

(19)



Евразийское  
патентное  
ведомство

(21) 202291633 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки  
2022.09.21

(51) Int. Cl. C07K 14/605 (2006.01)  
A61K 38/12 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки  
2020.12.03

(54) АГОНИСТЫ РЕЦЕПТОРОВ GLP-2 И СПОСОБЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ

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

(32) 2019.12.04; 2020.03.25

(33) US

(86) PCT/US2020/063130

(87) WO 2021/113524 2021.06.10

(88) 2021.07.15

(71) Заявитель:  
ЗЕ СКРИППС РИСЕЧ ИНСТИТЮТ  
(US)

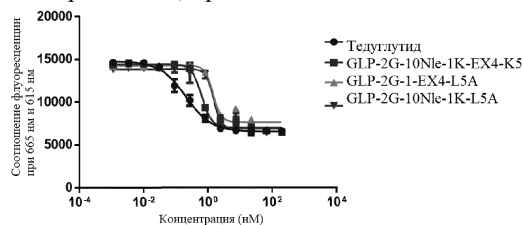
(72) Изобретатель:

Шэнь Вэйцзюнь, Шульц Питер Г.,  
Амсо Заид (US)

(74) Представитель:

Строкова О.В., Гизатуллин Ш.Ф.,  
Гизатуллина Е.М., Прищепный С.В.,  
Джермакян Р.В., Христофоров А.А.,  
Угрюмов В.М., Костюшенкова М.Ю.  
(RU)

(57) Предложены пептидные конъюгаты, содержащие пептид, который модулирует рецептор GLP-2. Пептидные конъюгаты могут быть использованы для лечения состояний, ответственных за модуляцию рецептора GLP-2. Кроме того, предложены шитые пептидные конъюгаты GLP-2.



A1

202291633

202291633

A1

# **АГОНИСТЫ РЕЦЕПТОРОВ GLP-2 И СПОСОБЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ**

## **Описание**

### **Перекрестная ссылка на родственные заявки**

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

### **Предшествующий уровень техники настоящего изобретения**

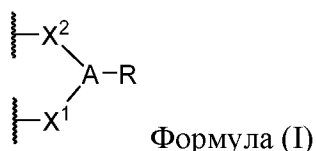
[0002] Разработку терапевтических средств часто затрудняют короткие периоды полураспада. Биологический период полураспада вещества представляет собой период времени, в течение которого вещество теряет половину своей фармакологической, физиологической или радиологической активности. В результате этого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

### **Сущность настоящего изобретения**

[0003] В настоящем документе раскрыт пептидный конъюгат, содержащий:

- a) пептид, который модулирует рецептор GLP-2; и
- b) сшивающий фрагмент, присоединенный к пептиду через первую аминокислоту и вторую аминокислоту.

[0004] Согласно некоторым вариантам осуществления сшивающий фрагмент имеет формулу (I):



причем

A представляет собой необязательно замещенный алкилен, необязательно замещенный арилен, необязательно замещенный гетероарилен, необязательно замещенный -NR<sup>3</sup>-алкилен-NR<sup>3</sup>- или -N-;

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

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

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

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

v составляет от 2 до 20;

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

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

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

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

s составляет от 0 до 20;

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

арил и гетероарил необязательно является замещенным и содержит один, два или три атома галогена, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкил, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-галогеналкил, -ОН, -ОМе или -NH<sub>2</sub>;

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

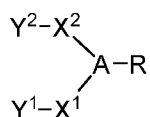
каждый R<sup>c</sup> и R<sup>d</sup> независимо представляет собой водород, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкил, C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>-алкенил, C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>-алкинил, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-гетероалкил, C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>-циклоалкил, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>-гетероциклоалкил,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

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

[0005] Кроме того, в настоящем документе описана фармацевтическая композиция, содержащая пептидный конъюгат, описанный в настоящем документе, и фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество.

[0006] Кроме того, в настоящем документе описан способ лечения заболевания или состояния у нуждающегося в лечении субъекта, причем способ включает введение субъекту композиции, содержащей терапевтически эффективное количество пептидного конъюгата, описанного в настоящем документе.

[0007] Кроме того, в настоящем документе описан сшивающий фрагмент, имеющий формулу:

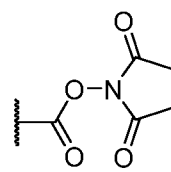


причем

A представляет собой необязательно замещенный алкилен, необязательно замещенный арилен, необязательно замещенный гетероарилен, необязательно замещенный -NR<sup>3</sup>-алкилен-NR<sup>3</sup>- или -N-;



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



$Y^1$  и  $Y^2$  независимо представляют собой галоген,  $-COOH$ , или независимо представляют собой  $-S-$  содержащей сульфгидрильную группу аминокислоты или  $-CONH-$ , причем  $NH-$  представляет собой часть содержащей аминокислоты в пептиде, который модулирует рецептор  $GLP-2$ ;

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

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

$v$  составляет от 2 до 20;

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

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

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

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

s составляет от 0 до 20;

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

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

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

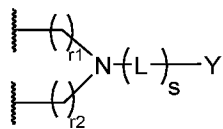
или R<sup>c</sup> и R<sup>d</sup>, вместе с атомом азота, к которому они присоединены, образуют гетероциклоалкил или гетероарил; причем гетероциклоалкил и гетероарил необязательно является замещенным и содержит один, два или три атома галогена, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкил, C<sub>1</sub>-C<sub>6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

[0008] Согласно некоторым вариантам осуществления А представляет собой необязательно замещенный алкилен. Согласно некоторым вариантам осуществления А представляет собой -(CH<sub>2</sub>)<sub>t</sub>-, причем t составляет от 1 до 12. Согласно некоторым вариантам осуществления А представляет собой необязательно замещенный арилен. Согласно некоторым вариантам осуществления А представляет собой -NR<sup>3</sup>-алкилен-NR<sup>3</sup>-. Согласно некоторым вариантам осуществления А представляет собой -N-.

[0009] Согласно некоторым вариантам осуществления X<sup>1</sup> и X<sup>2</sup> представляют собой -C(=O)-. Согласно некоторым вариантам осуществления X<sup>1</sup> и X<sup>2</sup> представляют собой -алкилен-C(=O)-. Согласно некоторым вариантам осуществления X<sup>1</sup> и X<sup>2</sup> представляют собой -CH<sub>2</sub>-C(=O)-. Согласно некоторым вариантам осуществления X<sup>1</sup> и X<sup>2</sup> независимо представляют собой -алкилен-C(=O)NR<sup>3</sup>-. Согласно некоторым вариантам осуществления

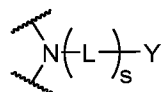
$X^1$  и  $X^2$  независимо представляют собой  $-\text{CH}_2-\text{C}(=\text{O})\text{NR}^3-$ . Согласно некоторым вариантам осуществления  $X^1$  и  $X^2$  независимо представляют собой  $-\text{алкилен}-\text{C}(=\text{O})\text{NR}^3-\text{алкилен}-$ . Согласно некоторым вариантам осуществления  $X^1$  и  $X^2$  независимо представляют собой  $-\text{CH}_2-\text{C}(=\text{O})\text{NR}^3-\text{CH}_2\text{CH}_2-$ .

[0010] Согласно некоторым вариантам осуществления  $>\text{A-R}$  имеет следующую структуру:

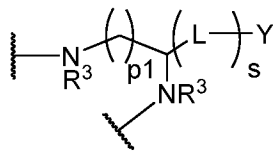


причем  $r_1$  и  $r_2$  каждый независимо составляет от 0 до 4.

[0011] Согласно некоторым вариантам осуществления  $>\text{A-R}$  имеет следующую структуру:

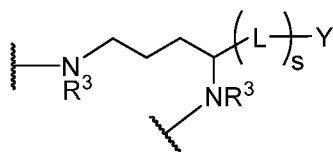


[0012] Согласно некоторым вариантам осуществления  $>\text{A-R}$  имеет следующую структуру:

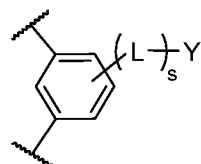


причем  $p_1$  составляет от 1 до 5.

[0013] Согласно некоторым вариантам осуществления  $>\text{A-R}$  имеет следующую структуру:



[0014] Согласно некоторым вариантам осуществления  $>\text{A-R}$  имеет следующую структуру:



[0015] Согласно некоторым вариантам осуществления  $s$  составляет от 1 до 15. Согласно некоторым вариантам осуществления  $s$  составляет от 1 до 10. Согласно

некоторым вариантам осуществления  $s$  составляет от 5 до 15. Согласно некоторым вариантам осуществления  $s$  составляет от 5 до 10.

[0016] Согласно некоторым вариантам осуществления  $Y$  представляет собой водород или  $-CO_2H$ .

[0017] Согласно некоторым вариантам осуществления каждый  $L$  независимо представляет собой  $-(CR^1R^2)_v-$ ,  $-алкилен-O-$ ,  $-C(=O)-$ ,  $-C(=O)NR^3-$ ,  $-NR^3C(=O)-$ ,  $-алкилен-C(=O)NR^3-$  или  $-алкилен-NR^3C(=O)-$ ; и  $v$  составляет от 2 до 20.

[0018] Согласно некоторым вариантам осуществления  $Y^1$  и  $Y^2$  представляют собой галоген. Согласно некоторым вариантам осуществления  $Y^1$  и  $Y^2$  представляют собой  $-COOH$ . Согласно некоторым вариантам осуществления  $Y^1$  и  $Y^2$  представляют собой фрагменты  $-S-$  двух содержащих сульфгидрильную группу аминокислот в пептиде, который модулирует рецептор GLP-2.

[0019] Согласно некоторым вариантам осуществления  $Y^1$  и  $Y^2$  представляют собой фрагменты  $-S-$  двух содержащих сульфгидрильную группу аминокислот в пептиде.

[0020] Согласно некоторым вариантам осуществления  $Y^1$  и  $Y^2$  представляют собой  $-CONH-$ , причем  $-NH-$  представляет собой часть двух содержащих аминокислот в пептиде, который модулирует рецептор GLP-2.

[0021] Согласно некоторым вариантам осуществления  $Y^1$  и  $Y^2$  представляют собой  $-CONH-$ , причем  $-NH-$  представляет собой часть двух содержащих аминокислот, которые разделяют 7 аминокислот, в пептиде, который модулирует рецептор GLP-2.

### **Краткое описание фигур**

[0022] На фиг. 1A проиллюстрированы кривые зависимости эффекта от дозы тедуглутида и длительно действующих агонистов GLP2R по отношению к GLP2R человека без добавления сыворотки.

[0023] На фиг. 1B проиллюстрированы кривые зависимости эффекта от дозы тедуглутида и длительно действующих агонистов GLP2R по отношению к GLP2R человека с добавлением сыворотки.

[0024] На фиг. 2 проиллюстрированы кривые зависимости эффекта от дозы тедуглутида, длительно действующих агонистов GLP2R и апраглутида по отношению к GLP2R мыши.

[0025] На фиг. 3 проиллюстрированы кривые зависимости эффекта от дозы тедуглутида и длительно действующих агонистов GLP2R по отношению к GLP2R яванского макака.

[0026] На фиг. 4А проиллюстрированы кривые зависимости эффекта от дозы тедуглутида и длительно действующих агонистов GLP2R по отношению к GLP1R.

[0027] На фиг. 4В проиллюстрированы кривые зависимости эффекта от дозы тедуглутида и длительно действующих агонистов GLP2R по отношению к GCGR.

[0028] На фиг. 4С проиллюстрированы кривые зависимости эффекта от дозы тедуглутида и длительно действующих агонистов GLP2R по отношению к GIPR.

[0029] На фиг. 5А проиллюстрирована термическая устойчивость GLP2-2G-10Nle-1K-Ex4-K5 (GLP2-K5) и GLP2-2G-1-EX4-L5A (GLP2-L5A) в течение 4 суток при температуре 4°C.

[0030] На фиг. 5В проиллюстрирована термическая устойчивость GLP2-2G-10Nle-1K-Ex4-K5 (GLP2-K5) и GLP2-2G-1-EX4-L5A (GLP2-L5A) в течение 4 суток при температуре 25°C.

[0031] На фиг. 5С проиллюстрирована термическая устойчивость GLP2-2G-10Nle-1K-Ex4-K5 (GLP2-K5) и GLP2-2G-1-EX4-L5A (GLP2-L5A) в течение 4 суток при температуре 37°C.

[0032] На фиг. 5D проиллюстрирована термическая устойчивость GLP2-2G-10Nle-1K-Ex4-K5 (GLP2-K5) и GLP2-2G-1-EX4-L5A (GLP2-L5A) в течение 4 суток при температуре 70°C.

[0033] На фиг. 6А проиллюстрирована устойчивость GLP2-2G-10Nle-1K-Ex4-K5 (GLP2-K5) и GLP2-2G-1-EX4-L5A (GLP2-L5A) в течение 4 суток при pH 3,3 и температуре 4°C.

[0034] На фиг. 6В проиллюстрирована устойчивость GLP2-2G-10Nle-1K-Ex4-K5 (GLP2-K5) и GLP2-2G-1-EX4-L5A (GLP2-L5A) в течение 4 суток при pH 3,3 и комнатной температуре.

[0035] На фиг. 6С проиллюстрирована устойчивость GLP2-2G-10Nle-1K-Ex4-K5 (GLP2-K5) и GLP2-2G-1-EX4-L5A (GLP2-L5A) в течение 4 суток при pH 3,75 и температуре 4°C.

[0036] На фиг. 6D проиллюстрирована устойчивость GLP2-2G-10Nle-1K-Ex4-K5 (GLP2-K5) и GLP2-2G-1-EX4-L5A (GLP2-L5A) в течение 4 суток при pH 3,75 при комнатной температуре.

[0037] На фиг. 6E проиллюстрирована устойчивость GLP2-2G-10Nle-1K-Ex4-K5 (GLP2-K5) и GLP2-2G-1-EX4-L5A (GLP2-L5A) в течение 4 суток при pH 8,9 и температуре 4°C.

[0038] На фиг. 6F проиллюстрирована устойчивость GLP2-2G-10Nle-1K-Ex4-K5 (GLP2-K5) и GLP2-2G-1-EX4-L5A (GLP2-L5A) в течение 4 суток при pH 8,9 и комнатной температуре.

[0039] На фиг. 7A проиллюстрирована печеночная устойчивость длительно действующего GLP2-2G-1-EX4-L5A в течение 120 минут.

[0040] На фиг. 7B проиллюстрирована печеночная устойчивость длительно действующего GLP2-2G-10Nle-1-EX4-L5A в течение 120 минут.

[0041] На фиг. 7C проиллюстрирована печеночная устойчивость длительно действующего GLP2-2G-10Nle-1K-EX4-K5 в течение 120 минут.

[0042] На фиг. 8 проиллюстрирована средняя концентрация в плазме GLP2-2G-1-EX4-L5A в течение 96 часов для мыши.

[0043] На фиг. 9 проиллюстрирована средняя концентрация в плазме GLP2-2G-1-EX4-L5A в течение 504 часов для яванского макака.

[0044] На фиг. 10 проиллюстрирована средняя концентрация в плазме GLP2-2G-10Nle-1-EX4-L5A в течение 96 часов для мыши.

[0045] На фиг. 11 проиллюстрирована средняя концентрация в плазме GLP2-2G-10Nle-1-EX4-L5A в течение 504 часов для яванского макака.

[0046] На фиг. 12 проиллюстрирована средняя концентрация в плазме GLP2-2G-10Nle-1K-EX4-K5 в течение 96 часов для мыши.

[0047] На фиг. 13 проиллюстрирована средняя концентрация в плазме GLP2-2G-10Nle-1K-EX4-K5 в течение 504 часов для яванского макака.

[0048] На фиг. 14A проиллюстрирована нормированная длина тонкой кишки мыши дикого типа, которая не получала лечение, и мыши, которая получала GLP2-2G-1-L5A (GLP2-2G-1-EX4-L5A) и GLP2-2G-5-L5A (GLP2-2G-10Nle-1-EX4-L5A).

[0049] На фиг. 14B проиллюстрирована нормированная длина тонкой кишки мыши дикого типа, которая не получала лечение, и мыши, которая получала GLP2-2G-1-L5A (GLP2-2G-1-EX4-L5A) и GLP2-2G-5-L5A (GLP2-2G-10Nle-1-EX4-L5A).

[0050] На фиг. 14C проиллюстрирована масса тела в течение 11 суток мыши дикого типа, которая не получала лечение, и мыши, которая получала GLP2-2G-1-L5A (GLP2-2G-1-EX4) и GLP2-2G-5-L5A (GLP2-2G-10Nle-1-EX4).

[0051] На фиг. 15А проиллюстрирована длина тонкой кишки мыши дикого типа, которая получала GLP2-2G-10Nle-1K-EX4-K5, и мыши дикого типа, которая не получала лечение.

[0052] На фиг. 15В проиллюстрирована масса тонкой кишки мыши дикого типа, которая получала GLP2-2G-10Nle-1K-EX4-K5, и мыши дикого типа, которая не получала лечение.

[0053] На фиг. 15С проиллюстрирована длина ободочной кишки мыши дикого типа, которая получала GLP2-2G-10Nle-1K-EX4-K5, и мыши дикого типа, которая не получала лечение.

[0054] На фиг. 15D проиллюстрирована масса ободочной кишки мыши дикого типа, которая получала GLP2-2G-10Nle-1K-EX4-K5, и мыши дикого типа, которая не получала лечение.

[0055] На фиг. 16А проиллюстрирована масса тела в течение 12 суток мыши с индуцированным острым колитом, которая не получала лечение, мыши, которая получала GLP2-2G-1-L5A (GLP2-2G-1-EX4-L5), и мыши, которая получала циклоспорин А.

[0056] На фиг. 16В проиллюстрирована нормированная масса ободочной кишки мыши с индуцированным острым колитом, которая не получала лечение, мыши, которая получала GLP2-2G-1-L5A (GLP2-2G-1-EX4-L5), и мыши, которая получала циклоспорин А.

[0057] На фиг. 16С проиллюстрирована нормированная масса тонкой кишки мыши с индуцированным острым колитом, которая не получала лечение, мыши, которая получала GLP2-2G-1-L5A (GLP2-2G-1-EX4-L5), и мыши, которая получала циклоспорин А.

[0058] На фиг. 16D проиллюстрирована глубина крипты ободочной кишки мыши дикого типа, мыши с индуцированным острым колитом, которая не получала лечение, и мыши, которая получала GLP2-2G-1-L5A (GLP2-2G-1-EX4-L5).

[0059] На фиг. 16Е проиллюстрирована длина ворсинок тощей кишки мыши дикого типа, мыши с индуцированным острым колитом, которая не получала лечение, и мыши, которая получала GLP2-2G-1-L5A (GLP2-2G-1-EX4-L5).

[0060] На фиг. 17А проиллюстрирована масса тела в течение 10 суток мыши с индуцированным острым колитом, которая не получала лечение, и мыши, которая получала GLP2-2G-10Nle-1K-EX4-K5, тедуглутид и циклоспорин А.

[0061] На фиг. 17В проиллюстрирована длина ободочной кишки мыши с индуцированным острым колитом, которая не получала лечение, и мыши, которая получала GLP2-2G-10Nle-1K-EX4-K5, тедуглутид и циклоспорин А.

[0062] На фиг. 17C проиллюстрирована тонкая кишка длина мыши с индуцированным острым колитом, которая не получала лечение, и мыши, которая получала GLP2-2G-10Nle-1K-EX4-K5, тедуглутид и циклоспорин А.

[0063] На фиг. 17D проиллюстрирована масса тонкой кишки мыши с индуцированным острым колитом, которая не получала лечение, и мыши, которая получала GLP2-2G-10Nle-1K-EX4-K5, тедуглутид и циклоспорин А.

[0064] На фиг. 17E проиллюстрирована высота ворсинок тощей кишки мыши с индуцированным острым колитом, которая не получала лечение, и мыши, которая получала GLP2-2G-10Nle-1K-EX4-K5, тедуглутид и циклоспорин А.

[0065] На фиг. 17F проиллюстрирован индекс пролиферации в тощей кишке мыши с индуцированным острым колитом, которая не получала лечение, и мыши, которая получала GLP2-2G-10Nle-1K-EX4-K5, тедуглутид и циклоспорин А.

[0066] На фиг. 17G проиллюстрирована фармакокинетика GLP2-2G-10Nle-1K-EX4-K5 и тедуглутид для мыши.

[0067] На фиг. 18A проиллюстрировано процентное изменение массы тела в течение 8 суток мыши с индуцированным острым колитом, которая не получала лечение, и мыши, которая получала GLP2-2G-10Nle-L5A и циклоспорин А.

[0068] На фиг. 18B проиллюстрировано процентное изменение массы тела в течение 8 суток мыши с индуцированным острым колитом, которая не получала лечение, и мыши, которая получала GLP2-2G-1-EX4-L5A и циклоспорин А.

[0069] На фиг. 18C проиллюстрировано процентное изменение массы тела в течение 8 суток мыши с индуцированным острым колитом, которая не получала лечение, и мыши, которая получала GLP2-2G-10Nle-1K-EX4-K5 и циклоспорин А.

[0070] На фиг. 18D проиллюстрирована длина ободочной кишки длина мыши с индуцированным острым колитом, которая не получала лечение, и мыши, которая получала лечение различные длительно действующие агонисты GLP2R и циклоспорин А.

[0071] На фиг. 18E проиллюстрирована масса ободочной кишки мыши с индуцированным острым колитом, которая не получала лечение, и мыши, которая получала длительно действующие агонисты GLP2R, и циклоспорин А.

[0072] На фиг. 18F проиллюстрирована длина тонкой кишки мыши с индуцированным острым колитом, которая не получала лечение, и мыши, которая получала различные длительно действующие агонисты GLP2R и циклоспорин А.

[0073] На фиг. 18G проиллюстрирована масса тонкой кишки мыши с индуцированным острым колитом, которая не получала лечение, и мыши, которая получала различные длительно действующие агонисты GLP2R и циклоспорин А.



[0074] На фиг. 18H проиллюстрировано увеличение желчного пузыря мыши с индуцированным острым колитом, которая не получала лечение, и мыши, которая получала различные длительно действующие агонисты GLP2R циклоспорин А.

[0075] На фиг. 18I проиллюстрирована количество скрытой крови в стуле мыши с индуцированным острым колитом, которая не получала лечение, и мыши, которая получала различные длительно действующие агонисты GLP2R и циклоспорин А.

[0076] На фиг. 18J проиллюстрирована фармакокинетика длительно действующих агонистов GLP2R в дозе 0,03 мг/кг.

[0077] На фиг. 18K проиллюстрирована фармакокинетика длительно действующих агонистов GLP2R в дозе 0,1 мг/кг.

[0078] На фиг. 18L проиллюстрирована фармакокинетика GLP2-2G-10Nle-L5A в обеих дозах на модели мыши с острым колитом.

[0079] На фиг. 18M проиллюстрирована фармакокинетика GLP2-2G-1-EX4-L5A в обеих дозах на модели мыши с острым колитом.

[0080] На фиг. 18N проиллюстрирована фармакокинетика GLP2-2G-10Nle-1K-EX4-K5 в обеих дозах на модели мыши с острым колитом.

[0081] На фиг. 19A проиллюстрировано абсолютное изменение массы тела мыши с индуцированным хроническим колитом, которая не получала лечение, мыши, которая получала GLP2-2G-1-EX4-L5A, которая получала циклоспорин, и мыши, которая получала тедуглутид.

[0082] На фиг. 19B проиллюстрирована длина ободочной кишки мыши с индуцированным хроническим колитом, которая не получала лечение, и мыши, которая получала GLP2-2G-1-EX4-L5A, циклоспорин и тедуглутид.

[0083] На фиг. 19C проиллюстрирована масса ободочной кишки мыши с индуцированным хроническим колитом, которая не получала лечение, и мыши, которая получала GLP2-2G-1-EX4-L5A, циклоспорин и тедуглутид.

[0084] На фиг. 19D проиллюстрирована масса тонкой кишки мыши с индуцированным хроническим колитом, которая не получала лечение, и мыши, которая получала GLP2-2G-1-EX4-L5A, циклоспорин и тедуглутид.

[0085] На фиг. 20A проиллюстрирована длина ободочной кишки мыши с индуцированным хроническим колитом, которая не получала лечение, и мыши, которая получала GLP2-2G-10Nle-1-EX4-L5A, циклоспорин и тедуглутид.

