

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202390325** (13) **A1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки
2023.03.16

(22) Дата подачи заявки
2021.07.22

(51) Int. Cl. *C07K 14/605* (2006.01)
A61K 38/26 (2006.01)
A61P 1/16 (2006.01)
A61P 3/04 (2006.01)
A61P 3/10 (2006.01)

(54) **КОАГОНИСТЫ РЕЦЕПТОРОВ GLP-1 И GIP, ПОДХОДЯЩИЕ ДЛЯ ПЕРОРАЛЬНОЙ ДОСТАВКИ**

(31) 63/055,026; 20192414.9; 63/156,988

(32) 2020.07.22; 2020.08.24; 2021.03.05

(33) US; EP; US

(86) PCT/EP2021/070485

(87) WO 2022/018186 2022.01.27

(71) Заявитель:
НОВО НОРДИСК А/С (DK)

(72) Изобретатель:

Кнерр Патрик Дж., Финан Брайан,
Димарки Ричард (US), Линдерот Ларс
(DK)

(74) Представитель:

Хмара М.В. (RU)

(57) Описаны пептидные коагонисты рецепторов GLP-1 и GIP человека, подходящие для пероральной доставки, включающие производные длительного действия, и их применение в медицине для лечения и/или предупреждения ожирения, диабета и/или заболеваний печени.

A1

202390325

202390325

A1

КОАГОНИСТЫ РЕЦЕПТОРОВ GLP-1 И GIP, ПОДХОДЯЩИЕ ДЛЯ ПЕРОРАЛЬНОЙ ДОСТАВКИ

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ, К КОТОРОЙ ОТНОСИТСЯ ИЗОБРЕТЕНИЕ

Настоящее изобретение относится к новым соединениям, которые являются агонистами рецептора глюкагоноподобного пептида-1 (GLP-1) и рецептора глюкозозависимого инсулиотропного полипептида (GIP) с профилем действия, предусматривающим длительное действие, подходящим для перорального введения людям.

ВКЛЮЧЕНИЕ ПЕРЕЧНЯ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ ПОСРЕДСТВОМ ССЫЛКИ

10 Настоящая заявка подается с перечнем последовательностей в электронной форме. Полное содержание перечня последовательностей включено в данный документ посредством ссылки.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

Глюкагоноподобный пептид-1 (GLP-1) представляет собой гормон, синтезируемый энтероэндокринными клетками кишечника, и является одним из двух известных эндогенных физиологических инкретинов. GLP-1 улучшает гликемический контроль за счет стимуляции глюкозозависимой секреции инсулина в ответ на поступление питательных веществ (глюкозу), подавляет секрецию глюкагона альфа-клетками поджелудочной железы, замедляет скорость опорожнения желудка и индуцирует потерю веса тела в основном за счет снижения потребления пищи. Глюкозозависимый инсулиотропный полипептид (GIP), другой известный инкретин, улучшает гликемический контроль за счет стимуляции секреции инсулина в ответ на поступление питательных веществ (жиров, глюкозы). Кроме того, GIP, по-видимому, улучшает липидный профиль плазмы крови и стимулирует накопление кальция в костях. В отличие от GLP-1 инкретиновый эффект GIP значительно снижен у пациентов с диабетом 2 типа, хотя в недавних исследованиях было показано, что эффективность GIP у таких пациентов может быть восстановлена после лечения с улучшением контроля глюкозы. Тем не менее роль GIP в регуляции системного метаболизма,

- помимо своего непосредственного влияния на эндокринную часть поджелудочной железы, остается противоречивой, поскольку, в частности, она связана с действием GIP, стимулирующим набор жировой массы у животных моделей. Такие результаты подкрепляют представление о том, что антагонизм GIPR может обеспечивать
- 5 улучшение веса тела. Таким образом, использование соединений, действующих на рецепторы GIP, и, в частности, с обеспечением либо агонизма, либо антагонизма, в качестве стратегии для улучшения веса тела остается противоречивой темой интенсивных научных исследований (Finan *et al*, TRENDS Mol Med, 2016, 22 (5): 359-376; Killion *et al*, Endo Rev, 2020, 41 (1): 1-21).
- 10 При моделировании на грызунах было показано, что аналоги GIP длительного действия обеспечивают уменьшение веса тела и улучшают гликемический контроль, хотя и сравнительно с меньшей активностью, чем аналоги GLP-1 уменьшают вес тела (Mroz *et al*, Mol Metab, 2019, 20: 51-62). Более того, аналоги GIP индуцируют потерю веса тела за счет аддитивного/синергетического действия с аналогами GLP-1 при введении двух
- 15 компонентов (Finan *et al*, Sci Transl Med, 2013, 5 (209): 209ra151; Nørregaard *et al*, Diabetes Obes Metab, 2018, 20 (1): 60-68), поэтому являются подходящими кандидатами для расширения исследования фармакологических свойств GLP-1. Агонизм GIPR может быть привлечен в качестве дублирующего партнера для обеспечения агонизма GLP-1R в качестве одномолекулярного коагониста для расширения спектра полезных
- 20 эффектов GLP-1 в отношении метаболизма, что было показано на доклинических животных моделях, в первую очередь с обеспечением потери веса тела и гликемического контроля (Finan *et al*, Sci Transl Med, 2013, 5 (209): 209ra151; Coskun *et al*, Mol Metab, 2018, 18: 3-14). Два разных пептида с высокой активностью двойного агонизма в отношении инкретиновых рецепторов были перенесены в клинические
- 25 исследования с использованием нескольких доз. Клинические результаты продемонстрировали улучшение гликемического контроля и веса тела, которые превышают такие эффекты, полученные при введении сопоставимых доз стандартных специфических агонистов GLP-1 (Frias *et al*, Cell Metab, 2017, 26 (2): 343-352; Frias *et al*, Lancet, 2018, 392 (10160): 2180-2193), демонстрируя трансляционные аспекты и
- 30 терапевтические преимущества совместного целенаправленного воздействия на рецепторы GLP-1 и GIP.

Проводили клиническое исследование с пероральной доставкой производных GLP-1 в виде приема один раз в сутки таблетки семаглутида и усилителя проницаемости *N*-[8-

(2-гидроксibenzoил)амино]каприлата натрия (SNAC) (Hedrington & Davis, Exp. Opin. Pharmacother. 2019, 20 (2): 133-141) для улучшения характерных для производных GLP-1 очень низкой концентрации в плазме крови и биологической доступности после перорального введения.

- 5 Коагонысты GLP-1/GIP и потенциальные варианты их медицинского применения описаны в нескольких патентных заявках, таких как WO 2010/011439, WO 2013/164483, WO 2014/192284, WO 2015/067715, WO 2015/022420, WO 2015/086728, WO 2015/086729, WO 2016/111971, WO 2020/023386, US 9745360, US 2014/162945 и US 2014/0357552. Патентные заявки, раскрывающие пероральную доставку
- 10 производных GLP-1, описаны, например, в WO 2011/080103, WO 2012/080471, WO 2013/189988 и WO 2019/149880.

Однако ни один из продуктов-коагоныстов еще не был утвержден для продажи на рынке.

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

- 15 Настоящее изобретение относится к одномолекулярным коагоныстам, предусматривающим пептид и заместитель, которые взаимодействуют с рецепторами GLP-1 и GIP человека с высокой эффективностью и являются подходящими для ежедневного перорального введения людям. Это достигается за счет комбинации определенных вариантов последовательностей пептидов с заместителями посредством
- 20 ацилирования в одном сайте с помощью двухосновной жирной кислоты.

Один аспект настоящего изобретения относится к пептиду, имеющему аминокислотную последовательность

YX₂EGTX₆TSDYSX₁₂X₁₃LEX₁₆QAAX₂₀X₂₁FX₂₃X₂₄WLLX₂₈GGPX₃₂X₃₃X₃₄X₃₅X₃₆X₃₇X₃₈X₃₉ (SEQ ID NO: 36)

- 25 с необязательной амидной модификацией С-конца;

где

X₂ представляет собой Aib или A,

X₆ представляет собой F или V,

X₁₂ представляет собой I или Y,

X₁₃ представляет собой Y, A, L или I,

X₁₆ представляет собой K или E,

X₂₀ представляет собой Q, R, E, H,

5 X₂₁ представляет собой A или E,

X₂₃ представляет собой I или V,

X₂₄ представляет собой E, Q или N,

X₂₈ представляет собой A или R,

X₃₂ представляет собой E, S или отсутствует,

10 X₃₃ представляет собой S, K или отсутствует,

X₃₄ представляет собой G или отсутствует,

X₃₅ представляет собой A или отсутствует,

X₃₆ представляет собой P или отсутствует,

X₃₇ представляет собой P или отсутствует,

15 X₃₈ представляет собой P или отсутствует,

X₃₉ представляет собой S или отсутствует.

В другом аспекте настоящее изобретение относится к пептиду, имеющему аминокислотную последовательность

YX₂EGTX₆TSDYSX₁₂X₁₃LEX₁₆QAAX₂₀X₂₁FX₂₃X₂₄WLLX₂₈GGPX₃₂X₃₃X₃₄X₃₅X₃₆X₃₇X₃₈X

20 ₃₉ (SEQ ID NO: 36)

с необязательной амидной модификацией С-конца, где

X₂ представляет собой Aib или A,

X₆ представляет собой F или V,

X₁₂ представляет собой I или Y,

X₁₃ представляет собой Y, A, L или I,

X₁₆ представляет собой K или E,

5 X₂₀ представляет собой Q, R, E, H,

X₂₁ представляет собой A или E,

X₂₃ представляет собой I или V,

X₂₄ представляет собой E, Q или N,

X₂₈ представляет собой A или R,

10 X₃₂ представляет собой E, S или отсутствует,

X₃₃ представляет собой S, K или отсутствует,

X₃₄ представляет собой G или отсутствует,

X₃₅ представляет собой A или отсутствует,

X₃₆ представляет собой P или отсутствует,

15 X₃₇ представляет собой P или отсутствует,

X₃₈ представляет собой P или отсутствует,

X₃₉ представляет собой S или отсутствует;

и заместитель, присоединенный к пептиду посредством лизина (K) в положении 16 или 33;

20 или его фармацевтически приемлемой соли.

Дополнительный аспект настоящего изобретения относится к способу получения коагонистов GLP-1/GIP, описанных в данном документе.

В дополнительном аспекте настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции, содержащей соединения-коагонисты GLP-1/GIP, описанные в данном документе.

5 Дополнительный аспект настоящего изобретения относится к применению в медицине коагонистов GLP-1/GIP, описанных в данном документе.

В одном аспекте настоящее изобретение относится к применению коагонистов GLP-1/GIP, описанных в данном документе для предупреждения или лечения диабета, ожирения и/или заболеваний печени.

ОПИСАНИЕ

10 Далее греческие буквы могут быть представлены посредством их символа или соответствующего рукописного названия, например, α = альфа; β = бета; ε = эпсилон; γ = гамма; ω = омега и т. д. Также греческая буква μ может быть представлена посредством «мк», например, $\mu\text{л}$ = мкл или $\mu\text{М}$ = мкМ.

Коагонист рецепторов GLP-1/GIP

15 Настоящее изобретение относится к соединениям, которые являются агонистами рецептора GLP-1 и рецептора GIP, также называемым коагонистами рецепторов GLP-1/GIP или просто коагонистами.

20 Термин «соединение», используемый в данном документе, означает химическое соединение, поэтому «соединения» могут содержать разные структурные элементы, помимо минимального элемента, определенного для каждого соединения или группы соединений. Из этого следует, что соединение может представлять собой пептид или его производное, при условии, что соединение содержит определенные структурные и/или функциональные элементы.

25 Также подразумевается, что термин «соединение» охватывает его фармацевтически подходящие формы, т. е. соединение, определенное в данном документе, или его фармацевтически приемлемые соль, амид или сложный эфир.

Термин «аналог» в общем означает пептид, последовательность которого характеризуется одним или более изменениями в аминокислотах по сравнению с

референтной аминокислотной последовательностью. «Аналог» также может включать удлинения из аминокислот в N-концевом и/или C-концевом положениях и/или усечения в N-концевом и/или C-концевом положениях.

5 Как правило, аминокислотные остатки можно определять по их полному названию, их однобуквенному коду и/или их трехбуквенному коду. Эти три способа полностью эквивалентны.

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

10 Термин «аминокислота» включает протеиногенные (или природные) аминокислоты (среди них 20 стандартных аминокислот), а также непротеиногенные (или неприродные) аминокислоты. Протеиногенными аминокислотами являются аминокислоты, которые в естественных условиях входят в состав белков.

15 Стандартными аминокислотами являются аминокислоты, кодируемые генетическим кодом. Непроотеиногенные аминокислоты либо не обнаруживаются в белках, либо не синтезируются стандартным клеточным аппаратом (например, они могут быть подвергнуты посттрансляционной модификации). Неограничивающими примерами непротеиногенных аминокислот являются Aib (α -аминоизомасляная кислота или 2-аминоизомасляная кислота), норлейцин, норвалин, а также D-изомеры протеиногенных
20 аминокислот.

Далее следует понимать, что под каждой аминокислотой в составе пептидов, для которой не указан оптический изомер, подразумевается L-изомер (если не указано иное).

25 Коагоны рецепторов GLP-1/GIP, описанные в данном документе, предусматривают определенные ниже пептид и заместитель или состоят из них. В некоторых вариантах осуществления пептид представляет собой синтетический пептид, полученный для оптимизации активности рецепторов GLP-1 и GIP. Были идентифицированы соединения, обладающие подходящей рецептор-связывающей активностью по отношению как к рецептору GLP-1, так и к рецептору GIP, что продемонстрировано в
30 примерах в данном документе.

Соединения дополнительно демонстрируют увеличенный период полувыведения, который получен за счет заместителя, содержащего группу жирной кислоты.

В некоторых вариантах осуществления карбокси-конец пептида содержит группу -COOH. В некоторых вариантах осуществления соединения необязательно могут включать амидную группу (C(=O)-NH₂) на C-конце, которая является встречающейся в природе модификацией с замещением -OH на -NH₂, такой как наблюдаемая в природном эксендине-4.

Пептид

Коагонисты рецепторов GLP-1/GIP, описанные в данном документе, предусматривают определенные ниже пептид и заместитель, в которых заместитель присоединен к пептидному остову посредством аминокислотного остатка.

В некоторых вариантах осуществления аминокислотная последовательность пептида представляет собой

YX₂EGTX₆TSDYSX₁₂X₁₃LEX₁₆QAAX₂₀X₂₁FX₂₃X₂₄WLLX₂₈GX₃₀X₃₁X₃₂X₃₃X₃₄X₃₅X₃₆X₃₇X₃₈X₃₉ (SEQ ID NO: 47)

с необязательной амидной модификацией C-конца, где

X₂ представляет собой Aib или A,

X₆ представляет собой F или V,

X₁₂ представляет собой I или Y,

20 X₁₃ представляет собой Y, A, L или I,

X₁₆ представляет собой K или E,

X₂₀ представляет собой Q, R, E, H,

X₂₁ представляет собой A или E,

X₂₃ представляет собой I или V,

25 X₂₄ представляет собой E, Q или N,

X_{28} представляет собой A или R,

X_{30} представляет собой G или отсутствует,

X_{31} представляет собой P или отсутствует,

X_{32} представляет собой E, S или отсутствует,

5 X_{33} представляет собой S, K или отсутствует,

X_{34} представляет собой G или отсутствует,

X_{35} представляет собой A или отсутствует,

X_{36} представляет собой P или отсутствует,

X_{37} представляет собой P или отсутствует,

10 X_{38} представляет собой P или отсутствует,

X_{39} представляет собой S или отсутствует.

В некоторых вариантах осуществления аминокислотная последовательность пептида представляет собой

$YX_2EGTX_6TSDYSX_{12}X_{13}LEX_{16}QAAX_{20}X_{21}FX_{23}X_{24}WLLX_{28}GGPX_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}X_{38}X$

15 $_{39}$ (SEQ ID NO: 36) с необязательной амидной модификацией C-конца;

где

X_2 представляет собой Aib или A,

X_6 представляет собой F или V,

X_{12} представляет собой I или Y,

20 X_{13} представляет собой Y, A, L или I,

X_{16} представляет собой K или E,

X_{20} представляет собой Q, R, E, H,

X_{21} представляет собой A или E,

X_{23} представляет собой I или V,

X_{24} представляет собой E, Q или N,

X_{28} представляет собой A или R,

5 X_{32} представляет собой E, S или отсутствует,

X_{33} представляет собой S, K или отсутствует,

X_{34} представляет собой G или отсутствует,

X_{35} представляет собой A или отсутствует,

X_{36} представляет собой P или отсутствует,

10 X_{37} представляет собой P или отсутствует,

X_{38} представляет собой P или отсутствует,

X_{39} представляет собой S или отсутствует.

В одном варианте осуществления X_{39} отсутствует. В одном варианте осуществления X_{38} и X_{39} отсутствуют. В одном варианте осуществления X_{37} , X_{38} и X_{39} отсутствуют. В
 15 одном варианте осуществления X_{36} , X_{37} , X_{38} и X_{39} отсутствуют. В одном варианте осуществления X_{35} , X_{36} , X_{37} , X_{38} и X_{39} отсутствуют. В одном варианте осуществления X_{34} , X_{35} , X_{36} , X_{37} , X_{38} и X_{39} отсутствуют. В одном варианте осуществления X_{33} , X_{34} , X_{35} , X_{36} , X_{37} , X_{38} и X_{39} отсутствуют. В одном варианте осуществления X_{32} , X_{33} , X_{34} , X_{35} , X_{36} , X_{37} , X_{38} и X_{39} отсутствуют. В одном варианте осуществления X_{31} , X_{32} , X_{33} , X_{34} , X_{35} , X_{36} ,
 20 X_{37} , X_{38} и X_{39} отсутствуют. В одном варианте осуществления X_{30} , X_{31} , X_{32} , X_{33} , X_{34} , X_{35} , X_{36} , X_{37} , X_{38} и X_{39} отсутствуют. В таких дополнительных вариантах осуществления $X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}$ представляет собой SSGA. В таких дополнительных вариантах осуществления $X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}$ представляет собой ESGA. В таких дополнительных вариантах осуществления $X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}$ представляет собой SKGA. В его
 25 дополнительном варианте осуществления пептид характеризуется амидной модификацией C-конца.

В одном варианте осуществления аминокислотная последовательность пептида представляет собой

$YX_2EGTX_6TSDYSX_{12}X_{13}LEX_{16}QAAX_{20}X_{21}FX_{23}X_{24}WLLX_{28}GGPSSGAPPPS$ (SEQ ID NO: 37),

5 где

X_2 представляет собой Aib или A,

X_6 представляет собой F или V,

X_{12} представляет собой I или Y,

X_{13} представляет собой Y, A, L или I,

10 X_{16} представляет собой K или E,

X_{20} представляет собой Q, R, E, H,

X_{21} представляет собой A или E,

X_{23} представляет собой I или V,

X_{24} представляет собой E, Q или N,

15 X_{28} представляет собой A или R.

В одном варианте осуществления аминокислотная последовательность пептида представляет собой

$YX_2EGTX_6TSDYSX_{12}X_{13}LEX_{16}QAAX_{20}X_{21}FX_{23}X_{24}WLLX_{28}GGPESGAPPPS$ (SEQ ID NO: 38),

20 где

X_2 представляет собой Aib или A,

X_6 представляет собой F или V,

X_{12} представляет собой I или Y,

X_{13} представляет собой Y, A, L или I,

X_{16} представляет собой K или E,

X_{20} представляет собой Q, R, E, H,

X_{21} представляет собой A или E,

5 X_{23} представляет собой I или V,

X_{24} представляет собой E, Q или N,

X_{28} представляет собой A или R.

В одном варианте осуществления аминокислотная последовательность пептида представляет собой

10 $YX_2EGTX_6TSDYSX_{12}X_{13}LEX_{16}QAAX_{20}X_{21}FX_{23}X_{24}WLLX_{28}GGPSKГAPPPS$ (SEQ ID NO: 39),

где

X_2 представляет собой Aib или A,

X_6 представляет собой F или V,

15 X_{12} представляет собой I или Y,

X_{13} представляет собой Y, A, L или I,

X_{16} представляет собой K или E,

X_{20} представляет собой Q, R, E, H,

X_{21} представляет собой A или E,

20 X_{23} представляет собой I или V,

X_{24} представляет собой E, Q или N,

X_{28} представляет собой A или R.

В одном варианте осуществления X_2 представляет собой Aib. В одном варианте осуществления X_2 представляет собой A. В одном варианте осуществления X_6 представляет собой F. В одном варианте осуществления X_6 представляет собой V. В одном варианте осуществления X_{12} представляет собой I. В одном варианте осуществления X_{12} представляет собой Y. В одном варианте осуществления X_{13} представляет собой Y. В одном варианте осуществления X_{13} представляет собой A. В одном варианте осуществления X_{13} представляет собой L. В одном варианте осуществления X_{13} представляет собой I. В одном варианте осуществления X_{16} представляет собой K. В одном варианте осуществления X_{16} представляет собой E. В одном варианте осуществления X_{20} представляет собой Q. В одном варианте осуществления X_{20} представляет собой R. В одном варианте осуществления X_{20} представляет собой E. В одном варианте осуществления X_{20} представляет собой H. В одном варианте осуществления X_{21} представляет собой A. В одном варианте осуществления X_{21} представляет собой E. В одном варианте осуществления X_{23} представляет собой I. В одном варианте осуществления X_{23} представляет собой V. В одном варианте осуществления X_{24} представляет собой E. В одном варианте осуществления X_{24} представляет собой Q. В одном варианте осуществления X_{24} представляет собой N. В одном варианте осуществления X_{28} представляет собой A. В одном варианте осуществления X_{28} представляет собой R. В одном варианте осуществления X_{30} представляет собой G. В одном варианте осуществления X_{31} представляет собой P.

В одном варианте осуществления $X_{13}LEX_{16}QAAX_{20}X_{21}FX_{23}X_{24}$ выбран из группы, состоящей из LLEKQAAREFIN, LLEKQAAREFIE, LLEKQAAQEFIE и LLEEQAAREFIE. В одном варианте осуществления $X_{13}LEX_{16}QAAX_{20}X_{21}FX_{23}X_{24}$ представляет собой LLEKQAAREFIN. В одном варианте осуществления $X_{13}LEX_{16}QAAX_{20}X_{21}FX_{23}X_{24}$ представляет собой LLEKQAAREFIE. В одном варианте осуществления $X_{13}LEX_{16}QAAX_{20}X_{21}FX_{23}X_{24}$ представляет собой LLEKQAAQEFIE. В одном варианте осуществления $X_{13}LEX_{16}QAAX_{20}X_{21}FX_{23}X_{24}$ представляет собой LLEEQAAREFIE.

В дополнительном варианте осуществления аминокислотная последовательность пептида представляет собой любую из SEQ ID NO: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 33, 34 и 35.

В одном варианте осуществления аминокислотная последовательность пептида представляет собой любую из SEQ ID NO: 10, 22 или 25.

В одном варианте осуществления аминокислотная последовательность пептида представляет собой последовательность под SEQ ID NO.: 25.

5 В одном варианте осуществления аминокислотная последовательность пептида представляет собой любую из SEQ ID NO: 18, 20, 23, 24.

В одном варианте осуществления аминокислотная последовательность пептида представляет собой последовательность под SEQ ID NO.: 33, 34 или 35.

10 В таких дополнительных вариантах осуществления пептид характеризуется амидной модификацией С-конца.

Производные

В некоторых вариантах осуществления агонисты рецепторов GLP-1 и GIP содержат определенный ниже заместитель, ковалентно связанный с пептидом, или состоят из него.

15 Такие соединения можно называть производными пептида, поскольку их получают путем ковалентного связывания заместителя с пептидным остовом.

Один аспект настоящего изобретения относится к соединению, содержащему пептид и заместитель, где аминокислотная последовательность пептида представляет собой

20 $YX_2EGTX_6TSDYSX_{12}X_{13}LEX_{16}QAAX_{20}X_{21}FX_{23}X_{24}WLLX_{28}GX_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}X_{38}X_{39}$ (SEQ ID NO: 47)

с необязательной амидной модификацией С-конца, где

X_2 представляет собой Aib или A,

X_6 представляет собой F или V,

X_{12} представляет собой I или Y,

25 X_{13} представляет собой Y, A, L или I,

X₁₆ представляет собой К или Е,

X₂₀ представляет собой Q, R, Е, Н,

X₂₁ представляет собой А или Е,

X₂₃ представляет собой I или V,

5 X₂₄ представляет собой Е, Q или N,

X₂₈ представляет собой А или R,

X₃₀ представляет собой G или отсутствует,

X₃₁ представляет собой Р или отсутствует,

X₃₂ представляет собой Е, S или отсутствует,

10 X₃₃ представляет собой S, К или отсутствует,

X₃₄ представляет собой G или отсутствует,

X₃₅ представляет собой А или отсутствует,

X₃₆ представляет собой Р или отсутствует,

X₃₇ представляет собой Р или отсутствует,

15 X₃₈ представляет собой Р или отсутствует,

X₃₉ представляет собой S или отсутствует;

и где заместитель присоединен к пептиду посредством лизина (К) в положении 16 или 33;

или его фармацевтически приемлемой соли.

20 Один вариант осуществления настоящего изобретения относится к соединению, предусматривающему пептид и заместитель, где аминокислотная последовательность пептида представляет собой

YX₂EGTX₆TSDYSX₁₂X₁₃LEX₁₆QAAX₂₀X₂₁FX₂₃X₂₄WLLX₂₈GGPX₃₂X₃₃X₃₄X₃₅X₃₆X₃₇X₃₈X₃₉ (SEQ ID NO: 36)

с необязательной амидной модификацией С-конца, где

X₂ представляет собой Aib или A,

5 X₆ представляет собой F или V,

X₁₂ представляет собой I или Y,

X₁₃ представляет собой Y, A, L или I,

X₁₆ представляет собой K или E,

X₂₀ представляет собой Q, R, E, H,

10 X₂₁ представляет собой A или E,

X₂₃ представляет собой I или V,

X₂₄ представляет собой E, Q или N,

X₂₈ представляет собой A или R,

X₃₂ представляет собой E, S или отсутствует,

15 X₃₃ представляет собой S, K или отсутствует,

X₃₄ представляет собой G или отсутствует,

X₃₅ представляет собой A или отсутствует,

X₃₆ представляет собой P или отсутствует,

X₃₇ представляет собой P или отсутствует,

20 X₃₈ представляет собой P или отсутствует,

X₃₉ представляет собой S или отсутствует;

и где заместитель присоединен к пептиду посредством лизина (К) в положении 16 или 33;

или его фармацевтически приемлемой соли.

5 В дополнительных вариантах осуществления пептид может быть определен так, как описанный в данном документе выше.

Заместитель

В одном варианте осуществления описанные в данном документе заместители присоединены к описанному в данном документе пептиду посредством лизинового (К) остатка в положении 16 или 33.

10 В одном варианте осуществления заместитель присоединен к пептиду посредством эpsilon-аминогруппы лизина (К), если указанный лизин включен в положении 16 или 33.

15 В одном варианте осуществления заместитель представляет собой химическую структуру, ковалентно присоединенную к пептиду, которая способна образовывать нековалентные комплексы с плазменным альбумином, за счет чего обеспечивается циркуляция коагониста в кровотоке, а также эффект пролонгирования времени действия коагониста вследствие того, что комплекс коагониста и альбумина медленно выводится только посредством почечного клиренса.

20 В одном варианте осуществления заместитель содержит группу жирной кислоты. В таком варианте осуществления группа жирной кислоты содержит углеродную цепь, которая содержит по меньшей мере 8 последовательных групп $-CH_2-$. В одном варианте осуществления группа жирной кислоты содержит по меньшей мере 10 последовательных групп $-CH_2-$, как, например, по меньшей мере 12 последовательных групп $-CH_2-$, по меньшей мере 14 последовательных групп $-CH_2-$, по меньшей мере 16
25 последовательных групп $-CH_2-$ или как, например, по меньшей мере 18 последовательных групп $-CH_2-$.

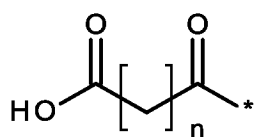
В одном варианте осуществления группа жирной кислоты содержит 8–20 последовательных групп $-CH_2-$. В одном варианте осуществления группа жирной кислоты содержит 10–18 последовательных групп $-CH_2-$. В одном варианте

осуществления группа жирной кислоты содержит 12–18 последовательных групп –CH₂- . В одном варианте осуществления группа жирной кислоты содержит 14–18 последовательных групп –CH₂-.

5 В некоторых вариантах осуществления заместитель состоит из нескольких элементов, таких как пролонгирующий элемент и один или более линкерных элементов. В одном варианте осуществления термин «пролонгирующее средство» используют для описания группы жирной кислоты, которая является концевой частью заместителя, отвечающей за удлинение периода полувыведения соединения.

10 В одном варианте осуществления пролонгирующее средство (Prot) может быть определено под

Chem. 1: HOOC-(CH₂)_n-CO-*, где n представляет собой целое число в диапазоне 8–20, которое также может обозначать двухосновную C(n+2)-кислоту, или как

Chem. 1b:  , где n представляет собой целое число в диапазоне 8–20.

