции от 3,0 до 9,0, например, уровень рН от 5,5 до 7,5. В некоторых вариантах реализации буфер присутствует в композиции в количестве от 1 мМ до 250 мМ, например, от 1 до 100 мМ, и включая от 1 мМ до 50 мМ. В некоторых случаях буфер представляет собой гистидиновый буфер. В некоторых случаях композиция содержит метионин и полисорбат 80 или полисорбат 20.

[0012] В любых вариантах реализации по данному изобретению ингибитор теломеразы содержит олигонуклеотид. В некоторых вариантах реализации олигонуклеотид

комплементарен РНК-компоненту теломеразы. В некоторых вариантах реализации олигонуклеотид имеет 10-20 пар оснований в длину. В некоторых вариантах реализации олигонуклеотид содержит последовательность TAGGGTTAGACAA. В некоторых вариантах реализации любого из вариантов реализации по данному изобретению олигонуклеотид содержит по меньшей мере одну N3'→ P5' тиофосфорамидатную межнуклеозидную связь. В некоторых вариантах реализации любого из вариантов реализации по данному изобретению олигонуклеотид содержит все N3'→ P5' тиофосфорамидатные межнуклеозидные связи. Ингибитор теломеразы в соответствии с некоторыми вариантами реализации представляет собой олигонуклеотид, который содержит липидный фрагмент, связанный с 5' и/или 3'-концом олигонуклеотида. В некоторых вариантах реализации липидный фрагмент ингибитора теломеразы связан с 5' и/или 3'-концом олигонуклеотида через линкер. В некоторых случаях линкер представляет собой глицериновый или аминокглицериновый линкер. В некоторых случаях липидный фрагмент ингибитора теломеразы представляет собой пальмитоильный (C16) фрагмент. В некоторых вариантах реализации рассматриваемые композиции содержат иметелстат или его фармацевтически приемлемую соль. В некоторых вариантах реализации композиции содержат иметелстат натрия.

[0013] В некоторых вариантах реализации количество ингибитора теломеразы в подкожной композиции составляет от около 0,5 до около 5 мг, от около 5 до около 10 мг, от около 10 до около 15 мг, от около 15 до около 20 мг, от около 20 до около 25 мг, от около 20 до около 50 мг, от около 25 до около 50 мг, от около 50 до около 75 мг, от около 50 до около 100 мг, от около 75 до около 100 мг, от около 100 до около 125 мг, от около 125 до около 150 мг, от около 150 до около 175 мг, от около 175 до около 200 мг, от около 200 до около 225 мг, от около 225 до около 250 мг, от около 250 до около 300 мг, от около 300 до около 350 мг, от около 350 до около 400 мг, от около 400 до около 450 мг, от около 450 до около 500 мг, от около 500 мг до около 600 мг, от около 600 мг до около 700 мг, от около 700 мг до около 800 мг, от около 800 мг до около 900 мг, от около 900 мг до около 1000 мг, от около 1100 мг до около 1200 мг, от около 1200 мг до около 1300 мг, от около 1300 мг до около 1400 мг, от около 1400 мг до около 1500 мг, от около 1500 мг до около 1600 мг, от около 1600 мг до около 1700 мг, от около 1700 мг до около 1800 мг, от около 1800 мг до около 1900 мг, от около 1900 мг до около 2000 мг, от около 2000 мг до около 2100 мг, от около 2100 мг до около 2200 мг, от около 2200 мг до около 2300 мг, от около 2300 мг до около 2400 мг, от около 2400 мг до около 2500 мг.

[0014] В некоторых вариантах реализации указанное количество ингибитора теломеразы представлено в лекарственной форме в единичной дозе, имеющей содержание

от около 5 мг до около 1000 мг, от 5 мг до около 500 мг, например, от около 30 мг до около 300 мг или от около 50 мг до около 200 мг. В некоторых вариантах реализации указанное количество ингибитора теломеразы представлено в единичной лекарственной форме, имеющей содержание от около 500 мг до около 3000 мг, от 750 мг до около 2500 мг, например, от около 1000 мг до около 2000 мг или от около 50 мг до около 200 мг. Лекарственная форма в единичной дозе может быть жидкой или лиофилизированной.

[0015] В некоторых вариантах реализации содержание ингибитора теломеразы в композиции является разбавленным (около 0,1 мг/мл) или концентрированным (около 300 мг/мл), включая, например, любое из значений от около 0,1 до около 300 мг/мл, от около 0,1 до около 200 мг/мл, от около 0,1 до около 180 мг/мл, от около 0,1 до около 160 мг/мл, от около 0,1 до около 140 мг/мл, от около 0,1 до около 120 мг/мл, от около 0,1 до около 100 мг/мл, от около 0,1 до около 80 мг/мл, от около 0,1 до около 60 мг/мл, от около 0,1 до около 40 мг/мл, от около 0,1 до около 20 мг/мл, от около 0,1 до около 10 мг/мл, от около 2 до около 40 мг/мл, от около 4 до около 35 мг/мл, от около 6 до около 30 мг/мл, от около 8 до около 25 мг/мл, от около 10 до около 20 мг/мл, от около 12 до около 15 мг/мл, или любое из значений около 0,1 мг/мл, 0,2 мг/мл, 0,3 мг/мл, 0,4 мг/мл, 0,5 мг/мл, 0,6 мг/мл, 0,7 мг/мл, 0,8 мг/мл, 0,9 мг/мл, 1 мг/мл, 1,1 мг/мл, 1,2 мг/мл, 1,3 мг/мл, 1,4 мг/мл, 1,5 мг/мл, 1,6 мг/мл, 1,7 мг/мл, 1,8 мг/мл, 1,9 мг/мл, 2 мг/мл, 2,1 мг/мл, 2,2 мг/мл, 2,3 мг/мл, 2,4 мг/мл или 2,5 мг/мл. В некоторых вариантах реализации концентрация ингибитора теломеразы составляет по меньшей мере любое из значений около 0,1 мг/мл, 0,2 мг/мл, 0,3 мг/мл, 0,4 мг/мл, 0,5 мг/мл, 1,3 мг/мл, 1,5 мг/мл, 2 мг/мл, 3 мг/мл, 4 мг/мл, 5 мг/мл, 6 мг/мл, 7 мг/мл, 8 мг/мл, 9 мг/мл, 10 мг/мл, 11 мг/мл, 12 мг/мл, 13 мг/мл, 14 мг/мл, 15 мг/мл, 16 мг/мл, 17 мг/мл, 18 мг/мл, 19 мг/мл, 20 мг/мл, 21 мг/мл, 22 мг/мл, 23 мг/мл, 24 мг/мл, 25 мг/мл, 26 мг/мл, 27 мг/мл, 28 мг/мл, 29 мг/мл, 30 мг/мл, 31 мг/мл, 32 мг/мл, 33 мг/мл, 33,3 мг/мл, 34 мг/мл, 35 мг/мл, 36 мг/мл, 37 мг/мл, 38 мг/мл, 39 мг/мл, 40 мг/мл, 50 мг/мл, 60 мг/мл, 70 мг/мл, 80 мг/мл, 90 мг/мл, 100 мг/мл, 110 мг/мл, 120 мг/мл, 130 мг/мл, 140 мг/мл, 150 мг/мл, 160 мг/мл, 170 мг/мл, 180 мг/мл, 190 мг/мл, 200 мг/мл, 210 мг/мл, 220 мг/мл, 230 мг/мл, 240 мг/мл, 250 мг/мл, 260 мг/мл, 270 мг/мл, 280 мг/мл, 290 мг/мл или 300 мг/мл. В некоторых вариантах реализации композиция составлена так, что она содержит ингибитор теломеразы, такой как иметелстат или иметелстат натрия, в дозе от около 2,0 мг/кг до около 20,0 мг/кг, от около 3,0 мг/кг до около 15,0 мг/кг, например, от около 4,0 мг/кг до около 10 мг/кг, от около 7,5 мг/кг до 9,4 мг/кг, от около 9 мг/кг до около 11 мг/кг и от около 11 мг/кг до около 14 мг/кг. В некоторых вариантах реализации композиция составлена так, что она содержит ингибитор теломеразы, такой как иметелстат или иметелстат натрия, в дозе 4,0 мг/кг, 4,1 мг/кг, 4,2 мг/кг, 4,3 мг/кг, 4,4 мг/кг, 4,5 мг/кг, 4,6 мг/кг, 4,7 мг/кг, 4,8 мг/кг, 4,9 мг/кг, 5,0

мг/кг, 5,1 мг/кг, 5,2 мг/кг, 5,3 мг/кг, 5,4 мг/кг, 5,5 мг/кг, 5,6 мг/кг, 5,7 мг/кг, 5,8 мг/кг, 5,9 мг/кг, 6,0 мг/кг, 6,1 мг/кг, 6,2 мг/кг, 6,3 мг/кг, 6,4 мг/кг, 6,5 мг/кг, 6,6 мг/кг, 6,7 мг/кг, 6,8 мг/кг, 6,9 мг/кг, 7,0 мг/кг, 7,1 мг/кг, 7,2 мг/кг, 7,3 мг/кг, 7,4 мг/кг, 7,5 мг/кг, 7,6 мг/кг, 7,7 мг/кг, 7,8 мг/кг, 7,9 мг/кг, 8,0 мг/кг, 8,1 мг/кг, 8,2 мг/кг, 8,3 мг/кг, 8,4 мг/кг, 8,5 мг/кг, 8,6 мг/кг, 8,7 мг/кг, 8,8 мг/кг, 8,9 мг/кг, 9,0 мг/кг, 9,1 мг/кг, 9,2 мг/кг, 9,3 мг/кг, 9,4 мг/кг, 9,5 мг/кг, 9,6 мг/кг, 9,7 мг/кг, 9,8 мг/кг, 9,9 мг/кг, 10,0 мг/кг, 10,5 мг/кг, 11,0 мг/кг, 11,5 мг/кг, 12,0 мг/кг, 12,5 мг/кг, 13,0 мг/кг, 13,5 мг/кг, 14,0 мг/кг, 14,5 мг/кг, 15,0 мг/кг, 15,5 мг/кг, 16,0 мг/кг, 16,5 мг/кг, 17,0 мг/кг, 17,0 мг/кг, 17,5 мг/кг, 18,0 мг/кг, 18,5 мг/кг, 19,0 мг/кг, 19,5 мг/кг или 20,0 мг/кг.

[0016] Аспекты данного изобретения также включают способы подкожного введения субъекту композиции ингибитора теломеразы. При практическом осуществлении способов в соответствии с некоторыми вариантами реализации, субъекту подкожно вводят композицию, содержащую ингибитор теломеразы и фермент гиалуронидазу. В некоторых вариантах реализации указанную композицию вводят субъекту посредством подкожной инъекции. В других вариантах реализации композицию можно вводить субъекту из имплантированного устройства, такого как подкожно имплантированный катетер. В некоторых вариантах реализации композицию ингибитора теломеразы вводят субъекту с помощью подкожного болюсного инъектора, выполненного с возможностью подкожной доставки субъекту предварительного определенного количества композиции. В некоторых вариантах реализации ингибитор теломеразы и фермент гиалуронидазу вводят одновременно. Например, ингибитор теломеразы и фермент гиалуронидаза могут быть смешаны друг с другом перед введением. В некоторых случаях ингибитор теломеразы и фермент гиалуронидазу вводят последовательно. Например, фермент гиалуронидаза может быть введен до ингибитора теломеразы. В некоторых случаях фермент гиалуронидазу вводят первым, после чего вводят ингибитор теломеразы. Например, фермент гиалуронидаза может быть введен непосредственно перед введением ингибитора теломеразы.

[0017] В некоторых вариантах реализации предложенные способы включают лечение неоплазмы. В некоторых вариантах реализации неоплазма может представлять собой рак с солидной опухолью. Примеры рака для лечения согласно вариантам реализации данного изобретения могут включать, но не ограничиваясь ими, например, аденокортикальную карциному, анальный рак, рак аппендикса, астроцитому, атипичную тератоидную/рабдоидную опухоль, базальноклеточную карциному, рак желчных протоков (внепеченочный), рак мочевого пузыря, рак кости (например, саркому Юинга, остеосаркому и злокачественную фиброзную гистиоцитому и т.д.), глиому ствола

головного мозга, опухоли головного мозга (например, астроцитомы, эмбриональные опухоли центральной нервной системы, эмбрионально-клеточные опухоли центральной нервной системы, краниофарингиому, эпендимому и т.д.), рак молочной железы (например, рак молочной железы у женщин, рак молочной железы у мужчин, детский рак молочной железы и т.д.), бронхиальные опухоли, карциноидные опухоли (например, детские, желудочно-кишечные и т.д.), карциному с неизвестной первичной локализацией, сердечные опухоли (опухоли сердца), рак шейки матки, рак толстой кишки, колоректальный рак, краниофарингиому, протоков (например, желчных протоков, внепеченочный и т.д.), протоковую карциному *in situ* (DCIS), эмбриональные опухоли, рак эндометрия, эпендимому, рак пищевода, эстезионейроэпителиому, саркому Юинга, экстракраниальную эмбрионально-клеточную опухоль, внегонадную эмбрионально-клеточную опухоль, внепеченочный рак желчных протоков, рак глаз (например, интраокулярную меланому, ретинобластому и т.д.), фиброзную гистиоцитому кости (например, злокачественную, остеосаркому и т.д.), рак желчного пузыря, желудочный рак (рак желудка), желудочно-кишечную карциноидную опухоль, желудочно-кишечные стромальные опухоли (GIST), эмбрионально-клеточную опухоль (например, экстракраниальную, внегонадную, опухоль яичника, яичка и т.д.), гестационную трофобластическую болезнь, глиому, лейкоз ворсистых клеток, рак головы и шеи, рак сердца, гепатоцеллюлярный рак (рак печени), гистиоцитоз (например, клеток Лангерганса и т.д.), гипофарингеальный рак, интраокулярную меланому, опухоли островковых клеток (например, нейроэндокринные опухоли поджелудочной железы и т.д.), рак почек (например, почечно-клеточный, опухоль Вильмса, детские опухоли почек и т.д.), гистиоцитоз из клеток Лангерганса, рак гортани, рак губ и полости рта, рак печени (первичный), лобулярную карциному *in situ* (LCIS), рак легких (например, немелкоклеточный, мелкоклеточный и т.д.), злокачественную фиброзную гистиоцитому кости и остеосаркому, меланому, карциному из клеток Меркеля, мезотелиому, метастатический плоскоклеточный рак шеи неизвестного происхождения, рак полости рта, синдромы множественной эндокринной неоплазии, рак носовой полости и околоносовых пазух, рак носоглотки, нейробластому, немелкоклеточный рак легких, рак рта, рак полости рта (например, губ и т.д.), рак ротоглотки, остеосаркому и злокачественную фиброзную гистиоцитому кости, рак яичника (например, эпителиальный, эмбрионально-клеточную опухоль, опухоль с низким потенциалом злокачественности и т.д.), рак поджелудочной железы, нейроэндокринные опухоли поджелудочной железы (опухоли островковых клеток), папилломатоз, параганглиому, рак околоносовых пазух и носовой полости, рак парашитовидной железы, пенильный рак, фарингеальный рак, феохромоцитому, опухоль

гипофиза, плеврорлегочную бластому, рак предстательной железы, ректальный рак, почечно-клеточный рак (рак почек), почечной лоханки и мочеточника, переходноклеточный рак, ретинобластому, рабдомиосаркому, рак слюнной железы, синдром Сезари, рак кожи (например, детский, меланому, карциному из клеток Меркеля, немеланомный рак и т.д.), мелкоклеточный рак легких, рак тонкого кишечника, рак мягкой ткани, плоскоклеточную карциному, плоскоклеточный рак шеи (например, неизвестного происхождения, метастатический и т.д.), рак желудка (желудочный рак), рак яичка, рак горла, тимому и карциному вилочковой железы, рак щитовидной железы, переходноклеточный рак почечной лоханки и мочеточника, рак мочеточника и почечной лоханки, рак уретры, рак матки (например, эндометриальный и т.д.), саркому матки, рак влагалища, рак вульвы, макроглобулинемию Вальденстрема, опухоль Вильмса и т.п. В некоторых вариантах реализации способы включают лечение субъекта, имеющего неоплазму, как описано в патенте США № 7494982.

[0018] В некоторых вариантах реализации неоплазма может представлять собой гематологическую неоплазму. В некоторых вариантах реализации предложенные способы включают лечение субъекта, имеющего миелопролиферативную неоплазму. В некоторых случаях миелопролиферативная неоплазма представляет собой миелофиброз (MF), такой как первичный миелофиброз, или миелофиброз на фоне ET или PV (пост-ETMF или пост-PVMF). В других вариантах реализации миелопролиферативная неоплазма включает эссенциальную тромбоцитемию (ET), истинную полицитемию (PV), хронический миелогенный лейкоз (CML), хронический нейтрофильный лейкоз, хронический эозинофильный лейкоз и острый миелогенный лейкоз (AML). В других случаях гематологическая неоплазма представляет собой миелодиспластический синдром (MDS). В других вариантах реализации гематологическая неоплазма представляет собой миелодиспластический синдром без изолированной делеции (5q). Миелодиспластические синдромы (MDS) включают такие заболевания как рефрактерная анемия, рефрактерная анемия с избытком бластов, рефрактерная цитопения с мультилинейной дисплазией, рефрактерная цитопения с однолинейной дисплазией и хронический миеломоноцитарный лейкоз (CMML). Способы в соответствии с некоторыми вариантами реализации также включают диагностирование миелопролиферативной неоплазмы у субъекта. В одном примере способы включают диагностирование наличия у субъекта миелофиброза (MF), такого как первичный миелофиброз. В некоторых вариантах реализации субъекту ранее не вводили ингибитор теломеразы (например, он не подвергался воздействию ингибитора теломеразы). В некоторых вариантах реализации субъектом является субъект со сниженным риском зависимого от переливания MDS, у которого наблюдается рецидив или

невосприимчивость к агенту, стимулирующему эритропоэтин (ESA). В некоторых вариантах реализации субъект ранее не проходил лечение гипометилирующим агентом (НМА). В некоторых вариантах реализации субъект ранее не проходил лечение леналидомидом. В некоторых вариантах реализации субъектом является субъект без делеции (5q). В некоторых вариантах реализации субъектом является субъект, у которого наблюдается рецидив или невосприимчивость к ингибитору Янус-киназы (JAK). В некоторых вариантах реализации предложенные способы включают лечение субъекта, имеющего миелопролиферативную неоплазму, как описано в патенте США № 9375485 и в Международных публикациях патентов № WO 2019/023667 и WO 2020/028261, описание которых включено в данный документ посредством ссылки.

[0019] В некоторых вариантах реализации предложенные способы включают лечение субъекта, имеющего лимфоидную неоплазму. В некоторых вариантах реализации лимфоидная неоплазма (например, лимфома) представляет собой В-клеточную неоплазму. В некоторых вариантах реализации лимфоидная неоплазма (например, лимфома) представляет собой Т-клеточную и/или предполагаемую НК-клеточную неоплазму.

[0020] В некоторых вариантах реализации субъекту подкожно вводят ингибитор теломеразы и фермент гиалуронидазу. Композицию ингибитора теломеразы и фермент гиалуронидазу можно подкожно вводить субъекту один или более раз в сутки, например, два раза в сутки или более, например, три раза в сутки или более, например, четыре раза в сутки или более, и включая пять раз в сутки или более. В некоторых вариантах реализации композицию подкожно вводят субъекту в течение 1 дня или более, 2 дней или более, 3 дней или более, 4 дней или более, 5 дней или более, 6 дней или более, 7 дней или более, например, в течение 10 дней или более, например, в течение 14 дней или более, например, в течение 21 дня или более. Дозы можно вводить циклами введения композиции ингибитора теломеразы и фермента гиалуронидазы. В некоторых вариантах реализации цикл осуществляют один раз ежедневно. В некоторых вариантах реализации цикл осуществляют один раз через день (т.е. один раз в 2 дня). В некоторых вариантах реализации цикл осуществляют один раз в 3 дня. В некоторых вариантах реализации цикл осуществляют один раз в 4 дня. В некоторых вариантах реализации цикл осуществляют один раз в 5 дней. В некоторых вариантах реализации цикл осуществляют один раз в 6 дней. В некоторых вариантах реализации цикл осуществляют один раз в 7 дней. В некоторых вариантах реализации цикл осуществляют один раз в 14 дней, в некоторых случаях цикл осуществляют один раз в 21 день, в других случаях цикл осуществляют один раз в 28 или более дней. Циклы введения композиции ингибитора теломеразы можно повторять на протяжении 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 или более 8 циклов введения доз, в течение общего периода,

составляющего 6 месяцев или 1 год, или 2 года, или 3 года, или 4 года, или 5 лет, или 6 лет, или 7 лет, или 8 лет, или 9 лет, или 10 лет, или более. Например, можно осуществлять один цикл введения, затем может следовать перерыв без введения композиции в течение 1 или более дней, а затем можно осуществлять следующий цикл введения. Время между циклами введения может составлять 1 или более дней, 2 или более дней, 3 или более дней, 4 или более дней, 5 или более дней, 6 или более дней, 7 или более дней, 10 или более дней, 14 или более дней, 21 или более дней, или 28 или более дней.

[0021] Не ограничиваясь теорией, в данном изобретении предложены композиции, лекарственные формы в единичной дозе и наборы, содержащие ингибитор теломеразы и фермент гиалуронидазу, определение которых представлено в данном документе, которые обладают совместимостью и стабильностью для применения в способах лечения субъекта с неоплазмой посредством подкожного введения. В данном изобретении также предложены такие композиции, составленные для подкожного введения, причем указанные композиции являются безопасными и переносимыми для субъекта, подлежащего лечению, и обеспечивают эффективный фармакокинетический профиль ингибитора теломеразы при комбинировании с ферментом гиалуронидазой. В данном изобретении дополнительно предложены лекарственные формы с соответствующими объемами жидкости, содержащие достаточные дозы ингибитора теломеразы для подкожного введения.

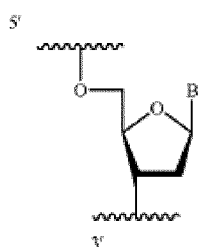
КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

[0022] На **Фиг. 1** представлены профили зависимости концентрации иметелстата натрия от времени после подкожной инъекции и внутривенной доставки у крыс в соответствии с некоторыми вариантами реализации.

[0023] На **Фиг. 2** представлена зависимость ингибирования активности теломеразы (%) от концентрации (мкМ), использованной для обработки, для различных пробных лекарственных форм в соответствии с некоторыми вариантами реализации.

НЕКОТОРЫЕ ОПРЕДЕЛЕНИЯ

[0024] Термин «нуклеозид» относится к фрагменту, имеющему общую структуру:



, где В представляет собой азотистое основание, и 2'-атом углерода

может быть замещен, как описано ниже. При внедрении в олигомер или полимер, 3'-атом углерода дополнительно связывается с атомом кислорода или азота. Нуклеозиды могут включать 2'-дезоксиде и 2'-гидроксильные (т.е. дезоксирибозные и рибозные) формы, а также их аналоги. В некоторых случаях 5'-NH группа может заменять 5'-атом кислорода. «Аналоги» при упоминании нуклеозидов включают синтетические нуклеозиды, содержащие модифицированные фрагменты азотистых оснований (см. ниже определение «азотистого основания») и/или модифицированные фрагменты сахара, такие как, среди прочих аналогов, 2'-фторсахара. Такие аналоги обычно конструируют для изменения свойств связывания, например, стабильности, специфичности или т.п. Термин «нуклеозид» включает природные нуклеозиды, включая 2'-дезоксиде и 2'-гидроксильные формы, например, описанные в публикации Komberg and Baker, *DNA Replication*, 2e изд. (Freeman, Сан-Франциско, 1992), и аналоги. «Аналоги» при упоминании нуклеозидов включают синтетические нуклеозиды, содержащие модифицированные фрагменты азотистых оснований (см. ниже определение «азотистого основания») и/или модифицированные фрагменты сахара, например, описанные, в общем, в публикации Scheit, *Nucleotide Analogs* (John Wiley, Нью-Йорк, 1980). Такие аналоги включают синтетические нуклеозиды, разработанные для усиления связывающих свойств, например, стабильности, специфичности или т.п., как описано в публикации Uhlmann and Peyman, *Chemical Reviews* 90:543-584, 1990). Олигонуклеотид, содержащий такие нуклеозиды, и который обычно содержит синтетические межнауклеозидные связи, устойчивые к действию нуклеазы, сам по себе может быть упомянут как «аналог».

[0025] «Полинуклеотид» или «олигонуклеотид» относится к полимеру или олигомеру из рибозных и/или дезоксирибозных нуклеозидных субъединиц, содержащему от около 2 до около 200 смежных субъединиц. Нуклеозидные субъединицы могут быть соединены различными межнауклеозидными связями, включая, но не ограничиваясь ими, фосфодиэфирные, фосфотриэфирные, метилфосфонатные, P3'→N5' фосфорамидатные, N3'→P5' фосфорамидатные, N3→P5' тиофосфорамидатные и тиофосфатные связи. Данный термин также включает такие полимеры или олигомеры, которые содержат модификации, например, в сахаре (например, 2'-замещения), в основании и на 3'-и 5'-концах. В тех вариантах реализации, в которых олигонуклеотидный фрагмент содержит множество межнауклеозидных связей, каждая связь может быть образована с применением одного и того же химического механизма, или может быть использована смесь различных химических механизмов связывания. Если олигонуклеотид представлен последовательностью букв, например, «ATGUCCTG», то следует понимать, что указанные нуклеотиды находятся в 5'→3' порядке слева направо. Такое изображение

последовательности оснований в олигонуклеотиде не подразумевает использование какого-либо конкретного типа межнуклеозидной субъединицы в олигонуклеотиде.

[0026] «Азотистое основание» включает (i) нативные азотистые основания ДНК и РНК (урацил, тимин, аденин, гуанин и цитозин), (ii) модифицированные азотистые основания или аналоги азотистых оснований (например, 5-метилцитозин, 5-бром урацил или инозин) и (iii) аналоги азотистых оснований. Аналог азотистого основания представляет собой соединение, молекулярная структура которого похожа на структуру типичного основания ДНК или РНК.

[0027] Термин «липид» использован в данном контексте в широком смысле и включает вещества, которые растворимы в органических растворителях, но умеренно растворимы, если вообще растворимы, в воде. Термин «липид» включает, но не ограничиваясь ими, углеводороды, масла, жиры (такие как жирные кислоты и глицериды), стерины, стероиды и производные указанных соединений. В некоторых вариантах реализации липиды представляют собой жирные кислоты и их производные, углеводороды и их производные, а также стерины, такие как холестерин. Жирные кислоты обычно содержат четное количество атомов углерода в неразветвленной цепи (обычно 12-24 атома углерода) и могут быть насыщенными или ненасыщенными, и могут содержать или могут быть модифицированы так, что они содержат различные группы заместителей. Для простоты термин «жирная кислота» также включает производные жирных кислот, такие как алифатические или сложные эфиры. В некоторых вариантах реализации термин «липид» также включает амфипатические соединения, содержащие и липидный, и гидрофильный фрагменты.

[0028] «Индивидуум», или «пациент», или «субъект» может представлять собой млекопитающее, такое как любой организм обычной лабораторной модели. Млекопитающие включают, но не ограничиваясь ими, людей и приматов, не являющихся человеком, сельскохозяйственных животных, спортивных животных, домашних животных, мышей, крыс и других грызунов. В некоторых вариантах реализации индивидуумом, или пациентом, или субъектом является человек. В некоторых вариантах реализации субъект или пациент ранее не принимал терапию с ингибитором теломеразы до осуществления некоторых вариантов реализации, такие пациенты являются «не подверженными воздействию ингибитора теломеразы».

[0029] «Эффективное количество» или «терапевтически эффективное количество», или «клинически эффективное количество» относится к количеству ингибитора теломеразы, введенному млекопитающему субъекту в форме разовой дозы или в составе серии доз, которое является эффективным для обеспечения требуемого терапевтического эффекта.

[0030] В данном контексте термин «неоплазма» или «неоплазия», или «неоπλαстический» относится к патологическому росту новых клеток. В отличие от гиперплазии, неопластическая пролиферация сохраняется даже в отсутствие исходного раздражителя. «Неопластические клетки» относятся к клеткам, которые демонстрируют относительно автономный рост, так что они проявляют аберрантный фенотип роста, характеризующийся существенной утратой контроля над клеточной пролиферацией. Неопластические клетки включают клетки, которые могут активно реплицироваться или находиться в состоянии временного нерепликативного покоя (G_1 или G_0); точно так же неопластические клетки могут включать клетки, которые имеют высокодифференцированный фенотип или низкодифференцированный фенотип, или смесь обоих типов клеток. Таким образом, не все неопластические клетки обязательно являются реплицирующимися клетками в данный момент времени. «Неопластические клетки» включают такие клетки в доброкачественных неоплазмах и клетки в злокачественных неоплазмах. «Неопластические клетки-предшественники» относятся к клеткам клеточной композиции, которые способны становиться неопластическими.

[0031] «Пролиферативное расстройство» представляет собой любое клеточное расстройство, при котором клетки пролиферируют со скоростью, превышающей рост нормальной ткани. Таким образом, «пролиферирующая клетка» представляет собой клетку, которая пролиферирует быстрее, чем нормальные клетки. Пролиферативные расстройства включают, но не ограничиваясь ими, неоплазмы. «Неоплазма» представляет собой патологический рост ткани, обычно образующий отдельное новообразование, которое растет вследствие клеточной пролиферации быстрее, чем происходит рост нормальной ткани. Неоплазмы демонстрируют частичную или полную потерю структурной организации и функциональной координации с нормальной тканью. В широком смысле их можно классифицировать на три основных типа. Злокачественные неоплазмы, возникающие из эпителиальных структур, называют карциномами, злокачественные неоплазмы, происходящие из соединительных тканей, таких как мышцы, хрящи, жир или кости, называют саркомами, а злокачественные опухоли, поражающие гематопоетические структуры (структуры, которые относятся к образованию кровяных клеток), включая компоненты иммунной системы, называют лейкозами и лимфомами. Опухоль представляет собой неопластический рост ракового заболевания. В данном контексте неоплазма, также упоминаемая как «опухоль», включает гематопоетические неоплазмы, а также солидные неоплазмы. Другие пролиферативные расстройства включают, но не ограничиваясь ими, нейрофиброматоз.

[0032] В данном контексте формы единственного числа включают ссылки на формы множественного числа, если не указано иное.

[0033] Предполагается, что каждый максимальный числовой предел, указанный в данном описании, включает каждое более низкое числовое ограничение, как если бы такие более низкие числовые ограничения были записаны в данном документе в явном виде. Каждый минимальный числовой предел, указанный в данном описании, включает каждое более высокое числовое ограничение, как если бы такие более высокие числовые ограничения были записаны в данном документе в явном виде. Каждый числовой диапазон, указанный в данном описании, включает каждый более узкий числовой диапазон, входящий в указанный более широкий числовой диапазон, как если бы все такие более узкие числовые диапазоны были записаны в данном документе в явном виде.

[0034] Перед дальнейшим описанием настоящего изобретения следует понимать, что данное изобретение не ограничено конкретными описанными вариантами реализации и, следовательно, может, конечно, варьироваться. Также следует понимать, что терминология, использованная в данном контексте, предназначена для описания лишь конкретных вариантов реализации, и она не является ограничивающей, поскольку объем данного изобретения ограничен лишь прилагаемой формулой изобретения.

[0035] При указании диапазона значений следует понимать, что в данное изобретение включено каждое промежуточное значение между верхним и нижним пределом указанного диапазона с точностью до десятой доли нижнего предела, если из контекста очевидно не следует иное, а также любое другое указанное или промежуточное значение в данном диапазоне. Верхний и нижний пределы таких более узких диапазонов могут быть независимо включены в более узкие диапазоны, и они также включены в данное изобретение, кроме любого специально исключенного предела в указанном диапазоне. Если указанный диапазон включает один или оба предела, то в данное изобретение также включены диапазоны, исключающие один или оба из включенных пределов.

[0036] Следует понимать, что некоторые признаки данного изобретения, которые для ясности описаны в контексте отдельных вариантов реализации, также могут быть представлены в виде комбинации в составе одного варианта реализации. И наоборот, различные признаки данного изобретения, которые для краткости описаны в контексте одного варианта реализации, также могут быть представлены по отдельности или в любой подходящей подкомбинации. Все комбинации вариантов реализации, касающихся данного изобретения, специально предусмотрены данным изобретением и описаны в данном документе так, как если бы каждая и любая комбинация была описана отдельно и в явном виде, до той степени, до которой такие комбинации включают рассматриваемый объект

изобретения, например, соединения, которые являются стабильными соединениями (т.е. соединениями, которые могут быть получены, выделены, охарактеризованы и испытаны на биологическую активность). Кроме того, все подкомбинации различных вариантов реализации и их элементов (например, элементов химических групп, перечисленных в вариантах реализации, описывающих такие переменные), также специально предусмотрены данным изобретением и описаны в данном документе так, как если бы любая и каждая такая подкомбинация была описана в данном документе в отдельности и в явном виде.

[0037] Если не указано иное, все технические и научные термины, используемые в данном документе, имеют то же значение, которое обычно подразумевается специалистом в той области техники, к которой относится данное изобретение. Несмотря на то, что при практическом осуществлении или испытании данного изобретения могут быть также использованы любые способы и материалы, такие же, как описаны в настоящем документе, или их эквиваленты, далее описаны способы и материалы, представляющие собой интерес. Все публикации, упомянутые в данном документе, включены в него посредством ссылки в отношении раскрытия и описания способов и/или материалов, в связи с которыми упомянуты эти публикации.

[0038] Следует отметить, что в данном описании и в прилагаемой формуле изобретения формы единственного числа включает ссылку на множественное число, если из контекста очевидно не следует иное. Дополнительно следует отметить, что формула изобретения может быть составлена для исключения любого необязательного элемента. Таким образом, указанное утверждение предназначено в качестве предварительной основы для применения такой исключающей терминологии, как «исключительно», «только» и т.п., в отношении перечисления элементов формулы изобретения, или для применения «отрицательного» ограничения.

[0039] Следует понимать, что некоторые признаки данного изобретения, которые для ясности описаны в контексте отдельных вариантов реализации, также могут быть представлены в виде комбинации в составе одного варианта реализации. И наоборот, различные признаки данного изобретения, которые для краткости описаны в контексте одного варианта реализации, также могут быть представлены по отдельности или в любой подходящей подкомбинации.

[0040] Публикации, рассмотренные в данном документе, представлены исключительно в отношении их описания до даты подачи данной заявки. Ничто из представленного в данном документе не следует толковать как признание того, что данное изобретение не имеет права датировать такие публикации задним числом на основании предшествующего

изобретения. Кроме того, приведенные даты публикаций могут отличаться от фактических дат публикаций, для которых может потребоваться независимое подтверждение.

[0041] Соединения, описанные в настоящем документе, могут быть очищены любыми способами, известными в данной области техники, включая хроматографические способы, такие как высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ), препаративная тонкослойная хроматография, колоночная флэш-хроматография и ионообменная хроматография. Можно использовать любую подходящую неподвижную фазу, включая нормальную и обращенную фазы, а также ионообменные смолы. См., например, *Introduction to Modern Liquid Chromatography*, 2e изд., ред. L. R. Snyder and J. J. Kirkland, John Wiley and Sons, 1979; и *Thin Layer Chromatography*, ред. E. Stahl, Springer-Verlag, Нью-Йорк, 1969.

[0042] Соединения, описанные в данном документе, могут содержать один или более хиральных центров и/или двойных связей и поэтому могут существовать в виде стереоизомеров, таких как изомеры двойной связи (то есть, геометрические изомеры), энантиомеры или диастереомеры. Соответственно, в описание соединений, представленных в данном документе, включены все возможные энантиомеры и стереоизомеры соединений, включая стереоизомерно чистую форму (например, геометрически чистую, энантиомерно чистую или диастереомерно чистую) и энантиомерные и стереоизомерные смеси. Энантиомерные и стереоизомерные смеси могут быть разделены на составляющие их энантиомеры или стереоизомеры с использованием способов разделения или способов хирального синтеза, хорошо известных специалистам в данной области. Соединения могут также существовать в нескольких таутомерных формах, включая енольную форму, кето-форму и их смеси. Соответственно, химические структуры, изображенные в данном документе, охватывают все возможные таутомерные формы изображенных соединений. Описанные соединения включают также соединения с изотопной меткой, в которых один или более атомов имеют атомную массу, отличную от атомной массы, обычно встречающейся в природе. Примеры изотопов, которые могут быть включены в соединения, описанные в данном документе, включают, но не ограничиваясь ими, ^2H , ^3H , ^{11}C , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{18}O , ^{17}O и т.д. Соединения могут существовать в несольватированных формах, а также в сольватированных формах, включая гидратированные формы. В общем случае, соединения могут быть гидратированными или сольватированными. Некоторые соединения могут существовать в различных кристаллических или аморфных формах. В целом, все физические формы эквивалентны для применений, предусмотренных в данном описании, и считаются входящими в объем данного изобретения.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ

ПОДКОЖНЫЕ КОМПОЗИЦИИ ИНГИБИТОРА ТЕЛОМЕРАЗЫ

[0043] Аспекты данного изобретения включают композиции ингибитора теломеразы, составленные для подкожного введения. Термин «подкожный» использован в данном документе в его обычном смысле и относится к гиподермальному слою кожи, такому как подкожный слой. Подкожный интерстициальный матрикс состоит из фибриллярных белков в вязкоупругом геле из гликозаминогликанов. Гликозаминогликаны в подкожной ткани включают гликогиалуронан (НА), который является несulfатированным и состоит из повторяющихся дисахаридных звеньев.