[0086] На фиг. 20B проиллюстрирована масса ободочной кишки мыши с индуцированным хроническим колитом, которая не получала лечение, и мыши, которая получала GLP2-2G-10Nle-1-EX4-L5A, циклоспорин и тедуглутид.

[0087] На фиг. 20С проиллюстрирована тонкая кишка длина мыши с индуцированным хроническим колитом, которая не получала лечение, и мыши, которая получала GLP2-2G-10Nle-1-EX4-L5A, циклоспорин и тедуглутид.

[0088] На фиг. 21А проиллюстрированы уровни ALT в сыворотке мыши с дефицитом холина, которая не получала лечение, мыши, которая получала GLP2-2G-5-EX4-L5A, и мыши, которая получала нормальное питание.

[0089] На фиг. 21В проиллюстрированы уровни AST в сыворотке мыши с дефицитом холина, которая не получала лечение, мыши, которая получала GLP2-2G-5-EX4-L5A, и мыши, которая получала нормальное питание.

[0090] На фиг. 21С проиллюстрированы степени фиброза мыши с дефицитом холина, которая не получала лечение, мыши, которая получала GLP2-2G-5-EX4-L5A, и мыши, которая получала нормальное питание.

[0091] На фиг. 21D проиллюстрирован стеатоз мыши с дефицитом холина, которая не получала лечение, мыши, которая получала GLP2-2G-5-EX4-L5A, и мыши, которая получала нормальное питание.

[0092] На фиг. 21Е проиллюстрировано лобулярное воспаление мыши с дефицитом холина, которая не получала лечение, мыши, которая получала GLP2-2G-5-EX4-L5A, и мыши, которая получала нормальное питание.

[0093] На фиг. 22А проиллюстрирована масса тела самцов мышей, приученных к традиционному питанию, которые не получали лечение, и мышей, которые получали тедуглутид или GLP2-2G-10Nle-1K-EX4-K5.

[0094] На фиг. 22В проиллюстрирована масса тела самок мышей, приученных к традиционному питанию, которые не получали лечение, и мышей, которые получали тедуглутид или GLP2-2G-10Nle-1K-EX4-K5.

[0095] На фиг. 22С проиллюстрирована масса тела самцов мышей, приученных к недостаточному питанию, которые не получали лечение, и мышей, которые получали тедуглутид или GLP2-2G-10Nle-1K-EX4-K5.

[0096] На фиг. 22D проиллюстрирована масса тела самок мышей, приученных к недостаточному питанию, которые не получала лечение, и мышей, которые получали тедуглутид или GLP2-2G-10Nle-1K-EX4-K5.

[0097] На фиг. 22Е проиллюстрирована нормированная масса тонкой кишки самцов мышей, приученных к традиционному питанию, которые не получала лечение, и мышей, которые получали тедуглутид или GLP2-2G-10Nle-1K-EX4-K5.

[0098] На фиг. 22F проиллюстрирована нормированная масса тонкой кишки самок мышей, приученных к традиционному питанию, которые не получали лечение, и мышей, которые получали тедуглутид или GLP2-2G-10Nle-1K-EX4-K5.

### **Подробное описание настоящего изобретения**

[0099] Глюкагоноподобный пептид 2 (GLP-2) представляет собой гормон, секретируемый эндокринными клетками кишечника. GLP-2 стимулирует рост кишечника, увеличивает всасывание питательных веществ и кровотоков, снижает проницаемость и перистальтику кишечника, уменьшает апоптоз эпителиальных клеток и воспаление. Из-за кишечнотрофических эффектов GLP-2, GLP-2 и родственные аналоги могут находить применение для лечения желудочно-кишечных нарушений. В случае человека с коротким периодом полураспада нативного GLP-2 из плазмы требуется повышение дозы и частоты инъекций или инфузий для достижения клинической эффективности, что может производить отрицательное воздействие на соблюдение пациентом режима лечения. Для увеличения периода полураспада GLP-2 были использованы такие подходы, как пегилирование и сшивание с полипептидами для увеличения молекулярной массы и гидродинамического радиуса, а также снижения скорости клиренса посредством почечной фильтрации. Однако полученные аналоги проявляют пониженную активность в лабораторных условиях, и в результате этого требуются более высокие дозы для проявления эффективности в условиях организма.

### **Пептидные конъюгаты**

[00100] Согласно одному аспекту в настоящем документе описаны пептидные конъюгаты, содержащие пептид, который модулирует рецептор GLP-2. В примерных случаях пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит две аминокислоты, которые соединяет сшивающий фрагмент. Неограничительные примеры аминокислот для применения в конъюгации представляют собой цистеин, гомоцистеин, 2-амино-5-меркаптопентановая кислота, 2-амино-6-меркаптогексановая кислота, лизин, орнитин, диаминомасляная кислота, диаминопропионовая кислота, гомолизин, другие содержащие сульфгидрильные группы аминокислоты или другие содержащие аминогруппы аминокислоты. Для пептида, который модулирует рецептор GLP-2, содержащий две аминокислоты, которые соединяет сшивающий фрагмент, две аминокислоты разделяют около или по меньшей мере около 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, или более аминокислот. Например, первая аминокислота занимает положение  $i$ , и вторая аминокислота занимает положение  $i + 7$ ,  $i + 11$ ,  $i + 13$ ,  $i + 15$  или  $i + 16$ . Например, первая аминокислота занимает положение  $i$  в пептиде, и вторая аминокислота занимает

положение  $i + n$  в пептиде, причем  $n$  составляет от 4 до 16. Например, первая аминокислота занимает положение  $i$  в пептиде, и вторая аминокислота занимает положение  $i + 7$  в пептиде. Например, первая аминокислота занимает положение  $i$  в пептиде, и вторая аминокислота занимает положение  $i + 11$  в пептиде. Например, первая аминокислота занимает положение  $i$  в пептиде, и вторая аминокислота занимает положение  $i + 15$  в пептиде. Например, первая аминокислота занимает положение  $i$  в пептиде, и вторая аминокислота занимает положение  $i + 16$  в пептиде.

### **Пептид, который модулирует рецептор GLP-2**

[00101] Согласно одному аспекту в настоящем документе предложены пептидные конъюгаты, содержащие пептид, который модулирует рецептор GLP-2. Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-2, является агонистом рецептора GLP-2.

[00102] Связывающая способность пептидного конъюгата, который описан в настоящем документе, может отличаться не более чем около на 5% от связывающей способности немодифицированной формы пептида GLP-2 (например, неконъюгированного пептида GLP-2). Связывающая способность пептидного конъюгата, который описан в настоящем документе, может отличаться не более чем около на 10% от связывающей способности немодифицированной формы пептида GLP-2. Связывающая способность пептидного конъюгата, который описан в настоящем документе, может отличаться не более чем около на 15% от связывающей способности немодифицированной формы пептида GLP-2. Связывающая способность пептидного конъюгата, который описан в настоящем документе, может отличаться не более чем около на 20% от связывающей способности немодифицированной формы пептида GLP-2.

[00103] Пептид, который модулирует рецептор GLP-2, может содержать по меньшей мере часть пептида GLP-2 дикого типа и может содержать одну или более аминокислотных мутаций. Одна или более аминокислотных мутаций могут представлять собой удаление, замещение, присоединение или их сочетание. Одна или более аминокислотных мутаций могут представлять собой присоединение одного или более аминокислотных остатков к пептиду GLP-2 дикого типа. Одна или более аминокислотных мутаций могут представлять собой удаление одного или более аминокислотных остатков пептида GLP-2 дикого типа. Одна или более аминокислотных мутаций могут представлять собой замещение одного или более аминокислотных остатков пептида GLP-2 дикого типа. Одна или более аминокислотных мутаций могут представлять собой замещение одного или более аминокислотных остатков пептида GLP-2 дикого типа одним или более остатками цистеина, лизина или другой аминокислоты, содержащей сульфгидрильные

группы или аминокислотные группы. Одна или более аминокислотных мутаций могут представлять собой замещение один или более аминокислотных остатков пептида GLP-2 дикого типа одним или более остатками D-аминокислот. Один или более аминокислотных остатков пептида GLP-2 дикого типа могут представлять собой один или более остатков аланина, метионина, аргинина, серина, треонина и тирозина.

[00104] Пептид, который модулирует рецептор GLP-2, можно модифицировать, осуществляя, например, ацетилирование, фосфорилирование и метилирование. Модификация пептида может представлять собой химическую модификацию. Модификация пептида может происходить на концевой аминокислотной группе пептида. Модификация пептида может представлять собой ацетилирование аминокислотной группы, представляющей собой концевую аминокислотную группу пептида. В качестве альтернативы или в качестве дополнения, модификация пептида может происходить на концевой карбоксильной группе пептида. Модификация пептида может происходить в одной или более внутренних аминокислотах пептида. Модификация пептида может представлять собой замену карбоксильной группы, представляющей собой концевую карбоксильную группу пептида. Модификация пептида может представлять собой модификацию карбоксильной группы, представляющей собой концевую карбоксильную группу пептида. Карбоксильная группа, представляющая собой концевую карбоксильную группу пептида, может быть модифицирована с получением амидной группы. Карбоксильная группа, представляющая собой концевую карбоксильную группу пептида, может быть модифицирована с получением аминокислотной группы.

[00105] Неограниченные примеры пептида, который модулирует рецептор GLP-2, представлены в таблице 1.

[00106] Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность, которая представляет собой любую последовательность из SEQ ID NO: 1-40. В некоторых случаях пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность, которая идентична по меньшей мере около на 80%, около на 81%, около на 82%, около на 83%, около на 84%, около на 85%, около на 86%, около на 87%, около на 88%, около на 89%, около на 90%, около на 91%, около на 92%, около на 93%, около на 94%, около на 95%, около на 96%, около на 97%, около на 98% или около на 99% по отношению к любой последовательности из SEQ ID NO: 1-40. Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность, имеющую вплоть до около 1, 2, 3, 4 или 5

аминокислотных вставок, удалений, модификаций или замещений по сравнению с любой последовательностью из SEQ ID NO: 1-40.

[00107] Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность, которая представляет собой любую последовательность из SEQ ID NO: 1-9. В некоторых случаях пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность, которая идентична по меньшей мере около на 80%, около на 81%, около на 82%, около на 83%, около на 84%, около на 85%, около на 86%, около на 87%, около на 88%, около на 89%, около на 90%, около на 91%, около на 92%, около на 93%, около на 94%, около на 95%, около на 96%, около на 97%, около на 98% или около на 99% по отношению к любой последовательности из SEQ ID NO: 1-9. Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность, имеющую вплоть до около 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных вставок, удалений, модификаций или замещений по сравнению с любой последовательностью из SEQ ID NO: 1-9.

[00108] Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1. В некоторых случаях пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность, которая идентична по меньшей мере около на 80%, около на 81%, около на 82%, около на 83%, около на 84%, около на 85%, около на 86%, около на 87%, около на 88%, около на 89%, около на 90%, около на 91%, около на 92%, около на 93%, около на 94%, около на 95%, около на 96%, около на 97%, около на 98% или около на 99% по отношению к последовательности SEQ ID NO: 1. Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность, имеющую вплоть до около 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных вставок, удалений, модификаций или замещений по сравнению с последовательностью SEQ ID NO: 1.

[00109] Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2. В некоторых случаях пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность, которая идентична по меньшей мере около на 80%, около на 81%, около на 82%, около на 83%, около на 84%, около на 85%, около на 86%, около на 87%, около на 88%, около на 89%, около на 90%, около на 91%, около на 92%, около на 93%, около на 94%, около на 95%, около на 96%, около на 97%, около на 98% или около на 99% по отношению к последовательности SEQ ID NO: 2. Согласно

некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность, имеющую вплоть до около 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных вставок, удалений, модификаций или замещений по сравнению с последовательностью SEQ ID NO: 2.

[00110] Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3. В некоторых случаях пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность, которая идентична по меньшей мере около на 80%, около на 81%, около на 82%, около на 83%, около на 84%, около на 85%, около на 86%, около на 87%, около на 88%, около на 89%, около на 90%, около на 91%, около на 92%, около на 93%, около на 94%, около на 95%, около на 96%, около на 97%, около на 98% или около на 99% по отношению к последовательности SEQ ID NO: 3. Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность, имеющую вплоть до около 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных вставок, удалений, модификаций или замещений по сравнению с последовательностью SEQ ID NO: 3.

[00111] Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4. В некоторых случаях пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность, которая идентична по меньшей мере около на 80%, около на 81%, около на 82%, около на 83%, около на 84%, около на 85%, около на 86%, около на 87%, около на 88%, около на 89%, около на 90%, около на 91%, около на 92%, около на 93%, около на 94%, около на 95%, около на 96%, около на 97%, около на 98% или около на 99% по отношению к последовательности SEQ ID NO: 4. Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность, имеющую вплоть до около 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных вставок, удалений, модификаций или замещений по сравнению с последовательностью SEQ ID NO: 4.

[00112] Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5. В некоторых случаях пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность, которая идентична по меньшей мере около на 80%, около на 81%, около на 82%, около на 83%, около на 84%, около на 85%, около на 86%, около на 87%, около на 88%, около на 89%, около на 90%, около на 91%, около на 92%, около на 93%, около на 94%, около на 95%, около на 96%, около на 97%, около на 98%

или около на 99% по отношению к последовательности SEQ ID NO: 5. Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность, имеющую вплоть до около 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных вставок, удалений, модификаций или замещений по сравнению с последовательностью SEQ ID NO: 5.

[00113] Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6. В некоторых случаях пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность, которая идентична по меньшей мере около на 80%, около на 81%, около на 82%, около на 83%, около на 84%, около на 85%, около на 86%, около на 87%, около на 88%, около на 89%, около на 90%, около на 91%, около на 92%, около на 93%, около на 94%, около на 95%, около на 96%, около на 97%, около на 98% или около на 99% по отношению к последовательности SEQ ID NO: 6. Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность, имеющую вплоть до около 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных вставок, удалений, модификаций или замещений по сравнению с последовательностью SEQ ID NO: 6.

[00114] Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7. В некоторых случаях пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность, которая идентична по меньшей мере около на 80%, около на 81%, около на 82%, около на 83%, около на 84%, около на 85%, около на 86%, около на 87%, около на 88%, около на 89%, около на 90%, около на 91%, около на 92%, около на 93%, около на 94%, около на 95%, около на 96%, около на 97%, около на 98% или около на 99% по отношению к последовательности SEQ ID NO: 7. Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность, имеющую вплоть до около 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных вставок, удалений, модификаций или замещений по сравнению с последовательностью SEQ ID NO: 7.

[00115] Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8. В некоторых случаях пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность, которая идентична по меньшей мере около на 80%, около на 81%, около на 82%, около на 83%, около на 84%, около на 85%, около на 86%, около на 87%, около на 88%, около на 89%, около на 90%, около на 91%, около на 92%,



около на 93%, около на 94%, около на 95%, около на 96%, около на 97%, около на 98% или около на 99% по отношению к последовательности SEQ ID NO: 8. Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность, имеющую вплоть до около 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных вставок, удалений, модификаций или замещений по сравнению с последовательностью SEQ ID NO: 8.

[00116] Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9. В некоторых случаях пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность, которая идентична по меньшей мере около на 80%, около на 81%, около на 82%, около на 83%, около на 84%, около на 85%, около на 86%, около на 87%, около на 88%, около на 89%, около на 90%, около на 91%, около на 92%, около на 93%, около на 94%, около на 95%, около на 96%, около на 97%, около на 98% или около на 99% по отношению к последовательности SEQ ID NO: 9. Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность, имеющую вплоть до около 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных вставок, удалений, модификаций или замещений по сравнению с последовательностью SEQ ID NO: 9.

[00117] Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность, которая представляет собой любую последовательность из SEQ ID NO: 10-20. В некоторых случаях пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность, которая идентична по меньшей мере около на 80%, около на 81%, около на 82%, около на 83%, около на 84%, около на 85%, около на 86%, около на 87%, около на 88%, около на 89%, около на 90%, около на 91%, около на 92%, около на 93%, около на 94%, около на 95%, около на 96%, около на 97%, около на 98% или около на 99% по отношению к любой последовательности из SEQ ID NO: 10-20. Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность, имеющую вплоть до около 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных вставок, удалений, модификаций или замещений по сравнению с любой последовательностью из SEQ ID NO: 10-20.

[00118] Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10. В некоторых случаях пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность, которая идентична по меньшей мере около на 80%,

около на 81%, около на 82%, около на 83%, около на 84%, около на 85%, около на 86%, около на 87%, около на 88%, около на 89%, около на 90%, около на 91%, около на 92%, около на 93%, около на 94%, около на 95%, около на 96%, около на 97%, около на 98% или около на 99% по отношению к последовательности SEQ ID NO: 10. Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность, имеющую вплоть до около 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных вставок, удалений, модификаций или замещений по сравнению с последовательностью SEQ ID NO: 10.

[00119] Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 11. В некоторых случаях пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность, которая идентична по меньшей мере около на 80%, около на 81%, около на 82%, около на 83%, около на 84%, около на 85%, около на 86%, около на 87%, около на 88%, около на 89%, около на 90%, около на 91%, около на 92%, около на 93%, около на 94%, около на 95%, около на 96%, около на 97%, около на 98% или около на 99% по отношению к последовательности SEQ ID NO: 11. Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность, имеющую вплоть до около 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных вставок, удалений, модификаций или замещений по сравнению с последовательностью SEQ ID NO: 11.

[00120] Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 12. В некоторых случаях пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность, которая идентична по меньшей мере около на 80%, около на 81%, около на 82%, около на 83%, около на 84%, около на 85%, около на 86%, около на 87%, около на 88%, около на 89%, около на 90%, около на 91%, около на 92%, около на 93%, около на 94%, около на 95%, около на 96%, около на 97%, около на 98% или около на 99% по отношению к последовательности SEQ ID NO: 12. Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность, имеющую вплоть до около 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных вставок, удалений, модификаций или замещений по сравнению с последовательностью SEQ ID NO: 12.

[00121] Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 13. В некоторых случаях пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит

аминокислотную последовательность, которая идентична по меньшей мере около на 80%, около на 81%, около на 82%, около на 83%, около на 84%, около на 85%, около на 86%, около на 87%, около на 88%, около на 89%, около на 90%, около на 91%, около на 92%, около на 93%, около на 94%, около на 95%, около на 96%, около на 97%, около на 98% или около на 99% по отношению к последовательности SEQ ID NO: 13. Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность, имеющую вплоть до около 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных вставок, удалений, модификаций или замещений по сравнению с последовательностью SEQ ID NO: 13.

[00122] Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 14. В некоторых случаях пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность, которая идентична по меньшей мере около на 80%, около на 81%, около на 82%, около на 83%, около на 84%, около на 85%, около на 86%, около на 87%, около на 88%, около на 89%, около на 90%, около на 91%, около на 92%, около на 93%, около на 94%, около на 95%, около на 96%, около на 97%, около на 98% или около на 99% по отношению к последовательности SEQ ID NO: 14. Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность, имеющую вплоть до около 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных вставок, удалений, модификаций или замещений по сравнению с последовательностью SEQ ID NO: 14.

[00123] Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 15. В некоторых случаях пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность, которая идентична по меньшей мере около на 80%, около на 81%, около на 82%, около на 83%, около на 84%, около на 85%, около на 86%, около на 87%, около на 88%, около на 89%, около на 90%, около на 91%, около на 92%, около на 93%, около на 94%, около на 95%, около на 96%, около на 97%, около на 98% или около на 99% по отношению к последовательности SEQ ID NO: 15. Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность, имеющую вплоть до около 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных вставок, удалений, модификаций или замещений по сравнению с последовательностью SEQ ID NO: 15.

[00124] Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:

16. В некоторых случаях пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность, которая идентична по меньшей мере около на 80%, около на 81%, около на 82%, около на 83%, около на 84%, около на 85%, около на 86%, около на 87%, около на 88%, около на 89%, около на 90%, около на 91%, около на 92%, около на 93%, около на 94%, около на 95%, около на 96%, около на 97%, около на 98% или около на 99% по отношению к последовательности SEQ ID NO: 16. Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность, имеющую вплоть до около 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных вставок, удалений, модификаций или замещений по сравнению с последовательностью SEQ ID NO: 16.

[00125] Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:

17. В некоторых случаях пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность, которая идентична по меньшей мере около на 80%, около на 81%, около на 82%, около на 83%, около на 84%, около на 85%, около на 86%, около на 87%, около на 88%, около на 89%, около на 90%, около на 91%, около на 92%, около на 93%, около на 94%, около на 95%, около на 96%, около на 97%, около на 98% или около на 99% по отношению к последовательности SEQ ID NO: 17. Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность, имеющую вплоть до около 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных вставок, удалений, модификаций или замещений по сравнению с последовательностью SEQ ID NO: 17.

[00126] Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:

18. В некоторых случаях пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность, которая идентична по меньшей мере около на 80%, около на 81%, около на 82%, около на 83%, около на 84%, около на 85%, около на 86%, около на 87%, около на 88%, около на 89%, около на 90%, около на 91%, около на 92%, около на 93%, около на 94%, около на 95%, около на 96%, около на 97%, около на 98% или около на 99% по отношению к последовательности SEQ ID NO: 18. Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность, имеющую вплоть до около 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных вставок, удалений, модификаций или замещений по сравнению с последовательностью SEQ ID NO: 18.

[00127] Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 19. В некоторых случаях пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность, которая идентична по меньшей мере около на 80%, около на 81%, около на 82%, около на 83%, около на 84%, около на 85%, около на 86%, около на 87%, около на 88%, около на 89%, около на 90%, около на 91%, около на 92%, около на 93%, около на 94%, около на 95%, около на 96%, около на 97%, около на 98% или около на 99% по отношению к последовательности SEQ ID NO: 19. Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность, имеющую вплоть до около 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных вставок, удалений, модификаций или замещений по сравнению с последовательностью SEQ ID NO: 19.

[00128] Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20. В некоторых случаях пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность, которая идентична по меньшей мере около на 80%, около на 81%, около на 82%, около на 83%, около на 84%, около на 85%, около на 86%, около на 87%, около на 88%, около на 89%, около на 90%, около на 91%, около на 92%, около на 93%, около на 94%, около на 95%, около на 96%, около на 97%, около на 98% или около на 99% по отношению к последовательности SEQ ID NO: 20. Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность, имеющую вплоть до около 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных вставок, удалений, модификаций или замещений по сравнению с последовательностью SEQ ID NO: 20.

[00129] Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность, которая представляет собой любую последовательность из SEQ ID NO: 21-29. В некоторых случаях пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность, которая идентична по меньшей мере около на 80%, около на 81%, около на 82%, около на 83%, около на 84%, около на 85%, около на 86%, около на 87%, около на 88%, около на 89%, около на 90%, около на 91%, около на 92%, около на 93%, около на 94%, около на 95%, около на 96%, около на 97%, около на 98% или около на 99% по отношению к любой последовательности из SEQ ID NO: 21-29. Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность, имеющую вплоть до около 1, 2, 3, 4 или 5

аминокислотных вставок, удалений, модификаций или замещений по сравнению с любой последовательностью из SEQ ID NO: 21-29.

[00130] Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 21. В некоторых случаях пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность, которая идентична по меньшей мере около на 80%, около на 81%, около на 82%, около на 83%, около на 84%, около на 85%, около на 86%, около на 87%, около на 88%, около на 89%, около на 90%, около на 91%, около на 92%, около на 93%, около на 94%, около на 95%, около на 96%, около на 97%, около на 98% или около на 99% по отношению к последовательности SEQ ID NO: 21. Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность, имеющую вплоть до около 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных вставок, удалений, модификаций или замещений по сравнению с последовательностью SEQ ID NO: 21.

[00131] Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2. В некоторых случаях пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность, которая идентична по меньшей мере около на 80%, около на 81%, около на 82%, около на 83%, около на 84%, около на 85%, около на 86%, около на 87%, около на 88%, около на 89%, около на 90%, около на 91%, около на 92%, около на 93%, около на 94%, около на 95%, около на 96%, около на 97%, около на 98% или около на 99% по отношению к последовательности SEQ ID NO: 22. Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность, имеющую вплоть до около 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных вставок, удалений, модификаций или замещений по сравнению с последовательностью SEQ ID NO: 22.

[00132] Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 23. В некоторых случаях пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность, которая идентична по меньшей мере около на 80%, около на 81%, около на 82%, около на 83%, около на 84%, около на 85%, около на 86%, около на 87%, около на 88%, около на 89%, около на 90%, около на 91%, около на 92%, около на 93%, около на 94%, около на 95%, около на 96%, около на 97%, около на 98% или около на 99% по отношению к последовательности SEQ ID NO: 23. Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-2,

содержит аминокислотную последовательность, имеющую вплоть до около 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных вставок, удалений, модификаций или замещений по сравнению с последовательностью SEQ ID NO: 23.