15 В одном варианте осуществления заместитель дополнительно содержит один или более линкерных элементов. В некоторых вариантах осуществления линкерные элементы связаны друг с другом и пролонгирующим средством посредством амидных связей и обозначаются как «Z» (см. дополнительно ниже).

20 Как дополнительно определено в данном документе ниже, количество линкерных элементов может составлять не более 3, обозначаемых -Z1-Z2-Z3-, где Z1 связан с пролонгирующим средством (Prot), и последний элемент Z связан с пептидом, при этом в данном случае заместитель может обозначаться как Prot-Z1-Z2-Z3-. Таким образом, символ * выше указывает на точку присоединения к Z1, которая в случае соединения амидной связью представляет собой атом азота. В одном варианте осуществления, где
25 Z1 представляет собой связь (см. ниже), символ * указывает на точку присоединения к атому азота соседнего элемента Z.

В одном варианте осуществления заместитель определен под Prot-Z1-Z2-Z3-, где Prot- выбран из Chem. 1, Chem. 1b, и где n представляет собой целое число в диапазоне 16–20.

5 В конкретном варианте осуществления в Chem. 1 или Chem. 1b n равняется 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20.

В конкретном варианте осуществления в Chem. 1 или Chem. 1b n равняется 14, 15, 16, 17 или 18.

В конкретном варианте осуществления в Chem. 1 или Chem. 1b n равняется 14, 16 или 18.

10 В конкретном варианте осуществления в Chem. 1 или Chem. 1b n равняется 16, 17, 18, 19 или 20.

В конкретном варианте осуществления в Chem. 1 или Chem. 1b n равняется 16, 18 или 20.

В конкретном варианте осуществления в Chem. 1 или Chem. 1b n равняется 18 или 20.

15 В конкретном варианте осуществления пролонгирующее средство (Prot) представляет собой двухосновную C16-кислоту или двухосновную C18-кислоту.

В конкретном варианте осуществления пролонгирующее средство (Prot) представляет собой двухосновную C18-кислоту или двухосновную C20-кислоту.

20 В конкретном варианте осуществления пролонгирующее средство (Prot) представляет собой двухосновную C16-, C18-кислоту или двухосновную C20-кислоту.

Используемый в данном документе термин «связь» означает ковалентную связь. Если линкерный элемент Z1-Z3 определен как связь, это равносильно ситуации, когда указанный линкерный элемент отсутствует. Указание в данном документе ниже того, что любой из Z1 – Z3 представляет собой связь, также может быть прочитано как
25 любой из Z1 – Z3 отсутствует, то есть предыдущий элемент Z ковалентно связан с следующим элементом Z, который не является «связью» (или отсутствует).

В некоторых вариантах осуществления линкерные элементы Z1 – Z3 по отдельности выбраны из химических фрагментов, способных к образованию амидных связей, включая подобные аминокислотам фрагменты, такие как Glu, γ Glu (также называемые гамма-Glu или γ Glu и определенные как $^*-\text{NH}-\text{CH}(\text{COOH})-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CO}-^*$), ϵ -Lys (также называемый эпсилон-Lys или ϵ Lys и определенный как $^*-\text{NH}-(\text{CH}_2)_4-\text{CH}(\text{NH}_2)-\text{CO}-^*$), Ser, Ala, Thr, Ado, Aeer и Aeeer и дополнительные фрагменты, описанные ниже.

В одном варианте осуществления Z1 выбран из γ Glu, Glu или связи.

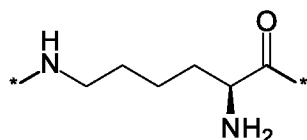
В одном варианте осуществления Z1 представляет собой γ Glu.

В одном варианте осуществления Z2 и Z3 независимо друг от друга выбраны из Glu, ϵ -Lys, γ Glu, Gly, Ser, Ala, Thr, Ado, Aeer, Aeeer и связи.

Glu, Gly, Ser, Ala, Thr представляют собой аминокислотные остатки, хорошо известные из уровня техники.

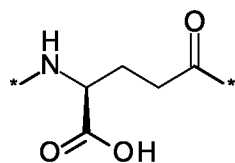
ϵ -Lys определен под Chem. 2: $^*-\text{NH}-(\text{CH}_2)_4-\text{CH}(\text{NH}_2)-\text{CO}-^*$, который также может быть описан под

15 Chem. 2b:

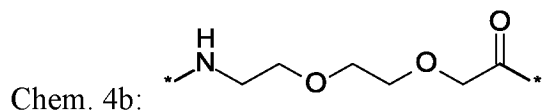


γ Glu определен под Chem. 3: $^*-\text{NH}-\text{CH}(\text{COOH})-(\text{CH}_2)_2-\text{CO}-^*$, который также может быть описан под

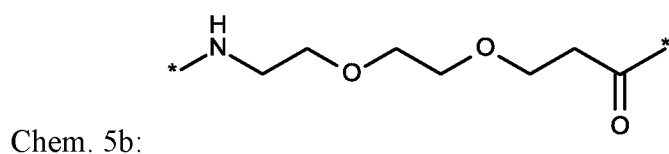
Chem. 3b:



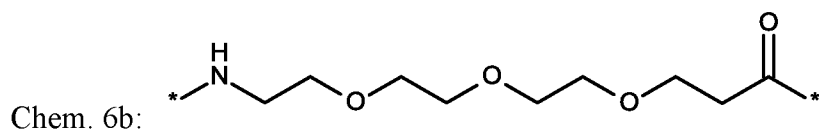
Ado определен под Chem. 4: $^*\text{-NH-(CH}_2)_2\text{-O-(CH}_2)_2\text{-O-CH}_2\text{-CO-}^*$, который также может обозначаться как 8-амино-3,6-диоксаоктановая кислота и который также может быть описан под



5 Аеер определен под Chem. 5: $^*\text{NH-CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CO}^*$, который также может быть описан под



10 Аееер определен как Chem. 6: $^*\text{NH-CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CO}^*$, который также может быть описан под



В одном варианте осуществления Z2 и Z3 независимо друг от друга выбраны из Glu, ε-Lys, γGlu, Gly, Ala, Ado, Аеер, Аееер и связи.

15 В одном варианте осуществления Z2 и Z3 независимо друг от друга выбраны из Glu, ε-Lys, γGlu, Gly, Ala, Ado и связи.

В одном варианте осуществления Z2 и Z3 независимо друг от друга выбраны из Glu, ε-Lys, γGlu, Gly, Ado и связи.

В одном варианте осуществления Z2 и Z3 независимо друг от друга выбраны из ε-Lys, γGlu, Gly, Ado и связи.

20 В одном варианте осуществления Z2 и Z3 независимо друг от друга выбраны из ε-Lys, γGlu, Ado и связи.

В одном варианте осуществления Z2 и Z3 представляют собой ϵ -Lys или Ado.

В одном варианте осуществления Z2 и Z3 представляют собой Ado.

В одном варианте осуществления Z2 и Z3 представляют собой ϵ -Lys.

В одном варианте осуществления заместитель выбран из заместителей A, B, C, D и E, определенных ниже.

В одном варианте осуществления заместитель выбран из заместителей A, B и C, определенных следующим образом:

Заместитель #	Prot	Z1	Z2	Z3
A	Двухосновная C18-кислота	γ Glu	Ado	Ado
B	Двухосновная C18-кислота	γ Glu	ϵ Lys	ϵ Lys
C	Двухосновная C20-кислота	γ Glu	ϵ Lys	ϵ Lys
D	Двухосновная C16-кислота	γ Glu	Ado	Ado
E	Двухосновная C16-кислота	γ Glu	ϵ Lys	ϵ Lys

В некоторых вариантах осуществления заместитель ковалентно присоединен к лизиновому остатку коагониста за счет ацилирования, т. е. посредством амидной связи, образованной между группой карбоновой кислоты заместителя и эpsilon-аминогруппой лизинового остатка.

В одном варианте осуществления заместитель ковалентно присоединен к лизиновому остатку в положении 16 пептидного остова путем ацилирования, т. е. посредством амидной связи, образованной между группой карбоновой кислоты заместителя и эpsilon-аминогруппой лизинового остатка.

В одном варианте осуществления заместитель ковалентно присоединен к лизиновому остатку в положении 33 пептидного остова путем ацилирования, т. е. посредством

амидной связи, образованной между группой карбоновой кислоты заместителя и эпсилон-аминогруппой лизинового остатка.

Коагонисты могут существовать в разных стереоизомерных формах, имеющих одинаковую молекулярную формулу и последовательность связанных атомов, но отличающихся только трехмерной ориентацией их атомов в пространстве. Стереои́зомерия приведенных в качестве примера коагонистов указана в экспериментальном разделе в названиях, а также в структурах с использованием стандартной номенклатуры. Если не указано иное, настоящее изобретение относится ко всем стереоизомерным формам изложенного производного.

10 Функциональная активность, представляющая собой активацию рецепторов

Функциональная активность агонистов рецепторов GLP-1/GIP, описанных в данном документе, может быть протестирована *in vitro*, как это описано в данном документе в примере 2.

Термин «полумаксимальная эффективная концентрация (EC_{50})» в общем означает концентрацию, которая индуцирует ответ, находящийся посередине между исходным уровнем и максимальным ответом, исходя из кривой зависимости доза-ответ. EC_{50} используют в качестве меры эффективности соединения, и она представляет собой концентрацию, при которой наблюдается 50% от его максимального эффекта.

Таким образом, эффективность соединений *in vitro* можно определять так, как это описано в данном документе, и определять EC_{50} . Чем ниже значение EC_{50} , тем выше эффективность.

Для определения характеристик таких соединений может быть целесообразным дополнительно рассмотреть значения эффективности *in vitro* относительно нативных гормонов для каждого рецептора.

Эффективность *in vitro* можно определять, например, в среде, содержащей мембраны, экспрессирующие соответствующий рецептор GLP-1 и/или GIP, и/или в анализе с использованием цельных клеток, экспрессирующих соответствующий рецептор GLP-1 и/или GIP.

Например, функциональный ответ рецептора GLP-1 и/или GIP человека можно измерять в анализе с репортерным геном, например, в стабильно трансфицированной клеточной линии ВНК, которая экспрессирует рецептор GLP-1 и/или GIP человека и содержит ДНК, кодирующую сАМР-зависимый элемент (CRE), соединенный с промотором, и ген, кодирующий люциферазу светлячка (CRE-люциферазу). Когда продуцируется сАМР в результате активации рецептора GLP-1 и/или GIP, это в свою очередь приводит к экспрессии люциферазы. Люциферазу можно определить путем добавления люциферина, который под действием фермента превращается в оксилуциферин и индуцирует биолуминесценцию, которую измеряют в качестве репортера эффективности *in vitro*. Один пример такого анализа описан в примере 2, описанном в данном документе. Поскольку соединения могут включать заместитель, сконструированный для связывания альбумина, также важно отметить, что на рецепторную активность может влиять присутствие или отсутствие сывороточного альбумина человека (HSA) в среде для анализа. Снижение эффективности соединения в присутствии HSA, на что указывает повышение EC_{50} по сравнению с EC_{50} в отсутствие HSA, указывает на взаимодействие соединений с HSA и определяет профиль длительного действия *in vivo*.

В одном варианте осуществления соединения обладают сильными эффектами *in vitro*, представляющими собой активацию рецепторов GLP-1 и GIP человека.

В одном варианте осуществления соединения способны к активации рецепторов GLP-1 и GIP человека *in vitro* с EC_{50} менее 20 пМ согласно репортерным анализам на основе CRE-люциферазы, описанным в примере 2 в данном документе, при проведении без HSA.

В одном варианте осуществления соединения обладают эффективностью *in vitro* в отношении рецепторов GLP-1 и GIP человека, определенной с применением способа из примера 2, соответствующей EC_{50} на уровне 100 пМ или ниже, более предпочтительно ниже 50 пМ или наиболее предпочтительно ниже 20 пМ.

В одном варианте осуществления EC_{50} в анализах активации рецепторов GLP-1 и GIP человека в обоих случаях составляет 1–25 пМ, как, например, 1–20 пМ, как, например, 1–15 пМ или как, например, 1–10 пМ.

Фармакокинетические свойства

Фармакокинетические свойства соединений-коагонистов дополнительно могут быть определены *in vivo* с помощью фармакокинетических (РК) исследований. Для определения таких характеристик можно использовать животные модели, такие как мышь, крыса, обезьяна, собака или свинья.

При таких исследованиях животным обычно вводят однократную дозу лекарственного средства либо внутривенно (в/в), либо подкожно (п/к), либо перорально (п/о) в соответствующем составе. Образцы крови отбирают в заранее определенные моменты времени после введения доз, и образцы анализируют в отношении концентрации лекарственного средства с помощью соответствующего количественного анализа. На основании этих измерений профили зависимости концентрации в плазме крови от времени для исследуемого соединения наносят на график и выполняют так называемый некомпартментный фармакокинетический анализ данных. Важным параметром является конечный период полувыведения, поскольку длинный период полувыведения указывает на то, что может быть возможным менее частое введение соединения. Конечный период полувыведения ($t_{1/2}$) *in vivo* можно измерять с применением подходящей модели, как, например, после в/в введения карликовым свиньям, как описано в примере 3; или после п/о введения собакам, как описано в примере 4.

В одном варианте осуществления конечный период полувыведения представляет собой период полувыведения ($t_{1/2}$) *in vivo* в организме карликовых свиней после в/в введения, например, как описано в примере 3 в данном документе.

В одном варианте осуществления конечный период полувыведения в организме карликовых свиней составляет по меньшей мере 24 часа, как, например, по меньшей мере 30 часов или как, например, по меньшей мере 40 часов.

В одном варианте осуществления конечный период полувыведения представляет собой период полувыведения ($t_{1/2}$) *in vivo* в организме собак после п/о введения, например, как описано в примере 4 в данном документе.

В одном варианте осуществления конечный период полувыведения в организме собак составляет по меньшей мере 24 часа, как, например, по меньшей мере 40 часов или как, например, по меньшей мере 50 часов.

Фармацевтически приемлемые соли

- В некоторых вариантах осуществления коагонисты, описанные в данном документе, представлены в виде фармацевтически приемлемой соли. Соли, например, образуют путем химической реакции между основанием и кислотой, например: $2\text{NH}_3 + \text{H}_2\text{SO}_4 \rightarrow$
- 5 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Соль может быть основной солью, кислой солью или может быть ни тем, ни другим (т. е. нейтральной солью). Основные соли образуют гидроксид-ионы и ионы гидроксония в солях кислот в воде. Соли коагонистов могут быть образованы с добавлением катионов или анионов в реакции с анионными или катионными группами соответственно. Такие группы могут находиться в пептиде и/или в заместителе
- 10 производных. Неограничивающие примеры анионных групп включают любые свободные группы карбоновых кислот в заместителе, если он присутствует, а также в пептиде. Пептид может включать свободную группу карбоновой кислоты на С-конце, если он присутствует, а также любую свободную группу карбоновой кислоты при внутренних кислых аминокислотных остатках, таких как Asp и Glu.
- 15 Неограничивающие примеры катионных групп включают любые свободные аминогруппы в заместителе, если он присутствует, а также в пептиде. Пептид может включать свободную аминогруппу на N-конце, если он присутствует, а также любую свободную имидазольную или аминогруппу при внутренних основных аминокислотных остатках, таких как His, Arg и Lys.
- 20 В конкретном варианте осуществления пептид или производное представлены в форме фармацевтически приемлемой соли.

Способы получения

- Коагонисты можно получать, например, путем классического синтеза пептидов, например твердофазного синтеза пептидов с использованием защитных групп t-Boc
- 25 или Fmoc, или других хорошо известных методик, см., например, Greene and Wuts, «Protective Groups in Organic Synthesis», John Wiley & Sons, 1999; Florencio Zaragoza Dörwald, «Organic Synthesis on Solid Phase», Wiley-VCH Verlag GmbH, 2000 и «Fmoc Solid Phase Peptide Synthesis», Edited by W.C. Chan and P.D. White, Oxford University Press, 2000.

В качестве альтернативы соединения можно получать посредством рекомбинантных способов, например, путем культивирования клетки-хозяина, содержащей последовательность ДНК, кодирующую последовательность пептида, и способной экспрессировать пептид в подходящей питательной среде в условиях, обеспечивающих экспрессию пептида. Неограничивающие примеры клеток-хозяев, подходящих для экспрессии этих пептидов, представляют собой *Escherichia coli*, *Saccharomyces cerevisiae*, а также линии клеток млекопитающих ВНК или СНО.

Коагонысты, которые включают неприродные аминокислоты и/или ковалентно присоединенные заместители, можно получать так, как это описано в экспериментальной части.

Конкретные примеры способов получения ряда коагоныстов включены в экспериментальную часть.

Дополнительный аспект настоящего изобретения относится к способу получения пептидов, описанных в данном документе.

Дополнительный аспект настоящего изобретения относится к способу получения коагоныстов GLP-1/GIP, описанных в данном документе.

В одном варианте осуществления способ получения соединения, описанный в данном документе, включает стадию твердофазного синтеза пептидов. Заместитель может быть встроен последовательно в ходе твердофазного синтеза пептидов или получен отдельно и присоединен посредством лизинового остатка после синтеза пептида.

В одном варианте осуществления соединения получают посредством двухстадийного способа, в котором два пептидных фрагмента лигируют после присоединения заместителя к одному из пептидных фрагментов.

Фармацевтические композиции

В дополнительном аспекте настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции, содержащей коагоныст рецепторов GLP-1/GIP, описанный в данном документе. Композиции, содержащие соединение или его фармацевтически приемлемую соль и необязательно одно или более фармацевтически приемлемых

вспомогательных веществ, можно получать согласно способам, известным из уровня техники.

Термин «вспомогательное вещество» в широком смысле означает любой компонент, отличный от активного(активных) терапевтического(терапевтических) ингредиента(ингредиентов). 5
Вспомогательное вещество может представлять собой инертное вещество, неактивное вещество и/или вещество, неактивное в плане терапии. Вспомогательное вещество может служить для различных целей, например, в качестве носителя, среды-носителя, наполнителя, связующего, смазывающего средства, вещества, способствующего скольжению, разрыхлителя, средства для контроля 10
текучести, ингибитора кристаллизации, солюбилизатора, стабилизатора, красящего средства, ароматизатора, поверхностно-активного вещества, эмульгатора или их комбинации, и/или для улучшения введения, и/или для улучшения всасывания активного вещества. Количество каждого используемого вспомогательного вещества может варьироваться в диапазонах, типичных для данной области техники. Методики и 15
вспомогательные вещества, которые можно применять для составления лекарственных форм для перорального введения, описаны в Handbook of Pharmaceutical Excipients (например, 8^е издание, Sheskey et al., Eds., American Pharmaceuticals Association and Pharmaceutical Press, publications department of the Royal Pharmaceutical Society of Great Britain (2017) и любые более поздние издания) и Remington: The Science and Practice of 20
Pharmacy (например, 22-е издание, Remington and Allen, Eds., Pharmaceutical Press (2013), и любые более поздние издания).

В одном варианте осуществления фармацевтическая композиция может представлять собой твердый состав, например, лиофилизированную или высушенную распылением композицию, который можно применять в таком виде, как он есть, или к которому врач 25
или пациент перед применением добавляют растворители и/или разбавители. В дополнительном варианте осуществления фармацевтическая композиция может представлять собой твердый состав, состоящий из активного ингредиента, соли *N*-[8-(2-гидроксibenзоил)амино]каприлата и одного или более дополнительных вспомогательных веществ, известных из уровня техники, например при применении 30
любого одного или более составов, описанных в WO 2012/080471, WO 2013/189988 или WO 2019/149880.

В качестве альтернативы фармацевтическая композиция представляет собой жидкий состав, такой как водный состав. Жидкие композиции, подходящие для инъекционного введения, можно получать с применением методик, общепринятых для фармацевтической промышленности, которые включают растворение и смешивание подходящих ингредиентов с получением требуемого конечного продукта. Таким образом, в соответствии с одной процедурой коагонист GLP-1/GIP, описанный в данном документе, растворяют в подходящем буфере при подходящем значении pH. Композицию можно стерилизовать, например, посредством стерилизующей фильтрации.

10 Фармацевтические показания для применения

Дополнительный аспект настоящего изобретения относится к применению соединений-коагонистов рецепторов GLP-1/GIP, описанных в данном документе, в качестве лекарственного препарата.

В одном варианте осуществления соединения, описанные в данном документе, предназначены для применения в следующих видах терапевтического лечения:

- (i) предупреждения и/или лечения всех форм диабета, таких как гипергликемия, диабет 2 типа, нарушенная толерантность к глюкозе, диабет 1 типа, инсулинонезависимый диабет, MODY (диабет зрелого типа у молодых), гестационный диабет и/или снижение уровня HbA1C;
- (ii) задержки или предупреждения прогрессирования диабетического заболевания, как, например, прогрессирования диабета 2 типа, задержки прогрессирования нарушенной толерантности к глюкозе (IGT) до диабета 2 типа, требующего введения инсулина, задержки или предупреждения инсулинорезистентности и/или задержки прогрессирования диабета 2 типа, не требующего введения инсулина, до диабета 2 типа, требующего введения инсулина;
- (iii) предупреждения и/или лечения нарушений потребления пищи, таких как ожирение, например, путем уменьшения потребления пищи, снижения веса тела, подавления аппетита, вызывания чувства насыщения; лечения или предупреждения компульсивного переизбытка, нервной булимии и/или ожирения, вызванного введением антипсихотического или стероидного средства; снижения перистальтики желудка;

задержки опорожнения желудка; повышения физической подвижности и/или предупреждения и/или лечения сопутствующих ожирению патологий, таких как остеоартрит и/или недержание мочи;

5 (iv) поддержания веса после успешной потери веса (вызванной лекарственными средствами или диетой и физическими упражнениями), т. е. предупреждения увеличения веса после успешной потери веса;

(v) предупреждения и/или лечения нарушений печени, таких как стеатоз печени, неалкогольная жировая болезнь печени (NAFLD), неалкогольный стеатогепатит (NASH), воспаление печени или жировая инфильтрация печени.

10 В одном варианте осуществления соединения предназначены для применения в способе предупреждения и/или лечения диабета и/или ожирения.

В одном варианте осуществления соединения предназначены для применения в способе лечения диабета и/или ожирения.

15 В одном варианте осуществления соединения предназначены для применения в способе лечения или предупреждения диабета 2 типа.

В одном варианте осуществления соединения предназначены для применения в способе лечения диабета 2 типа.

В одном варианте осуществления соединения предназначены для применения в способе лечения или предупреждения ожирения.

20 В одном варианте осуществления соединения предназначены для применения в способе лечения ожирения.

В одном варианте осуществления соединения предназначены для применения в способе коррекции веса. В одном варианте осуществления соединения предназначены для применения в способе снижения аппетита. В одном варианте осуществления соединения предназначены для применения в способе снижения потребления пищи.

25

ВАРИАНТЫ ОСУЩЕСТВЛЕНИЯ

1. Соединение, предусматривающее пептид и заместитель, где аминокислотная последовательность пептида представляет собой

$YX_2EGTX_6TSDYSX_{12}X_{13}LEX_{16}QAAX_{20}X_{21}FX_{23}X_{24}WLLX_{28}GX_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}X_{38}X_{39}$ (SEQ ID NO: 47)

5

с необязательной амидной модификацией С-конца, где

X_2 представляет собой Aib или A,

X_6 представляет собой F или V,

X_{12} представляет собой I или Y,

10 X_{13} представляет собой Y, A, L или I,

X_{16} представляет собой K или E,

X_{20} представляет собой Q, R, E, H,

X_{21} представляет собой A или E,

X_{23} представляет собой I или V,

15 X_{24} представляет собой E, Q или N,

X_{28} представляет собой A или R,

X_{30} представляет собой G или отсутствует,

X_{31} представляет собой P или отсутствует,

X_{32} представляет собой E, S или отсутствует,

20 X_{33} представляет собой S, K или отсутствует,

X_{34} представляет собой G или отсутствует,

X_{35} представляет собой A или отсутствует,

X₃₆ представляет собой Р или отсутствует,

X₃₇ представляет собой Р или отсутствует,

X₃₈ представляет собой Р или отсутствует,

X₃₉ представляет собой S или отсутствует;

5 и где заместитель присоединен к пептиду посредством лизина (K) в положении 16 или 33;

или его фармацевтически приемлемая соль.

2. Соединение в соответствии с вариантом осуществления 1, предусматривающее пептид и заместитель, где аминокислотная последовательность пептида представляет собой

YX₂EGTX₆TSDYSX₁₂X₁₃LEX₁₆QAAX₂₀X₂₁FX₂₃X₂₄WLLX₂₈GGPX₃₂X₃₃X₃₄X₃₅X₃₆X₃₇X₃₈X₃₉ (SEQ ID NO: 36)

с необязательной амидной модификацией С-конца, где

X₂ представляет собой Aib или A,

15 X₆ представляет собой F или V,

X₁₂ представляет собой I или Y,

X₁₃ представляет собой Y, A, L или I,

X₁₆ представляет собой K или E,

X₂₀ представляет собой Q, R, E, H,

20 X₂₁ представляет собой A или E,

X₂₃ представляет собой I или V,

X₂₄ представляет собой E, Q или N,

X₂₈ представляет собой A или R,

X_{32} представляет собой E, S или отсутствует,

X_{33} представляет собой S, K или отсутствует,

X_{34} представляет собой G или отсутствует,

X_{35} представляет собой A или отсутствует,

5 X_{36} представляет собой P или отсутствует,

X_{37} представляет собой P или отсутствует,

X_{38} представляет собой P или отсутствует,

X_{39} представляет собой S или отсутствует;

и где заместитель присоединен к пептиду посредством лизина (K) в положении 16 или
10 33;

или его фармацевтически приемлемая соль.

3. Соединение в соответствии с вариантом осуществления 1, где X_{36} , X_{37} , X_{38} и X_{39} отсутствуют.

4. Соединение в соответствии с вариантом осуществления 1, где X_{34} , X_{35} , X_{36} , X_{37} ,
15 X_{38} и X_{39} отсутствуют.

5. Соединение в соответствии с вариантом осуществления 1, где X_{32} , X_{33} , X_{34} , X_{35} ,
 X_{36} , X_{37} , X_{38} и X_{39} отсутствуют.

6. Соединение в соответствии с вариантом осуществления 1, где X_{30} , X_{31} , X_{32} , X_{33} ,
 X_{34} , X_{35} , X_{36} , X_{37} , X_{38} и X_{39} отсутствуют.

20 7. Соединение в соответствии с любым из вариантов осуществления 1–6, где пептид характеризуется амидной модификацией C-конца.

8. Соединение в соответствии с любым из предыдущих вариантов осуществления 1, 2 или 7, где $X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}$ выбран из группы, состоящей из SSGA, ESGA и SKGA.

9. Соединение в соответствии с любым из предыдущих вариантов осуществления 1, 2 или 7, где $X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}$ представляет собой SSGA.

10. Соединение в соответствии с любым из предыдущих вариантов осуществления 1, 2 или 7, где $X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}$ представляет собой ESGA.

5 11. Соединение в соответствии с любым из предыдущих вариантов осуществления 1, 2 или 7, где $X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}$ представляет собой SKGA.

12. Соединение в соответствии с вариантом осуществления 1, где аминокислотная последовательность пептида представляет собой

10 $YX_2EGTX_6TSDYSX_{12}X_{13}LEX_{16}QAAX_{20}X_{21}FX_{23}X_{24}WLLX_{28}GGPSSGAPPPS$ (SEQ ID NO: 37),

где

X_2 представляет собой Aib или A,

X_6 представляет собой F или V,

X_{12} представляет собой I или Y,

15 X_{13} представляет собой Y, A, L или I,

X_{16} представляет собой K или E,

X_{20} представляет собой Q, R, E, H,

X_{21} представляет собой A или E,

X_{23} представляет собой I или V,

20 X_{24} представляет собой E, Q или N,

X_{28} представляет собой A или R.

13. Соединение в соответствии с вариантом осуществления 1, где аминокислотная последовательность пептида представляет собой

$YX_2EGTX_6TSDYSX_{12}X_{13}LEX_{16}QAAX_{20}X_{21}FX_{23}X_{24}WLLX_{28}GGPESGAPPPS$ (SEQ ID NO: 38),

где

X_2 представляет собой Aib или A,

5 X_6 представляет собой F или V,

X_{12} представляет собой I или Y,

X_{13} представляет собой Y, A, L или I,

X_{16} представляет собой K или E,

X_{20} представляет собой Q, R, E, H,

10 X_{21} представляет собой A или E,

X_{23} представляет собой I или V,

X_{24} представляет собой E, Q или N,

X_{28} представляет собой A или R.

14. Соединение в соответствии с вариантом осуществления 1, где аминокислотная

15 последовательность пептида представляет собой

$YX_2EGTX_6TSDYSX_{12}X_{13}LEX_{16}QAAX_{20}X_{21}FX_{23}X_{24}WLLX_{28}GGPSKГAPPPS$ (SEQ ID NO: 39),

где

X_2 представляет собой Aib или A,

20 X_6 представляет собой F или V,

X_{12} представляет собой I или Y,

X_{13} представляет собой Y, A, L или I,

X_{16} представляет собой K или E,

X₂₀ представляет собой Q, R, E, H,

X₂₁ представляет собой A или E,

X₂₃ представляет собой I или V,

X₂₄ представляет собой E, Q или N,

5 X₂₈ представляет собой A или R.

15. Соединение в соответствии с любым из предыдущих вариантов осуществления, где X₁₃LEX₁₆QAAX₂₀X₂₁FX₂₃X₂₄ выбран из группы, состоящей из LLEKQAAREFIN, LLEKQAAREFIE, LLEKQAAQEFIE и LLEEQAAREFIE.