[0044] Композиции по данному изобретению содержат фермент гиалуронидазу. В некоторых вариантах реализации фермент гиалуронидаза представляет собой гиалуронидазу млекопитающих, такую как эндо-бета-N-ацетилгексозаминидаза с тетрасахаридами и гексасахаридами в качестве основных конечных продуктов. В некоторых случаях гиалуронидаза млекопитающих обладает и гидролитической, и транс-гликозидазной активностью, и может расщеплять гиалуронан и хондроитинсульфаты. В других вариантах реализации фермент гиалуронидаза представляет собой бактериальную гиалуронидазу, такую как эндо-бета-N-ацетилгексозаминидаза, которая образует дисахаридные конечные продукты посредством бета-элиминирования. В других вариантах реализации фермент гиалуронидаза представляет собой эндо-бета-глюкоронидазу, которая образует тетрасахаридные и гексасахаридные конечные продукты посредством гидролиза β -1-3-связи. В некоторых вариантах реализации ферменты гиалуронидазы в рассматриваемых композициях ингибитора теломеразы включают гиалуронидазу млекопитающих, имеющую нейтральный активный сайт или кислотный активный сайт. В некоторых вариантах реализации рассматриваемые композиции содержат рекомбинантный фермент гиалуронидазы человека. В некоторых случаях рекомбинантный фермент гиалуронидазы человека представляет собой рекомбинантный фермент гиалуронидазы человека PH20 (rHuPH20). В некоторых вариантах реализации подкожная композиция ингибитора теломеразы содержит один или более растворимых гликопротеинов гиалуронидазы (sHASEGP). В некоторых вариантах реализации фермент гиалуронидаза (например, растворимый гликопротеин гиалуронидазы) облегчает подкожное введение рассматриваемой композиции. В некоторых случаях фермент гиалуронидаза присутствует в количестве, обеспечивающем быструю деполимеризацию гиалуронана во внеклеточном пространстве, и снижает вязкость интерстиция, увеличивая гидравлическую проводимость

и обеспечивая возможность введения в подкожную ткань увеличенных объемов. В некоторых вариантах реализации повышенная гидравлическая проводимость, вызванная ферментом гиалуронидазой благодаря снижению интерстициальной вязкости, обеспечивает возможность улучшения распределения, увеличения системной биодоступности введенных подкожно ингибиторов теломеразы, описанных в данном документе.

[0045] В некоторых вариантах реализации композиции содержат один или более ферментов гиалуронидазы (например, растворимых гликопротеинов гиалуронидазы), таких как описаны в Международных публикациях патентов № WO2004/078140 и WO 2006/091871, а также в патенте США № 7767429, содержание которых включено в данный документ посредством ссылки.

[0046] В некоторых вариантах реализации фермент гиалуронидаза представляет собой вариант или фрагмент рекомбинантной гиалуронидазы человека, который является активным и может расщеплять гиалуронан. Последовательность (SEQ ID NO: 1) фермента гиалуронидазы человека дикого типа PH20 представлена ниже в таблице 1.

Таблица 1. Аминокислотная последовательность предшественника, включая сигнальную последовательность фермента гиалуронидазы человека дикого типа PH20 (SEQ ID NO: 1)

MGVLFKFKHIFFRSFVKSSGVSQIVFTFLLIPCCLTLNFRAPPVIPNVPFLWAWNAPSEFCLG KFDEPLDMSLFSEFIGSPRINATGGVTIFYVDRLGYYPYIDSITGVTVNGGIPQKISLQDHL DKAKKDITFYMPVDNLGMAVIDWEEWRPTWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQNVQLSLTEATE KAKQEFEEKAGKDFLVETIKLGKLLRPNHLWGYYLFPDCYNHHYKKPGYNGSCFNVEIKRNDD LSWLWNESTALYPSIYLNTQQSPVAATLYVRNRVREAIRVSKIPDAKSPLPVFAYTRIVFTD QVLKFLSQDELVYTFGETVALGASGIVIWGTLSIMRSMKSCLLLDNYMETILNPYIINVTLA AKMCSQVLCQEQGVCIRKNWNSSDYHLNPDNFAIQLEKGGKFTVRGKPTLEDLEQFSEKFY CSCYSTLSCKEKADVKTDAVDVCIADGVCIDAFLKPPMETEEPQIFYNASPSTLSATMFIV SILFLIISSVASL

[0047] В некоторых вариантах реализации гиалуронидаза представляет собой растворимую гиалуронидазу. Растворимые гиалуронидазы включают любые гиалуронидазы, которые после экспрессии и секреции из клетки существуют в растворимой

форме. Такие растворимые гиалуронидазы включают, но не ограничиваясь ими, нечеловеческие растворимые гиалуронидазы, бактериальные растворимые гиалуронидазы, бычьей PH20, овечьей PH20 и их варианты. В растворимые гиалуронидазы включены полипептиды PH20 человека, которые модифицированы так, что являются растворимыми. Например, гиалуронидазы, такие как PH20 человека, которые содержат гликофосфатидилинозитольный (GPI) якорь, можно сделать растворимыми посредством усечения и удаления всех или части якорей GPI. В одном примере растворимость гиалуронидазы человека PH20, которая в обычном состоянии прикреплена к мембране с помощью якоря GPI, обеспечена усечением и удалением всех или части якорей GPI на С-конце.

[0048] Растворимые гиалуронидазы также включают нейтральные активные гиалуронидазы, такие как растворимые полипептиды PH20 человека. В конкретном примере гиалуронидаза для применения в композициях, комбинациях и способах по данному изобретению представляет собой растворимую нейтральную активную гиалуронидазу. Иллюстративные гиалуронидазы включают растворимую форму PH20 любых биологических видов, такую как растворимая форма PH20. Растворимые формы PH20 известны в данной области техники. Они включают овечьи и бычьи полипептиды PH20 и растворимые формы PH20 человека с SEQ ID NO: 1. Растворимые формы PH20 человека с SEQ ID NO: 1. Такие растворимые формы включают их усеченные формы, из которых исключены все или часть С-концевых якорей GPI, при условии, что такая гиалуронидаза является растворимой (будучи секретированной после экспрессии) и сохраняет активность гиалуронидазы. Такие формы также обычно представляют собой зрелые формы, которые после экспрессии в клетке лишены сигнального пептида. Зрелый полноразмерный PH20 человека (остатки 36-509 SEQ ID NO: 1) встречается в виде GPI-заякоренного полипептида. Как известно в данной области техники, его растворимость обеспечивается усечением на С-конце. Такое усечение может приводить к удалению всей последовательности прикреплений якорей GPI, или может приводить к удалению только некоторых из прикреплений якорей GPI. Однако полученный полипептид является растворимым. В тех случаях, в которых растворимая гиалуронидаза сохраняет часть сигнальной последовательности прикрепления якорей GPI, может сохраняться 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или более аминокислотных остатков в сигнальной последовательности прикрепления якорей GPI, при условии, что полипептид является растворимым. Полипептиды, содержащие одну или более аминокислот якоря GPI, называют удлиненными растворимыми гиалуронидазами. Специалисты в данной области техники могут определить, является ли полипептид GPI-заякоренным, с использованием способов,

известных в данной области техники. Такие способы включают, но не ограничиваясь ими, использование известных алгоритмов для прогнозирования присутствия и расположения сигнальной последовательности прикрепления якоря GPI и ω -сайта, а также проведение анализов растворимости до и после расщепления с применением фосфатидилинозит-специфической фосфолипазы C (PI-PLC) или D (PI-PLD).

[0049] Примером растворимой гиалуронидазы является растворимая PH20 человека. Получены растворимые формы рекомбинантной PH20 человека, и они могут быть использованы в композициях, комбинациях и способах, описанных в данном документе. Описание и получение таких растворимых форм PH20 представлено, например, в патентах США № 7767429, 8202517, 8431380, 8431124, 8450470 8765685, 8772246, 7871607, 7846431, 7829081, 8105586, 8187855, 8257699, 8580252, 9677061 и 9677062, содержание которых включено в данный документ посредством ссылки.

[0050] Созданы рекомбинантные растворимые формы PH20 человека, и они могут быть использованы в композициях, комбинациях и способах, предложенных в данном документе. Например, со ссылкой на SEQ ID NO: 1, которая описывает последовательность полноразмерного предшественника PH20, который содержит сигнальную последовательность (остатки 1-35), растворимые формы включают, но не ограничиваясь ими, усеченные на С-конце полипептиды человеческой PH20, представленные в SEQ ID NO: 1, имеющие С-концевые аминокислотные остатки 467, 468, 469, 470, 471, 472, 473, 474, 475, 476, 477, 478, 479, 480, 481, 482, 483, 484, 485, 486, 487, 488, 489, 490, 491, 492, 493, 494, 495, 496, 497, 498, 499 или 500 из последовательности аминокислот, представленной в SEQ ID NO: 1, или полипептиды, которые демонстрируют идентичность последовательностей с ней, составляющую по меньшей мере 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более, которые обладают активностью при нейтральном уровне pH и являются растворимыми (будучи секретированными в среду после экспрессии в клетке млекопитающего). Растворимые формы человеческой PH20 обычно включают те, которые содержат аминокислоты 36-464, указанные в SEQ ID NO: 1. Например, после экспрессии в клетках млекопитающего N-концевая сигнальная последовательность из 35 аминокислот отщепляется при процессировании, и секретируется зрелая форма белка. Таким образом, зрелые растворимые полипептиды включают те, которые содержат аминокислоты 36 – 467, 468, 469, 470, 471, 472, 473, 474, 475, 476, 477, 478, 479, 480, 481, 482 и 483 из SEQ ID NO: 1. Примерами растворимых гиалуронидаз являются растворимые полипептиды PH20 человека, которые имеют 442, 443, 444, 445, 446 или 447 аминокислот в длину, такие как растворимые полипептиды PH20, которые имеют последовательность аминокислот, указанную в виде аминокислотных остатков 36-482, 36-477, 366-478, 36-479,

36-480, 36-481 и 36-483 SEQ ID NO: 1, а также их варианты, которые сохраняют активность гиалуронидазы и имеют идентичность последовательностей, составляющую, например, по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% с последовательностью аминокислот, указанную в качестве аминокислотных остатков 36-482, 36-477, 36-478, 36-479, 36-480, 36-481 и 36-483 в SEQ ID NO: 1. Такие растворимые формы рекомбинантного PH20 человека описаны, например, в патентах США № 7767429, 8202517, 8431380, 8431124, 8450470 8765685, 8772246, 7871607, 7846431, 7829081, 8105586, 8187855, 8257699, 8580252, 9677061 и 9677062, содержание которых включено в данный документ посредством ссылки. Обычно растворимые формы PH20 получают, используя системы экспрессии белков, которые облегчают правильное N-гликозилирование для обеспечения сохранения активности полипептиды, поскольку гликозилирование является важным для каталитической активности и стабильности гиалуронидаз. Такие клетки включают, например, клетки яичника китайских хомячков (CHO) (например, клетки CHO DG44).

[0051] Растворимый рекомбинантный PH20 человека может быть получен рекомбинантно, что включает рекомбинантные формы PH20 человека. Один из таких продуктов упоминается как гHuPH20; гHuPH20 относится к композиции, полученной при экспрессии в клетке, такой как клетка CHO, нуклеиновой кислоты, кодирующей остатки 36-482 SEQ ID NO: 1, обычно связанной с нативной или гетерологичной сигнальной последовательностью (остатки 1-35 SEQ ID NO: 1). гHuPH20 получают экспрессией молекулы нуклеиновой кислоты, например, кодирующих аминокислот 1-482 (указанных в SEQ ID NO: 1). При посттрансляционном процессинге происходит удаление сигнальной последовательности из 35 аминокислот с образованием полипептида или смеси полипептидов. При получении в культуральной среде существует гетерогенность на С-конце, в результате чего продукт, обозначенный гHuPH20, содержит смесь частиц, которые заканчиваются, со ссылкой на SEQ ID NO: 1, на остатках 477, 478, 479, 480, 481 и 482, присутствующих в различных количествах. Гиалуронидаза гHuPH20 выбрана из группы, состоящей из полипептидов, со ссылкой на SEQ ID NO:1, соответствующих аминокислотным остаткам 36 – 477; аминокислотным остаткам 36-478, аминокислотным остаткам 36 – 479, аминокислотным остаткам 36 – 480, аминокислотным остаткам 36 – 481 и аминокислотным остаткам 36 – 482. Обычно наиболее распространенные частицы представляют собой полипептид из 446 аминокислот, соответствующий остаткам 36-481 в SEQ ID NO: 1.

[0052] Растворимые полипептиды PH20 человека включают те, которые упомянуты как удлиненная растворимая гиалуронидазы. Удлиненные растворимые гиалуронидазы могут

быть получены при осуществлении С-концевых усечений любой природной GPI-заякоренной гиалуронидазы, так что полученный полипептид является растворимым и содержит один или более аминокислотных остатков из сигнальной последовательности присоединения якоря GPI (см., например, патент США № 8927249). Удлиненные растворимые полипептиды PH20 человека включают те, которые заканчиваются на любом из остатков около 495-500 SEQ ID NO: 1. Зрелые формы начинаются на 36 остатке. Удлиненные растворимые полипептиды PH20 человека являются нейтральными активными и растворимыми. Они могут содержать аминокислотные замены и имеют по меньшей мере 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95% с удлиненными растворимыми полипептидами PH20.

[0053] Гиалуронидазы могут быть получены рекомбинантно, или могут быть очищены или частично очищены из природных источников, таких как, например, экстракты семенников. Способы получения рекомбинантных белков, включая рекомбинантные гиалуронидазы, известны в данной области техники. Растворимый PH20 получают в клетках, которые облегчают правильное N-гликозилирование для сохранения активности, таких как клетки CHO (например, клетки CHO DG44).

[0054] Гликозилирование, включая N- и O-связанное гликозилирование некоторых гиалуронидаз, включая растворимые гиалуронидазы PH20, может быть важным для их каталитической активности и стабильности. Для некоторых гиалуронидаз удаление N-связанного гликозилирования может приводить к почти полной инактивации активности гиалуронидазы. N-Связанные олигосахариды входят в несколько основных типов (олигоманнозные, комплексные, гибридные, сульфатированные), все из которых содержат центральные структуры (Man) 3-GlcNAc-GlcNAc-, присоединенные через амидный атом азота остатков Asn, которые входят в последовательности -Asn-Xaa-Thr/Ser- (где Xaa не представляет собой Pro). Гликозилирование в сайте -Asn-Xaa-Cys- описано для коагуляции белка C. В некоторых случаях гиалуронидаза, такая как гиалуронидаза PH20, может содержать N-гликозидные и O-гликозидные связи. Например, PH20 имеет O-связанные олигосахариды, а также N-связанные олигосахариды. Существует шесть потенциальных N-связанных сайтов гликозилирования на N82, N166, N235, N254, N368, N393 PH20 человека, пример которой представлен в SEQ ID NO: 1.

[0055] В некоторых вариантах реализации фермент гиалуронидаза представляет собой вариант или фрагмент гиалуронидазы PH20, содержащий одно или более присоединений, делеций или замен аминокислотных остатков в аминокислотной последовательности PH20 дикого типа, такой как вариант или фрагмент гиалуронидазы PH20, содержащий одно или более присоединений, делеций или замен аминокислотных остатков в аминокислотной

последовательности зрелой PH20 дикого типа. В некоторых вариантах реализации вариант или фрагмент гиалуронидазы PH20 содержит одну или более аминокислотных замен, присоединений или делеций, которые расположены в области 8 альфа-спирали PH20. В некоторых вариантах реализации вариант или фрагмент гиалуронидазы PH20 содержит одну или более аминокислотных замен, присоединений или делеций, которые расположены в линкерной области между 7 альфа-спиралью и 8 альфа-спиралью PH20. В некоторых вариантах реализации вариант или фрагмент гиалуронидазы PH20 содержит аминокислотную последовательность от L36 до S490 PH20 дикого типа (т.е. L36 – S490 SEQ ID NO: 1)

[0056] В различных вариантах реализации вариант PH20 или ее фрагмент имеет гомологию аминокислотных последовательностей, составляющую по меньшей мере 80%, с аминокислотной последовательностью фермента PH20 дикого типа с SEQ ID NO: 1, например, по меньшей мере 81%, по меньшей мере 82%, по меньшей мере 83%, по меньшей мере 84%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% и включая по меньшей мере 99%.

[0057] В некоторых вариантах реализации вариант или фрагмент гиалуронидазы PH20 содержит одну или более аминокислотных замен в одном или более положениях, выбранных из T341 – N363, например, в одном или более положениях, выбранных из T341, L342, S343, I344, M345, S347, M348, K349, L352, L353, L354, D355, N356, E359, I361 и N363, но не ограничиваясь ими. Например, замена аминокислотного остатка в одном или более положениях, выбранных из T341, L342, S343, I344, M345, S347, M348, K349, L352, L353, L354, D355, N356, E359, I361 и N363, может представлять собой одну или более замен аминокислотных остатков, выбранных из T341A, T341C, T341D, T341G, T341S, L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, D355K, E359D, I361T и N363G, но не ограничиваясь ими. В различных вариантах реализации замены аминокислотных остатков описаны кодом из цифр и букв, таким как «T455S», который означает, что аминокислотный остаток треонина («Т») в числовом положении 455 данной SEQ ID NO. заменен на аминокислотный остаток серина («S»). В некоторых вариантах реализации вариант или фрагмент гиалуронидазы PH20 содержит одну или более замен аминокислотных остатков, выбранных из T341S, L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D и I361T. В некоторых вариантах реализации вариант или фрагмент гиалуронидазы PH20 содержит одну или более аминокислотных замен, выбранных из M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A,

L354I, D355K, N356E, E359D и I361T, и может дополнительно содержать одну или более замен аминокислотных остатков, выбранных из группы, состоящей из T341A, T341C, T341D, T341G, T341S, L342W, S343E, I344N и N363G, но не ограничиваясь ими.

[0058] В некоторых вариантах реализации вариант или фрагмент гиалуронидазы PH20 содержит одну или более замен аминокислотных остатков, выбранных из: (a) T341S, L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D и I361T; (b) L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D и I361T; (c) M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D, I361T и N363G; (d) T341G, L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D и I361T; (e) T341A, L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D и I361T; (f) T341C, L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D и I361T; (g) T341D, L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D и I361T; (h) I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D и I361T; и (i) S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D и I361T.

[0059] В некоторых вариантах реализации вариант или фрагмент гиалуронидазы PH20 содержит усечение аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 1 перед F38 на N-конце. В некоторых случаях вариант или фрагмент гиалуронидазы PH20 содержит усечение аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 1 перед аминокислотным остатком, выбранным из M1 – P42. Например, вариант или фрагмент гиалуронидазы PH20 содержит усечение до аминокислотного остатка L36, N37, F38, R39, A40, P41 или P42 на N-конце, так что один или более аминокислотных остатков на N-конце являются удаленными. В различных вариантах реализации выражение «усечение до аминокислотного остатка, выбранного из M1 – P42, на N-конце» означает, что отщеплен или удален аминокислотный остаток, расположенный непосредственно перед аминокислотным остатком M1 – P42 на N-конце.

[0060] В некоторых вариантах реализации вариант или фрагмент гиалуронидазы PH20 содержит усечение аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 1 после аминокислоты, выбранной из V455 – S490. Например, вариант или фрагмент гиалуронидазы PH20 содержит усечение аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 1 после аминокислотного остатка V455, C458, D461, C464, I465, D466, A467, F468, K470, P471, P472, M473, E474, T475, E476, E477, P478, Q479, I480, F481, Y482, N483, A484, P486, T488 или S490, так что один или более аминокислотных остатков на C-конце являются

удаленными. В различных вариантах реализации выражение «усечение после аминокислотного остатка, выбранного из V455 – S490, на С-конце» означает, что отщеплен или удален аминокислотный остаток, расположенный непосредственно после аминокислотного остатка V455 – S490 на С-конце.

[0061] В некоторых вариантах реализации вариант или фрагмент гиалуронидазы PH20 может иметь аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1 и может содержать одну или более замен аминокислотных остатков, выбранных из T341S, L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D и I361T, а также усечение до F38 на N-конце и усечение после F468 на С-конце (см. HP46, SEQ ID NO: 99, ниже в таблице 2). В некоторых случаях вариант или фрагмент гиалуронидазы PH20 может иметь аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1 и может содержать одну или более замен аминокислотных остатков, выбранных из T341A, T341C, T341G, S343E, M345T, K349E, L353A, L354I, N356E и I361T. В некоторых случаях одна или более замен аминокислотных остатков расположены в области 8 альфа-спирали (S347 – C381) и/или в линкерной области (A333 – R346) между 7 альфа-спиралью и 8 альфа-спиралью. Например, аминокислотная замена в линкерной области между альфа-спиралью 7 и альфа-спиралью 8 может содержать замену одного или более аминокислотных остатков в области, состоящей из аминокислотных остатков T341 – N363, T341 – I361, L342 – I361, L342 – I361, S343 – I361, I344 – I361, M345 – I361 или M345 – N363.

[0062] В некоторых вариантах реализации вариант или фрагмент гиалуронидазы PH20 имеет одну или более замен аминокислотных остатков, расположенных в области 8 альфа-спирали (S347 – C381) и/или в линкерной области (A333 – R346) между 7 альфа-спиралью и 8 альфа-спиралью PH20 дикого типа (например, зрелой PH20 дикого типа), и может быть замещена несколькими аминокислотными остатками аминокислотной последовательности области человеческого HYAL1, как указано далее в таблицах 2 и 3, имеющей последовательность с ID NO: 2.

Таблица 2. Аминокислотная последовательность человеческого HYAL1 дикого типа (SEQ ID NO: 2)

MAAHLLPICALFLTLLDMAQGFRGPLLPNRPFTTVWNANTQWCLERHGVVDVDSVFD
 VVANPGQTFRGPDMTIFYSSQLGTYPYYTPTGEPVFGGLPQNASLIAHLARTFQDILAAIPAP
 DFSGLAVIDWEAWRPRWAFNWDTKDIYRQSRALVQAQHPDWPAPQVEAVAQDQFQG
 AARAWMAGTLQLGRALRPRGLWGFYGFPCYNYDFLSPNYTGQCPSGIRAQNDQLGWL
 WGQSRALYPSIYMPAVLEGTGKSQMYVQHRVAEAFRVAVAAGDPNLPVLPYVQIFYDTTN
 HFLPLDELEHSLGESAAQGAAGVWLWVSWENTRTKESQAIKEYMDTTLGPFILNVTSGALL
 CSQALCSGHGRCVVRTSHPKALLLNPAFSIQLTPGGGPLSLRGALSLEDQAQMAVEFKCR
 CYPGWQAPWCERKSMW

Таблица 3. Сравнение альфа-спиралей и аминокислотных последовательностей PH20 и HYAL1

Альфа-спираль	Аминокислотная последовательность PH20	Аминокислотная последовательность HYAL1
Альфа-спираль 1	P56-D65	N39-G48
Альфа-спираль 3	S119-M135	S101-I117
Альфа-спираль 4'	K161-N176	K144-H159
Альфа-спираль 4	S180-R211	P163-R194
Альфа-спираль 5	F239-S256	P222-S239
Альфа-спираль 6	A274-D293	K257-G277
Альфа-спираль 7	S317-G332	P299-G314
Альфа-спираль 8	S347-C381	T329-C363

[0063] В некоторых вариантах реализации вариант или фрагмент гиалуронидазы PH20 имеет аминокислотную последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 60 – 115, указанных в таблице 4.

Таблица 4

Название варианта или фрагмента	SEQ ID NO.	Замена	Аминокислотная последовательность
HM1	60	12 аминокислотных замен M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D, I361T и N363G	LNFRAPPVIPNVPFLWAWNAPSEFCLGKFDEPLDM SLFSFIGSPRINATGQGVTFYVDRLGYYPYIDSI TGVTVNGGIPQKISLQDHLDAKAKDITFYMPVDNL GMAVIDWEEWRPTWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQ NVQLSLTEATEKAKQEFKAGKDFLVETIKLGKLL RPNHLWGYLLFPDCYNHHYKKPGYNGSCFNVEIKR NDDLSQLWNNESTALYPSIYLNTQQSPVAATLYVRN RVREAIRVSKIPDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKF LSQDELVYTFGETVALGASGIVIWGTLSTI <u>TRTKES</u> <u>CQAIKEYMDTTLG</u> PYIINVTLAAKMCSQVLCQEQQ VCIRKNWNSSDYLHLNPDNFAIQLEKGGKFTVRGK PTLEDLEQFSEKFYCSCYSTLSCKEKADVKTDAV DVCADGVCIDAFLKPPMETEEPQIFYNASPSTLS
HM2	61	7 аминокислотных замен Y365F, I367L, L371S, A372G, K374L, M375L и V379A	LNFRAPPVIPNVPFLWAWNAPSEFCLGKFDEPLDM SLFSFIGSPRINATGQGVTFYVDRLGYYPYIDSI TGVTVNGGIPQKISLQDHLDAKAKDITFYMPVDNL GMAVIDWEEWRPTWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQ NVQLSLTEATEKAKQEFKAGKDFLVETIKLGKLL RPNHLWGYLLFPDCYNHHYKKPGYNGSCFNVEIKR NDDLSQLWNNESTALYPSIYLNTQQSPVAATLYVRN RVREAIRVSKIPDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKF LSQDELVYTFGETVALGASGIVIWGTLSTI <u>TRTKES</u> <u>CQAIKEYMDTTLNPFILNVTSGALLCSQALCQEQQ</u> VCIRKNWNSSDYLHLNPDNFAIQLEKGGKFTVRGK PTLEDLEQFSEKFYCSCYSTLSCKEKADVKTDAV DVCADGVCIDAFLKPPMETEEPQIFYNASPSTLS

HM3	62	19 аминокислотных замен M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D, I361T, N363G, Y365F, I367L, L371S, A372G, K374L, M375L и V379A	LNFRAPPVIPNVPFLWAWNAPSEFCLGKFDEPLDM SLFSFIGSPRINATGQGVTFYVDRDLGYYPYIDSI TGVTVNGGIPQKISLQDHLDDKAKKDITFYMPVDNL GMAVIDWEEWRPTWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQ NVQLSLTEATEKAKQEFKAGKDFLVETIKLGKLL RPNHLWGYLLFPDCYNHHYKPGYNGSCFNVEIKR NDDLSWLWNESTALYPSIYLNTQQSPVAATLYVRN RVREAIRVSKIPDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKF LSQDELVYTFGETVALGASGIVIWGTLSTI <u>TRTKES</u> <u>CQAIKEYMDTTLGPFILNVTSGALLCSQALCQE</u> EQG VCIRKNWNSSDYLHLNPDNFIAIQLEKGGKFTVRGK PTLEDLEQFSEKFCSCYSTLSCKEKADVKTDAV DVCIDGVCIDAFKPPMETEETPQIFYNASPSTLS
HM4	63	17 аминокислотных замен G340V, T341S, L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D, I361T и N363G	LNFRAPPVIPNVPFLWAWNAPSEFCLGKFDEPLDM SLFSFIGSPRINATGQGVTFYVDRDLGYYPYIDSI TGVTVNGGIPQKISLQDHLDDKAKKDITFYMPVDNL GMAVIDWEEWRPTWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQ NVQLSLTEATEKAKQEFKAGKDFLVETIKLGKLL RPNHLWGYLLFPDCYNHHYKPGYNGSCFNVEIKR NDDLSWLWNESTALYPSIYLNTQQSPVAATLYVRN RVREAIRVSKIPDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKF LSQDELVYTFGETVALGASGIVIW <u>VSWENTRTKES</u> <u>CQAIKEYMDTTLGPYIINVTLAAKMCSQVLCQE</u> EQG VCIRKNWNSSDYLHLNPDNFIAIQLEKGGKFTVRGK PTLEDLEQFSEKFCSCYSTLSCKEKADVKTDAV DVCIDGVCIDAFKPPMETEETPQIFYNASPSTLS
HM6	64	11 аминокислотных замен M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D и I361T	LNFRAPPVIPNVPFLWAWNAPSEFCLGKFDEPLDM SLFSFIGSPRINATGQGVTFYVDRDLGYYPYIDSI TGVTVNGGIPQKISLQDHLDDKAKKDITFYMPVDNL GMAVIDWEEWRPTWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQ NVQLSLTEATEKAKQEFKAGKDFLVETIKLGKLL RPNHLWGYLLFPDCYNHHYKPGYNGSCFNVEIKR NDDLSWLWNESTALYPSIYLNTQQSPVAATLYVRN RVREAIRVSKIPDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKF LSQDELVYTFGETVALGASGIVIWGTLSTI <u>TRTKES</u> <u>CQAIKEYMDTTLNPHYIINVTLAAKMCSQVLCQE</u> EQG VCIRKNWNSSDYLHLNPDNFIAIQLEKGGKFTVRGK PTLEDLEQFSEKFCSCYSTLSCKEKADVKTDAV DVCIDGVCIDAFKPPMETEETPQIFYNASPSTLS

HM7	65	16 аминокислотных замен G340V, T341S L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D и I361T	LNFRAPPVIPNVPFLWAWNAPSEFCLGKFDEPLDM SLFSFIGSPRINATGQGVTFYVVDRLGYYPYIDSI TGVTVNGGIPQKISLQDHLDAKAKDITFYMPVDNL GMAVIDWEEWRPTWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQ NVQLSLTEATEKAKQEFKAGKDFLVETIKLGKLL RPNHLWGYLLFPDCYNHHYKPGYNGSCFNVEIKR NDDLSWLWNESTALYPSIYLNTQQSPVAATLYVRN RVREAIRVSKIPDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKF LSQDELVYTFGETVALGASGIVIW VSWENTRTKES CQAIKEYMDTT LNPIIINVTLAAKMCSQVLCQEQG VCIRKNWNSSDYLHLNPDNFAIQLEKGGKFTVRGK PTLEDLEQFSEKFYCSCYSTLSCKEKADVKTDAV DVCIADGVCIDAFKPPMETEETPQIFYNASPSTLS
HM8	66	12 аминокислотных замен I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D и I361T	LNFRAPPVIPNVPFLWAWNAPSEFCLGKFDEPLDM SLFSFIGSPRINATGQGVTFYVVDRLGYYPYIDSI TGVTVNGGIPQKISLQDHLDAKAKDITFYMPVDNL GMAVIDWEEWRPTWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQ NVQLSLTEATEKAKQEFKAGKDFLVETIKLGKLL RPNHLWGYLLFPDCYNHHYKPGYNGSCFNVEIKR NDDLSWLWNESTALYPSIYLNTQQSPVAATLYVRN RVREAIRVSKIPDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKF LSQDELVYTFGETVALGASGIVIWGTL SNTRTKES CQAIKEYMDTT LNPIIINVTLAAKMCSQVLCQEQG VCIRKNWNSSDYLHLNPDNFAIQLEKGGKFTVRGK PTLEDLEQFSEKFYCSCYSTLSCKEKADVKTDAV DVCIADGVCIDAFKPPMETEETPQIFYNASPSTLS
HM9	67	13 аминокислотных замен S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D и I361T	LNFRAPPVIPNVPFLWAWNAPSEFCLGKFDEPLDM SLFSFIGSPRINATGQGVTFYVVDRLGYYPYIDSI TGVTVNGGIPQKISLQDHLDAKAKDITFYMPVDNL GMAVIDWEEWRPTWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQ NVQLSLTEATEKAKQEFKAGKDFLVETIKLGKLL RPNHLWGYLLFPDCYNHHYKPGYNGSCFNVEIKR NDDLSWLWNESTALYPSIYLNTQQSPVAATLYVRN RVREAIRVSKIPDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKF LSQDELVYTFGETVALGASGIVIWGTL ENTRTKES CQAIKEYMDTT LNPIIINVTLAAKMCSQVLCQEQG VCIRKNWNSSDYLHLNPDNFAIQLEKGGKFTVRGK PTLEDLEQFSEKFYCSCYSTLSCKEKADVKTDAV DVCIADGVCIDAFKPPMETEETPQIFYNASPSTLS

HM10	68	14 аминокислотных замен L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D и I361T	LNFRAPPVIPNVPFLWAWNAPSEFCLGKFDEPLDM SLFSFIGSPRINATGQGVTFYVDRLGYYPYIDSI TGVTVNGGIPQKISLQDHLDAKAKDITFYMPVDNL GMAVIDWEEWRPTWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQ NVQLSLTEATEKAKQEFEEKAGKDFLVETIKLGKLL RPNHLWGYLLFPDCYNHHYKPGYNGSCFNVEIKR NDDLSQLWNNESTALYPSIYLNTQQSPVAATLYVRN RVREAIRVSKIPDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKF LSQDELVYTFGETVALGASGIVIWGTT WENTRTKES CQAIKEYMDTTL NPYIINVTLAAKMCSQVLCQEQQ VCIRKNWNSSDYLHLNPDNFAIQLEKGGKFTVRGK PTLEDLEQFSEKFYCSCYSTLSCKEKADVKTDAV DVCIDGVCIDAFKPPMETEEPQIFYNASPSTLS
HM11	69	13 аминокислотных замен M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D, I361T, Y365F и I367L	LNFRAPPVIPNVPFLWAWNAPSEFCLGKFDEPLDM SLFSFIGSPRINATGQGVTFYVDRLGYYPYIDSI TGVTVNGGIPQKISLQDHLDAKAKDITFYMPVDNL GMAVIDWEEWRPTWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQ NVQLSLTEATEKAKQEFEEKAGKDFLVETIKLGKLL RPNHLWGYLLFPDCYNHHYKPGYNGSCFNVEIKR NDDLSQLWNNESTALYPSIYLNTQQSPVAATLYVRN RVREAIRVSKIPDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKF LSQDELVYTFGETVALGASGIVIWGTL SI TRTKES CQAIKEYMDTTL NP FIL NVTLAAKMCSQVLCQEQQ VCIRKNWNSSDYLHLNPDNFAIQLEKGGKFTVRGK PTLEDLEQFSEKFYCSCYSTLSCKEKADVKTDAV DVCIDGVCIDAFKPPMETEEPQIFYNASPSTLS
HM12	70	15 аминокислотных замен M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D, I361T, Y365F, I367L, L371S и A372G	LNFRAPPVIPNVPFLWAWNAPSEFCLGKFDEPLDM SLFSFIGSPRINATGQGVTFYVDRLGYYPYIDSI TGVTVNGGIPQKISLQDHLDAKAKDITFYMPVDNL GMAVIDWEEWRPTWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQ NVQLSLTEATEKAKQEFEEKAGKDFLVETIKLGKLL RPNHLWGYLLFPDCYNHHYKPGYNGSCFNVEIKR NDDLSQLWNNESTALYPSIYLNTQQSPVAATLYVRN RVREAIRVSKIPDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKF LSQDELVYTFGETVALGASGIVIWGTL SI TRTKES CQAIKEYMDTTL NP FIL NVT SGA KMCSQVLCQEQQ VCIRKNWNSSDYLHLNPDNFAIQLEKGGKFTVRGK PTLEDLEQFSEKFYCSCYSTLSCKEKADVKTDAV DVCIDGVCIDAFKPPMETEEPQIFYNASPSTLS

HM13	71	11 аминокислотных замен M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D и I361T, а также усечение перед F38 на N- конце	FRAPPVIPNVPFLWAWNAPSEFCLGKFDEPLDMSL FSFIGSPRINATGQGVTFYVDRLGYYPYIDSITG VTVNGGIPQKISLQDHLDAKAKDITFYMPVDNLGM AVIDWEEWRPTWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQNV QLSLTEATEKAKQEFKAGKDFLVETIKLGKLLRP NHLWGYLLFPDCYNHHYKPGYNGSCFNVEIKRND DLSWLWNESTALYPSIYLNTQQSPVAATLYVRNRV REAIRVSKIPDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKFLS QDELVYTFGETVALGASGIVIWGTLST <u>TRTKESQ</u> <u>AIKEYMDT</u> TLNPYIINVTLAAKMCSQVLCQEQGVC IRKNWNSSDYLHLNPDNFAIQLEKGGKFTVRGKPT LEDLEQFSEKFYCSCYSTLSCKEKADVKTDAVDV CIADGVCIDAFKPPMETEEPQIFYNASPSTLS
HM14	72	11 аминокислотных замен M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D и I361T, а также усечение после I465 на C- конце	LNFRAPPVIPNVPFLWAWNAPSEFCLGKFDEPLDM SLFSFIGSPRINATGQGVTFYVDRLGYYPYIDSI TGVTVNGGIPQKISLQDHLDAKAKDITFYMPVDNL GMAVIDWEEWRPTWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQ NVQLSLTEATEKAKQEFKAGKDFLVETIKLGKLL RPNHLWGYLLFPDCYNHHYKPGYNGSCFNVEIKR NDDLWLWNESTALYPSIYLNTQQSPVAATLYVRN RVREAIRVSKIPDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKF LSQDELVYTFGETVALGASGIVIWGTLST <u>TRTKES</u> <u>CQAIKEYMDT</u> TLNPYIINVTLAAKMCSQVLCQEQG VCIRKNWNSSDYLHLNPDNFAIQLEKGGKFTVRGK PTLEDLEQFSEKFYCSCYSTLSCKEKADVKTDAV DVCIDAGVCI
HM15	73	11 аминокислотных замен M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D и I361T, а также усечение перед F468 на C- конце	LNFRAPPVIPNVPFLWAWNAPSEFCLGKFDEPLDM SLFSFIGSPRINATGQGVTFYVDRLGYYPYIDSI TGVTVNGGIPQKISLQDHLDAKAKDITFYMPVDNL GMAVIDWEEWRPTWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQ NVQLSLTEATEKAKQEFKAGKDFLVETIKLGKLL RPNHLWGYLLFPDCYNHHYKPGYNGSCFNVEIKR NDDLWLWNESTALYPSIYLNTQQSPVAATLYVRN RVREAIRVSKIPDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKF LSQDELVYTFGETVALGASGIVIWGTLST <u>TRTKES</u> <u>CQAIKEYMDT</u> TLNPYIINVTLAAKMCSQVLCQEQG VCIRKNWNSSDYLHLNPDNFAIQLEKGGKFTVRGK PTLEDLEQFSEKFYCSCYSTLSCKEKADVKTDAV DVCIDAGVCIDAF

HM16	74	11 аминокислотных замен M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D и I361T, а также усечение после P471 на С- конце	LNFRAPPVIPNV PFLWAWNAPSEFCLGKFDEPLDM SLFSFIGSPRINATGQGV TIFYVDRLGYYPYIDSI TGVTVNGGIPQKISLQDHL DKA KKDITFYMPVDNL GMAVIDWEEWRPTWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQ NVQLSLTEATEKAKQEF EKAGKDFLVETIKLGKLL RPNHLWGY YLFPDCYNH HYKKPGYNGSCFNVEIKR NDDL SWLWNESTALYPSIYLNTQQSPVAATLYVRN RVREAIRVSKIPDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKF LSQDELVYTFGETVALGASGIVIWGTLST <u>TRTKES</u> <u>COAIKEYMDTTL</u> NPYI INVTLAAKMCSQVLCQEQG VCIRKNWNSSDYLHLNPDNFAIQLEKGGKFTVRGK PTLEDLEQFSEKFYCSCYSTLSCKEKADV KDTDAV DVC IADGVCIDAFLKP
HM17	75	Замена L36~V47 на FRGPLLPNR и аминокислотные замены M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D и I361T	<u>FRGPLLPNR</u> PFLWAWNAPSEFCLGKFDEPLDMSLF SFIGSPRINATGQGV TIFYVDRLGYYPYIDSITGV TVNGGIPQKISLQDHL DKA KKDITFYMPVDNLGMA VIDWEEWRPTWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQNVQ LSL TEATEKAKQEF EKAGKDFLVETIKLGKLLRPN HLWGY YLFPDCYNH HYKKPGYNGSCFNVEIKRNDD LSWLWNESTALYPSIYLNTQQSPVAATLYVRNRVR EAIRVSKIPDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKFLSQ DELVYTFGETVALGASGIVIWGTLST <u>TRTKES</u> <u>COA</u> <u>IKEYMDTTL</u> NPYI INVTLAAKMCSQVLCQEQGVCI RKNWNSSDYLHLNPDNFAIQLEKGGKFTVRGKPTL EDLEQFSEKFYCSCYSTLSCKEKADV KDTDAVDVC IADGVCIDAFLKPPMETEEPQIFYNASPSTLS
HM18	76	Замена L36~A52 на FRGPLLPNRPFTT V и аминокислотные замены M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D и I361T	<u>FRGPLLPNRPFTTV</u> WNA PSEFCLGKFDEPLDMSLF SFIGSPRINATGQGV TIFYVDRLGYYPYIDSITGV TVNGGIPQKISLQDHL DKA KKDITFYMPVDNLGMA VIDWEEWRPTWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQNVQ LSL TEATEKAKQEF EKAGKDFLVETIKLGKLLRPN HLWGY YLFPDCYNH HYKKPGYNGSCFNVEIKRNDD LSWLWNESTALYPSIYLNTQQSPVAATLYVRNRVR EAIRVSKIPDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKFLSQ DELVYTFGETVALGASGIVIWGTLST <u>TRTKES</u> <u>COA</u> <u>IKEYMDTTL</u> NPYI INVTLAAKMCSQVLCQEQGVCI RKNWNSSDYLHLNPDNFAIQLEKGGKFTVRGKPTL EDLEQFSEKFYCSCYSTLSCKEKADV KDTDAVDVC IADGVCIDAFLKPPMETEEPQIFYNASPSTLS