[00133] Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 24. В некоторых случаях пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность, которая идентична по меньшей мере около на 80%, около на 81%, около на 82%, около на 83%, около на 84%, около на 85%, около на 86%, около на 87%, около на 88%, около на 89%, около на 90%, около на 91%, около на 92%, около на 93%, около на 94%, около на 95%, около на 96%, около на 97%, около на 98% или около на 99% по отношению к последовательности SEQ ID NO: 24. Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность, имеющую вплоть до около 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных вставок, удалений, модификаций или замещений по сравнению с последовательностью SEQ ID NO: 24.

[00134] Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 25. В некоторых случаях пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность, которая идентична по меньшей мере около на 80%, около на 81%, около на 82%, около на 83%, около на 84%, около на 85%, около на 86%, около на 87%, около на 88%, около на 89%, около на 90%, около на 91%, около на 92%, около на 93%, около на 94%, около на 95%, около на 96%, около на 97%, около на 98% или около на 99% по отношению к последовательности SEQ ID NO: 25. Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность, имеющую вплоть до около 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных вставок, удалений, модификаций или замещений по сравнению с последовательностью SEQ ID NO: 25.

[00135] Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 26. В некоторых случаях пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность, которая идентична по меньшей мере около на 80%, около на 81%, около на 82%, около на 83%, около на 84%, около на 85%, около на 86%, около на 87%, около на 88%, около на 89%, около на 90%, около на 91%, около на 92%, около на 93%, около на 94%, около на 95%, около на 96%, около на 97%, около на 98% или около на 99% по отношению к последовательности SEQ ID NO: 26. Согласно

некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность, имеющую вплоть до около 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных вставок, удалений, модификаций или замещений по сравнению с последовательностью SEQ ID NO: 26.

[00136] Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 27. В некоторых случаях пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность, которая идентична по меньшей мере около на 80%, около на 81%, около на 82%, около на 83%, около на 84%, около на 85%, около на 86%, около на 87%, около на 88%, около на 89%, около на 90%, около на 91%, около на 92%, около на 93%, около на 94%, около на 95%, около на 96%, около на 97%, около на 98% или около на 99% по отношению к последовательности SEQ ID NO: 27. Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность, имеющую вплоть до около 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных вставок, удалений, модификаций или замещений по сравнению с последовательностью SEQ ID NO: 27.

[00137] Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 28. В некоторых случаях пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность, которая идентична по меньшей мере около на 80%, около на 81%, около на 82%, около на 83%, около на 84%, около на 85%, около на 86%, около на 87%, около на 88%, около на 89%, около на 90%, около на 91%, около на 92%, около на 93%, около на 94%, около на 95%, около на 96%, около на 97%, около на 98% или около на 99% по отношению к последовательности SEQ ID NO: 28. Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность, имеющую вплоть до около 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных вставок, удалений, модификаций или замещений по сравнению с последовательностью SEQ ID NO: 28.

[00138] Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 29. В некоторых случаях пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность, которая идентична по меньшей мере около на 80%, около на 81%, около на 82%, около на 83%, около на 84%, около на 85%, около на 86%, около на 87%, около на 88%, около на 89%, около на 90%, около на 91%, около на 92%, около на 93%, около на 94%, около на 95%, около на 96%, около на 97%, около на 98%



или около на 99% по отношению к последовательности SEQ ID NO: 29. Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность, имеющую вплоть до около 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных вставок, удалений, модификаций или замещений по сравнению с последовательностью SEQ ID NO: 29.

[00139] Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность, которая представляет собой любую последовательность из SEQ ID NO: 30-40. В некоторых случаях пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность, которая идентична по меньшей мере около на 80%, около на 81%, около на 82%, около на 83%, около на 84%, около на 85%, около на 86%, около на 87%, около на 88%, около на 89%, около на 90%, около на 91%, около на 92%, около на 93%, около на 94%, около на 95%, около на 96%, около на 97%, около на 98% или около на 99% по отношению к любой последовательности из SEQ ID NO: 30-40. Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность, имеющую вплоть до около 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных вставок, удалений, модификаций или замещений по сравнению с любой последовательностью из SEQ ID NO: 30-40.

[00140] Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 30. В некоторых случаях пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность, которая идентична по меньшей мере около на 80%, около на 81%, около на 82%, около на 83%, около на 84%, около на 85%, около на 86%, около на 87%, около на 88%, около на 89%, около на 90%, около на 91%, около на 92%, около на 93%, около на 94%, около на 95%, около на 96%, около на 97%, около на 98% или около на 99% по отношению к последовательности SEQ ID NO: 30. Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность, имеющую вплоть до около 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных вставок, удалений, модификаций или замещений по сравнению с последовательностью SEQ ID NO: 30.

[00141] Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 31. В некоторых случаях пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность, которая идентична по меньшей мере около на 80%, около на 81%, около на 82%, около на 83%, около на 84%, около на 85%, около на 86%,

около на 87%, около на 88%, около на 89%, около на 90%, около на 91%, около на 92%, около на 93%, около на 94%, около на 95%, около на 96%, около на 97%, около на 98% или около на 99% по отношению к последовательности SEQ ID NO: 31. Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность, имеющую вплоть до около 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных вставок, удалений, модификаций или замещений по сравнению с последовательностью SEQ ID NO: 31.

[00142] Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32. В некоторых случаях пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность, которая идентична по меньшей мере около на 80%, около на 81%, около на 82%, около на 83%, около на 84%, около на 85%, около на 86%, около на 87%, около на 88%, около на 89%, около на 90%, около на 91%, около на 92%, около на 93%, около на 94%, около на 95%, около на 96%, около на 97%, около на 98% или около на 99% по отношению к последовательности SEQ ID NO: 32. Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность, имеющую вплоть до около 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных вставок, удалений, модификаций или замещений по сравнению с последовательностью SEQ ID NO: 32.

[00143] Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 33. В некоторых случаях пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность, которая идентична по меньшей мере около на 80%, около на 81%, около на 82%, около на 83%, около на 84%, около на 85%, около на 86%, около на 87%, около на 88%, около на 89%, около на 90%, около на 91%, около на 92%, около на 93%, около на 94%, около на 95%, около на 96%, около на 97%, около на 98% или около на 99% по отношению к последовательности SEQ ID NO: 33. Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность, имеющую вплоть до около 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных вставок, удалений, модификаций или замещений по сравнению с последовательностью SEQ ID NO: 33.

[00144] Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34. В некоторых случаях пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность, которая идентична по меньшей мере около на 80%,

около на 81%, около на 82%, около на 83%, около на 84%, около на 85%, около на 86%, около на 87%, около на 88%, около на 89%, около на 90%, около на 91%, около на 92%, около на 93%, около на 94%, около на 95%, около на 96%, около на 97%, около на 98% или около на 99% по отношению к последовательности SEQ ID NO: 34. Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность, имеющую вплоть до около 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных вставок, удалений, модификаций или замещений по сравнению с последовательностью SEQ ID NO: 34.

[00145] Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35. В некоторых случаях пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность, которая идентична по меньшей мере около на 80%, около на 81%, около на 82%, около на 83%, около на 84%, около на 85%, около на 86%, около на 87%, около на 88%, около на 89%, около на 90%, около на 91%, около на 92%, около на 93%, около на 94%, около на 95%, около на 96%, около на 97%, около на 98% или около на 99% по отношению к последовательности SEQ ID NO: 35. Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность, имеющую вплоть до около 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных вставок, удалений, модификаций или замещений по сравнению с последовательностью SEQ ID NO: 35.

[00146] Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 36. В некоторых случаях пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность, которая идентична по меньшей мере около на 80%, около на 81%, около на 82%, около на 83%, около на 84%, около на 85%, около на 86%, около на 87%, около на 88%, около на 89%, около на 90%, около на 91%, около на 92%, около на 93%, около на 94%, около на 95%, около на 96%, около на 97%, около на 98% или около на 99% по отношению к последовательности SEQ ID NO: 36. Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность, имеющую вплоть до около 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных вставок, удалений, модификаций или замещений по сравнению с последовательностью SEQ ID NO: 36.

[00147] Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 37. В некоторых случаях пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит

аминокислотную последовательность, которая идентична по меньшей мере около на 80%, около на 81%, около на 82%, около на 83%, около на 84%, около на 85%, около на 86%, около на 87%, около на 88%, около на 89%, около на 90%, около на 91%, около на 92%, около на 93%, около на 94%, около на 95%, около на 96%, около на 97%, около на 98% или около на 99% по отношению к последовательности SEQ ID NO: 37. Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность, имеющую вплоть до около 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных вставок, удалений, модификаций или замещений по сравнению с последовательностью SEQ ID NO: 37.

[00148] Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 38. В некоторых случаях пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность, которая идентична по меньшей мере около на 80%, около на 81%, около на 82%, около на 83%, около на 84%, около на 85%, около на 86%, около на 87%, около на 88%, около на 89%, около на 90%, около на 91%, около на 92%, около на 93%, около на 94%, около на 95%, около на 96%, около на 97%, около на 98% или около на 99% по отношению к последовательности SEQ ID NO: 38. Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность, имеющую вплоть до около 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных вставок, удалений, модификаций или замещений по сравнению с последовательностью SEQ ID NO: 38.

[00149] Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 39. В некоторых случаях пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность, которая идентична по меньшей мере около на 80%, около на 81%, около на 82%, около на 83%, около на 84%, около на 85%, около на 86%, около на 87%, около на 88%, около на 89%, около на 90%, около на 91%, около на 92%, около на 93%, около на 94%, около на 95%, около на 96%, около на 97%, около на 98% или около на 99% по отношению к последовательности SEQ ID NO: 39. Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность, имеющую вплоть до около 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных вставок, удалений, модификаций или замещений по сравнению с последовательностью SEQ ID NO: 39.

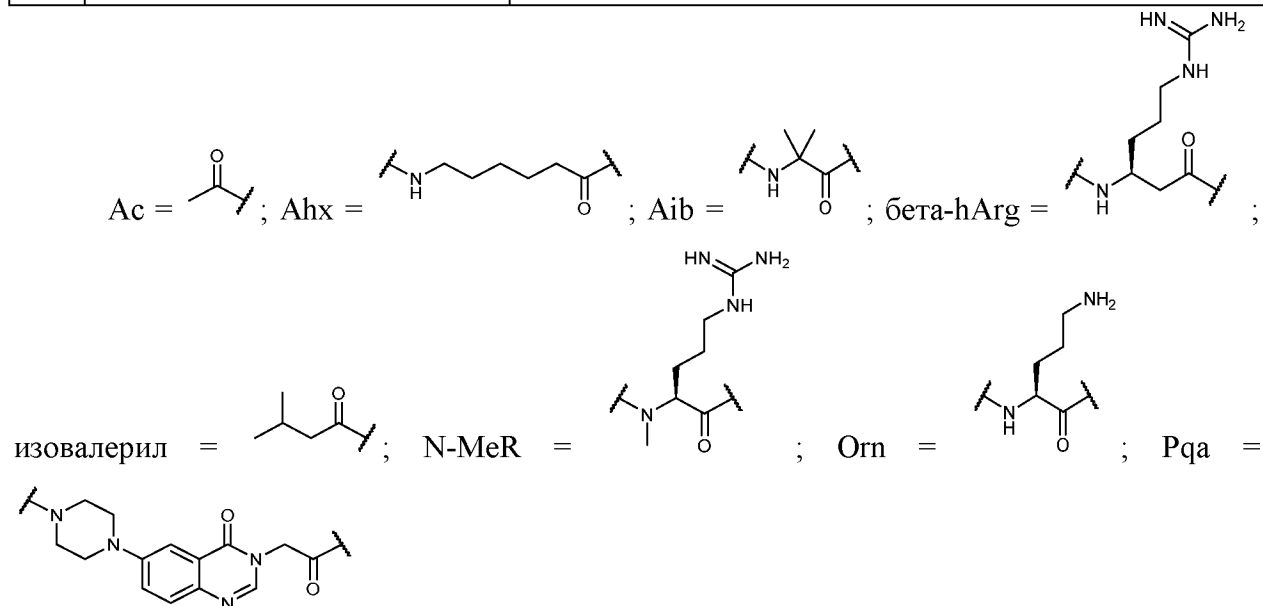
[00150] Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:

40. В некоторых случаях пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность, которая идентична по меньшей мере около на 80%, около на 81%, около на 82%, около на 83%, около на 84%, около на 85%, около на 86%, около на 87%, около на 88%, около на 89%, около на 90%, около на 91%, около на 92%, около на 93%, около на 94%, около на 95%, около на 96%, около на 97%, около на 98% или около на 99% по отношению к последовательности SEQ ID NO: 40. Согласно некоторым вариантам осуществления пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержит аминокислотную последовательность, имеющую вплоть до около 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных вставок, удалений, модификаций или замещений по сравнению с последовательностью SEQ ID NO: 40.

Таблица 1. Таблица последовательностей

SEQ ID NO	Наименование	Последовательность
1	GLP2-2G-1-EX4	HGDGSFSDEMNTILDNCAARDFICWLIQTKITDPSSGAPPPS
2	GLP2-2G-10Nle-1-EX4	HGDGSFSDE(Nle)NTILDNCAARDFICWLIQTKITDPSSGAPPPS
3	GLP2-2G-10L-1-EX4	HGDGSFSDELNTILDNCAARDFICWLIQTKITDPSSGAPPPS
4	GLP2-2G-10I-1-EX4	HGDGSFSDEINTILDNCAARDFICWLIQTKITDPSSGAPPPS
5	GLP2-2G-10Aib-1-EX4	HGDGSFSDE(Aib)NTILDNCAARDFICWLIQTKITDPSSGAPPPS
6	GLP2-2G-10Nva-1-EX4	HGDGSFSDE(Nva)NTILDNCAARDFICWLIQTKITDPSSGAPPPS
7	GLP2-2G-10V-1-EX4	HGDGSFSDEVNTILDNCAARDFICWLIQTKITDPSSGAPPPS
8	GLP2-2G-5-EX4	HGDGSFSDCMNTILDCLAARDFINWLIQTKITDPSSGAPPPS
9	GLP2-2G-6-EX4	HGDGSFSDEMCTILDNLCARDFINWLIQTKITDPSSGAPPPS
10	GLP2-2G-10Nle-1K-EX4	HGDGSFSDE(Nle)NTILDNKAARDFIKWLIQTKITDPSSGAPPPS
11	GLP2-2G-10Nle-11f-1K-EX4	HGDGSFSDE(Nle)(D-Phe)TILDNKAARDFIKWLIQTKITDPSSGAPPPS
12	GLP2-2G-10Nle-12S-13L-1K-EX4	HGDGSFSDE(Nle)NSLLDNKAARDFIKWLIQTKITDPSSGAPPPS
13	GLP2-2G-10Nle-13A-14Nle-1K-EX4	HGDGSFSDE(Nle)NTA(Nle)DNKAARDFIKWLIQTKITDPSSGAPPPS
14	GLP2-2G-10Nle-13Nle-14Nle-1K-EX4	HGDGSFSDE(Nle)NT(Nle)(Nle)DNKAARDFIKWLIQTKITDPSSGAPPPS
15	GLP2-2G-10Nle-11A-13A-14Nle-16A-1K-EX4	HGDGSFSDE(Nle)ATA(Nle)DAKAARDFIKWLIQTKITDPSSGAPPPS
16	GLP2-2G-1K-EX4	HGDGSFSDEMNTILDNKAARDFIKWLIQTKITDPSSGAPPPS
17	GLP2-2G-11f-1K-EX4	HGDGSFSDEM(D-Phe)TILDNKAARDFIKWLIQTKITDPSSGAPPPS
18	GLP2-2G-5K-EX4	HGDGSFSDKMNTILDKLAARDFINWLIQTKITDPSSGAPPPS
19	GLP2-2G-10Nle-5K-EX4	HGDGSFSDK(Nle)NTILDKLAARDFINWLIQTKITDPSSGAPPPS
20	GLP2-2G-10m-EX4	HGDGSFSDEMNTILDN(Orn)AARDFI(Orn)WLIQTKITDPSSGAPPPS
21		HGDGSFSDEMNTILDNCAARDFICWLIQTKITD
22		HGDGSFSDE(Nle)NTILDNCAARDFICWLIQTKITD
23		HGDGSFSDELNTILDNCAARDFICWLIQTKITD
24		HGDGSFSDEINTILDNCAARDFICWLIQTKITD
25		HGDGSFSDE(Aib)NTILDNCAARDFICWLIQTKITD
26		HGDGSFSDE(Nva)NTILDNCAARDFICWLIQTKITD
27		HGDGSFSDEVNTILDNCAARDFICWLIQTKITD
28		HGDGSFSDCMNTILDCLAARDFINWLIQTKITD
29		HGDGSFSDEMCTILDNLCARDFINWLIQTKITD
30		HGDGSFSDE(Nle)NTILDNKAARDFIKWLIQTKITD
31		HGDGSFSDE(Nle)(D-Phe)TILDNKAARDFIKWLIQTKITD
32		HGDGSFSDE(Nle)NSLLDNKAARDFIKWLIQTKITD
33		HGDGSFSDE(Nle)NTA(Nle)DNKAARDFIKWLIQTKITD

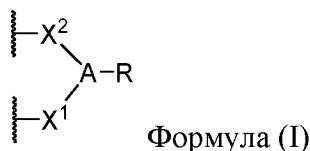
34		HGDGSFSDE(Nle)NT(Nle)(Nle)DNKAARDFIKWLIQTKITD
35		HGDGSFSDE(Nle)ATA(Nle)DAKAARDFIKWLIQTKITD
36		HGDGSFSDEMNTILDNKAARDFIKWLIQTKITD
37		HGDGSFSDEM(D-Phe)TILDNKAARDFIKWLIQTKITD
38		HGDGSFSDKMNTILDKLAARDFINWLIQTKITD
39		HGDGSFSDK(Nle)NTILDKLAARDFINWLIQTKITD
40		HGDGSFSDEMNTILDN(Om)AARDFI(Om)WLIQTKITD



### Сшивающие фрагменты

[00151] В настоящем документе раскрыты пептидные конъюгаты, содержащие сшивающий фрагмент.

[00152] Согласно некоторым вариантам осуществления сшивающий фрагмент, присоединенный к пептиду, имеет формулу (I):



причем

A представляет собой необязательно замещенный алкилен, необязательно замещенный арилен, необязательно замещенный гетероарилен, необязательно замещенный -NR<sup>3</sup>-алкилен-NR<sup>3</sup>- или -N-;

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

причем X<sup>1</sup> присоединяется к первой аминокислоте пептида, и X<sup>2</sup> присоединяется ко второй аминокислоте пептида;

R представляет собой водород или -X<sup>3</sup>-(L)<sub>s</sub>-Y;

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

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

$v$  составляет от 2 до 20;

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

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

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

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

$s$  составляет от 0 до 20;

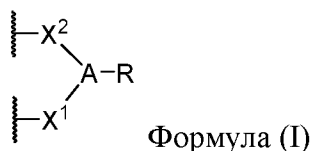
$R^a$  представляет собой водород,  $C_1-C_6-алкил$ ,  $C_2-C_6-алкенил$ ,  $C_2-C_6-алкинил$ ,  $C_1-C_6-гетероалкил$ ,  $C_3-C_8-циклоалкил$ ,  $C_2-C_8-гетероциклоалкил$ , арил или гетероарил; причем алкил, алкенил, алкинил и гетероалкил необязательно является замещенным и содержит один, два или три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

$R^b$  представляет собой  $C_1$ - $C_6$ -алкил,  $C_2$ - $C_6$ -алкенил,  $C_2$ - $C_6$ -алкинил,  $C_1$ - $C_6$ -гетероалкил,  $C_3$ - $C_8$ -циклоалкил,  $C_2$ - $C_8$ -гетероциклоалкил, арил или гетероарил; причем алкил, алкенил, алкинил и гетероалкил необязательно является замещенным и содержит один, два или три атома галогена, -ОН, -ОМе или -NH<sub>2</sub>; и циклоалкил, гетероциклоалкил, арил и гетероарил необязательно является замещенным и содержит один, два или три атома галогена,  $C_1$ - $C_6$ -алкил,  $C_1$ - $C_6$ -галогеналкил, -ОН, -ОМе или -NH<sub>2</sub>; и

каждый  $R^c$  и  $R^d$  независимо представляет собой водород,  $C_1$ - $C_6$ -алкил,  $C_2$ - $C_6$ -алкенил,  $C_2$ - $C_6$ -алкинил,  $C_1$ - $C_6$ -гетероалкил,  $C_3$ - $C_8$ -циклоалкил,  $C_2$ - $C_8$ -гетероциклоалкил, арил или гетероарил; причем алкил, алкенил, алкинил и гетероалкил необязательно является замещенным и содержит один, два или три атома галогена, -ОН, -ОМе или -NH<sub>2</sub>; и циклоалкил, гетероциклоалкил, арил и гетероарил необязательно является замещенным и содержит один, два или три атома галогена,  $C_1$ - $C_6$ -алкил,  $C_1$ - $C_6$ -галогеналкил, -ОН, -ОМе или -NH<sub>2</sub>;

или  $R^c$  и  $R^d$ , вместе с атомом азота, к которому они присоединены, образуют гетероциклоалкил или гетероарил; причем гетероциклоалкил и гетероарил необязательно является замещенным и содержит один, два или три атома галогена,  $C_1$ - $C_6$ -алкил,  $C_1$ - $C_6$ -галогеналкил, -ОН, -ОМе или -NH<sub>2</sub>.

[00153] Согласно некоторым вариантам осуществления сшивающий фрагмент, присоединенный к пептиду, имеет формулу (I):



причем

A представляет собой необязательно замещенный алкилен, необязательно замещенный арилен, необязательно замещенный гетероарилен, необязательно замещенный -NR<sup>3</sup>-алкилен-NR<sup>3</sup>- или -N-;

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

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

R представляет собой водород или -X<sup>3</sup>-(L)<sub>s</sub>-Y;

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



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

v составляет от 2 до 20;

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

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

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

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

s составляет от 0 до 20;

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

$R^b$  представляет собой  $C_1$ - $C_6$ -алкил,  $C_2$ - $C_6$ -алкенил,  $C_2$ - $C_6$ -алкинил,  $C_1$ - $C_6$ -гетероалкил,  $C_3$ - $C_8$ -циклоалкил,  $C_2$ - $C_8$ -гетероциклоалкил, арил или гетероарил; причем алкил, алкенил, алкинил и гетероалкил необязательно является замещенным и содержит

один, два или три атома галогена, -ОН, -ОМе или -NH<sub>2</sub>; и циклоалкил, гетероциклоалкил, арил и гетероарил необязательно является замещенным и содержит один, два или три атома галогена, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкил, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-галогеналкил, -ОН, -ОМе или -NH<sub>2</sub>; и

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

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

[00154] Согласно некоторым вариантам осуществления А представляет собой необязательно замещенный алкилен. Согласно некоторым вариантам осуществления А представляет собой -(CH<sub>2</sub>)<sub>t</sub>-, причем t составляет от 1 до 12. Согласно некоторым вариантам осуществления А представляет собой -(CH<sub>2</sub>)<sub>t</sub>-, причем t составляет от 1 до 10. Согласно некоторым вариантам осуществления А представляет собой -(CH<sub>2</sub>)<sub>t</sub>-, причем t составляет от 1 до 8. Согласно некоторым вариантам осуществления А представляет собой -(CH<sub>2</sub>)<sub>t</sub>-, причем t составляет от 1 до 6. Согласно некоторым вариантам осуществления А представляет собой -(CH<sub>2</sub>)<sub>t</sub>-, причем t составляет от 1 до 4.

[00155] Согласно некоторым вариантам осуществления А представляет собой необязательно замещенный арилен. Согласно некоторым вариантам осуществления А представляет собой арилен, необязательно замещенный и содержащий галоген, алкил или галогеналкил. Согласно некоторым вариантам осуществления А представляет собой арилен.

[00156] Согласно некоторым вариантам осуществления А представляет собой -NR<sup>3</sup>-алкилен-NR<sup>3</sup>-.

[00157] Согласно некоторым вариантам осуществления А представляет собой -N-.

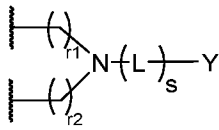
[00158] Согласно некоторым вариантам осуществления X<sup>1</sup> и X<sup>2</sup> являются идентичными. Согласно некоторым вариантам осуществления X<sup>1</sup> и X<sup>2</sup> являются различными.