10 16. Соединение в соответствии с вариантом осуществления 1, где аминокислотная последовательность пептида представляет собой любую из SEQ ID NO: 1–27 или 33–35.

17. Соединение в соответствии с вариантом осуществления 16, где пептид характеризуется амидной модификацией C-конца.

15 18. Соединение в соответствии с любым из предыдущих вариантов осуществления, где соединение активирует рецепторы GLP-1 и GIP человека *in vitro* с EC₅₀, составляющим менее 20 пМ, при измерении без HSA в репортерных анализах на основе CRE-люциферазы, описанных в примере 2.

19. Соединение в соответствии с любым из предыдущих вариантов осуществления, где соединение характеризуется периодом полувыведения в организме карликовых свиней, составляющим по меньшей мере 35 часов.

20 20. Соединение в соответствии с любым из предыдущих вариантов осуществления, где заместитель присоединен посредством 16Lys.

21. Соединение в соответствии с любым из предыдущих вариантов осуществления, где заместитель присоединен посредством 33Lys.

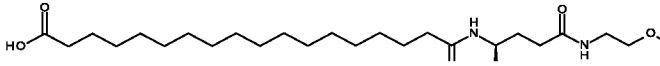
25 22. Соединение в соответствии с любым из предыдущих вариантов осуществления, где заместитель содержит по меньшей мере одно пролонгирующее средство.

23. Соединение в соответствии с вариантом осуществления 22, где пролонгирующее средство представляет собой группу жирной кислоты.
24. Соединение в соответствии с вариантом осуществления 23, где пролонгирующее средство представляет собой двухосновную кислоту, определенную под Chem. 1: $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_n-\text{CO}-$, где n представляет собой целое число в диапазоне 8–20, как, например, $n = 14, 16$ или 18 .
25. Соединение в соответствии с вариантом осуществления 23, где пролонгирующее средство представляет собой двухосновную кислоту, определенную под Chem. 1: $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_n-\text{CO}-$, где n представляет собой целое число в диапазоне 8–20, как, например, $n = 16$ или 18 .
26. Соединение в соответствии с любым из предыдущих вариантов осуществления, где заместитель содержит по меньшей мере один линкерный элемент.
27. Соединение в соответствии с вариантом осуществления 26, где заместитель содержит не более трех линкерных элементов.
28. Соединение в соответствии с вариантом осуществления 27, где заместитель содержит не более трех линкерных элементов, обозначаемых как $-Z1-Z2-Z3-$, где $-Z1-$ соединен с пролонгирующим средством, и $-Z3-$ соединен с пептидом.
29. Соединение в соответствии с любым из предыдущих вариантов осуществления, где заместитель представляет собой
- Prot- $Z1-Z2-Z3-$,
- где
- Prot представляет собой C16-C20-двухосновную кислоту,
- $Z1$ представляет собой γGlu или связь,
- $Z2$ представляет собой ϵLys , γGlu или Ado, и
- $Z3$ представляет собой ϵLys или Ado.
30. Соединение в соответствии с вариантом осуществления 29, где $-Z1-$ представляет собой $-\gamma\text{Glu}-$.

31. Соединение в соответствии с вариантами осуществления 29 или 30, где –Z2–Z3– и представляет собой -Ado-Ado–.

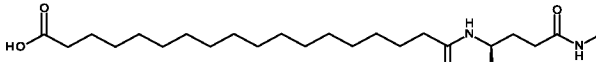
32. Соединение в соответствии с вариантами осуществления 29, 30 или 31, где –Z2–Z3– представляет собой -εLys-εLys–.

5 33. Соединение в соответствии с любым из вариантов осуществления 1–17, где заместитель выбран из группы, состоящей из



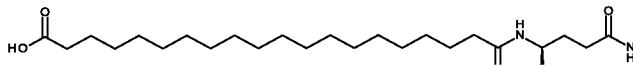
A:

B:



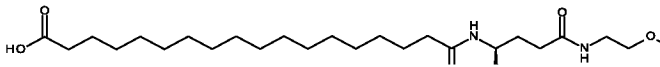
и

10



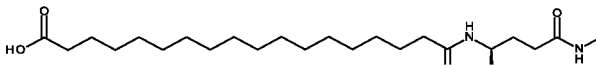
C:

34. Соединение в соответствии с любым из вариантов осуществления 1–17, где заместитель выбран из группы, состоящей из

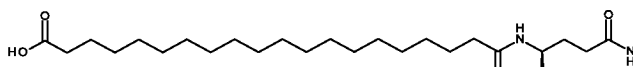


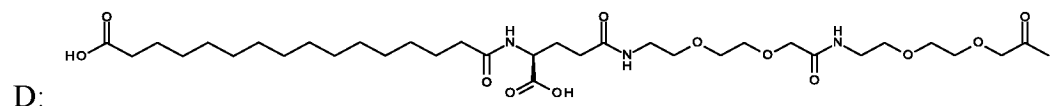
A:

15 B:



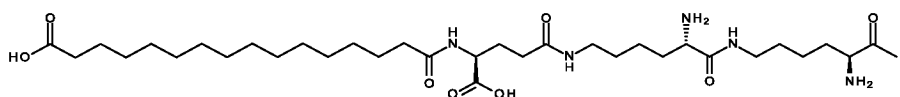
C:





и

E:



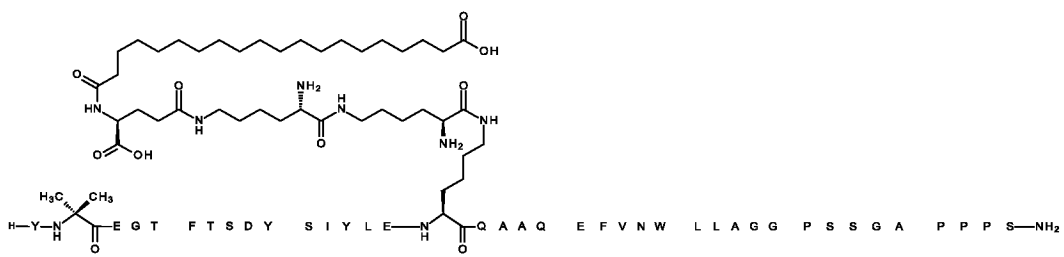
5 35. Соединение в соответствии с любым из предыдущих вариантов осуществления 1–17, где заместитель присоединен к пептиду посредством ε-аминогруппы лизина (K).

36. Соединение в соответствии с вариантом осуществления 1, где соединение выбрано из группы, состоящей из следующего:

соединение № 1

SEQ ID NO: 1

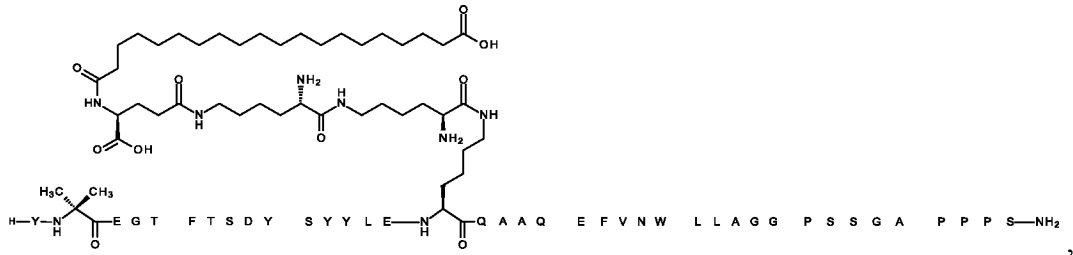
заместитель: C



соединение № 2

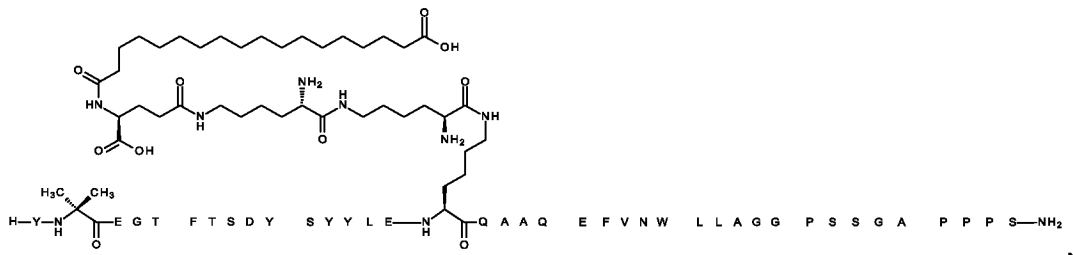
SEQ ID NO: 2

заместитель: C

**соединение № 3**

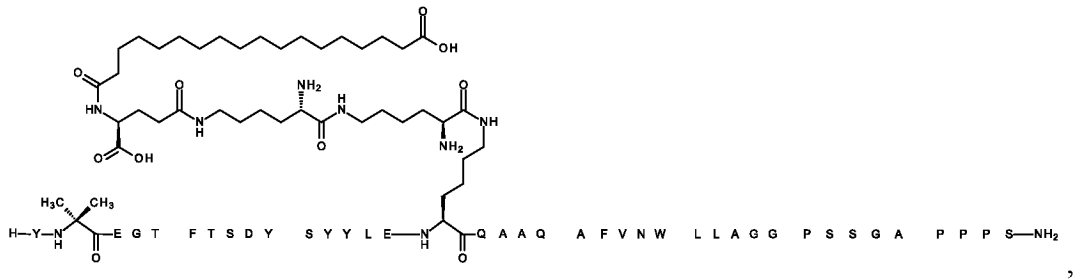
SEQ ID NO: 2

заместитель: В

**соединение № 4**

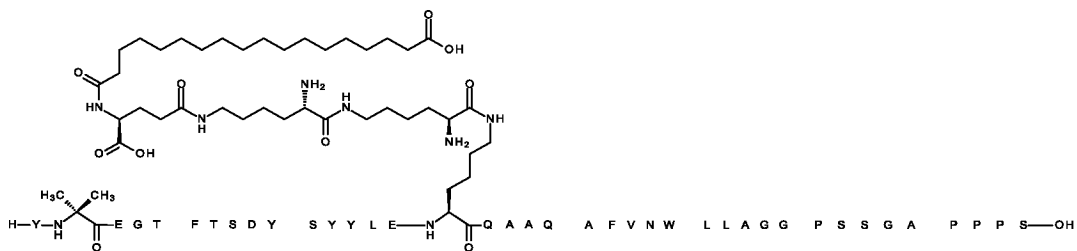
SEQ ID NO: 3

заместитель: В

**соединение № 5**

SEQ ID NO: 3

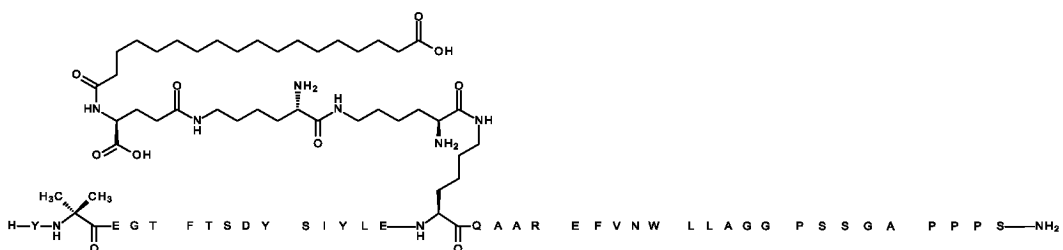
заместитель: В



соединение № 6

SEQ ID NO: 4

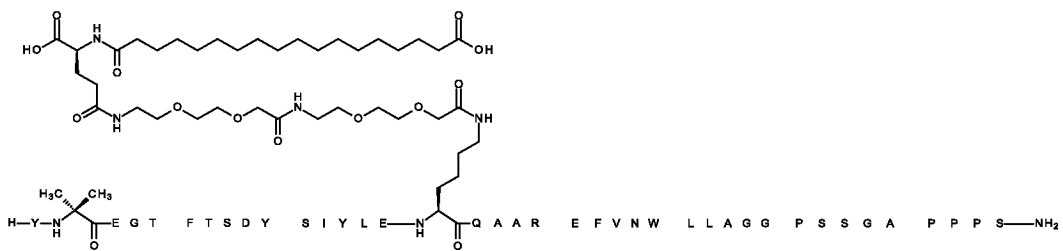
заместитель: В



соединение № 7

SEQ ID NO: 4

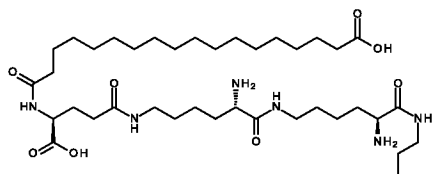
заместитель: А



соединение № 8

SEQ ID NO: 5

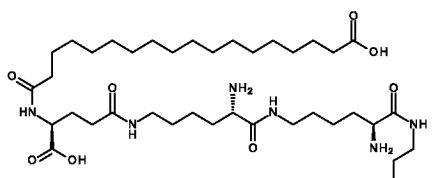
заместитель: В



соединение № 9

SEQ ID NO: 6

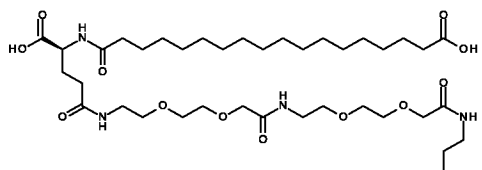
заместитель: В



соединение № 10

SEQ ID NO: 6

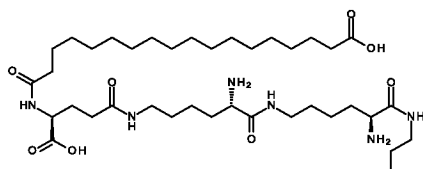
заместитель: А



соединение № 11

SEQ ID NO: 5

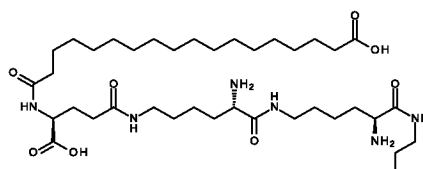
заместитель: В



соединение № 12

SEQ ID NO: 7

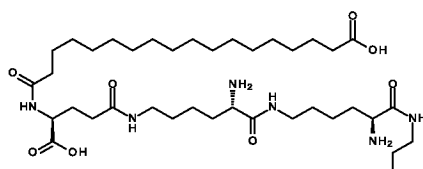
заместитель: В



соединение № 13

SEQ ID NO: 8

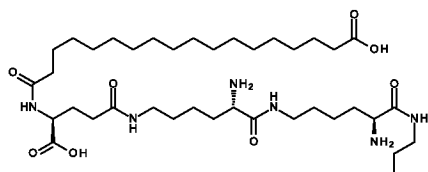
заместитель: В



соединение № 14

SEQ ID NO: 9

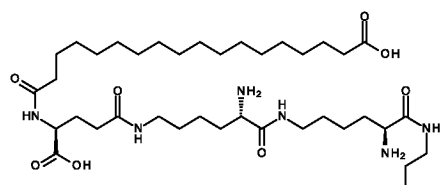
заместитель: В



соединение № 15

SEQ ID NO: 10

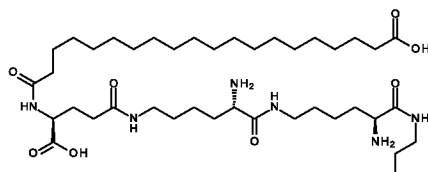
заместитель: В



соединение № 16

SEQ ID NO: 5

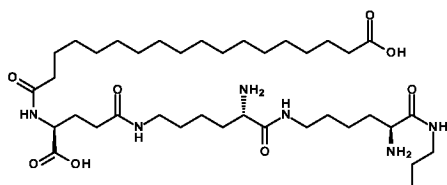
заместитель: С



соединение № 17

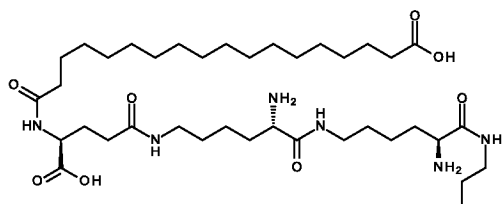
SEQ ID NO: 11

заместитель: В

**соединение № 18**

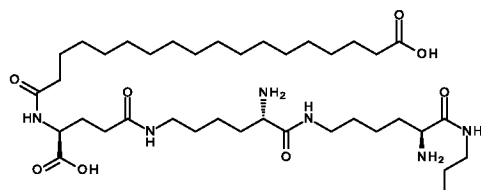
SEQ ID NO: 12

заместитель: В

**соединение № 19**

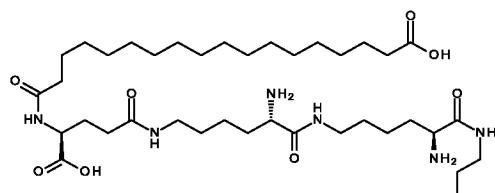
SEQ ID NO: 13

заместитель: В

**соединение № 20**

SEQ ID NO: 14

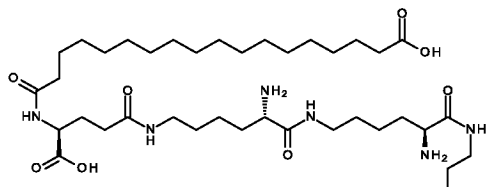
заместитель: В



соединение № 21

SEQ ID NO: 15

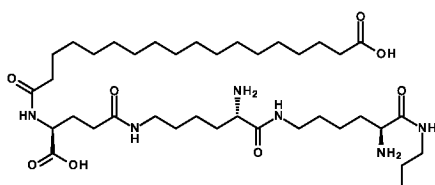
заместитель: В



соединение № 22

SEQ ID NO: 16

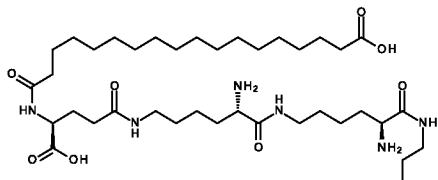
заместитель: В



соединение № 23

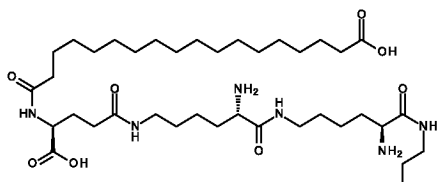
SEQ ID NO: 17

заместитель: В

**соединение № 24**

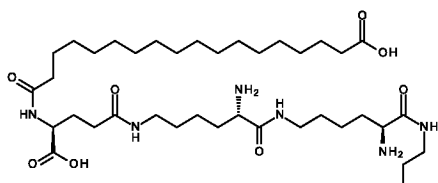
SEQ ID NO: 18

заместитель: В

**соединение № 25**

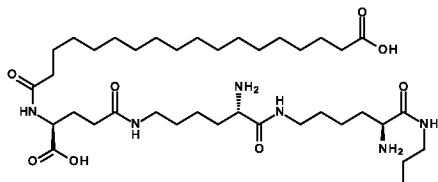
SEQ ID NO: 19

заместитель: В

**соединение № 26**

SEQ ID NO: 20

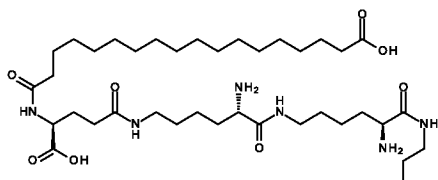
заместитель: В



соединение № 27

SEQ ID NO: 21

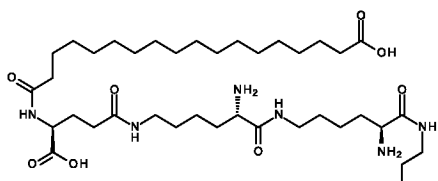
заместитель: В



соединение № 28

SEQ ID NO: 22

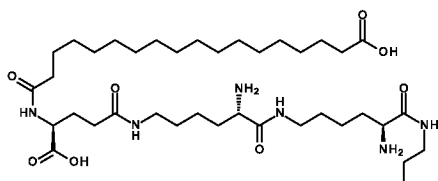
заместитель: В



соединение № 29

SEQ ID NO: 23

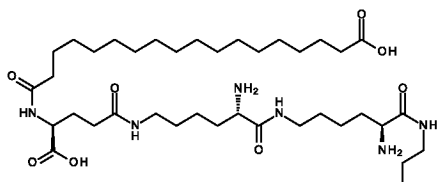
заместитель: В



соединение № 30

SEQ ID NO: 24

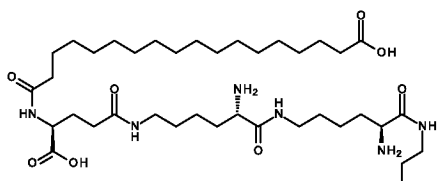
заместитель: В



соединение № 31

SEQ ID NO: 25

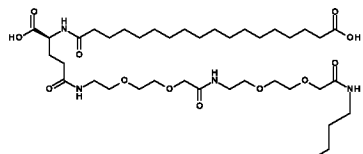
заместитель: В



соединение № 32

SEQ ID NO: 25

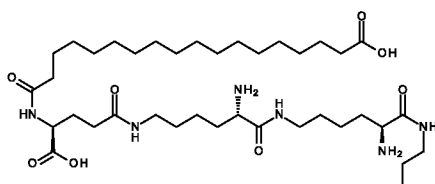
заместитель: А



соединение № 33

SEQ ID NO: 26

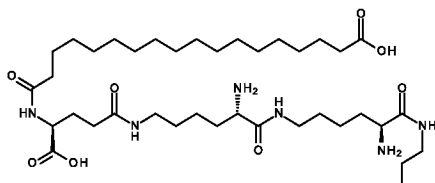
заместитель: В



соединение № 34

SEQ ID NO: 27

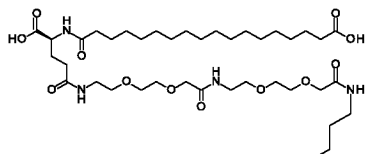
заместитель: В



соединение № 35

SEQ ID NO: 10

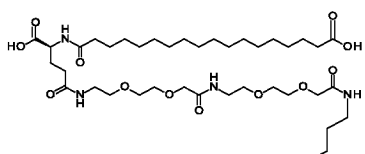
заместитель: А



соединение № 36

SEQ ID NO: 27

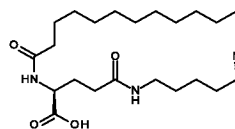
заместитель: A



соединение № 42

SEQ ID NO: 33

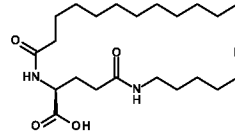
заместитель: B



соединение № 43

SEQ ID NO: 34

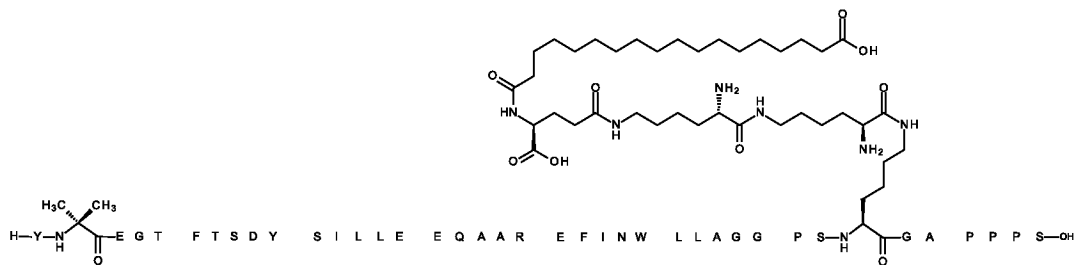
заместитель: B



соединение № 44

SEQ ID NO: 35

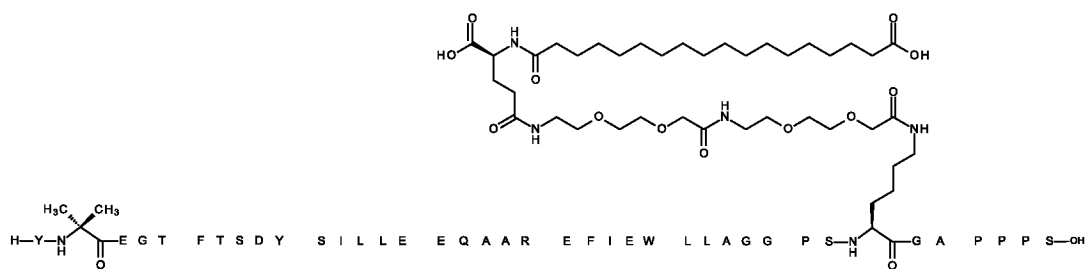
заместитель: В



соединение № 45

SEQ ID NO: 34

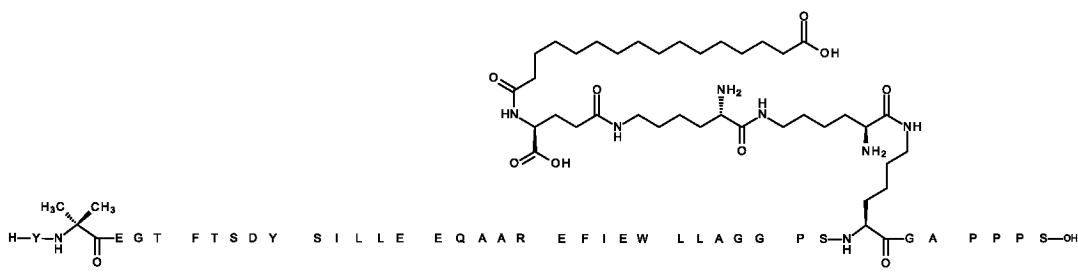
заместитель: А



соединение № 46

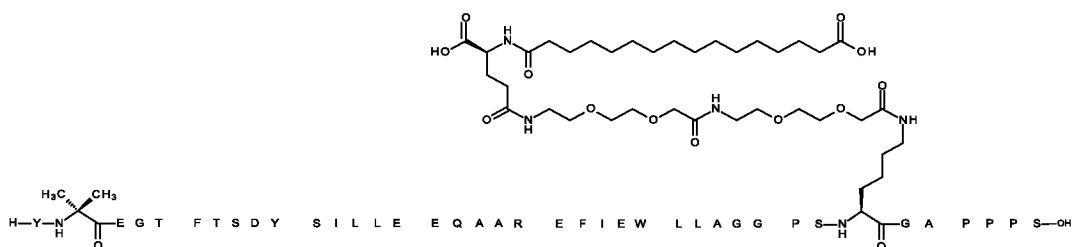
SEQ ID NO: 34

заместитель: Е

**соединение № 47**

SEQ ID NO: 34

заместитель: D

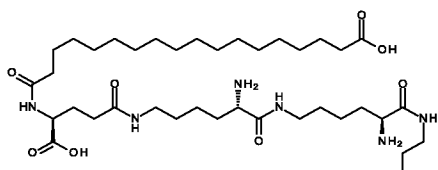


37. Соединение в соответствии с вариантом осуществления 1, где соединение выбрано из группы, состоящей из следующего:

соединение № 15

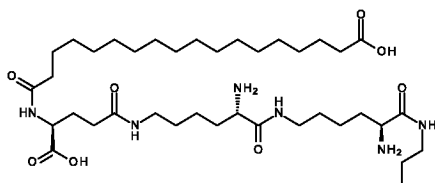
SEQ ID NO: 10

заместитель: B

**соединение № 31**

SEQ ID NO: 25

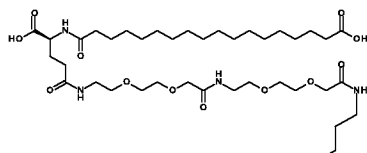
заместитель: В



соединение № 32

SEQ ID NO: 25

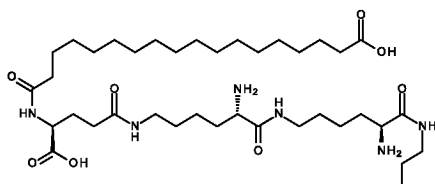
заместитель: А



соединение № 28

SEQ ID NO: 22

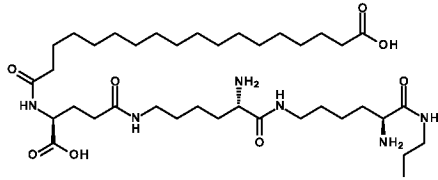
заместитель: В



соединение № 29

SEQ ID NO: 23

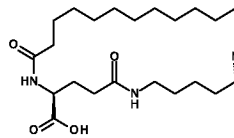
заместитель: В



соединение № 43

SEQ ID NO: 34

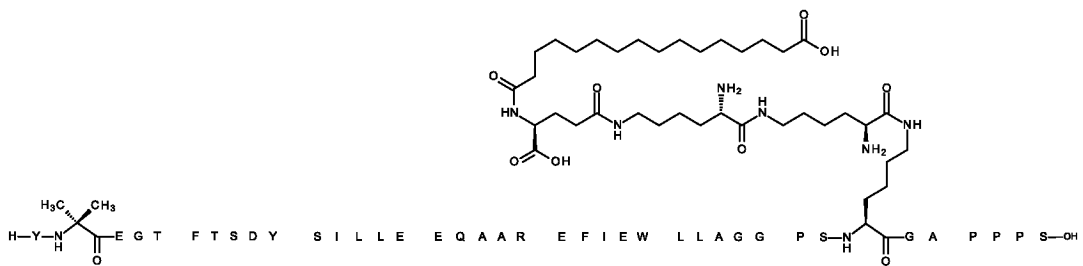
заместитель: В



соединение № 46

SEQ ID NO: 34

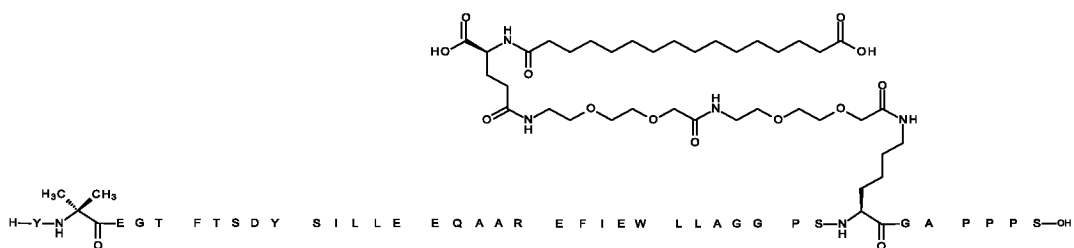
заместитель: Е



соединение № 47

SEQ ID NO: 34

заместитель: D

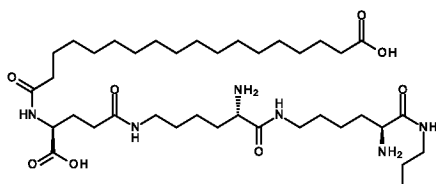


38. Соединение в соответствии с вариантом осуществления 1, где соединение выбрано из группы, состоящей из следующего:

соединение № 15

SEQ ID NO: 10

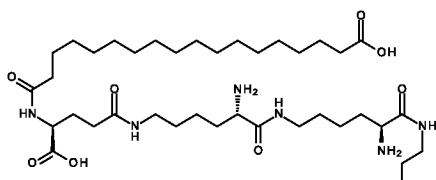
заместитель: B



соединение № 31

SEQ ID NO: 25

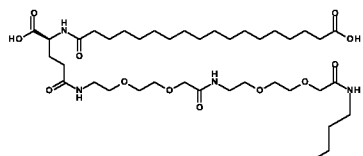
заместитель: B



соединение № 32

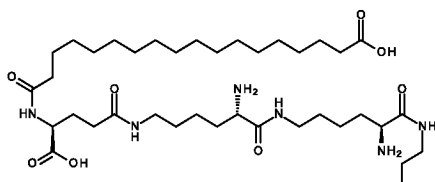
SEQ ID NO: 25

заместитель: А

**соединение № 28**

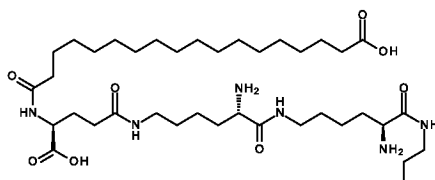
SEQ ID NO: 22

заместитель: В

**соединение № 29**

SEQ ID NO: 23

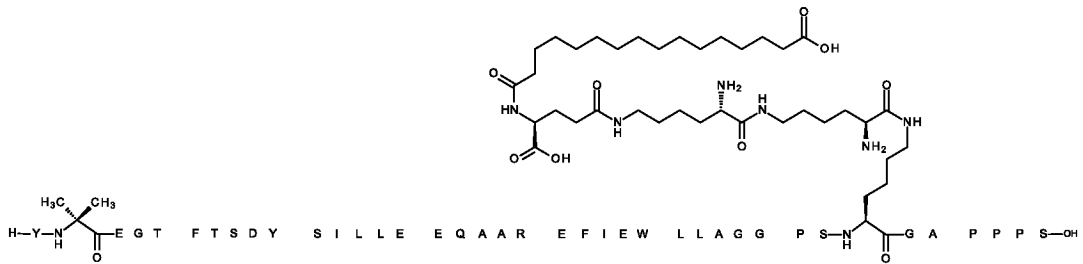
заместитель: В

**соединение № 46**

SEQ ID NO: 34

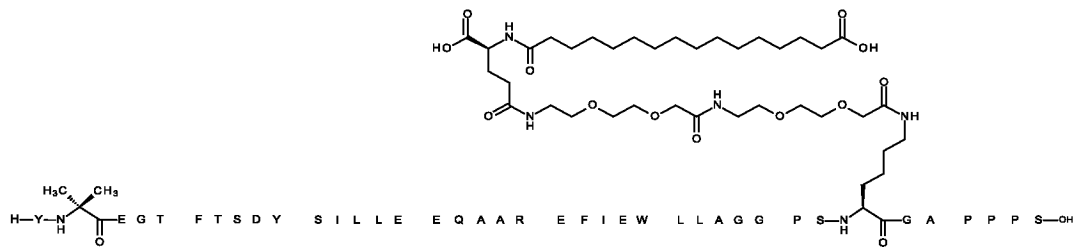
SEQ ID NO: 34

заместитель: E

**соединение № 47**

SEQ ID NO: 34

заместитель: D

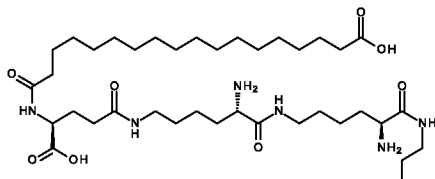


40. Соединение в соответствии с вариантом осуществления 1, где соединение представляет собой:

соединение № 31

SEQ ID NO: 25

заместитель: B



41. Соединение в соответствии с любым из предыдущих вариантов осуществления для применения в качестве лекарственного препарата.
42. Фармацевтическая композиция, содержащая соединение в соответствии с любым из предыдущих вариантов осуществления 1–40.
- 5 43. Композиция в соответствии с вариантом осуществления 42, где указанная композиция представляет собой водную жидкость.
44. Композиция в соответствии с вариантом осуществления 42, где указанная композиция представляет собой твердую композицию.
45. Фармацевтическая композиция в соответствии с любым из вариантов
10 осуществления 42–44 для предупреждения и/или лечения диабета и/или ожирения.
46. Фармацевтическая композиция в соответствии с любым из вариантов осуществления 42–44 для предупреждения и/или лечения нарушений печени, таких как стеатоз печени, неалкогольная жировая болезнь печени (NAFLD), неалкогольный стеатогепатит (NASH), воспаление печени и/или жировая инфильтрация печени.
- 15 47. Способ предупреждения и/или лечения диабета и/или ожирения, включающий введение пациенту фармацевтически активного количества соединения в соответствии с любым из вариантов осуществления 1–40.
48. Способ предупреждения и/или лечения нарушений печени, таких как стеатоз печени, неалкогольная жировая болезнь печени (NAFLD), неалкогольный
20 стеатогепатит (NASH), воспаление печени и/или жировая дистрофия печени, включающий введение пациенту фармацевтически активного количества соединения в соответствии с любым из вариантов осуществления 1–40.
49. Пептид, где аминокислотная последовательность пептида представляет собой
YX₂EGTX₆TSDYSX₁₂X₁₃LEX₁₆QAAX₂₀X₂₁FX₂₃X₂₄WLLX₂₈GX₃₀X₃₁X₃₂X₃₃X₃₄X₃₅X₃₆X₃₇X₃₈X₃₉ (SEQ ID NO: 47)
25
- с необязательной амидной модификацией С-конца,
- где

- X_2 представляет собой Aib или A,
- X_6 представляет собой F или V,
- X_{12} представляет собой I или Y,
- X_{13} представляет собой Y, A, L или I,
- 5 X_{16} представляет собой K или E,
- X_{20} представляет собой Q, R, E, H,
- X_{21} представляет собой A или E,
- X_{23} представляет собой I или V,
- X_{24} представляет собой E, Q или N,
- 10 X_{28} представляет собой A или R,
- X_{30} представляет собой G или отсутствует,
- X_{31} представляет собой P или отсутствует,
- X_{32} представляет собой E, S или отсутствует,
- X_{33} представляет собой S, K или отсутствует,
- 15 X_{34} представляет собой G или отсутствует,
- X_{35} представляет собой A или отсутствует,
- X_{36} представляет собой P или отсутствует,
- X_{37} представляет собой P или отсутствует,
- X_{38} представляет собой P или отсутствует,
- 20 X_{39} представляет собой S или отсутствует.
50. Пептид, где аминокислотная последовательность пептида представляет собой

YX₂EGTX₆TSDYSX₁₂X₁₃LEX₁₆QAAX₂₀X₂₁FX₂₃X₂₄WLLX₂₈GGPX₃₂X₃₃X₃₄X₃₅X₃₆X₃₇X₃₈X₃₉ (SEQ ID NO: 36)

с необязательной амидной модификацией С-конца,

где

- 5 X₂ представляет собой Aib или A,
 X₆ представляет собой F или V,
 X₁₂ представляет собой I или Y,
 X₁₃ представляет собой Y, A, L или I,
 X₁₆ представляет собой K или E,
- 10 X₂₀ представляет собой Q, R, E, H,
 X₂₁ представляет собой A или E,
 X₂₃ представляет собой I или V,
 X₂₄ представляет собой E, Q или N,
 X₂₈ представляет собой A или R,
- 15 X₃₂ представляет собой E, S или отсутствует,
 X₃₃ представляет собой S, K или отсутствует,
 X₃₄ представляет собой G или отсутствует,
 X₃₅ представляет собой A или отсутствует,
 X₃₆ представляет собой P или отсутствует,
- 20 X₃₇ представляет собой P или отсутствует,
 X₃₈ представляет собой P или отсутствует,
 X₃₉ представляет собой S или отсутствует.

51. Пептид в соответствии с вариантом осуществления 49, где X_{36} , X_{37} , X_{38} и X_{39} отсутствуют.
52. Пептид в соответствии с вариантом осуществления 49, где X_{34} , X_{35} , X_{36} , X_{37} , X_{38} и X_{39} отсутствуют.
- 5 53. Пептид в соответствии с вариантом осуществления 49, где X_{32} , X_{33} , X_{34} , X_{35} , X_{36} , X_{37} , X_{38} и X_{39} отсутствуют.
54. Пептид в соответствии с вариантом осуществления 49, где X_{30} , X_{31} , X_{32} , X_{33} , X_{34} , X_{35} , X_{36} , X_{37} , X_{38} и X_{39} отсутствуют.
55. Пептид в соответствии с варианты осуществления 49 или 50, где $X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}$
10 выбран из группы, включающей SSGA, ESGA и SKGA.
56. Пептид в соответствии с вариантом осуществления 55, где $X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}$ представляет собой SSGA.
57. Пептид в соответствии с вариантом осуществления 55, где $X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}$ представляет собой ESGA.
- 15 58. Пептид в соответствии с вариантом осуществления 55, где $X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}$ представляет собой SKGA.
59. Пептид в соответствии с любым из вариантов осуществления 47–58, где пептид характеризуется амидной модификацией С-конца.
60. Пептид в соответствии с вариантом осуществления 49, где аминокислотная
20 последовательность пептида представляет собой
- $YX_2EGTX_6TSDYSX_{12}X_{13}LEX_{16}QAAX_{20}X_{21}FX_{23}X_{24}WLLX_{28}GGPSSGAPPPS$ (SEQ ID NO: 37),
- где
- X_2 представляет собой Aib или A,
- 25 X_6 представляет собой F или V,
- X_{12} представляет собой I или Y,

X_{13} представляет собой Y, A, L или I,

X_{16} представляет собой K или E,

X_{20} представляет собой Q, R, E, H,

X_{21} представляет собой A или E,

5 X_{23} представляет собой I или V,

X_{24} представляет собой E, Q или N,

X_{28} представляет собой A или R.

61. Пептид в соответствии с вариантом осуществления 48, где аминокислотная последовательность пептида представляет собой

10 $YX_2EGTX_6TSDYSX_{12}X_{13}LEX_{16}QAAX_{20}X_{21}FX_{23}X_{24}WLLX_{28}GGPESGAPPPS$ (SEQ ID NO: 38),

где

X_2 представляет собой Aib или A,

X_6 представляет собой F или V,

15 X_{12} представляет собой I или Y,

X_{13} представляет собой Y, A, L или I,

X_{16} представляет собой K или E,

X_{20} представляет собой Q, R, E, H,

X_{21} представляет собой A или E,

20 X_{23} представляет собой I или V,

X_{24} представляет собой E, Q или N,

X_{28} представляет собой A или R.

62. Пептид в соответствии с вариантом осуществления 49, где аминокислотная последовательность пептида представляет собой

$YX_2EGTX_6TSDYSX_{12}X_{13}LEX_{16}QAAX_{20}X_{21}FX_{23}X_{24}WLLX_{28}GGPSKГAPPPS$ (SEQ ID NO: 39),

5 где

X_2 представляет собой Aib или A,

X_6 представляет собой F или V,

X_{12} представляет собой I или Y,

X_{13} представляет собой Y, A, L или I,

10 X_{16} представляет собой K или E,

X_{20} представляет собой Q, R, E, H,

X_{21} представляет собой A или E,

X_{23} представляет собой I или V,

X_{24} представляет собой E, Q или N,

15 X_{28} представляет собой A или R,

63. Пептид в соответствии с вариантом осуществления 49, где аминокислотная последовательность пептида представляет собой любую из SEQ ID NO: 1–27 или 33–35.

64. Пептид в соответствии с вариантом осуществления 63, где пептид характеризуется амидной модификацией С-конца.

20 65. Пептид в соответствии с любым из предыдущих вариантов осуществления 49–64, где $X_{13}LEX_{16}QAAX_{20}X_{21}FX_{23}X_{24}$ выбран из группы, состоящей из LLEKQAAREFIN, LLEKQAAREFIE, LLEKQAAQEFIE и LLEEQAAREFIE.

66. Пептид в соответствии с любым из предыдущих вариантов осуществления 49–64, где пептид активирует рецепторы GLP-1 и GIP человека *in vitro* с EC_{50} ,

составляющим менее 20 пМ, при измерении без HSA в репортерных анализах на основе CRE-люциферазы, описанных в примере 2.

67. Пептид в соответствии с любым из предыдущих вариантов осуществления 49–64, где X₁₆ представляет собой К.
- 5 68. Пептид в соответствии с любым из предыдущих вариантов осуществления 49–64, где X₃₃ представляет собой К.
69. Пептид в соответствии с вариантом осуществления 49, где аминокислотная последовательность пептида представляет собой любую из SEQ ID NO: 15, 28, 29, 31, 32 или 43.
- 10 70. Пептид в соответствии с вариантом осуществления 49, где аминокислотная последовательность пептида представляет собой SEQ ID NO: 31.
71. Способ получения соединения в соответствии с любым из предыдущих вариантов осуществления 1–40.
72. Способ получения пептида в соответствии с любым из предыдущих вариантов осуществления 49–64.
- 15 73. Способ получения пептида в соответствии с любым из предыдущих вариантов осуществления 49–70.

СПОСОБЫ И ПРИМЕРЫ

Перечень сокращений

- 20 Следующие сокращения в дальнейшем используются в алфавитном порядке.

Ac: ацетил

Ado (также называемый OEG): 8-амино-3,6-диоксооктановая кислота

Aib: α-аминоизомасляная кислота

API: активный фармацевтический ингредиент

- 25 AUC: площадь под кривой

BG: уровень глюкозы в крови

ВНК: почка новорожденного хомяка

Вос: *трет*-бутилоксикарбонил

BW: вес тела

5 CAS: Химическая реферативная служба

Cl-NOBt: 6-хлор-1-гидроксibenзотриазол

DCM: дихлорметан

DIC: диизопропилкарбодиимид

DIPEA: *N,N*-диизопропилэтиламин

10 DMEM: среда Игла, модифицированная Дульбекко

DPBS: фосфатно-буферный солевой раствор Дульбекко

EDTA: этилендиаминтетрауксусная кислота

ELISA: твердофазный иммуноферментный анализ

экв.: молярный эквивалент

15 FBS: фетальная бычья сыворотка

Fmoc: 9-флуоренилметилоксикарбонил

GIP: глюкозозависимый инсулинотропный полипептид

GIPR: рецептор глюкозозависимого инсулинотропного полипептида

GLP-1: глюкагоноподобный пептид-1

20 GLP-1R: рецептор глюкагоноподобного пептида-1

ч: часы

HEPES: 4-(2-гидроксиэтил)-1-пиперазинэтансульфоновая кислота

HFIP: 1,1,1,3,3,3-гексафтор-2-пропанол или гексафторизопропанол

HPLC: высокоэффективная жидкостная хроматография

HSA: сывороточный альбумин человека

5 В/бр: внутрибрюшинно

IPGTT: внутрибрюшинный тест на толерантность к глюкозе

В/в: внутривенно

LCMS: жидкостная хроматография с масс-спектрометрией

LYD: Ландрас-Йоркшир-Дюрок

10 MeCN: ацетонитрил

MeOH: метанол

mM: миллимолярный

ммоль: миллимоли

мин: минуты

15 Mtt: 4-метилтретил

MW: молекулярная масса

nM: наномолярный

NMP: 1-метилпирролидин-2-он

OEG: 8-амино-3,6-диоксооктановая кислота (также называемая Ado)

20 OtBu: сложный *трет*-бутиловый эфир

Охума Pure®: сложный этиловый эфир цианогидроксииминоуксусной кислоты

Pbf: 2,2,4,6,7-пентаметилдигидробензофуран-5-сульфонил

PBS: фосфатно-буферный солевой раствор

PD: фармакодинамика

PK: фармакокинетика

5 пМ: пикомолярный

RP: обращенная фаза

RP-HPLC: высокоэффективная жидкостная хроматография с обращенной фазой

об/мин: обороты в минуту

RT: комнатная температура

10 Rt: время удерживания

П/к: подкожный

SD: стандартное отклонение

SEC-HPLC: эксклюзионная высокоэффективная жидкостная хроматография

SEM: стандартная погрешность среднего

15 SNAC: *N*-[8-(2-гидроксибензоил)амино]каприлат натрия

SPPS: твердофазный синтез пептидов

tBu: *трет*-бутил

TFA: трифторуксусная кислота

TIS: триизопропилсилан

20 Trt: трифенилметил или тритил

Trx: транексамовая кислота

Общие способы получения

Способы твердофазного синтеза пептидов (способы SPPS, включая способы удаления защитной группы аминокислот, способы отщепления пептида от смолы и его очистки), а также способы выявления и определения характеристик полученного пептида (способы LCMS) описаны в данном документе ниже.

Смолы, используемые для получения C-концевых амидов пептида, представляли собой смолу H-Rink Amide-ChemMatrix (загрузка, например, 0,5 ммоль/г). Рекомендованным стандартом, если специально не указано иное, являются применяемые защищенные Fmoc-группой производные аминокислот: Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Arg(Pbf)-OH, Fmoc-Asn(Trt)-OH, Fmoc-Asp(OtBu)-OH, Fmoc-Cys(Trt)-OH, Fmoc-Gln(Trt)-OH, Fmoc-Glu(OtBu)-OH, Fmoc-Gly-OH, Fmoc-His(Trt)-OH, Fmoc-Ile-OH, Fmoc-Leu-OH, Fmoc-Lys(Boc)-OH, Fmoc-Met-OH, Fmoc-Phe-OH, Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Ser(tBu)-OH, Fmoc-Thr(tBu)-OH, Fmoc-Trp(Boc)-OH, Fmoc-Tyr(tBu)-OH, Fmoc-Val-OH, Fmoc-Lys(Mtt)-OH, Fmoc-Aib-OH и т. д., поставляемые, например, AAPPTEC, Anaspec, Bachem, ChemImpex, Iris Biotech, Midwest Biotech, Gyros Protein Technologies или Novabiochem. Если не указано иное, используются природные L-формы аминокислот. N-концевую аминокислоту защищали посредством Boc-группы по альфа-аминогруппе, либо с помощью реагента с предварительно встроенной Boc-группой (например, Boc-Tyr(tBu)-OH для пептидов с Tyr на N-конце) или путем замены N-концевой защитной Fmoc-группы на защитную Boc-группу после встраивания аминокислоты на N-конце пептида.

В случае присоединения модульного альбуминсвязывающего фрагмента с применением SPPS использовали следующие соответственно защищенные структурные блоки, такие как без ограничения Fmoc-8-амино-3,6-диоксооктановая кислота (Fmoc-Ado-OH), Boc-Lys(Fmoc)-OH, Fmoc-Glu-OtBu, сложный моно-*трет*-бутиловый эфир гексадекандикарбоновой кислоты, сложный моно-*трет*-бутиловый эфир октадекандикарбоновой кислоты, сложный моно-*трет*-бутиловый эфир нонадекандикарбоновой кислоты, сложный моно-*трет*-бутиловый эфир эйкозандикарбоновой кислоты, сложный моно-*трет*-бутиловый эфир тетрадекандикарбоновой кислоты или сложный *трет*-бутиловый эфир 4-(9-карбоксинилокси)бензойной кислоты. Все указанные ниже операции выполняли в масштабе синтеза 0,1–0,2 ммоль.

1. Синтез связанного со смолой защищенного пептидного остова

Способ: SPPS_A

SPPS осуществляли с использованием химических реакций на основе Fmoc на установке для твердофазного синтеза пептидов Protein Technologies SymphonyX с использованием предоставленных изготовителем протоколов с некоторыми модификациями. Перемешивание осуществляли периодическим барботированием азотом. Постадийную сборку осуществляли с использованием следующих стадий: 1) обеспечение предварительного набухания смолы в DMF; 2) удаление защитной группы Fmoc посредством использования 20% (об./об.) пиперидина в DMF для двух обработок по 10 мин каждая; 3) промывание посредством DMF с удалением пиперидина; 4) осуществление реакции сочетания с Fmoc-аминокислотой путем добавления Fmoc-аминокислоты (12 экв.) и Охута Pure® (12 экв.), каждого реагента в виде 0,6 М раствора в DMF, с последующим добавлением DIC (12 экв.) в виде 1,2 М раствора в DMF, с последующим добавлением DMF со снижением конечной концентрации каждого компонента до 0,3 М, затем смешивание в течение 0,5–4 ч; 4) промывание посредством DMF с удалением избытка реагентов; 5) конечные промывания посредством DCM по окончании сборки. Некоторые аминокислоты, такие как без ограничения аминокислоты, следующие за стерически затрудненной аминокислотой (например, Aib), подвергали реакции сочетания с увеличенным временем реакции (например, 4 ч) для обеспечения завершения реакции.

Способ: SPPS_B

Защищенную пептидильную смолу синтезировали в соответствии со стратегией Fmoc на установке для твердофазного синтеза пептидов Applied Biosystems 431A с использованием стандартных протоколов для Fmoc, предоставленных производителем. Перемешивание осуществляли встряхиванием и периодическим барботированием азотом. Постадийную сборку выполняли с использованием следующих стадий: 1) активация Fmoc-аминокислоты путем растворения Fmoc-аминокислоты в виде твердого вещества (10 экв.) в Cl-NOBt (10 экв.) в виде 1 М раствора в NMP, затем добавление DIC (10 экв.) в виде 1 М раствора в NMP, затем смешивание с одновременным переходом к стадиям 2–3; 2) удаление защитной группы Fmoc посредством использования 20% (об./об.) пиперидина в NMP для одной обработки в течение 3 мин,

затем второй обработки в течение 15 мин; 3) промывания посредством NMP с удалением пиперидина; 4) добавление раствора активированной Fmoc-аминокислоты к смоле, затем смешивание в течение 45–90 мин; 4) промывания посредством NMP с удалением избытка реагентов; 5) конечные промывания посредством DCM по завершении сборки. Стандартные защищенные производные аминокислот, перечисленные выше, поставлялись в предварительно взвешенных картриджах (например, от Midwest Biotech), а нестандартные производные взвешивали вручную. Некоторые аминокислоты, такие как без ограничения аминокислоты, следующие за стерически затрудненной аминокислотой (например, Aib), подвергали «двойной реакции сочетания» для обеспечения завершения реакции, то есть это означает, что после первой реакции сочетания (например, 45 мин) смолу сушат, добавляют дополнительное количество реагентов (Fmoc-аминокислота, DIC, Cl-NOBt), и вновь обеспечивают прохождение реакции в смеси (например, 45 мин).

Способ: SPPS_C

15 SPPS осуществляли с использованием Fmoc-химии на установке для твердофазного синтеза пептидов PreludeX с использованием предоставленных изготовителем протоколов с некоторыми модификациями. Перемешивание осуществляли встряхиванием при 350 об/мин и периодическим барботированием азотом. Постадийную сборку проводили с применением следующих стадий: 1) обеспечение 20 предварительного набухания смолы в DMF; 2) удаление защитной группы Fmoc путем использования 20% (об./об.) пиперидина в DMF для одной обработки в течение 3 мин при 70°C; 3) промывания посредством DMF с удалением пиперидина; 4) осуществление реакции сочетания Fmoc-аминокислоты путем добавления Fmoc-аминокислоты (12 экв.) и Охума Pure® (12 экв.), каждый в виде 0,4 М раствора в DMF, с 25 последующим добавлением DIC (12 экв.) в виде 1,2 М раствора в DMF, затем смешивание в течение 5 мин при 70°C; 4) промывания с помощью DMF с удалением избытка реагентов; 5) конечные промывания с помощью DCM по окончании сборки. Некоторые аминокислоты, такие как без ограничения аминокислоты, следующие за стерически затрудненной аминокислотой (например, Aib), подвергали реакции 30 сочетания с увеличенным временем реакции (например, 15 мин) для обеспечения завершения реакции.

2. Присоединение заместителя к защищенному пептидному остову, связанному со смолой

Способ: SC_A

Защитную группу Mtt с N-эпсилон-лизина удаляли путем промывания смолы
5 посредством 30% HFIP в DCM в течение двух обработок по 45 мин каждая с
последующим промыванием посредством DCM и DMF. Ацилирование выполняли на
установке для твердофазного синтеза пептидов Protein Technologies SymphonyX с
использованием протоколов, описанных в способе SPPS_A, с использованием
10 постадийного добавления структурных блоков, таких как без ограничения Boc-
Lys(Fmoc)-OH, Fmoc-8-амино-3,6-диоксаоктановая кислота, Fmoc-Glu-OtBu, сложный
моно-*трет*-бутиловый эфир гексадекандикарбоновой кислоты, сложный моно-*трет*-
бутиловый эфир октадекандикарбоновой кислоты и сложный моно-*трет*-бутиловый
эфир эйкозандикарбоновой кислоты.

Способ: SC_B

15 Защитную группу Mtt с N-эпсилон-лизина удаляли путем промывания смолы
посредством 30% HFIP в DCM в течение двух обработок по 45 мин каждая с
последующим промыванием посредством DCM и DMF. Ацилирование выполняли на
установке для твердофазного синтеза пептидов Applied Biosystems 431A с
использованием протоколов, описанных в способе SPPS_B, с использованием
20 постадийного добавления структурных блоков, таких как без ограничения Boc-
Lys(Fmoc)-OH, Fmoc-8-амино-3,6-диоксаоктановая кислота, Fmoc-Glu-OtBu, сложный
моно-*трет*-бутиловый эфир гексадекандикарбоновой кислоты, сложный моно-*трет*-
бутиловый эфир октадекандикарбоновой кислоты и сложный моно-*трет*-бутиловый
эфир эйкозандикарбоновой кислоты.

25 *Способ: SC_C*

Защитную группу Mtt с N-эпсилон-лизина удаляли путем промывания смолы
посредством 30% HFIP в DCM в течение двух обработок по 45 мин каждая с
последующим промыванием посредством DCM и DMF. Ацилирование выполняли на
установке для твердофазного синтеза пептидов Protein Technologies PreludeX с
30 использованием протоколов, описанных в способе SPPS_C, с использованием

постадийного добавления структурных блоков, таких как без ограничения Boc-Lys(Fmoc)-OH, Fmoc-8-амино-3,6-диоксаоктановая кислота, Fmoc-Glu-OtBu, сложный моно-*трет*-бутиловый эфир гексадекандикарбоновой кислоты, сложный моно-*трет*-бутиловый эфир октадекандикарбоновой кислоты и сложный моно-*трет*-бутиловый эфир эйкозандикарбоновой кислоты.

3. Отщепление пептида, связанного со смолой, и очистка

Способ: CP_A

После завершения синтеза боковой цепи пептидильную смолу промывали посредством DCM и высушивали, затем обрабатывали смесью TFA/вода/TIS (95:2,5:2,5 об./об./об.) в течение примерно 2 ч с последующим осаждением посредством диэтилового эфира. Осадок промывали диэтиловым эфиром, растворяли в подходящем растворителе (например, вода/MeCN 2:1), и обеспечивали оттаивание до разрушения всех нестабильных аддуктов. Очистку выполняли посредством препаративной HPLC с обращенной фазой (бинарный градиентный модуль Waters 2545, УФ-детектор/видимой области спектра Waters 2489, отборник фракций Waters III) на колонке Phenomenex Luna C8(2) (размер частиц 10 мкм, размер пор 100 Å, линейные размеры 250 x 21,2 мм). Отделение примесей и элюирование продукта осуществляли с применением возрастающего градиента MeCN в воде, содержащей 0,1% TFA. Соответствующие фракции проверяли на идентичность и чистоту посредством аналитической LCMS. Фракции, содержащие чистый требуемый продукт, объединяли и лиофилизировали с получением TFA-соли пептида в виде белого твердого вещества.