HM19	77	14 аминокислотных замен L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D и I361T, усечение перед F38 на N- конце и усечение после K470 на C- конце	FRAPPVIPNVPFLWAWNAPSEFCLGKFDEPLDMSL FSFIGSPRINATGQGVTIFYVDRLGYYPYIDSITG VTVNGGIPQKISLQDHLDDKAKKDITFYMPVDNLGM AVIDWEEWRPTWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQNV QLSLTEATEKAKQEFKAGKDFLVETIKLGKLLRP NHLWGYLLFPDCYNHHYKKPGYNGSCFNVEIKRND DLSWLWNESTALYPSIYLNTQQSPVAATLYVRNRV REAIRVSKIPDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKFLS QDELVYTFGETVALGASGIVIWGT <u>WENTRTKESQ</u> <u>AIKEYMDTTL</u> NPYIIINVTLAAKMCSQVLCQEQQVC IRKNWNSSDYLHLNPDNFAIQLEKGGKFTVRGKPT LEDLEQFSEKFYCSCYSTLSCKEKADVKTDAVDV CIADGVCIDAF
HM20	78	14 аминокислотных замен L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D и I361T, усечение перед F38 на N- конце и усечение после F468 на C- конце	FRAPPVIPNVPFLWAWNAPSEFCLGKFDEPLDMSL FSFIGSPRINATGQGVTIFYVDRLGYYPYIDSITG VTVNGGIPQKISLQDHLDDKAKKDITFYMPVDNLGM AVIDWEEWRPTWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQNV QLSLTEATEKAKQEFKAGKDFLVETIKLGKLLRP NHLWGYLLFPDCYNHHYKKPGYNGSCFNVEIKRND DLSWLWNESTALYPSIYLNTQQSPVAATLYVRNRV REAIRVSKIPDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKFLS QDELVYTFGETVALGASGIVIWGT <u>WENTRTKESQ</u> <u>AIKEYMDTTL</u> NPYIIINVTLAAKMCSQVLCQEQQVC IRKNWNSSDYLHLNPDNFAIQLEKGGKFTVRGKPT LEDLEQFSEKFYCSCYSTLSCKEKADVKTDAVDV CIADGVCIDAF
HM21	79	15 аминокислотных замен T341S, L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D и I361T	LNFRAPPVIPNVPFLWAWNAPSEFCLGKFDEPLDM SLFSFIGSPRINATGQGVTIFYVDRLGYYPYIDSI TGVTVNGGIPQKISLQDHLDDKAKKDITFYMPVDNL GMAVIDWEEWRPTWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQ NVQLSLTEATEKAKQEFKAGKDFLVETIKLGKLL RPNHLWGYLLFPDCYNHHYKKPGYNGSCFNVEIKR NDDLSWLWNESTALYPSIYLNTQQSPVAATLYVRN RVREAIRVSKIPDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKF LSQDELVYTFGETVALGASGIVIWGT <u>SWENTRTKES</u> <u>COAIKEYMDTTL</u> NPYIIINVTLAAKMCSQVLCQEQQ VCIRKNWNSSDYLHLNPDNFAIQLEKGGKFTVRGK PTLEDLEQFSEKFYCSCYSTLSCKEKADVKTDAV DVCIDGVCIDAF

HM24	80	11 аминокислотных замен M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D и I361T, а также усечение перед A40 на N- конце	APPVIPNVPFLWAWNAPSEFCLGKFDEPLDMSLFS FIGSPRINATGQGVTIFYVDRLGYYPYIDSITGVT VNGGIPQKISLQDHLDKAKKDITFYMPVDNLGMAV IDWEEWRPTWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQNVQL SLTEATEKAKQEFEEKAGKDFLVETIKLGKLLRPNH LWGYLFPDCYNHHYKKPGYNGSCFNVEIKRNDL SWLWNESTALYPSIYLNTQQSPVAATLYVRNRVRE AIRVSKIPDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKFLSQD ELVYTFGETVALGASGIVIWGTLST <u>TR</u> <u>TKE</u> <u>SCQAI</u> <u>KEYMDT</u> <u>TL</u> NPYIINVTLAAKMCSQVLCQEQQVCIR KNWNSSDYLHLNPDNFAIQLEKGGKFTVRGKPTLE DLEQFSEKFYCSCYSTLSCKEKADVKTDAVDVCI ADGVCIDAFLKPPMETEEPQIFYNASPSTLS
HM25	81	11 аминокислотных замен M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D и I361T, усечение перед P42 на N-конце	PVIPNVPFLWAWNAPSEFCLGKFDEPLDMSLFSFI GSPRINATGQGVTIFYVDRLGYYPYIDSITGVTVN GGIPQKISLQDHLDKAKKDITFYMPVDNLGMAVID WEEWRPTWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQNVQLSL TEATEKAKQEFEEKAGKDFLVETIKLGKLLRPNHLW GYLFPDCYNHHYKKPGYNGSCFNVEIKRNDL SWLWNESTALYPSIYLNTQQSPVAATLYVRNRVREAI RVSKIPDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKFLSQDEL VYTFGETVALGASGIVIWGTLST <u>TR</u> <u>TKE</u> <u>SCQAIKE</u> <u>YMDT</u> <u>TL</u> NPYIINVTLAAKMCSQVLCQEQQVCIRKN WNWNSSDYLHLNPDNFAIQLEKGGKFTVRGKPTLEDL EQFSEKFYCSCYSTLSCKEKADVKTDAVDVCIAD GVCIDAFLKPPMETEEPQIFYNASPSTLS
HM29	82	14 аминокислотных замен L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D и I361T, усечение перед L36 на N- конце, а также усечение после A467 на C-конце	LNFRAPPVIPNVPFLWAWNAPSEFCLGKFDEPLDM SLFSFIGSPRINATGQGVTIFYVDRLGYYPYIDSI TGVTVNNGGIPQKISLQDHLDKAKKDITFYMPVDNL GMAVIDWEEWRPTWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQ NVQLSLTEATEKAKQEFEEKAGKDFLVETIKLGKLL RPNHLWGYLFPDCYNHHYKKPGYNGSCFNVEIKR NDLWSWLWNESTALYPSIYLNTQQSPVAATLYVRN RVREAIRVSKIPDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKF LSQDELVYTFGETVALGASGIVIWGTL <u>WENTR</u> <u>TKE</u> <u>CQAIKEYMDT</u> <u>TL</u> NPYIINVTLAAKMCSQVLCQEQQ VCIRKNWNSSDYLHLNPDNFAIQLEKGGKFTVRGK PTLEDLEQFSEKFYCSCYSTLSCKEKADVKTDAV DVCIADGVCIDA

HM30	83	14 аминокислотных замен L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D и I361T, усечение перед L36 на N- конце, а также усечение после C464 на C-конце	LNFRAPPVIPNVPFLWAWNAPSEFCLGKFDEPLDM SLFSFIGSPRINATGQGVTFYVDRLGYYPYIDSI TGVTVNGGIPQKISLQDHLDAKAKDITFYMPVDNL GMAVIDWEEWRPTWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQ NVQLSLTEATEKAKQEFEEKAGKDFLVETIKLGKLL RPNHLWGYLLFPDCYNHHYKPGYNGSCFNVEIKR NDDLSQLWNNESTALYPSIYLNTQQSPVAATLYVRN RVREAIRVSKIPDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKF LSQDELVYTFGETVALGASGIVIWGT <u>WENTRTKES</u> <u>COAIKEYMDTT</u> LNPIIINVTLAAKMCSQVLCQEQG VCIRKNWNSSDYLHLNPDNFALQLEKGGKFTVRGK PTLEDLEQFSEKFYCSCYSTLSCKEKADVKTDAV DVC IADGVC
HM31	84	14 аминокислотных замен L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D и I361T, усечение перед L36 на N- конце, а также усечение после D461 на C-конце	LNFRAPPVIPNVPFLWAWNAPSEFCLGKFDEPLDM SLFSFIGSPRINATGQGVTFYVDRLGYYPYIDSI TGVTVNGGIPQKISLQDHLDAKAKDITFYMPVDNL GMAVIDWEEWRPTWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQ NVQLSLTEATEKAKQEFEEKAGKDFLVETIKLGKLL RPNHLWGYLLFPDCYNHHYKPGYNGSCFNVEIKR NDDLSQLWNNESTALYPSIYLNTQQSPVAATLYVRN RVREAIRVSKIPDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKF LSQDELVYTFGETVALGASGIVIWGT <u>WENTRTKES</u> <u>COAIKEYMDTT</u> LNPIIINVTLAAKMCSQVLCQEQG VCIRKNWNSSDYLHLNPDNFALQLEKGGKFTVRGK PTLEDLEQFSEKFYCSCYSTLSCKEKADVKTDAV DVC IAD
HM32	85	14 аминокислотных замен L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D и I361T, усечение перед L36 на N- конце, а также усечение после C458 на C-конце	LNFRAPPVIPNVPFLWAWNAPSEFCLGKFDEPLDM SLFSFIGSPRINATGQGVTFYVDRLGYYPYIDSI TGVTVNGGIPQKISLQDHLDAKAKDITFYMPVDNL GMAVIDWEEWRPTWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQ NVQLSLTEATEKAKQEFEEKAGKDFLVETIKLGKLL RPNHLWGYLLFPDCYNHHYKPGYNGSCFNVEIKR NDDLSQLWNNESTALYPSIYLNTQQSPVAATLYVRN RVREAIRVSKIPDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKF LSQDELVYTFGETVALGASGIVIWGT <u>WENTRTKES</u> <u>COAIKEYMDTT</u> LNPIIINVTLAAKMCSQVLCQEQG VCIRKNWNSSDYLHLNPDNFALQLEKGGKFTVRGK PTLEDLEQFSEKFYCSCYSTLSCKEKADVKTDAV DVC

HM33	86	14 аминокислотных замен L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D и I361T, усечение перед L36 на N- конце, а также усечение после V455 на C-конце	LNFRAPPVIPNVFPLWAWNAPSEFCLGKFDEPLDM SLFSFIGSPRINATGQGVTFIFYVDRLGYYPYIDSI TGVTVNGGIPQKISLQDHLDKAKKDITFYMPVDNL GMAVIDWEEWRPTWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQ NVQLSLTEATEKAKQEFEKAGKDFLVETIKLGKLL RPNHLWGYLLFPDCYNHHYKKPGYNGSCFNVEIKR NDDL SWLWNESTALYPSIYLNTQQSPVAATLYVRN RVREAIRVSKI PDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKF LSQDELVYTFGETVALGASGIVIWGT <u>WENTR</u> <u>TKES</u> <u>CQAIKEYMDT</u> <u>TLN</u> PYI INVTLAAKMCSQVLCQEQG VCIRKNWNSSDYLHLNPDNF AI QLEKGGKFTVRGK PTLEDLEQFSEKFYCSCYSTLSCKEKADVKTDAV
HP34	87	15 аминокислотных замен T341S, L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D и I361T, усечение перед F38 на N-конце, а также усечение после K470 на C- конце	FRAPPVIPNVFPLWAWNAPSEFCLGKFDEPLDMSL FSFIGSPRINATGQGVTFIFYVDRLGYYPYIDSITG VTVNGGIPQKISLQDHLDKAKKDITFYMPVDNLGM AVIDWEEWRPTWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQNV QLSLTEATEKAKQEFEKAGKDFLVETIKLGKLLRP NHLWGYLLFPDCYNHHYKKPGYNGSCFNVEIKRND DL SWLWNESTALYPSIYLNTQQSPVAATLYVRNRV REAIRVSKI PDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKFLS QDELVYTFGETVALGASGIVIWGT <u>SWENTR</u> <u>TKES</u> <u>CQ</u> <u>AIKEYMDT</u> <u>TLN</u> PYI INVTLAAKMCSQVLCQEQGVC IRKNWNSSDYLHLNPDNF AI QLEKGGKFTVRGKPT LEDLEQFSEKFYCSCYSTLSCKEKADVKTDAVDV CIADGVCIDAFLK
HM35	88	14 аминокислотных замен L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D и I361T, усечение перед F38 на N- конце, а также усечение после P472 на C-конце	FRAPPVIPNVFPLWAWNAPSEFCLGKFDEPLDMSL FSFIGSPRINATGQGVTFIFYVDRLGYYPYIDSITG VTVNGGIPQKISLQDHLDKAKKDITFYMPVDNLGM AVIDWEEWRPTWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQNV QLSLTEATEKAKQEFEKAGKDFLVETIKLGKLLRP NHLWGYLLFPDCYNHHYKKPGYNGSCFNVEIKRND DL SWLWNESTALYPSIYLNTQQSPVAATLYVRNRV REAIRVSKI PDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKFLS QDELVYTFGETVALGASGIVIWGT <u>WENTR</u> <u>TKES</u> <u>CQ</u> <u>AIKEYMDT</u> <u>TLN</u> PYI INVTLAAKMCSQVLCQEQGVC IRKNWNSSDYLHLNPDNF AI QLEKGGKFTVRGKPT LEDLEQFSEKFYCSCYSTLSCKEKADVKTDAVDV CIADGVCIDAFLKPP

HM36	89	14 аминокислотных замен L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D и I361T, усечение перед F38 на N- конце, а также усечение после M473 на C-конце	FRAPPVIPNV PFLWAWNAPSEFCLGKFDEPLDMSL FSFIGSPRINATGQGV TIFYVDRLGYYPYIDSITG VTVNGGIPQKISLQDHL DKA KKDITFYMPVDNLGM AVIDWEEWRPTWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQNV QLSLTEATEKAKQEF EKAGKDFLVETIKLGKLLRP NHLWGYLLFPDCYNHHYK KPGYNGSCFNVEIKRND DLSWLWNESTALYPSIYLNTQQSPVAATLYVRNRV REAIRVSKIPDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKFLS QDELVYTFGETVALGASGIVIWGT <u>WENTR</u> <u>TKE</u> <u>SCQ</u> <u>AIKEYMDT</u> <u>TL</u> NPYIIINVTLA AKMCSQVLCQE QGVC IRKNWNSSDYLHLNPDNF AIQLEKGGKFTVRGKPT LEDLEQFSEKFYCSCYSTLSCKEKADV KDTDAVDV CIADGVCIDAFLKPPM
HM37	90	14 аминокислотных замен L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D и I361T, усечение перед F38 на N- конце, а также усечение после E474 на C-конце	FRAPPVIPNV PFLWAWNAPSEFCLGKFDEPLDMSL FSFIGSPRINATGQGV TIFYVDRLGYYPYIDSITG VTVNGGIPQKISLQDHL DKA KKDITFYMPVDNLGM AVIDWEEWRPTWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQNV QLSLTEATEKAKQEF EKAGKDFLVETIKLGKLLRP NHLWGYLLFPDCYNHHYK KPGYNGSCFNVEIKRND DLSWLWNESTALYPSIYLNTQQSPVAATLYVRNRV REAIRVSKIPDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKFLS QDELVYTFGETVALGASGIVIWGT <u>WENTR</u> <u>TKE</u> <u>SCQ</u> <u>AIKEYMDT</u> <u>TL</u> NPYIIINVTLA AKMCSQVLCQE QGVC IRKNWNSSDYLHLNPDNF AIQLEKGGKFTVRGKPT LEDLEQFSEKFYCSCYSTLSCKEKADV KDTDAVDV CIADGVCIDAFLKPPME
HM38	91	14 аминокислотных замен L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D и I361T, усечение перед F38 на N- конце, а также усечение после T475 на C-конце	FRAPPVIPNV PFLWAWNAPSEFCLGKFDEPLDMSL FSFIGSPRINATGQGV TIFYVDRLGYYPYIDSITG VTVNGGIPQKISLQDHL DKA KKDITFYMPVDNLGM AVIDWEEWRPTWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQNV QLSLTEATEKAKQEF EKAGKDFLVETIKLGKLLRP NHLWGYLLFPDCYNHHYK KPGYNGSCFNVEIKRND DLSWLWNESTALYPSIYLNTQQSPVAATLYVRNRV REAIRVSKIPDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKFLS QDELVYTFGETVALGASGIVIWGT <u>WENTR</u> <u>TKE</u> <u>SCQ</u> <u>AIKEYMDT</u> <u>TL</u> NPYIIINVTLA AKMCSQVLCQE QGVC IRKNWNSSDYLHLNPDNF AIQLEKGGKFTVRGKPT LEDLEQFSEKFYCSCYSTLSCKEKADV KDTDAVDV CIADGVCIDAFLKPPMET

HM39	92	14 аминокислотных замен L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D и I361T, усечение перед F38 на N- конце, а также усечение после E476 на C-конце	FRAPPVIPNV PFLWAWNAPSEFCLGKFDEPLDMSL FSFIGSPRINATGQGVTFYVDRLGYYPYIDSITG VTVNGGIPQKISLQDHLDAKAKDITFYMPVDNLGM AVIDWEEWRPTWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQNV QLSLTEATEKAKQEF EKAGKDFLVETIKLGKLLRP NHLWGYLLFPDCYNHHYKKPGYNGSCFNVEIKRND DLSWLWNESTALYPSIYLNTQQSPVAATLYVRNRV REAIRVSKIPDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKFLS QDELVYTFGETVALGASGIVIWGTTWENTRTKESQ <u>AIKEYMDTTL</u> NPYIINVTLAAKMCSQVLCQEQQVC IRKNWNSSDYLHLNPDNFAIQLEKGGKFTVRGKPT LEDLEQFSEKFYCSCYSTLSCKEKADV KDTDAVDV CIADGVCIDAFLKPPMETE
HM40	93	11 аминокислотных замен M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D и I361T, а также усечение перед N37 на N- конце	NFRAPPVIPNV PFLWAWNAPSEFCLGKFDEPLDMS LFSFIGSPRINATGQGVTFYVDRLGYYPYIDSIT GVTVNGGIPQKISLQDHLDAKAKDITFYMPVDNLG MAVIDWEEWRPTWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQN VQLSLTEATEKAKQEF EKAGKDFLVETIKLGKLLR PNHLWGYLLFPDCYNHHYKKPGYNGSCFNVEIKRN DDLWLWNESTALYPSIYLNTQQSPVAATLYVRNR VREAIRVSKIPDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKFL SQDELVYTFGETVALGASGIVIWGTLSTRTKES <u>QAIKEYMDTTL</u> NPYIINVTLAAKMCSQVLCQEQQV CIRKNWNSSDYLHLNPDNFAIQLEKGGKFTVRGKP TLEDLEQFSEKFYCSCYSTLSCKEKADV KDTDAVD VCIADGVCIDAFLKPPMETE EPQIFYNASPSTLS
HM41	94	11 аминокислотных замен M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D и I361T, а также усечение перед R39 на N- конце	RAPPVIPNV PFLWAWNAPSEFCLGKFDEPLDMSLF SFIGSPRINATGQGVTFYVDRLGYYPYIDSITGV TVNGGIPQKISLQDHLDAKAKDITFYMPVDNLGMA VIDWEEWRPTWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQNVQ LSLTEATEKAKQEF EKAGKDFLVETIKLGKLLRPN HLWGYLLFPDCYNHHYKKPGYNGSCFNVEIKRND LSWLWNESTALYPSIYLNTQQSPVAATLYVRNRVR EAIRVSKIPDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKFLSQ DELVYTFGETVALGASGIVIWGTLSTRTKESQ <u>AIKEYMDTTL</u> NPYIINVTLAAKMCSQVLCQEQQVC IRKNWNSSDYLHLNPDNFAIQLEKGGKFTVRGKPTL EDLEQFSEKFYCSCYSTLSCKEKADV KDTDAVDV IADGVCIDAFLKPPMETE EPQIFYNASPSTLS

HM42	95	11 аминокислотных замен M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D и I361T, а также усечение перед P41 на N- конце	PPVIPNPVFLWAWNAPSEFCLGKFDEPLDMSLFSF IGSPRINATGQGVTFIFYVDRLGYYPYIDSITGVTV NGGIPQKISLQDHLDAKAKDITFYMPVDNLGMAVI DWEEWRPTWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQNVQLS LTEATEKAKQEFKAGKDFLVETIKLGKLLRPNHL WGYLFPDCYNHHYKKPGYNGSCFNVEIKRNDLS WLWNESTALYPSIYLNTQQSPVAATLYVRNRVREA IRVSKIPDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKFLSQDE LVYTFGETVALGASGIVIWGTLST <u>TRTKE</u> <u>SCQA</u> <u>IK</u> <u>EYMDT</u> <u>TL</u> NPYII INVTLAAKMCSQVLCQEQQGVCIRK NWNSSDYHLNPDNFAIQLEKGGKFTVRGKPTLED LEQFSEKFYCSCYSTLSCKEKADVKTDAVDVCIA DGVCIDAFKPPMETEEPQIFYNASPSTLS
HM43	96	14 аминокислотных замен L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D и I361T, усечение перед F38 на N- конце, а также усечение после I465 на C-конце	FRAPPVIPNPVFLWAWNAPSEFCLGKFDEPLDMSL FSFIGSPRINATGQGVTFIFYVDRLGYYPYIDSITG VTVNGGIPQKISLQDHLDAKAKDITFYMPVDNLGM AVIDWEEWRPTWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQNV QLSLTEATEKAKQEFKAGKDFLVETIKLGKLLRP NHLWGYLFPDCYNHHYKKPGYNGSCFNVEIKRND DLSWLWNESTALYPSIYLNTQQSPVAATLYVRNRV REAIRVSKIPDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKFLS QDELVYTFGETVALGASGIVIWGS <u>WENTR</u> <u>TKE</u> <u>SCQ</u> <u>AIKE</u> <u>YMDT</u> <u>TL</u> NPYII INVTLAAKMCSQVLCQEQQVC IRKNWNSSDYHLNPDNFAIQLEKGGKFTVRGKPT LEDLEQFSEKFYCSCYSTLSCKEKADVKTDAVDV CIADGVCI
HM44	97	14 аминокислотных замен L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D и I361T, усечение перед F38 на N- конце, а также усечение после D466 на C-конце	FRAPPVIPNPVFLWAWNAPSEFCLGKFDEPLDMSL FSFIGSPRINATGQGVTFIFYVDRLGYYPYIDSITG VTVNGGIPQKISLQDHLDAKAKDITFYMPVDNLGM AVIDWEEWRPTWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQNV QLSLTEATEKAKQEFKAGKDFLVETIKLGKLLRP NHLWGYLFPDCYNHHYKKPGYNGSCFNVEIKRND DLSWLWNESTALYPSIYLNTQQSPVAATLYVRNRV REAIRVSKIPDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKFLS QDELVYTFGETVALGASGIVIWGS <u>WENTR</u> <u>TKE</u> <u>SCQ</u> <u>AIKE</u> <u>YMDT</u> <u>TL</u> NPYII INVTLAAKMCSQVLCQEQQVC IRKNWNSSDYHLNPDNFAIQLEKGGKFTVRGKPT LEDLEQFSEKFYCSCYSTLSCKEKADVKTDAVDV CIADGVCID

HM45	98	14 аминокислотных замен L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D и I361T, усечение перед F38 на N- конце, а также усечение после A467 на C-конце	FRAPPVIPNVPFLWAWNAPSEFCLGKFDEPLDMSL FSFIGSPRINATGQGVTFYVDRLGYYPYIDSITG VTVNGGIPQKISLQDHLDDAKAKDITFYMPVDNLGM AVIDWEEWRPTWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQNV QLSLTEATEKAKQEFEEKAGKDFLVETIKLGKLLRP NHLWGYLLFPDCYNHHYKPGYNGSCFNVEIKRND DLSWLWNESTALYPSIYLNTQQSPVAATLYVRNRV REAIRVSKIPDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKFLS QDELVYTFGETVALGASGIVIWGSWENTRTKESQ AIKEYMDTTLNPHYIINVTLAAKMCSQVLCQEQGVC IRKNWNSSDYLHLNPDNFAIQLEKGGKFTVRGKPT LEDLEQFSEKFYCSCYSTLSCKEKADVKTDAVDV CIADGVCIDA
HP46	99	15 аминокислотных замен T341S, L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D и I361T, усечение перед F38 на N-конце, а также усечение после F468 на C- конце	FRAPPVIPNVPFLWAWNAPSEFCLGKFDEPLDMSL FSFIGSPRINATGQGVTFYVDRLGYYPYIDSITG VTVNGGIPQKISLQDHLDDAKAKDITFYMPVDNLGM AVIDWEEWRPTWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQNV QLSLTEATEKAKQEFEEKAGKDFLVETIKLGKLLRP NHLWGYLLFPDCYNHHYKPGYNGSCFNVEIKRND DLSWLWNESTALYPSIYLNTQQSPVAATLYVRNRV REAIRVSKIPDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKFLS QDELVYTFGETVALGASGIVIWGSWENTRTKESQ AIKEYMDTTLNPHYIINVTLAAKMCSQVLCQEQGVC IRKNWNSSDYLHLNPDNFAIQLEKGGKFTVRGKPT LEDLEQFSEKFYCSCYSTLSCKEKADVKTDAVDV CIADGVCIDAF
HM47	100	14 аминокислотных замен L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D и I361T, усечение перед F38 на N- конце, а также усечение после P478 на C-конце	FRAPPVIPNVPFLWAWNAPSEFCLGKFDEPLDMSL FSFIGSPRINATGQGVTFYVDRLGYYPYIDSITG VTVNGGIPQKISLQDHLDDAKAKDITFYMPVDNLGM AVIDWEEWRPTWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQNV QLSLTEATEKAKQEFEEKAGKDFLVETIKLGKLLRP NHLWGYLLFPDCYNHHYKPGYNGSCFNVEIKRND DLSWLWNESTALYPSIYLNTQQSPVAATLYVRNRV REAIRVSKIPDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKFLS QDELVYTFGETVALGASGIVIWGTWENTRTKESQ AIKEYMDTTLNPHYIINVTLAAKMCSQVLCQEQGVC IRKNWNSSDYLHLNPDNFAIQLEKGGKFTVRGKPT LEDLEQFSEKFYCSCYSTLSCKEKADVKTDAVDV CIADGVCIDAFLKPPMETEEP

HM48	101	14 аминокислотных замен L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D и I361T, усечение перед F38 на N- конце, а также усечение после I480 на C-конце	FRAPPVIPNV PFLWAWNAPSEFCLGKFDEPLDMSL FSFIGSPRINATGQGV TIFYVDRLGYYPYIDSITG VTVNGGIPQKISLQDHL DKA KKDITFYMPVDNLGM AVIDWEEWRPTWAR NWKPKDVYKNRSIELVQQQNV QLSLTEATEKAKQEF EKAGKDFLVETIKLGKLLRP NHLWGYLLFPDCYNH H YKKPGYNGSCFNVEIKRND DLSWLWNESTALYPSI YLNTQQSPVAATLYVRNRV REAIRVSKIPDAKSPL PVFAYTRIVFTDQVLKFLS QDELVYTFGETVALGASGIVI WGT <u>WENTR</u> <u>TKE</u> <u>SCQ</u> <u>AIKEYMDT</u> <u>T</u> <u>LN</u> <u>PY</u> I INVTLAAKMCSQVLCQE QGVC IRKNWNSSDYLHLNPD NF A IQLEKGGKFTVRGKPT LEDLEQFSEKFYCSCYSTLSCKEKADV KDTDAVDV CIADGVCIDAFLKPPMETEEPQI
HM49	102	14 аминокислотных замен L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D и I361T, усечение перед F38 на N- конце, а также усечение после Y482 на C-конце	FRAPPVIPNV PFLWAWNAPSEFCLGKFDEPLDMSL FSFIGSPRINATGQGV TIFYVDRLGYYPYIDSITG VTVNGGIPQKISLQDHL DKA KKDITFYMPVDNLGM AVIDWEEWRPTWAR NWKPKDVYKNRSIELVQQQNV QLSLTEATEKAKQEF EKAGKDFLVETIKLGKLLRP NHLWGYLLFPDCYNH H YKKPGYNGSCFNVEIKRND DLSWLWNESTALYPSI YLNTQQSPVAATLYVRNRV REAIRVSKIPDAKSPL PVFAYTRIVFTDQVLKFLS QDELVYTFGETVALGASGIVI WGT <u>WENTR</u> <u>TKE</u> <u>SCQ</u> <u>AIKEYMDT</u> <u>T</u> <u>LN</u> <u>PY</u> I INVTLAAKMCSQVLCQE QGVC IRKNWNSSDYLHLNPD NF A IQLEKGGKFTVRGKPT LEDLEQFSEKFYCSCYSTLSCKEKADV KDTDAVDV CIADGVCIDAFLKPPMETEEPQIF Y
HM50	103	14 аминокислотных замен L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D и I361T, усечение перед F38 на N- конце, а также усечение после A484 на C-конце	FRAPPVIPNV PFLWAWNAPSEFCLGKFDEPLDMSL FSFIGSPRINATGQGV TIFYVDRLGYYPYIDSITG VTVNGGIPQKISLQDHL DKA KKDITFYMPVDNLGM AVIDWEEWRPTWAR NWKPKDVYKNRSIELVQQQNV QLSLTEATEKAKQEF EKAGKDFLVETIKLGKLLRP NHLWGYLLFPDCYNH H YKKPGYNGSCFNVEIKRND DLSWLWNESTALYPSI YLNTQQSPVAATLYVRNRV REAIRVSKIPDAKSPL PVFAYTRIVFTDQVLKFLS QDELVYTFGETVALGASGIVI WGT <u>WENTR</u> <u>TKE</u> <u>SCQ</u> <u>AIKEYMDT</u> <u>T</u> <u>LN</u> <u>PY</u> I INVTLAAKMCSQVLCQE QGVC IRKNWNSSDYLHLNPD NF A IQLEKGGKFTVRGKPT LEDLEQFSEKFYCSCYSTLSCKEKADV KDTDAVDV CIADGVCIDAFLKPPMETEEPQIF YNA

HM51	104	14 аминокислотных замен L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D и I361T, усечение перед F38 на N- конце, а также усечение после P486 на C-конце	FRAPPVIPNVPFLWAWNAPSEFCLGKFDEPLDMSL FSFIGSPRINATGQGVTFYVDRLGYYPYIDSITG VTVNGGIPQKISLQDHLDAKAKDITFYMPVDNLGM AVIDWEEWRPTWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQNV QLSLTEATEKAKQEFEEKAGKDFLVETIKLGKLLRP NHLWGYLLFPDCYNHHYKPGYNGSCFNVEIKRND DLSWLWNESTALYPSIYLNTQQSPVAATLYVRNRV REAIRVSKIPDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKFLS QDELVYTFGETVALGASGIVIWGT <u>WENTRTKES</u> <u>CO</u> <u>AIKEYMDTTL</u> NPYIIINVTLAAKMCSQVLCQEQGVC IRKNWNSSDYLHLNPDNFAIQLEKGGKFTVRGKPT LEDLEQFSEKFYCSCYSTLSCKEKADVKTDAVDV CIADGVCIDAFLKPPMETEEPQIFYNASP
HM52	105	14 аминокислотных замен L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D и I361T, усечение перед F38 на N- конце, а также усечение после T488 на C-конце	FRAPPVIPNVPFLWAWNAPSEFCLGKFDEPLDMSL FSFIGSPRINATGQGVTFYVDRLGYYPYIDSITG VTVNGGIPQKISLQDHLDAKAKDITFYMPVDNLGM AVIDWEEWRPTWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQNV QLSLTEATEKAKQEFEEKAGKDFLVETIKLGKLLRP NHLWGYLLFPDCYNHHYKPGYNGSCFNVEIKRND DLSWLWNESTALYPSIYLNTQQSPVAATLYVRNRV REAIRVSKIPDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKFLS QDELVYTFGETVALGASGIVIWGT <u>WENTRTKES</u> <u>CO</u> <u>AIKEYMDTTL</u> NPYIIINVTLAAKMCSQVLCQEQGVC IRKNWNSSDYLHLNPDNFAIQLEKGGKFTVRGKPT LEDLEQFSEKFYCSCYSTLSCKEKADVKTDAVDV CIADGVCIDAFLKPPMETEEPQIFYNASPST
HM53	106	15 аминокислотных замен T341G, L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D и I361T, усечение перед L36 на N-конце, а также усечение после S490 на C- конце	LNFRAPPVIPNVPFLWAWNAPSEFCLGKFDEPLDM SLFSFIGSPRINATGQGVTFYVDRLGYYPYIDSI TGVTVNGGIPQKISLQDHLDAKAKDITFYMPVDNL GMAVIDWEEWRPTWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQ NVQLSLTEATEKAKQEFEEKAGKDFLVETIKLGKLL RPNHLWGYLLFPDCYNHHYKPGYNGSCFNVEIKR NDDLWLWNESTALYPSIYLNTQQSPVAATLYVRN RVREAIRVSKIPDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKF LSQDELVYTFGETVALGASGIVIWGT <u>GWENTRTKES</u> <u>COAIKEYMDTTL</u> NPYIIINVTLAAKMCSQVLCQEQG VCIRKNWNSSDYLHLNPDNFAIQLEKGGKFTVRGK PTLEDLEQFSEKFYCSCYSTLSCKEKADVKTDAV DVCIA DGVCIDAFLKPPMETEEPQIFYNASPSTLS

HM54	107	15 аминокислотных замен T341A, L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D и I361T, усечение перед L36 на N-конце, а также усечение после S490 на C- конце	LNFRAPPVIPNVPFLWAWNAPSEFCLGKFDEPLDM SLFSFIGSPRINATGQGVTFYVDRLGYYPYIDSI TGVTVNGGIPQKISLQDHLDKAKKDITFYMPVDNL GMAVIDWEEWRPTWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQ NVQLSLTEATEKAKQEFKAGKDFLVETIKLGKLL RPNHLWGYLLFPDCYNHHYKPGYNGSCFNVEIKR NDDL SWLWNESTALYPSIYLNTQQSPVAATLYVRN RVREAIRVSKI PDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKF LSQDELVYTFGETVALGASGIVIWG <u>AWENTRTKES</u> <u>COAIKEYMDTT</u> LNPLYIINVTLAAKMCSQVLCQEQG VCIRKNWNSSDYLHLNPDNFIAIQLEKGGKFTVRGK PTLEDLEQFSEKFYCSCYSTLSCKEKADVKTDAV DVC IADGVCIDAFLKPPMETEETEPQIFYNASPSTLS
HM55	108	15 аминокислотных замен T341C, L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D и I361T, усечение перед L36 на N-конце, а также усечение после S490 на C- конце	LNFRAPPVIPNVPFLWAWNAPSEFCLGKFDEPLDM SLFSFIGSPRINATGQGVTFYVDRLGYYPYIDSI TGVTVNGGIPQKISLQDHLDKAKKDITFYMPVDNL GMAVIDWEEWRPTWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQ NVQLSLTEATEKAKQEFKAGKDFLVETIKLGKLL RPNHLWGYLLFPDCYNHHYKPGYNGSCFNVEIKR NDDL SWLWNESTALYPSIYLNTQQSPVAATLYVRN RVREAIRVSKI PDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKF LSQDELVYTFGETVALGASGIVIWG <u>CWENTRTKES</u> <u>COAIKEYMDTT</u> LNPLYIINVTLAAKMCSQVLCQEQG VCIRKNWNSSDYLHLNPDNFIAIQLEKGGKFTVRGK PTLEDLEQFSEKFYCSCYSTLSCKEKADVKTDAV DVC IADGVCIDAFLKPPMETEETEPQ109IFYNASPS TLS
HM56	109	15 аминокислотных замен T341D, L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D и I361T, усечение перед L36 на N-конце, а также усечение после S490 на C- конце	LNFRAPPVIPNVPFLWAWNAPSEFCLGKFDEPLDM SLFSFIGSPRINATGQGVTFYVDRLGYYPYIDSI TGVTVNGGIPQKISLQDHLDKAKKDITFYMPVDNL GMAVIDWEEWRPTWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQ NVQLSLTEATEKAKQEFKAGKDFLVETIKLGKLL RPNHLWGYLLFPDCYNHHYKPGYNGSCFNVEIKR NDDL SWLWNESTALYPSIYLNTQQSPVAATLYVRN RVREAIRVSKI PDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKF LSQDELVYTFGETVALGASGIVIWG <u>DWENTRTKES</u> <u>COAIKEYMDTT</u> LNPLYIINVTLAAKMCSQVLCQEQG VCIRKNWNSSDYLHLNPDNFIAIQLEKGGKFTVRGK PTLEDLEQFSEKFYCSCYSTLSCKEKADVKTDAV DVC IADGVCIDAFLKPPMETEETEPQIFYNASPSTLS