[00159] Согласно некоторым вариантам осуществления X<sup>1</sup> и X<sup>2</sup> представляют собой -C(=O)-. Согласно некоторым вариантам осуществления X<sup>1</sup> и X<sup>2</sup> независимо

представляют собой -алкилен-C(=O)- или -C(=O)алкилен-. Согласно некоторым вариантам осуществления  $X^1$  и  $X^2$  независимо представляют собой -CH<sub>2</sub>-C(=O)- или -C(=O)-CH<sub>2</sub>-. Согласно некоторым вариантам осуществления  $X^1$  и  $X^2$  независимо представляют собой -алкилен-C(=O)NR<sup>3</sup>- или -C(=O)NR<sup>3</sup>-алкилен-. Согласно некоторым вариантам осуществления  $X^1$  и  $X^2$  независимо представляют собой -CH<sub>2</sub>-C(=O)NR<sup>3</sup>- или -C(=O)NR<sup>3</sup>-CH<sub>2</sub>-. Согласно некоторым вариантам осуществления  $X^1$  и  $X^2$  независимо представляют собой -алкилен-C(=O)NR<sup>3</sup>-алкилен- или -алкилен-NR<sup>3</sup>C(=O)-алкилен-. Согласно некоторым вариантам осуществления  $X^1$  и  $X^2$  независимо представляют собой -CH<sub>2</sub>-C(=O)NR<sup>3</sup>-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>- или -CH<sub>2</sub>-NR<sup>3</sup>C(=O)-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-. Согласно некоторым вариантам осуществления  $X^1$  и  $X^2$  независимо представляют собой -CH<sub>2</sub>-C(=O)NH-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>- или -CH<sub>2</sub>-NHC(=O)-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-.

[00160] Согласно некоторым вариантам осуществления каждый R<sup>3</sup> независимо представляет собой водород или C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкил. Согласно некоторым вариантам осуществления каждый R<sup>3</sup> представляет собой водород.

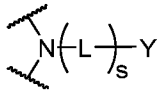
[00161] Согласно некоторым вариантам осуществления >A-R имеет следующую структуру:



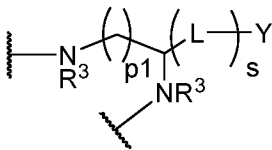
, причем  $r_1$  и  $r_2$  каждый независимо составляет от 0 до 4.

[00162] Согласно некоторым вариантам осуществления  $r_1$  и  $r_2$  каждый независимо составляет от 0 до 2. Согласно некоторым вариантам осуществления  $r_1$  и  $r_2$  каждый составляет 0. Согласно некоторым вариантам осуществления  $r_1$  и  $r_2$  каждый составляет 1. Согласно некоторым вариантам осуществления  $r_1$  и  $r_2$  каждый составляет 3.

[00163] Согласно некоторым вариантам осуществления >A-R имеет следующую структуру:



[00164] Согласно некоторым вариантам осуществления >A-R имеет следующую структуру:

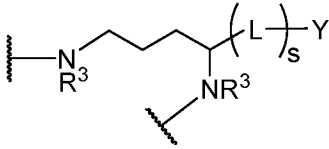


, причем  $p_1$  составляет от 1 до 5.

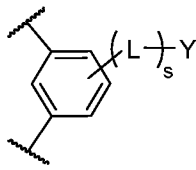
[00165] Согласно некоторым вариантам осуществления  $p_1$  составляет от 1 до 3. Согласно некоторым вариантам осуществления  $p_1$  составляет 1 или 2. Согласно некоторым вариантам осуществления  $p_1$  составляет 1. Согласно некоторым вариантам

осуществления p1 составляет 2. Согласно некоторым вариантам осуществления p1 составляет 3. Согласно некоторым вариантам осуществления p1 составляет 4. Согласно некоторым вариантам осуществления p1 составляет 5.

[00166] Согласно некоторым вариантам осуществления >A-R имеет следующую структуру:



[00167] Согласно некоторым вариантам осуществления >A-R имеет следующую структуру:



[00168] Согласно некоторым вариантам осуществления s составляет от 1 до 15. Согласно некоторым вариантам осуществления s составляет от 1 до 10. Согласно некоторым вариантам осуществления s составляет от 5 до 15. Согласно некоторым вариантам осуществления s составляет от 5 до 10. Согласно некоторым вариантам осуществления s составляет от 5 до 20.

[00169] Согласно некоторым вариантам осуществления Y представляет собой водород или -CO<sub>2</sub>H. Согласно некоторым вариантам осуществления Y представляет собой водород. Согласно некоторым вариантам осуществления Y представляет собой -CO<sub>2</sub>H.

[00170] Согласно некоторым вариантам осуществления каждый L независимо представляет собой -(CR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>)<sub>v</sub>-, -алкилен-O-, -C(=O)-, -C(=O)NR<sup>3</sup>-, -NR<sup>3</sup>C(=O)-, -алкилен-C(=O)NR<sup>3</sup>- или -алкилен-NR<sup>3</sup>C(=O)-; и v составляет от 2 до 20.

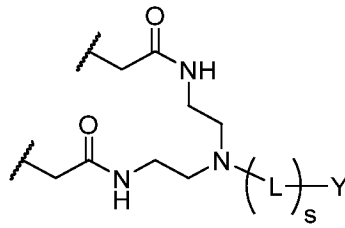
[00171] Согласно некоторым вариантам осуществления каждый L независимо представляет собой -(CR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>)<sup>v</sup>-, -алкилен-O-, -C(=O)-, -C(=O)NR<sup>3</sup>-, -NR<sup>3</sup>C(=O)-, -алкилен-C(=O)NR<sup>3</sup>- или -алкилен-NR<sup>3</sup>C(=O)-; и v составляет от 2 до 16.

[00172] Согласно некоторым вариантам осуществления v составляет от 2 до 16. Согласно некоторым вариантам осуществления v составляет от 2 до 5. Согласно некоторым вариантам осуществления v составляет от 5 до 16. Согласно некоторым вариантам осуществления v составляет 5 или 16. Согласно некоторым вариантам осуществления v составляет 2 или 16.

[00173] Согласно некоторым вариантам осуществления каждый  $R^1$  или  $R^2$  независимо представляет собой водород, галоген,  $-CN$ ,  $-OR^a$ ,  $-NR^cR^d$ ,  $-C(=O)R^b$ ,  $-CO_2R^a$ ,  $-C(=O)NR^cR^d$ , или  $C_1$ - $C_6$ -алкил.

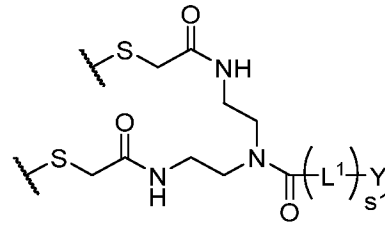
[00174] Согласно некоторым вариантам осуществления каждый  $R^1$  или  $R^2$  независимо представляет собой водород, галоген,  $-CO_2R^a$ ,  $-C(=O)NR^cR^d$ , или  $C_1$ - $C_6$ -алкил. Согласно некоторым вариантам осуществления каждый  $R^1$  или  $R^2$  независимо представляет собой водород,  $-CO_2R^a$ , или  $-C(=O)NR^cR^d$ . Согласно некоторым вариантам осуществления каждый  $R^1$  или  $R^2$  независимо представляет собой водород или  $-CO_2R^a$ .

[00175] Согласно некоторым вариантам осуществления сшивающий фрагмент



представляет собой

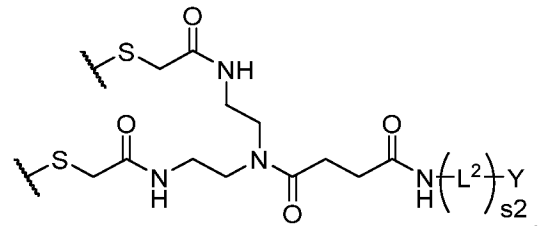
[00176] Согласно некоторым вариантам осуществления сшивающий фрагмент,



присоединенный к пептиду, представляет собой

каждый  $L^1$  независимо представляет собой  $-(CR^1R^2)_v-$ ,  $-алкилен-O-$ ,  $-O-алкилен-$ ,  $-C(=O)NR^3-$ ,  $-NR^3C(=O)-$ ,  $-алкилен-C(=O)NR^3-$  или  $-алкилен-NR^3C(=O)-$ ;  $v$  составляет от 2 до 20; и  $s_1$  составляет от 1 до 15.

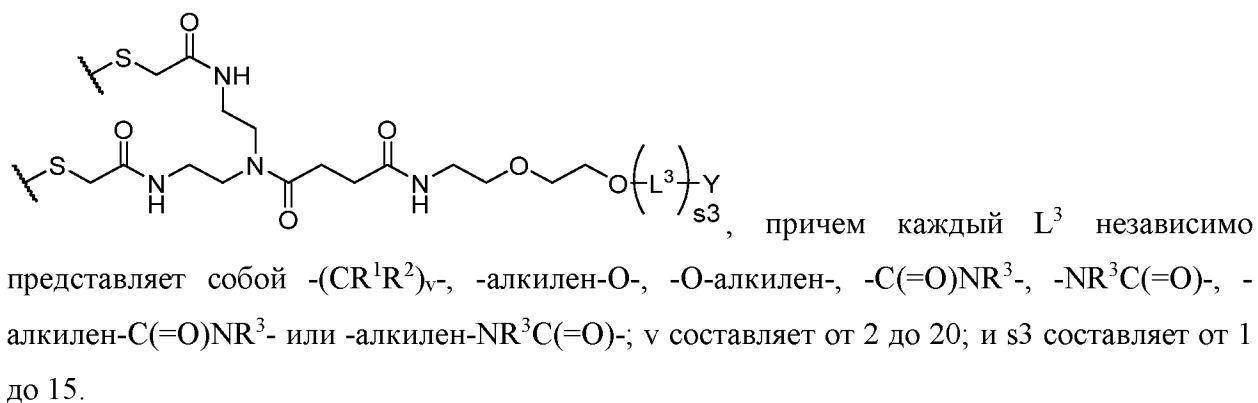
[00177] Согласно некоторым вариантам осуществления сшивающий фрагмент,



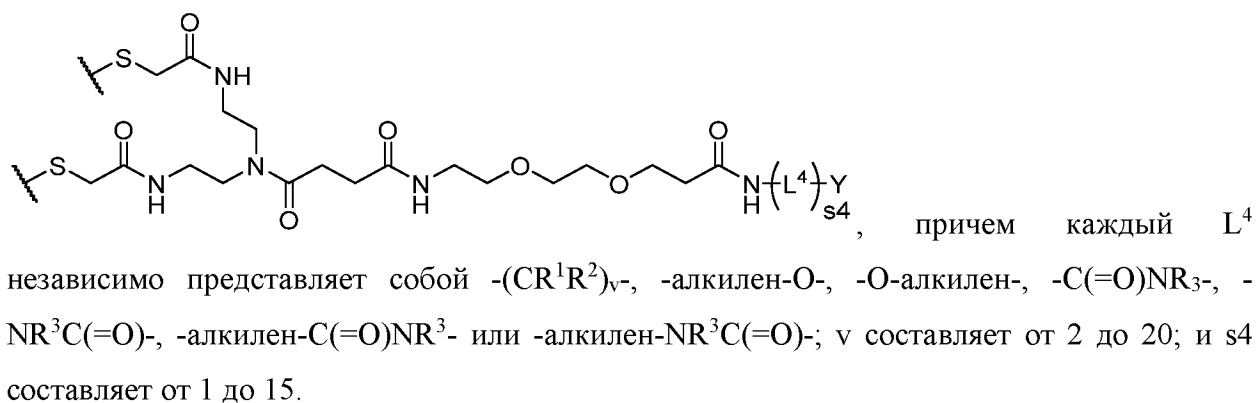
присоединенный к пептиду, представляет собой

каждый  $L^2$  независимо представляет собой  $-(CR^1R^2)_v-$ ,  $-алкилен-O-$ ,  $-O-алкилен-$ ,  $-C(=O)NR^3-$ ,  $-NR^3C(=O)-$ ,  $-алкилен-C(=O)NR^3-$  или  $-алкилен-NR^3C(=O)-$ ;  $v$  составляет от 2 до 20; и  $s_2$  составляет от 1 до 15.

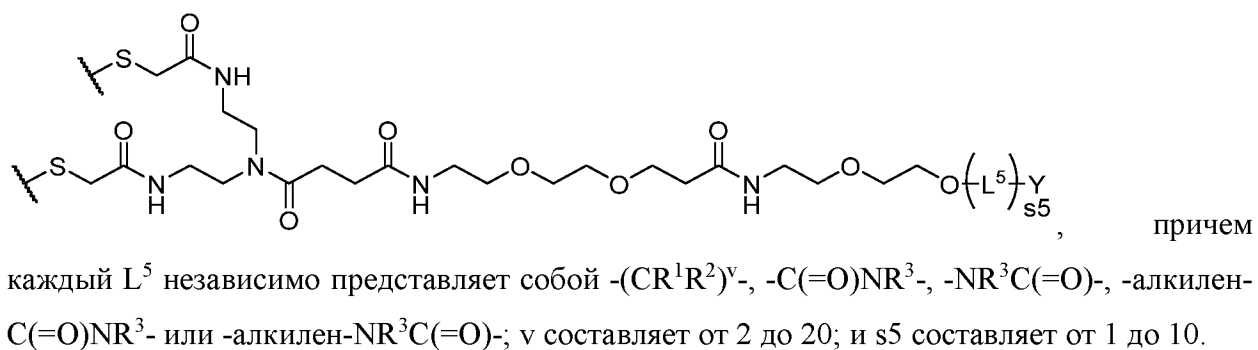
[00178] Согласно некоторым вариантам осуществления сшивающий фрагмент, присоединенный к пептиду, представляет собой



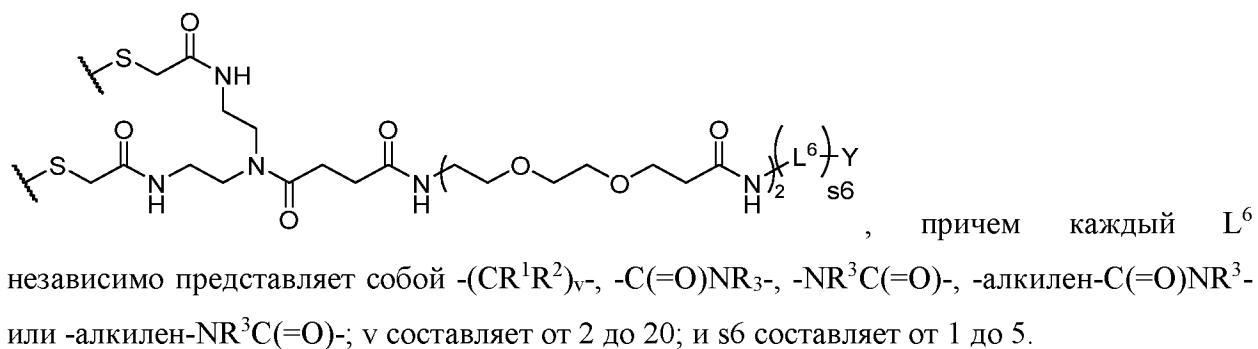
[00179] Согласно некоторым вариантам осуществления сшивающий фрагмент, присоединенный к пептиду, представляет собой



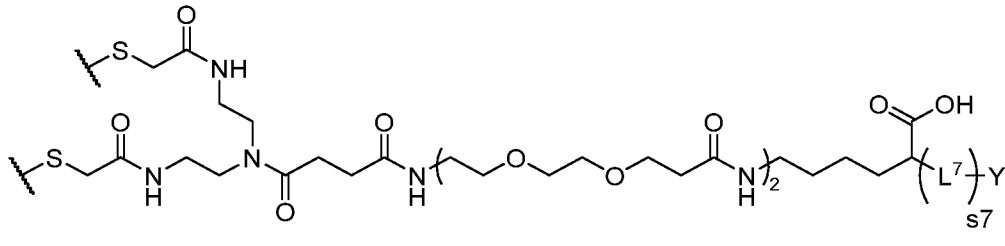
[00180] Согласно некоторым вариантам осуществления сшивающий фрагмент, присоединенный к пептиду, представляет собой



[00181] Согласно некоторым вариантам осуществления сшивающий фрагмент, присоединенный к пептиду, представляет собой

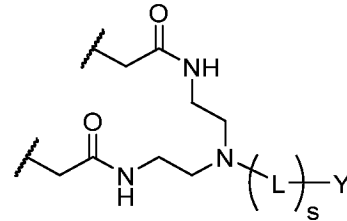


[00182] Согласно некоторым вариантам осуществления сшивающий фрагмент, присоединенный к пептиду, представляет собой



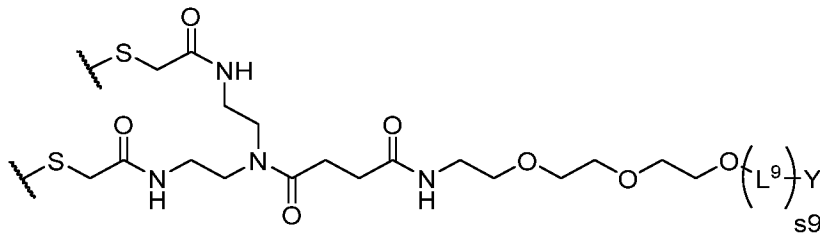
, причем каждый  $L^7$  независимо представляет собой  $-(CR^1R^2)_v-$ ,  $-C(=O)NR^3-$  или  $-NR^3C(=O)-$ ;  $v$  составляет от 2 до 20; и  $s7$  составляет от 1 до 5.

[00183] Согласно некоторым вариантам осуществления сшивающий фрагмент,



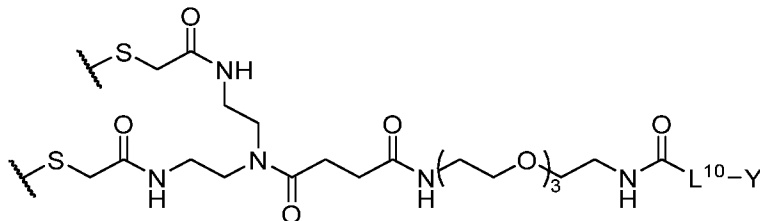
присоединенный к пептиду, представляет собой  $-(CR^1R^2)_v-$ , и  $v$  составляет от 10 до 20.

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



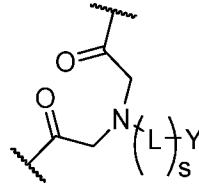
, причем каждый  $L^9$  независимо представляет собой  $-(CR^1R^2)_v-$ ,  $-C(=O)NR^3-$ ,  $-NR^3C(=O)-$ ,  $-алкилен-C(=O)NR^3-$  или  $-алкилен-NR^3C(=O)-$ ;  $v$  составляет от 2 до 20; и  $s9$  составляет от 1 до 5.

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



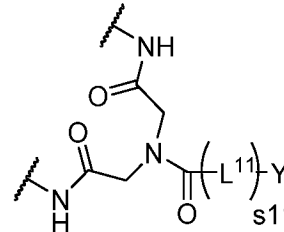
, причем  $L^{10}$  представляет собой  $-(CR^1R^2)_v-$ , и  $v$  составляет от 10 до 20.

[00186] Согласно некоторым вариантам осуществления сшивающий фрагмент,



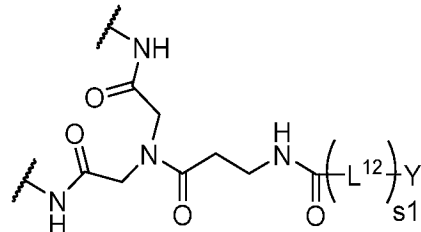
присоединенный к пептиду, представляет собой

[00187] Согласно некоторым вариантам осуществления сшивающий фрагмент,



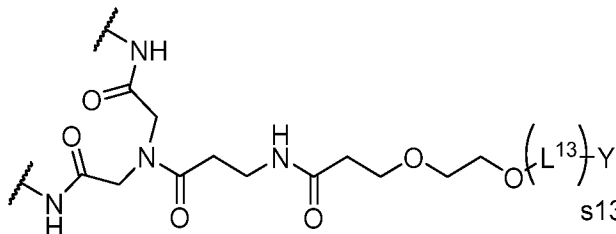
присоединенный к пептиду, представляет собой  $s_{11}$ , причем каждый  $L^{11}$  независимо представляет собой  $-(CR^1R^2)_v-$ , -алкилен-O-, -O-алкилен-,  $-C(=O)NR^3-$ ,  $-NR^3C(=O)-$ , -алкилен- $C(=O)NR^3-$  или -алкилен- $NR^3C(=O)-$ ;  $v$  составляет от 2 до 20; и  $s_{11}$  составляет от 1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

[00188] Согласно некоторым вариантам осуществления сшивающий фрагмент,



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

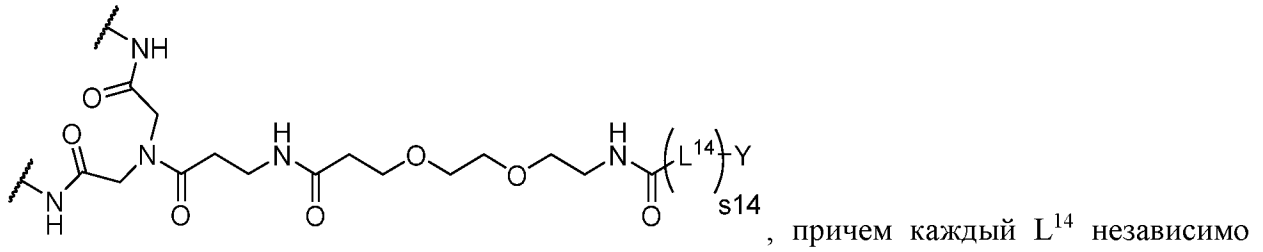
[00189] Согласно некоторым вариантам осуществления сшивающий фрагмент, присоединенный к пептиду, представляет собой



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

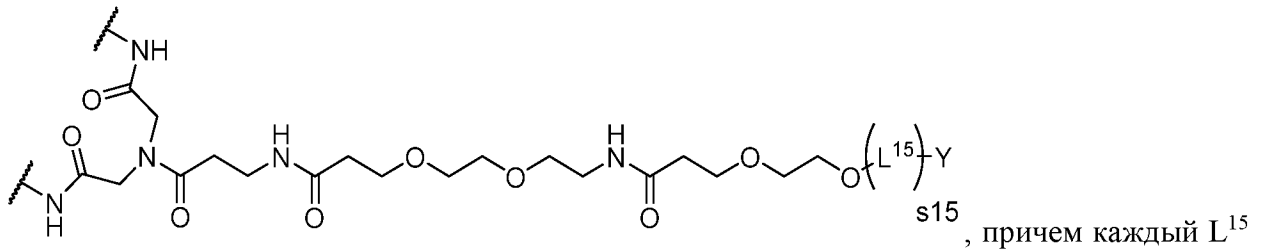
[00190] Согласно некоторым вариантам осуществления сшивающий фрагмент, присоединенный к пептиду, представляет собой





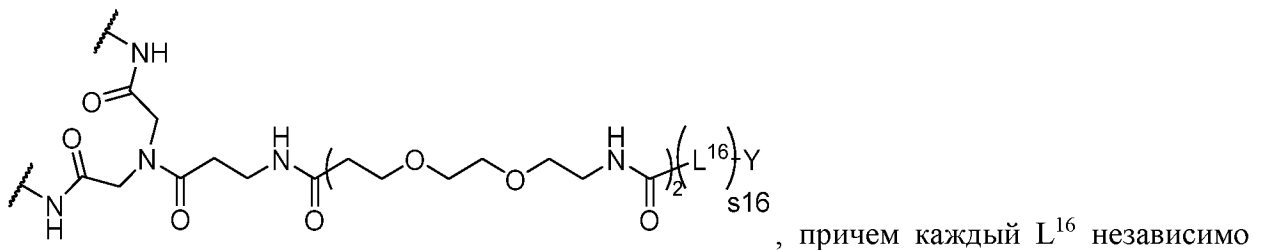
, причем каждый  $L^{14}$  независимо представляет собой  $-(CR^1R^2)_v-$ , -алкилен-O-, -O-алкилен-,  $-C(=O)NR^3-$ ,  $-NR^3C(=O)-$ , -алкилен- $C(=O)NR^3-$  или -алкилен- $NR^3C(=O)-$ ;  $v$  составляет от 2 до 20; и  $s14$  составляет от 1 до 15.