4. Солевой обмен с TFA-соли на натриевую

Способ: SX_A

Лиофилизированный пептид, выделенный посредством способа CP_A, растворяли до 5–20 мг/мл в подходящем водном буфере (например, вода/MeCN 4:1, 0,2 М ацетат натрия) и при необходимости доводили до pH 7–8 с использованием 1 М NaOH с достижением полного растворения. Буферные растворы, содержащие пептид, подвергали солевому обмену с использованием картриджа Sep-Pak C18 (0,5–2 г). Картридж сначала уравнивали 4 объемами колонки изопропанола, затем 4 объемами колонки MeCN, затем 8 объемами колонки воды. Раствор пептида вводили в

картридж, и элюат наносили повторно, чтобы гарантировать полное удержание пептида. Картридж промывали 4 объемами колонки воды, затем 10 объемами колонки буферного раствора (например, pH 7,5), содержащего, например, без ограничения NaHCO_3 , NaOAc или Na_2HPO_4 . Колонку промывали 4 объемами колонки воды и пептид элюировали 5–10 объемами колонки 50–80% MeCN в воде. Элюент, содержащий пептид, лиофилизировали с получением натриевой соли пептида в виде белого твердого вещества, которую использовали как таковую.

Общие способы детекции и определения характеристик

Способы LCMS:

10 Способ: LCMS_A

LCMS_A выполняли на установке, состоящей из системы для HPLC Agilent 1260 Infinity series и Agilent Technologies 6120 Quadrupole MS. Элюенты: А: 0,05% TFA в воде; В: 0,05% TFA в смеси MeCN/вода 9:1.

Анализ выполняли при к. т. (температура колонки 37С) путем введения подходящего объема образца в колонку, которую элюировали градиентом А и В. Колонка: Phenomenex Kinetex C8, 2,6 мкм, 100 Å, 4,6 x 75 мм. Время прохождения градиента: линейно 10–80% В за 10 мин при скорости потока 1,0 мл/мин. Детекция: детектор на диодной матрице с установкой на 214 нм. Режим ионизации при MS: API-ES, положительная полярность. Диапазон сканирования массы при MS: 500–2000 а. е. м.

20 Приведен наиболее распространенный изотоп для каждого значения *масса/заряд*.

Способ: LCMS_B

LCMS_B выполняли на установке, состоящей из системы для HPLC Agilent 1260 Infinity series и Agilent Technologies 6120 Quadrupole MS. Элюенты: А: 0,05% TFA в воде; В: 0,05% TFA в смеси MeCN/вода 9:1.

25 Анализ выполняли при к. т. (температура колонки 37С) путем введения подходящего объема образца в колонку, которую элюировали градиентом А и В. Колонка: Phenomenex Kinetex C8, 2,6 мкм, 100 Å, 4,6 x 75 мм. Время прохождения градиента: линейно 20–100% В за 10 мин при скорости потока 1,0 мл/мин. Детекция: детектор на диодной матрице с установкой на 214 нм. Режим ионизации при MS: API-ES,

положительная полярность. Диапазон сканирования массы при MS: 500–2000 а. е. м. Приведен наиболее распространенный изотоп для каждого значения *масса/заряд*.

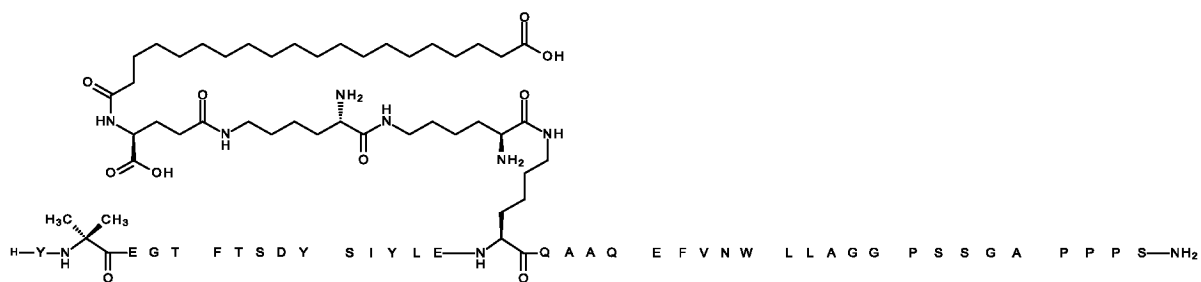
Хотя определенные признаки настоящего изобретения были проиллюстрированы и описаны в данном документе, специалистам средней квалификации в данной области техники будут очевидны многие модификации, замены, изменения и эквиваленты. Следовательно, необходимо понимать, что прилагаемые варианты осуществления предназначены для охвата всех таких модификаций и изменений, которые находятся в пределах фактической сущности настоящего изобретения.

Пример 1. Синтез соединений

10 Соединения далее описаны с применением однобуквенных кодов аминокислот за исключением Aib. Заместитель включен после лизинового (K) остатка, к которому он присоединен.

Соединение № 1

15 Y-Aib-EGTFTSDYSIYLE-K[(2S)-2-амино-6-[[[(2S)-2-амино-6-[[[(4S)-4-карбокси-4-(19-карбоксононадеканоиламино)бутаноил]амино]гексаноил]амино]гексаноил]-QAAQEFVNWLLAGGPSSGAPPPS-NH₂



SEQ ID NO: 1 с С-концевой амидной модификацией; заместитель: С; положение заместителя: K16

20 Способы синтеза: SPPS_A; SC_B; CP_A

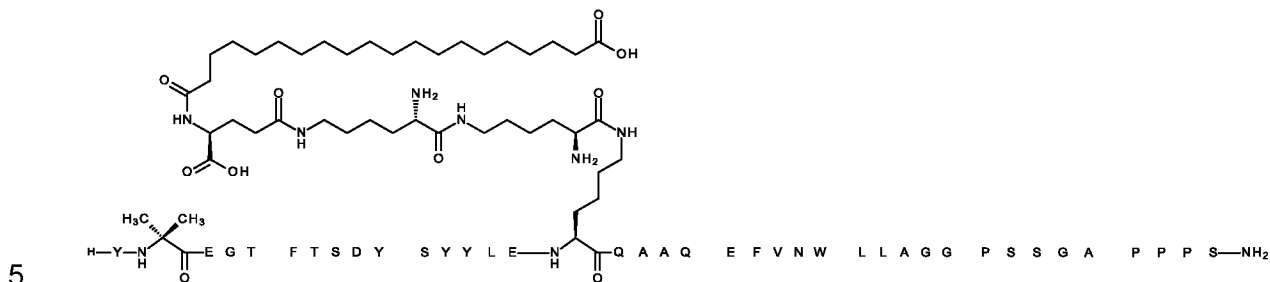
Расчетная молекулярная масса (средняя): 4873,5 Да

LCMS_A: Rt = 6,0 мин; определенное значение [M+3H]³⁺ 1625,4, [M+4H]⁴⁺ 1219,1

Соединение № 2

Y-Aib-EGTFTSDYSYYLE-K[(2S)-2-амино-6-[[[(2S)-2-амино-6-[[[(4S)-4-карбокси-4-(19-карбоксихептадеканоиламино)бутаноил]амино]гексаноил]амино]гексаноил]-

QAAQEFVNWLLAGGPSSGAPPPS-NH₂



SEQ ID NO: 2 с С-концевой амидной модификацией; заместитель: С; положение заместителя: К16

Способы синтеза: SPPS_A; SC_B; CP_A

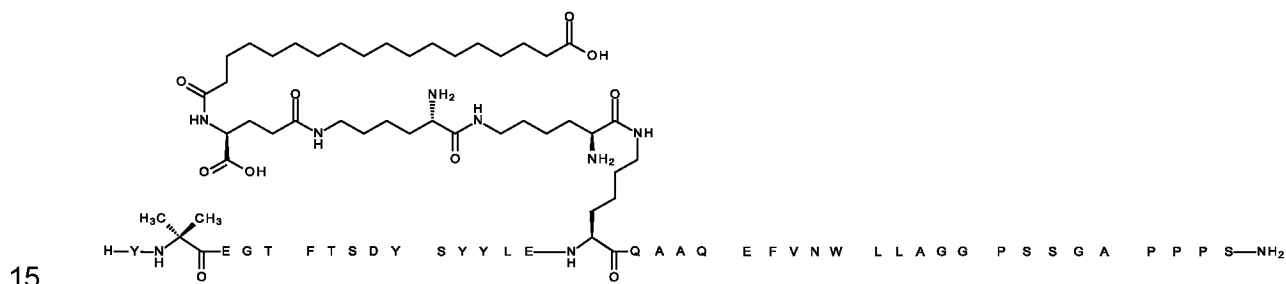
Расчетная молекулярная масса (средняя): 4923,5 Да

10 LCMS_A: Rt = 6,0 мин; определенное значение [M+3H]³⁺ 1641,8, [M+4H]⁴⁺ 1237,5

Соединение № 3

Y-Aib-EGTFTSDYSYYLE-K[(2S)-2-амино-6-[[[(2S)-2-амино-6-[[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксихептадеканоиламино)бутаноил]амино]гексаноил]амино]гексаноил]-

QAAQEFVNWLLAGGPSSGAPPPS-NH₂



SEQ ID NO: 2 с С-концевой амидной модификацией; заместитель: В; положение заместителя: К16

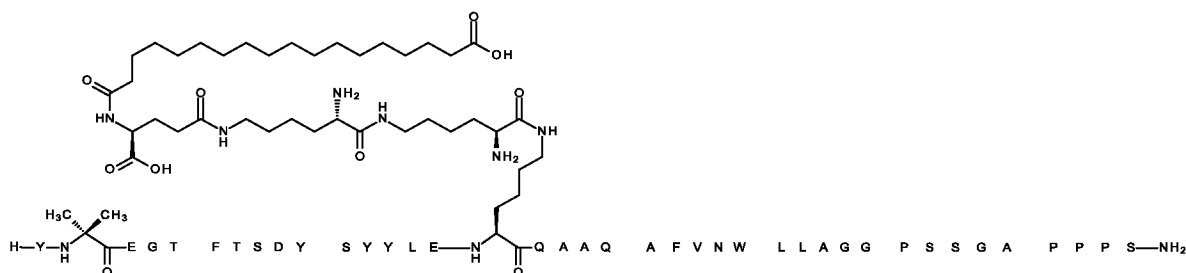
Способы синтеза: SPPS_A; SC_B; CP_A

Расчетная молекулярная масса (средняя): 4895,4 Да

LCMS_A: Rt = 5,7 мин; определенное значение $[M+3H]^{3+}$ 1632,7, $[M+4H]^{4+}$ 1224,6

Соединение № 4

Y-Aib-EGTFTSDYSYYLE-K[(2S)-2-амино-6-[[[(2S)-2-амино-6-[[[(4S)-4-карбокси-4-(17-
5 карбоксигептадеканоиламино)бутаноил]амино]гексаноил]амино]гексаноил]-
QAAQAFVNWLLAGGPSSGAPPPS-NH₂



SEQ ID NO: 3 с С-концевой амидной модификацией; заместитель: В; положение заместителя: K16

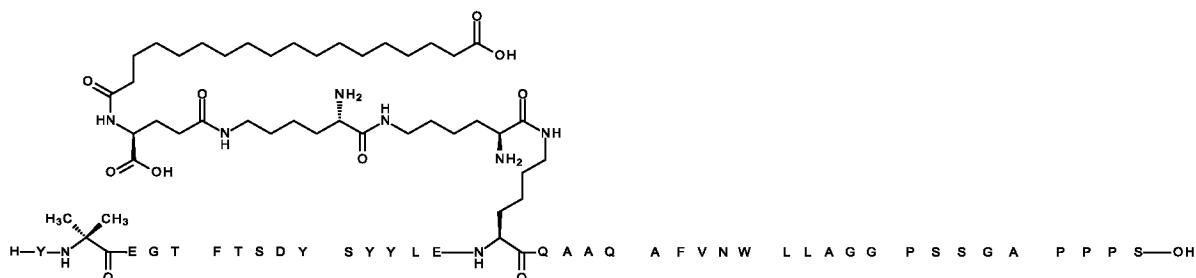
10 Способы синтеза: SPPS_A; SC_B; CP_A

Расчетная молекулярная масса (средняя): 4837,4 Да

LCMS_A: Rt = 5,7 мин; определенное значение $[M+3H]^{3+}$ 1613,3, $[M+4H]^{4+}$ 1210,1

Соединение № 5

Y-Aib-EGTFTSDYSYYLE-K[(2S)-2-амино-6-[[[(2S)-2-амино-6-[[[(4S)-4-карбокси-4-(17-
15 карбоксигептадеканоиламино)бутаноил]амино]гексаноил]амино]гексаноил]-
QAAQAFVNWLLAGGPSSGAPPPS-OH



SEQ ID NO: 3; заместитель: В; положение заместителя: K16

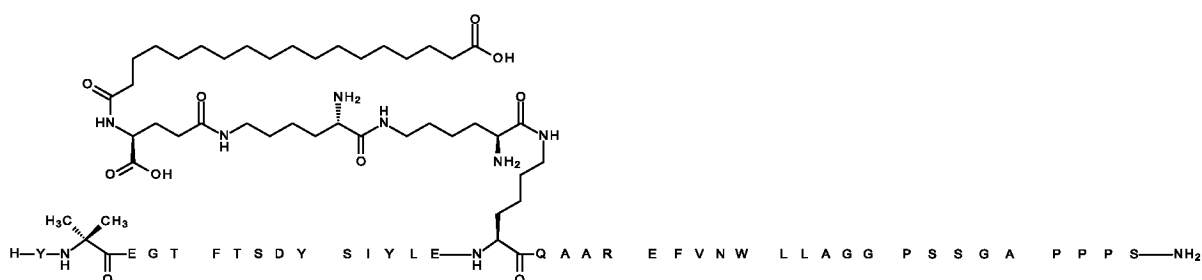
Способы синтеза: SPPS_B; SC_B; CP_A

Расчетная молекулярная масса (средняя): 4838,4 Да

LCMS_A: Rt = 5,7 мин; определенное значение $[M+3H]^{3+}$ 1613,6, $[M+4H]^{4+}$ 1210,4

Соединение № 6

- 5 Y-Aib-EGTFTSDYSIYLE-K[(2S)-2-амино-6-[[[(2S)-2-амино-6-[[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксихептадеканоиламино)бутаноил]амино]гексаноил]амино]гексаноил]-QAAREFVNWLLAGGPSSGAPPPS-NH₂



- 10 SEQ ID NO: 4 с C-концевой амидной модификацией; заместитель: В; положение заместителя: K16

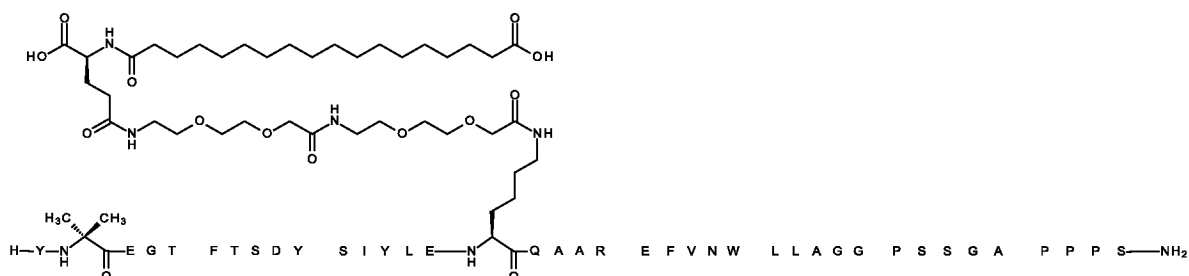
Способы синтеза: SPPS_B; SC_B; CP_A

Расчетная молекулярная масса (средняя): 4873,5 Да

LCMS_A: Rt = 5,6 мин; определенное значение $[M+3H]^{3+}$ 1625,3, $[M+4H]^{4+}$ 1219,1

Соединение № 7

- 15 Y-Aib-EGTFTSDYSIYLE-K[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксихептадеканоиламино)бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]-QAAREFVNWLLAGGPSSGAPPPS-NH₂



SEQ ID NO: 4 с С-концевой амидной модификацией; заместитель: А; положение заместителя: К16

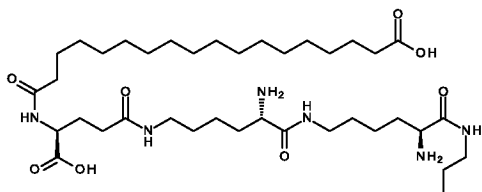
Способы синтеза: SPPS_B; SC_B; CP_A

Расчетная молекулярная масса (средняя): 4907,4 Да

5 LCMS_A: Rt = 6,3 мин; определенное значение $[M+3H]^{3+}$ 1636,5, $[M+4H]^{4+}$ 1227,9

Соединение № 8

Y-Aib-EGTFTSDYSIYLE-K[(2S)-2-амино-6-[[[(2S)-2-амино-6-[[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксигептадеканоиламино)бутаноил]амино]гексаноил]амино]гексаноил]-QAAREFINWLLAGGPSSGAPPPS-NH₂



10

SEQ ID NO: 5 с С-концевой амидной модификацией; заместитель: В; положение заместителя: К16

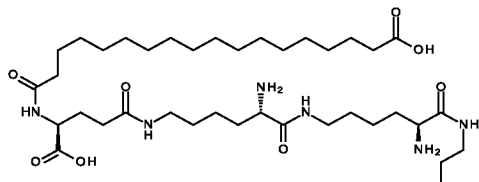
Способы синтеза: SPPS_A; SC_A; CP_A

Расчетная молекулярная масса (средняя): 4887,5 Да

15 LCMS_A: Rt = 5,7 мин; определенное значение $[M+3H]^{3+}$ 1629,8, $[M+4H]^{4+}$ 1222,8

Соединение № 9

Y-Aib-EGTFTSDYSIYLE-K[(2S)-2-амино-6-[[[(2S)-2-амино-6-[[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксигептадеканоиламино)бутаноил]амино]гексаноил]амино]гексаноил]-QAAREFIEWLLAGGPSSGAPPPS-OH



SEQ ID NO: 6; заместитель: B; положение заместителя: K16

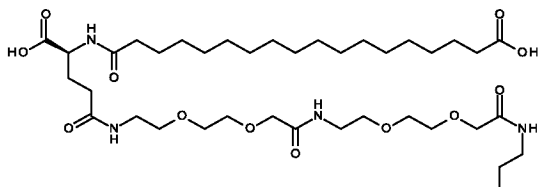
Способы синтеза: SPPS_A; SC_B; CP_A

Расчетная молекулярная масса (средняя): 4903,5 Да

5 LCMS_A: Rt = 5,8 мин; определенное значение $[M+3H]^{3+}$ 1635,2, $[M+4H]^{4+}$ 1226,8

Соединение № 10

Y-Aib-EGTFTSDYSIYLE-K[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксихептадеканоиламино)бутаноил]амино]этоксид]этоксид]ацетил]амино]этоксид]этоксид]ацетил]-QAAREFIEWLLAGGPSSGAPPPS-OH



10

SEQ ID NO: 6; заместитель: A; положение заместителя: K16

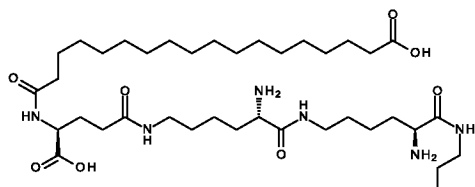
Способы синтеза: SPPS_A; SC_B; CP_A

Расчетная молекулярная масса (средняя): 4937,5 Да

LCMS_A: Rt = 6,5 мин; определенное значение $[M+3H]^{3+}$ 1646,6, $[M+4H]^{4+}$ 1235,1

Соединение № 11

Y-Aib-EGTFTSDYSIYLE-K[(2S)-2-амино-6-[[[(2S)-2-амино-6-[[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксигептадеканоиламино)бутаноил]амино]гексаноил]амино]гексаноил]-QAAREFINWLLAGGPSSGAPPPS-OH



5

SEQ ID NO: 5; заместитель: В; положение заместителя: K16

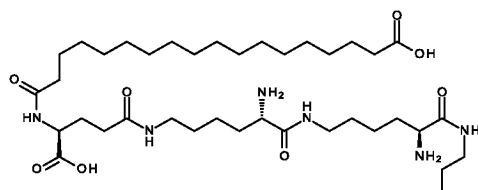
Способы синтеза: SPPS_A; SC_C; CP_A

Расчетная молекулярная масса (средняя): 4888,5 Да

LCMS_A: Rt = 5,7 мин; определенное значение $[M+3H]^{3+}$ 1630,2, $[M+4H]^{4+}$ 1222,9

10 Соединение № 12

Y-Aib-EGTFTSDYSIYLE-K[(2S)-2-амино-6-[[[(2S)-2-амино-6-[[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксигептадеканоиламино)бутаноил]амино]гексаноил]амино]гексаноил]-QAAREFIEWLLRGGPSSGAPPPS-OH



15 Способы синтеза: SPPS_A; SC_C; CP_A

SEQ ID NO: 7; заместитель: В; положение заместителя: K16

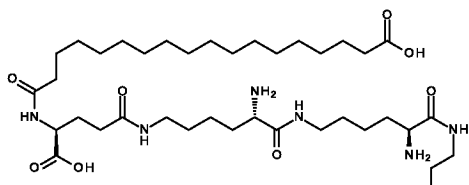
Расчетная молекулярная масса (средняя): 4988,6 Да

LCMS_A: Rt = 5,7 мин; определенное значение $[M+3H]^{3+}$ 1663,6, $[M+4H]^{4+}$ 1248,0

Соединение № 13

Y-Aib-EGTFTSDYSIYLE-K[(2S)-2-амино-6-[[[(2S)-2-амино-6-[[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксигептадеканоиламино)бутаноил]амино]гексаноил]амино]гексаноил]-

5 QAAREFIEWLLRGGPESGAPPPS-OH



SEQ ID NO: 8; заместитель: В; положение заместителя: К16

Способы синтеза: SPPS_A; SC_C; CP_A

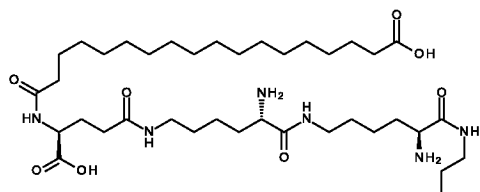
Расчетная молекулярная масса (средняя): 5030,6 Да

10 LCMS_A: Rt = 5,7 мин; определенное значение $[M+3H]^{3+}$ 1677,7, $[M+4H]^{4+}$ 1258,4

Соединение № 14

Y-Aib-EGTFTSDYSIALE-K[(2S)-2-амино-6-[[[(2S)-2-амино-6-[[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксигептадеканоиламино)бутаноил]амино]гексаноил]амино]гексаноил]-

15 QAAREFINWLLAGGPSSGAPPPS-OH



15

SEQ ID NO: 9; заместитель: В; положение заместителя: К16

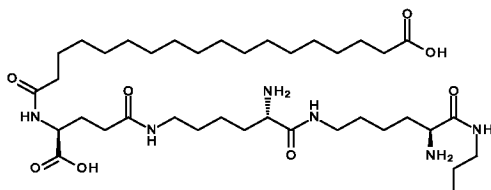
Способы синтеза: SPPS_A; SC_C; CP_A

Расчетная молекулярная масса (средняя): 4796,4 Да

LCMS_A: Rt = 5,7 мин; определенное значение $[M+3H]^{3+}$ 1599,6, $[M+4H]^{4+}$ 1199,8

Соединение № 15

Y-Aib-EGTFTSDYSILLE-K[(2S)-2-амино-6-[[[(2S)-2-амино-6-[[[(4S)-4-карбокси-4-(17-
5 карбоксигептадеканоиламино)бутаноил]амино]гексаноил]амино]гексаноил]-
QAAREFINWLLAGGPSSGAPPPS-OH



SEQ ID NO: 10; заместитель: В; положение заместителя: К16

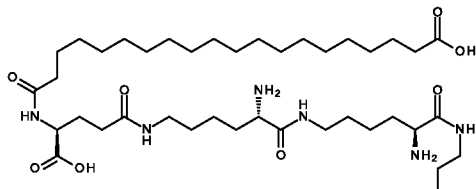
Способы синтеза: SPPS_A; SC_A; CP_A; SX_A

10 Расчетная молекулярная масса (средняя): 4838,5 Да

LCMS_A: Rt = 5,8 мин; определенное значение $[M+3H]^{3+}$ 1613,4, $[M+4H]^{4+}$ 1210,3

Соединение № 16

Y-Aib-EGTFTSDYSIYLE-K[(2S)-2-амино-6-[[[(2S)-2-амино-6-[[[(4S)-4-карбокси-4-(19-
15 карбоксинонадеканоиламино)бутаноил]амино]гексаноил]амино]гексаноил]-
QAAREFINWLLAGGPSSGAPPPS-OH



SEQ ID NO: 5; заместитель: С; положение заместителя: К16

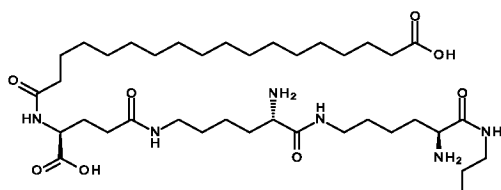
Способы синтеза: SPPS_A; SC_A; CP_A

Расчетная молекулярная масса (средняя): 4916,5 Да

LCMS_A: Rt = 6,0 мин; определенное значение $[M+3H]^{3+}$ 1639,6, $[M+4H]^{4+}$ 1229,9

Соединение № 17

- 5 YАEGTFTSDYSIYLE-K[(2S)-2-амино-6-[[[(2S)-2-амино-6-[[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксигептадеканоиламино)бутаноил]амино]гексаноил]амино]гексаноил]-QAAREFINWLLAGGPSSGAPPPS-OH



SEQ ID NO: 11; заместитель: В; положение заместителя: К16

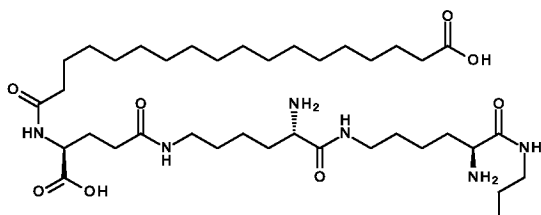
- 10 Способы синтеза: SPPS_C; SC_A; CP_A

Расчетная молекулярная масса (средняя): 4874,5 Да

LCMS_A: Rt = 5,7 мин; определенное значение $[M+3H]^{3+}$ 1625,4, $[M+4H]^{4+}$ 1219,4

Соединение № 18

- 15 Y-Aib-EGTFTSDYSILLE-K[(2S)-2-амино-6-[[[(2S)-2-амино-6-[[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксигептадеканоиламино)бутаноил]амино]гексаноил]амино]гексаноил]-QAAREFINWLLAG-OH



SEQ ID NO: 12; заместитель: В; положение заместителя: К16

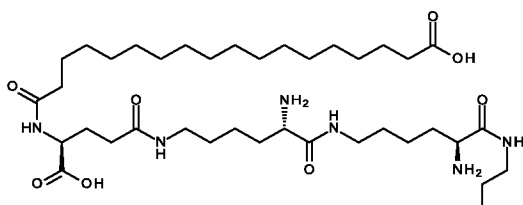
Способы синтеза: SPPS_A; SC_A; CP_A

Расчетная молекулярная масса (средняя): 4003,6 Да

LCMS_A: Rt = 6,2 мин; определенное значение $[M+3H]^{3+}$ 1335,3, $[M+4H]^{4+}$ 1001,7

5 Соединение № 19

Y-Aib-EGTFTSDYSILLE-K[(2S)-2-амино-6-[[[(2S)-2-амино-6-[[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксигептадеканоиламино)бутаноил]амино]гексаноил]амино]гексаноил]-QAAREFINWLLAGGP-OH



10 SEQ ID NO: 13; заместитель: В; положение заместителя: К16

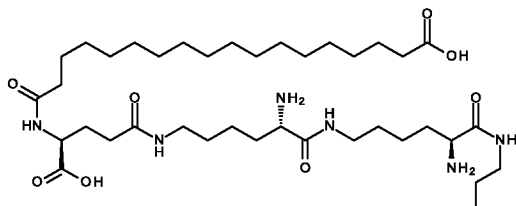
Способы синтеза: SPPS_A; SC_A; CP_A

Расчетная молекулярная масса (средняя): 4157,8 Да

LCMS_A: Rt = 6,1 мин; определенное значение $[M+3H]^{3+}$ 1386,6, $[M+4H]^{4+}$ 1040,3

Соединение № 20

15 Y-Aib-EGTFTSDYSILLE-K[(2S)-2-амино-6-[[[(2S)-2-амино-6-[[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксигептадеканоиламино)бутаноил]амино]гексаноил]амино]гексаноил]-QAAREFINWLLAGGPSS-OH