HP57	110	12 аминокислотных замен I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D и I361T, усечение перед F38 на N- конце, а также усечение после F468 на C-конце	FRAPPVIPNVPFLWAWNAPSEFCLGKFDEPLDMSL FSFIGSPRINATGQGVTFIFYVDRLGYYPYIDSITG VTVNGGIPQKISLQDHLDDAKKDITFYMPVDNLGM AVIDWEEWRPTWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQNV QLSLTEATEKAKQEFEEKAGKDFLVETIKLGKLLRP NHLWGYLLFPDCYNHHYKPGYNGSCFNVEIKRND DLSWLWNESTALYPSIYLNTQQSPVAATLYVRNRV REAIRVSKIPDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKFLS QDELVYTFGETVALGASGIVIWGTL <u>SNTR</u> <u>TKE</u> <u>SCQ</u> <u>AIKEYMDT</u> <u>T</u> LNPII INVTLAAKMCSQVLCQEQQVC IRKNWNSSDYLHLNPDNFIAIQLEKGGKFTVRGKPT LEDLEQFSEKFYCSCYSTLSCKEKADVKTDAVDV CIADGVCIDAF
HP58	111	13 аминокислотных замен S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D и I361T, усечение перед F38 на N-конце, а также усечение после F468 на C- конце	FRAPPVIPNVPFLWAWNAPSEFCLGKFDEPLDMSL FSFIGSPRINATGQGVTFIFYVDRLGYYPYIDSITG VTVNGGIPQKISLQDHLDDAKKDITFYMPVDNLGM AVIDWEEWRPTWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQNV QLSLTEATEKAKQEFEEKAGKDFLVETIKLGKLLRP NHLWGYLLFPDCYNHHYKPGYNGSCFNVEIKRND DLSWLWNESTALYPSIYLNTQQSPVAATLYVRNRV REAIRVSKIPDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKFLS QDELVYTFGETVALGASGIVIWGTL <u>ENTR</u> <u>TKE</u> <u>SCQ</u> <u>AIKEYMDT</u> <u>T</u> LNPII INVTLAAKMCSQVLCQEQQVC IRKNWNSSDYLHLNPDNFIAIQLEKGGKFTVRGKPT LEDLEQFSEKFYCSCYSTLSCKEKADVKTDAVDV CIADGVCIDAF
HP59	112	15 аминокислотных замен T341A, L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D и I361T, усечение перед F38 на N-конце, а также усечение после F468 на C- конце	FRAPPVIPNVPFLWAWNAPSEFCLGKFDEPLDMSL FSFIGSPRINATGQGVTFIFYVDRLGYYPYIDSITG VTVNGGIPQKISLQDHLDDAKKDITFYMPVDNLGM AVIDWEEWRPTWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQNV QLSLTEATEKAKQEFEEKAGKDFLVETIKLGKLLRP NHLWGYLLFPDCYNHHYKPGYNGSCFNVEIKRND DLSWLWNESTALYPSIYLNTQQSPVAATLYVRNRV REAIRVSKIPDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKFLS QDELVYTFGETVALGASGIVIWG <u>AWENTR</u> <u>TKE</u> <u>SCQ</u> <u>AIKEYMDT</u> <u>T</u> LNPII INVTLAAKMCSQVLCQEQQVC IRKNWNSSDYLHLNPDNFIAIQLEKGGKFTVRGKPT LEDLEQFSEKFYCSCYSTLSCKEKADVKTDAVDV CIADGVCIDAF

HP60	113	15 аминокислотных замен T341G, L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D и I361T, усечение перед F38 на N-конце, а также усечение после F468 на C- конце	FRAPPVIPNPVFLWAWNAPSEFCLGKFDEPLDMSL FSFIGSPRINATGQGVTFIFYVDRLGYYPYIDSITG VTVNGGIPQKISLQDHLDAKAKDITFYMPVDNLGM AVIDWEEWRPTWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQNV QLSLTEATEKAKQEFEEKAGKDFLVETIKLGKLLRP NHLWGYLLFPDCYNHHYKPGYNGSCFNVEIKRND DLSWLWNESTALYPSIYLNTQQSPVAATLYVRNRV REAIRVSKIPDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKFLS QDELVYTFGETVALGASGIVIWG <u>GWENTRTKESQ</u> <u>AIKEYMDTTL</u> NPYIINVTLAAKMCSQVLCQEQQVC IRKNWNSSDYLHLNPDNFAIQLEKGGKFTVRGKPT LEDLEQFSEKFYCSCYSTLSCKEKADVKTDAVDV CIADGVCIDAF
HP61	114	16 аминокислотных замен A40G, T341S, L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D и I361T, усечение перед F38 на N- конце, а также усечение после F468 на C-конце	FR <u>G</u> PPVIPNPVFLWAWNAPSEFCLGKFDEPLDMSL FSFIGSPRINATGQGVTFIFYVDRLGYYPYIDSITG VTVNGGIPQKISLQDHLDAKAKDITFYMPVDNLGM AVIDWEEWRPTWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQNV QLSLTEATEKAKQEFEEKAGKDFLVETIKLGKLLRP NHLWGYLLFPDCYNHHYKPGYNGSCFNVEIKRND DLSWLWNESTALYPSIYLNTQQSPVAATLYVRNRV REAIRVSKIPDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKFLS QDELVYTFGETVALGASGIVIWG <u>SWENTRTKESQ</u> <u>AIKEYMDTTL</u> NPYIINVTLAAKMCSQVLCQEQQVC IRKNWNSSDYLHLNPDNFAIQLEKGGKFTVRGKPT LEDLEQFSEKFYCSCYSTLSCKEKADVKTDAVDV CIADGVCIDAF
HP62	115	Удаление P42, 15 аминокислотных замен T341S, L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D и I361T, усечение перед F38 на N-конце, а также усечение после F468 на C- конце	FR <u>G</u> <u>P</u> PPVIPNPVFLWAWNAPSEFCLGKFDEPLDMSL FSFIGSPRINATGQGVTFIFYVDRLGYYPYIDSITG VTVNGGIPQKISLQDHLDAKAKDITFYMPVDNLGM AVIDWEEWRPTWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQNV QLSLTEATEKAKQEFEEKAGKDFLVETIKLGKLLRP NHLWGYLLFPDCYNHHYKPGYNGSCFNVEIKRND DLSWLWNESTALYPSIYLNTQQSPVAATLYVRNRV REAIRVSKIPDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKFLS QDELVYTFGETVALGASGIVIWG <u>SWENTRTKESQ</u> <u>AIKEYMDTTL</u> NPYIINVTLAAKMCSQVLCQEQQVC IRKNWNSSDYLHLNPDNFAIQLEKGGKFTVRGKPT LEDLEQFSEKFYCSCYSTLSCKEKADVKTDAVDV CIADGVCIDAF

[0064] В некоторых вариантах реализации вариант или фрагмент гиалуронидазы представляет собой фермент гиалуронидазу, в которой N-конец дополнительно содержит

сигнальный пептид гормона роста человека, имеющий аминокислотную последовательность MATGSRTSLLAFGLLCLPWLQEGSA SEQ ID NO: 3, сигнальный пептид сывороточного альбумина человека, имеющий аминокислотную последовательность MKWVTFISLLFLFSSAYS SEQ ID NO: 4, или сигнальный пептид Hyal1 человека, имеющий аминокислотную последовательность MAAHLLPICALFLTLLDMAQG SEQ ID NO: 5, как показано ниже в таблице 5, вместо сигнального пептида PH20 дикого типа, который состоит из M1 – T35, но не ограничиваясь ими. В различных вариантах реализации сигнальный пептид PH20 дикого типа (аминокислотные остатки M1 – T35) частично или полностью удален. В некоторых вариантах реализации, в которых дополнительно удалена часть N-конца, например, в том случае, если расщепление происходит перед остатком N37, F38, R39, A40, P41 или P42, происходит дополнительная делеция N-конца вместе с делецией сигнального пептида PH20 дикого типа.

Таблица 5. Аминокислотные последовательности сигнального пептида гормона роста человека, сывороточного альбумина человека или Hyal1 человека

	Аминокислотная последовательность	SEQ ID NO
Гормон роста человека	MATGSRTSLLAFGLLCLPWLQEGSA	3
Сывороточный альбумин человека	MKWVTFISLLFLFSSAYS	4
HYAL1 человека	MAAHLLPICALFLTLLDMAQG	5

[0065] В некоторых вариантах реализации вариант или фрагмент гиалуронидазы включает вариант, имеющий С-конец, к которому присоединены 6×His-меток (обозначен как НМ), вариант без 6×His-меток (обозначен как НР), зрелый PH20 дикого типа (L36-S490), имеющий С-конец, к которому присоединены 6×His-меток (обозначен как WT), и зрелый PH20 дикого типа (L36 – Y482), который не содержит 6×His-меток и имеет С-конец, в котором расщепление происходит после Y482 (обозначен как HW2).

[0066] В некоторых вариантах реализации композиции содержат один или более вариантов или фрагментов фермента гиалуронидазы, таких как описаны в публикации Европейского патента № EP3636752A1 и в Международной публикации патента № WO 2020/197230, содержание которых включено в данный документ посредством ссылки.

[0067] В различных вариантах реализации количество фермента гиалуронидазы, присутствующей в композиции, может варьироваться и может составлять 100 ед. или более,

например, 250 ед. или более, например, 500 ед. или более, например, 750 ед. или более, например, 1000 ед. или более, например, 1500 ед. или более, например, 2000 ед. или более, например, 2500 ед. или более, например, 3000 ед. или более, например, 3500 ед. или более, например, 4000 ед. или более, например, 4500 ед. или более, например, 5000 ед. или более, например, 10000 ед. или более, например, 20000 ед. или более, например, 30000 ед. или более, например, 40000 ед. или более, и включая 50000 ед. фермента гиалуронидазы или более. В некоторых вариантах реализации композиция содержит около 500 ед. фермента гиалуронидазы, около 600 ед., около 700 ед., около 800 ед., около 900 ед., около 1000 ед., около 1100 ед., около 1200 ед., около 1300 ед., около 1400 ед., около 1500 ед., около 1600 ед., около 1700 ед., около 1800 ед., около 1900 ед., около 2000 ед., около 2100 ед., около 2200 ед., около 2300 ед., около 2400 ед., около 2500 ед., около 2600 ед., около 2700 ед., около 2800 ед., около 2900 ед., около 3000 ед., около 3100 ед., около 3200 ед., около 3300 ед., около 3400 ед., около 3500 ед., около 3600 ед., около 3700 ед., около 3800 ед., около 3900 ед., около 4000 ед., около 4100 ед., около 4200 ед., около 4300 ед., около 4400 ед., около 4500 ед., около 4600 ед., около 4700 ед., около 4800 ед., около 4900 ед. или около 5000 ед. фермента гиалуронидазы. Например, количество фермента гиалуронидазы в композиции может составлять от 50 ед. до 50000 ед., например, от 100 ед. до 45000 ед., например, от 250 ед. до 40000 ед., например, от 500 ед. до 35000 ед., например, от 750 ед. до 30000 ед., например, от 1000 ед. до 25000 ед., например, от 1500 ед. до 20000 ед., например, от 2000 ед. до 15000 ед., например, от 2500 ед. до 10000 ед., и включая от 3000 ед. до 5000 ед. фермента гиалуронидазы. Например, количество фермента гиалуронидазы в композиции может составлять от 50 ед. до 50000 ед., например, от 100 ед. до 40000 ед., например, от 300 ед. до 30000 ед., например, от 500 ед. до 20000 ед., например, от 700 ед. до 10000 ед., например, от 800 ед. до 5000 ед., например, от 900 ед. до 4000 ед., например, от 1000 ед. до 3000 ед., например, от 1500 ед. до 2500 ед., и включая от 1700 ед. до 2200 ед. фермента гиалуронидазы.

[0068] В некоторых вариантах реализации концентрация фермента гиалуронидазы в композиции составляет 50 ед./мл или более, например, 100 ед./мл или более, например, 250 ед./мл или более, например, 500 ед./мл или более, например, 750 ед./мл или более, например, 1000 ед./мл или более, например, 2000 ед./мл или более, например, 2500 ед./мл или более, например, 3000 ед./мл или более, например, 3500 ед./мл или более, например, 4000 ед./мл или более, например, 4500 ед./мл или более, например, 5000 ед./мл или более. В некоторых случаях концентрация фермента гиалуронидазы составляет около 100 ед./мл, 200 ед./мл, 300 ед./мл, 400 ед./мл, 500 ед./мл, около 600 ед./мл, около 700 ед./мл, около 800 ед./мл, около 900 ед./мл, около 1000 ед./мл, около 1100 ед./мл, около 1200 ед./мл, около 1300

ед./мл, около 1400 ед./мл, около 1500 ед./мл, около 1600 ед./мл, около 1700 ед./мл, около 1800 ед./мл, около 1900 ед./мл, около 2000 ед./мл, около 2100 ед./мл, около 2200 ед./мл, около 2300 ед./мл, около 2400 ед./мл, около 2500 ед./мл, около 2600 ед./мл, около 2700 ед./мл, около 2800 ед./мл, около 2900 ед./мл, около 3000 ед./мл, около 3100 ед./мл, около 3200 ед./мл, около 3300 ед./мл, около 3400 ед./мл, около 3500 ед./мл, около 3600 ед./мл, около 3700 ед./мл, около 3800 ед./мл, около 3900 ед./мл, около 4000 ед./мл, около 4100 ед./мл, около 4200 ед./мл, около 4300 ед./мл, около 4400 ед./мл, около 4500 ед./мл, около 4600 ед./мл, около 4700 ед./мл, около 4800 ед./мл, около 4900 ед./мл или около 5000 ед./мл. Например, концентрация фермента гиалуронидазы в композиции может составлять от 50 ед./мл до 5000 ед./мл, например, от 100 ед./мл до 4500 ед./мл, например, от 250 ед./мл до 4000 ед./мл, например, от 500 ед./мл до 3500 ед./мл, например, от 750 ед./мл до 3000 ед./мл, включая от 1000 ед./мл до 2000 ед./мл, и включая от 1500 ед./мл до 2500 ед./мл.

[0069] Композиции согласно различным вариантам реализации также содержат ингибитор теломеразы, содержащий олигонуклеотид и липидный фрагмент, связанный с 5' и/или 3'-концом олигонуклеотида. В различных вариантах реализации термин «ингибитор теломеразы» в данном контексте относится к соединению, которое способно снижать или ингибировать активность фермента обратной транскриптазы теломеразы в клетке млекопитающего. Ингибиторы теломеразы, представляющие интерес, в некоторых случаях включают ингибитор матрицы hTR, содержащий олигонуклеотид. «Ингибитор матрицы hTR» представляет собой соединение, которое блокирует матричную область РНК-компонента теломеразы человека и может ингибировать активность указанного фермента. В некоторых вариантах реализации олигонуклеотид содержит последовательность, эффективную для гибридизации с более специфической частью данной области, имеющей последовательность 5'-CUAACCCUAAC-3'.

[0070] Ингибиторы теломеразы, представляющие интерес, содержат олигонуклеотид и липидный фрагмент, связанный с 5' и/или 3'-концом олигонуклеотида. В некоторых вариантах реализации ингибитор теломеразы содержит олигонуклеотид, имеющий «связи, устойчивые к нуклеазе», которые имеют остов с субъединичными связями, которые по существу устойчивы к расщеплению под действием нуклеаз, в не гибридизованной или гибридизованной форме, под действием внеклеточных и внутриклеточных нуклеаз. В некоторых случаях олигонуклеотид проявляет слабое или отсутствие расщепления под действием нуклеаз в физиологических условиях.

[0071] Та область терапевтического олигонуклеотида, которая нацелена на последовательность hTR, в некоторых вариантах реализации комплементарна соответствующей последовательности hTR. В некоторых вариантах реализации

последовательность оснований олигонуклеотида содержит последовательность из 5 или более нуклеотидов, которые комплементарны hTR-мишени, например, из 8 нуклеотидов или более, например, из 10 нуклеотидов или более, например, из 12 нуклеотидов или более, например, из 15 нуклеотидов или более, которые комплементарны hTR-мишени. В некоторых вариантах реализации олигонуклеотиды в ингибитора теломеразы по данному изобретению полностью комплементарны последовательности hTR-мишени, как в тех случаях, когда полная длина олигонуклеотида комплементарна последовательности hTR-мишени.

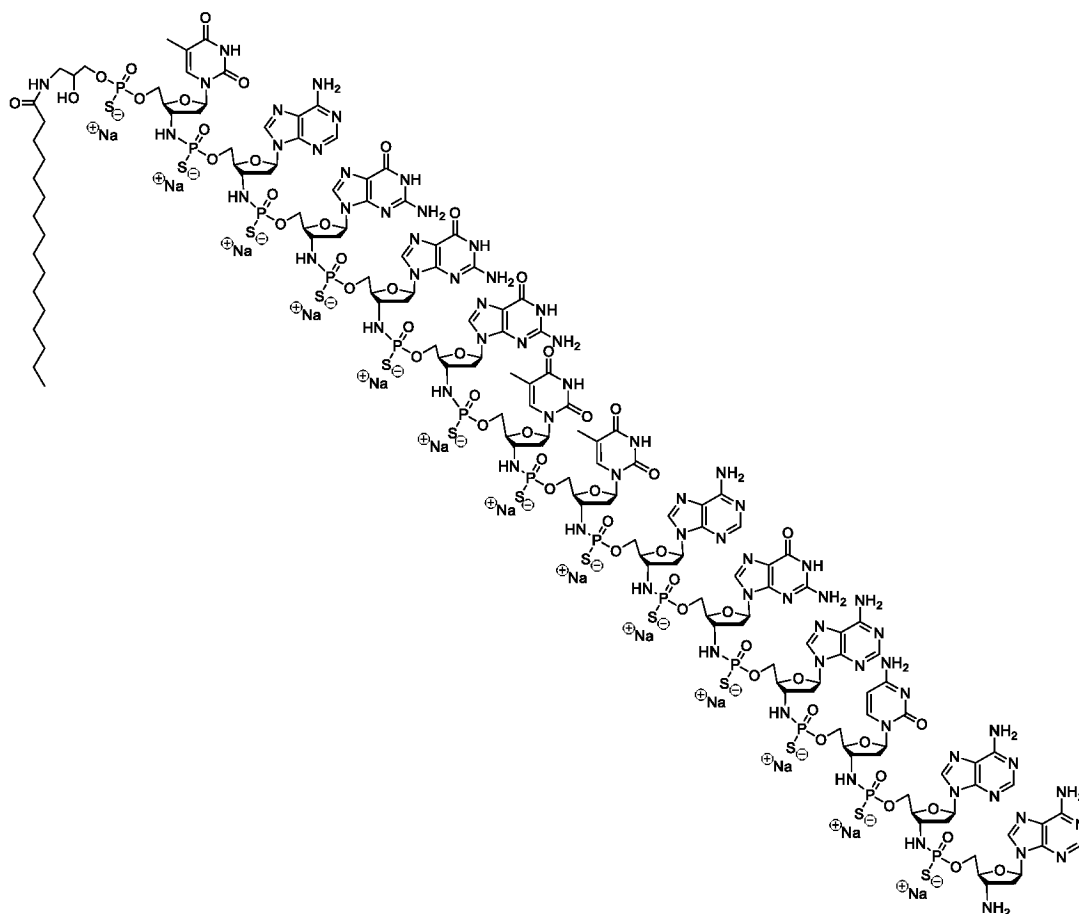
[0072] Ингибитор теломеразы содержит межнуклеозидные связи, такие как фосфодиэфирные, фосфотриэфирные, метилфосфонатные, P3'→N5' фосфорамидатные, N3'→P5' фосфорамидатные, N3'→P5' тиофосфорамидатные и тиофосфатные связи. В некоторых вариантах реализации ингибиторы теломеразы, представляющие интерес, содержат по меньшей мере одну N3'→P5' фосфорамидатную (NP) или N3'→P5' тиофосфорамидатную (NPS) связь, и указанная связь может быть представлена структурой: 3'-(-NH--P(=O)(--XR)--O-)-5', где X представляет собой O или S, и R выбран из группы, состоящей из водорода, алкила и арила; и их фармацевтически приемлемые соли, где XR представляет собой OH или SH. В других вариантах реализации олигонуклеотид содержит все связи NP или в некоторых вариантах реализации все связи NPS. В одном варианте реализации последовательность олигонуклеотида ингибитора матрицы hTR представляет собой последовательность, комплементарную нуклеотидам 42-54 в SEQ ID NO: 6 (GGGUUGCGGAGGGUGGGCCUGGGAGGGGUGGUGGCCAUUUUUUGUCUAACCCUAACUGAGAAGGGCGUAGGCGCCGUGCUUUUGCUCCCCGCGCGCUGUUUUUCUCGCUGACUUUCAGCGGGCGGAAAAGCCUCGGCCUGCCGCCUUCACCGUUCAUUCUAGAGCAAACAAAAAUGUCAGCUGCUGGCCCGGUUCGCCUCCCGGGGACCUGCGGCGGGUCGCCUGCCCAGCCCCCGAACCCCGCCUGGAGCCGCGGUCGGCCCGGGGCUUCUCCGGAGGCACCCACUGCCACCGCGAAGAGUUGGGCUCUGUCAGCCGCGGGUCUCUCGGGGGCGAGGGCGAGGUUCACCGUUUCAGGCCGCAGGAAGAGGAACGGAGCGAGUCCCGCCGCGGCGCGAUUCCUGAGCUGUGGGACGUGCACCCAGGACUCGGCUCACA CAUGCAGUUCGCUUCCUGUUGGUGGGGGGAACGCCGAUCGUGCGCAUCCGUCACCCUCGCGCGGCAGUGGGGGGCUUGUGAACCCCAAACCGACUGACUGACUGGGCCAGUGUGCU). В некоторых вариантах реализации олигонуклеотид содержит последовательность, которая комплементарна или почти комплементарна некоторой части 11-нуклеотидной области, имеющей последовательность 5'-CUAACCCUAAC-3'. Олигонуклеотид, имеющий указанную последовательность (TAGGGTTAGACAA; SEQ ID

NO: 17) и N3'→P5' тиофосфорамидатные (NPS) связи обозначен в данном документе как GRN163. См., например, Asai et al., *Cancer Research* 63:3931-3939 (2003) and Gryaznov et al., *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids* 22(5-8):577-81 (2003). Другая область-мишень представляет собой область, охватывающая нуклеотиды 137-179 hTR (см. Pruzan et al., *Nucl. Acids Research*, 30:559-568, 2002). В указанной области предпочтительной мишенью является область, охватывающая 141-153. В публикации PCT WO 98/28442 описано применение олигонуклеотидов, имеющих по меньшей мере 7 нуклеотидов в длину, для ингибирования теломеразы, причем указанные олигонуклеотиды сконструированы так, чтобы быть комплементарными доступным частям последовательности hTR за пределами матричной области, включая нуклеотиды 137-196, 290-319 и 350-380 hTR. Предпочтительная последовательность нацеливания на hTR представлена ниже и определена последовательностями SEQ ID NO: 7 - 27. В некоторых вариантах реализации олигонуклеотид ингибитора теломеразы имеет последовательность, направленно воздействующую на РНК теломеразы человека (hTR), включая, но не ограничиваясь ими, последовательности:

Последовательность нацеливания на hTR	Область SEQ ID NO:6	SEQ ID NO:
ACATTTTTTTGTTTGCTCTAG	160-179	7
GCTCTAGAATGAACGGTGGAAGGCGGCAGG	137-166	8
GTGGAGGCGGCAGG	137-151	9
GGAAGGCGGCAGG	137-149	10
GTGGAAGGCGGCA	139-151	11
GTGGAAGGCGG	141-151	12
CGGTGGAAGGCGG	141-153	13
ACGGTGGAAGGCG	142-154	14
AACGGTGGAAGGCGGC	143-155	15
ATGAACGGTGGAAGGCGG	144-158	16
TAGGGTTAGACAA	42-54	17
CAGTTAGGGTTAG	46-58	18
TAGGGTTAGACA	42-53	19
TAGGGTTAGAC	42-52	20
GTTAGGGTTAG	46-56	21
GTTAGGGTTAGAC	44-56	22
GTTAGGGTTAGACAA	42-56	23
GGGTTAGAC	44-52	24
CAGTTAGGG	50-58	25
CCCTTCTCAGTT	54-65	26
CGCCCTTCTCAG	56-67	27

[0073] Ингибиторы теломеразы по данному изобретению содержат липидный фрагмент, связанный с 5' и/или 3'-концом олигонуклеотида. В некоторых случаях структурная группа обеспечивает превосходные свойства усвоения клеткой, так что эквивалентный биологический эффект может быть достигнут с использованием меньшего количества конъюгированного олигонуклеотида, по сравнению с немодифицированной формой. Липидный фрагмент может представлять собой алифатический углеводород или жирную кислоту, например, производные углеводородов и жирных кислот. Например, липидный фрагмент может представлять собой насыщенные неразветвленные соединения, содержащие 14-20 атомов углерода, такие как миристиновая (тетрадекановая) кислота, пальмитиновая (гексадекановая) кислота и стеариновая (октадекановая) кислота, а также их соответствующие алифатические углеводородные формы, тетрадекан, гексадекан и октадекан. Примеры других липидных фрагментов включают стерин, такие как холестерин, и замещенные жирные кислоты и углеводороды, в частности, полифторированные формы указанных групп. В некоторых вариантах реализации липидный фрагмент содержит одно или более производных, таких как аминное, амидное, сложноэфирное и карбаматное производное липидного фрагмента. В одном примере липидный фрагмент представляет собой пальмитоильный (C16) фрагмент, такой как пальмитоиламид. Липидный фрагмент может быть конъюгирован с олигонуклеотидом через линкер, такой как глицериновый или аминокислотный линкер.

[0074] В некоторых вариантах реализации ингибитор теломеразы представляет собой соединение, описанное в патенте США № 9375485, описание которого включено в данный документ посредством ссылки. В некоторых вариантах реализации ингибитор теломеразы представляет собой иметелстат (5'-пальмитоилированный 13-мерный тиофосфорамидатный олигонуклеотид, состоящий из последовательности 5'-TAGGGTTAGACAA-3' SEQ ID NO: 17), или его фармацевтически приемлемую соль, такую как иметелстат натрия.



[0075] В некоторых вариантах реализации количество ингибитора теломеразы, такого как иметелстат или иметелстат натрия, в подкожной композиции составляет от около 0.5 до около 5 мг, от около 5 до около 10 мг, от около 10 до около 15 мг, от около 15 до около 20 мг, от около 20 до около 25 мг, от около 20 до около 50 мг, от около 25 до около 50 мг, от около 50 до около 75 мг, от около 50 до около 100 мг, от около 75 до около 100 мг, от около 100 до около 125 мг, от около 125 до около 150 мг, от около 150 до около 175 мг, от около 175 до около 200 мг, от около 200 до около 225 мг, от около 225 до около 250 мг, от около 250 до около 300 мг, от около 300 до около 350 мг, от около 350 до около 400 мг, от около 400 до около 450 мг, от около 450 до около 500 мг, от около 500 мг до около 600 мг, от около 600 мг до около 700 мг, от около 700 мг до около 800 мг, от около 800 мг до около 900 мг, от около 900 мг до около 1000 мг, от около 1100 мг до около 1200 мг, от около 1200 мг до около 1300 мг, от около 1300 мг до около 1400 мг, от около 1400 мг до около 1500 мг, от около 1500 мг до около 1600 мг, от около 1600 мг до около 1700 мг, от около 1700 мг до около 1800 мг, от около 1800 мг до около 1900 мг, от около 1900 мг до около 2000 мг, от около 2000 мг до около 2100 мг, от около 2100 мг до около 2200 мг, от около 2200 мг до около 2300 мг, от около 2300 мг до около 2400 мг, от около 2400 мг до около 2500 мг.

[0076] В некоторых вариантах реализации указанное количество ингибитора теломеразы представлено в лекарственной форме в единичной дозе, имеющей содержание

от около 5 мг до около 1000 мг, от 5 мг до около 500 мг, например, от около 30 мг до около 300 мг или от около 50 мг до около 200 мг. В некоторых вариантах реализации указанное количество ингибитора теломеразы представлено в лекарственной форме в единичной дозе, имеющей содержание от около 200 мг до около 3000 мг, от 750 мг до около 2500 мг, например, от около 1000 мг до около 2000 мг или от около 50 мг до около 2000 мг. Лекарственная форма в единичной дозе может быть жидкой или лиофилизированной.

[0077] В некоторых вариантах реализации содержание ингибитора теломеразы в композиции является разбавленным (около 0,1 мг/мл) или концентрированным (около 300 мг/мл), включая, например, любое из значений от около 0,1 до около 300 мг/мл, от около 0,1 до около 200 мг/мл, от около 0,1 до около 180 мг/мл, от около 0,1 до около 160 мг/мл, от около 0,1 до около 140 мг/мл, от около 0,1 до около 120 мг/мл, от около 0,1 до около 100 мг/мл, от около 0,1 до около 80 мг/мл, от около 0,1 до около 60 мг/мл, от около 0,1 до около 40 мг/мл, от около 0,1 до около 20 мг/мл, от около 0,1 до около 10 мг/мл, от около 2 до около 40 мг/мл, от около 4 до около 35 мг/мл, от около 6 до около 30 мг/мл, от около 8 до около 25 мг/мл, от около 10 до около 20 мг/мл, от около 12 до около 15 мг/мл, или любое из значений около 0,1 мг/мл, 0,2 мг/мл, 0,3 мг/мл, 0,4 мг/мл, 0,5 мг/мл, 0,6 мг/мл, 0,7 мг/мл, 0,8 мг/мл, 0,9 мг/мл, 1 мг/мл, 1,1 мг/мл, 1,2 мг/мл, 1,3 мг/мл, 1,4 мг/мл, 1,5 мг/мл, 1,6 мг/мл, 1,7 мг/мл, 1,8 мг/мл, 1,9 мг/мл, 2 мг/мл, 2,1 мг/мл, 2,2 мг/мл, 2,3 мг/мл, 2,4 мг/мл или 2,5 мг/мл. В некоторых вариантах реализации концентрация ингибитора теломеразы составляет по меньшей мере любое из значений около 0,1 мг/мл, 0,2 мг/мл, 0,3 мг/мл, 0,4 мг/мл, 0,5 мг/мл, 1,3 мг/мл, 1,5 мг/мл, 2 мг/мл, 3 мг/мл, 4 мг/мл, 5 мг/мл, 6 мг/мл, 7 мг/мл, 8 мг/мл, 9 мг/мл, 10 мг/мл, 11 мг/мл, 12 мг/мл, 13 мг/мл, 14 мг/мл, 15 мг/мл, 16 мг/мл, 17 мг/мл, 18 мг/мл, 19 мг/мл, 20 мг/мл, 21 мг/мл, 22 мг/мл, 23 мг/мл, 24 мг/мл, 25 мг/мл, 26 мг/мл, 27 мг/мл, 28 мг/мл, 29 мг/мл, 30 мг/мл, 31 мг/мл, 32 мг/мл, 33 мг/мл, 33,3 мг/мл, 34 мг/мл, 35 мг/мл, 36 мг/мл, 37 мг/мл, 38 мг/мл, 39 мг/мл, 40 мг/мл, 50 мг/мл, 60 мг/мл, 70 мг/мл, 80 мг/мл, 90 мг/мл, 100 мг/мл, 110 мг/мл, 120 мг/мл, 130 мг/мл, 140 мг/мл, 150 мг/мл, 160 мг/мл, 170 мг/мл, 180 мг/мл, 190 мг/мл, 200 мг/мл, 210 мг/мл, 220 мг/мл, 230 мг/мл, 240 мг/мл, 250 мг/мл, 260 мг/мл, 270 мг/мл, 280 мг/мл, 290 мг/мл, 300 мг/мл.

[0078] В некоторых вариантах реализации композиция составлена так, что она содержит ингибитор теломеразы, такой как иметелстат или иметелстат натрия, в дозе от около 2,0 мг/кг до около 20,0 мг/кг, например, от около 3,0 мг/кг до около 15,0 мг/кг, например, от около 4,0 мг/кг до около 10 мг/кг, например, от около 6 мг/кг до около 14 мг/кг, например, от около 7 мг/кг до около 13 мг/кг, например, от около 8 мг/кг до около 12 мг/кг, например, от около 7,5 мг/кг до 9,4 мг/кг, включая от около 9 мг/кг до около 11 мг/кг, и включая от около 11 мг/кг до около 14 мг/кг. В некоторых вариантах реализации

композиция составлена так, что она содержит ингибитор теломеразы, такой как иметелстат или иметелстат натрия, в дозе от около 7,5 мг/кг до около 9,4 мг/кг. Например, доза ингибитора теломеразы может составлять 4,0 мг/кг, 4,1 мг/кг, 4,2 мг/кг, 4,3 мг/кг, 4,4 мг/кг, 4,5 мг/кг, 4,6 мг/кг, 4,7 мг/кг, 4,8 мг/кг, 4,9 мг/кг, 5,0 мг/кг, 5,1 мг/кг, 5,2 мг/кг, 5,3 мг/кг, 5,4 мг/кг, 5,5 мг/кг, 5,6 мг/кг, 5,7 мг/кг, 5,8 мг/кг, 5,9 мг/кг, 6,0 мг/кг, 6,1 мг/кг, 6,2 мг/кг, 6,3 мг/кг, 6,4 мг/кг, 6,5 мг/кг, 6,6 мг/кг, 6,7 мг/кг, 6,8 мг/кг, 6,9 мг/кг, 7 мг/кг, 7,1 мг/кг, 7,2 мг/кг, 7,3 мг/кг, 7,4 мг/кг, 7,5 мг/кг, 7,6 мг/кг, 7,7 мг/кг, 7,8 мг/кг, 7,9 мг/кг, 8 мг/кг, 8,1 мг/кг, 8,2 мг/кг, 8,3 мг/кг, 8,4 мг/кг, 8,5 мг/кг, 8,6 мг/кг, 8,7 мг/кг, 8,8 мг/кг, 8,9 мг/кг, 9 мг/кг, 9,1 мг/кг, 9,2 мг/кг, 9,3 мг/кг, 9,4 мг/кг, 9,5 мг/кг, 9,6 мг/кг, 9,7 мг/кг, 9,8 мг/кг, 9,9 мг/кг, 10 мг/кг, 10,1 мг/кг, 10,2 мг/кг, 10,3 мг/кг, 10,4 мг/кг, 10,5 мг/кг, 10,6 мг/кг, 10,7 мг/кг, 10,8 мг/кг, 10,9 мг/кг, 11 мг/кг, 11,1 мг/кг, 11,2 мг/кг, 11,3 мг/кг, 11,4 мг/кг, 11,5 мг/кг, 11,6 мг/кг, 11,7 мг/кг, 11,8 мг/кг, 11,9 мг/кг, 12 мг/кг, 12,1 мг/кг, 12,2 мг/кг, 12,3 мг/кг, 12,4 мг/кг, 12,5 мг/кг, 12,6 мг/кг, 12,7 мг/кг, 12,8 мг/кг, 12,9 мг/кг, 13 мг/кг, 10,5 мг/кг, 11,0 мг/кг, 11,5 мг/кг, 12,0 мг/кг, 12,5 мг/кг, 13,0 мг/кг, 13,5 мг/кг, 14,0 мг/кг, 14,5 мг/кг, 15,0 мг/кг, 15,5 мг/кг, 16,0 мг/кг, 16,5 мг/кг, 17,0 мг/кг, 17,0 мг/кг, 17,5 мг/кг, 18,0 мг/кг, 18,5 мг/кг, 19,0 мг/кг, 19,5 мг/кг или 20,0 мг/кг.

[0079] В некоторых вариантах реализации подкожная композиция ингибитора теломеразы также содержит один или более фармацевтически приемлемых носителей. Примеры фармацевтически приемлемых носителей могут включать растворители, дисперсионные среды, покрытия, антибактериальные и противогрибковые агенты, изотонические агенты и агенты для замедления абсорбции, водные или неводные носители или их комбинации. В некоторых вариантах реализации композиции могут дополнительно содержать одно или более фармацевтически приемлемых вспомогательных веществ в составе фармацевтической композиции. Вспомогательные вещества могут включать, но не ограничиваясь ими, углеводы, неорганические соли, противомикробные агенты, стабилизирующие агенты, антиоксиданты, поверхностно-активные вещества, аминокислоты, буферы, кислоты, основания и их комбинации. Например, вспомогательные вещества, подходящие для композиций для подкожных инъекций, могут содержать одно или более из воды, спиртов, полиолов, моносахаридов, полисахаридов, стабилизирующих агентов, буферов, аминокислот и поверхностно-активных веществ. Количество каждого фармацевтически приемлемого вспомогательного вещества или носителя может варьироваться и может составлять от 1 мМ до 1000 мМ, например, от 2 мМ до 900 мМ, например, от 3 мМ до 800 мМ, например, от 4 мМ до 700 мМ, например, от 5 мМ до 600 мМ, например, от 6 мМ до 500 мМ, например, от 7 мМ до 400 мМ, например, от 8 мМ до 300 мМ, например, от 9 мМ до 200 мМ, и включая от 100 мМ до 100 мМ.

[0080] В некоторых вариантах реализации композиции содержат буфер. Примеры буферов, которые могут быть использованы, представляют собой уксусную кислоту, лимонную кислоту, муравьиную кислоту, янтарную кислоту, фосфорную кислоту, угольную кислоту, яблочную кислоту, аспарагиновую кислоту, гистидин, борную кислоту, буферы Ttis, HEPPSO и HEPES. В некоторых случаях буферы присутствуют в композиции в таком количестве, которое обеспечивает поддержание определенного уровня pH композиции. Например, один или более буферов могут присутствовать в композиции для поддержания композиции при уровне pH от 3,0 до 9,0, например, уровень pH от 3,5 до 8,5, например, уровень pH от 4,0 до 8,0, например, уровень pH от 4,5 до 7,5, например, уровень pH от 5,0 до 7,0, и включая уровень pH от 5,5 до 7,5. Например, композиция может иметь уровень pH 3,0, pH 3,1, pH 3,2, pH 3,3, pH 3,4, pH 3,5, pH 3,6, pH 3,7, pH 3,8, pH 3,9, pH 4,0, pH 4,1, pH 4,2, pH 4,3, pH 4,4, pH 4,5, pH 4,6, pH 4,7, pH 4,8, pH 4,9, pH 5,0, pH 5,1, pH 5,2, pH 5,3, pH 5,4, pH 5,5, pH 5,6, pH 5,7, pH 5,8, pH 5,9, pH 6,0, pH 6,1, pH 6,2, pH 6,3, pH 6,4, pH 6,5, pH 6,6, pH 6,7, pH 6,8, pH 6,9, pH 7,0, pH 7,1, pH 7,2, pH 7,3, pH 7,4, pH 7,5, pH 7,6, pH 7,7, pH 7,8, pH 7,9, pH 8,0, pH 8,1, pH 8,2, pH 8,3, pH 8,4, pH 8,5, pH 8,6, pH 8,7, pH 8,8, pH 8,9 или pH 9,0. Буфер может присутствовать в композиции в количестве от 1 мМ до 1000 мМ, например, от 2 мМ до 900 мМ, например, от 3 мМ до 800 мМ, например, от 4 мМ до 700 мМ, например, от 5 мМ до 600 мМ, например, от 6 мМ до 500 мМ, например, от 7 мМ до 400 мМ, например, от 8 мМ до 300 мМ, например, от 9 мМ до 200 мМ, и включая от 10 мМ до 100 мМ. Например, буфер может присутствовать в композиции в концентрации около 10 мМ, около 20 мМ, около 30 мМ, около 40 мМ, около 50 мМ, около 75 мМ, 100 мМ, около 110 мМ, около 120 мМ, около 130 мМ, около 140 мМ, около 150 мМ, около 160 мМ, около 170 мМ, около 180 мМ, около 190 мМ, около 200 мМ, около 210 мМ, около 220 мМ, около 230 мМ, около 240 мМ, около 250 мМ, около 260 мМ, около 270 мМ, около 280 мМ, около 290 мМ, около 300 мМ, около 310 мМ, около 320 мМ, около 330 мМ, около 340 мМ, около 350 мМ, около 360 мМ, около 370 мМ, около 380 мМ, около 390 мМ, около 400 мМ, около 410 мМ, около 420 мМ, около 430 мМ, около 440 мМ, около 450 мМ, около 460 мМ, около 470 мМ, около 480 мМ, около 490 мМ или около 500 мМ.