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



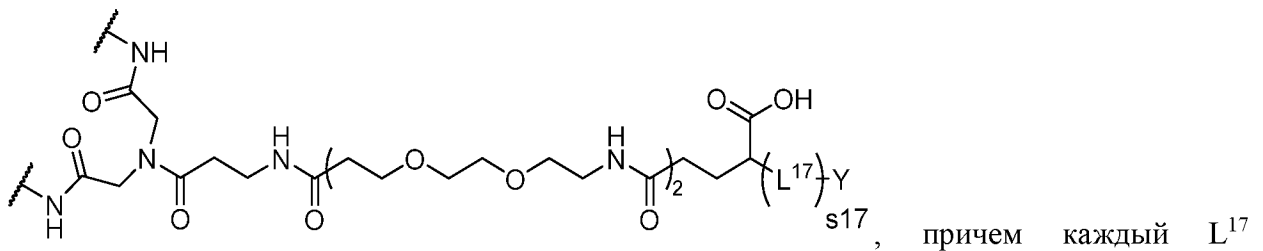
, причем каждый  $L^{15}$  независимо представляет собой  $-(CR^1R^2)_v-$ ,  $-C(=O)NR^3-$ ,  $-NR^3C(=O)-$ , -алкилен- $C(=O)NR^3-$  или -алкилен- $NR^3C(=O)-$ ;  $v$  составляет от 2 до 20; и  $s15$  составляет от 1 до 10.

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



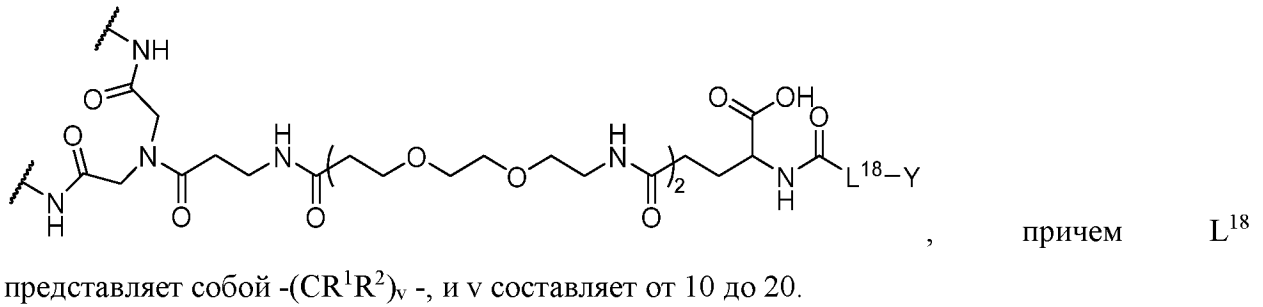
, причем каждый  $L^{16}$  независимо представляет собой  $-(CR^1R^2)_v-$ ,  $-C(=O)NR^3-$  или  $-NR^3C(=O)-$ ;  $v$  составляет от 2 до 20; и  $s16$  составляет от 1 до 5.

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

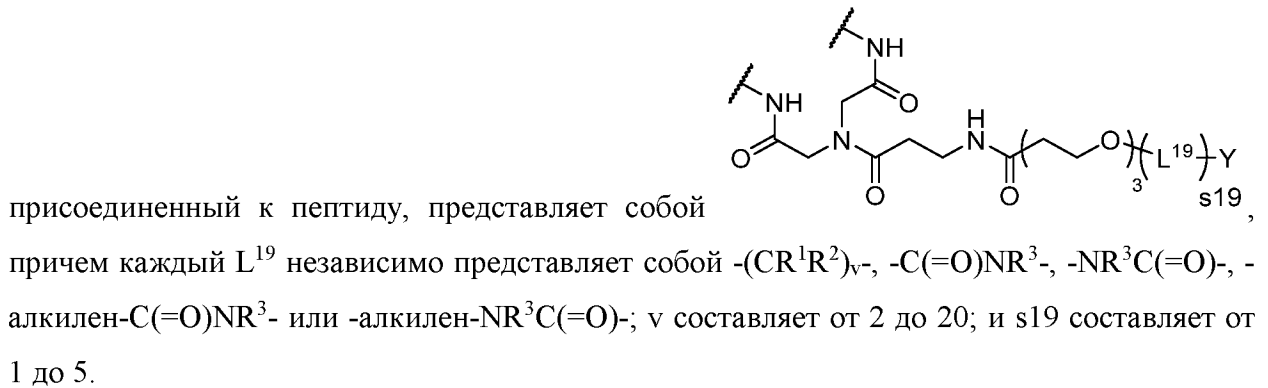


, причем каждый  $L^{17}$  независимо представляет собой  $-(CR^1R^2)_v-$ ,  $-C(=O)NR^3-$  или  $-NR^3C(=O)-$ ;  $v$  составляет от 2 до 20; и  $s17$  составляет от 1 до 5.

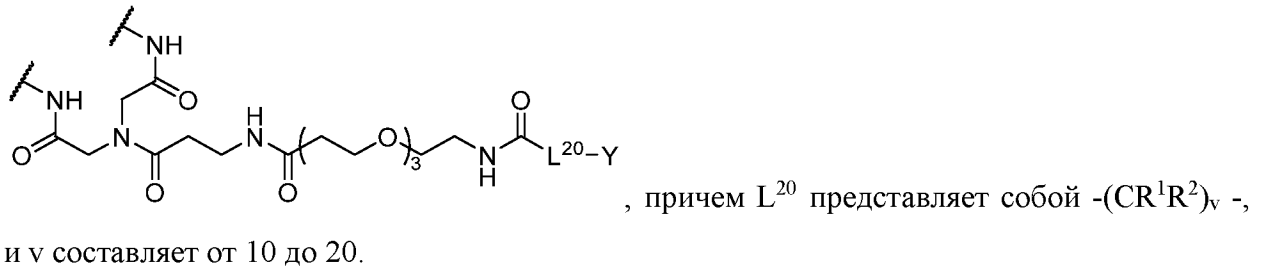
[00194] Согласно некоторым вариантам осуществления сшивающий фрагмент, присоединенный к пептиду, представляет собой



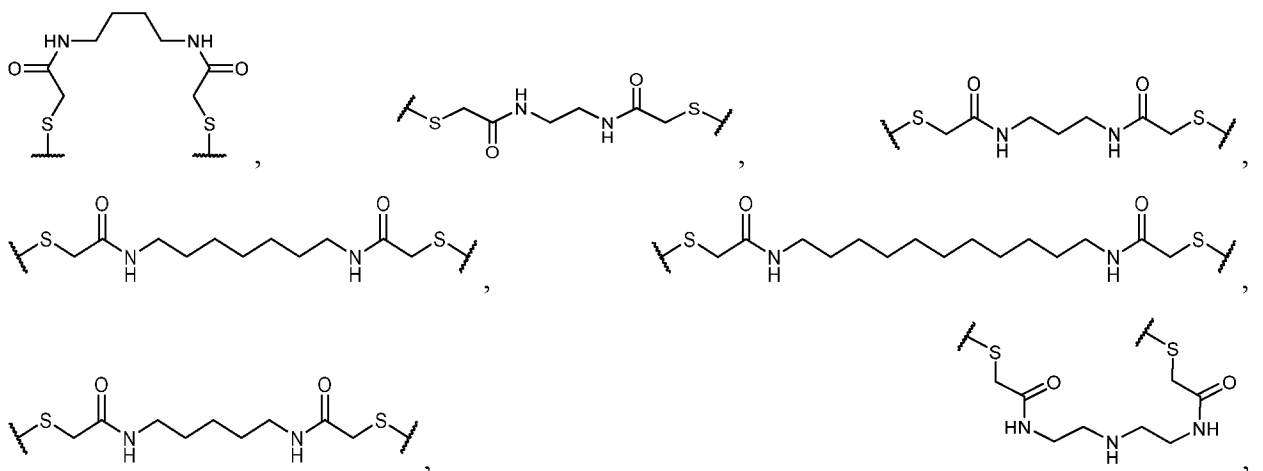
[00195] Согласно некоторым вариантам осуществления сшивающий фрагмент,

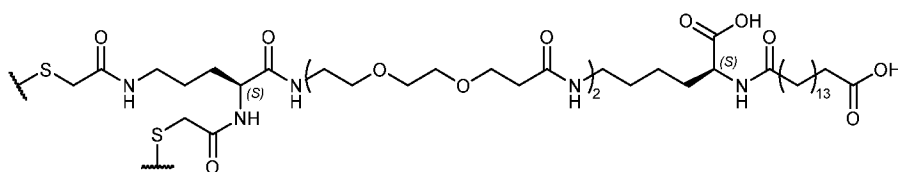
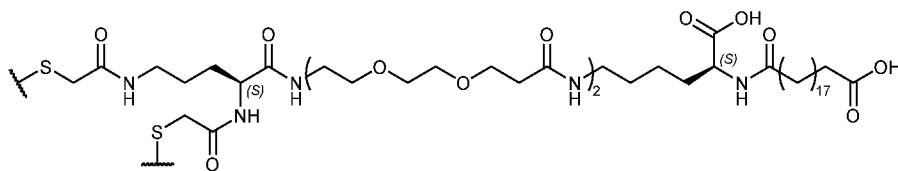
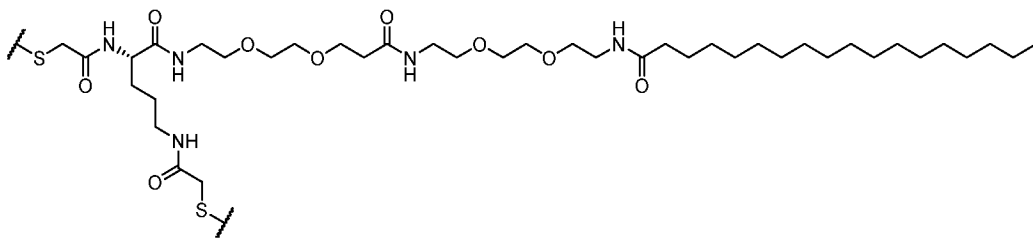
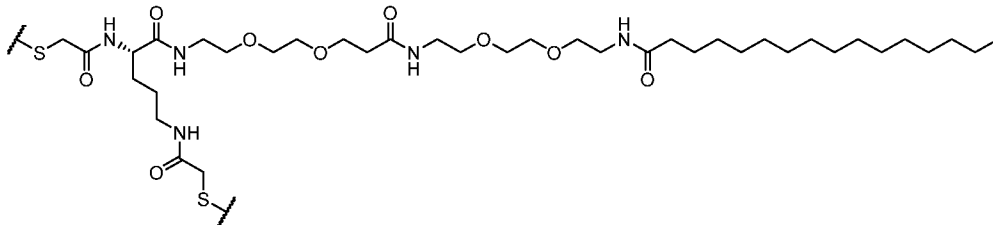
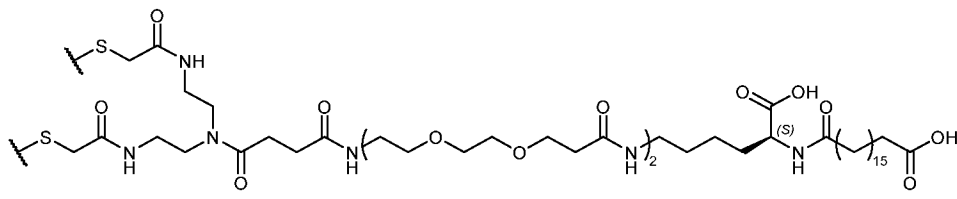
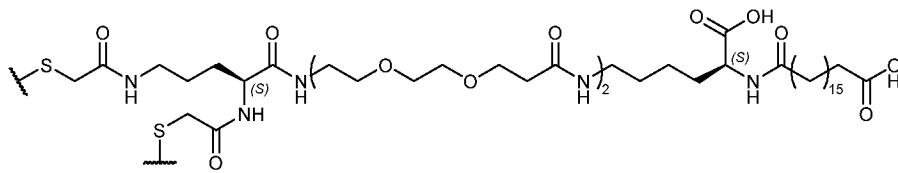
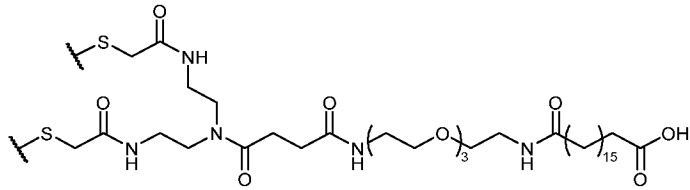
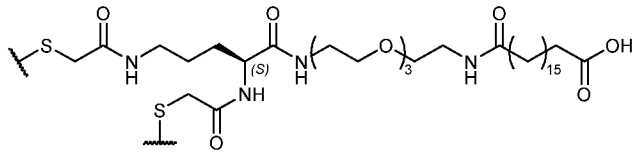
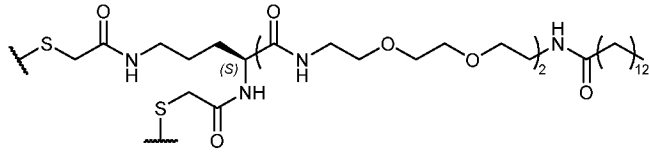


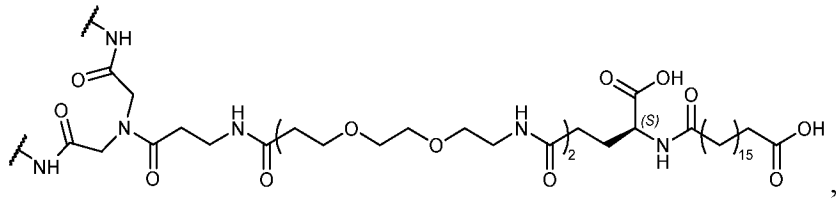
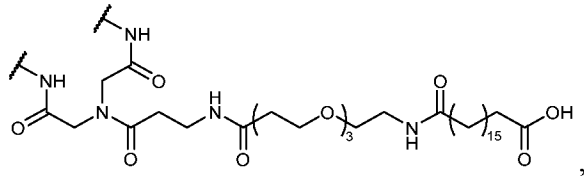
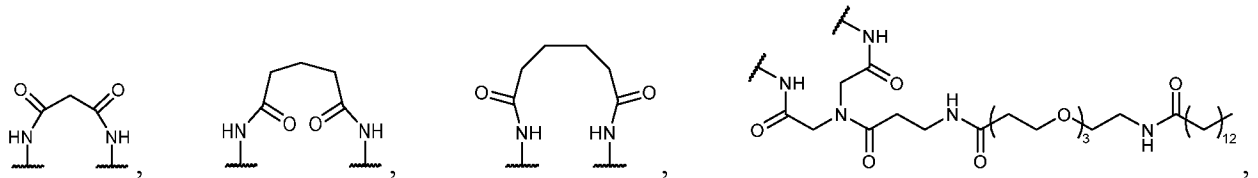
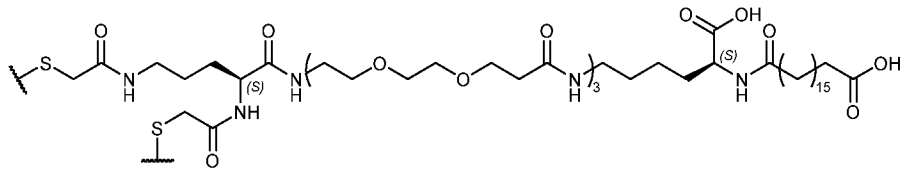
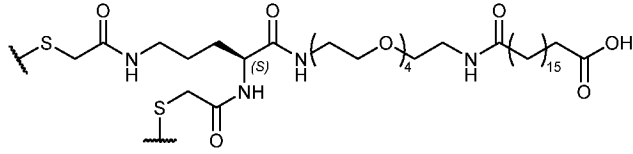
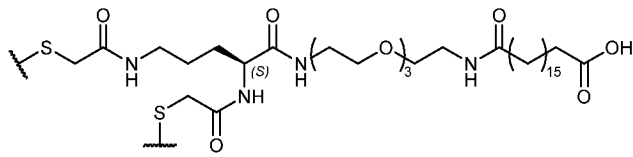
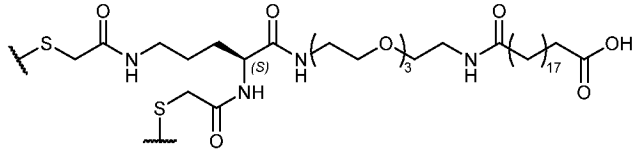
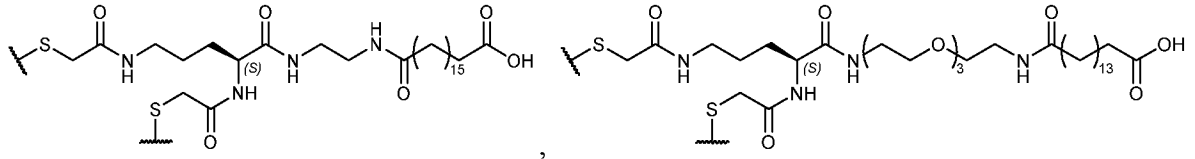
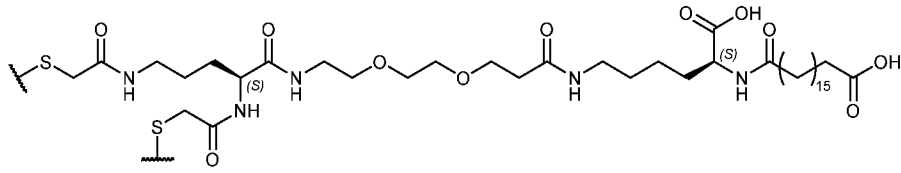
[00196] Согласно некоторым вариантам осуществления сшивающий фрагмент, присоединенный к пептиду, представляет собой

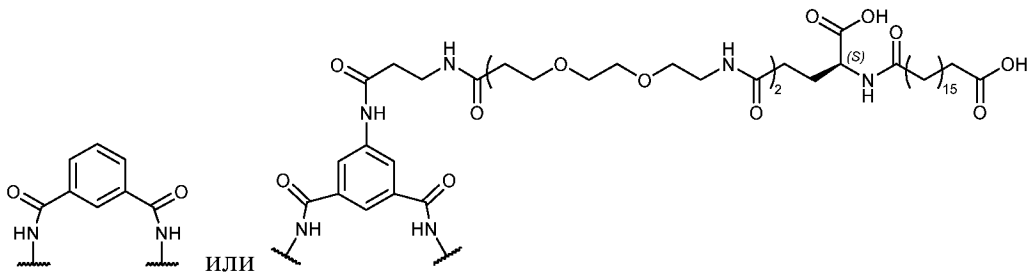


[00197] Согласно некоторым вариантам осуществления сшивающий фрагмент, присоединенный к пептиду, представляет собой:



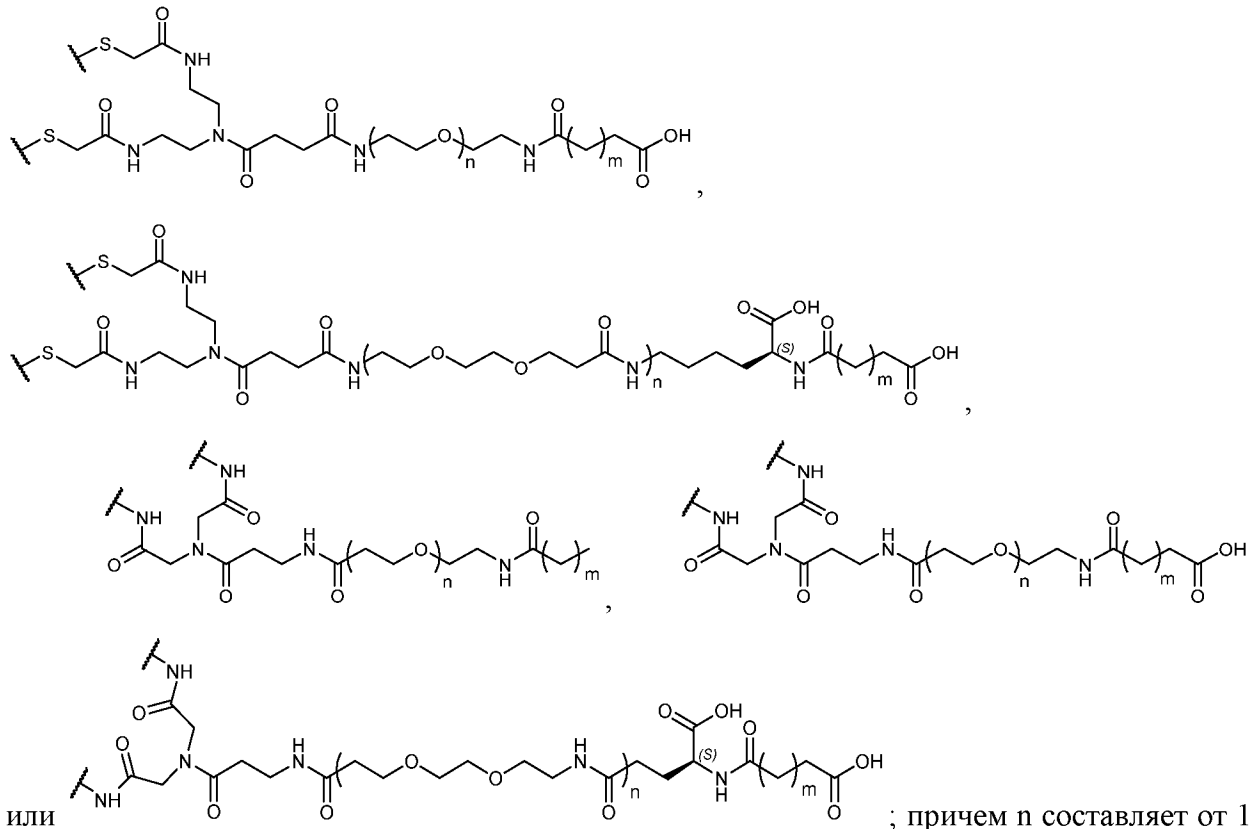






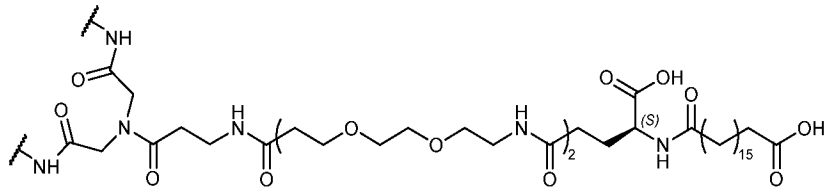
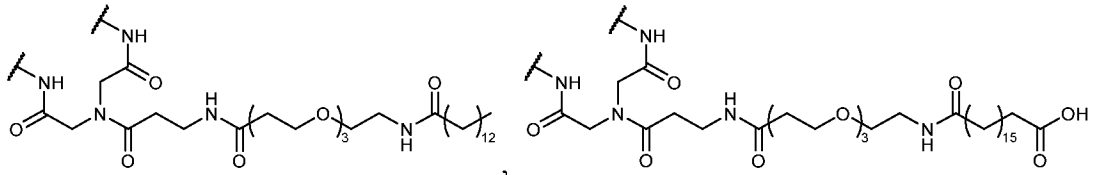
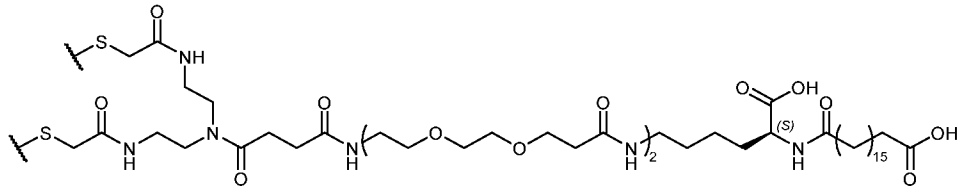
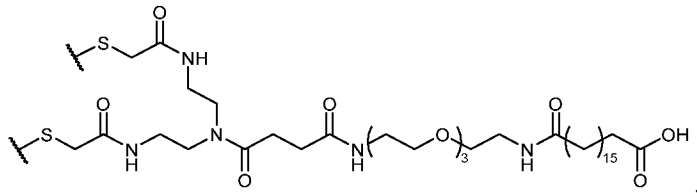
; причем « $\{S$ » представляет собой часть остатка цистеина, гомоцистеина, 2-амино-5-меркаптопентановой кислоты или 2-амино-6-меркаптогексановой кислоты, и при этом « $\{NH$ » представляет собой часть остатка лизина, орнитина, диаминомасляной кислоты, диаминопропионовой кислоты или гомолизина.