SEQ ID NO: 14; заместитель: В; положение заместителя: К16

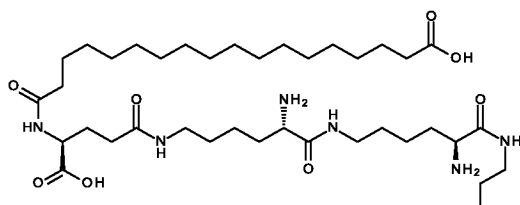
Способы синтеза: SPPS_A; SC_A; CP_A

Расчетная молекулярная масса (средняя): 4331,9 Да

5 LCMS_A: Rt = 5,9 мин; определенное значение $[M+3H]^{3+}$ 1444,7, $[M+4H]^{4+}$ 1083,7

Соединение № 21

Y-Aib-EGTFTSDYSILLE-K[(2S)-2-амино-6-[[[(2S)-2-амино-6-[[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксигептадеканоиламино)бутаноил]амино]гексаноил]амино]гексаноил]-QAAREFINWLLAGGPSSGA-OH



10

SEQ ID NO: 15; заместитель: В; положение заместителя: К16

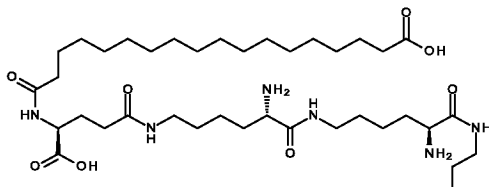
Способы синтеза: SPPS_A; SC_A; CP_A

Расчетная молекулярная масса (средняя): 4460,0 Да

LCMS_A: Rt = 5,9 мин; определенное значение $[M+3H]^{3+}$ 1487,5, $[M+4H]^{4+}$ 1116,1

Соединение № 22

Y-Aib-EGTFTSDYSILLE-K[(2S)-2-амино-6-[[[(2S)-2-амино-6-[[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксигептадеканоиламино)бутаноил]амино]гексаноил]амино]гексаноил]-QAAREFVNWLLAGGPSSGAPPPS-OH



5

SEQ ID NO: 16; заместитель: В; положение заместителя: К16

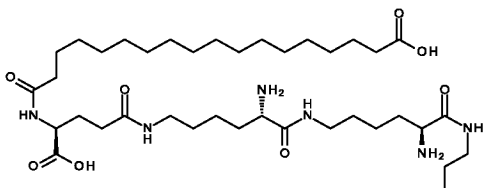
Способы синтеза: SPPS_A; SC_A; CP_A

Расчетная молекулярная масса (средняя): 4824,4 Да

LCMS_A: Rt = 5,7 мин; определенное значение $[M+3H]^{3+}$ 1608,9, $[M+4H]^{4+}$ 1206,9

10 Соединение № 23

Y-Aib-EGTFTSDYSILLE-K[(2S)-2-амино-6-[[[(2S)-2-амино-6-[[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксигептадеканоиламино)бутаноил]амино]гексаноил]амино]гексаноил]-QAAREFIQWLLAGGPSSGAPPPS-OH



15 SEQ ID NO: 17; заместитель: В; положение заместителя: К16

Способы синтеза: SPPS_A; SC_A; CP_A

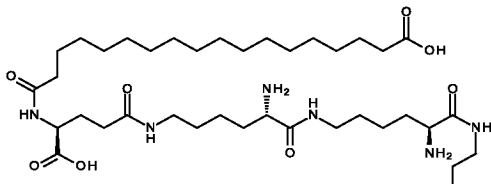
Расчетная молекулярная масса (средняя): 4852,5 Да

LCMS_A: Rt = 5,9 мин; определенное значение $[M+3H]^{3+}$ 1618,4, $[M+4H]^{4+}$ 1214,1

Соединение № 24

Y-Aib-EGTFTSDYSILLE-K[(2S)-2-амино-6-[[[(2S)-2-амино-6-[[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксигептадеканоиламино)бутаноил]амино]гексаноил]амино]гексаноил]-

5 QAAQEFINWLLAGGPSSGAPPPS-OH



SEQ ID NO: 18; заместитель: В; положение заместителя: К16

Способы синтеза: SPPS_A; SC_C; CP_A

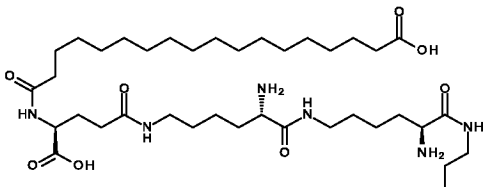
Расчетная молекулярная масса (средняя): 4810,4 Да

10 LCMS_A: Rt = 6,0 мин; определенное значение $[M+3H]^{3+}$ 1604,0, $[M+4H]^{4+}$ 1203,4

Соединение № 25

Y-Aib-EGTFTSDYSILLE-K[(2S)-2-амино-6-[[[(2S)-2-амино-6-[[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксигептадеканоиламино)бутаноил]амино]гексаноил]амино]гексаноил]-

QAAEEFINWLLAGGPSSGAPPPS-OH



15

SEQ ID NO: 19; заместитель: В; положение заместителя: К16

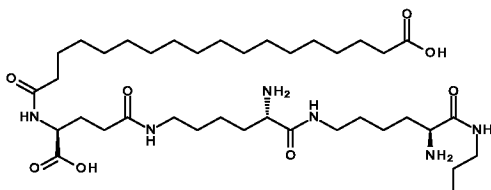
Способы синтеза: SPPS_A; SC_C; CP_A

Расчетная молекулярная масса (средняя): 4811,4 Да

LCMS_A: Rt = 6,1 мин; определенное значение $[M+3H]^{3+}$ 1604,4, $[M+4H]^{4+}$ 1203,6

Соединение № 26

Y-Aib-EGTFTSDYSILLE-K[(2S)-2-амино-6-[[[(2S)-2-амино-6-[[[(4S)-4-карбокси-4-(17-
5 карбоксигептадеканоиламино)бутаноил]амино]гексаноил]амино]гексаноил]-
QAAHEFINWLLAGGPSSGAPPPS-OH



SEQ ID NO: 20; заместитель: В; положение заместителя: К16

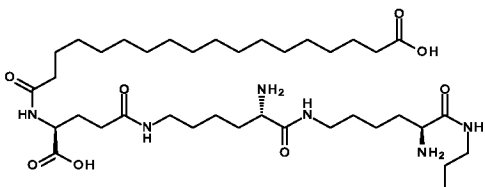
Способы синтеза: SPPS_A; SC_C; CP_A

10 Расчетная молекулярная масса (средняя): 4819,4 Да

LCMS_A: Rt = 5,8 мин; определенное значение $[M+3H]^{3+}$ 1607,1, $[M+4H]^{4+}$ 1205,5

Соединение № 27

Y-Aib-EGTFTSDYSILLE-K[(2S)-2-амино-6-[[[(2S)-2-амино-6-[[[(4S)-4-карбокси-4-(17-
15 карбоксигептадеканоиламино)бутаноил]амино]гексаноил]амино]гексаноил]-
QAAREFIEWLLRGGPSSGAPPPS-OH



SEQ ID NO: 21; заместитель: В; положение заместителя: К16

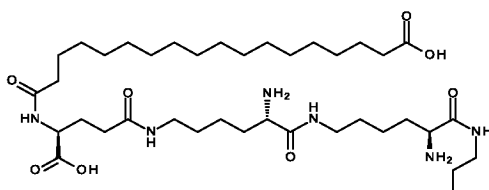
Способы синтеза: SPPS_A; SC_C; CP_A

Расчетная молекулярная масса (средняя): 4938,6 Да

LCMS_A: Rt = 5,7 мин; определенное значение $[M+3H]^{3+}$ 1646,9, $[M+4H]^{4+}$ 1235,4

Соединение № 28

- 5 Y-Aib-EGTFTSDYSILLE-K[(2S)-2-амино-6-[[[(2S)-2-амино-6-[[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксигептадеканоиламино)бутаноил]амино]гексаноил]амино]гексаноил]-QAAREFIEWLLRGGPESGAPPPS-OH



SEQ ID NO: 22; заместитель: В; положение заместителя: К16

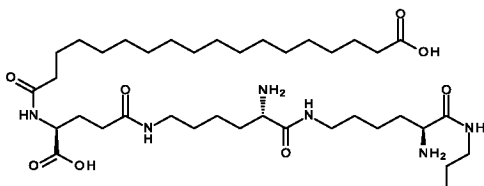
- 10 Способы синтеза: SPPS_A; SC_A; CP_A; SX_A

Расчетная молекулярная масса (средняя): 4980,6 Да

LCMS_A: Rt = 5,8 мин; определенное значение $[M+3H]^{3+}$ 1660,7, $[M+4H]^{4+}$ 1246,0

Соединение № 29

- 15 Y-Aib-EGTFTSDYSILLE-K[(2S)-2-амино-6-[[[(2S)-2-амино-6-[[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксигептадеканоиламино)бутаноил]амино]гексаноил]амино]гексаноил]-QAAQEFIEWLLAGGPSSGAPPPS-OH



SEQ ID NO: 23; заместитель: В; положение заместителя: К16

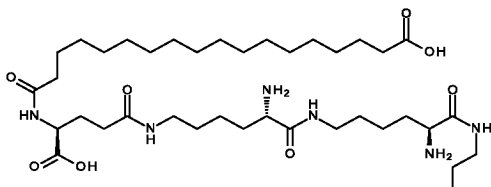
Способы синтеза: SPPS_A; SC_A; CP_A; SX_A

Расчетная молекулярная масса (средняя): 4825,4 Да

LCMS_A: Rt = 6,1 мин; определенное значение $[M+3H]^{3+}$ 1609,3, $[M+4H]^{4+}$ 1207,0

5 Соединение № 30

Y-Aib-EGTFTSDYSILLE-K[(2S)-2-амино-6-[[[(2S)-2-амино-6-[[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксигептадеканоиламино)бутаноил]амино]гексаноил]амино]гексаноил]-QAANEFIEWLLAGGPSSGAPPPS-OH



10 SEQ ID NO: 24; заместитель: В; положение заместителя: К16

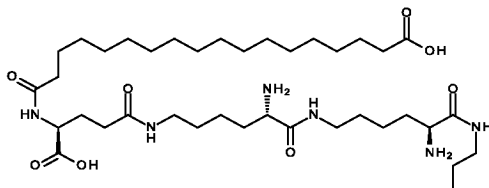
Способы синтеза: SPPS_A; SC_A; CP_A

Расчетная молекулярная масса (средняя): 4834,4 Да

LCMS_A: Rt = 5,8 мин; определенное значение $[M+3H]^{3+}$ 1612,1, $[M+4H]^{4+}$ 1209,3

Соединение № 31

15 Y-Aib-EGTFTSDYSILLE-K[(2S)-2-амино-6-[[[(2S)-2-амино-6-[[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксигептадеканоиламино)бутаноил]амино]гексаноил]амино]гексаноил]-QAAREFIEWLLAGGPSSGAPPPS-OH



SEQ ID NO: 25; заместитель: В; положение заместителя: К16

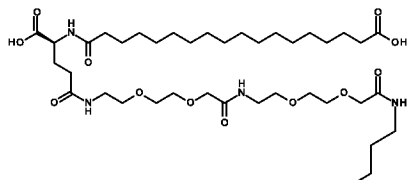
Способы синтеза: SPPS_A; SC_A; CP_A; SX_A

Расчетная молекулярная масса (средняя): 4853,5 Да

5 LCMS_A: Rt = 5,9 мин; определенное значение $[M+3H]^{3+}$ 1618,5, $[M+4H]^{4+}$ 1214,2

Соединение № 32

Y-Aib-EGTFTSDYSILLE-K[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксигептадеканоиламино)бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]-QAAREFIEWLLAGGPSSGAPPPS-OH



10

SEQ ID NO: 25; заместитель: А; положение заместителя: К16

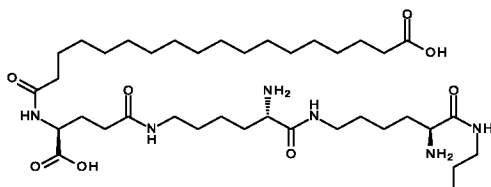
Способы синтеза: SPPS_A; SC_A; CP_A

Расчетная молекулярная масса (средняя): 4887,4 Да

LCMS_A: Rt = 6,6 мин; определенное значение $[M+3H]^{3+}$ 1629,8, $[M+4H]^{4+}$ 1222,8

Соединение № 33

Y-Aib-EGTVTSDYSILLE-K[(2S)-2-амино-6-[[[(2S)-2-амино-6-[[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксигептадеканоиламино)бутаноил]амино]гексаноил]амино]гексаноил]-QAAREFINWLLAGGPSSGAPPPS-OH



5

SEQ ID NO: 26; заместитель: В; положение заместителя: К16

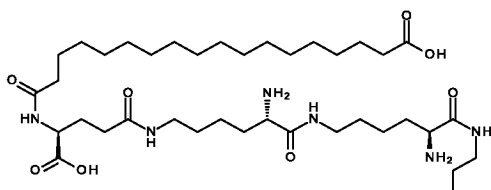
Способы синтеза: SPPS_A; SC_A; CP_A

Расчетная молекулярная масса (средняя): 4790,4 Да

LCMS_A: Rt = 5,8 мин; определенное значение $[M+3H]^{3+}$ 1597,4, $[M+4H]^{4+}$ 1198,3

10 Соединение № 34

Y-Aib-EGTFTSDYSIILE-K[(2S)-2-амино-6-[[[(2S)-2-амино-6-[[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксигептадеканоиламино)бутаноил]амино]гексаноил]амино]гексаноил]-QAAREFINWLLAGGPSSGAPPPS-OH



15 SEQ ID NO: 27; заместитель: В; положение заместителя: К16

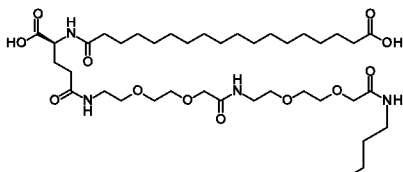
Способы синтеза: SPPS_A; SC_A; CP_A

Расчетная молекулярная масса (средняя): 4838,5 Да

LCMS_A: Rt = 5,8 мин; определенное значение $[M+3H]^{3+}$ 1613,4, $[M+4H]^{4+}$ 1210,3

Соединение № 35

Y-Aib-EGTFTSDYSILLE-K[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-(17-
карбоксигептадеканоиламино)бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]это
5 кси]ацетил]-QAAREFINWLLAGGPSSGAPPPS-OH



SEQ ID NO: 10; заместитель: A; положение заместителя: K16

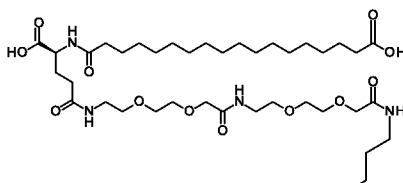
Способы синтеза: SPPS_A; SC_A; CP_A

Расчетная молекулярная масса (средняя): 4872,4 Да

10 LCMS_A: Rt = 6,6 мин; определенное значение $[M+3H]^{3+}$ 1624,9, $[M+4H]^{4+}$ 1218,9

Соединение № 36

Y-Aib-EGTFTSDYSIILE-K[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-(17-
карбоксигептадеканоиламино)бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]это
кси] ацетил]-QAAREFINWLLAGGPSSGAPPPS-OH



15

SEQ ID NO: 27; заместитель: A; положение заместителя: K16

Способы синтеза: SPPS_A; SC_A; CP_A

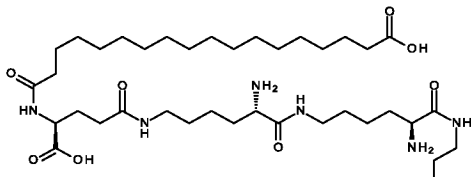
Расчетная молекулярная масса (средняя): 4872,4 Да

LCMS_A: Rt = 6,5 мин; определенное значение $[M+3H]^{3+}$ 1624,8, $[M+4H]^{4+}$ 1218,9

Соединение № 37

Y-Aib-EGTFTSDYSIYLEEQAAR-K[(2S)-2-амино-6-[[[(2S)-2-амино-6-[[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксигептадеканоиламино)бутаноил]амино]гексаноил]амино]гексаноил]-

5 FINWLLAGGPSSGAPPPS-OH



SEQ ID NO: 28; заместитель: В; положение заместителя: K21

Способы синтеза: SPPS_A; SC_C; CP_A

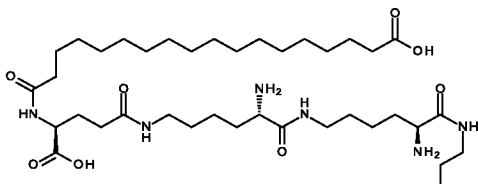
Расчетная молекулярная масса (средняя): 4888,5 Да

10 LCMS_A: Rt = 6,0 мин; определенное значение $[M+3H]^{3+}$ 1630,3, $[M+4H]^{4+}$ 1223,0

Соединение № 38

Y-Aib-EGTFTSDYSIYLEE-K[(2S)-2-амино-6-[[[(2S)-2-амино-6-[[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксигептадеканоиламино)бутаноил]амино]гексаноил]амино]гексаноил]-

AAREFINWLLAGGPSSGAPPPS-OH



15

SEQ ID NO: 29; заместитель: В; положение заместителя: K17

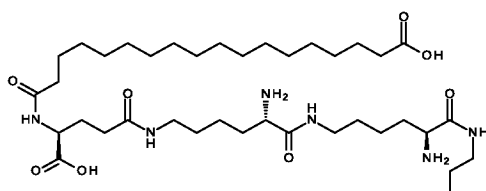
Способы синтеза: SPPS_C; SC_C; CP_A

Расчетная молекулярная масса (средняя): 4889,5 Да

LCMS_A: Rt = 6,0 мин; определенное значение $[M+3H]^{3+}$ 1630,6, $[M+4H]^{4+}$ 1223,2

Соединение № 39

Y-Aib-EGTFTSDYSILLEEQAAAR-K[(2S)-2-амино-6-[[[(2S)-2-амино-6-[[[(4S)-4-карбокси-
5 4-(17-карбоксигептадеканоиламино)бутаноил]амино]гексаноил]амино]гексаноил]-
FINWLLAGGPSSGAPPPS-OH



SEQ ID NO: 30; заместитель: В; положение заместителя: K21

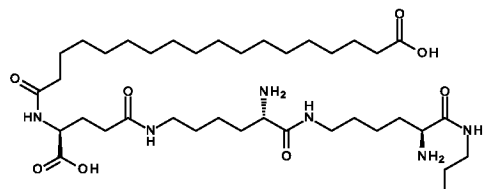
Способы синтеза: SPPS_A; SC_C; CP_A

10 Расчетная молекулярная масса (средняя): 4838,5 Да

LCMS_A: Rt = 6,2 мин; определенное значение $[M+3H]^{3+}$ 1613,5, $[M+4H]^{4+}$ 1210,4

Соединение № 40

Y-Aib-EGTFTSDYS-K[(2S)-2-амино-6-[[[(2S)-2-амино-6-[[[(4S)-4-карбокси-4-(17-
карбоксигептадеканоиламино)бутаноил]амино]гексаноил]амино]гексаноил]-
15 LLEEQAAREFIEWLLAGGPSSGAPPPS-OH



SEQ ID NO: 31; заместитель: В; положение заместителя: K12

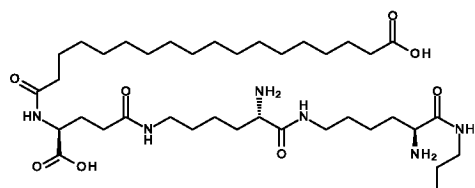
Способы синтеза: SPPS_A; SC_A; CP_A

Расчетная молекулярная масса (средняя): 4869,4 Да

LCMS_A: Rt = 5,7 мин; определенное значение $[M+3H]^{3+}$ 1623,8, $[M+4H]^{4+}$ 1218,2

Соединение № 41

- 5 Y-Aib-EGTFTSDYS-K[(2S)-2-амино-6-[[[(2S)-2-амино-6-[[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксигептадеканоиламино)бутаноил]амино]гексаноил]амино]гексаноил]-YLEEQAAREFINWLLAGGPSSGAPPPS-OH



SEQ ID NO: 32; заместитель: В; положение заместителя: К12

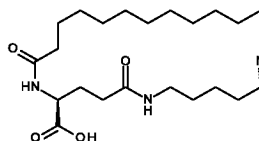
- 10 Способы синтеза: SPPS_A; SC_A; CP_A

Расчетная молекулярная масса (средняя): 4904,4 Да

LCMS_A: Rt = 5,7 мин; определенное значение $[M+3H]^{3+}$ 1635,4, $[M+4H]^{4+}$ 1226,7

Соединение № 42

- 15 Y-Aib-EGTFTSDYSIYLEEQAAREFINWLLAGGPS-K[(2S)-2-амино-6-[[[(2S)-2-амино-6-[[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксигептадеканоиламино)бутаноил]амино]гексаноил]амино]гексаноил]-GAPPPS-OH



SEQ ID NO: 33; заместитель: В; положение заместителя: К33

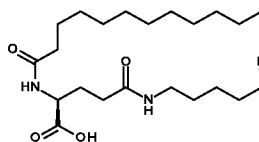
Способы синтеза: SPPS_A; SC_A; CP_A

Расчетная молекулярная масса (средняя): 4930,5 Да

LCMS_A: Rt = 6,2 мин; определенное значение $[M+3H]^{3+}$ 1644,2, $[M+4H]^{4+}$ 1233,4

5 Соединение № 43

Y-Aib-EGTFTSDYSILLEEQAAREFIEWLLAGGPS-K[(2S)-2-амино-6-[[[(2S)-2-амино-6-[[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксихептадеканоиламино)бутаноил]амино]гексаноил]амино]гексаноил]-GAPPPS-OH



10

SEQ ID NO: 34; заместитель: В; положение заместителя: К33

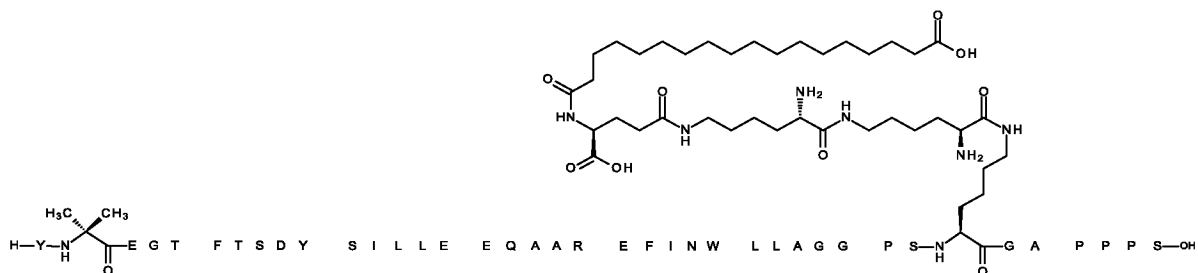
Способы синтеза: SPPS_A; SC_A; CP_A

Расчетная молекулярная масса (средняя): 4895,5 Да

LCMS_A: Rt = 6,3 мин; определенное значение $[M+3H]^{3+}$ 1632,4, $[M+4H]^{4+}$ 1224,6

15 Соединение № 44

Y-Aib-EGTFTSDYSILLEEQAAREFINWLLAGGPS-K[(2S)-2-амино-6-[[[(2S)-2-амино-6-[[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксихептадеканоиламино)бутаноил]амино]гексаноил]амино]гексаноил]-GAPPPS-OH



SEQ ID NO: 35; заместитель: В; положение заместителя: К33

Способы синтеза: SPPS_A; SC_A; CP_A

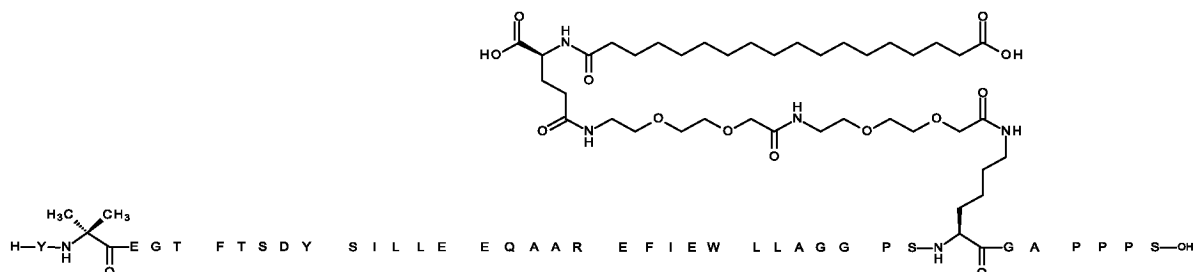
Расчетная молекулярная масса (средняя): 4880,5 Да

5 LCMS_A: Rt = 6,2 мин; определенное значение [M+3H]³⁺ 1627,5, [M+4H]⁴⁺ 1220,9

Соединение № 45

Y-Aib-EGTFTSDYSILLEEQAAREFIEWLLAGGPS-K[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[(4S)-4-карбокситетрадеканойламино)бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]-GAPPSS-OH

10



SEQ ID NO: 34; заместитель: А; положение заместителя: К33

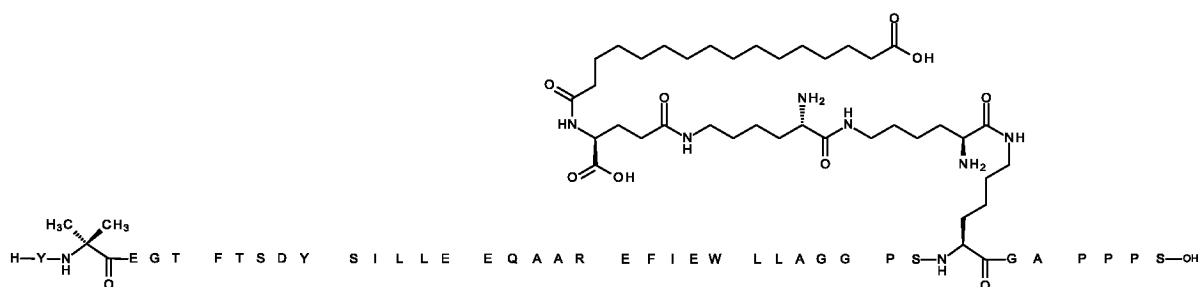
Способы синтеза: SPPS_A; SC_A; CP_A

Расчетная молекулярная масса (средняя): 4929,5 Да

15 LCMS_A: Rt = 6,6 мин; определенное значение [M+3H]³⁺ 1643,8, [M+4H]⁴⁺ 1233,1

Соединение № 46

Y-Aib-EGTFTSDYSILLEEQAAREFIEWLLAGGPS-K[(2S)-2-амино-6-[[[(2S)-2-амино-6-
 [[(4S)-4-карбокси-4-(15-
 карбоксипентадеcanoиламино)бутаноил]амино]гексаноил]амино]гексаноил]-GAPPPS-
 5 OH



SEQ ID NO: 34; заместитель: E; положение заместителя: K33

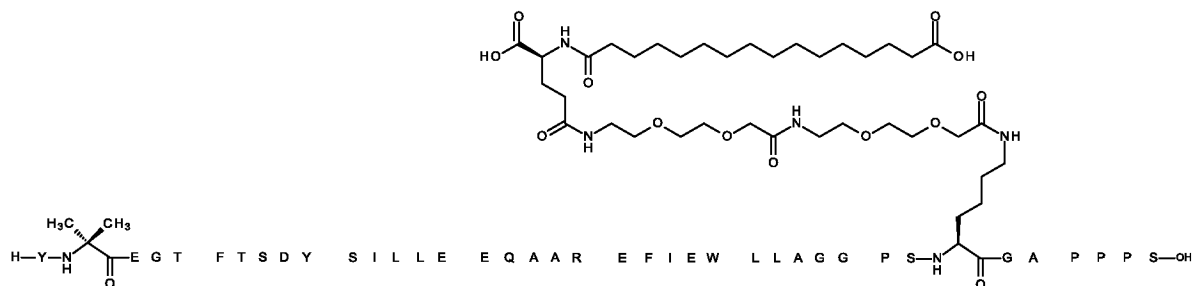
Способы синтеза: SPPS_A; SC_A; CP_A

Расчетная молекулярная масса (средняя): 4867,5 Да

10 LCMS_A: Rt = 6,1 мин; определенное значение $[M+3H]^{3+}$ 1623,1, $[M+4H]^{4+}$ 1217,6

Соединение № 47

Y-Aib-EGTFTSDYSILLEEQAAREFIEWLLAGGPS-K[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-
 карбокси-4-(15-
 карбоксипентадеcanoиламино)бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]это
 15 кси]ацетил]-GAPPPS-OH



SEQ ID NO: 34; заместитель: D; положение заместителя: K33

Способы синтеза: SPPS_A; SC_A; CP_A

Расчетная молекулярная масса (средняя): 4901,4 Да

LCMS_A: Rt = 6,3 мин; определенное значение $[M+3H]^{3+}$ 1634,6, $[M+4H]^{4+}$ 1226,1

Пример 2. Функциональная эффективность *in vitro* (CRE-люцифераза; цельные клетки)

- 5 Целью этого примера является тестирование функциональной активности или эффективности соединений *in vitro* в отношении рецепторов GLP-1 и GIP человека. Функциональная эффективность *in vitro* является мерой активации рецептора-мишени в анализе с использованием цельных клеток. Значения эффективности производных из примера 1 определяли так, как это описано ниже. GLP-1(7-37) человека и GIP человека
- 10 включали в соответствующие анализы для сравнения.