[0081] В некоторых вариантах реализации композиции содержат углевод, такой как сахарид. Примеры сахаридов включают моносахариды, дисахариды, трисахариды, полисахариды, сахарные спирты, редуцирующие сахара, нередуцирующие сахара, такие как глюкоза, сахароза, трегалоза, лактоза, фруктоза, мальтоза, декстран, глицерин, декстран, эритрит, глицерин, арабит, силит, сорбит, маннит, меллибиоза, мелезитоза, раффиноза, маннотриоза, стахиоза, мальтоза, лактулоза, мальтулоза, глюцит, мальтит, лактит или изомальтулоза. В некоторых случаях композиции содержат сахарозу. В других

случаях композиции содержат трегалозу. Углевод (например, сахарид, такой как сахароза или трегалоза) может присутствовать в композиции в количестве от 1 мМ до 1000 мМ, например, от 2 мМ до 900 мМ, например, от 3 мМ до 800 мМ, например, от 4 мМ до 700 мМ, например, от 5 мМ до 600 мМ, например, от 6 мМ до 500 мМ, например, от 7 мМ до 400 мМ, например, от 8 мМ до 300 мМ, например, от 9 мМ до 200 мМ, включая от 10 мМ до 100 мМ. Например, углевод (например, сахарид, такой как сахароза или трегалоза) может присутствовать в композиции в концентрации около 10 мМ, около 20 мМ, около 30 мМ, около 40 мМ, около 50 мМ, около 75 мМ, 100 мМ, около 110 мМ, около 120 мМ, около 130 мМ, около 140 мМ, около 150 мМ, около 160 мМ, около 170 мМ, около 180 мМ, около 190 мМ, около 200 мМ, около 210 мМ, около 220 мМ, около 230 мМ, около 240 мМ, около 250 мМ, около 260 мМ, около 270 мМ, около 280 мМ, около 290 мМ, около 300 мМ, около 310 мМ, около 320 мМ, около 330 мМ, около 340 мМ, около 350 мМ, около 360 мМ, около 370 мМ, около 380 мМ, около 390 мМ, около 400 мМ, около 410 мМ, около 420 мМ, около 430 мМ, около 440 мМ, около 450 мМ, около 460 мМ, около 470 мМ, около 480 мМ, около 490 мМ или около 500 мМ.

[0082] В некоторых вариантах реализации композиции содержат одну или более аминокислот. Примеры аминокислот включают гистидин, изолейцин, метионин, глицин, аргинин, лизин, L-лейцин, трилейцин, аланин, глутаминовую кислоту, L-треонин и 2-фениламин. В некоторых случаях композиции содержат метионин. В других случаях композиции содержат гистидин. Аминокислота (например, метионин или гистидин) может присутствовать в композиции в количестве от 0,1 мг/мл до около 5 мг/мл, например, от 0,1 мг/мл до около 2,5 мг/мл, например, от 1 мг/мл до около 2 мг/мл, например, от 4 мМ до 700 мМ, например, от 5 мМ до 600 мМ, например, от 6 мМ до 500 мМ, например, от 7 мМ до 400 мМ, например, от 8 мМ до 300 мМ, например, от 9 мМ до 200 мМ, и включая от 10 мМ до 100 мМ. Например, аминокислота (например, метионин или гистидин) может присутствовать в композиции в концентрации около 0,5 мг/мл, около 1 мг/мл, около 1,1 мг/мл, около 1,2 мг/мл, около 1,3 мг/мл, около 1,4 мг/мл, около 1,5 мг/мл, около 1,6 мг/мл, около 1,7 мг/мл, около 1,8 мг/мл, около 1,9 мг/мл, около 2,0 мг/мл, около 2,1 мг/мл, около 2,2 мг/мл, около 2,3 мг/мл, около 2,4 мг/мл, около 2,5 мг/мл, около 2,6 мг/мл, около 2,7 мг/мл, около 2,8 мг/мл, около 2,9 мг/мл, около 3 мг/мл, около 3,5 мг/мл, около 4 мг/мл, около 4,5 мг/мл или около 5 мг/мл. В некоторых вариантах реализации композиции содержат гистидин в количестве около 0,5 мг/мл, около 1 мг/мл, около 1,1 мг/мл, около 1,2 мг/мл, около 1,3 мг/мл, около 1,4 мг/мл, около 1,5 мг/мл, около 1,6 мг/мл, около 1,7 мг/мл, около 1,8 мг/мл, около 1,9 мг/мл, около 2,0 мг/мл, около 2,1 мг/мл, около 2,2 мг/мл, около 2,3 мг/мл, около 2,4 мг/мл, около 2,5 мг/мл, около 2,6 мг/мл, около 2,7 мг/мл, около 2,8 мг/мл,

около 2,9 мг/мл, около 3 мг/мл, около 3,5 мг/мл, около 4 мг/мл, около 4,5 мг/мл или около 5 мг/мл. В других вариантах реализации композиции содержат метионин в количестве около 0,5 мг/мл, около 1 мг/мл, около 1,1 мг/мл, около 1,2 мг/мл, около 1,3 мг/мл, около 1,4 мг/мл, около 1,5 мг/мл, около 1,6 мг/мл, около 1,7 мг/мл, около 1,8 мг/мл, около 1,9 мг/мл, около 2,0 мг/мл, около 2,1 мг/мл, около 2,2 мг/мл, около 2,3 мг/мл, около 2,4 мг/мл, около 2,5 мг/мл, около 2,6 мг/мл, около 2,7 мг/мл, около 2,8 мг/мл, около 2,9 мг/мл, около 3 мг/мл, около 3,5 мг/мл, около 4 мг/мл, около 4,5 мг/мл или около 5 мг/мл.

[0083] В некоторых вариантах реализации композиции содержат одно или более поверхностно-активных веществ. Примеры поверхностно-активных веществ включают полисорбаты (например, полисорбат-20 или полисорбат-80); полуксамеры (например, полуксамер 188); Triton; октилгликозид натрия; лаурил-, миристил-, линолеил- или стеарилсульфобетаин; лаурил-, миристил-, линолеил- или стеарилсаркозин; линолеил-, миристил- или цетилбетаин; лауроамидопропил-, кокамидопропил-, линолеамидопропил-, миристамидопропил-, пальмидопропил- или изостеарамидапропилбетаин (например, лауроамидопропил); миристамидопропил-, пальмидопропил- или изостеарамидапропилдиметиламин; метилкокоилтаурат натрия или метилолеилтаурат динатрия; и серию MONAQUA™ (Mona Industries, Inc., Патерсон, штат Нью-Джерси), полиэтилгликоль, полипропилгликоль и сополимеры этилен- и пропиленгликоля (например, PLURONIC™, PF68, и т.д.). В некоторых случаях композиции содержат полисорбатное поверхностно-активное вещество. Поверхностно-активное вещество может присутствовать в композиции в количестве от 1 мМ до 1000 мМ, например, от 2 мМ до 900 мМ, например, от 3 мМ до 800 мМ, например, от 4 мМ до 700 мМ, например, от 5 мМ до 600 мМ, например, от 6 мМ до 500 мМ, например, от 7 мМ до 400 мМ, например, от 8 мМ до 300 мМ, например, от 9 мМ до 200 мМ, и включая от 10 мМ до 100 мМ. Например, поверхностно-активное вещество может присутствовать в композиции в концентрации около 10 мМ, около 20 мМ, около 30 мМ, около 40 мМ, около 50 мМ, около 75 мМ, 100 мМ, около 110 мМ, около 120 мМ, около 130 мМ, около 140 мМ, около 150 мМ, около 160 мМ, около 170 мМ, около 180 мМ, около 190 мМ, около 200 мМ, около 210 мМ, около 220 мМ, около 230 мМ, около 240 мМ, около 250 мМ, около 260 мМ, около 270 мМ, около 280 мМ, около 290 мМ, около 300 мМ, около 310 мМ, около 320 мМ, около 330 мМ, около 340 мМ, около 350 мМ, около 360 мМ, около 370 мМ, около 380 мМ, около 390 мМ, около 400 мМ, около 410 мМ, около 420 мМ, около 430 мМ, около 440 мМ, около 450 мМ, около 460 мМ, около 470 мМ, около 480 мМ, около 490 мМ или около 500 мМ.

[0084] Композиции могут содержать одну или более фармацевтически приемлемых солей. Фармацевтически приемлемые соли могут представлять собой (1) соли

присоединения кислот, образованные с неорганическими кислотами, такими как хлористоводородная кислота, бромистоводородная кислота, серная кислота, азотная кислота, фосфорная кислота и т.п.; или образованные с органическими кислотами, такими как уксусная кислота, пропионовая кислота, гексановая кислота, цикlopentanпропионовая кислота, гликолевая кислота, пировиноградная кислота, молочная кислота, малоновая кислота, янтарная кислота, яблочная кислота, малеиновая кислота, фумаровая кислота, винная кислота, лимонная кислота, бензойная кислота, 3-(4-гидроксibenzoил)бензойная кислота, коричная кислота, миндальная кислота, метансульфоновая кислота, этансульфоновая кислота, 1,2-этандисульфоновая кислота, 2-гидроксиэтансульфоновая кислота, бензолсульфоновая кислота, 4-хлорбензолсульфоновая кислота, 2-нафталинсульфоновая кислота, 4-толуолсульфоновая кислота, камфорсульфоновая кислота, 4-метилбицикло[2.2.2]окт-2-ен-1 карбоновая кислота, глюкогоптоновая кислота, 3-фенилпропионовая кислота, триметилуксусная кислота, трет-бутилуксусная кислота, лаурилсерная кислота, глюконовая кислота, глутаминовая кислота, гидроксинафтойная кислота, салициловая кислота, стеариновая кислота, муконовая кислота и т.п.; или (2) соли, образованные при замене кислотного протона, присутствующего в соединении, на ион металла, например, ион щелочного металла, ион щелочноземельного металла или ион алюминия; или при его координации с органическим основанием, таким как этаноламин, диэтанолламин, триэтанолламин, N-метилглюкамин и т.п. В некоторых вариантах реализации композиции содержат соль хлорид натрия или другую фармацевтически приемлемую соль, такую как сульфат магния. Фармацевтически приемлемая соль может присутствовать в композиции в количестве от 1 мМ до 1000 мМ, например, от 2 мМ до 900 мМ, например, от 3 мМ до 800 мМ, например, от 4 мМ до 700 мМ, например, от 5 мМ до 600 мМ, например, от 6 мМ до 500 мМ, например, от 7 мМ до 400 мМ, например, от 8 мМ до 300 мМ, например, от 9 мМ до 200 мМ, включая от 10 мМ до 100 мМ. Например, фармацевтически приемлемая соль может присутствовать в композиции в концентрации около 10 мМ, около 20 мМ, около 30 мМ, около 40 мМ, около 50 мМ, около 75 мМ, 100 мМ, около 110 мМ, около 120 мМ, около 130 мМ, около 140 мМ, около 150 мМ, около 160 мМ, около 170 мМ, около 180 мМ, около 190 мМ, около 200 мМ, около 210 мМ, около 220 мМ, около 230 мМ, около 240 мМ, около 250 мМ, около 260 мМ, около 270 мМ, около 280 мМ, около 290 мМ, около 300 мМ, около 310 мМ, около 320 мМ, около 330 мМ, около 340 мМ, около 350 мМ, около 360 мМ, около 370 мМ, около 380 мМ, около 390 мМ, около 400 мМ, около 410 мМ, около 420 мМ, около 430 мМ, около 440 мМ, около 450 мМ, около 460 мМ, около 470 мМ, около 480 мМ, около 490 мМ или около 500 мМ.

[0085] В рассматриваемых композициях также могут присутствовать кислоты или основания. Например, кислоты могут включать, но не ограничиваясь ими, хлористоводородную кислоту, уксусную кислоту, фосфорную кислоту, лимонную кислоту, яблочную кислоту, молочную кислоту, муравьиную кислоту, трихлоруксусную кислоту, азотную кислоту, перхлорную кислоту, фосфорную кислоту, серную кислоту, фумаровую кислоту и любые их комбинации. Примеры оснований включают, но не ограничиваясь ими, гидроксид натрия, ацетат натрия, гидроксид аммония, гидроксид калия, ацетат аммония, ацетат калия, фосфат натрия, фосфат калия, моногидрат карбоната натрия, цитрат натрия, формиат натрия, сульфат натрия, сульфат калия, фумарат калия и любые их комбинации. Кислота или основание может присутствовать в композиции в концентрации от 1 мМ до 1000 мМ, например, от 2 мМ до 900 мМ, например, от 3 мМ до 800 мМ, например, от 4 мМ до 700 мМ, например, от 5 мМ до 600 мМ, например, от 6 мМ до 500 мМ, например, от 7 мМ до 400 мМ, например, от 8 мМ до 300 мМ, например, от 9 мМ до 200 мМ, включая от 10 мМ до 100 мМ. Например, кислота или основание может присутствовать в композиции в концентрации около 10 мМ, около 20 мМ, около 30 мМ, около 40 мМ, около 50 мМ, около 75 мМ, 100 мМ, около 110 мМ, около 120 мМ, около 130 мМ, около 140 мМ, около 150 мМ, около 160 мМ, около 170 мМ, около 180 мМ, около 190 мМ, около 200 мМ, около 210 мМ, около 220 мМ, около 230 мМ, около 240 мМ, около 250 мМ, около 260 мМ, около 270 мМ, около 280 мМ, около 290 мМ, около 300 мМ, около 310 мМ, около 320 мМ, около 330 мМ, около 340 мМ, около 350 мМ, около 360 мМ, около 370 мМ, около 380 мМ, около 390 мМ, около 400 мМ, около 410 мМ, около 420 мМ, около 430 мМ, около 440 мМ, около 450 мМ, около 460 мМ, около 470 мМ, около 480 мМ, около 490 мМ или около 500 мМ.

[0086] В некоторых вариантах реализации композиции содержат один или более антиоксидантов. Антиоксиданты, которые могут уменьшать или предотвращать окисление и, следовательно, ухудшение композиции, могут включать, например, аскорбилпальмитат, бутилгидроксианизол, бутилгидрокситолуол, гипофосфорную кислоту, метионин, монотиоглицерин, пропилгаллат, бисульфит натрия, формальдегидсульфоксидат натрия, метабисульфит натрия и любые их комбинации. Антиоксидант может присутствовать в композиции в концентрации от 1 мМ до 1000 мМ, например, от 2 мМ до 900 мМ, например, от 3 мМ до 800 мМ, например, от 4 мМ до 700 мМ, например, от 5 мМ до 600 мМ, например, от 6 мМ до 500 мМ, например, от 7 мМ до 400 мМ, например, от 8 мМ до 300 мМ, например, от 9 мМ до 200 мМ, включая от 10 мМ до 100 мМ. Например, антиоксидант может присутствовать в композиции в концентрации около 10 мМ, около 20 мМ, около 30 мМ, около 40 мМ, около 50 мМ, около 75 мМ, 100 мМ, около 110 мМ, около 120 мМ, около 130 мМ, около 140 мМ, около 150 мМ, около 160 мМ, около 170 мМ, около 180 мМ, около 190

мМ, около 200 мМ, около 210 мМ, около 220 мМ, около 230 мМ, около 240 мМ, около 250 мМ, около 260 мМ, около 270 мМ, около 280 мМ, около 290 мМ, около 300 мМ, около 310 мМ, около 320 мМ, около 330 мМ, около 340 мМ, около 350 мМ, около 360 мМ, около 370 мМ, около 380 мМ, около 390 мМ, около 400 мМ, около 410 мМ, около 420 мМ, около 430 мМ, около 440 мМ, около 450 мМ, около 460 мМ, около 470 мМ, около 480 мМ, около 490 мМ или около 500 мМ.

[0087] В некоторых вариантах реализации композиции содержат один или более консервантов. Консерванты, которые могут уменьшать или предотвращать разложение композиции, например, вследствие роста микробов, могут включать, например, антиоксиданты, противомикробные агенты и хелатообразующие агенты, и могут включать метил-, этил-, пропил- и бутилпарабены, ариловые и алкиловые кислоты, лимонную кислоту, сорбиновую кислоту, сорбат Na, K и Ca, бензойную кислоту, бензоат Na, K и Ca, бензиловый спирт, метабисульфит натрия, бронопол, пропиленгликоль (15-30%), ВНТ (бутилгидрокситолуол), ВНА (бутилгидроксианизол), пропилгаллат, ЭДТК, хлорбутанол, бензальдегид, фенол, мета-крезол, хлоркрезол, хлорид бензалкония, хлорид бензетония и соединения ртути, такие как тиомерсал, нитрат фенолртути, и любые их комбинации. Консервант может присутствовать в композиции в концентрации от 1 мМ до 1000 мМ, например, от 2 мМ до 900 мМ, например, от 3 мМ до 800 мМ, например, от 4 мМ до 700 мМ, например, от 5 мМ до 600 мМ, например, от 6 мМ до 500 мМ, например, от 7 мМ до 400 мМ, например, от 8 мМ до 300 мМ, например, от 9 мМ до 200 мМ, включая от 10 мМ до 100 мМ. Например, консервант может присутствовать в композиции в концентрации около 10 мМ, около 20 мМ, около 30 мМ, около 40 мМ, около 50 мМ, около 75 мМ, 100 мМ, около 110 мМ, около 120 мМ, около 130 мМ, около 140 мМ, около 150 мМ, около 160 мМ, около 170 мМ, около 180 мМ, около 190 мМ, около 200 мМ, около 210 мМ, около 220 мМ, около 230 мМ, около 240 мМ, около 250 мМ, около 260 мМ, около 270 мМ, около 280 мМ, около 290 мМ, около 300 мМ, около 310 мМ, около 320 мМ, около 330 мМ, около 340 мМ, около 350 мМ, около 360 мМ, около 370 мМ, около 380 мМ, около 390 мМ, около 400 мМ, около 410 мМ, около 420 мМ, около 430 мМ, около 440 мМ, около 450 мМ, около 460 мМ, около 470 мМ, около 480 мМ, около 490 мМ или около 500 мМ.

[0088] Фармацевтические вспомогательные вещества вместе с другими вспомогательными веществами, которые могут быть использованы в предложенных композициях ингибитора теломеразы, описаны в публикациях А. Gennaro (2000) "Remington: The Science and Practice of Pharmacy", 20е изд., Lippincott, Williams, & Wilkins; Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems (1999) H. C. Ansel et al., ред., 7е изд., Lippincott, Williams, & Wilkins; и Handbook of Pharmaceutical Excipients (2000) A. H. Kibbe

et al., ред., 3е изд., Amer. Pharmaceutical Assoc., содержание которых включено в данный документ посредством ссылки.

СПОСОБЫ ПОДКОЖНОГО ВВЕДЕНИЯ КОМПОЗИЦИИ ИНГИБИТОРА ТЕЛОМЕРАЗЫ

[0089] Аспекты данного изобретения также включают способы подкожного введения субъекту композиции ингибитора теломеразы. При практическом осуществлении способов в соответствии с некоторыми вариантами реализации, субъекту подкожно вводят одну или более композиций, описанных в данном документе, которые содержат ингибитор теломеразы и фермент гиалуронидазу. В некоторых вариантах реализации композицию вводят субъекту посредством подкожной инъекции или подкожной инфузии. В других вариантах реализации композицию можно вводить субъекту из имплантированного устройства, такого как подкожно имплантированный катетер. В некоторых вариантах реализации композицию ингибитора теломеразы вводят субъекту с помощью подкожного болюсного инъектора, выполненного с возможностью подкожной доставки субъекту предварительного определенного количества композиции.

[0090] В некоторых вариантах реализации способы включают подкожное введение субъекту одной или более композиций, описанных в данном документе, содержащих ингибитор теломеразы и фермент гиалуронидазу, для лечения неоплазмы. В некоторых вариантах реализации неоплазма может представлять собой рак с солидной опухолью. Примеры рака для лечения согласно вариантам реализации данного изобретения могут включать, но не ограничиваясь ими, например, аденокарциному, анальный рак, рак аппендикса, астроцитому, атипичную тератоидную/рабдоидную опухоль, базальноклеточную карциному, рак желчных протоков (внепеченочный), рак мочевого пузыря, рак кости (например, саркому Юинга, остеосаркому и злокачественную фиброзную гистиоцитому и т.д.), глиому ствола головного мозга, опухоли головного мозга (например, астроцитомы, эмбриональные опухоли центральной нервной системы, эмбрионально-клеточные опухоли центральной нервной системы, краниофарингиому, эпендимому и т.д.), рак молочной железы (например, рак молочной железы у женщин, рак молочной железы у мужчин, детский рак молочной железы и т.д.), бронхиальные опухоли, карциноидные опухоли (например, детские, желудочно-кишечные и т.д.), карциному с неизвестной первичной локализацией, сердечные опухоли (опухоли сердца), рак шейки матки, рак толстой кишки, колоректальный рак, краниофарингиому, протоков (например, желчных протоков, внепеченочный и т.д.), протоковую карциному in situ (DCIS), эмбриональные опухоли, рак эндометрия, эпендимому, рак пищевода, эстезионейроэпителиому, саркому Юинга, экстракраниальную эмбрионально-клеточную опухоль, внегонадную

эмбрионально-клеточную опухоль, внепеченочный рак желчных протоков, рак глаз (например, интраокулярную меланому, ретинобластому и т.д.), фиброзную гистиоцитому кости (например, злокачественную, остеосаркому и т.д.), рак желчного пузыря, желудочный рак (рак желудка), желудочно-кишечную карциноидную опухоль, желудочно-кишечные стромальные опухоли (GIST), эмбрионально-клеточную опухоль (например, экстракраниальную, внегонадную, опухоль яичника, яичка и т.д.), гестационную трофобластическую болезнь, глиому, лейкоз ворсистых клеток, рак головы и шеи, рак сердца, гепатоцеллюлярный рак (рак печени), гистиоцитоз (например, клеток Лангерганса и т.д.), гипофарингеальный рак, интраокулярную меланому, опухоли островковых клеток (например, нейроэндокринные опухоли поджелудочной железы и т.д.), рак почек (например, почечно-клеточный, опухоль Вильмса, детские опухоли почек и т.д.), гистиоцитоз из клеток Лангерганса, рак гортани, рак губ и полости рта, рак печени (первичный), лобулярную карциному *in situ* (LCIS), рак легких (например, немелкоклеточный, мелкоклеточный и т.д.), злокачественную фиброзную гистиоцитому кости и остеосаркому, меланому, карциному из клеток Меркеля, мезотелиому, метастатический плоскоклеточный рак шеи неизвестного происхождения, рак полости рта, синдромы множественной эндокринной неоплазии, рак носовой полости и околоносовых пазух, рак носоглотки, нейробластому, немелкоклеточный рак легких, рак рта, рак полости рта (например, губ и т.д.), рак ротоглотки, остеосаркому и злокачественную фиброзную гистиоцитому кости, рак яичника (например, эпителиальный, эмбрионально-клеточную опухоль, опухоль с низким потенциалом злокачественности и т.д.), рак поджелудочной железы, нейроэндокринные опухоли поджелудочной железы (опухоли островковых клеток), папилломатоз, параганглиому, рак околоносовых пазух и носовой полости, рак парашитовидной железы, пенильный рак, фарингеальный рак, феохромоцитому, опухоль гипофиза, плеврорлегочную бластому, рак предстательной железы, ректальный рак, почечно-клеточный рак (рак почек), почечной лоханки и мочеточника, переходноклеточный рак, ретинобластому, рабдомиосаркому, рак слюнной железы, синдром Сезари, рак кожи (например, детский, меланому, карциному из клеток Меркеля, немеланомный рак и т.д.), мелкоклеточный рак легких, рак тонкого кишечника, рак мягкой ткани, плоскоклеточную карциному, плоскоклеточный рак шеи (например, неизвестного происхождения, метастатический и т.д.), рак желудка (желудочный рак), рак яичка, рак горла, тимому и карциному вилочковой железы, рак щитовидной железы, переходноклеточный рак почечной лоханки и мочеточника, рак мочеточника и почечной лоханки, рак уретры, рак матки (например, эндометриальный и т.д.), саркому матки, рак влагалища, рак вульвы, макроглобулинемию Вальденстрема, опухоль Вильмса и т.п. В некоторых

вариантах реализации способы включают лечение субъекта, имеющего неоплазму, как описано в патенте США № 7494982.

[0091] В некоторых вариантах реализации способы включают подкожное введение субъекту одной или более композиций, описанных в данном документе, содержащих ингибитор теломеразы и фермент гиалуронидазу, для лечения гематологической неоплазмы. В некоторых случаях лечение гематологической неоплазмы включает инициацию апоптоза клетки гематологической неоплазмы, например, инициацию апоптоза клетки гематологической неоплазмы *in vitro*. В других случаях лечение гематологической неоплазмы включает инициацию апоптоза клетки гематологической неоплазмы у субъекта. В некоторых вариантах реализации клетка гематологической неоплазмы представляет собой злокачественную гематопозитическую стволовую клетку (HSC). В других вариантах реализации клетка гематологической неоплазмы представляет собой злокачественную гематопозитическую клетку-предшественник (HPC).

[0092] В некоторых вариантах реализации способы включают подкожное введение субъекту одной или более композиций, описанных в данном документе, содержащих ингибитор теломеразы и фермент гиалуронидазу, для лечения миелопролиферативной неоплазмы. В некоторых случаях лечение миелопролиферативной неоплазмы включает инициацию апоптоза клетки миелопролиферативной неоплазмы, например, инициацию апоптоза клетки миелопролиферативной неоплазмы *in vitro*. В других случаях лечение миелопролиферативной неоплазмы включает инициацию апоптоза клетки миелопролиферативной неоплазмы у субъекта. В некоторых вариантах реализации клетка миелопролиферативной неоплазмы представляет собой злокачественную гематопозитическую стволовую клетку (HSC). В других вариантах реализации клетка миелопролиферативной неоплазмы представляет собой злокачественную гематопозитическую клетку-предшественник (HPC). Миелопролиферативные неоплазмы, которые лечат в соответствии с предложенными способами, могут включать, например, миелофиброз (MF), такой как первичный миелофиброз, или миелофиброз на фоне ET или PV (пост-ETMF или пост-PVMF). В других вариантах реализации миелопролиферативная неоплазма включает эссенциальную тромбоцитемию (ET), истинную полицитемию (PV), хронический миелогенный лейкоз (CML), хронический нейтрофильный лейкоз, хронический эозинофильный лейкоз и острый миелогенный лейкоз (AML).

[0093] В других вариантах реализации гематологическая неоплазма представляет собой миелодиспластический синдром (MDS). В других вариантах реализации гематологическая неоплазма представляет собой миелодиспластический синдром без изолированной делеции (5q). Миелодиспластические синдромы (MDS) включают такие заболевания как

рефрактерная анемия, рефрактерная анемия с избытком бластов, рефрактерная цитопения с мультилинейной дисплазией, рефрактерная цитопения с однолинейной дисплазией и хронический миеломоноцитарный лейкоз (CMML). В других вариантах реализации гематологическая неоплазма представляет собой лимфоидную неоплазму.

[0094] Способы в соответствии некоторыми вариантами реализации также включают диагностирование неоплазмы. В некоторых вариантах реализации способы включают диагностирование наличия у субъекта солидной опухоли. В некоторых вариантах реализации способы включают диагностирование наличия у субъекта гематологической неоплазмы. В некоторых вариантах реализации способы включают диагностирование наличия у субъекта миелопролиферативной неоплазмы. В одном примере способы включают диагностирование наличия у субъекта миелофиброза, такого как первичный миелофиброз. В некоторых вариантах реализации субъекту ранее не вводили ингибитор теломеразы (например, он не подвергался воздействию ингибитора теломеразы). В некоторых вариантах реализации субъектом является субъект со сниженным риском зависимого от переливания MDS, у которого наблюдается рецидив или невосприимчивость к агенту, стимулирующему эритропоэтин (ESA). В некоторых вариантах реализации субъект ранее не проходил лечение гипометилирующим агентом (HMA). В некоторых вариантах реализации субъект ранее не проходил лечение леналидомидом. В некоторых вариантах реализации субъектом является субъект без делеции (5q). В некоторых вариантах реализации субъектом является субъект, у которого наблюдается рецидив или невосприимчивость к ингибитору Янус-киназы (JAK). В некоторых вариантах реализации предложенные способы включают лечение субъекта, имеющего миелопролиферативную неоплазму, как описано в патенте США № 9375485 и в Международных публикациях патентов № WO 2019/023667 и WO 2020/028261, описание которых включено в данный документ посредством ссылки.

[0095] В некоторых вариантах реализации лимфоидная неоплазма (например, лимфома) представляет собой В-клеточную неоплазму. Примеры В-клеточных неоплазм включают, но не ограничиваясь ими, неоплазмы из клеток-предшественников В-лимфоцитов (например, лимфобластный лейкоз/лимфома из клеток-предшественников В-лимфоцитов) и периферические В-клеточные неоплазмы (например, В-клеточный хронический лимфоцитарный лейкоз, пролимфоцитарный лейкоз, мелкоклеточная лимфоцитарная лимфома (мелкоклеточная лимфоцитарная (SL) NHL), лимфоплазмацитоидную лимфому/иммуноцитому, мантийно-клеточную лимфому, лимфому из клеток центра фолликула, фолликулярную лимфому (например, цитологические классы: I (из малых клеток), II (смешанную из малых и крупных клеток), III (из крупных клеток) и/или подтипы:

диффузную и преимущественно мелкоклеточного типа), неходжкинскую лимфому (NHL), лимфому низкой степени злокачественности/фолликулярную неходжкинскую лимфому (NHL), средней степени злокачественности/фолликулярную NHL, В-клеточную лимфому из клеток маргинальной зоны (например, внегонадную (например, MALT-типа +/- моноцитоподобные В-клетки) и/или узелковую (например +/- моноцитоподобные В-клетки)), лимфому маргинальной зоны селезенки (*e.g.*, +/- ворсинчатые лимфоциты), лейкоз ворсистых клеток, плазмацитому/плазматическую миелому (например, миелому и множественную миелому), диффузную В-крупноклеточную лимфому (например, первичную медиастинальную (тимусную) В-клеточную лимфому), диффузную NHL средней степени злокачественности, лимфому Беркитта, В-клеточную лимфому высокой степени злокачественности, беркиттоподобную лимфому, иммуобластную NHL высокой степени злокачественности, лимфобластную NHL высокой степени злокачественности, мелкоклеточную NHL с нерасщепленными ядрами высокой степени злокачественности, генерализованную NHL, лимфому на фоне СПИДа и макроглобулинемию Вальденстрема).

[0096] В некоторых вариантах реализации лимфоидная неоплазма (например, лимфома) представляет собой Т-клеточную и/или предполагаемую НК-клеточную неоплазму. Примеры Т-клеточных и/или предполагаемых НК-клеточных неоплазм включают, но не ограничиваясь ими, неоплазмы из клеток-предшественников Т-лимфоцитов (лимфобластную лимфому/лейкоз из клеток-предшественников Т-лимфоцитов) и периферические Т-клеточные и НК-клеточные неоплазмы (например, Т-клеточный хронический лимфоцитарный лейкоз/пролимфоцитарный лейкоз и лейкоз больших гранулярных лимфоцитов (LGL) (например, Т-клеточного типа и/или НК-клеточного типа), кожную Т-клеточную лимфому (например, фунгоидный микоз/синдром Сезари), первичную Т-клеточную лимфому неустановленной этиологии (например, цитологических категорий (например, из клеток среднего размера, из смешанных клеток среднего и крупного размера), крупноклеточную, лимфоэпителиоидно-клеточную, Т-клеточную лимфому печеночно-селезеночного подтипа $\gamma\delta$ и подкожную панникулитную Т-клеточную лимфому), ангиоиммуобластную Т-клеточную лимфому (AILD), ангиоцентрическую лимфому, интерстициальную Т-клеточную лимфому (например, +/- связанную с энтеропатией), Т-клеточную лимфому/лейкоз взрослых (ATL), анапластическую крупноклеточную лимфому (ALCL) (например, CD30+, Т- и нуль-клеточного типа), анапластическую крупноклеточную лимфому и лимфому Ходжкина).

[0097] В некоторых вариантах реализации лимфоидная неоплазма (например, лимфома) представляет собой болезнь Ходжкина. Например, болезнь Ходжкина может быть с

преобладанием лимфоцитов, с нодулярным склерозом, смешанно-клеточной формой, с истощением лимфоцитов и/или с высоким содержанием лимфоцитов.

[0098] В некоторых вариантах реализации рак представляет собой лейкоз. В некоторых вариантах реализации лейкоз представляет собой хронический лейкоз. Примеры хронического лейкоза включают, но не ограничиваясь ими, хронический миелоцитарный (гранулоцитарный) лейкоз I, хронический миелогенный и хронический лимфоцитарный лейкоз (CLL). В некоторых вариантах реализации лейкоз представляет собой острый лейкоз. Примеры острого лейкоза включают, но не ограничиваясь ими, острый лимфобластный лейкоз (ALL), острый миелоидный лейкоз, острый лимфоцитарный лейкоз и острый миелоцитарный лейкоз (например, миелобластный, промиелоцитарный, миеломоноцитарный, моноцитарный и эритролейкоз).

[0099] В некоторых вариантах реализации рак представляет собой опухоль жидких тканей или плазмацитому. Плазмацитома включает, но не ограничиваясь этим, миелому. Миелома включает, но не ограничиваясь ими, экстрамедуллярную плазмацитому, солитарную миелому и множественную миелому. В некоторых вариантах реализации плазмацитома представляет собой множественную миелому.

[00100] В некоторых вариантах реализации рак представляет собой множественную миелому. Примеры множественной миеломы включают, но не ограничиваясь ими, множественную миелому IgG, множественную миелому IgA, множественную миелому IgD, множественную миелому IgE и несекреторную множественную миелому. В некоторых вариантах реализации множественная миелома представляет собой множественную миелому IgG. В некоторых вариантах реализации множественная миелома представляет собой множественную миелому IgA. В некоторых вариантах реализации множественная миелома представляет собой вялотекущую или невыраженную множественную миелому. В некоторых вариантах реализации множественная миелома представляет собой прогрессирующую множественную миелому. В некоторых вариантах реализации множественная миелома может быть резистентна к лекарствам, таким как, но не ограничиваясь ими, бортезомиб, дексаметазон (Dex-), доксорубицин (Dox-) и мелфалан (LR).

[00101] При описании способов по данному изобретению термин «субъект» означает субъекта или организм, которому подкожно вводят предложенную композицию ингибитора теломеразы. Таким образом, субъекты по данному изобретению могут включать, но не ограничиваясь ими, млекопитающих, например, людей и других приматов, таких как шимпанзе и другие виды человекообразных и обезьян; и т.п., причем в некоторых вариантах реализации субъектом является человек. Субъектом может быть тот, у которого

диагностировано наличие миелопролиферативной неоплазмы, при этом субъектом может быть тот, у которого указанное состояние диагностировано профессиональным медицинским работником.

[00102] Доза ингибитора теломеразы, такого как иметелстат или иметелстат натрия, которую вводят субъекту подкожно, может варьироваться, составляя от около 2,0 мг/кг до 20,0 мг/кг, например, от около 3,0 мг/кг до около 15,0 мг/кг, например, от около 4,0 мг/кг до около 10 мг/кг, например, от около 6 мг/кг до около 14 мг/кг, например, от около 7 мг/кг до около 13 мг/кг, например, от около 8 мг/кг до около 12 мг/кг, например, от около 7,5 мг/кг до 9,4 мг/кг, и включая от около 9 мг/кг до около 11 мг/кг, и включая от около 11 мг/кг до около 14 мг/кг. В некоторых вариантах реализации доза ингибитора теломеразы, которую вводят субъекту, составляет от около 7,5 мг/кг до около 9,4 мг/кг. В некоторых вариантах реализации доза ингибитора теломеразы, которую вводят субъекту, составляет от около 9 мг/кг до около 11 мг/кг. В некоторых вариантах реализации доза ингибитора теломеразы, которую вводят субъекту, составляет от около 11 мг/кг до около 14 мг/кг. Например, доза ингибитора теломеразы может составлять 4,0 мг/кг, 4,1 мг/кг, 4,2 мг/кг, 4,3 мг/кг, 4,4 мг/кг, 4,5 мг/кг, 4,6 мг/кг, 4,7 мг/кг, 4,8 мг/кг, 4,9 мг/кг, 5,0 мг/кг, 5,1 мг/кг, 5,2 мг/кг, 5,3 мг/кг, 5,4 мг/кг, 5,5 мг/кг, 5,6 мг/кг, 5,7 мг/кг, 5,8 мг/кг, 5,9 мг/кг, 6,0 мг/кг, 6,1 мг/кг, 6,2 мг/кг, 6,3 мг/кг, 6,4 мг/кг, 6,5 мг/кг, 6,6 мг/кг, 6,7 мг/кг, 6,8 мг/кг, 6,9 мг/кг, 7 мг/кг, 7,1 мг/кг, 7,2 мг/кг, 7,3 мг/кг, 7,4 мг/кг, 7,5 мг/кг, 7,6 мг/кг, 7,7 мг/кг, 7,8 мг/кг, 7,9 мг/кг, 8 мг/кг, 8,1 мг/кг, 8,2 мг/кг, 8,3 мг/кг, 8,4 мг/кг, 8,5 мг/кг, 8,6 мг/кг, 8,7 мг/кг, 8,8 мг/кг, 8,9 мг/кг, 9 мг/кг, 9,1 мг/кг, 9,2 мг/кг, 9,3 мг/кг, 9,4 мг/кг, 9,5 мг/кг, 9,6 мг/кг, 9,7 мг/кг, 9,8 мг/кг, 9,9 мг/кг, 10 мг/кг, 10,1 мг/кг, 10,2 мг/кг, 10,3 мг/кг, 10,4 мг/кг, 10,5 мг/кг, 10,6 мг/кг, 10,7 мг/кг, 10,8 мг/кг, 10,9 мг/кг, 11 мг/кг, 11,1 мг/кг, 11,2 мг/кг, 11,3 мг/кг, 11,4 мг/кг, 11,5 мг/кг, 11,6 мг/кг, 11,7 мг/кг, 11,8 мг/кг, 11,9 мг/кг, 12 мг/кг, 12,1 мг/кг, 12,2 мг/кг, 12,3 мг/кг, 12,4 мг/кг, 12,5 мг/кг, 12,6 мг/кг, 12,7 мг/кг, 12,8 мг/кг, 12,9 мг/кг, 13 мг/кг, 13,5 мг/кг, 14,0 мг/кг, 14,5 мг/кг, 15,0 мг/кг, 15,5 мг/кг, 16,0 мг/кг, 16,5 мг/кг, 17,0 мг/кг, 17,0 мг/кг, 17,5 мг/кг, 18,0 мг/кг, 18,5 мг/кг, 19,0 мг/кг, 19,5 мг/кг или 20,0 мг/кг. В некоторых вариантах реализации доза ингибитора теломеразы, которую вводят субъекту, составляет около 9,4 мг/кг.