[00198] Согласно некоторым вариантам осуществления сшивающий фрагмент, присоединенный к пептиду, представляет собой:



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

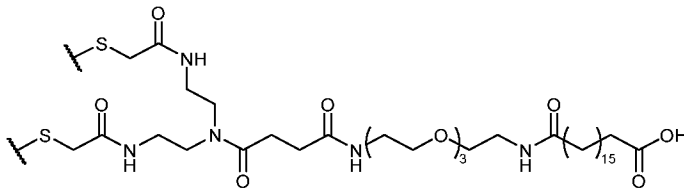
[00199] Согласно некоторым вариантам осуществления сшивающий фрагмент, присоединенный к пептиду, представляет собой:



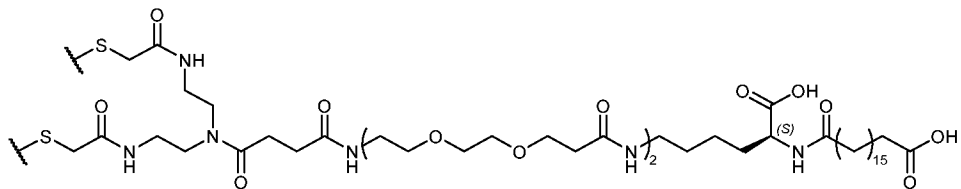
или

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

[00200] Согласно некоторым вариантам осуществления сшивающий фрагмент, присоединенный к пептиду, представляет собой:

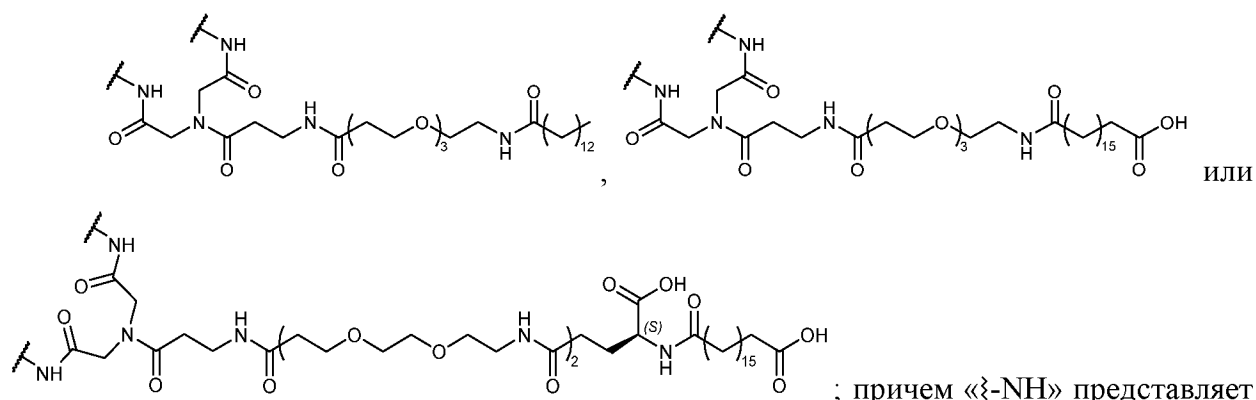


или



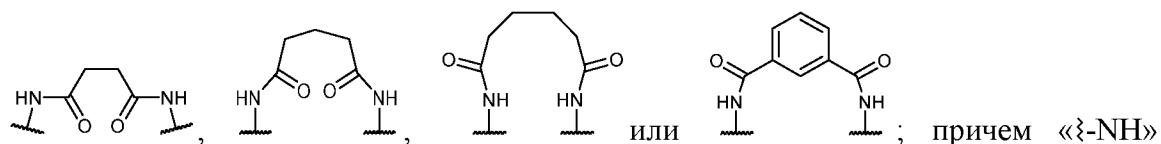
; причем « $\{S\}$ » представляет собой часть остатка цистеина, гомоцистеина, 2-амино-5-меркаптопентановой кислоты или 2-амино-6-меркаптогексановой кислоты.

[00201] Согласно некоторым вариантам осуществления сшивающий фрагмент, присоединенный к пептиду, представляет собой:



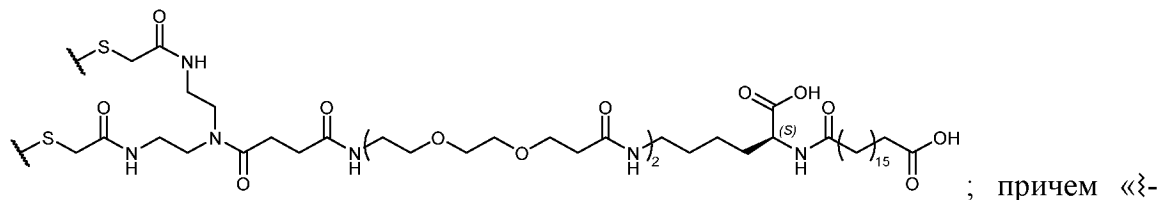
собой часть остатка лизина, орнитина, диаминомасляной кислоты, диаминопропионовой кислоты или гомолизина.

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



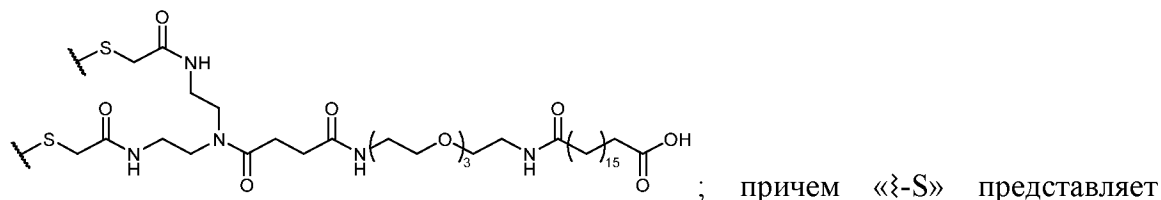
представляет собой часть остатка лизина, орнитина, диаминомасляной кислоты, диаминопропионовой кислоты или гомолизина.

[00203] Согласно некоторым вариантам осуществления сшивающий фрагмент, присоединенный к пептиду, представляет собой:



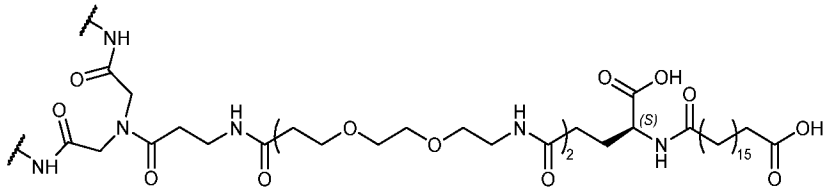
S» представляет собой часть остатка цистеина, гомоцистеина, 2-амино-5-меркаптопентановой кислоты или 2-амино-6-меркаптогексановой кислоты.

[00204] Согласно некоторым вариантам осуществления сшивающий фрагмент, присоединенный к пептиду, представляет собой:



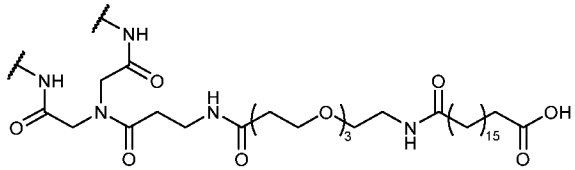
собой часть остатка цистеина, гомоцистеина, 2-амино-5-меркаптопентановой кислоты или 2-амино-6-меркаптогексановой кислоты.

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



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

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

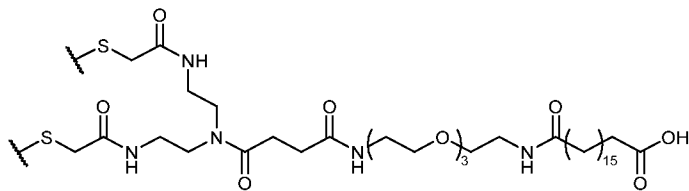


; причем « $\xi$ -NH» представляет собой часть остатка лизина, орнитина, диаминомасляной кислоты, диаминопропионовой кислоты или гомолизина.

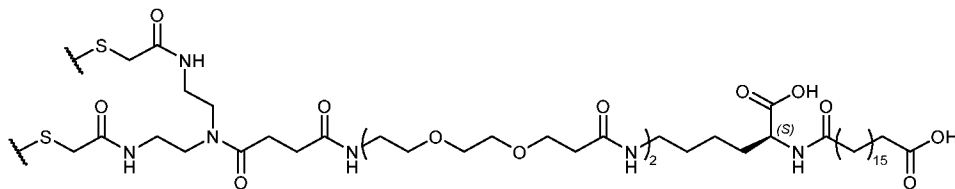
[0207] Согласно некоторым вариантам осуществления пептидный конъюгат содержит:

а) пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержащий последовательность, которая представляет собой любую из последовательностей SEQ ID NO: 1-9; и

б) сшивающий фрагмент, присоединенный к пептиду через первый цистеин и второй цистеин, имеющий следующую структуру («S» представляет собой часть цистеинового остатка):



или

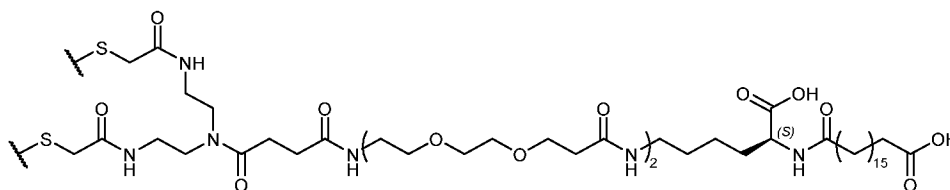


[0208] Согласно некоторым вариантам осуществления пептидный конъюгат содержит:

а) пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержащий последовательность, которая представляет собой SEQ ID NO: 1; и



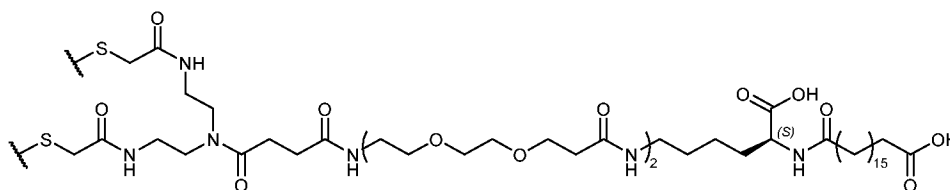
b) сшивающий фрагмент, присоединенный к пептиду через первый цистеин и второй цистеин, имеющий следующую структуру («S» представляет собой часть цистеинового остатка):



[0209] Согласно некоторым вариантам осуществления пептидный конъюгат содержит:

a) пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержащий последовательность, которая представляет собой SEQ ID NO: 2; и

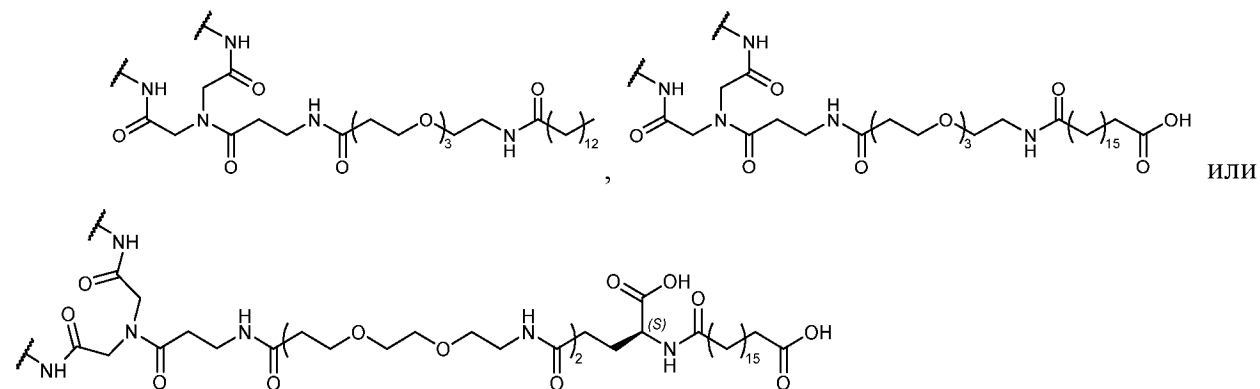
b) сшивающий фрагмент, присоединенный к пептиду через первый цистеин и второй цистеин, имеющий следующую структуру («S» представляет собой часть цистеинового остатка):



[0210] Согласно некоторым вариантам осуществления пептидный конъюгат содержит:

a) пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержащий последовательность, которая представляет собой любую из последовательностей SEQ ID NO: 10-20; и

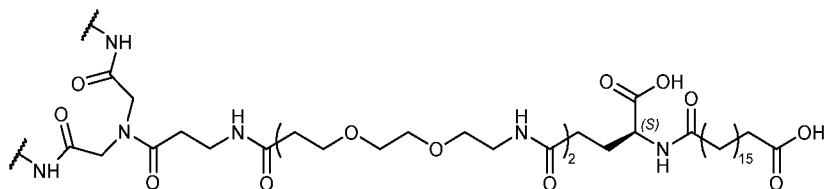
b) сшивающий фрагмент, присоединенный к пептиду через первый лизин и второй лизин, имеющий следующую структуру («NH» представляет собой часть лизинового остатка):



[0211] Согласно некоторым вариантам осуществления пептидный конъюгат содержит:

a) пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержащий последовательность, которая представляет собой SEQ ID NO: 10; и

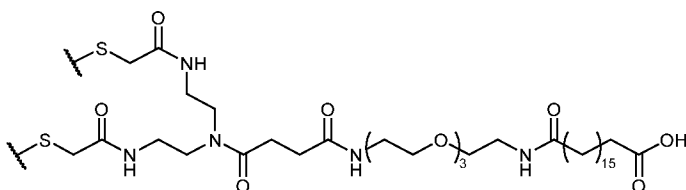
b) сшивающий фрагмент, присоединенный к пептиду через первый лизин и второй лизин, имеющий следующую структуру («NH» представляет собой часть лизинового остатка):



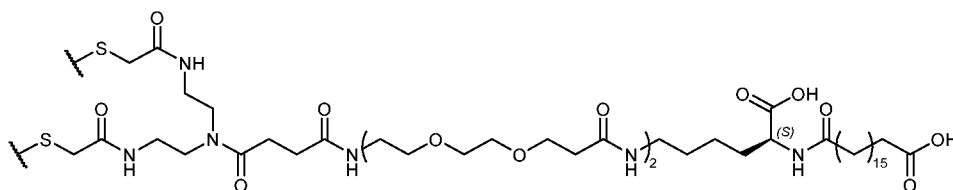
[0212] Согласно некоторым вариантам осуществления пептидный конъюгат содержит:

a) пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержащий последовательность, которая представляет собой любую из последовательностей SEQ ID NO: 21-29; и

b) сшивающий фрагмент, присоединенный к пептиду через первый цистеин и второй цистеин, имеющий следующую структуру («S» представляет собой часть цистеинового остатка):



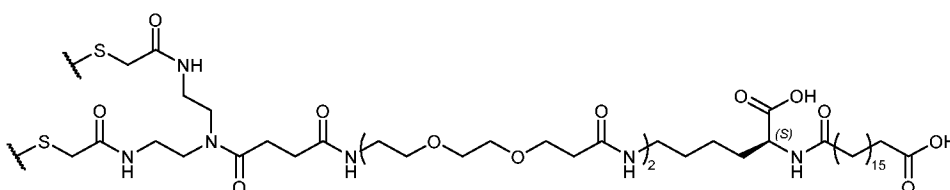
или



[0213] Согласно некоторым вариантам осуществления пептидный конъюгат содержит:

a) пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержащий последовательность, которая представляет собой SEQ ID NO: 21; и

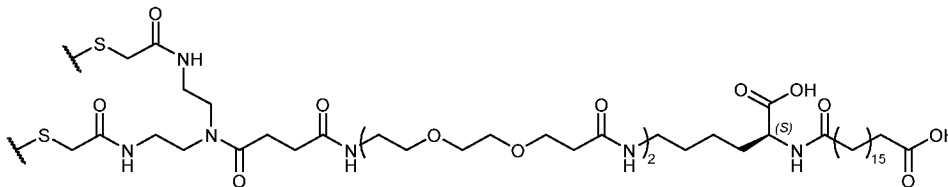
b) сшивающий фрагмент, присоединенный к пептиду через первый цистеин и второй цистеин, имеющий следующую структуру («S» представляет собой часть цистеинового остатка):



[0214] Согласно некоторым вариантам осуществления пептидный конъюгат содержит:

a) пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержащий последовательность, которая представляет собой SEQ ID NO: 22; и

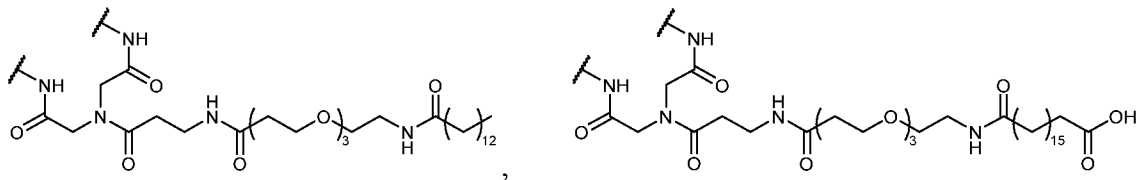
b) сшивающий фрагмент, присоединенный к пептиду через первый цистеин и второй цистеин, имеющий следующую структуру («S» представляет собой часть цистеинового остатка):



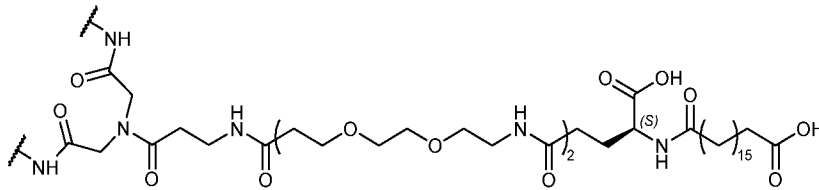
[0215] Согласно некоторым вариантам осуществления пептидный конъюгат содержит:

a) пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержащий последовательность, которая представляет собой любую из последовательностей SEQ ID NO: 30-40; и

b) сшивающий фрагмент, присоединенный к пептиду через первый лизин и второй лизин, имеющий следующую структуру («NH» представляет собой часть лизинового остатка):



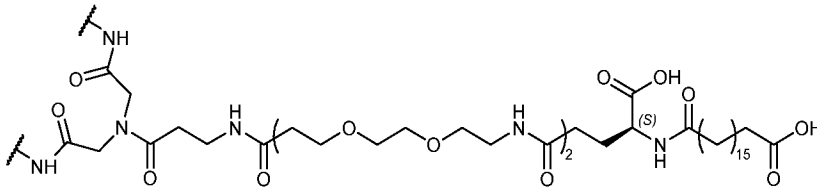
ИЛИ



[0216] Согласно некоторым вариантам осуществления пептидный конъюгат содержит:

a) пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержащий последовательность, которая представляет собой SEQ ID NO: 30; и

b) сшивающий фрагмент, присоединенный к пептиду через первый лизин и второй лизин, имеющий следующую структуру («NH» представляет собой часть лизинового остатка):



### Фармакокинетика

[0217] Механизмы, посредством которых пептидные конъюгаты производят положительное воздействие на фармакокинетическое или фармакодинамическое поведение, представляют собой, но не ограничиваются этим, следующие механизмы: (i) предотвращение или ослабление протеолитической деградации в условиях организма или другой снижающей активность химической модификации пептида, который модулирует рецептор GLP-2; (ii) увеличение периода полураспада или улучшение других фармакокинетических свойств за счет снижения почечной фильтрации, уменьшения опосредованного рецептором выведения или увеличения биодоступности; (iii) снижение токсичности; (iv) повышение растворимости; и/или (v) увеличение биологической активности и/или селективности пептида или немодифицированного пептида.

[0218] Пептидные конъюгаты могут усиливать одно или более фармакокинетических свойств пептида, который модулирует рецептор GLP-2, когда он присоединяется к пептиду. Пептидные конъюгаты, описанные в настоящем документе, могут усиливать одно или более фармакокинетических свойств пептида, который модулирует рецептор GLP-2, по меньшей мере около на 200% при измерении фармакодинамическими методами по сравнению с индивидуальным пептидом или немодифицированным пептидом. Пептидные конъюгаты, описанные в настоящем документе, могут усиливать одно или более фармакокинетических свойств терапевтического средства по меньшей мере около на 300%, 400%, 500%, 600%, 700%, 800%, 900%, 1000% при измерении фармакодинамическими методами по сравнению с индивидуальным пептидом или немодифицированным пептидом.

[0219] Фармакокинетические свойства могут представлять собой период полураспада. Период полураспада пептидного конъюгата может быть по меньшей мере около в два раза более продолжительным по сравнению с периодом полураспада индивидуального немодифицированного пептида. Период полураспада пептидного конъюгата, описанного в настоящем документе, может быть по меньшей мере около в 3, 4, 5 или 10 раз более продолжительным по сравнению с периодом полураспада индивидуального терапевтического средства или немодифицированного терапевтического пептида. Период полураспада пептидного конъюгата, описанного в настоящем документе, может быть по меньшей мере около в 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 или

50 раз более продолжительным по сравнению с периодом полуразложения индивидуального немодифицированного пептида.

[0220] Согласно некоторым вариантам осуществления период полуразложения пептидного конъюгата является по меньшей мере около в 2 раза более продолжительным, чем период полуразложения немодифицированной формы пептида. Согласно некоторым вариантам осуществления период полуразложения пептидного конъюгата является по меньшей мере около в 5 раз более продолжительным, чем период полуразложения немодифицированной формы пептида. Согласно некоторым вариантам осуществления период полуразложения пептидного конъюгата является по меньшей мере около в 10 раз более продолжительным, чем период полуразложения немодифицированной формы пептида.

[0221] Кроме того, пептидный конъюгат, который описан в настоящем документе, может производить положительный эффект, представляющий собой улучшение производственной технологичности и/или снижение иммуногенности пептида, по сравнению с неконъюгированной формой немодифицированного терапевтического пептида.

#### **Терапевтическое применение**

[0222] Согласно одному аспекту пептидные конъюгаты, описанные в настоящем документе, являются пригодными для применения в целях лечения, ослабления, замедления и/или предотвращения одного или более заболеваний и/или состояний. Заболевание и/или состояние может представлять собой хроническое заболевание или состояние. В качестве альтернативы, заболевание и/или состояние представляет собой острое заболевание или состояние. Заболевание или состояние может быть повторяющимся, трудно поддающимся лечению, ускоренным или находиться в стадии ремиссии. Заболевание или состояние может воздействовать на клетки одного или более типов. Одно или более заболеваний и/или состояний могут представлять собой аутоиммунные заболевания, воспалительные заболевания или метаболические заболевания.

[0223] В настоящем документе раскрыт способ лечения заболевания или состояния у нуждающегося в этом субъекта, причем в способе предусмотрено введение субъекту пептидного конъюгата, описанного в настоящем документе. Заболевание или состояние может представлять собой диабет или ожирение, или медицинское состояние, связанное с диабетом или ожирением. Заболевание или состояние может представлять собой неалкогольную жировую болезнь печени (NAFLD), неалкогольный стеатогепатит (NASH) или сердечно-сосудистое заболевание. Заболевание или состояние может представлять

собой аутоиммунное нарушение. Заболевание или состояние может представлять собой болезнь Крона или язвенный колит. Заболевание или состояние может представлять собой синдром короткого кишечника (SBS). Заболевание или состояние может представлять собой воспалительное заболевание кишечника (IBD), воспалительный кишечный синдром (IBS) или псориаз. Заболевание или состояние может представлять собой болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона или болезнь Хантингтона. Пептидный загрузочный комплекс (PLC) может быть введен совместно с одним или более дополнительными терапевтическими средствами. В настоящем документе раскрыт способ лечения заболевания или состояния у нуждающегося в этом субъекта, причем в способе предусмотрено введение субъекту композиции, описанной в настоящем документе и содержащей один или более пептидных конъюгатов.