Принцип

- Функциональную эффективность *in vitro* определяли путем измерения ответа рецептора-мишени в анализе с использованием репортерного гена в отдельных
- 15 клеточных линиях. Анализ выполняли с использованием стабильно трансфицированных клеточных линий ВНК, которые экспрессируют один из следующих рецепторов, сопряженных с G-белком: рецептор GLP-1 человека или рецептор GIP человека; и при этом каждая клеточная линия содержит ДНК, кодирующую сAMP-чувствительный элемент (CRE), связанный с промотором и геном люциферазы светлячка (CRE-люцифераза). Активация соответствующего рецептора
- 20 приводит к продуцированию сAMP, что в свою очередь приводит к экспрессии белка люциферазы. После завершения инкубации реакционной смеси добавляют субстрат люциферазы (люциферин), что приводит к ферментативному превращению люциферина в оксилуциферин и индуцирует биолюминесценцию. Люминесценцию измеряют в качестве считываемого показателя в данном анализе.

25 Культивирование и получение клеток

- Клеточные линии, используемые в этих анализах, представляли собой клетки ВНК, при этом линией родительских клеток является ВНКTS13. Клеточные линии происходили от клона, содержащего CRE-люциферазный элемент, и их получали путем
- 30 дополнительной трансфекции соответствующим рецептором человека с получением соответствующей клеточной линии: ВНК CRE luc2P hGLP-1R или ВНК CRE luc2P

hGIPR. Клетки культивировали при 37°C с 5% CO₂ в среде для культивирования клеток. Их разделяли на аликвоты и хранили в жидком азоте. Клетки поддерживали в непрерывной культуре и высевали за день до каждого анализа.

Материалы

- 5 В анализе использовали следующие химические вещества: Pluronic F-68 10% (Gibco 2404), сывороточный альбумин человека (HSA; Sigma A9511), 10% фетальная бычья сыворотка (FBS; Invitrogen 16140-071), овальбумин белка куриного яйца (Sigma A5503), DMEM без фенолового красного (Gibco 21063-029), DMEM (Gibco 12430-054), 1 M Нерес (Gibco 15630), GlutaMax 100x (Gibco 35050), G418 (Invitrogen 10131-027),
10 гигромицин (Invitrogen 10687-010) и Steadylite plus (PerkinElmer 6016757).

Буферы

- Среда для культивирования клеток для GLP-1R состояла из среды DMEM с 10% FBS, 500 мкг/мл G418 и 300 мкг/мл гигромицина. Среда для культивирования клеток для GIPR состояла из среды DMEM с 10% FBS, 400 мкг/мл G418 и 300 мкг/мл гигромицина. Аналитический буфер состоял из DMEM без фенолового красного,
15 10 mM Нерес, 1x GlutaMax, 1% овальбумина и 0,1% Pluronic F-68 с добавлением HSA в двойной концентрации от конечной концентрации для анализа. Аналитический буфер смешивали 1:1 с равным объемом тестируемого соединения в аналитическом буфере с получением конечной концентрации HSA для анализа.

20 Процедура

- 1) Клетки высевали при 5000 клеток/лунка и инкубировали в течение ночи в аналитическом планшете.
- 2) Клетки однократно промывали в DPBS.
- 3) Исходные растворы тестируемых соединений и референтных соединений в
25 концентрациях в диапазоне 100–300 мкМ разбавляли в аналитическом буфере 1:150. Затем соединения разбавляли 1:10 в колонке 1 96-луночного планшета для разбавления с глубокими лунками, а затем переносили вдоль ряда для получения 12-точечной 3,5-кратной кривой разведения.

- 4) Аналитический буфер (аликвота 50 мкл) с добавлением HSA или без него вносили в каждую лунку в аналитическом планшете.
- 5) Аликвоту 50 мкл соединения или холостого контроля переносили из планшета для разведения в аналитический планшет, содержащий аналитический буфер с добавлением HSA или без него.
- 6) Аналитический планшет инкубировали в течение 3 ч в инкубаторе с 5% CO₂ при 37°C.
- 7) Клетки однократно промывали посредством DPBS.
- 8) Аликвоту 100 мкл DPBS добавляли в каждую лунку аналитического планшета.
- 10 9) Аликвоту 100 мкл реагента Steadylite plus (чувствительного к свету) добавляли в каждую лунку аналитического планшета.
- 10) Каждый аналитический планшет накрывали алюминиевой фольгой для защиты от света и встряхивали при 250 об/мин в течение 30 мин при комнатной температуре.
- 11) Реакцию в каждом аналитическом планшете считывали на ридере для титрационных микропланшетов.

Расчеты и результаты

Сначала в Excel выполняли регрессионный анализ данных, полученных посредством ридера для титрационных микропланшетов, для расчета логарифмической шкалы концентраций для оси x на основе отдельных исходных концентраций тестируемых соединений и разведений в анализе. Затем эти данные переносили в программное обеспечение GraphPad Prism для построения графика и статистического анализа. Программное обеспечение выполняет анализ методом нелинейной регрессии (зависимость ответа от $\log(\text{концентрация агониста})$). Значения EC₅₀, которые рассчитывали с помощью программного обеспечения и выражали в пМ, показаны в таблицах 1–3 ниже. Для каждого образца измеряли не менее двух повторностей. Зарегистрированные значения представляют собой средние значения для повторностей.

Таблица 1. Функциональная эффективность в отношении GLP-1R и GIPR человека в присутствии 0% и 1% HSA

№ соединения	hGLP-1R, CRE-Luc, 0% HSA EC₅₀ (нМ)	hGLP-1R, CRE-Luc, 1% HSA EC₅₀ (нМ)	hGIPR, CRE-Luc, 0% HSA EC₅₀ (нМ)	hGIPR, CRE-Luc, 1% HSA EC₅₀ (нМ)
hGLP-1(7-37)	8,4	6,7	н. о.	н. о.
hGIP	н. о.	н. о.	11,3	6,4
1	7,8	1659,0	2,8	172,5
2	6,0	899,7	3,8	275,4
3	8,5	626,3	6,9	229,2
4	6,6	484,3	8,5	293,8
5	9,4	624,8	14,2	362,4
6	3,4	242,7	18,5	434,0
7	4,2	513,2	28,7	686,8
8	2,3	82,1	6,7	191,1
9	3,8	278,8	10,8	508,2
10	3,9	939,9	11,3	1745,1
11	3,3	132,3	9,9	450,2
37	2,7	94,6	11,2	297,8
12	4,0	54,4	9,0	71,5
13	7,4	204,1	13,9	257,2
14	5,4	306,2	11,6	580,1
15	5,0	129,7	7,1	137,5
38	3,1	258,9	12,4	815,1
16	3,1	321,1	13,4	803,8
17	5,2	256,6	34,9	1319,0
18	19,7	226,2	20,9	285,1
19	8,6	364,8	6,5	275,4
20	4,2	256,0	7,1	247,4
21	5,7	118,2	5,4	130,9
22	2,8	170,5	6,2	168,9
23	4,1	117,8	6,7	134,3
24	12,1	490,2	3,9	115,1
25	15,5	740,2	7,2	263,0
26	7,4	594,6	4,9	153,0
39	8,2	135,4	28,4	365,2

27	4,6	127,0	6,3	131,8
28	6,2	139,1	6,6	86,5
29	16,8	378,5	3,8	101,7
30	7,3	267,5	3,2	185,0
41	1,2	31,4	4,9	79,3
42	2,3	83,5	5,9	305,7
40	6,4	333,6	9,5	500,6
31	4,2	202,0	4,7	188,5
32	5,0	981,9	7,1	678,7
43	4,0	359,5	5,6	444,5
44	4,2	240,9	5,7	365,3
33	14,8	360,7	2,9	102,8
34	6,0	186,4	8,3	212,8
35	3,0	412,6	5,2	303,0
36	4,7	413,8	5,5	356,5
45	3,9	1580,0	3,8	1220,0
46	1,5	110,8	1,8	97,0
47	2,1	154,5	3,1	155,7

н. о.= не определено

Соединения по настоящему изобретению демонстрируют эффективную функциональную активацию рецепторов GLP-1R человека и GIPR человека в заданных условиях.

5 Пример 3. Фармакокинетическое исследование на карликовых свиньях

Цель данного примера состоит в определении периода полувыведения *in vivo* производных по настоящему изобретению после в/в введения карликовым свиньям, т. е. продления времени их нахождения в организме и, тем самым, времени их действия. Это выполняли в фармакокинетическом (ПК) исследовании, в котором определяют конечный период полувыведения исследуемого производного. Под конечным периодом полувыведения, как правило, подразумевается период времени, который требуется для уменьшения вдвое определенной концентрации в плазме крови, измеренной после фазы начального распределения.

Исследование

В исследованиях использовали самок геттингенских карликовых свиней, полученных от Ellegaard Göttingen Minipigs (Дальмосе, Дания), возрастом примерно 7–14 месяцев и весом примерно 16–35 кг. Карликовых свиней содержали индивидуально и кормили строго один раз в день рационом для карликовых свиней SDS (Special Diets Services, Эссекс, Великобритания).

Через 3 недели акклиматизации каждому животному имплантировали два постоянных центральных венозных катетера в хвостовую полую вену. Животным обеспечивали возможность восстановиться в течение 1 недели после хирургического вмешательства, а затем их использовали для многократных фармакокинетических исследований с подходящим периодом отмывки между последовательными введениями доз производных.

Животных не кормили в течение приблизительно 18 часов до введения доз и от 0 до 4 часов после введения доз, но в течение всего периода они имели доступ к воде *ad libitum*.

Натриевые соли соединений из примеров 1 растворяли до концентрации 20–40 нмоль/мл в буфере, содержащем 0,007% полисорбата 20, 50 мМ фосфата натрия, 70 мМ хлорида натрия, pH 7,4. Внутривенные введения (объем, обычно соответствующий 1,5–2 нмоль/кг, например, 0,1 мл/кг) соединений осуществляли через один катетер, и кровь отбирали в заранее определенные моменты времени в течение 14 дней включительно после введения доз (предпочтительно через другой катетер). Образцы крови (например, 0,8 мл) отбирали в 8 мМ буфер EDTA, а затем центрифугировали при 4°C и 1942 g в течение 10 минут.

Отбор образцов и анализ

Плазму крови отбирали пипеткой в пробирки Micronic на сухом льду и хранили при -20°C до анализа в отношении концентрации соединений в плазме крови с применением ELISA или аналогичного анализа на основе антител или LCMS. Индивидуальные профили зависимости концентрации в плазме крови от времени анализировали с помощью некомпартментной модели в Phoenix WinNonLin версии 6.4. (Pharsight Inc.,

Маунтин-Вью, Калифорния, США), и определяли полученные в результате конечные периоды полувыведения (среднее гармоническое).

Результаты

5 Таблица 2. Конечный период полувыведения, измеренный после в/в введения карликовым свиньям

№ соединения	$t_{1/2}$ (ч)
15	36
28	35
29	68
31	49

10 Протестированные соединения по настоящему изобретению характеризуются очень длительными значениями периода полувыведения по сравнению со значениями периода полувыведения hGLP-1 и hGIP, которые при измерении у человека составляют примерно 2–4 мин и 5–7 мин соответственно. На основе измеренных значений периода полувыведения в организмах карликовых свиней предварительно определяют значения периода полувыведения у людей, достаточные для введения по меньшей мере один раз в неделю при инъекционном введении раствора или для введения по меньшей мере один раз в день при использовании таблетки для перорального введения.

15 **Пример 5. Фармакокинетическое исследование на собаках**

20 Цель этого примера состоит в определении периода полувыведения и концентрации в плазме крови *in vivo* соединений по настоящему изобретению после п/о введения собакам породы бигль, т. е. конечного периода полувыведения и концентрации тестируемого вещества, которое со временем поступает в кровоток. Это выполняли в фармакокинетическом (РК) исследовании, в котором определяют такие параметры исследуемого соединения. Под конечным периодом полувыведения, как правило, подразумевается период времени, который требуется для уменьшения вдвое определенной концентрации в плазме крови, измеренной после фазы начального распределения.

Получение композиций в таблетках

Композиции в таблетках, содержащие тестируемое вещество и SNAC (*N*-(8-(2-гидроксibenзоил)амино)каприлат натрия) получали в соответствии со способами, известными специалисту в данной области техники, путем смешивания тестируемого вещества со SNAC и стеаратом магния, уплотненными роликовым прессом, как, например, описано в WO 2019/149880. Количество SNAC в композиции в таблетках составляло 100–300 мг, количество стеарата магния в композиции в таблетках составляло 7,7 мг, и целевое количество каждого тестируемого вещества в композиции в таблетках составляло 3–4 мг.

10 Животные, введение доз и отбор образцов

В исследования включали самцов собак породы бигль возрастом 1–7 лет, вес которых в ходе исследования составлял 9–17 кг. Дозы собакам вводили натошак. Собак содержали группами в вольерах (12 часов света : 12 часов темноты) и кормили индивидуально и строго один раз в день кормом для взрослых собак Royal Canin Medium Adult (Royal Canin Products, филиал в Китае, или Brogaarden A/S, Дания). Собак использовали для повторных РК-исследований с использованием подходящего периода отмывки между последовательными введениями доз. Перед началом первого РК-исследования обеспечивали соответствующий период акклиматизации. Все манипуляции по обращению, введению дозы и отбору образцов крови животных осуществлял обученный и квалифицированный персонал. Перед проведением исследований собакам не давали пищу в течение ночи и в течение 0–4 часов после введения дозы. Собакам ограничивали доступ к воде в период за 1 час до введения дозы и до 4 часов включительно после введения дозы, но при этом обеспечивали доступ к воде *ad libitum* в течение всего остального периода.

25 Композиции вводили путем перорального введения одной дозы собакам в группах из 6–8 собак. Таблетки вводили следующим образом: за 10 мин до введения таблетки собакам подкожно вводили примерно 3 нмоль/кг SEQ ID NO: 48, затем таблетки помещали в заднюю часть ротовой полости собаки для предотвращения разжевывания. Затем ротовую полость закрывали и с помощью шприца или зонда вводили 10 мл
30 питьевой воды для облегчения проглатывания таблетки.

Один образец крови отбирали до введения дозы, и дополнительные образцы отбирали в заранее определенные моменты времени после введения дозы, как, например, через 5, 10, 15, 20, 30 и 45 минут и через 1, 1,5, 2, 4, 7, 10, 24, 48, 72, 120, 144, 168, 192, 216 часов до 240 часов, для адекватного охвата полного профиля зависимости концентрации в плазме крови от времени всасывания тестируемого вещества. В
5 каждый момент времени отбора образца крови отбирали примерно 0,8 мл цельной крови в 1,5 мл пробирки покрытые EDTA, которые аккуратно переворачивали для смешивания образца с EDTA. Образцы крови отбирали в буфер на основе EDTA (8 мМ), а затем центрифугировали при 4°C и 2000 g в течение 10 минут. Плазму крови
10 пипеткой отбирали в пробирки Micronic на сухом льду и хранили при -20°C или ниже до проведения анализа. Образцы крови отбирали в установленном порядке, например с помощью катетера Venflon, установленного в подкожной вене предплечья на передней лапе, в течение первых 2 часов и затем с помощью шприца из яремной вены в
15 остальные моменты времени. Первым несколькими каплям позволяли вытечь из Venflon для предотвращения попадания солевого раствора гепарина из Venflon в образец.

Все образцы крови отбирали в пробирки для анализа, содержавшие EDTA для стабилизации, и хранили на льду до центрифугирования. Плазму крови отделяли от цельной крови путем центрифугирования и хранили ее при -20°C или ниже до проведения анализа.

20 Анализ и расчеты

Плазму крови анализировали в отношении тестируемого вещества с применением LC-MS (жидкостной хроматографии-масс-спектрометрии), как это известно специалисту в данной области техники. Система состояла либо из масс-спектрометра Thermo Fisher QExactive, оснащенного 10-клапанной интерфейсной модульной системой TurboFlow, автодозатором CTC HTS PAL, насосами Accela 1250 и термостатом для колонок Hot Pocket; либо из масс-спектрометра Thermo Fisher QExactive Plus, оснащенного
25 клапанной интерфейсной модульной системой TurboFlow, автодозатором TriPlus RSI, насосами Dionex UltiMate 3000 и термостатом для колонок Hot Pocket. Разделение посредством RP-HPLC достигалось с применением линейного градиента
30 ацетонитрил/метанол 1:1 в 1% водной муравьиной кислоте с применением либо колонки Phenomenex Onyx Monolithic C18 (50 x 2,0 мм) и скорости потока 0,8 мл/мин при 30°C, либо колонки Agilent Poroshell 120 SB-C18 (50 x 2,1 мм, 2,7 мкм) при

скорости потока 0,4 мл/мин при 60°C. Анализ посредством масс-спектрометра осуществляли либо в режиме SIM с положительной ионизацией, либо в режиме PRM с положительной ионизацией.

5 Для каждого отдельного животного профиль зависимости концентрации в плазме крови от времени анализировали с помощью некомпартментной модели в программном обеспечении Pharsight Phoenix WinNonLin версии 6.4 или другом соответствующем программном обеспечении для ПК-анализа и определяли итоговый конечный период полувыведения ($t_{1/2}$), максимальную концентрацию в плазме крови на дозу (C_{\max}/D), время достижения максимальной концентрации в плазме крови (t_{\max}) и площадь под кривой до бесконечности на дозу (AUC/D). Обобщенные данные статистического анализа результатов фармакокинетических исследований представлены в виде медианы (для t_{\max}), среднего гармонического ($t_{1/2}$) или среднего арифметического (C_{\max} , AUC).

Результаты

15 Таблица 3. Фармакокинетические параметры после перорального введения композиций, содержащих тестируемое вещество и SNAC, в таблетках собакам породы бигль

№ соединения	Количество SNAC (мг)	Целевое количество тестируемого вещества (мг)	T_{\max} (ч)	$t_{1/2}$ (ч)	$C_{\max}/\text{доза}$ (кг/л)	AUC/доза (кг*ч/л)
9	100	4	2,0	50	0,24	12,1
10	100	4	1,0	36	0,20	8,4
11	100	4	1,4	34	0,19	7,1
13	100	3	1,5	60	0,29	14,8
15	100	3	1,5	59	0,24	11,9
15	300	3	2,0	46	0,28	11,6
16	100	3	1,3	47	0,21	8,6
20	100	3	2,0	56	0,21	10,8
24	300	3	1,8	74	0,29	16,4
25	300	3	1,8	43	0,30	15,2
26	300	3	1,2*	70*	0,49*	27,4*
28	300	3	1,3**	67**	0,36**	18,6**

29	300	3	1,2**	69**	0,26**	16,6**
30	300	3	0,8	81	0,24	6,5
40	300	3	2,0	61	0,48	27,0
31	300	3	1,3**	56**	0,35**	17,9**
32	300	3	1,8*	80*	0,45*	25,3*
43	300	3	1,5	131	0,22	21,4

* = усредненные данные из двух экспериментов с одинаковыми условиями составления; ** = усредненные данные из трех экспериментов с одинаковыми условиями составления.

Протестированные соединения по настоящему изобретению демонстрируют биологическую доступность при пероральном введении в данной модели, поскольку после перорального введения были определены концентрации соединения в плазме крови ($C_{\max}/D > 0$ и $AUC/D > 0$). Кроме того, протестированные соединения по настоящему изобретению дополнительно характеризуются очень длительными периодами полувыведения по сравнению со периодами полувыведения hGLP-1 и hGIP, которые при измерении у человека составляют примерно 2–4 мин и 5–7 мин соответственно.

Хотя определенные признаки настоящего изобретения были проиллюстрированы и описаны в данном документе, специалистам средней квалификации в данной области техники будут очевидны многие модификации, замены, изменения и эквиваленты. Следовательно, необходимо понимать, что прилагаемые варианты осуществления предназначены для охвата всех таких модификаций и изменений, которые находятся в пределах фактической сущности настоящего изобретения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение, предусматривающее пептид и заместитель, где аминокислотная последовательность пептида представляет собой

$YX_2EGTX_6TSDYSX_{12}X_{13}LEX_{16}QAAX_{20}X_{21}FX_{23}X_{24}WLLX_{28}GX_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}X_{38}X_{39}$ (SEQ ID NO: 47)

5

с необязательной амидной модификацией С-конца, где

X_2 представляет собой Aib или A,

X_6 представляет собой F или V,

X_{12} представляет собой I или Y,

10 X_{13} представляет собой Y, A, L или I,

X_{16} представляет собой K или E,

X_{20} представляет собой Q, R, E, H,

X_{21} представляет собой A или E,

X_{23} представляет собой I или V,

15 X_{24} представляет собой E, Q или N,

X_{28} представляет собой A или R,

X_{30} представляет собой G или отсутствует,

X_{31} представляет собой P или отсутствует,

X_{32} представляет собой E, S или отсутствует,

20 X_{33} представляет собой S, K или отсутствует,

X_{34} представляет собой G или отсутствует,

X_{35} представляет собой A или отсутствует,

X₃₆ представляет собой Р или отсутствует,

X₃₇ представляет собой Р или отсутствует,

X₃₈ представляет собой Р или отсутствует,

X₃₉ представляет собой S или отсутствует;

5 и где заместитель присоединен к пептиду посредством лизина (К) в положении 16 или 33;

или его фармацевтически приемлемая соль.

2. Соединение по п. 1, где X₃₂X₃₃X₃₄X₃₅ выбран из группы, включающей SSGA, ESGA и SKGA.

10 3. Соединение по п. 1, где аминокислотная последовательность пептида представляет собой

YX₂EGTX₆TSDYSX₁₂X₁₃LEX₁₆QAAX₂₀X₂₁FX₂₃X₂₄WLLX₂₈GGPSSGAPPPS (SEQ ID NO: 37),

где

15 X₂ представляет собой Aib или A,

X₆ представляет собой F или V,

X₁₂ представляет собой I или Y,

X₁₃ представляет собой Y, A, L или I,

X₁₆ представляет собой K или E,

20 X₂₀ представляет собой Q, R, E, H,

X₂₁ представляет собой A или E,

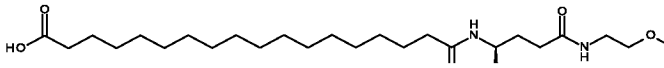
X₂₃ представляет собой I или V,

X₂₄ представляет собой E, Q или N,

X₂₈ представляет собой A или R.

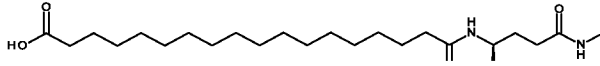
4. Соединение по любому из предыдущих пунктов, где X₁₃LEX₁₆QAAX₂₀X₂₁FX₂₃X₂₄ выбран из группы, состоящей из LLEKQAAREFIN, LLEKQAAREFIE, LLEKQAAQEFIE и LLEEQAAREFIE.
5. Соединение по п. 1, где аминокислотная последовательность пептида представляет собой любую из SEQ ID NO: 1–27 или 33–35.
6. Соединение по п. 5, где пептид характеризуется амидной модификацией С-конца.
7. Соединение по любому из пп. 1–6, где заместитель выбран из группы, состоящей из

10

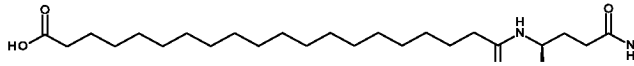


A:

B:

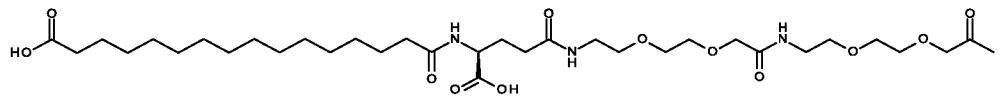


C:



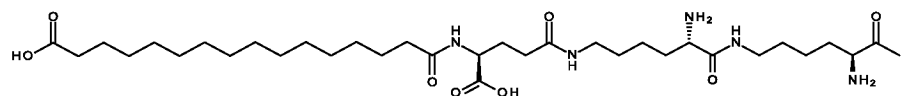
15

D:



и

E:

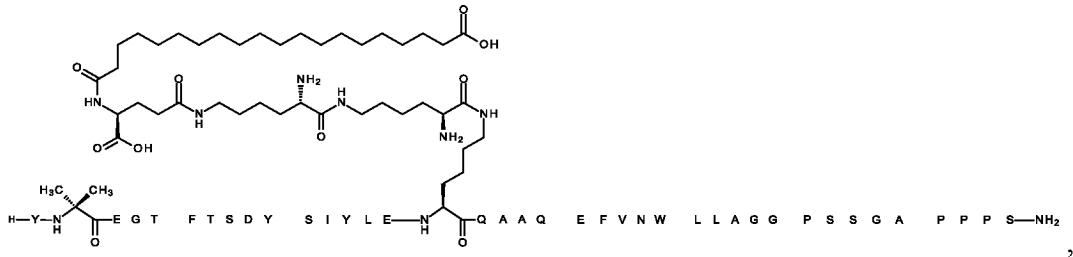


8. Соединение по п. 1, где соединение выбрано из группы, состоящей из следующего:

соединение № 1

SEQ ID NO: 1

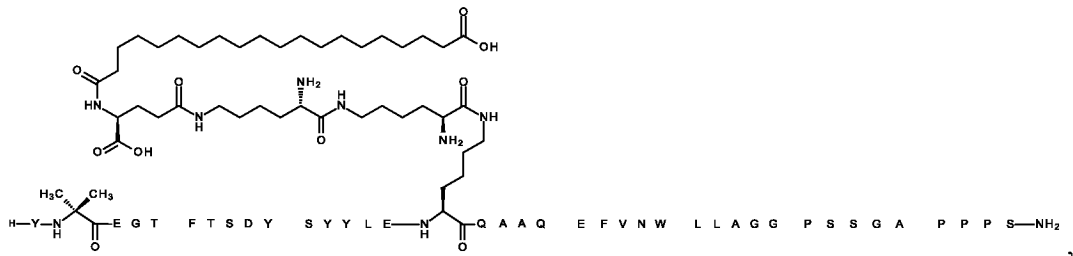
заместитель: C



соединение № 2

SEQ ID NO: 2

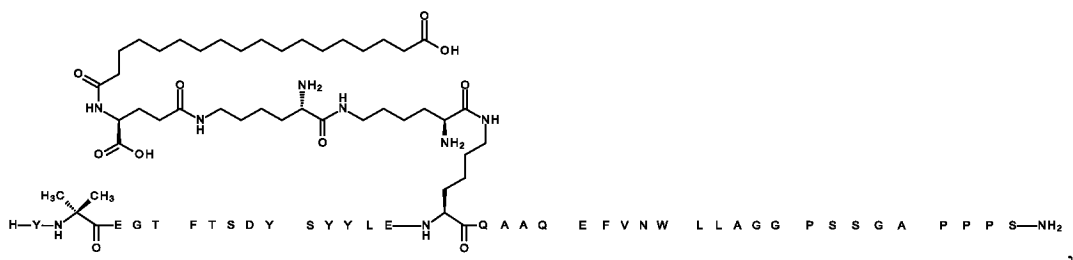
заместитель: C



соединение № 3

SEQ ID NO: 2

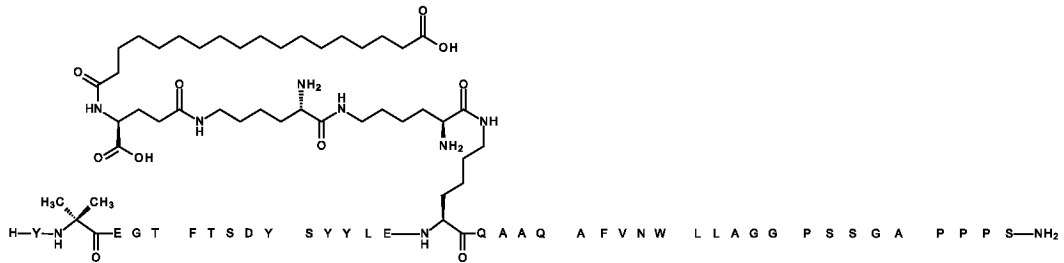
заместитель: B



соединение № 4

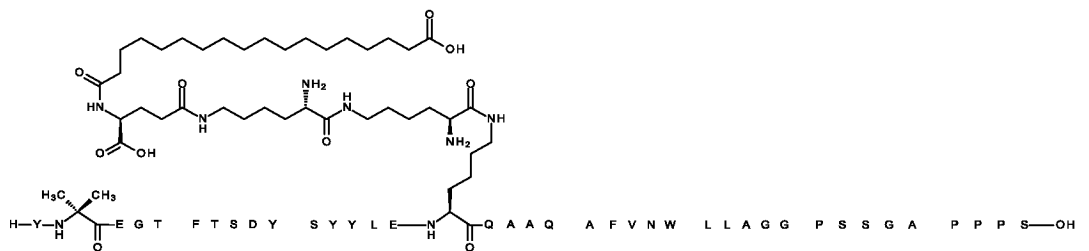
SEQ ID NO: 3

заместитель: В

**соединение № 5**

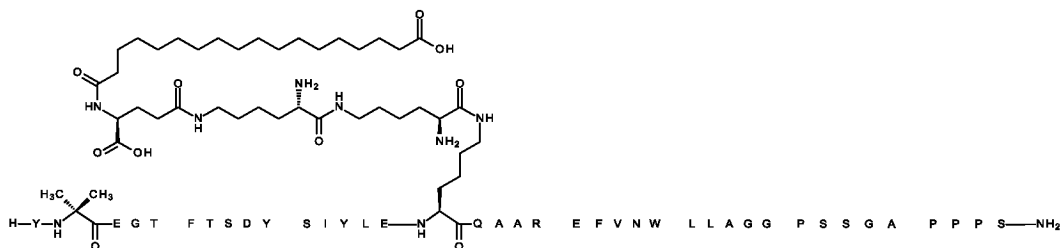
SEQ ID NO: 3

заместитель: В

**соединение № 6**

SEQ ID NO: 4

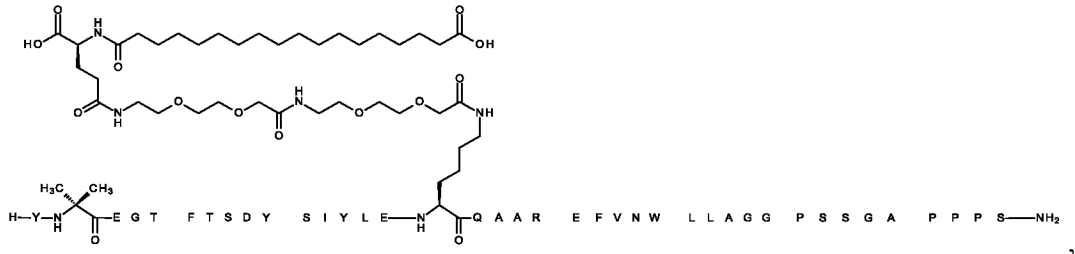
заместитель: В



соединение № 7

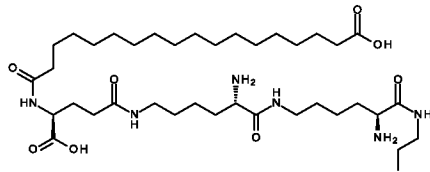
SEQ ID NO: 4

заместитель: A

**соединение № 8**

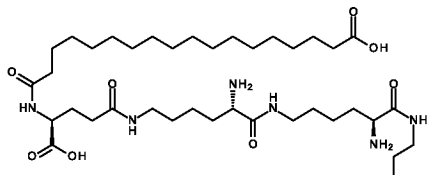
SEQ ID NO: 5

заместитель: B

**соединение № 9**

SEQ ID NO: 6

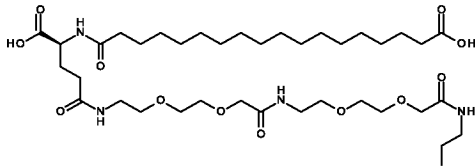
заместитель: B



соединение № 10

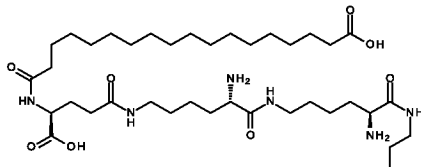
SEQ ID NO: 6

заместитель: А

**соединение № 11**

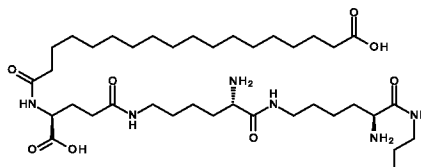
SEQ ID NO: 5

заместитель: В

**соединение № 12**

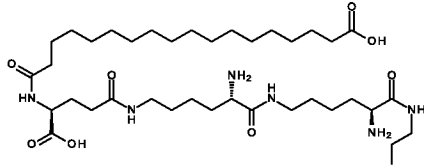
SEQ ID NO: 7

заместитель: В

**соединение № 13**

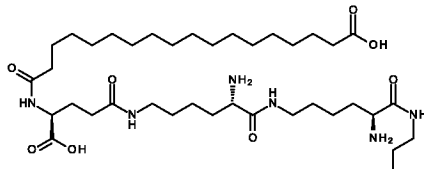
SEQ ID NO: 8

заместитель: В

**соединение № 14**

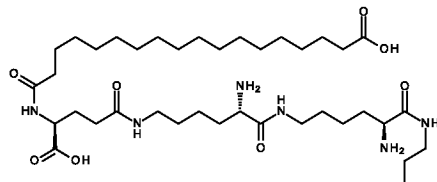
SEQ ID NO: 9

заместитель: В

**соединение № 15**

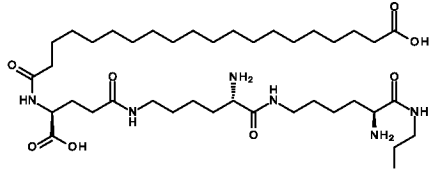
SEQ ID NO: 10

заместитель: В

**соединение № 16**

SEQ ID NO: 5

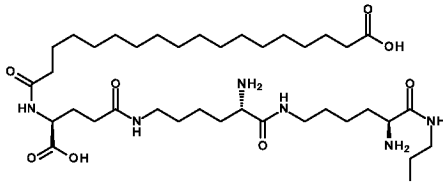
заместитель: С



соединение № 17

SEQ ID NO: 11

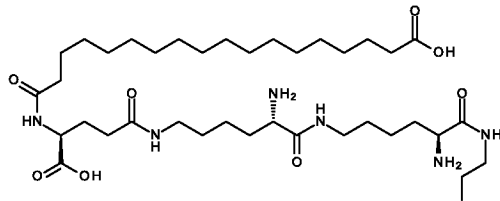
заместитель: В



соединение № 18

SEQ ID NO: 12

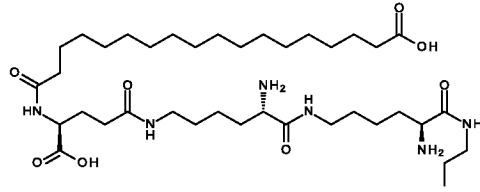
заместитель: В



соединение № 19

SEQ ID NO: 13

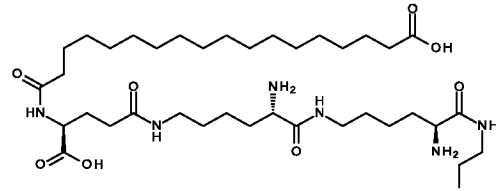
заместитель: В



соединение № 20

SEQ ID NO: 14

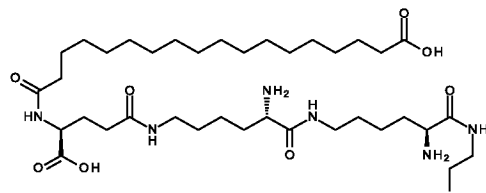
заместитель: В



соединение № 21

SEQ ID NO: 15

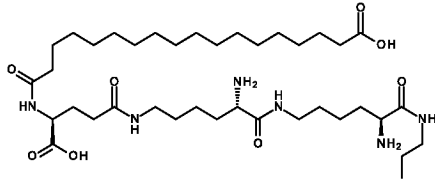
заместитель: В



соединение № 22

SEQ ID NO: 16

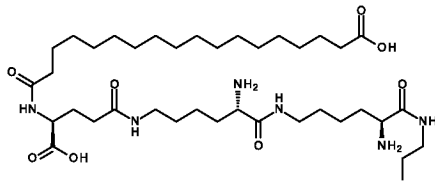
заместитель: В



соединение № 23

SEQ ID NO: 17

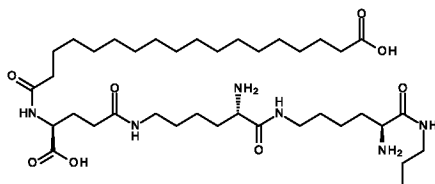
заместитель: В



соединение № 24

SEQ ID NO: 18

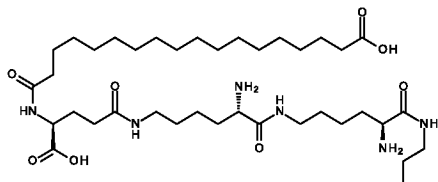
заместитель: В



соединение № 25

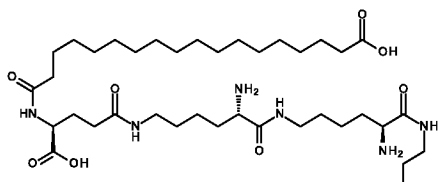
SEQ ID NO: 19

заместитель: В

**соединение № 26**

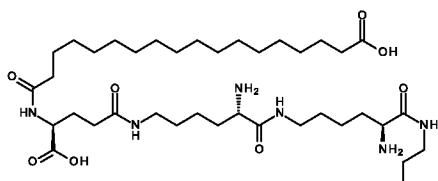
SEQ ID NO: 20

заместитель: В

**соединение № 27**

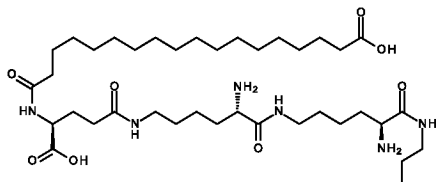
SEQ ID NO: 21

заместитель: В

**соединение № 28**

SEQ ID NO: 22

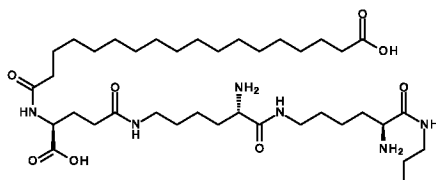
заместитель: В



соединение № 29

SEQ ID NO: 23

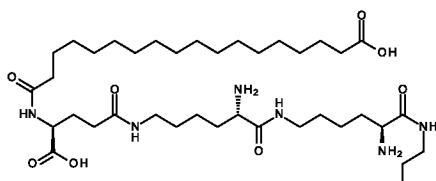
заместитель: В



соединение № 30

SEQ ID NO: 24

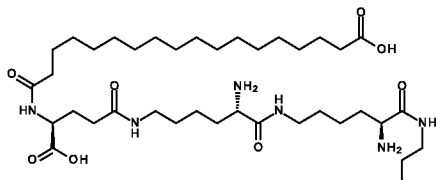
заместитель: В



соединение № 31

SEQ ID NO: 25

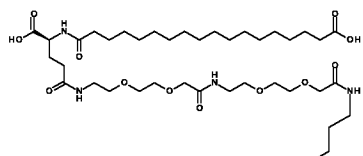
заместитель: В



соединение № 32

SEQ ID NO: 25

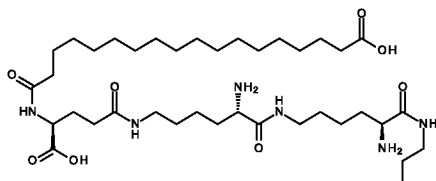
заместитель: А



соединение № 33

SEQ ID NO: 26

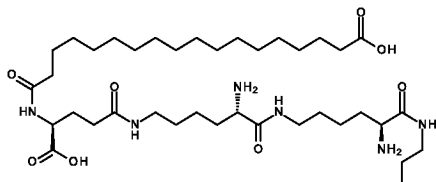
заместитель: В



соединение № 34

SEQ ID NO: 27

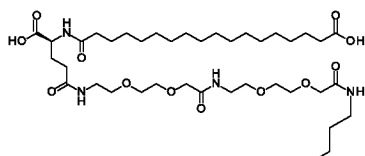
заместитель: В



соединение № 35

SEQ ID NO: 10

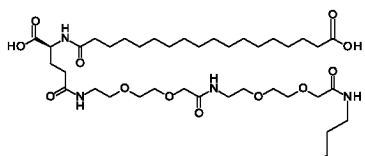
заместитель: А



соединение № 36

SEQ ID NO: 27

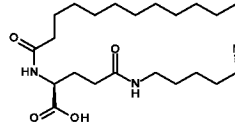
заместитель: А



соединение № 42

SEQ ID NO: 33

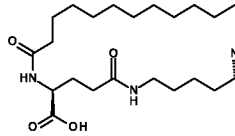
заместитель: В



соединение № 43

SEQ ID NO: 34

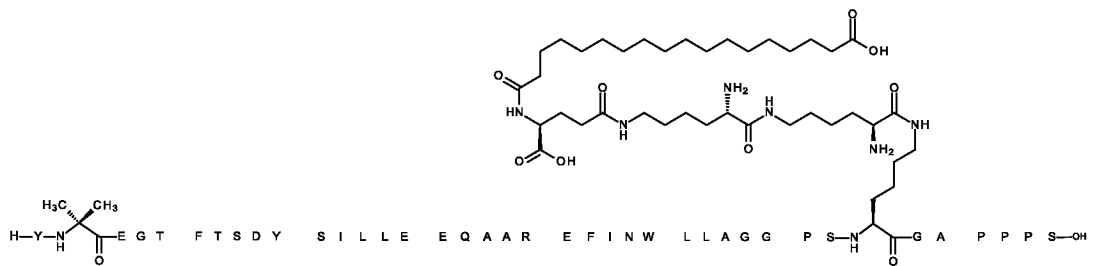
заместитель: В



соединение № 44

SEQ ID NO: 35

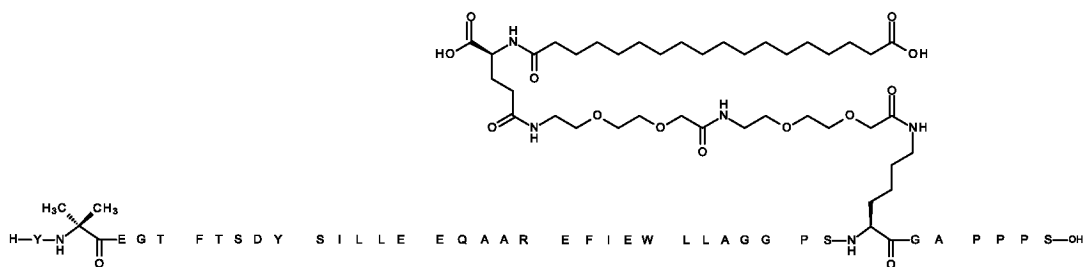
заместитель: В



соединение № 45

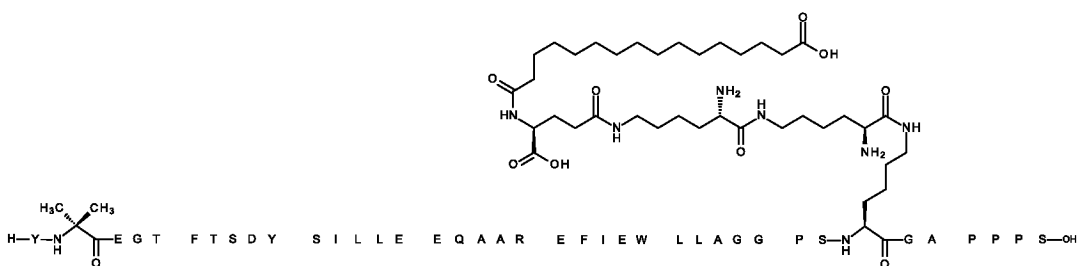
SEQ ID NO: 34

заместитель: А

**соединение № 46**

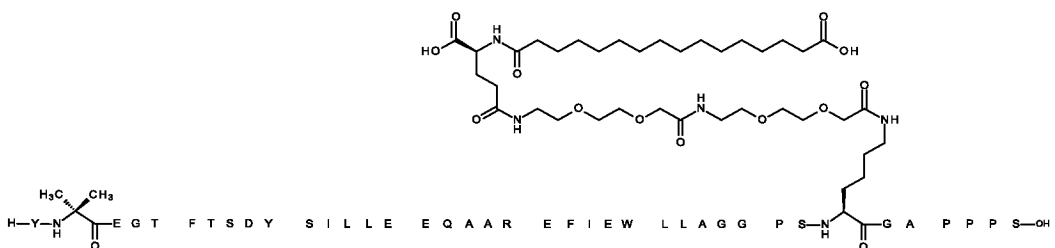
SEQ ID NO: 34

заместитель: E

**соединение № 47**

SEQ ID NO: 34

заместитель: D

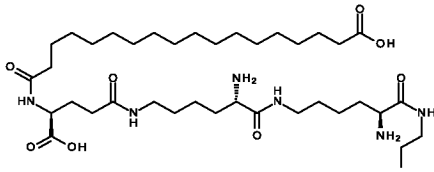


9. Соединение по п. 1, где соединение выбрано из группы, состоящей из следующего:

соединение № 15

SEQ ID NO: 10

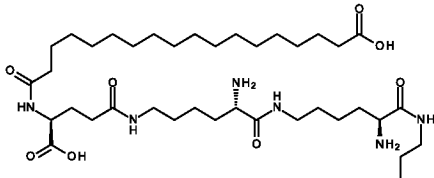
заместитель: В



соединение № 31

SEQ ID NO: 25

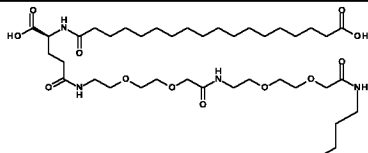
заместитель: В



соединение № 32

SEQ ID NO: 25

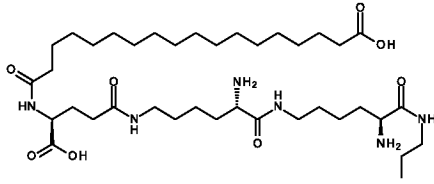
заместитель: А



соединение № 28

SEQ ID NO: 22

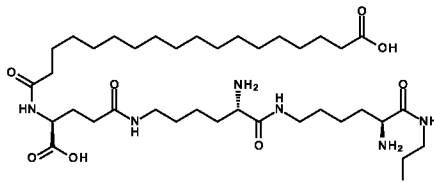
заместитель: В



соединение № 29

SEQ ID NO: 23

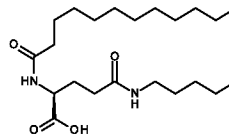
заместитель: В



соединение № 43

SEQ ID NO: 34

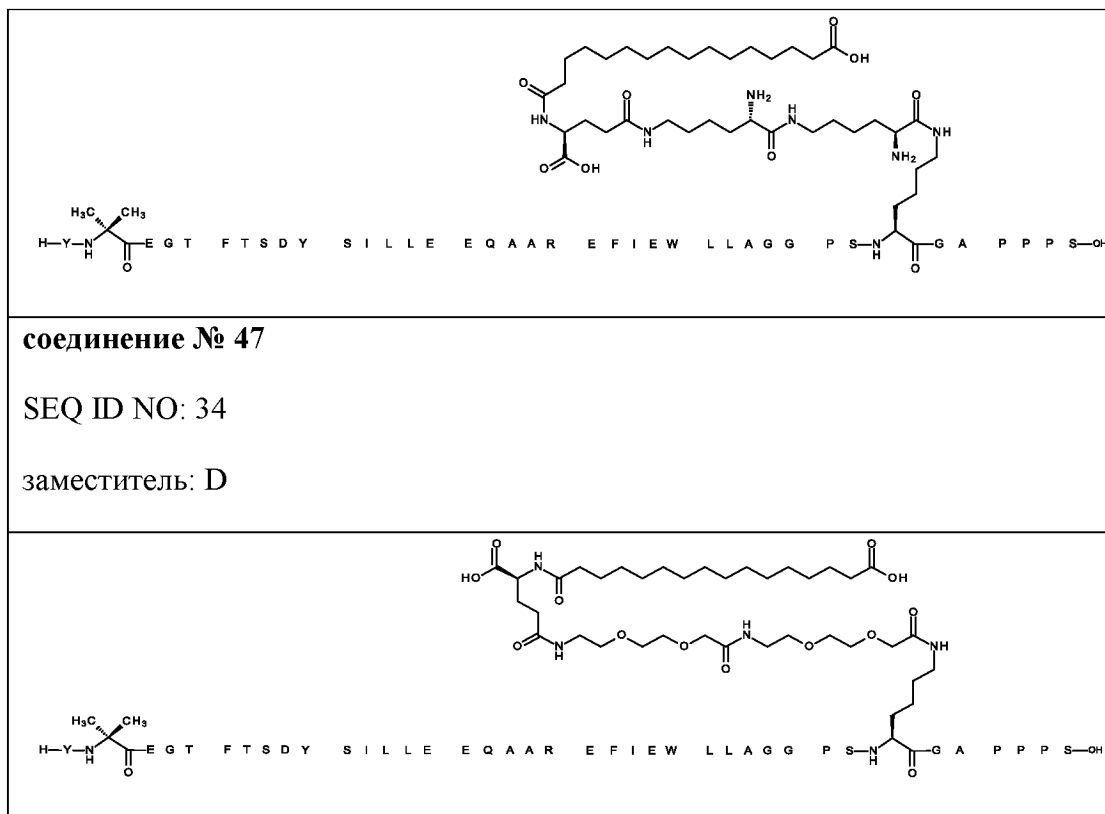
заместитель: В



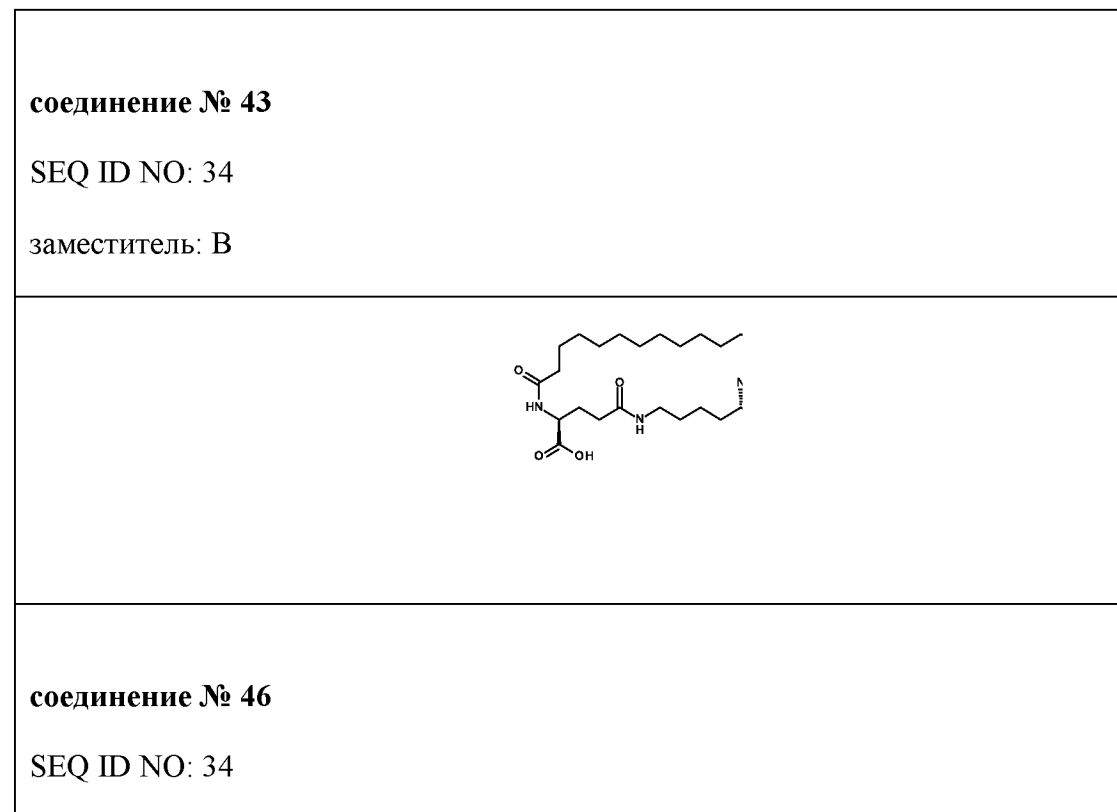
соединение № 46

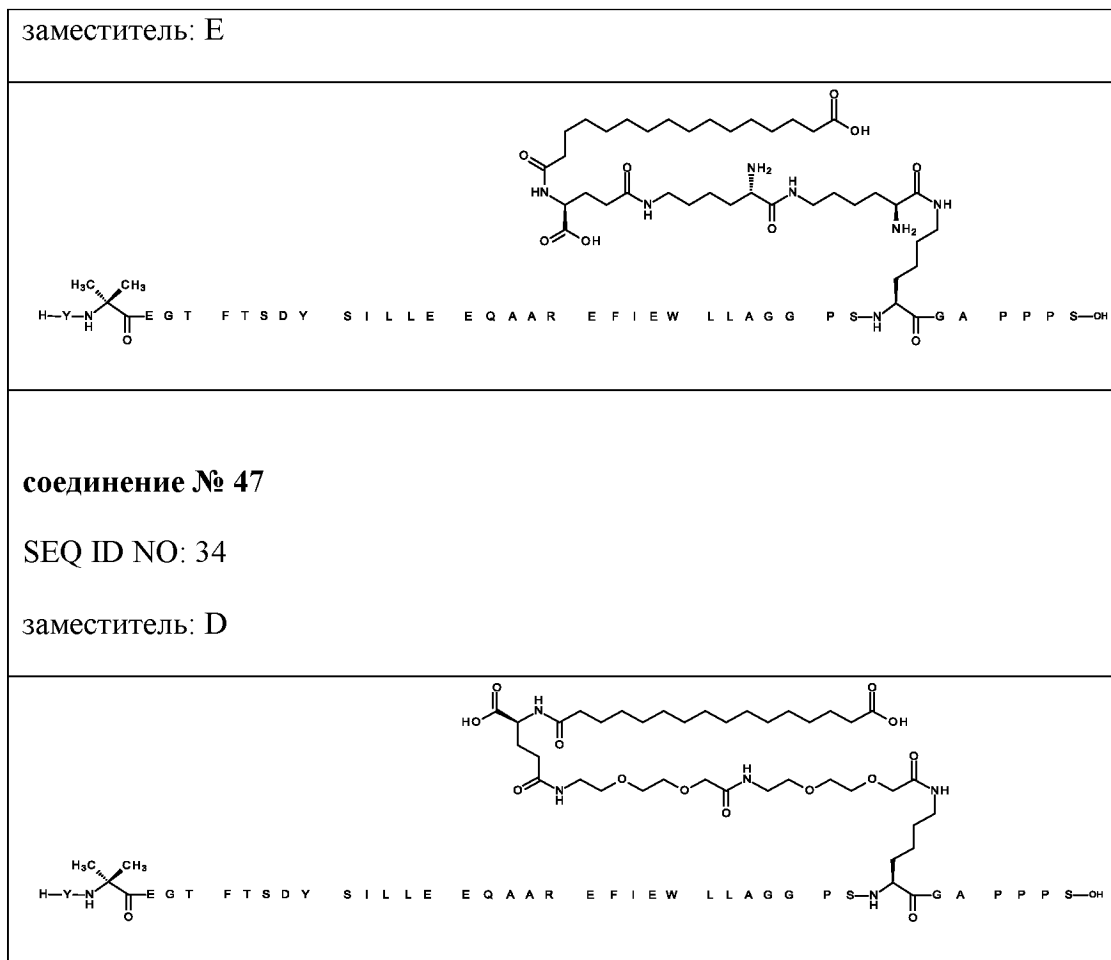
SEQ ID NO: 34

заместитель: Е



10. Соединение по п. 1, где соединение представляет собой:





11. Соединение по любому из предыдущих пунктов для применения в качестве лекарственного препарата.
12. Фармацевтическая композиция, содержащая соединение по любому из предыдущих пунктов, для предупреждения и/или лечения диабета и/или ожирения.
13. Фармацевтическая композиция, содержащая соединение по любому из предыдущих пунктов, для предупреждения и/или лечения нарушений печени, таких как стеатоз печени, неалкогольная жировая болезнь печени (NAFLD), неалкогольный стеатогепатит (NASH), воспаление печени и/или жировая инфильтрация печени.
14. Пептид, имеющий аминокислотную последовательность

YX₂EGTX₆TSDYSX₁₂X₁₃LEX₁₆QAAX₂₀X₂₁FX₂₃X₂₄WLLX₂₈GX₃₀X₃₁X₃₂X₃₃X₃₄X₃₅X₃₆X₃₇X₃₈X₃₉ (SEQ ID NO: 47)

с необязательной амидной модификацией С-конца, где

X₂ представляет собой Aib или A,

5 X₆ представляет собой F или V,

X₁₂ представляет собой I или Y,

X₁₃ представляет собой Y, A, L или I,

X₁₆ представляет собой K или E,

X₂₀ представляет собой Q, R, E, H,

10 X₂₁ представляет собой A или E,

X₂₃ представляет собой I или V,

X₂₄ представляет собой E, Q или N,

X₂₈ представляет собой A или R,

X₃₀ представляет собой G или отсутствует,

15 X₃₁ представляет собой P или отсутствует,

X₃₂ представляет собой E, S или отсутствует,

X₃₃ представляет собой S, K или отсутствует,

X₃₄ представляет собой G или отсутствует,

X₃₅ представляет собой A или отсутствует,

20 X₃₆ представляет собой P или отсутствует,

X₃₇ представляет собой P или отсутствует,

X₃₈ представляет собой P или отсутствует,

X₃₉ представляет собой S или отсутствует.

15. Пептид по п. 14, где аминокислотная последовательность пептида представляет собой любую из SEQ ID NO: 1–27 или 33–35.