[00103] Дозу ингибитора теломеразы, такого как иметелстат или иметелстат натрия, можно вводить субъекту по циклической схеме один раз через день, один раз в неделю, один раз в две недели (14 дней), один раз в три недели (21 день) или один раз в четыре недели (28 дней), один раз в 6 недель, один раз в 8 недель, один раз в 10 недель, один раз в 12 недель. В некоторых вариантах реализации предложенного способа иметелстат вводят на протяжении 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 или более 8 циклов введения доз, и каждый цикл включает: подкожное введение около 2-11 мг/кг иметелстата один раз в три недели, подкожное

введение около 2-11 мг/кг иметелстата один раз в четыре недели, подкожное введение около 2-11 мг/кг иметелстата один раз в две недели или подкожное введение около 7,5-9,4 мг/кг иметелстата один раз в три недели. В некоторых случаях каждый цикл введения доз включает подкожное введение около 7,5-9,4 мг/кг иметелстата один раз в четыре недели. В некоторых случаях каждый цикл введения доз включает подкожное введение около 9,4 мг/кг иметелстата примерно один раз в три недели. В некоторых случаях каждый цикл введения доз включает подкожное введение около 7,5 мг/кг иметелстата примерно один раз в четыре недели. В некоторых вариантах реализации предложенного способа иметелстат вводят на протяжении 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 или более 8 циклов введения доз, и каждый цикл включает: подкожное введение около 5-14 мг/кг иметелстата один раз в три недели, подкожное введение около 5-14 мг/кг иметелстата один раз в четыре недели, подкожное введение около 5-14 мг/кг иметелстата один раз в две недели или подкожное введение около 7,5-14 мг/кг иметелстата один раз в три недели. В некоторых случаях каждый цикл введения доз включает подкожное введение около 7,5-14 мг/кг иметелстата один раз в четыре недели. В некоторых случаях каждый цикл введения доз включает подкожное введение около 14 мг/кг иметелстата примерно один раз в три недели. В некоторых случаях каждый цикл введения доз включает подкожное введение около 12 мг/кг иметелстата примерно один раз в четыре недели.

[00104] В некоторых вариантах реализации количество ингибитора теломеразы, такого как иметелстат или иметелстат натрия, вводимое индивидууму, составляет от около 0.5 до около 5 мг, от около 5 до около 10 мг, от около 10 до около 15 мг, от около 15 до около 20 мг, от около 20 до около 25 мг, от около 20 до около 50 мг, от около 25 до около 50 мг, от около 50 до около 75 мг, от около 50 до около 100 мг, от около 75 до около 100 мг, от около 100 до около 125 мг, от около 125 до около 150 мг, от около 150 до около 175 мг, от около 175 до около 200 мг, от около 200 до около 225 мг, от около 225 до около 250 мг, от около 250 до около 300 мг, от около 300 до около 350 мг, от около 350 до около 400 мг, от около 400 до около 450 мг, от около 450 до около 500 мг, от около 500 мг до около 600 мг, от около 600 мг до около 700 мг, от около 700 мг до около 800 мг, от около 800 мг до около 900 мг, от около 900 мг до около 1000 мг, от около 1100 мг до около 1200 мг, от около 1200 мг до около 1300 мг, от около 1300 мг до около 1400 мг, от около 1400 мг до около 1500 мг, от около 1500 мг до около 1600 мг, от около 1600 мг до около 1700 мг, от около 1700 мг до около 1800 мг, от около 1800 мг до около 1900 мг, от около 1900 мг до около 2000 мг, от около 2000 мг до около 2100 мг, от около 2100 мг до около 2200 мг, от около 2200 мг до около 2300 мг, от около 2300 мг до около 2400 мг, от около 2400 мг до около 2500 мг.

[00105] В некоторых вариантах реализации указанное количество ингибитора теломеразы в эффективном количестве, введенному индивидууму (например, в лекарственной форме в единичной дозе), составляет от около 5 мг до около 1000 мг, от 5 мг до около 500 мг, например, от около 30 мг до около 300 мг или от около 50 мг до около 200 мг. В некоторых вариантах реализации указанное количество ингибитора теломеразы представлено в лекарственной форме в единичной дозе, имеющей содержание от около 500 мг до около 3000 мг, от 750 мг до около 2500 мг, например, от около 1000 мг до около 2000 мг или от около 50 мг до около 200 мг. Лекарственная форма в единичной дозе может быть жидкой или лиофилизированной. В некоторых вариантах реализации предложенного способа иметелстат вводят на протяжении 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 или более 8 циклов введения доз, и каждый цикл включает: подкожное введение около 200-3000 мг/кг иметелстата один раз в три недели, подкожное введение около 200-3000 мг/кг иметелстата один раз в четыре недели, подкожное введение около 750-2500 мг/кг иметелстата один раз в две недели или подкожное введение около 750-2500 мг/кг иметелстата один раз в три недели.

[00106] В некоторых вариантах реализации содержание ингибитора теломеразы, вводимого индивидууму, является разбавленным (около 0,1 мг/мл) или концентрированным (около 300 мг/мл), включая, например, любое из значений от около 0,1 до около 300 мг/мл, от около 0,1 до около 200 мг/мл, от около 0,1 до около 180 мг/мл, от около 0,1 до около 160 мг/мл, от около 0,1 до около 140 мг/мл, от около 0,1 до около 120 мг/мл, от около 0,1 до около 100 мг/мл, от около 0,1 до около 80 мг/мл, от около 0,1 до около 60 мг/мл, от около 0,1 до около 40 мг/мл, от около 0,1 до около 20 мг/мл, от около 0,1 до около 10 мг/мл, от около 2 до около 40 мг/мл, от около 4 до около 35 мг/мл, от около 6 до около 30 мг/мл, от около 8 до около 25 мг/мл, от около 10 до около 20 мг/мл, от около 12 до около 15 мг/мл, или любое из значений около 0,1 мг/мл, 0,2 мг/мл, 0,3 мг/мл, 0,4 мг/мл, 0,5 мг/мл, 0,6 мг/мл, 0,7 мг/мл, 0,8 мг/мл, 0,9 мг/мл, 1 мг/мл, 1,1 мг/мл, 1,2 мг/мл, 1,3 мг/мл, 1,4 мг/мл, 1,5 мг/мл, 1,6 мг/мл, 1,7 мг/мл, 1,8 мг/мл, 1,9 мг/мл, 2 мг/мл, 2,1 мг/мл, 2,2 мг/мл, 2,3 мг/мл, 2,4 мг/мл или 2,5 мг/мл. В некоторых вариантах реализации концентрация ингибитора теломеразы составляет по меньшей мере любое из значений около 0,1 мг/мл, 0,2 мг/мл, 0,3 мг/мл, 0,4 мг/мл, 0,5 мг/мл, 1,3 мг/мл, 1,5 мг/мл, 2 мг/мл, 3 мг/мл, 4 мг/мл, 5 мг/мл, 6 мг/мл, 7 мг/мл, 8 мг/мл, 9 мг/мл, 10 мг/мл, 11 мг/мл, 12 мг/мл, 13 мг/мл, 14 мг/мл, 15 мг/мл, 16 мг/мл, 17 мг/мл, 18 мг/мл, 19 мг/мл, 20 мг/мл, 21 мг/мл, 22 мг/мл, 23 мг/мл, 24 мг/мл, 25 мг/мл, 26 мг/мл, 27 мг/мл, 28 мг/мл, 29 мг/мл, 30 мг/мл, 31 мг/мл, 32 мг/мл, 33 мг/мл, 33,3 мг/мл, 34 мг/мл, 35 мг/мл, 36 мг/мл, 37 мг/мл, 38 мг/мл, 39 мг/мл, 40 мг/мл, 50 мг/мл, 60 мг/мл, 70 мг/мл, 80 мг/мл, 90 мг/мл, 100 мг/мл, 110 мг/мл, 120 мг/мл, 130 мг/мл, 140 мг/мл, 150 мг/мл, 160 мг/мл, 170 мг/мл, 180 мг/мл, 190 мг/мл, 200 мг/мл, 210 мг/мл, 220

мг/мл, 230 мг/мл, 240 мг/мл, 250 мг/мл, 260 мг/мл, 270 мг/мл, 280 мг/мл, 290 мг/мл или 300 мг/мл.

[00107] В некоторых вариантах реализации каждую дозу композиции ингибитора теломеразы вводят субъекту подкожно один раз в 7 дней или более, например, один раз в 10 дней или более, например, один раз в 14 дней или более, например, один раз в 21 день или более, например, один раз в 28 дней или более, и включая один раз в 35 дней или более. В некоторых вариантах реализации композицию ингибитора теломеразы вводят субъекту подкожно один раз в два дня. В некоторых вариантах реализации композицию ингибитора теломеразы вводят субъекту подкожно один раз в неделю. В некоторых вариантах реализации композицию ингибитора теломеразы вводят субъекту подкожно один раз в две недели. В других вариантах реализации композицию ингибитора теломеразы вводят субъекту подкожно один раз в три недели. В других вариантах реализации композицию ингибитора теломеразы вводят подкожно один раз в 4 недели.

НАБОРЫ

[00108] Также предложены наборы, причем наборы содержат по меньшей мере одну или более, например, множество предложенных подкожных композиций ингибитора теломеразы, описанных выше. В некоторых вариантах реализации предложенные подкожные композиции ингибитора теломеразы в наборах могут быть представлены в упаковке. Например, каждая композиция в наборах может быть представлена в отдельных пакетах, флаконах или аналогичных контейнерах для сохранения композиций до применения. Наборы могут дополнительно содержать другие компоненты для практического осуществления предложенных способов, такие как устройства для введения или жидкости для промывания кожи до введения одной или более предложенных композиций. В некоторых вариантах реализации наборы содержат инъектор для подкожного введения, выполненный с возможностью доставки субъекту терапевтически эффективного количества композиции. В некоторых случаях инъектор содержит шприц и иглу. В других вариантах реализации инъектор представляет собой болюсный инъектор, выполненный с возможностью подкожной доставки предварительно определенного количества композиции. В некоторых вариантах реализации композиция ингибитора теломеразы предварительно загружена в инъектор для подкожного введения. Наборы могут также содержать марлевые салфетки или другие приспособления для очистки области инъекции, которые могут быть применимы при практическом осуществлении предложенных способов. В некоторых вариантах реализации композиция ингибитора теломеразы составлена в форме твердого вещества или лиофилизированного вещества, и

наборы могут дополнительно содержать одну или более буферных композиций или растворителей для разведения предложенных композиций для подкожной инъекции.

[00109] Кроме того, наборы могут также содержать инструкции по применению предложенных композиций ингибитора теломеразы, причем указанные инструкции могут содержать информацию о способе введения композиции, схему введения доз и приспособления для ведения записей о выполнении схемы лечения. Инструкции записывают на подходящем носителе информации. Например, инструкции могут быть напечатаны на подложке, такой как бумага или пластик и т.д. Таким образом, инструкции могут быть представлены в наборах в виде вкладыша, на маркировке контейнера набора или его компонентов (например, вместе с упаковкой или внутренней упаковкой) и т.д. В других вариантах реализации инструкции представлены в виде файла данных для электронного хранения, представленного на подходящем машиночитаемом носителе информации, например, на CD-ROM, на дискете и т.д. В других вариантах реализации актуальные инструкции не представлены в наборе, но представлены средства получения инструкций из удаленного источника, например, через интернет. Примером такого варианта реализации является набор, который содержит веб-адрес, где можно прочитать инструкции и/или откуда можно скачать инструкции. Как и инструкции, протокол получения инструкций может быть записан на подходящей подложке.

ПРИМЕРЫ

[00110] Следующие примеры приведены для предоставления специалистам в данной области техники полного раскрытия и описания того, как реализовать и применять данное изобретение, и они не предназначены для ограничения объема того, что авторы изобретения считают своим изобретением, а также они не предназначены в качестве утверждения, что представленные ниже эксперименты представляют собой все или единственно проведенные эксперименты. Были предприняты усилия для обеспечения точности в отношении использованных числовых значений (например, количеств, температуры и т.д.), но следует учитывать некоторые экспериментальные погрешности и отклонения. Если не указано иное, части представляют собой массовые части, молекулярная масса представляет собой средневесовую молекулярную массу, температура представлена в градусах по Цельсию, и давление равно или примерно равно атмосферному. «Среднее» означает арифметическое среднее. Могут быть использованы стандартные сокращения, например, п.о., пара(ы) оснований; т.о., тысяча(и) оснований; пл, пиколитр(ы); с или сек, секунда(ы); мин, минута(ы); ч или ч., час(ы); aa, аминокислота(ы); т.о., тысяча(и) оснований; п.о.,

пара(ы) оснований; nt, нуклеотид(ы); i.m., внутримышечно(ый); i.p., интраперитонеальный(о); s.c., подкожный(о); и т.п.

Пример. 1. Испытания биодоступности иметелстата натрия у крыс при подкожном и внутривенном введении

Материалы и способы

[00111] 4 самцам крыс Спрага-Дули (приблизительно 250 г – 260 г) вводили внутривенную дозу (IV объем 37,5 мкл; 30 мг/кг) и 4 самцам крыс Спрага-Дули (приблизительно 250 г – 260 г) вводили подкожную дозу (SC объем 113 мкл; 90 мг/кг) иметелстата натрия. Иметелстат натрия представляет собой 5'-пальмитоилированный 13-мерный тиофосфорамидатный олигонуклеотид, состоящий из последовательности 5'-TAGGGTTAGACAA-3'. Иметелстат натрия растворяли в воде непосредственно перед введением дозы.

[00112] У каждой крысы брали кровь во временных точках 0,083 часа (~5 минут), 0,25 часа (15 минут), 1 час, 2 часа, 4 часа, 8 часов и 24 часа. Собирали цельную кровь объемом 1,5 мл – 2,0 мл с получением примерно 700 мкл – 1000 мкл плазмы. Кровь собирали через вспомогательный катетер у крыс с IV введением доз (не тот катетер, который использован для IV введения дозы).

[00113] Образцы крови собирали в пробирки с ЭДТК и центрифугировали сразу после сбора. Собранные образцы плазмы переносили в отдельный флакон. Концентрацию иметелстата натрия в плазме анализировали с помощью ЖХ/МС/МС.

Результаты

[00114] Концентрации иметелстата натрия, которые анализировали в течение 24-часового периода, представлены на Фиг. 1. Концентрации иметелстата натрия в плазме анализировали с помощью некомпартментного анализа ФК. Подкожную (s.c.) биодоступность рассчитывали по следующему уравнению: $F = (AUC(s.c.) / \text{доза}(s.c.)) / (AUC(i.v.) / \text{доза}(i.v.)) \times 100\%$. Рассчитанная подкожная биодоступность иметелстата составила около 95,8%. В повторном эксперименте рассчитанная подкожная биодоступность иметелстата у крыс составила около 81,5%.

Выводы

[00115] Результаты, представленные на Фиг. 1, демонстрируют, что иметелстат натрия абсорбировался в системный кровоток после подкожного введения и проявлял

биодоступность приблизительно 80-95% по сравнению с IV введением, что подтверждает применение композиций иметелстата для подкожного введения.

Пример 2. Совместимость и стабильность иметелстата натрия, инкубированного с гиалуронидазой

Сокращения	Значение
ЛВ	Лекарственное вещество
EDP	Лекарственный продукт Enhance (rHuPH20)
НП	Не применимо
ОВ	Относительная влажность
RRT	Относительное время удерживания
RT	Порог регистрации

Предварительное исследование:

Демонстрация совместимости иметелстата, составленного в лекарственную форму с rHuPH20

[00116] Данные, полученные в исходном испытании осуществимости, которое проводили в качестве предварительного исследования для дальнейшего основного испытания совместимости и стабильности, показали, что результаты, полученные для совместных лекарственных форм иметелстат + rHuPH20, представленных как лекарственные формы D, F и G (определение которых приведено ниже), полученных для данного предварительного исследования, были аналогичны результатам, полученным для партии лекарственного вещества иметелстата без rHuPH20, использованного для получения совместных лекарственных форм, что подтверждает совместимость иметелстата в совместной лекарственной форме с rHuPH20 (см. таблицы ниже).

[00117] Получали следующие лекарственные формы

[00118]

Лекарственная форма	Матрица	Разведенный иметелстат (мг/мл)	rHuPH20 (ед./мл)
D	0,9% хлорид натрия	33	2000
F	0,9% хлорид натрия	100	2000
G	Буфер EDP	33	2000

Испытание	Только иметелстат ¹	Совместные лекарственные формы иметелстат + rHuPH20		
		Лекарственная форма D	Лекарственная форма F	Лекарственная форма G
Внешний вид разбавленного раствора	Прозрачный раствор, не содержащий видимых примесей	Прозрачный раствор, не содержащий видимых примесей	Прозрачный раствор, не содержащий видимых примесей	Прозрачный раствор, не содержащий видимых примесей
Анализ с помощью УФ (мкг/мг)	1033	1028	961	1040
Содержание воды	4,2%	4,02713%	4,02713%	4,02713%
Уровень pH (4 мл, стекло)		7,6	7,5	7,2
Уровень pH (1 мл, пластик)	8,0	7,6	7,5	7,2

¹Данные отражают самые актуальные данные о стабильности, доступные для партии лекарственного вещества иметелстата, использованного для получения совместных лекарственных форм иметелстат + rHuPH20.

Испытание	Только иметелстат ¹		Совместные лекарственные формы иметелстат + rHuPH20					
			Лекарственная форма D		Лекарственная форма F		Лекарственная форма G	
Чистота по ОФ-ВЭЖХ/УФ	93,1%		93,0 %		93,0 %		93,0 %	
Отдельные примеси по ОФ-ВЭЖХ/УФ:								
	RRT	% площади	RRT	% площади	RRT	% площади	RRT	% площади
Нелипидированные частицы	0,42	0,26%	0,42	0,23%	0,42	0,24%	0,42	0,25%
Пик примеси, расположенный перед главным пиком	0,98	0,35%	0,98	0,43%	0,98	0,44%	0,98	0,45%
Пик примеси 1, расположенный после главного пика	1,04	5,04%	1,04	4,89%	1,04	4,89%	1,04	4,87%
Пик примеси 2, расположенный после главного пика	1,08	0,53%	1,08	0,51%	1,08	0,51%	1,08	0,51%
Пик примеси 3, расположенный после главного пика	1,12	<0,2%	1,09	0,11%	1.09	0.11%	1.09	0.11%
Любые отдельные неопределенные пики	НД	НД	0,94	0,16%	0.94	0.16%	0.94	0.16%

Испытание	Только иметелстат ¹	Совместные лекарственные формы иметелстат + rHuPH20		
		Лекарственная форма D	Лекарственная форма F	Лекарственная форма G
Общее содержание примесей по ОФ-ВЭЖХ/УФ	6,9%	7,0 %	7,0 %	7,0 %

¹Данные отражают самые актуальные данные о стабильности, доступные для партии лекарственного вещества иметелстата, использованного для получения совместных лекарственных форм иметелстат + rHuPH20.

Основное исследование:

Цель

[00119] Целью данного исследования является демонстрация совместимости и стабильности rHuPH20, составленного в совместную композицию с иметелстатом натрия, при различных условиях хранения.

Материалы

- Иметелстат натрия
- Лекарственный продукт Enhance rHuPH20 (EDP): 1 мг/мл, 110000 ед./мл, хранение при 5 °С
- 0,9% хлорид натрия
- L-Гистидин (≥99% (ТСХ))
- L-Метионин (ч.д.а., ≥98% (ВЭЖХ))
- Полисорбат 80
- NaCl (степень чистоты, соответствующая стандарту ACS)
- Концентрированная хлористоводородная кислота (степень чистоты, соответствующая стандарту ACS, 37%)
- вода
- нейлонные фильтровальные мембраны 47 мм, 0,2 мкм.

Пробные лекарственные формы

Лекарственная форма	Матрица	Разведенный иметелстат (мг/мл)	rHuPH20 (ед./мл)
А (контроль, иметелстат)	0,9% хлорид натрия	33	0
В (контроль, rHuPH20 в солевом растворе)	0,9% хлорид натрия	0	2000
С (контроль, иметелстат в буфере EDP)	Буфер EDP	33	0

D	0,9% хлорид натрия	33	2000
E	0,9% хлорид натрия	33	1000
F	0,9% хлорид натрия	100	2000
G	Буфер EDP	33	2000

Получение образцов

Лекарственная форма	Матрица	Разведенный иметелстат (мг/мл)	Объем gHuPH20 (мл), добавленный из 1 мг/мл маточного раствора	Объем иметелстата (мл)	Объем матрицы иметелстата (мл)
A (контроль, иметелстат)	0,9% хлорид натрия	33	0,0	150	0
B (контроль, gHuPH20 в солевом растворе)	0,9% хлорид натрия	0	2,7	0	147,3
C (контроль, иметелстат в буфере EDP)	Буфер EDP	33	0,0	150	0
D	0,9% хлорид натрия	33	2,7	147,3	0
E	0,9% хлорид натрия	33	1,4	148,6	0
F	0,9% хлорид натрия	100	2,7	147,3	0
G	Буфер EDP	33	2,7	147,3	0

Получение буфера с gHuPH20, лекарственным продуктом Enhance (EDP)

[00120] В мерную колбу объемом 500 мл добавляли приблизительно 450 мл воды. В мерную колбу добавляли около 776 мг (± 15 мг) L-гистидина, около 3,80 г NaCl (± 75 мг) и около 746 мг (± 15 мг) L-метионина. Компоненты полностью растворяли с помощью мешалки. Для проверки растворения компонентов проводили визуальный осмотр.

[00121] К полученному раствору в мерной колбе добавляли 1 мл 10,0% композиции полисорбата 80. Перемешивали композиции с помощью мешалки. Регулировали уровень pH с помощью концентрированной HCl до конечного уровня pH $6,5 \pm 0,3$. Доводили объем жидкости до конечного объема 500 мл. Фильтровали композицию через нейлонную

фильтровальную мембрану 47 мм, 0,2 мкм, и хранили при 5 °С, и композиция была стабильной в течение по меньшей мере 2 недель.

[00122] Композицию хранили в сцинтилляционных флаконах из борсиликатного стекла объемом 20 мл при 5 °С в вертикальной ориентации, при 25 °С в вертикальной ориентации и при 37 °С в вертикальной ориентации.

Схема протокола испытания стабильности

В следующей таблице представлено количество образцов, зарегистрированных на один интервал/состояние/лекарственную форму (образцы исходного интервала хранили при -20 °С)

Интервал испытания стабильности	5 °С Вертикальная ориентация	25 °С Вертикальная ориентация	37 °С Вертикальная ориентация
Исходный	6		
4 часа	2	2	2
8 часов	2	2	2
24 часа	2	2	--
48 часов	2	2	--
1 неделя	2	2	--
2 недели	2	2	--
3 месяца	2	2	--
6 месяцев	2	2	--
9 месяцев	2	2	--
12 месяцев	2	2	--
Резерв	2	2	0
Всего	28	22	4

Протокол пробы и испытания стабильности

[00123] Для оценки совместимости и стабильности совместных лекарственных форм иметелстата + гHuPH20 проводили испытание на образцах, указанных ниже, с определенными интервалами времени и в определенных условиях (см. таблицу ниже). Методы испытаний включают оценку внешнего вида, уровня pH, концентрацию олигомера (УФ), чистоту по ВЭЖХ, анализ методом ЖХ/МС, активность фермента гHuPH20 и активность теломеразы для иметелстата, по данным анализа TRAP (Mender and Shay, Bio Protoc. 2015: 5(22)).

Интервал испытания стабильности	5 °С Вертикальная ориентация	25 °С Вертикальная ориентация	37 °С Вертикальная ориентация
---------------------------------------	------------------------------------	-------------------------------------	-------------------------------------

Исходный	ABC		
4 часа	НП	НП	А
8 часов	А	А	АВ
24 часа	А	А	НП
48 часов	А	А	НП
1 неделя	А	А	НП
2 недели	АВ	АВ	НП
3 месяца	Р	Р	НП
6 месяцев	Р	Р	НП
9 месяцев	Р	Р	НП
12 месяцев	Р	Р	НП

После сбора анализировали одну аликвоту образца при $T=0$ в условиях А, D и F методом TRAP; вторую аликвоту сохраняли для возможного следующего анализа вместе с образцами, полученными для других условий и/или моментов времени.

А = внешний вид, уровень рН, концентрация олигомера (УФ), ОФ-ВЭЖХ, анализ активности фермента для gHuPH20

В = ЖХ/МС

С = анализ активности теломеразы (TRAP) для иметелстата

Р = образцы, подлежащие тестированию в случае необходимости

[00124] Для испытания того, оказывает ли gHuPH20 какое-либо влияние на ингибирующую активность иметелстата в отношении теломеразы при смешивании с иметелстатом, испытывали три лекарственных формы А, D и F, указанные в приведенной выше таблице пробных лекарственных форм, т.е. только иметелстат натрия (лекарственная форма А) или иметелстат натрия в смеси с gHuPH20 (лекарственные формы D и F), с помощью анализа TRAP (протокол амплификации теломерных повторов) для оценки активности иметелстата. Вкратце, раковую клеточную линию из клеток Hela обрабатывали *in vitro* в трех повторностях семью (7) различными концентрациями (0,1, 1, 5, 7,5 10, 25 и 50 мкМ) каждой экспериментальной лекарственной формы и одним (1) контрольным раствором без лекарственного соединения в течение 24 часов. Клеточные осадки лизировали для экстракции и количественного измерения белка, и с помощью анализа TRAP тестировали такое же количество белка из клеток, обработанных каждой концентрацией лекарственных форм. Результаты относительной активности теломеразы (RTA) для каждой количественной полимеразной цепной реакции (кПЦР) определяли по стандартной кривой, которую строили с помощью анализа TRAP серийных разбавлений лизата белка из необработанных клеток Hela. Для каждой концентрации данной лекарственной формы рассчитывали среднюю RTA для всех повторностей и сравнивали со средним значением RTA контрольного образца без лекарственного соединения для получения процентного (%) ингибирования активности теломеразы, и наносили на график

зависимости от концентрации, использованной для обработки, для определения концентраций лекарственного соединения для каждой лекарственной формы, необходимой для достижения 50% ингибирования (значение IC_{50}) активности теломеразы. Результаты на Фиг. 2 демонстрируют, что значения IC_{50} для всех 3 лекарственных форм весьма схожи и близки к значению $\log 1$ (10 мкМ), что свидетельствует о том, что смешивание иметелстата натрия с гHuPH20 не влияет на активность иметелстата в отношении ингибирования теломеразы.

Пример 3. Анализ активности гHuPH20 в лекарственных формах иметелстата и гHuPH20

Обзор

[00125] Проводили дополнительное испытание выполнимости в качестве предварительного исследования перед основным исследованием совместимости и стабильности, описанным выше в примере 2, в котором испытывали активность гHuPH20 в лекарственных формах, содержащих иметелстат в смеси с гHuPH20. В анализе на основе взаимодействия гHuPH20 с биотинилированной гиалуроновой кислотой (НА) получены результаты, которые свидетельствуют о том, что активность гHuPH20 может быть измерена в присутствии иметелстата в смешанных образцах.

Результаты

[00126] Для определения активности гHuPH20 в присутствии и в отсутствие иметелстата использовали биотинилированную гиалуроновую кислоту. Анализировали композиции, содержащие 2000 ед./мл гHuPH20 в солевом растворе, с биотинилированной гиалуроновой кислотой для измерения степени разложения гиалуроновой кислоты под действием гHuPH20 и сравнивали с композициями, содержащими 100 мг/мл иметелстата с 2000 ед./мл гHuPH20. Активность гHuPH20, обнаруженная в образцах каждой композиции иметелстата + гHuPH20, была близка к значениям активности, наблюдаемой в образцах, содержащих только гHuPH20 (см. таблицу ниже).

Целевая концентрация в анализе, ед./мл	2000 ед./мл гHuPH20 в солевом растворе		100 мг/мл иметелстата с 2000 ед./мл гHuPH20	
	Активность (ед./мл)	% восстановлен ия (2000 ед./мл)	Активност ь (ед./мл)	% восстановления (2000 ед./мл)
1	1526	76%	1022	51%
0,33	1860	93%	2394	120%

0,11	2124	106%	2916	146%
0,037	1944	97%	2592	130%
0,012	2268	113%	3078	154%
0,004	3402	170%	3402	170%

Пример 4. Испытание подкожной биодоступности однократной дозы и местной переносимости иметелстата с gHuPH20 или без него у крыс

Цель

[00127] Целью данного исследования является оценка системного усвоения иметелстата (в пересчете на содержание в плазме) и локальной переносимости (в месте инъекции) после однократной подкожной (SC) инъекции в отдельности или в комбинации с gHuPH20 (продукт рекомбинантного фермента гиалуронидазы человека для составления в совместную композицию с иметелстатом) у крыс. Подкожную биодоступность иметелстата определяли посредством включения группы, которой вводили IV дозу указанного экспериментального препарата. Исследование планировали так, чтобы продемонстрировать, что иметелстат, составленный в совместную форму с gHuPH20, является переносимым и обеспечивает фармакокинетический профиль иметелстата, свидетельствующий о клинической применимости иметелстата, составленного в совместную форму с gHuPH20, для доставки требуемых жидких объемов, содержащих достаточные дозы иметелстата, посредством подкожного способа введения.

Животные

[00128] Крысы Спрага-Дули, каждая из которых была стандартного возраста в начале исследования.

Экспериментальные препараты

[00129] Испытывали иметелстат с gHuPH20 и без него.

Дизайн исследования/введение доз

[00130] Иметелстат вводили в виде однократной дозы на 1 день посредством медленной внутривенной инъекции (группа 1) или SC инъекции (группа 2). Иметелстат, составленный в совместную форму с gHuPH20, вводили в виде однократной дозы на 1 день посредством SC инъекции (группы 3a и 3b). Животным из группы 2 параллельно вводили носитель для иметелстата в другом месте SC введения (место контрольной инъекции). Таким же образом,

животным из групп 3a и 3b вводили носитель для иметелстата, составленный в совместную форму с гHuPH20, в отдельном месте контрольной инъекции.

[00131] Распределение по группам представлено в следующей таблице.

№ группы		Способ введения	Доза	Концентрация раствора		Объем дозы	
			Иметелстат (мг/кг)	Иметелстат (мг/мл)	гHuPH20 (ед./мл)	Иметелстат (мл/кг)	Контрольная инъекция носителя (мл)
1		IV	20-30	15	-	1,3 – 2	Н/Д
2		SC	20 -30	100	-	0,2 – 0,3	Такой же объем, как объем экспериментального препарата*
3a		SC	20-30	3	2000	6,6-10	Такой же объем, как объем экспериментального препарата**
3b		SC	20-30	100	2000	0,2 – 0,3	

SC: подкожный

*: Контрольный препарат с носителем для иметелстата, который вводили в другом месте SC инъекции, отличном от места введения дозы иметелстата (в том же объеме дозы, что и чистый иметелстат)

**: Контрольный препарат с носителем для совместной лекарственной формы иметелстат/гHuPH20, который вводили в другом месте SC инъекции, отличном от места введения дозы совместной лекарственной формы иметелстат/гHuPH20.

Наблюдения и сбор образцов

Клинические наблюдения: Наблюдения во время исследования включали стандартные клинические наблюдения, оценку мест локальной инъекции, потребление пищи и массу тела.

ФК образцы:

[00132] У всех животных брали образцы крови в пробирки, содержащие K₂ЭДТА, в разные моменты времени после введения дозы, начиная с 5 минут до 8 часов. Образцы перерабатывали на плазму в охлажденном состоянии и хранили полученную плазму в состоянии глубокой заморозки.

Биоанализ ФК образца и интерпретация данных:

[00133] Образцы плазмы крыс анализировали на концентрацию иметелстата, используя проверенный метод твердофазной ИФА гибридизации. Соответственно, рассчитывали ФК значения иметелстата в плазме, такие как AUC_{0-t} , $AUC_{0-беск.}$, C_{max} , T_{max} , $K_{эл.им.}$, CL , V_d и $t_{1/2}$.

Пример 5. Исследование фармакокинетики и локальной переносимости однократной подкожной дозы у обезьян

Цель

[00134] Целью данного исследования является оценка системного усвоения иметелстата (в пересчете на содержание в плазме) и локальной переносимости (в месте инъекции) после однократной подкожной инъекции в отдельности или в комбинации с гHuPH20 (продукт рекомбинантного фермента гиалуронидазы человека для составления в совместную композицию с иметелстатом) у яванских макаков. Исследование планировали так, чтобы продемонстрировать, что иметелстат, составленный в совместную форму с гHuPH20, является переносимым и обеспечивает фармакокинетический профиль иметелстата, свидетельствующий о клинической применимости иметелстата, составленного в совместную форму с гHuPH20, для доставки требуемых жидких объемов, содержащих достаточные дозы иметелстата, посредством подкожного способа введения.

Животные

[00135] Яванские макаки стандартного возраста и массы тела в начале исследования.

Экспериментальные препараты

[00136] Испытывали иметелстат с гHuPH20 и без него.

Дизайн исследования/введение доз

[00137] Вводили иметелстат в виде однократной дозы на 1 день посредством SC инъекции (группа 1), и вводили иметелстат, составленный в совместную лекарственную форму с гHuPH20, в виде однократной дозы на 1 день посредством SC инъекции (группа 2). Животным из группы 1 параллельно вводили носитель для иметелстата в другом месте подкожного введения (место контрольной инъекции). Таким же образом, животным из группы 2 вводили носитель для совместной лекарственной формы из иметелстата и гHuPH20 в отдельном месте контрольной инъекции.

[00138] Распределение по группам представлено в следующей таблице.

№ группы	Способ введения	Доза	Концентрация раствора		Объем дозы	
		Иметелстат (мг/кг)	Иметелстат (мг/мл)	rHuPH20 (ед./мл)	Иметелстат (мл/кг)	Контрольная инъекция носителя (мл)
1	SC	15	100	-	0,15	Такой же объем, как объем экспериментального препарата*
2	SC	15	100	2000	0,15	Такой же объем, как объем экспериментального препарата* *

SC: подкожный

*: Контрольный препарат с носителем для иметелстата, который вводили в другом месте SC инъекции, отличном от места введения дозы иметелстата.

**: Контрольный препарат с носителем для совместной лекарственной формы иметелстат/rHuPH20, который вводили в другом месте SC инъекции, отличном от места введения дозы совместной лекарственной формы иметелстат/rHuPH20.

Наблюдения и сбор образцов

Клинические наблюдения:

[00139] Наблюдения во время исследования включали стандартные клинические наблюдения, оценку мест локальной инъекции (включая гистопатологическое исследование), потребление пищи и массу тела.

ФК образцы:

[00140] У всех животных брали образцы крови в пробирки, содержащие K₂ЭДТА, в разные моменты времени после введения дозы, начиная с 5 минут до 24 часов. Образцы перерабатывали на плазму в охлажденном состоянии и хранили полученную плазму в состоянии глубокой заморозки.

Биоанализ ФК образца и интерпретация данных:

[00141] Образцы плазмы обезьян анализировали на концентрацию иметелстата, используя проверенный метод твердофазной ИФА гибридизации. Соответственно, рассчитывали ФК значения иметелстата в плазме, такие как AUC_{0-t} , $AUC_{0-\infty}$, C_{max} , T_{max} , $K_{элим.}$, CL , V_d и $t_{1/2}$.

Пример 6. Исследование безопасности и фармакокинетики у здоровых добровольцев или пациентов

Цель

[00142] Целью данного исследования является оценка безопасности, переносимости и фармакокинетики иметелстата после подкожного (SC) и внутривенного (IV) введения. Исследование планировали так, чтобы продемонстрировать, что совместные лекарственные формы иметелстата с gHuPH20 обеспечивают подкожную доставку требуемых объемов жидкости, содержащих достаточные дозы иметелстата, для обеспечения приемлемой безопасности, переносимости и фармакокинетического для иметелстата при подкожном способе введения.

Краткое описание дизайна исследования

[00143] Исследование проводили в двух частях. Часть 1 представляет собой фазу увеличения доз при подкожном введении иметелстата. В 1 части планировали до около 4 групп. Субъекты принимали участие только в 1 группе. В каждой группе субъекты принимали однократную подкожную дозу иметелстата на 1 день. Часть 2 представляет собой открытое, рандомизированное исследование с двумя видами лечения, перекрестное или параллельное исследование. Дозу для 2 части выбирали после пересмотра данных безопасности и фармакокинетики, полученных в 1 части.

[00144] Если часть 2 представляла собой перекрестное исследование, то на 1 день периодов 1 и 2 вводили чередующиеся подкожные или внутривенные дозы иметелстата в соответствии с планом рандомизации, с последующим сбором фармакокинетических образцов в течение 48 часов. В перекрестном дизайне предусмотрен запланированный период отмывки между дозами иметелстата во 2 части. Если часть 2 представляла собой параллельное исследование, то пациентов рандомизировали для приема на 1 день подкожной или внутривенной дозы иметелстата, с последующим сбором фармакокинетических образцов с течение 48 часов.

Доза, лекарственная форма, способ и схема введения доз

[00145] Подкожную композицию иметелстата составляли в форме совместной смеси с гиалуронидазой (гНuPH20) в соответствующем носителе. Иметелстат для IV введения не содержит гиалуронидазу и составлен в 0,9% растворе хлорида натрия.

Часть 1:

[00146] В 1 части следует вводить однократные подкожные дозы. Дозы для различных групп выбирали на основании обзора данных безопасности и фармакокинетики, полученных из доклинических фармакокинетических исследований и исследований локальной переносимости у крыс и обезьян.