[0224] Согласно настоящему изобретению предложен способ предотвращения или лечения метаболического заболевания или состояния у нуждающегося в этом субъекта, причем в способе предусмотрено введение субъекту пептидного конъюгата, который описан в настоящем документе. Метаболическое заболевание или состояние может представлять собой диабет. Метаболическое заболевание или состояние может представлять собой ожирение. Метаболическое заболевание или состояние может представлять собой болезнь накопления гликогена, фенилкетонурию, болезнь мочи с запахом кленового сиропа, глутаровую ацидемию первого типа, дефицит карбамоилфосфатсинтетазы I, алькаптонурию, дефицит дегидрогеназы среднецепочечного ацил-кофермента A (MCADD), острую перемежающуюся порфирию, синдром Леша-Нихана, липоидную врожденную гиперплазию надпочечников, врожденную гиперплазию надпочечников, дефицит проопиомеланокортина (POMPC), дефицит лептиновых рецепторов (LEPR), синдром Барде-Бидля, синдром Альстррома, синдром Прадера-Вилли, синдром Кернса-Сейра, синдром Цельвегера, болезнь Гоше или болезнь Ниманна-Пика.

[0225] Согласно настоящему изобретению предложен способ предотвращения или лечения неалкогольной жировой болезни печени (NAFLD), неалкогольного стеатогепатита (NASH) или сердечно-сосудистого заболевания у нуждающегося в этом субъекта, причем в способе предусмотрено введение субъекту пептидного конъюгата, описанного в настоящем документе.

[0226] Согласно настоящему изобретению предложен способ предотвращения или лечения синдрома короткого кишечника (SBS) у нуждающегося в этом субъекта, причем в способе предусмотрено введение субъекту пептидного конъюгата, описанного в настоящем документе.

[0227] Согласно настоящему изобретению предложен способ предотвращения или лечения воспалительного заболевания кишечника (IBD), воспалительного кишечного синдрома (IBS) или псориаза у нуждающегося в этом субъекта, причем в способе предусмотрено введение субъекту пептидного конъюгата, описанного в настоящем документе.

[0228] Согласно настоящему изобретению предложен способ предотвращения или лечения болезни Крона или язвенного колита у нуждающегося в этом субъекта, причем в способе предусмотрено введение субъекту пептидного конъюгата, описанного в настоящем документе.

[0229] Согласно настоящему изобретению предложен способ предотвращения или лечения нарушения сна.

[0230] Согласно настоящему изобретению предложен способ предотвращения или лечения абсансного судорожного припадка.

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

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

[0231] Согласно настоящему изобретению предложен способ предотвращения или лечения болезни Альцгеймера, болезни Паркинсона или болезни Хантингтона у нуждающегося в этом субъекта, причем в способе предусмотрено введение субъекту пептидного конъюгата, описанного в настоящем документе.

[0232] Согласно настоящему изобретению предложен способ предотвращения или лечения желудочно-кишечных нарушений, например, лечения новорожденных с нарушенной функцией кишечника, остеопорозом и состояниями, опосредованными дипептидилпептидазой-IV (DPP-IV). В качестве примера, желудочно-кишечные нарушения представляют собой язвы, гастриты, нарушения пищеварения, синдромы мальабсорбции, синдром короткой кишки, синдром тупикового мешка, воспалительное заболевание кишечника, болезнь глютеновой недостаточности (которую вызывает, например, глютен-индуцированная энтеропатия или глютенчувствительная целиакия), тропическая глютеновая недостаточность, гипогаммаглобулинемическая глютеновая недостаточность, энтерит, регионарный энтерит (болезнь Крона), язвенный колит, связанный с диареей синдром раздраженного кишечника, повреждение тонкой кишки и синдром короткого кишечника.

[0233] Согласно настоящему изобретению предложен способ предотвращения или лечения радиационного энтерита, инфекционного или постинфекционного энтерита и повреждения тонкой кишки вследствие воздействия токсических или других химиотерапевтических средств. При этом может потребоваться введение пептидного конъюгата до, во течение или после курса химиотерапии или лучевой терапии, чтобы уменьшить побочные эффекты химиотерапии, такие как диарея, спазмы в животе и рвота, а также уменьшить последующее структурное и функциональное повреждение эпителия кишечника, возникающее в результате химиотерапии или лучевой терапии.

[0234] Согласно настоящему изобретению предложен способ предотвращения или лечения нарушений питания, например, таких состояний, как синдром истощения, кахексия и анорексия.

[0235] Согласно настоящему изобретению предложен способ предотвращения или лечения заболевания или состояния, при котором оказывается благоприятным модулятор рецептора GLP-2, у нуждающегося в этом субъекта, где предусмотрено введение субъекту пептидного конъюгата, описанного в настоящем документе.

### **Комбинации**

[0236] В настоящем документе раскрыты фармацевтические композиции, содержащие пептидный конъюгат, описанный в настоящем документе, и одно или более дополнительных терапевтических средств.

[0237] В дополнительных терапевтических средствах могут содержаться в единственном или множественном числе другие диабетические лекарственные средства, ингибиторы DPP4, ингибиторы натрий-зависимого переносчика глюкозы второго типа (SGLT2), гипогликемические лекарственные средства и препараты на основе бигуанидина, стимулирующие секрецию инсулина лекарственные средства и препараты на основе сульфонилкарбамида, лекарственные средства на основе тиазолидинедина (TZD), инсулин и аналоги инсулина, фактор роста фибробластов (FGF21) и аналоги, лептин или аналоги лептина, амилин и аналоги амилина, противовоспалительные лекарственные средства, циклоспорин А или такролимус (FK506), 5-аминосалициловая кислота (5-ASA) или статины, или любые их комбинации. Дополнительное терапевтическое средство может представлять собой аспирин.

[0238] Дополнительные терапевтические средства могут содержать терапевтический инкретин или соответствующее производное. Неограничительные примеры инкретинов или соответствующих производных представляют собой GLP-1, глюкагон, оксинтомодулин, эксендин-4, GLP-2, GIP и их комбинации.

### **Композиции**



[0239] В настоящем документе раскрыты фармацевтические композиции, содержащие пептидный конъюгат, описанный в настоящем документе, и фармацевтически приемлемые вспомогательные вещества или разбавители. Фармацевтически приемлемые вспомогательные вещества или разбавители могут представлять собой носители, вспомогательные вещества, разбавители, антиоксиданты, консерванты, красители, ароматизаторы, эмульгаторы, суспендирующие вещества, растворители, наполнители, придающие объем вещества, буферные растворы, средства доставки, повышающие тоничность вещества, вспомогательные растворители, смачивающие вещества, комплексообразователи, буферные вещества, противомикробные средства и поверхностно-активные вещества.

[0240] Примеры подходящих носителей представляют собой нейтральный буферный солевой раствор или солевой раствор, смешанный с сывороточным альбумином. В фармацевтических композициях могут присутствовать антиоксиданты, такие как аскорбиновая кислота; низкомолекулярные полипептиды; белки, такие как сывороточный альбумин, желатин или иммуноглобулины; гидрофильные полимеры, такие как поливинилпирролидон; аминокислоты, такие как глицин, глутамин, аспарагин, аргинин или лизин; моносахариды, дисахариды и другие углеводы, в том числе глюкозу, маннозу или декстрины; хелатообразующие вещества, такие как этилендиаминтетрауксусная кислота (EDTA); сахароспирты, такие как маннит или сорбит; солеобразующие противоионы, такие как ионы натрия; и/или неионогенные поверхностно-активные вещества, такие как Tween, Pluronic или полиэтиленгликоль (PEG). Кроме того, в качестве примера могут присутствовать подходящие повышающие тоничность вещества, такие как галогениды щелочных металлов (предпочтительно хлорид натрия или калия), маннит, сорбит и т. п. Подходящие консерванты представляют собой хлорид бензалкония, тимеросал, фенетиловый спирт, метилпарабен, пропилпарабен, хлоргексидин, сорбиновая кислота и т. д. Пероксид водорода также может быть использован в качестве консерванта. Подходящие вспомогательные растворители представляют собой глицерин, пропиленгликоль и полиэтиленгликоль. Подходящие комплексообразователи представляют собой кофеин, поливинилпирролидон, бета-циклодекстрин или гидроксипропил-бета-циклодекстрин. Подходящие поверхностно-активные вещества или смачивающие вещества агенты представляют собой сложные эфиры сорбитана, полисорбаты, такие как полисорбат 80, трометамин, лецитин, холестерин, тилоксапал и подобные вещества. Буферные вещества могут представлять собой обычные буферные растворы, такие как ацетатный, боратный, цитратный, фосфатный, бикарбонатный или трис-HCl. Ацетатный буферный раствор может иметь

значение pH, составляющее около от 4 до 5,5, а трис-буферный раствор может иметь значение pH, составляющее около от 7 до 8,5. Дополнительные фармацевтические вещества представляет работа Remington, «Фармацевтические науки», 18 издание, редактор А. R. Gennago, издательство Mack Publishing Company, 1990 г.

[0241] Композиция может присутствовать в жидкой форме или в лиофилизированной или высушенной замораживанием форме и может содержать в единственном или множественном числе лиопротекторы, вспомогательные вещества, поверхностно-активные вещества, высокомолекулярные структурные добавки и/или наполнители. Согласно одному варианту осуществления присутствует лиопротектор, который представляет собой невосстанавливающий сахар, такой как сахароза, лактоза или трегалоза. Как правило, лиопротектор содержится в таком количестве, что после приготовления раствора полученный состав будет изотоническим, хотя также могут быть пригодны гипертонические или слегка гипотонические составы. Кроме того, количество лиопротектора должно быть достаточным для предотвращения неприемлемой степени деградации и/или агрегации белка при лиофилизации. Типичные концентрации лиопротекторов для сахаров (например, сахарозы, лактозы, трегалозы) в предварительно лиофилизированном составе составляют от около 10 мМ до около 400 мМ. Согласно другому варианту осуществления присутствуют поверхностно-активные вещества, такие как, например, неионогенные поверхностно-активные вещества и ионогенные поверхностно-активные вещества, такие как полисорбаты (например, полисорбат 20, полисорбат 80); полочсамеры (например, полочсамер 188); простые фениловые эфиры полиэтиленгликоля (например, Triton); додецилсульфат натрия (SDS); лаурилсульфат натрия; октилгликозид натрия; лаурил-, миристил-, линолеил- или стеарилсульфобетаин; лаурил-, миристил-, линолеил- или стеарил-саркозин; линолеил-, миристил- или цетилбетаин; лауроамидопропил-, кокаמידопропил-, линолеамидопропил-, миристамидопропил-, пальмидопропил- или изостеарамидопропилбетаин (например, лауроамидопропил); миристамидопропил-, пальмидопропил- или изостеарамидопропилдиметиламин; метилкокоилтаурат натрия или метилофилтаурат динатрия; и материалы серии MONAQUAT™ от компании Mona Industries, Inc. (Патерсон, штат Нью-Джерси, США), полиэтиленгликоль, полипропилгликоль и сополимеры этилена и пропиленгликоля (например, Pluronic, PF68 и т. д.). Примерные количества поверхностно-активного вещества, которые могут присутствовать в предварительно лиофилизированной композиции, составляют около от 0,001 до 0,5%. Высокомолекулярные структурные добавки (например, наполнители, связующие вещества) могут представлять собой, например, аравийская камедь, альбумин, альгиновая кислота, фосфат кальция

(двухосновный), целлюлоза, карбоксиметилцеллюлоза, натриевая соль карбоксиметилцеллюлозы, гидроксипропилцеллюлоза, гидроксипропилметилцеллюлоза, микрокристаллическая целлюлоза, декстран, декстрин, декстраты, сахароза, тилоза, предварительно желатинизированный крахмал, сульфат кальция, амилоза, глицин, бентонит, мальтоза, сорбит, этилцеллюлоза, гидрофосфат динатрия, фосфат динатрия, пиросульфит динатрия, поливиниловый спирт, желатин, глюкоза, гуаровая камедь, глюкозный сироп, прессованный сахар, алюмосиликат магния, мальтодекстрин, полиэтиленоксид, полиметакрилаты, повидон, альгинат натрия, трагакантовая камедь, микрокристаллическая целлюлоза, крахмал и зеин. Примерные концентрации высокомолекулярных структурных добавок составляют от 0,1% до 10% по массе. Согласно следующим вариантам осуществления может присутствовать придающее объем вещество (например, маннит, глицин).

[0242] Композиции могут быть подходящими для парентерального введения. Примерные композиции являются подходящими для инъекции или инфузии животному любым способом, доступным специалисту в данной области техники, таким как внутрисуставный, подкожный, внутривенный, внутримышечный, внутрибрюшинный, внутримозговой (внутрипаренхиматозный), внутрижелудочковый, внутримышечный, внутриглазной, внутриартериальный или внутриочаговый. Парентеральная композиция, как правило, может представлять собой стерильный апирогенный изотонический водный раствор, необязательно содержащий фармацевтически приемлемые консерванты.

[0243] Примерные неводные растворители представляют собой пропиленгликоль, полиэтиленгликоль, растительные масла, такие как оливковое масло, а также предназначенные для инъекций органические сложные эфиры, такие как этилолеат. Водные разбавители представляют собой вода, спиртовые/водные растворы, эмульсии или суспензии, загружаемый физиологический раствор и буферные среды. Парентеральные разбавители представляют собой раствор натрия хлорида, декстрозный раствор Рингера, декстроза и хлорид натрия, лактатный раствор Рингера или нелетучие масла. Внутривенные разбавители представляют собой восполнители жидкости и питательных веществ, восполнители электролитов, такие как разбавители, основу которых составляет декстрозный раствор Рингера, и подобные материалы. Кроме того, могут присутствовать консерванты и другие добавки, такие как, например, противомикробные препараты, антиоксиданты, хелатообразующие вещества, инертный газ и т. д. См., в основном, работу Remington, «Фармацевтические науки», 16 издание, редактор A. R. Gennago, издательство Mack Publishing Company, 1980 г.

[0244] Фармацевтические композиции, описанные в настоящем документе, могут быть составлены для контролируемой или пролонгированной доставки таким образом, который обеспечивает локальную концентрацию продукта (например, болюсный эффект, эффект замедленного всасывания) и/или повышение устойчивости или увеличение периода полураспада в конкретной локальной среде. Композиции могут содержать в своем составе пептидные конъюгаты, полипептиды, нуклеиновые кислоты или векторы, которые описаны в настоящем документе, с препаратами в виде частиц полимерных соединений, таких как полимолочная кислота, полигликолевая кислота и т. д., а также такие материалы, как биоразлагаемая матрица, микросферы для инъекций, микрокапсульные частицы, микрокапсулы, гранулы биоразлагаемых частиц, липосомы и имплантируемые устройства доставки, которые обеспечивают контролируемое или замедленное высвобождение активного вещества, которое затем может быть доставлено в виде инъекций замедленного всасывания. Способы изготовления таких средств пролонгированной или контролируемой доставки известны, и для контролируемого высвобождения и доставки лекарственных средств были разработаны и использованы различные полимеры. Такие полимеры обычно являются биоразлагаемыми и биосовместимыми. Полимерные гидрогели, в том числе образованные путем комплексообразования энантиомерных полимерных или полипептидных сегментов, и гидрогели с чувствительными к температуре или pH свойствами могут оказаться желательными для обеспечения эффекта замедленного всасывания лекарственных средств из-за мягких и водных условий, используемых для улавливания биоактивных белковых веществ (например, антител, содержащих ультрадлинные определяющие комплементарность области CDR3).

[0245] Подходящие и/или предпочтительные фармацевтические композиции могут быть определены с учетом настоящего изобретения и общих знаний о технологии изготовления композиций в зависимости от предполагаемого пути введения, формы доставки и желательной дозировки. Независимо от способа введения эффективная доза может быть вычислена в соответствии с массой тела пациента, площадью поверхности тела или размером органа. Дальнейшее уточнение вычислений для определения подходящей дозы для лечения с применением каждой из композиций, описанных в настоящем документе, обычно выполняется в данной области техники и входит в круг задач, обычно выполняемых в данной области техники. Соответствующие дозы могут быть определены с применением соответствующих данных о зависимости эффекта от дозы.

### **Определения**

[0246] При использовании в настоящем описании и в прилагаемой формуле изобретения грамматические формы единственного числа означают также и множественное число, если иное условие явно не следует из контекста. Таким образом, например, когда упоминается «вещество», это может означать и множество таких веществ, а когда упоминается «клетка», это может означать одну или более клеток (или множество клеток), в том числе соответствующие эквиваленты, известные специалистам в данной области техники, и так далее. Когда диапазоны используются в настоящем описании в отношении физических свойств, таких как молекулярная масса, или химических свойств, таких как химические формулы, предполагается, что при этом включены все комбинации и субкомбинации диапазонов и конкретных вариантов осуществления. Термин «около» в отношении число или числового диапазон означает, что упомянутое число или числовой диапазон представляет собой приближение в пределах экспериментальной изменчивости (или в пределах статистической экспериментальной ошибки), и, таким образом, число или числовой диапазон в некоторых случаях будет варьироваться от 1% до 15% от указанного числа или числового диапазона. Термин «содержащий» (и родственные термины, такие как «содержать» или «содержит» или «имеющий» или «включающий») не предназначен для исключения того, что в других определенных вариантах осуществления, например, в вариантах осуществления любой композиции веществ, композиция, способ или процесс и другие объекты, описанные в настоящем документе, «состоят из» или «в основном состоят из» описанных признаков.

[0247] При использовании в настоящем описании и в прилагаемой формуле изобретения, если не указано иное условие, перечисленные ниже термины имеют следующие значения.

[0248] «Алкил» означает углеводородный монорадикал с неразветвленной или разветвленной цепью, который может быть полностью насыщенным или ненасыщенным и содержащим от одного до около десяти атомов углерода или от одного до шести атомов углерода, причем  $sp^3$ -гибридизованный атом углерода алкильного остатка присоединен к остальной части молекулы одинарной связью. Примеры насыщенного углеводородного монорадикала представляют собой, но без ограничения, метил, этил, н-пропил, изопропил, 2-метил-1-пропил, 2-метил-2-пропил, 2-метил-1-бутил, 3-метил-1-бутил, 2-метил-3-бутил, 2,2-диметил-1-пропил, 2-метил-1-пентил, 3-метил-1-пентил, 4-метил-1-пентил, 2-метил-2-пентил, 3-метил-2-пентил, 4-метил-2-пентил, 2,2-диметил-1-бутил, 3,3-диметил-1-бутил, 2-этил-1-бутил, н-бутил, изобутил, втор-бутил, трет-бутил, н-пентил, изопентил, неопентил, трет-амил и гексил, а также более длинные алкильные группы, такие как гептил, октил и т. п. Каждый раз при упоминании в настоящем документе числовой

диапазон, такой как «C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкил», означает, что алкильная группа состоит из 1 атома углерода, 2 атомов углерода, 3 атомов углерода, 4 атомов углерода, 5 атомов углерода или 6 атомов углерода, хотя настоящее определение также распространяется на применение термина «алкил», для которого не указан числовой диапазон. Согласно некоторым вариантам осуществления алкил представляет собой C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>-алкил, C<sub>1</sub>-C<sub>9</sub>-алкил, C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>-алкил, C<sub>1</sub>-C<sub>7</sub>-алкил, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкил, C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>-алкил, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-алкил, C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>-алкил, C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>-алкил или C<sub>1</sub>-алкил. Когда термин «алкил» означает ненасыщенный углеводородный монорадикал с неразветвленной или разветвленной цепью, он известен как «алкенил» или «алкинил». Алкенил может находиться в цис-конфигурации или в транс-конфигурации относительно двойной связи (связей), и следует понимать, что он может представлять собой любой из двух изомеров. Примеры алкенилов представляют собой, но без ограничения, этенил (CH=CH<sub>2</sub>), 1-пропенил (CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), изопропенил [C(CH<sub>3</sub>)=CH<sub>2</sub>], бутенил, 1,3-бутадиенил и т. п. Каждый раз при упоминании в настоящем документе , числовой диапазон, такой как «C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>-алкенил», означает, что алкенильная группа может состоять из 2 атомов углерода, 3 атомов углерода, 4 атомов углерода, 5 атомов углерода или 6 атомов углерода, хотя настоящее определение также распространяется на применение термина «алкенил», для которого не указан числовой диапазон. Согласно некоторым вариантам осуществления алкенил представляет собой C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>-алкенил, C<sub>2</sub>-C<sub>9</sub>-алкенил, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>-алкенил, C<sub>2</sub>-C<sub>7</sub>-алкенил, C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>-алкенил, C<sub>2</sub>-C<sub>5</sub>-алкенил, C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub>-алкенил, C<sub>2</sub>-C<sub>3</sub>-алкенил- или C<sub>2</sub>-алкенил. Примеры алкинилы представляют собой, но не ограничиваются этим, этинил, 2-пропинил, 2-бутинил и т. п. Каждый раз при упоминании в настоящем документе числовой диапазон, такой как «C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>-алкинил», означает, что алкинильная группа может состоять из 2 атомов углерода, 3 атомов углерода, 4 атомов углерода, 5 атомов углерода или 6 атомов углерода, хотя настоящее определение также распространяется на применение термина «алкинил», для которого не указан числовой диапазон. Согласно некоторым вариантам осуществления алкинил представляет собой C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>-алкинил, C<sub>2</sub>-C<sub>9</sub>-алкинил, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>-алкинил, C<sub>2</sub>-C<sub>7</sub>-алкинил, C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>-алкинил, C<sub>2</sub>-C<sub>5</sub>-алкинил, C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub>-алкинил, C<sub>2</sub>-C<sub>3</sub>-алкинил или C<sub>2</sub>-алкинил. Если в настоящем описании конкретно не указано иное условие, алкильная группа необязательно является замещенной и в ней присутствует, как описано ниже, например, оксо, галоген, amino, нитрил, нитро, гидроксил, галогеналкил, алкокси, арил, циклоалкил, гетероциклоалкил, гетероарил и т. п. Согласно некоторым вариантам осуществления алкил необязательно является замещенным, и в нем присутствует оксо, галоген, -CN, -CF<sub>3</sub>, -OH, -OMe, -NH<sub>2</sub> или -NO<sub>2</sub>. Согласно некоторым вариантам осуществления алкил необязательно является замещенным, и в нем

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

[0249] «Алкилен» означает двухвалентный углеводородный радикал с неразветвленной или разветвленной цепью. Каждый раз при упоминании в настоящем документе числовой диапазон, такой как «С<sub>1</sub>-С<sub>6</sub>-алкилен», означает, что алкилен состоит из 1 атома углерода, 2 атомов углерода, 3 атомов углерода, 4 атомов углерода, 5 атомов углерода или 6 атомов углерода, хотя настоящее определение также распространяется на применение термина «алкилен», для которого не указан числовой диапазон. Согласно некоторым вариантам осуществления алкилен представляет собой С<sub>1</sub>-С<sub>10</sub>-алкилен, С<sub>1</sub>-С<sub>9</sub>-алкилен, С<sub>1</sub>-С<sub>8</sub>-алкилен, С<sub>1</sub>-С<sub>7</sub>-алкилен, С<sub>1</sub>-С<sub>6</sub>-алкилен, С<sub>1</sub>-С<sub>5</sub>-алкилен, С<sub>1</sub>-С<sub>4</sub>-алкилен, С<sub>1</sub>-С<sub>3</sub>-алкилен, С<sub>1</sub>-С<sub>2</sub>-алкилен или С<sub>1</sub>-алкилен. Если в настоящем описании конкретно не указано иное условие, алкиленовая группа может быть необязательно замещенной, и в ней присутствует, например, оксо, галоген, амино, нитрил, нитро, гидроксил, галогеналкил, алкокси, арил, циклоалкил, гетероциклоалкил, гетероарил и т. п. Согласно некоторым вариантам осуществления алкилен необязательно является замещенным, и в нем присутствует оксо, галоген, -CN, -CF<sub>3</sub>, -ОН, -ОМе, -NH<sub>2</sub> или -NO<sub>2</sub>. Согласно некоторым вариантам осуществления алкилен необязательно является замещенным, и в нем присутствует оксо, галоген, -CN, -CF<sub>3</sub>, -ОН или -ОМе. Согласно некоторым вариантам осуществления алкилен необязательно является замещенным, и в нем присутствует галоген.

[0250] «Алкокси» означает радикал формулы OR<sup>a</sup>, где R<sup>a</sup> представляет собой алкильный радикал, как определено выше. Если в настоящем описании конкретно не указано иное условие, алкоксигруппа может быть необязательно замещенной, и в ней присутствует, например, оксо, галоген, амино, нитрил, нитро, гидроксил, галогеналкил, алкокси, арил, циклоалкил, гетероциклоалкил, гетероарил и т. п. Согласно некоторым вариантам осуществления алкокси необязательно является замещенным, и в нем присутствует оксо, галоген, -CN, -CF<sub>3</sub>, -ОН, -ОМе, -NH<sub>2</sub> или -NO<sub>2</sub>. Согласно некоторым вариантам осуществления алкокси необязательно является замещенным, и в нем присутствует оксо, галоген, -CN, -CF<sub>3</sub>, -ОН или -ОМе. Согласно некоторым вариантам осуществления алкокси необязательно является замещенным, и в нем присутствует галоген.