Часть 2:

[00147] Субъектам вводили иметелстат посредством подкожной или IV инъекции по одной из следующих последовательностей:

Последовательность А (перекрестный дизайн): Однократная подкожная доза иметелстата на 1 день, с последующей однократной IV дозой иметелстата после соответствующего периода отмывки; или

Последовательность В (перекрестный дизайн): Однократная IV доза иметелстата на 1 день, с последующей однократной SC дозой иметелстата после соответствующего периода отмывки; или

Последовательность С (параллельный дизайн): Однократная подкожная доза иметелстата на 1 день, введенная одной группе субъектов, и однократная IV доза иметелстата на 1 день, введенная другой группе субъектов.

[00148] Подкожную дозу вводили в форме однократной инъекции в одном месте, а IV дозу вводили в форме 2-часовой инфузии.

Оценка

Фармакокинетика:

[00149] Образцы крови для определения концентрации иметелстата в плазме собирали до введения дозы и различные моменты времени с 0,5 до 48 часов после подкожного введения дозы или начала инфузии.

[00150] Рассчитывали следующие ФК параметры для иметелстата в плазме, по мере необходимости: AUC_{0-t} , $AUC_{0-беск.}$, $AUC\%_{экстрап.}$, C_{max} , T_{max} , $K_{элим.}$, CL , CL/F и $t_{1/2}$.

Безопасность:

[00151] Оценку безопасности и переносимости контролировали стандартными способами, которые могут включать электрокардиограммы (ЭКГ), медицинские осмотры, измерения основных показателей жизнедеятельности, клинические лабораторные тесты и НЯ. Сводные статистические данные могут быть рассчитаны в соответствии с клинической необходимостью.

[00152] Несмотря на то, что описанное выше изобретение для ясности понимания подробно описано в качестве иллюстрации и примера, специалистам в данной области техники без труда понятно, в свете идеи данного изобретения, что в отношении данного изобретения могут быть сделаны определенные изменения и модификации без отступления от сущности или объема прилагаемой формулы изобретения.

[00153] Соответственно, изложенное выше описание предназначено лишь для иллюстрации принципов данного изобретения. Следует понимать, что специалисты в данной области техники могут установить различные перестановки, которые, несмотря на отсутствие их специального описания или изображения в данном документе, воплощают принципы данного изобретения и входят в его сущность и объем. Кроме того, все примеры и условные термины, использованные в данном документе, принципиально предназначены для облегчения понимания читателем принципов данного изобретения и концепций, внесенных авторами изобретения в развитие данной области техники, и их следует толковать без ограничения до таких конкретных приведенных примеров и условий. Кроме того, в данном контексте все утверждения с цитированием принципов, аспектов и вариантов реализации данного изобретения, а также его конкретных примеров, включают и их структурные, и их функциональные эквиваленты. Кроме того, предусмотрено, что такие эквиваленты включают известные в данный момент эквиваленты, а также эквивалентные, которые будут разработаны в будущем, т.е. любые разработанные элементы, которые выполняют ту же функцию, независимо от структуры. Кроме того, ничто из описанного в данном документе не должно стать всеобщим достоянием вне зависимости от того, указано ли это в формуле изобретения в явном виде.

[00154] Таким образом, объем данного изобретения не ограничен иллюстративными вариантами реализации, представленными и описанными в данном документе. Напротив, объем и сущность данного изобретения определены прилагаемой формулой изобретения. В формуле изобретения раздел 35 Кодекса законов США, §112(f), или раздел 35 Кодекса законов США, §112(6), в явном виде требует применения для признака формулы изобретения только в том случае, если в начале такого признака пункта формулы

изобретения указано точное выражение «средство для» или точное выражение «стадия для»; если такое точное выражение не использовано в признаке формулы изобретения, то раздел 35 Кодекса законов США, §112(f), или раздел 35 Кодекса законов США, §112(6), не требует применения.

[00155] Другие варианты реализации данного изобретения могут включать:

1. Композиция, составленная для подкожного введения, содержащая:
ингибитор теломеразы, содержащий олигонуклеотид и липидный фрагмент, связанный с 5' и/или 3'-концом олигонуклеотида; и
фермент гиалуронидазу.
2. Композиция по п. 1, отличающаяся тем, что фермент гиалуронидаза представляет собой рекомбинантную гиалуронидазу человека.
3. Композиция по п. 2, отличающаяся тем, что фермент гиалуронидаза представляет собой гHuPH20.
4. Композиция по п. 1, отличающаяся тем, что указанная композиция содержит вариант или фрагмент фермента гиалуронидазы PH20.
5. Композиция по п. 4, отличающаяся тем, что вариант или фрагмент PH20 содержит одну или более замен аминокислотных остатков, выбранных из группы, состоящей из T341A, T341C, T341G, S343E, M345T, K349E, L353A, L354I, N356E и I361T в PH20 дикого типа, имеющем аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1.
6. Композиция по п. 5, отличающаяся тем, что вариант или фрагмент PH20 содержит одну или более замен аминокислотных остатков, выбранных из группы, состоящей из T341A, T341C, L354I и N356E.
7. Композиция по п. 4, отличающаяся тем, что вариант или фрагмент PH20 содержит одну или более замен аминокислотных остатков в области, соответствующей области альфа-спирали или линкерной области PH20 дикого типа, имеющем аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1.

8. Композиция по п. 7, отличающаяся тем, что область альфа-спирали представляет собой область 8 альфа-спирали, содержащую аминокислотные остатки S347 – C381, а линкерная область представляет собой линкерную область, содержащую аминокислотные остатки A333 – R346 между 7 альфа-спиралью и 8 альфа-спиралью.

9. Композиция по п. 7, отличающаяся тем, что область альфа-спирали и линкерная область содержит аминокислотные остатки T341 – N363, T341 – I361, L342 – I361, S343 – I361, I344 – I361, M345 – I361 или M345 – N363.

10. Композиция по п. 7, отличающаяся тем, что область 8 альфа-спирали и линкерная область между 7 альфа-спиралью и 8 альфа-спиралью замещены одним или более аминокислотными остатками соответствующей области Hyal1.

11. Композиция по п. 4, отличающаяся тем, что вариант или фрагмент PH20 содержит одну или более замен аминокислотных остатков в одном или более положениях, выбранных из группы, состоящей из T341, L342, S343, I344, M345, S347, M348, K349, L352, L353, D355, E359, I361 и N363.

12. Композиция по п. 11, отличающаяся тем, что вариант или фрагмент PH20 содержит замены аминокислотных остатков из:

одной или более из L354I и N356E; и

одной или более замен аминокислотных остатков, выбранных из группы, состоящей из T341A, T341C, T341D, T341G, T341S, L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, D355K, E359D, I361T и N363G.

13. Композиция по п. 12, отличающаяся тем, что вариант или фрагмент PH20 содержит

(i) замены M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D и I361T;

(ii) замены T341A, T341C, T341D, T341G, T341S, L342W, S343E, I344N и N363G;
или

(iii) любую замену аминокислотных остатков, выбранную из следующих групп замен аминокислотных остатков:

(a) T341S, L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D и I361T;

- (b) L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D и I361T;
- (c) M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D, I361T и N363G;
- (d) T341G, L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D и I361T;
- (e) T341A, L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D и I361T;
- (f) T341C, L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D и I361T;
- (g) T341D, L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D и I361T;
- (h) I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D и I361T; и
- (i) S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D и I361T.

14. Композиция по любому из пп. 4-13, отличающаяся тем, что удален один или более N-концевых или C-концевых аминокислотных остатков варианта или фрагмента PH20.

15. Композиция по п. 14, отличающаяся тем, что расщепление

- (i) расположено до аминокислотного остатка, выбранного из группы, состоящей из M1 – P42 на N-конце, так что удален один или более остатков на N-конце;
- (ii) расположено до аминокислотного остатка L36, N37, F38, R39, A40, P41 или P42 на N-конце, так что удален один или более остатков на N-конце;
- (iii) расположено после аминокислотного остатка, выбранного из группы, состоящей из V455 – L509 на C-конце, так что удален один или более аминокислотных остатков на C-конце; или
- (iv) расположено после аминокислотного остатка, выбранного из V455, C458, D461, C464, I465, D466, A467, F468, K470, P471, P472, M473, E474, T475, E476, E477, P478, Q479, I480, F481, Y482, N483, A484, P486, T488 или S490 на C-конце, так что удален один или более аминокислотных остатков на C-конце.

16. Композиция по любому из пп. 4 – 15, отличающаяся тем, что N-конец содержит сигнальный пептид, полученный из гормона роста человека, имеющий аминокислотную

последовательность MATGSRTSLLLAFLGLCLPWLQEGSA SEQ ID NO: 3, сигнальный пептид, полученный из сывороточного альбумина человека, имеющий аминокислотную последовательность MKWVTFISLLFLFSSAYS SEQ ID NO: 4, или сигнальный пептид, полученный из Hyal1 человека, имеющий аминокислотную последовательность MAAHLLPICALFLTLLDMAQG SEQ ID NO: 5.

22. Композиция по любому из пп. 4-21, отличающаяся тем, что вариант или фрагмент PH20

(i) представляет собой пептид, имеющий по меньшей мере 90% идентичность последовательностей с последовательностью аминокислот, обозначенной как SEQ ID NO: 1, или с аминокислотными остатками 36-482, 36-477, 366-478, 36-479, 36-480, 36-481 и 36-483 SEQ ID NO: 1;

(ii) представляет собой пептид, имеющий по меньшей мере 95% идентичность последовательностей с последовательностью аминокислот, обозначенной как SEQ ID NO: 1, или с аминокислотными остатками 36-482, 36-477, 366-478, 36-479, 36-480, 36-481 и 36-483 SEQ ID NO: 1;

(iii) состоит из аминокислотной последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 60 – 115;

(iv) имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 99.

23. Композиция по любому из пп. 1-22, отличающаяся тем, что гиалуронидаза присутствует в композиции в количестве от 100 ед. до 50000 ед.

24. Композиция по любому из пп. 1-23, отличающаяся тем, что гиалуронидаза присутствует в композиции в количестве от 100 ед./мл до 50000 ед./мл.

25. Композиция по любому из пп. 1-24, отличающаяся тем, что указанная композиция дополнительно содержит одно или более фармацевтически приемлемых вспомогательных веществ.

26. Композиция по любому из пп. 1-25, отличающаяся тем, что указанная композиция дополнительно содержит один или более сахаридов.

27. Композиция по п. 26, отличающаяся тем, что один или более сахаридов включают моносахарид.

28. Композиция по любому из пп. 26-27, отличающаяся тем, что один или более сахаридов включают полисахарид.
29. Композиция по п. 28, отличающаяся тем, что один или более полисахаридов выбраны из группы, состоящей из трегалозы и сахарозы.
30. Композиция по любому из пп. 26-29, отличающаяся тем, что один или более сахаридов присутствуют в композиции в количестве от 10 мМ до 500 мМ.
31. Композиция по любому из пп. 1-30, отличающаяся тем, что указанная композиция дополнительно содержит одну или более аминокислот.
32. Композиция по п. 31, отличающаяся тем, что аминокислоты выбраны из метионина и гистидина.
33. Композиция по любому из пп. 31-32, отличающаяся тем, что одна или более аминокислот присутствуют в композиции в количестве от 1 мМ до 100 мМ, необязательно в количестве от 1 мМ до 50 мМ.
34. Композиция по любому из пп. 1-33, отличающаяся тем, что указанная композиция дополнительно содержит буфер.
35. Композиция по п. 34, отличающаяся тем, что буфер присутствует в композиции в количестве, достаточном для поддержания композиции при уровне pH от 3,0 до 9,0, необязательно в количестве, достаточном для поддержания композиции при уровне pH от 5,5 до 7,5.
36. Композиция по любому из пп. 34-35, отличающаяся тем, что буфер присутствует в композиции в количестве от 1 до 100 мМ, необязательно в количестве от 1 мМ до 50 мМ.
37. Композиция по любому из пп. 1-36, отличающаяся тем, что олигонуклеотид ингибитора теломеразы содержит по меньшей мере одну N3'→P5' тифосфорамидатную межнуклеозидную связь.

38. Композиция по любому из пп. 1-37, отличающаяся тем, что липидный фрагмент ингибитора теломеразы связан с 5' и/или 3'-концом олигонуклеотида через линкер, при этом необязательно линкер представляет собой глицериновый или аминоглицериновый линкер.

39. Композиция по любому из пп. 1-38, отличающаяся тем, что липидный фрагмент ингибитора теломеразы представляет собой пальмитоильный (C16) фрагмент.

40. Композиция по любому из пп. 1-39, отличающаяся тем, что ингибитор теломеразы представляет собой иметелстат или его фармацевтически приемлемую соль, при этом необязательно ингибитор теломеразы представляет собой иметелстат натрия.

41. Композиция по любому из пп. 1-40, отличающаяся тем, что ингибитор теломеразы присутствует в композиции в дозе

- (i) от примерно 2,0 мг/кг до 20,0 мг/кг;
- (ii) от примерно 3 мг/кг до примерно 15 мг/кг;
- (iii) от примерно 9 мг/кг до примерно 11 мг/кг; или
- (iv) от примерно 11 мг/кг до примерно 14 мг/кг.

42. Композиция по пп. 1-41, отличающаяся тем, что указанная композиция является лиофилизированной.

43. Способ лечения субъекта, имеющего неоплазму, включающий подкожное введение указанному субъекту композиции, содержащей:

ингибитор теломеразы, содержащий олигонуклеотид и липидный фрагмент, связанный с 5' и/или 3'-концом олигонуклеотида; и
фермент гиалуронидазу.

44. Способ по п. 43, отличающийся тем, что неоплазма представляет собой гематологическую неоплазму, выбранную из миелофиброза (MF), миелодиспластических синдромов (MDS), эссенциальной тромбоцитемии (ET), истинной полицитемии (PV), хронического миелогенного лейкоза (CML), хронического нейтрофильного лейкоза, хронического эозинофильного лейкоза и острого миелоидного лейкоза (AML).

45. Способ по любому из пп. 43-44, дополнительно включающий диагностирование наличия у субъекта гематологической неоплазмы.
46. Способ по любому из пп. 43-45, отличающийся тем, что указанную композицию подкожно вводят субъекту
- (i) один раз в два дня;
 - (ii) один раз в 7 дней;
 - (iii) один раз в 21 день; или
 - (iv) один раз в 28 дней.
47. Способ по любому из пп. 43-46, отличающийся тем, что указанный способ повторяют 1 или более раз, необязательно 5 или более раз.
48. Способ по любому из пп. 43-47, отличающийся тем, что ингибитор теломеразы вводят субъекту в дозе
- (i) от около 2,0 мг/кг до 20,0 мг/кг;
 - (ii) от около 3 мг/кг до около 15 мг/кг;
 - (iii) от около 9 мг/кг до около 11 мг/кг; или
 - (iv) от около 11 мг/кг до около 14 мг/кг.
49. Способ по любому из пп. 43-48, отличающийся тем, что фермент гиалуронидаза представляет собой рекомбинантную гиалуронидазу человека, необязательно гHuPH20.
50. Способ по любому из пп. 43-48, отличающийся тем, что композиция содержит вариант или фрагмент фермента гиалуронидазы PH20.
51. Способ по п. 50, отличающийся тем, что вариант или фрагмент PH20 содержит одну или более замен аминокислотных остатков, выбранных из группы, состоящей из T341A, T341C, T341G, S343E, M345T, K349E, L353A, L354I, N356E и I361T в PH20 дикого типа, имеющем аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, при этом необязательно вариант или фрагмент PH20 содержит одну или более замен аминокислотных остатков, выбранных из группы, состоящей из T341A, T341C, L354I и N356E.

52. Способ по п. 50, отличающийся тем, что вариант или фрагмент PH20 содержит одну или более замен аминокислотных остатков в области, соответствующей области альфа-спирали или линкерной области PH20 дикого типа, имеющем аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1.

53. Способ по п. 52, отличающийся тем, что

(i) область альфа-спирали представляет собой 8 область альфа-спирали, содержащую аминокислотные остатки S347 – C381, а линкерная область представляет собой линкерную область, содержащую аминокислотные остатки A333 – R346 между 7 альфа-спиралью и 8 альфа-спиралью;

(ii) область альфа-спирали и линкерная область содержит аминокислотные остатки T341 – N363, T341 – I361, L342 – I361, S343 – I361, I344 – I361, M345 – I361 или M345 – N363; или

(iii) область 8 альфа-спирали и линкерная область между 7 альфа-спиралью и 8 альфа-спиралью замещены одним или более аминокислотными остатками соответствующей области Hyal1.

54. Способ по п. 50, отличающийся тем, что вариант или фрагмент PH20 содержит одну или более замен аминокислотных остатков в одном или более положениях, выбранных из группы, состоящей из T341, L342, S343, I344, M345, S347, M348, K349, L352, L353, D355, E359, I361 и N363.

55. Способ по п. 54, отличающийся тем, что вариант или фрагмент PH20 содержит замены аминокислотных остатков:

одной или более из L354I и N356E; и

одной или более замен аминокислотных остатков, выбранных из группы, состоящей из T341A, T341C, T341D, T341G, T341S, L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, D355K, E359D, I361T и N363G,

при этом необязательно вариант или фрагмент PH20 содержит замены M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D и I361T.

56. Способ по п. 55, отличающийся тем, что вариант или фрагмент PH20 содержит

(i) замены T341A, T341C, T341D, T341G, T341S, L342W, S343E, I344N и N363G; или

(ii) любую замену аминокислотных остатков, выбранную из следующих групп замены аминокислотных остатков:

- (a) T341S, L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D и I361T;
- (b) L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D и I361T;
- (c) M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D, I361T и N363G;
- (d) T341G, L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D и I361T;
- (e) T341G, L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D и I361T;
- (f) T341C, L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D и I361T;
- (g) T341D, L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D и I361T;
- (h) I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D и I361T; и
- (i) S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D и I361T.

57. Способ по любому из пп. 50-56, отличающийся тем, что удален один или более N-концевых или C-концевых аминокислотных остатков варианта или фрагмента PH20.

58. Способ по п. 57, отличающийся тем, что расщепление расположено

- (i) до аминокислотного остатка, выбранного из группы, состоящей из M1 – P42 на N-конце, так что удален один или более остатков на N-конце;
- (ii) до аминокислотного остатка L36, N37, F38, R39, A40, P41 или P42 на N-конце, так что удален один или более остатков на N-конце;
- (iii) после аминокислотного остатка, выбранного из группы, состоящей из V455 – L509 на C-конце, так что удален один или более аминокислотных остатков на C-конце; или
- (iv) после аминокислотного остатка, выбранного из V455, C458, D461, C464, I465, D466, A467, F468, K470, P471, P472, M473, E474, T475, E476, E477, P478, Q479, I480, F481, Y482, N483, A484, P486, T488 или S490 на C-конце, так что удален один или более аминокислотных остатков на C-конце.

59. Способ по любому из пп. 50-58, отличающийся тем, что N-конец содержит сигнальный пептид, полученный из гормона роста человека, имеющий аминокислотную последовательность MATGSRTSLLLAFGLLCLPWLQEGSA SEQ ID NO: 3, сигнальный пептид, полученный из сывороточного альбумина человека, имеющий аминокислотную последовательность MKWVTFISLLFLFSSAYS SEQ ID NO: 4, или сигнальный пептид, полученный из Hyal1 человека, имеющий аминокислотную последовательность MAAHLLPICALFLTLLDMAQG SEQ ID NO: 5.

60. Способ по любому из пп. 50-59, отличающийся тем, что вариант или фрагмент PH20

(i) представляет собой пептид, имеющий по меньшей мере 90% идентичность последовательностей с последовательностью аминокислот, обозначенной как SEQ ID NO:1, или с аминокислотными остатками 36-482, 36-477, 366-478, 36-479, 36-480, 36-481 и 36-483 SEQ ID NO:1;

(ii) представляет собой пептид, имеющий по меньшей мере 95% идентичность последовательностей с последовательностью аминокислот, обозначенной как SEQ ID NO:1, или с аминокислотными остатками 36-482, 36-477, 366-478, 36-479, 36-480, 36-481 и 36-483 SEQ ID NO:1;

(iii) состоит из аминокислотной последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 60 – 115; или

(iv) имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 99.

61. Способ по любому из пп. 43-60, отличающийся тем, что гиалуронидаза присутствует в композиции в количестве от 100 ед. до 50000 ед.

62. Способ по любому из пп. 43-61, отличающийся тем, что гиалуронидаза присутствует в композиции в количестве от 100 ед./мл до 50000 ед./мл.

63. Способ по любому из пп. 43-62, отличающийся тем, что указанная композиция дополнительно содержит одно или более фармацевтически приемлемых вспомогательных веществ.

64. Способ по любому из пп. 43-63, отличающийся тем, что указанная композиция дополнительно содержит один или более сахаридов.

65. Способ по п. 64, отличающийся тем, что один или более сахаридов включают моносахарид.
66. Способ по любому из пп. 64-65, отличающийся тем, что один или более сахаридов включают полисахарид.
67. Способ по п. 66, отличающийся тем, что один или более полисахаридов выбраны из группы, состоящей из трегалозы и сахарозы.
68. Способ по любому из пп. 64-67, отличающийся тем, что один или более сахаридов присутствуют в композиции в количестве от 10 мМ до 500 мМ, необязательно в количестве от 100 мМ до 300 мМ.
69. Способ по любому из пп. 43-68, отличающийся тем, что указанная композиция дополнительно содержит одну или более аминокислот.
70. Способ по п. 69, отличающийся тем, что аминокислоты выбраны из метионина и гистидина.
71. Способ по любому из пп. 69-70, отличающийся тем, что одна или более аминокислот присутствуют в композиции в количестве от 1 мМ до 100 мМ, необязательно в количестве от 1 мМ до 50 мМ.
72. Способ по любому из пп. 43-71, отличающийся тем, что указанная композиция дополнительно содержит буфер.
73. Способ по п. 72, отличающийся тем, что буфер присутствует в композиции в количестве, достаточном для поддержания композиции при уровне pH от 3,0 до 9,0, необязательно в количестве, достаточном для поддержания композиции при уровне pH от 5,5 до 7,5.
74. Способ по любому из пп. 72-73, отличающийся тем, что буфер присутствует в композиции в количестве от 1 до 100 мМ, необязательно в количестве от 1 мМ до 50 мМ.

75. Способ по любому из пп. 72-74, отличающийся тем, что указанный буфер содержит гистидин.
76. Способ по любому из пп. 43-75, отличающийся тем, что олигонуклеотид ингибитора теломеразы содержит по меньшей мере одну $N3' \rightarrow P5'$ тифосфорамидатную межнуклеозидную связь.
77. Способ по любому из пп. 43-76, отличающийся тем, что липидный фрагмент ингибитора теломеразы связан с 5' и/или 3'-концом олигонуклеотида через линкер.
78. Способ по п. 77, отличающийся тем, что линкер представляет собой глицериновый или аминоглицериновый линкер.
79. Способ по любому из пп. 43-78, отличающийся тем, что липидный фрагмент ингибитора теломеразы представляет собой пальмитоильный (C16) фрагмент.
80. Способ по любому из пп. 43-79 и 158, отличающийся тем, что ингибитор теломеразы представляет собой иметелстат или его фармацевтически приемлемую соль, необязательно иметелстат натрия.
81. Лекарственная форма в единичной дозе, содержащая фермент гиалуронидазу и ингибитор теломеразы, который содержит олигонуклеотид и липидный фрагмент, связанный с 5' и/или 3'-концом олигонуклеотида.
82. Лекарственная форма в единичной дозе по п. 81, отличающаяся тем, что фермент гиалуронидаза представляет собой рекомбинантную гиалуронидазу человека.
83. Лекарственная форма в единичной дозе по п. 82, отличающаяся тем, что фермент гиалуронидаза представляет собой gHuPH20.
84. Лекарственная форма в единичной дозе по п. 83, отличающаяся тем, что указанная композиция содержит вариант или фрагмент фермента гиалуронидазы PH20.
85. Лекарственная форма в единичной дозе по п. 84, отличающаяся тем, что вариант или фрагмент PH20 содержит

(i) одну или более замен аминокислотных остатков, выбранных из группы, состоящей из T341A, T341C, T341G, S343E, M345T, K349E, L353A, L354I, N356E и I361T в PH20 дикого типа, имеющем аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1;

(ii) одну или более замен аминокислотных остатков, выбранных из группы, состоящей из T341A, T341C, L354I и N356E; или

(iii) одну или более замен аминокислотных остатков в области, соответствующей области альфа-спирали или линкерной области PH20 дикого типа, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1.

86. Лекарственная форма в единичной дозе по п. 85, отличающаяся тем, что область альфа-спирали представляет собой 8 область альфа-спирали, содержащую аминокислотные остатки S347 – C381, а линкерная область представляет собой линкерную область, содержащую аминокислотные остатки A333 – R346 между 7 альфа-спиралью и 8 альфа-спиралью.

87. Лекарственная форма в единичной дозе по п. 85, отличающаяся тем, что область альфа-спирали и линкерная область содержит аминокислотные остатки T341 – N363, T341 – I361, L342 – I361, S343 – I361, I344 – I361, M345 – I361 или M345 – N363.

88. Лекарственная форма в единичной дозе по п. 86, отличающаяся тем, что область 8 альфа-спирали и линкерная область между 7 альфа-спиралью и 8 альфа-спиралью замещены одним или более аминокислотными остатками соответствующей области Hyal1.

89. Лекарственная форма в единичной дозе по п. 84, отличающаяся тем, что вариант или фрагмент PH20 содержит

(i) одну или более замен аминокислотных остатков в одном или более положениях, выбранных из группы, состоящей из T341, L342, S343, I344, M345, S347, M348, K349, L352, L353, D355, E359, I361 и N363;

(ii) замены аминокислотных остатков из:

одной или более из L354I и N356E; и

одной или более замен аминокислотных остатков, выбранных из группы, состоящей из T341A, T341C, T341D, T341G, T341S, L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, D355K, E359D, I361T и N363G, при этом необязательно вариант или фрагмент PH20 содержит замены M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D и I361T;

(iii) замены T341A, T341C, T341D, T341G, T341S, L342W, S343E, I344N и N363G; или

(iv) любую замену аминокислотных остатков, выбранную из следующих групп замены аминокислотных остатков:

(a) T341S, L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D и I361T;

(b) L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D и I361T;

(c) M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D, I361T и N363G;

(d) T341G, L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D и I361T;

(e) T341A, L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D и I361T;

(f) T341C, L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D и I361T;

(g) T341D, L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D и I361T;

(h) I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D и I361T; и

(i) S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D и I361T.

90. Лекарственная форма в единичной дозе по любому из пп. 84-89, отличающаяся тем, что удален один или более N-концевых или C-концевых аминокислотных остатков варианта или фрагмента PH20.

91. Лекарственная форма в единичной дозе по п. 90, отличающаяся тем, что расщепление расположено

(i) до аминокислотного остатка, выбранного из группы, состоящей из M1 – P42 на N-конце, так что удален один или более остатков на N-конце;

(ii) до аминокислотного остатка L36, N37, F38, R39, A40, P41 или P42 на N-конце, так что удален один или более остатков на N-конце;

(iii) после аминокислотного остатка, выбранного из группы, состоящей из V455 – L509 на C-конце, так что удален один или более аминокислотных остатков на C-конце;

(iv) после аминокислотного остатка, выбранного из V455, C458, D461, C464, I465, D466, A467, F468, K470, P471, P472, M473, E474, T475, E476, E477, P478, Q479, I480, F481, Y482, N483, A484, P486, T488 или S490 на С-конце, так что удален один или более аминокислотных остатков на С-конце.

92. Лекарственная форма в единичной дозе по любому из пп. 84-91, отличающаяся тем, что N-конец содержит сигнальный пептид, полученный из гормона роста человека, имеющий аминокислотную последовательность MATGSRTSLLLAFGLLCLPWLQEGSA SEQ ID NO: 3, сигнальный пептид, полученный из сывороточного альбумина человека, имеющий аминокислотную последовательность MKWVTFISLLFLFSSAYS SEQ ID NO: 4, или сигнальный пептид, полученный из Hyal1 человека, имеющий аминокислотную последовательность MAAHLLPICALFLTLLDMAQG SEQ ID NO: 5.

93. Лекарственная форма в единичной дозе по любому из пп. 84-92, отличающаяся тем, что вариант или фрагмент PH20

(i) представляет собой пептид, имеющий по меньшей мере 90% идентичность последовательностей с последовательностью аминокислот, обозначенной как SEQ ID NO: 1, или с аминокислотными остатками 36-482, 36-477, 366-478, 36-479, 36-480, 36-481 и 36-483 SEQ ID NO: 1;

(ii) представляет собой пептид, имеющий по меньшей мере 95% идентичность последовательностей с последовательностью аминокислот, обозначенной как SEQ ID NO: 1, или с аминокислотными остатками 36-482, 36-477, 366-478, 36-479, 36-480, 36-481 и 36-483 SEQ ID NO: 1;

(iii) состоит из аминокислотной последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 60 – 115; или

(iv) имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 99.

94. Лекарственная форма в единичной дозе по любому из пп. 81-93, отличающаяся тем, что гиалуронидаза присутствует в композиции в количестве от 100 ед. до 50000 ед.

95. Лекарственная форма в единичной дозе по любому из пп. 81-94, отличающаяся тем, что гиалуронидаза присутствует в композиции в количестве от 100 ед./мл до 50000 ед./мл.

96. Лекарственная форма в единичной дозе по любому из пп. 81-95, отличающаяся тем, что указанная композиция дополнительно содержит одно или более фармацевтически приемлемых вспомогательных веществ.
97. Лекарственная форма в единичной дозе по любому из пп. 81-96, отличающаяся тем, что указанная композиция дополнительно содержит один или более сахаридов.
98. Лекарственная форма в единичной дозе по п. 97, отличающаяся тем, что один или более сахаридов включают моносахарид.
99. Лекарственная форма в единичной дозе по любому из пп. 97-98, отличающаяся тем, что один или более сахаридов включают полисахарид.
100. Лекарственная форма в единичной дозе по п. 99, отличающаяся тем, что один или более полисахаридов выбраны из группы, состоящей из трегалозы и сахарозы.
101. Лекарственная форма в единичной дозе по любому из пп. 97-100, отличающаяся тем, что один или более сахаридов присутствуют в композиции в количестве от 10 мМ до 500 мМ.
102. Единичная лекарственная форма по любому из пп. 81-100, отличающаяся тем, что указанная композиция дополнительно содержит одну или более аминокислот.
103. Лекарственная форма в единичной дозе по п. 102, отличающийся тем, что аминокислоты выбраны из метионина и гистидина.
104. Лекарственная форма в единичной дозе по любому из пп. 102-103, отличающаяся тем, что одна или более аминокислот присутствуют в композиции в количестве от 1 мМ до 100 мМ, необязательно в количестве от 1 мМ до 50 мМ.
105. Лекарственная форма в единичной дозе по любому из пп. 81-104, отличающаяся тем, что указанная композиция дополнительно содержит буфер.
106. Лекарственная форма в единичной дозе по п. 105, отличающаяся тем, что буфер присутствует в композиции в количестве, достаточном для поддержания композиции при

уровне pH от 3,0 до 9,0, необязательно в количестве, достаточном для поддержания композиции при уровне pH от 5,5 до 7,5.

107. Лекарственная форма в единичной дозе по любому из пп. 105-106, отличающаяся тем, что буфер присутствует в композиции в количестве от 1 до 100 мМ, необязательно в количестве от 1 мМ до 50 мМ.

108. Лекарственная форма в единичной дозе по любому из пп. 81-107, отличающаяся тем, что олигонуклеотид ингибитора теломеразы содержит по меньшей мере одну N3' → P5' тиофосфорамидатную межнуклеозидную связь.

109. Лекарственная форма в единичной дозе по любому из пп. 81-108, отличающаяся тем, что липидный фрагмент ингибитора теломеразы связан с 5' и/или 3'-концом олигонуклеотида через линкер.

110. Лекарственная форма в единичной дозе по п. 109, отличающаяся тем, что линкер представляет собой глицериновый или аминокглицериновый линкер.

111. Лекарственная форма в единичной дозе по любому из пп. 81-110, отличающаяся тем, что липидный фрагмент ингибитора теломеразы представляет собой пальмитоильный (C16) фрагмент.

112. Лекарственная форма в единичной дозе по любому из пп. 81-111, отличающаяся тем, что ингибитор теломеразы представляет собой иметелстат или его фармацевтически приемлемую соль, необязательно иметелстат натрия.

113. Лекарственная форма в единичной дозе по любому из пп. 81-112, отличающаяся тем, что ингибитор теломеразы присутствует в композиции в дозе

- (i) от около 2,0 мг/кг до 20,0 мг/кг;
- (ii) от около 3 мг/кг до около 15 мг/кг;
- (iii) от около 9 мг/кг до около 11 мг/кг; или
- (iv) от около 11 мг/кг до около 14 мг/кг.

114. Лекарственная форма в единичной дозе по пп. 81-113, отличающаяся тем, что указанная композиция является жидкой.

115. Набор, содержащий:
композицию, которая содержит фермент гиалуронидазу, и
композицию, которая содержит ингибитор теломеразы, содержащий
олигонуклеотид и липидный фрагмент, связанный с 5' и/или 3'-концом олигонуклеотида.
116. Набор по п. 115, дополнительно содержащий инъектор.
117. Набор по п. 115-116, отличающийся тем, что композиция, содержащая ингибитор теломеразы, является лиофилизированной.
118. Набор по п. 115-117, отличающийся тем, что указанный набор дополнительно содержит буфер для получения разведенной жидкой композиции.
119. Набор по любому из пп. 115-118, отличающийся тем, что подкожный инъектор содержит иглу и шприц.
120. Набор по пп. 115-119, отличающийся тем, что подкожный инъектор представляет собой болюсный инъектор, выполненный с возможностью подкожной доставки предварительно определенного количества композиции.
121. Набор по любому из пп. 115-120, отличающийся тем, что фермент гиалуронидаза представляет собой рекомбинантную гиалуронидазу человека.
122. Набор по п. 121, отличающийся тем, что фермент гиалуронидаза представляет собой rHuPH20.
123. Набор по любому из пп. 115-121, отличающийся тем, что композиция содержит вариант или фрагмент фермента гиалуронидазы PH20.
124. Набор по п. 123, отличающийся тем, что вариант или фрагмент PH20 содержит
(i) одну или более замен аминокислотных остатков, выбранных из группы, состоящей из T341A, T341C, T341G, S343E, M345T, K349E, L353A, L354I, N356E и I361T в PH20 дикого типа, имеющем аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1;

(ii) одну или более замен аминокислотных остатков, выбранных из группы, состоящей из T341A, T341C, L354I и N356E;

(iii) одну или более замен аминокислотных остатков в области, соответствующей области альфа-спирали или линкерной области PH20 дикого типа, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1.

125. Набор по п. 124, отличающийся тем, что область альфа-спирали представляет собой область 8 альфа-спирали, содержащую аминокислотные остатки S347 – C381, а линкерная область представляет собой линкерную область, содержащую аминокислотные остатки A333 – R346 между 7 альфа-спиралью и 8 альфа-спиралью.

126. Набор по п. 124, отличающийся тем, что область альфа-спирали и линкерная область содержит аминокислотные остатки T341 – N363, T341 – I361, L342 – I361, S343 – I361, I344 – I361, M345 – I361 или M345 – N363.

127. Набор по п. 124, отличающийся тем, что область 8 альфа-спирали и линкерная область между 7 альфа-спиралью и 8 альфа-спиралью замещены одним или более аминокислотными остатками соответствующей области Hyal1.

128. Набор по п. 123, отличающийся тем, что вариант или фрагмент PH20 содержит одну или более замен аминокислотных остатков в одном или более положениях, выбранных из группы, состоящей из T341, L342, S343, I344, M345, S347, M348, K349, L352, L353, D355, E359, I361 и N363.

129. Набор по п. 128, отличающийся тем, что вариант или фрагмент PH20 содержит

(i) замены аминокислотных остатков из:

одной или более из L354I и N356E; и

одной или более замен аминокислотных остатков, выбранных из группы, состоящей из T341A, T341C, T341D, T341G, T341S, L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, D355K, E359D, I361T и N363G;

(ii) замены M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D и I361T;

(iii) замены T341A, T341C, T341D, T341G, T341S, L342W, S343E, I344N и N363G;

или

(iv) любую замену аминокислотных остатков, выбранную из следующих групп замены аминокислотных остатков:

(a) T341S, L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D и I361T;

(b) L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D и I361T;

(c) M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D, I361T и N363G;

(d) T341G, L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D и I361T;

(e) T341A, L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D и I361T;

(g) T341D, L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D и I361T;

(h) I344N, L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D и I361T;

(h) I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D and I361T; и

(i) S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D и I361T.

130. Набор по любому из пп. 123-129, отличающийся тем, что удален один или более N-концевых или C-концевых аминокислотных остатков варианта или фрагмента PH20.

131. Набор по п. 130, отличающийся тем, что расщепление расположено до аминокислотного остатка, выбранного из группы, состоящей из M1 – P42 на N-конце, так что удален один или более остатков на N-конце.

132. Набор по п. 131, отличающийся тем, что расщепление расположено

(i) до аминокислотного остатка L36, N37, F38, R39, A40, P41 или P42 на N-конце, так что удален один или более остатков на N-конце;

(ii) после аминокислотного остатка, выбранного из группы, состоящей из V455 – L509 на C-конце, так что удален один или более аминокислотных остатков на C-конце; или

(iii) после аминокислотного остатка, выбранного из V455, C458, D461, C464, I465, D466, A467, F468, K470, P471, P472, M473, E474, T475, E476, E477, P478, Q479, I480, F481,

Y482, N483, A484, P486, T488 или S490 на С-конце, так что удален один или более аминокислотных остатков на С-конце.

133. Набор по любому из пп. 123-132, отличающийся тем, что N-конец содержит сигнальный пептид, полученный из гормона роста человека, имеющий аминокислотную последовательность MATGSRTSLLLAFGLLCLPWLQEGSA SEQ ID NO: 3, сигнальный пептид, полученный из сывороточного альбумина человека, имеющий аминокислотную последовательность MKWVTFISLLFLFSSAYS SEQ ID NO: 4, или сигнальный пептид, полученный из Hyal1 человека, имеющий аминокислотную последовательность MAAHLLPICALFLTLLDMAQG SEQ ID NO: 5.

134. Набор по любому из пп. 123-133, отличающийся тем, что вариант или фрагмент PH20

(i) представляет собой пептид, имеющий по меньшей мере 90% идентичность последовательностей с последовательностью аминокислот, обозначенной как SEQ ID NO: 1, или с аминокислотными остатками 36-482, 36-477, 366-478, 36-479, 36-480, 36-481 и 36-483 SEQ ID NO:1;

(ii) представляет собой пептид, имеющий по меньшей мере 95% идентичность последовательностей с последовательностью аминокислот, обозначенной как SEQ ID NO: 1, или с аминокислотными остатками 36-482, 36-477, 366-478, 36-479, 36-480, 36-481 и 36-483 SEQ ID NO: 1;

(iii) состоит из аминокислотной последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 60 – 115; или

(iv) имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 99.

135. Набор по любому из пп. 115-134, отличающийся тем, что гиалуронидаза присутствует в композиции в количестве от 100 ед. до 50000 ед.

136. Набор по любому из пп. 115-135, отличающийся тем, что гиалуронидаза присутствует в композиции в количестве от 100 ед./мл до 50000 ед./мл.

137. Набор по любому из пп. 115-136, отличающийся тем, что указанная композиция дополнительно содержит одно или более фармацевтически приемлемых вспомогательных веществ.

138. Набор по любому из пп. 115-137, отличающийся тем, что указанная композиция дополнительно содержит один или более сахаридов.
139. Набор по п. 138, отличающийся тем, что один или более сахаридов включают моносахарид.
140. Набор по любому из пп. 138-139, отличающийся тем, что один или более сахаридов включают полисахарид.
141. Набор по п. 140, отличающийся тем, что один или более полисахаридов выбраны из группы, состоящей из трегалозы и сахарозы.
142. Набор по любому из пп. 140-141, отличающийся тем, что один или более полисахаридов присутствуют в композиции в количестве от 10 мМ до 500 мМ, необязательно в количестве от 100 мМ до 300 мМ.
143. Набор по любому из пп. 115-142, отличающийся тем, что указанная композиция дополнительно содержит одну или более аминокислот.
144. Набор по п. 143, отличающийся тем, что указанная композиция содержит метионин.
145. Набор по любому из пп. 143-144, отличающийся тем, что одна или более аминокислот присутствуют в композиции в количестве от 1 мМ до 100 мМ, необязательно в количестве от 1 мМ до 50 мМ.
146. Набор по любому из пп. 115-145, отличающийся тем, что указанная композиция дополнительно содержит буфер.
147. Набор по п. 146, отличающийся тем, что буфер присутствует в композиции в количестве, достаточном для поддержания композиции при уровне рН от 3,0 до 9,0, необязательно в количестве, достаточном для поддержания композиции при уровне рН от 5,5 до 7,5.
148. Набор по любому из пп. 146-147, отличающийся тем, что буфер присутствует в композиции в количестве от 1 до 100 мМ, необязательно в количестве от 1 мМ до 50 мМ.

149. Набор по любому из пп. 146-148, отличающийся тем, что указанный буфер содержит гистидин.

150. Набор по любому из пп. 115-149, отличающийся тем, что олигонуклеотид ингибитора теломеразы содержит по меньшей мере одну N3'→P5' тифосфорамидатную межнуклеозидную связь.

151. Набор по любому из пп. 115-150, отличающийся тем, что липидный фрагмент ингибитора теломеразы связан с 5' и/или 3'-концом олигонуклеотида через линкер.

152. Набор по п. 151, отличающийся тем, что линкер представляет собой глицериновый или аминоглицериновый линкер.

153. Набор по любому из пп. 115-152, отличающийся тем, что липидный фрагмент ингибитора теломеразы представляет собой пальмитоильный (C16) фрагмент.

154. Набор по любому из пп. 115-153, отличающийся тем, что ингибитор теломеразы представляет собой иметелстат или его фармацевтически приемлемую соль, необязательно иметелстат натрия.

155. Набор по любому из пп. 115-154, отличающийся тем, что ингибитор теломеразы присутствует в композиции в дозе

- (i) от около 2,0 мг/кг до 20,0 мг/кг;
- (ii) от около 3 мг/кг до около 15 мг/кг;
- (iii) от около 9 мг/кг до около 11 мг/кг; или
- (iv) от около 11 мг/кг до около 14 мг/кг.

156. Набор по любому из пп. 115-154, отличающийся тем, что ингибитор теломеразы присутствует в композиции в дозе

- (i) от около 200 мг до 3000 мг;
- (ii) от около 750 мг/кг до около 2500 мг;
- (iii) от около 1000 мг до около 2000 мг; или
- (iv) от около 500 мг до около 2000 мг.

157. Композиция по любому из пп. 1-40, отличающаяся тем, что ингибитор теломеразы присутствует в композиции в дозе

- (i) от около 200 мг до 3000 мг;
- (ii) от около 750 мг/кг до около 2500 мг;
- (iii) от около 1000 мг до около 2000 мг; или
- (iv) от около 500 мг до около 2000 мг.

158. Способ по любому из пп. 43-47, отличающийся тем, что ингибитор теломеразы присутствует в композиции в дозе

- (i) от около 200 мг до 3000 мг;
- (ii) от около 750 мг/кг до около 2500 мг;
- (iii) от около 1000 мг до около 2000 мг; или
- (iv) от около 500 мг до около 2000 мг.

159. Способ по любому из пп. 81-112, отличающийся тем, что ингибитор теломеразы присутствует в композиции в дозе

- (i) от около 200 мг до 3000 мг;
- (ii) от около 750 мг/кг до около 2500 мг;
- (iii) от около 1000 мг до около 2000 мг; или
- (iv) от около 500 мг до около 2000 мг.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Композиция, составленная для подкожного введения, содержащая:
ингибитор теломеразы, содержащий олигонуклеотид и липидный фрагмент, связанный с 5' и/или 3'-концом олигонуклеотида; и
фермент гиалуронидазу.
2. Композиция по п. 1, отличающаяся тем, что фермент гиалуронидаза представляет собой рекомбинантную гиалуронидазу человека.
3. Композиция по п. 1, отличающаяся тем, что указанная композиция содержит вариант или фрагмент фермента гиалуронидазы RH20.
4. Композиция по п. 3, отличающаяся тем, что удален один или более N-концевых или C-концевых аминокислотных остатков варианта или фрагмента RH20.
5. Композиция по п. 4, отличающаяся тем, что расщепление расположено до аминокислотного остатка, выбранного из группы, состоящей из M1 – P42 на N-конце, так что удален один или более остатков на N-конце.
6. Композиция по п. 5, отличающаяся тем, что расщепление расположено до аминокислотного остатка L36, N37, F38, R39, A40, P41 или P42 на N-конце, так что удален один или более остатков на N-конце.
7. Композиция по п. 6, отличающаяся тем, что расщепление расположено после аминокислотного остатка, выбранного из группы, состоящей из V455 – L509 на C-конце, так что удален один или более аминокислотных остатков на C-конце.
8. Композиция по п. 7, отличающаяся тем, что расщепление расположено после аминокислотного остатка, выбранного из V455, C458, D461, C464, I465, D466, A467, F468, K470, P471, P472, M473, E474, T475, E476, E477, P478, Q479, I480, F481, Y482, N483, A484, P486, T488 или S490 на C-конце, так что удален один или более аминокислотных остатков на C-конце.

9. Композиция по любому из пп. 4-8, отличающаяся тем, что вариант или фрагмент PH20 содержит полипептид, выбранный из группы, представленной аминокислотными остатками 36-482, 36-477, 366-478, 36-479, 36-480, 36-481 и 36-483 SEQ ID NO: 1.
10. Композиция по любому из пп. 4-9, отличающаяся тем, что N-конец содержит сигнальный пептид, полученный из гормона роста человека, имеющий аминокислотную последовательность MATGSRTSLLLAFLGLLCLPWLQEGSA SEQ ID NO: 3, сигнальный пептид, полученный из сывороточного альбумина человека, имеющий аминокислотную последовательность MKWVTFISLLFLFSSAYS SEQ ID NO: 4, или сигнальный пептид, полученный из Hyal1 человека, имеющий аминокислотную последовательность MAAHLLPICALFLTLLDMAQG SEQ ID NO: 5.
11. Композиция по п. 2, отличающаяся тем, что фермент гиалуронидаза представляет собой гHuPH20.
12. Композиция по любому из пп. 4-10, отличающаяся тем, что вариант или фрагмент PH20 представляет собой пептид, имеющий по меньшей мере 90% идентичность последовательностей с последовательностью аминокислот, обозначенной как SEQ ID NO:1, или с аминокислотными остатками 36-482, 36-477, 366-478, 36-479, 36-480, 36-481 и 36-483 SEQ ID NO:1.
13. Композиция по любому из пп. 4-10, отличающаяся тем, что вариант или фрагмент PH20 представляет собой пептид, имеющий по меньшей мере 95% идентичность последовательностей с последовательностью аминокислот, обозначенной как SEQ ID NO:1, или с аминокислотными остатками 36-482, 36-477, 366-478, 36-479, 36-480, 36-481 и 36-483 SEQ ID NO:1.
14. Композиция по любому из пп. 1-13, отличающаяся тем, что гиалуронидаза присутствует в композиции в количестве от 100 ед. до 50000 ед.
15. Композиция по любому из пп. 1-14, отличающаяся тем, что указанная композиция дополнительно содержит одно или более фармацевтически приемлемых вспомогательных веществ.

16. Композиция по любому из пп. 1-15, отличающаяся тем, что указанная композиция дополнительно содержит один или более сахаридов.
17. Композиция по п. 16, отличающаяся тем, что один или более сахаридов присутствуют в композиции в количестве от 10 мМ до 500 мМ.
18. Композиция по любому из пп. 1-17, отличающаяся тем, что указанная композиция дополнительно содержит одну или более аминокислот.
19. Композиция по п. 18, отличающаяся тем, что аминокислоты выбраны из метионина и гистидина.
20. Композиция по любому из пп. 18-19, отличающаяся тем, что одна или более аминокислот присутствуют в композиции в количестве от 1 мМ до 100 мМ.
21. Композиция по любому из пп. 1-20, отличающаяся тем, что указанная композиция дополнительно содержит буфер.
22. Композиция по п. 21, отличающаяся тем, что буфер присутствует в композиции в количестве, достаточном для поддержания композиции при уровне рН от 3,0 до 9,0.
23. Композиция по любому из пп. 21-22, отличающаяся тем, что буфер присутствует в композиции в количестве от 1 до 100 мМ.
24. Композиция по любому из пп. 1-23, отличающаяся тем, что олигонуклеотид ингибитора теломеразы содержит по меньшей мере одну N3'→P5' тифосфорамидатную межнуклеозидную связь.
25. Композиция по любому из пп. 1-24, отличающаяся тем, что липидный фрагмент ингибитора теломеразы связан с 5' и/или 3'-концом олигонуклеотида через линкер.
26. Композиция по п. 25, отличающаяся тем, что линкер представляет собой глицериновый или аминокглицериновый линкер.

27. Композиция по любому из пп. 1-26, отличающаяся тем, что липидный фрагмент ингибитора теломеразы представляет собой пальмитоильный (C16) фрагмент.
28. Композиция по любому из пп. 1-27, отличающаяся тем, что ингибитор теломеразы представляет собой иметелстат или его фармацевтически приемлемую соль.
29. Композиция по п. 28, отличающаяся тем, что ингибитор теломеразы представляет собой иметелстат натрия.
30. Композиция по любому из пп. 1-29, отличающаяся тем, что ингибитор теломеразы присутствует в композиции в дозе
- (i) от около 2,0 мг/кг до 20,0 мг/кг;
 - (ii) от около 3 мг/кг до около 15 мг/кг;
 - (iii) от около 9 мг/кг до около 11 мг/кг; или
 - (iv) от около 11 мг/кг до около 14 мг/кг.
31. Композиция по любому из пп. 1-29, отличающаяся тем, что ингибитор теломеразы присутствует в композиции в дозе
- (i) от около 200 мг до 3000 мг;
 - (ii) от около 750 мг/кг до около 2500 мг;
 - (iii) от около 1000 мг до около 2000 мг; или
 - (iv) от около 500 мг до около 2000 мг.
32. Композиция по пп. 1-31, отличающаяся тем, что указанная композиция является лиофилизированной.
33. Способ лечения субъекта, имеющего неоплазму, включающий подкожное введение указанному субъекту композиции, содержащей:
- ингибитор теломеразы, содержащий олигонуклеотид и липидный фрагмент, связанный с 5' и/или 3'-концом олигонуклеотида; и
 - фермент гиалуронидазу.
34. Способ по п. 33, отличающийся тем, что неоплазма представляет собой гематологическую неоплазму, выбранную из миелофиброза (MF), миелодиспластических синдромов (MDS), эссенциальной тромбоцитемии (ET), истинной полицитемии (PV),

хронического миелогенного лейкоза (CML), хронического нейтрофильного лейкоза, хронического эозинофильного лейкоза и острого миелоидного лейкоза (AML).

35. Способ по любому из пп. 33-34, дополнительно включающий диагностирование наличия у субъекта гематологической неоплазмы.

36. Способ по любому из пп. 33-35, отличающийся тем, что указанную композицию подкожно вводят субъекту один раз в 7 дней.

37. Способ по любому из пп. 33-35, отличающийся тем, что указанную композицию подкожно вводят субъекту один раз в 21 день.

38. Способ по любому из пп. 33-35, отличающийся тем, что указанную композицию подкожно вводят субъекту один раз в 28 дней.

39. Способ по любому из пп. 33-38, отличающийся тем, что указанный способ повторяют 1 или более раз.

40. Способ по любому из пп. 33-39, отличающийся тем, что ингибитор теломеразы вводят субъекту в дозе

- (i) от около 2,0 мг/кг до 20,0 мг/кг;
- (ii) от около 3 мг/кг до около 15 мг/кг;
- (iii) от около 9 мг/кг до около 11 мг/кг; или
- (iv) от около 11 мг/кг до около 14 мг/кг.

41. Способ по любому из пп. 33-39, отличающийся тем, что ингибитор теломеразы вводят субъекту в дозе

- (i) от около 200 мг до 3000 мг;
- (ii) от около 750 мг/кг до около 2500 мг;
- (iii) от около 1000 мг до около 2000 мг; или
- (iv) от около 500 мг до около 2000 мг.

42. Способ по любому из пп. 38-41, отличающийся тем, что фермент гиалуронидаза представляет собой рекомбинантную гиалуронидазу человека.

43. Способ по любому из пп. 38-41, отличающийся тем, что композиция содержит вариант или фрагмент фермента гиалуронидазы PH20.
44. Способ по п. 43, отличающийся тем, что удален один или более N-концевых или C-концевых аминокислотных остатков варианта или фрагмента PH20.
45. Способ по п. 44, отличающийся тем, что расщепление расположено до аминокислотного остатка, выбранного из группы, состоящей из M1 – P42 на N-конце, так что удален один или более остатков на N-конце.
46. Способ по п. 45, отличающийся тем, что расщепление расположено до аминокислотного остатка L36, N37, F38, R39, A40, P41 или P42 на N-конце, так что удален один или более остатков на N-конце.
47. Способ по п. 44, отличающийся тем, что расщепление расположено после аминокислотного остатка, выбранного из группы, состоящей из V455 – L509 на C-конце, так что удален один или более аминокислотных остатков на C-конце.
48. Способ по п. 47, отличающийся тем, что расщепление расположено после аминокислотного остатка, выбранного из V455, C458, D461, C464, I465, D466, A467, F468, K470, P471, P472, M473, E474, T475, E476, E477, P478, Q479, I480, F481, Y482, N483, A484, P486, T488 или S490 на C-конце, так что удален один или более аминокислотных остатков на C-конце.
49. Способ по любому из пп. 43-48, отличающийся тем, что вариант или фрагмент PH20 содержит полипептид, выбранный из группы, представленной аминокислотными остатками 36-482, 36-477, 366-478, 36-479, 36-480, 36-481 и 36-483 SEQ ID NO: 1.
50. Способ по любому из пп. 43-49, отличающийся тем, что N-конец содержит сигнальный пептид, полученный из гормона роста человека, имеющий аминокислотную последовательность MATGSRTSLLLAFLGLCLPWLQEGSA SEQ ID NO: 3, сигнальный пептид, полученный из сывороточного альбумина человека, имеющий аминокислотную последовательность MKWVTFISLLFLFSSAYS SEQ ID NO: 4, или сигнальный пептид, полученный из Hyal1 человека, имеющий аминокислотную последовательность MAAHLLPICALFLTLLDMAQG SEQ ID NO: 5.

51. Способ по п. 42, отличающийся тем, что фермент гиалуронидаза представляет собой rHuPH20.

52. Способ по любому из пп. 43-50, отличающийся тем, что вариант или фрагмент PH20 представляет собой пептид, имеющий по меньшей мере 90% идентичность последовательностей с последовательностью аминокислот, обозначенной как SEQ ID NO: 1, или с аминокислотными остатками 36-482, 36-477, 366-478, 36-479, 36-480, 36-481 и 36-483 SEQ ID NO: 1.

53. Способ по любому из пп. 43-50, отличающийся тем, что вариант или фрагмент PH20 представляет собой пептид, имеющий по меньшей мере 95% идентичность последовательностей с последовательностью аминокислот, обозначенной как SEQ ID NO: 1, или с аминокислотными остатками 36-482, 36-477, 366-478, 36-479, 36-480, 36-481 и 36-483 SEQ ID NO: 1.

54. Способ по любому из пп. 33-53, отличающийся тем, что гиалуронидаза присутствует в композиции в количестве от 100 ед. до 50000 ед.

55. Способ по любому из пп. 33-53, отличающийся тем, что указанная композиция дополнительно содержит одно или более фармацевтически приемлемых вспомогательных веществ.

56. Способ по любому из пп. 33-54, отличающийся тем, что указанная композиция дополнительно содержит один или более сахаридов.

57. Способ по п. 56, отличающийся тем, что один или более сахаридов присутствуют в композиции в количестве от 10 мМ до 500 мМ.

58. Способ по любому из пп. 33-57, отличающийся тем, что указанная композиция дополнительно содержит одну или более аминокислот.

59. Способ по п. 58, отличающийся тем, что аминокислоты выбраны из метионина и гистидина.

60. Способ по любому из пп. 57-58, отличающийся тем, что одна или более аминокислот присутствуют в композиции в количестве от 1 мМ до 100 мМ.
61. Способ по любому из пп. 33-60, отличающийся тем, что указанная композиция дополнительно содержит буфер.
62. Способ по п. 61, отличающийся тем, что буфер присутствует в композиции в количестве, достаточном для поддержания композиции при уровне рН от 3,0 до 9,0.
63. Способ по любому из пп. 61-62, отличающийся тем, что буфер присутствует в композиции в количестве от 1 до 100 мМ.
64. Способ по любому из пп. 33-63, отличающийся тем, что олигонуклеотид ингибитора теломеразы содержит по меньшей мере одну $N3' \rightarrow P5'$ тифосфорамидатную межнуклеозидную связь.
65. Способ по любому из пп. 33-64, отличающийся тем, что липидный фрагмент ингибитора теломеразы связан с 5' и/или 3'-концом олигонуклеотида через линкер.
66. Способ по п. 65, отличающийся тем, что линкер представляет собой глицериновый или аминоглицериновый линкер.
67. Способ по любому из пп. 33-66, отличающийся тем, что липидный фрагмент ингибитора теломеразы представляет собой пальмитоильный (C16) фрагмент.
68. Способ по любому из пп. 33-67, отличающийся тем, что ингибитор теломеразы представляет собой иметелстат или его фармацевтически приемлемую соль.
69. Способ по п. 68, отличающийся тем, что ингибитор теломеразы представляет собой иметелстат натрия.
70. Лекарственная форма в единичной дозе, содержащая фермент гиалуронидазу и ингибитор теломеразы, который содержит олигонуклеотид и липидный фрагмент, связанный с 5' и/или 3'-концом олигонуклеотида.

71. Лекарственная форма в единичной дозе по п. 70, отличающаяся тем, что фермент гиалуронидаза представляет собой рекомбинантную гиалуронидазу человека.
72. Лекарственная форма в единичной дозе по п. 70, отличающаяся тем, что указанная композиция содержит вариант или фрагмент фермента гиалуронидазы PH20.
73. Лекарственная форма в единичной дозе по любому из пп. 70-72, отличающаяся тем, что удален один или более N-концевых или C-концевых аминокислотных остатков варианта или фрагмента PH20.
74. Лекарственная форма в единичной дозе по п. 73, отличающаяся тем, что расщепление расположено до аминокислотного остатка, выбранного из группы, состоящей из M1 – P42 на N-конце, так что удален один или более остатков на N-конце.
75. Лекарственная форма в единичной дозе по п. 74, отличающаяся тем, что расщепление расположено до аминокислотного остатка L36, N37, F38, R39, A40, P41 или P42 на N-конце, так что удален один или более остатков на N-конце.
76. Лекарственная форма в единичной дозе по п. 75, отличающаяся тем, что расщепление расположено после аминокислотного остатка, выбранного из группы, состоящей из V455 – L509 на C-конце, так что удален один или более аминокислотных остатков на C-конце.
77. Лекарственная форма в единичной дозе по п. 76, отличающаяся тем, что расщепление расположено после аминокислотного остатка, выбранного из V455, C458, D461, C464, I465, D466, A467, F468, K470, P471, P472, M473, E474, T475, E476, E477, P478, Q479, I480, F481, Y482, N483, A484, P486, T488 или S490 на C-конце, так что удален один или более аминокислотных остатков на C-конце.
78. Лекарственная форма в единичной дозе по любому из пп. 72-77, отличающаяся тем, что вариант или фрагмент PH20 содержит полипептид, выбранный из группы, представленной аминокислотными остатками 36-482, 36-477, 366-478, 36-479, 36-480, 36-481 и 36-483 SEQ ID NO: 1.

79. Лекарственная форма в единичной дозе по любому из пп. 70-78, отличающаяся тем, что N-конец содержит сигнальный пептид, полученный из гормона роста человека, имеющий аминокислотную последовательность MATGSRTSLLLAFGLLCLPWLQEGSA SEQ ID NO: 3, сигнальный пептид, полученный из сывороточного альбумина человека, имеющий аминокислотную последовательность MKWVTFISLLFLFSSAYS SEQ ID NO: 4, или сигнальный пептид, полученный из Hyal1 человека, имеющий аминокислотную последовательность MAAHLLPICALFLTLLDMAQG SEQ ID NO: 5.

80. Лекарственная форма в единичной дозе по п. 70, отличающаяся тем, что фермент гиалуронидаза представляет собой rHuPH20.

81. Лекарственная форма в единичной дозе по любому из пп. 72-79, отличающаяся тем, что вариант или фрагмент PH20 представляет собой пептид, имеющий по меньшей мере 90% идентичность последовательностей с последовательностью аминокислот, обозначенной как SEQ ID NO:1, или с аминокислотными остатками 36-482, 36-477, 366-478, 36-479, 36-480, 36-481 и 36-483 SEQ ID NO: 1.

82. Лекарственная форма в единичной дозе по любому из пп. 72-79, отличающаяся тем, что вариант или фрагмент PH20 представляет собой пептид, имеющий по меньшей мере 95% идентичность последовательностей с последовательностью аминокислот, обозначенной как SEQ ID NO:1, или с аминокислотными остатками 36-482, 36-477, 366-478, 36-479, 36-480, 36-481 и 36-483 SEQ ID NO: 1.

83. Лекарственная форма в единичной дозе по любому из пп. 70-82, отличающаяся тем, что гиалуронидаза присутствует в композиции в количестве от 100 ед. до 50000 ед.

84. Лекарственная форма в единичной дозе по любому из пп. 70-83, отличающаяся тем, что указанная композиция дополнительно содержит одно или более фармацевтически приемлемых вспомогательных веществ.

85. Лекарственная форма в единичной дозе по п. 84, отличающаяся тем, что указанная композиция дополнительно содержит один или более сахаридов.

86. Лекарственная форма в единичной дозе по п. 85, отличающаяся тем, что один или более сахаридов присутствуют в композиции в количестве от 10 mM до 500 mM.

87. Лекарственная форма в единичной дозе по любому из пп. 84-86, отличающаяся тем, что указанная композиция дополнительно содержит одну или более аминокислот.
88. Лекарственная форма в единичной дозе по п. 87, отличающаяся тем, что аминокислоты выбраны из метионина и гистидина.
89. Лекарственная форма в единичной дозе по любому из пп. 87-88, отличающаяся тем, что одна или более аминокислот присутствуют в композиции в количестве от 1 мМ до 100 мМ.
90. Лекарственная форма в единичной дозе по любому из пп. 84-89, отличающаяся тем, что указанная композиция дополнительно содержит буфер.
91. Лекарственная форма в единичной дозе по п. 90, отличающаяся тем, что буфер присутствует в композиции в количестве, достаточном для поддержания композиции при уровне pH от 3,0 до 9,0.
92. Лекарственная форма в единичной дозе по любому из пп. 90-91, отличающаяся тем, что буфер присутствует в композиции в количестве от 1 до 100 мМ.
93. Лекарственная форма в единичной дозе по любому из пп. 70-92, отличающаяся тем, что олигонуклеотид ингибитора теломеразы содержит по меньшей мере одну $N3' \rightarrow P5'$ тифосфоридамидатную межнуклеозидную связь.
94. Лекарственная форма в единичной дозе по любому из пп. 70-93, отличающаяся тем, что липидный фрагмент ингибитора теломеразы связан с 5' и/или 3'-концом олигонуклеотида через линкер.
95. Лекарственная форма в единичной дозе по п. 94, отличающаяся тем, что линкер представляет собой глицериновый или аминокглицериновый линкер.
96. Лекарственная форма в единичной дозе по любому из пп. 70-95, отличающаяся тем, что липидный фрагмент ингибитора теломеразы представляет собой пальмитоильный (C16) фрагмент.

97. Лекарственная форма в единичной дозе по любому из пп. 70-96, отличающаяся тем, что ингибитор теломеразы представляет собой иметелстат или его фармацевтически приемлемую соль.

98. Лекарственная форма в единичной дозе по п. 97, отличающаяся тем, что ингибитор теломеразы представляет собой иметелстат натрия.

99. Лекарственная форма в единичной дозе по любому из пп. 70-98, отличающаяся тем, что ингибитор теломеразы присутствует в композиции в дозе

- (i) от около 2,0 мг/кг до 20,0 мг/кг;
- (ii) от около 3 мг/кг до около 15 мг/кг;
- (iii) от около 9 мг/кг до около 11 мг/кг; или
- (iv) от около 11 мг/кг до около 14 мг/кг.

100. Лекарственная форма в единичной дозе по любому из пп. 70-98, отличающаяся тем, что ингибитор теломеразы присутствует в композиции в дозе

- (i) от около 200 мг до 3000 мг;
- (ii) от около 750 мг/кг до около 2500 мг;
- (iii) от около 1000 мг до около 2000 мг; или
- (iv) от около 500 мг до около 2000 мг.

101. Лекарственная форма в единичной дозе по пп. 70-100, отличающаяся тем, что указанная композиция является жидкой.

102. Набор, содержащий:

композицию, которая содержит фермент гиалуронидазу, и композицию, которая содержит ингибитор теломеразы, содержащий олигонуклеотид и липидный фрагмент, связанный с 5' и/или 3'-концом олигонуклеотида.

103. Набор по п. 102, дополнительно содержащий инъектор.

104. Набор по пп. 102-103, отличающийся тем, что композиция, содержащая ингибитор теломеразы, является лиофилизированной.

105. Набор по пп. 102-104, дополнительно содержащий буфер для получения разведенной жидкой композиции.

106. Набор по любому из пп. 102-105, отличающийся тем, что подкожный инъектор содержит иглу и шприц.

107. Набор по пп. 102-105, отличающийся тем, что подкожный инъектор представляет собой болюсный инъектор, выполненный с возможностью подкожной доставки предварительно определенного количества композиции.

108. Набор по любому из пп. 102-107, отличающийся тем, что фермент гиалуронидаза представляет собой рекомбинантную гиалуронидазу человека.

109. Набор по любому из пп. 102-108, отличающийся тем, что композиция содержит вариант или фрагмент фермента гиалуронидазы PH20.

110. Набор по п. 109, отличающийся тем, что удален один или более N-концевых или C-концевых аминокислотных остатков варианта или фрагмента PH20.

111. Набор по п. 110, отличающийся тем, что расщепление расположено до аминокислотного остатка, выбранного из группы, состоящей из M1 – P42 на N-конце, так что удален один или более остатков на N-конце.

112. Набор по п. 111, отличающийся тем, что расщепление расположено до аминокислотного остатка L36, N37, F38, R39, A40, P41 или P42 на N-конце, так что удален один или более остатков на N-конце.

113. Набор по п. 110, отличающийся тем, что расщепление расположено после аминокислотного остатка, выбранного из группы, состоящей из V455 – L509 на C-конце, так что удален один или более аминокислотных остатков на C-конце.

114. Набор по п. 113, отличающийся тем, что расщепление расположено после аминокислотного остатка, выбранного из V455, C458, D461, C464, I465, D466, A467, F468, K470, P471, P472, M473, E474, T475, E476, E477, P478, Q479, I480, F481, Y482, N483, A484,

P486, T488 или S490 на С-конце, так что удален один или более аминокислотных остатков на С-конце.

115. Набор по п. 108, отличающийся тем, что фермент гиалуронидаза представляет собой rHuPH20.

116. Набор по любому из пп. 108-115, отличающийся тем, что N-конец содержит сигнальный пептид, полученный из гормона роста человека, имеющий аминокислотную последовательность MATGSRTSLLLAFGLLCLPWLQEGSA SEQ ID NO: 3, сигнальный пептид, полученный из сывороточного альбумина человека, имеющий аминокислотную последовательность MKWVTFISLLFLFSSAYS SEQ ID NO: 4, или сигнальный пептид, полученный из Hyal1 человека, имеющий аминокислотную последовательность MAAHLLPICALFLTLLDMAQG SEQ ID NO: 5.

117. Набор по любому из пп. 108-114, отличающийся тем, что вариант или фрагмент PH20 представляет собой пептид, имеющий по меньшей мере 90% идентичность последовательностей с последовательностью аминокислот, обозначенной как SEQ ID NO:1, или с аминокислотными остатками 36-482, 36-477, 366-478, 36-479, 36-480, 36-481 и 36-483 SEQ ID NO:1.

118. Набор по любому из пп. 108-114, отличающийся тем, что вариант или фрагмент PH20 представляет собой пептид, имеющий по меньшей мере 95% идентичность последовательностей с последовательностью аминокислот, обозначенной как SEQ ID NO:1, или с аминокислотными остатками 36-482, 36-477, 366-478, 36-479, 36-480, 36-481 и 36-483 SEQ ID NO:1.

119. Набор по любому из пп. 102-118, отличающийся тем, что гиалуронидаза присутствует в композиции в количестве от 100 ед. до 50000 ед.

120. Набор по любому из пп. 102-119, отличающийся тем, что указанная композиция дополнительно содержит одно или более фармацевтически приемлемых вспомогательных веществ.

121. Набор по любому из пп. 102-120, отличающийся тем, что указанная композиция дополнительно содержит один или более сахаридов.

122. Набор по п. 121, отличающийся тем, что один или более сахаридов присутствуют в композиции в количестве от 10 мМ до 500 мМ.

123. Набор по любому из пп. 102-122, отличающийся тем, что указанная композиция дополнительно содержит одну или более аминокислот.

124. Набор по п. 123, отличающийся тем, что указанная композиция содержит аминокислоту, выбранную из метионина и гистидина.

125. Набор по любому из пп. 123-124, отличающийся тем, что одна или более аминокислот присутствуют в композиции в количестве от 1 мМ до 100 мМ.

126. Набор по любому из пп. 102-125, отличающийся тем, что указанная композиция дополнительно содержит буфер.

127. Набор по п. 126, отличающийся тем, что буфер присутствует в композиции в количестве, достаточном для поддержания композиции при уровне рН от 3,0 до 9,0.

128. Набор по любому из пп. 126-127, отличающийся тем, что буфер присутствует в композиции в количестве от 1 до 100 мМ.

129. Набор по любому из пп. 102-128, отличающийся тем, что олигонуклеотид ингибитора теломеразы содержит по меньшей мере одну $N3' \rightarrow P5'$ тифосфорамидатную межнуклеозидную связь.

130. Набор по любому из пп. 102-129, отличающийся тем, что липидный фрагмент ингибитора теломеразы связан с 5' и/или 3'-концом олигонуклеотида через линкер.

131. Набор по п. 130, отличающийся тем, что линкер представляет собой глицериновый или аминоглицериновый линкер.

132. Набор по любому из пп. 102-131, отличающийся тем, что липидный фрагмент ингибитора теломеразы представляет собой пальмитоильный (C16) фрагмент.

133. Набор по любому из пп. 102-132, отличающийся тем, что ингибитор теломеразы представляет собой иметелстат или его фармацевтически приемлемую соль.

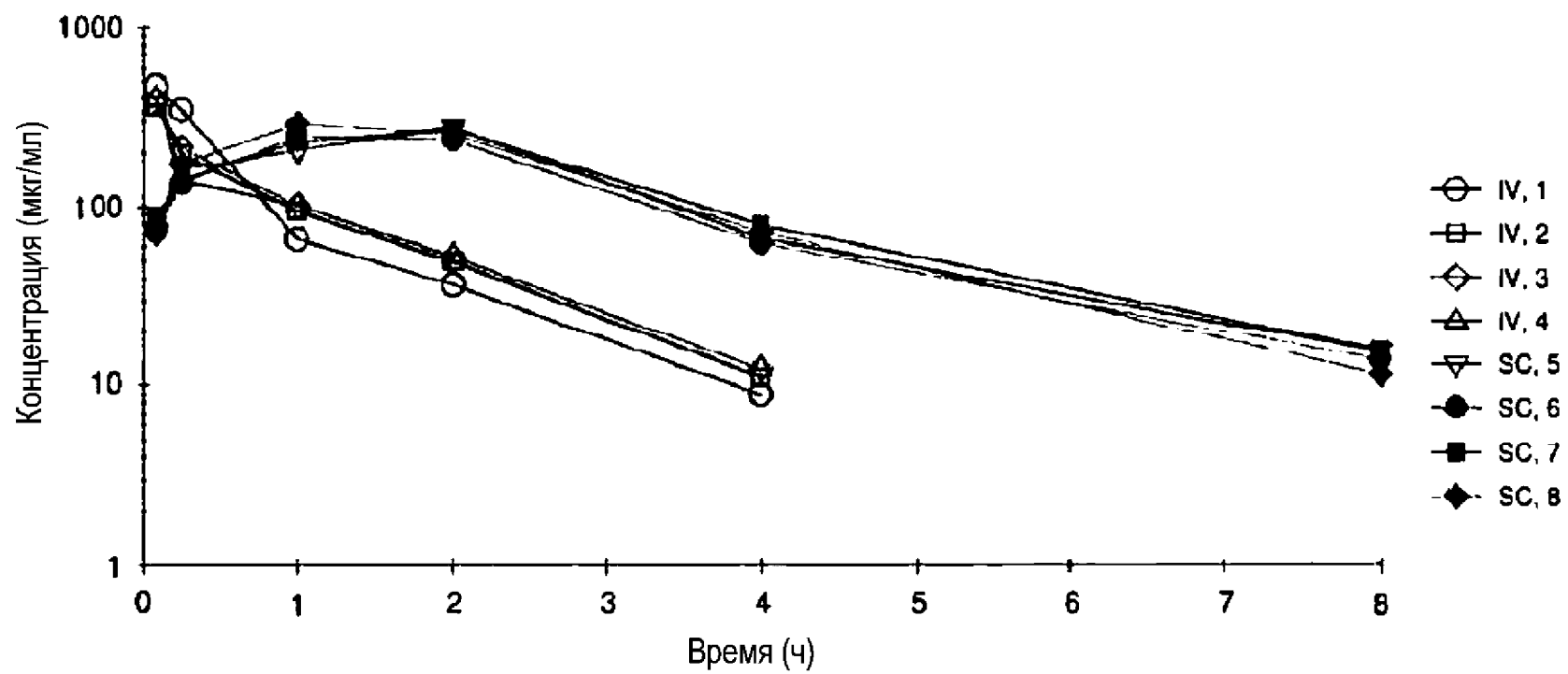
134. Набор по п. 133, отличающийся тем, что ингибитор теломеразы представляет собой иметелстат натрия.

135. Набор по любому из пп. 102-134, отличающийся тем, что ингибитор теломеразы присутствует в композиции в дозе

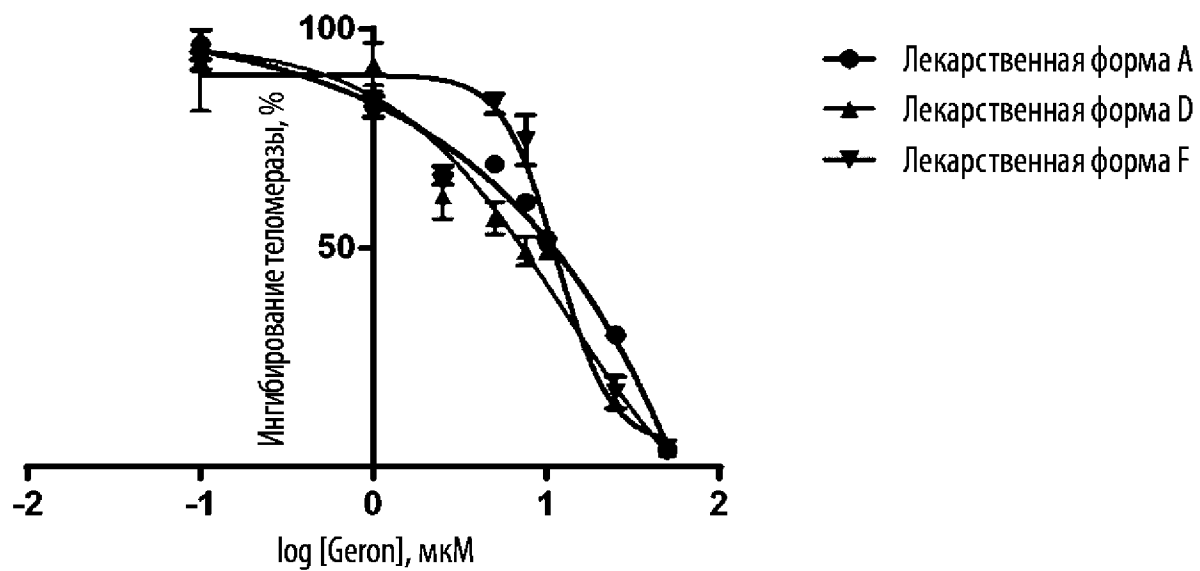
- (i) от около 2,0 мг/кг до 20,0 мг/кг;
- (ii) от около 3 мг/кг до около 15 мг/кг;
- (iii) от около 9 мг/кг до около 11 мг/кг; или
- (iv) от около 11 мг/кг до около 14 мг/кг.

136. Набор по любому из пп. 102-134, отличающийся тем, что ингибитор теломеразы присутствует в композиции в дозе

- (i) от около 200 мг до 3000 мг;
- (ii) от около 750 мг/кг до около 2500 мг;
- (iii) от около 1000 мг до около 2000 мг; или
- (iv) от около 500 мг до около 2000 мг.



Фиг. 1



Фиг. 2