[0251] «Арил» означает радикал, полученный из системы углеводородных колец, содержащей атомы водорода, от 6 до 30 атомов углерода и по меньшей мере одно ароматическое кольцо. Арильный радикал может представлять собой моноциклическую, бициклическую, трициклическую или тетрациклическую кольцевую систему, в которой

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

[0252] «Циклоалкил» означает устойчивые, частично или полностью насыщенные, моноциклические или полициклические карбоциклические кольцевые системы, которые могут представлять собой конденсированные (при конденсации с арильным или гетероарильным кольцом циклоалкил связан через неароматический атом кольца) или мостиковые кольцевые системы. Типичные циклоалкилы представляют собой, но не ограничиваются ими, циклоалкилы, содержащие от трех до пятнадцати атомов углерода (C<sub>3</sub>-C<sub>15</sub>-циклоалкил), от трех до десяти атомов углерода (C<sub>3</sub>-C<sub>10</sub>-циклоалкил), от трех до восьми атомов углерода (C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>-циклоалкил), от трех до шести атомов углерода (C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>-циклоалкил), от трех до пяти атомов углерода (C<sub>3</sub>-C<sub>5</sub>-циклоалкил) или от трех до четырех атомов углерода (C<sub>3</sub>-C<sub>4</sub>-циклоалкил). В некоторых вариантах осуществления циклоалкил представляет собой 3-6-членный циклоалкил. В некоторых вариантах осуществления циклоалкил представляет собой 5-6-членный циклоалкил. Моноциклические циклоалкилы представляют собой, например, циклопропил, циклобутил, циклопентил, циклогексил, циклогептил и циклооктил. Полициклические циклоалкилы или карбоциклы представляют собой, например, адамантил, норборнил, декалинил, бицикло[3.3.0]октан, бицикло[4.3.0]нонан, цис-декалин, транс-декалин, бицикло[2.1.1]гексан,



бицикло[2.2.1]гептан, бицикло[2.2.2]октан, бицикло[3.2.2]нонан и бицикло[3.3.2]декан и 7,7-диметилбицикло[2.2.1]гептан. Частично насыщенные циклоалкилы представляют собой, например, циклопентенил, циклогексенил, циклогептенил и циклооктенил. Если в настоящем описании конкретно не указано иное условие, циклоалкил необязательно является замещенным, и в нем присутствует, например, оксо, галоген, амино, нитрил, нитро, гидроксил, алкилом, алкенил, алкинил, галогеналкил, алкокси, арил, циклоалкил, гетероциклоалкил, гетероарилом и т. п. Согласно некоторым вариантам осуществления циклоалкил необязательно является замещенным, и в нем присутствует оксо, галоген, метил, этил, -CN, -CF<sub>3</sub>, -OH, -OMe, -NH<sub>2</sub> или -NO<sub>2</sub>. Согласно некоторым вариантам осуществления циклоалкил необязательно является замещенным, и в нем присутствует оксо, галоген, метил, этил, -CN, -CF<sub>3</sub>, -OH или -OMe. Согласно некоторым вариантам осуществления циклоалкил необязательно является замещенным, и в нем присутствует галоген.

[0253] «Гало» или «галоген» означает бром, хлор, фтор или йод. Согласно некоторым вариантам осуществления галоген представляет собой фтор или хлор. Согласно некоторым вариантам осуществления галоген представляет собой фтор.

[0254] «Галогеналкил» означает алкильный радикал, который определен выше, который является замещенным и содержит один или более галогенных радикалов, которые определены выше, например, трифторметил, дифторметил, фторметил, трихлорметил, 2,2,2-трифторэтил, 1,2-дифторэтил, 3-бром-2-фторпропил, 1,2-дибромэтил, и т. п.

[0255] «Гетероциклоалкил» означает устойчивый 3-24-членный частично или полностью насыщенный кольцевой радикал, содержащий от 2 до 23 атомов углерода и от одного до 8 гетероатомов, выбранных из азота, кислорода, фосфора и серы. Примерные гетероциклоалкилы представляют собой, но без ограничения, гетероциклоалкилы, содержащие от двух до пятнадцати атомов углерода (C<sub>2</sub>-C<sub>15</sub>-гетероциклоалкил), от двух до десяти атомов углерода (C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>-гетероциклоалкил), от двух до восьми атомов углерода (C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>-гетероциклоалкил), от двух до шести атомов углерода (C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>-гетероциклоалкил), от двух до пяти атомов углерода (C<sub>2</sub>-C<sub>5</sub>-гетероциклоалкил) или от двух до четырех атомов углерода (C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub>-гетероциклоалкил). Согласно некоторым вариантам осуществления гетероциклоалкил представляет собой 3-6-членный гетероциклоалкил. Согласно некоторым вариантам осуществления гетероциклоалкил представляет собой 5-6-членный гетероциклоалкил. Если в настоящем описании конкретно не указано иное условие, гетероциклоалкильный радикал может представлять собой моноциклические, бициклические, трициклические или тетрациклические кольцевые системы, которые

могут представлять собой конденсированные (при конденсации с арильным или гетероарильным кольцом гетероциклоалкил связан через неароматический кольцевой атом) или мостовые кольцевые системы; и атомы азота, углерода или серы в радикале гетероциклоалкила могут быть необязательно окислены; атом азота может быть необязательно кватернизованным. Примеры таких гетероциклоалкильных радикалов представляют собой, но без ограничения, азиридирил, азетидинил, диоксоланил, тиенил[1,3]дитианил, декагидроизохинолил, имидазолинил, имидазолидинил, изотиазолидинил, изоксазолидинил, морфолинил, октагидроиндолил, октагидроизоиндолил, 2-оксопиперазинил, 2-оксопиперидинил, оксопирролидинил, оксазолидинил, пиперидинил, пиперазинил, 4-пиперидонил, пирролидинил, пиразолидинил, хинуклидинил, тиазолидинил, тетрагидрофурил, тритианил, тетрагидропиранил, тиоморфолинил, тиаморфолинил, 1-оксотiomорфолинил, 1,1-диоксотiomорфолинил, 1,3-дигидрофуранил, 1,3-дигидрофуранил-оксо-1,3-дигидроизобензофуран-1-ил, метил-2-оксо-1,3-диоксол-4-ил и 2-оксо-1,3-диоксол-4-ил. Термин «гетероциклоалкил» также распространяется на все кольцевые формы углеводов, в том числе моносахариды, дисахариды и олигосахариды, но не ограничиваясь ими. Если не указано иное условие, гетероциклоалкилы содержат от 2 до 10 атомов углерода в кольце. Следует понимать, что когда речь идет о числе атомов углерода в гетероциклоалкиле, число атомов углерода в гетероциклоалкиле не совпадает с общим числом атомов (включая гетероатомы), которые составляют гетероциклоалкил (т.е. атомы скелета гетероциклоалкильного кольца). Частично насыщенные гетероциклоалкилы представляют собой, например, дигидропирролил или тетрагидропиридин. Если в настоящем описании конкретно не указано иное условие, гетероциклоалкил необязательно является замещенным и содержит, например, оксо, галоген, амино, нитрил, нитро, гидроксил, алкил, алкенил, алкинил, галогеналкил, алкокси, арил, циклоалкил, гетероциклоалкил, гетероарил и т. п. Согласно некоторым вариантам осуществления гетероциклоалкил необязательно является замещенным, и в нем присутствует оксо, галоген, метил, этил, -CN, -CF<sub>3</sub>, -OH, -OMe, -NH<sub>2</sub> или -NO<sub>2</sub>. Согласно некоторым вариантам осуществления гетероциклоалкил необязательно является замещенным, и в нем присутствует оксо, галоген, метил, этил, -CN, -CF<sub>3</sub>, OH или -OMe. Согласно некоторым вариантам осуществления гетероциклоалкил необязательно является замещенным, и в нем присутствует галоген.

[0256] «Гетероалкил» означает алкильный радикал, в котором один или более скелетных атомов алкила выбраны из атомов, не представляющих собой углерод, например, атомов кислорода, азота (например, -NH-, -N(алкил)-), серы или их

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

[0257] «Гетероарил» означает 5-14-членный радикал с кольцевой системой, содержащей атомы водорода, от одного до тринадцати атомов углерода, от одного до шести гетероатомов, выбранных из азота, кислорода, фосфора и серы, и по меньшей мере одно ароматическое кольцо. Гетероарильный радикал может представлять собой моноциклические, бициклические, трициклические или тетрациклические кольцевые системы, которые могут представлять собой конденсированные (при конденсации с циклоалкильным или гетероциклоалкильным кольцом гетероарил связан через ароматический кольцевой атом) или мостиковые кольцевые системы; и атомы азота, углерода или серы в гетероарильном радикале могут быть необязательно окислены; атом азота может быть необязательно кватернизованным. Согласно некоторым вариантам осуществления гетероарил представляет собой 5-10-членный гетероарил. Согласно некоторым вариантам осуществления гетероарил представляет собой 5-6-членный гетероарил. Согласно некоторым вариантам осуществления гетероарил представляет собой 5-членный гетероарил. Согласно некоторым вариантам осуществления гетероарил представляет собой 6-членный гетероарил. Примеры представляют собой, но без ограничения, азепинил, акридинил, бензимидазолил, бензотиазолил, бензиндолил, бензодиоксилил, бензофуранил, бензооксазолил, бензотиазолил, бензотиадиазолил, бензо[b][1,4]диоксепинил, 1,4-бензодиоксанил, бензонафтофуранил, бензодиоксазолил, бензодиоксинил, бензопиранил, бензопиранонил, бензофуранил, бензофуранил, бензотиенил (бензотиофенил), бензотриазолил, бензо[4,6]имидазо[1,2a]пиридинил,

карбазолил, циннолинил, дибензофуранил, дибензотиофенил, фуранил, фуранонил, изотиазолил, имидазолил, индазолил, индолил, индазолил, изоиндолил, индолинил, изоиндолинил, изохинолил, индолизинил, изоксазолил, нафтиридинил, оксадиазолил, 2-оксоазепинил, оксазолил, оксиранил, 1-оксидопиридинил, 1-оксидопиримидинил, 1-оксидопиразинил, 1-оксидопиридазинил, фенотиазинил, феноксазинил, фталазинил, птеридинил, пуринил, пирролил, пиразолил, пиридинил, пиразинил, пиримидинил, пиридазинил, хиначолинил, хиноксалинил, хинолинил, хинуклидинил, изохинолинил, тетрагидрохинолинил, тиазолил, тиадиазолил, триазолил, тетразолил, триазинил и тиофенил (т.е. тиенил). Если в настоящем описании конкретно не указано иное условие, гетероарил необязательно является замещенным, и в нем присутствует например, галоген, амино, нитрил, нитро, гидроксил, алкил, алкенил, алкинил, галогеналкил, алкокси, арил, циклоалкил, гетероциклоалкил, гетероарил и т. п. Согласно некоторым вариантам осуществления гетероарил необязательно является замещенным, и в нем присутствует галоген, метил, этил, -CN, -CF<sub>3</sub>, -OH, -OMe, -NH<sub>2</sub> или -NO<sub>2</sub>. Согласно некоторым вариантам осуществления гетероарил необязательно является замещенным, и в нем присутствует галоген, метил, этил, -CN, -CF<sub>3</sub>, -OH или -OMe. Согласно некоторым вариантам осуществления гетероарил необязательно является замещенным, и в нем присутствует галоген.

[0258] Термин «процент идентичности» относится к сравнению двух последовательностей нуклеиновых кислот или аминокислот. Такие сравнения измеряют с применением любого количества методов сопоставления, известных в данной области техники, включая, помимо прочего, глобальное сопоставление (например, алгоритм Нидлмана-Вунша) или локальное сопоставление (например, алгоритм Смита-Уотермана, Селлера или другой алгоритм). Процент идентичности часто означает процент совпадающих позиций двух последовательностей для непрерывного участка позиций, где две последовательности выровнены таким образом, чтобы максимизировать совпадающие позиции и минимизировать промежутки несовпадающих позиций. В некоторых случаях сопоставление проводят при отсутствии промежутков между двумя последовательностями. В некоторых случаях сопоставление приводит к промежуткам, составляющим менее 5%, менее 3% или менее 1%. Дополнительные способы сравнения или сопоставления последовательностей также согласуются с настоящим изобретением.

[0259] Термином «гомология», который используется в настоящем документе, может быть обозначена вычисленная «гомология» или «процентная гомология» между двумя или более аминокислотными последовательностями, которые могут быть определены путем выравнивания последовательностей для целей оптимального сравнения

(например, пропуски могут быть введены в ряд первой последовательности). Затем можно сравнить аминокислоты в соответствующих положениях, и процентная идентичность между двумя последовательностями может представлять собой функцию количества идентичных положений, общих для последовательностей (т. е. процентная гомология = количество идентичных положений/общее количество положений  $\times 100\%$ ). Например, положение в первой последовательности может быть занято той же аминокислотой, что и соответствующее положение во второй последовательности, тогда молекулы являются идентичными в этом положении. Процентная гомология между двумя последовательностями может представлять собой функцию количества идентичных позиций, общих для последовательностей, с учетом количества пропусков и длины каждого пропуска, которые необходимо ввести для оптимального выравнивания двух последовательностей. Согласно некоторым вариантам осуществления длина последовательности, выровненной для целей сравнения, может составлять по меньшей мере приблизительно 30%, 40%, 50%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91 %, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 95% длины эталонной последовательности. Поиск с применением программного обеспечения BLAST® может определить гомологию между двумя последовательностями. Может существовать гомология между полными длинами двух последовательностей или между частями полных длин двух последовательностей. Две последовательности могут представлять собой пептидные последовательности, аминокислотные последовательности или их фрагменты. Фактическое сравнение двух последовательностей может быть осуществлено известными способами, например, с применением математического алгоритма. Неограничительный пример такого математического алгоритма может представлять собой алгоритм, который описан в работе S. Karlin и S. Altschul, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90:5873-5877 (1993). Такой алгоритм может быть включен в программы NBLAST и XBLAST (версия 2.0) согласно описанию в работе S. Altschul, et al., Nucleic Acids Res., 25:3389-3402 (1997). В случае применения программ BLAST и Gapped BLAST могут быть использованы любые соответствующие параметры соответствующих программ (например, NBLAST). Например, параметры для сравнения последовательностей могут быть установлены как счет = 100, длина слова = 12 или могут варьироваться (например,  $W = 5$  или  $W = 20$ ). Другие примеры представляют собой алгоритм Майерса и Миллера, CABIOS (1989), ADVANCE, ADAM, BLAT и FASTA. Согласно другому варианту осуществления процент идентичности между двумя аминокислотными последовательностями может быть достигнут с применением, например, программы GAP в пакете программного обеспечения GCG от компании Accelrys (Кембридж, Великобритания).

[0260] «Фармацевтически приемлемый» означает получивший одобрение или разрешение регулирующего органа федерального правительства или правительства штата или включенный в Фармакопею США или другую общепризнанную фармакопею в целях применения для животных, включая человека.

[0261] «Фармацевтически приемлемая соль» означает соль соединения, которая является фармацевтически приемлемой, и которая обладает желательной фармакологической активностью исходного соединения.

[0262] «Фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество, разбавитель или носитель» означает вспомогательные вещества, разбавители или носители, которые можно вводить субъекту вместе по меньшей мере с одним антителом согласно настоящему изобретению, и которые не нарушают его фармакологическую активность и являются нетоксичными при введении в дозах, достаточных для доставки терапевтического количества соединения.

[0263] «Фармацевтически приемлемый разбавитель» означает вспомогательные вещества, разбавители или носители, с которыми может быть введено по меньшей мере одно антитело согласно настоящему изобретению.

[0264] Такие термины, как «лечение» или «излечение», или «лечить», или «облегчение», или «облегчать», могут означать: 1) терапевтические меры, которые излечивают, замедляют, уменьшают симптомы и/или останавливают прогрессирование диагностированного патологического состояния или нарушения; и/или 2) профилактические или предупредительные меры, которые предотвращают и/или замедляют развитие целевого патологического состояния или нарушения. «Лечение» означает клиническое вмешательство в попытке изменить естественное течение особи или клетки, подвергаемой лечению, и может проводиться для профилактики или во время течения клинической патологии. Желательные эффекты лечения представляют собой предотвращение возникновения или рецидива заболевания, облегчение симптомов и уменьшение любых прямых или косвенных патологических последствий заболевания, предотвращение метастазирования, снижение скорости прогрессирования заболевания, улучшение или временное облегчение болезненного состояния, ремиссию или улучшенный прогноз. Таким образом, в число субъектов, нуждающихся в лечении, могут входить субъекты, уже страдающие данным нарушением; субъекты, которые имеют предрасположенность к нарушению; и субъекты, у которых нарушение должно быть предотвращено.

[0265] «Аминокислота» означает встречающиеся в природе и синтетические аминокислоты, а также аналоги аминокислот и миметики аминокислот, которые

функционируют аналогично встречающимся в природе аминокислотам. Встречающиеся в природе аминокислоты представляют собой аминокислоты, которые кодируются генетическим кодом, а также аминокислоты, которые впоследствии модифицируются, например, гидроксипролин, гамма-карбоксиглутамат и О-фосфосерин. Аналоги аминокислот представляют собой соединения, которые имеют ту же основную химическую структуру, что и встречающиеся в природе аминокислоты, например, атом углерода в альфа-положении, с которым связаны атом водорода, карбоксильная группа, аминогруппа и группой R, например, гомосерин, норлейцин, метионинсульфоксид, метионинметилсульфоний. Такие аналоги могут содержать модифицированные группы R (например, норлейцин) или модифицированные пептидные остовы, но сохранять ту же основную химическую структуру, что и встречающиеся в природе аминокислоты. Аминокислотные миметики относятся к химическим соединениям, которые имеют структуру, отличную от общей химической структуры аминокислоты, но функционируют аналогично встречающимся в природе аминокислотам.

[0266] «Нарушение» или «заболевание» означает состояние, при котором было бы благоприятным лечение с применением вещества/соединения (например, пептидного конъюгата, описанного в настоящем документе) или способа, описанного в настоящем документе. Этот термин распространяется на хронические и острые расстройства или заболевания, в том числе те патологические состояния, в которых млекопитающее имеет предрасположенность к рассматриваемому нарушению.

[0267] «Млекопитающее» для целей лечения означает любое животное, классифицируемое как млекопитающее, к которым относятся человек, грызуны (например, мыши и крысы) и обезьяны; домашние и сельскохозяйственные животные; а также зоопарковые, спортивные, лабораторные или домашние животные, такие как собаки, кошки, крупный рогатый скот, лошади, овцы, свиньи, козы, кролики и т. д. Согласно некоторым вариантам осуществления млекопитающее выбрано из человека, грызуна или обезьяны.

[0268] «Немодифицированный пептид» означает немодифицированную последовательность (пептид дикого типа) или модифицированную последовательность без сшивающего фрагмента.

### **Примеры**

[0269] Пептиды синтезировали стандартными способами твердофазного синтеза пептидов (SPPS) и очищали методами высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) (согласно описанию).

[0270] Если не указано иное условие, все реагенты приобретали у коммерческих поставщиков (Sigma Aldrich, Fisher, Oakwood) и использовали без дополнительной очистки. Все реакции с участием чувствительных к воздуху или влаге реагентов или промежуточных продуктов проводили в инертной атмосфере азота или аргона. Все используемые растворители были класса чистоты для ВЭЖХ. Реакции контролировали методами жидкостной хроматографии и масс-спектрометрии (ЖХ-МС) или тонкослойной хроматографии (ТСХ) на алюминиевых пластинах Merck размером 50 × 100 мм из силикагеля 60, окрашенных с применением водного раствора  $\text{KMnO}_4$ .

[0271] Очистку методом флэш-хроматографии проводили на предварительно заполненных силикагелем колонках (40 мкм, RediSep® Rf от компании Teledyne Isco) на CombiFlash® Rf (Teledyne Isco). Очищенные конечные соединения элюировали в виде одиночных симметричных пиков (тем самым подтверждая чистоту  $\geq 95\%$ ).

Полупрепаративную хроматографию выполняли на ВЭЖХ Shimadzu с колонкой Phenomenex Luna (C18, размер пор 100 Å, размер частиц 10 мкм, 250 × 10,0 мм, поток 4 мл/мин) или на ВЭЖХ Agilent 1200 с колонкой Phenomenex Luna (C18, размер пор 100 Å, размер частиц 5 мкм, 150 × 21,2 мм, поток 20 мл/мин).

[0272] Спектры ЯМР  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$  регистрировали с применением системы Bruker 400 в растворителях  $d_6\text{-DMSO}$ ,  $\text{CDCl}_3$  или  $\text{CD}_3\text{OD}$ . Химические сдвиги представлены в миллионных долях (м. д.) относительно тетраметилсилана в качестве внутреннего стандарта. Используются следующие сокращения: s = синглет, d = дублет, t = триплет, q = квартет, p = пентет, m = мультиплет, dd = дублет дублетов, br = широкий. Константы спин-спинового взаимодействия (значения J) представлены в герцах (Гц).

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

[0273] Масс-спектры высокого разрешения (МСВР) регистрировали на времяпролетном масс-спектрометре Agilent серии 1200 Accurate Mass Time-of-Flight (TOF) с колонкой Aeris Widepore (XB-C8, размер частиц 3,6 мкм, 150 × 2,1 мм, поток 0,5 мл/мин). Растворители: А -  $\text{H}_2\text{O}$  + 0,1% муравьиная кислота, В -  $\text{MeCN}$  + 0,1% муравьиная кислота, градиент: 0-2 минут 5% В, 2-12 минут 5-60% В, 12-13 минут 60-80% В, 13-14 минут 80-20% В, 14-15 минут 20-80% В, 15-16 минут 80-20% В, 16-17 минут 20-95% В, 17-20 минут 95% В, 20-21 минут 95-5% В.



**Общий протокол А для загрузки хлортритилхлоридной смолы**

[0274] Fmoc-Lys(ivDde)-ОН (60 мг, 100 мкмоль) связывали со 2-хлортритилхлоридной смолой (Novabiochem) (100 мг, 80 мкмоль) путем смешивания аминокислоты, смолы и диизопропилэтиламина (DIEA) (70 мкл, 400 мкмоль) в 5 мл диметилформамида (DMF) и перемешивания в течение 30 минут. Затем смолу промывали диметилформамидом (3 раза), дихлорметаном (DCM) (3 раза) и обрабатывали смесью CH<sub>3</sub>ОН/DCM/DIEA (8:1:1) в течение 10 минут, чтобы закрыть непрореагировавшие центры тритилхлорида, сушили в вакууме и хранили в эксикаторе.

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

[0275] К смоле добавляли пиперидин в DMF (20%). Смесь встряхивали в течение 5 минут и сливали. Добавляли свежий 20% пиперидин, и на этот раз смесь встряхивали в течение 15 минут. Наблюдали положительный результат анализа с применением нингидрина и/или 2,4,6-тринитробензолсульфоновой кислоты (TNBS). Затем смолу промывали диметилформамидом (3 раза) и дихлорметаном (3 раза).

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

[0276] После промывания с применением DMF и DCM смолу обрабатывали раствором 2% гидразина в DMF (5 мл, 2×15 мин). Наблюдали положительный результат анализа с применением нингидрина и/или TNBS. Затем смолу промывали диметилформамидом (3 раза) и дихлорметаном (3 раза).

**Общий протокол D для связывания пептидов**

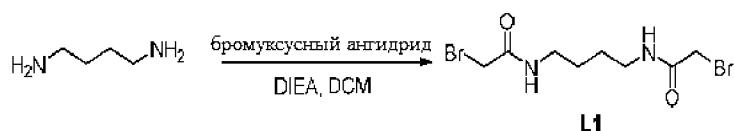
[0277] Смолу обрабатывали указанным производным карбоновой кислоты (3 экв.), используя в качестве связывающего реагента гексафторфосфат 1-[бис(диметиламино)метилден]-1Н-1,2,3-триазоло[4,5-*b*]пиридиний-3-оксида (НАТУ) (3,3 экв.) и DIEA (3,3 экв.) в DMF (5 мл) в течение 2 часов или повторяли до отрицательного результата анализа с применением нингидрина и/или TNBS. Затем смолу промывали диметилформамидом (3 раза) и дихлорметаном (3 раза).

**Общий протокол E для бромацетилирования на смоле**

[0278] Затем смолу обрабатывали бромуксусным ангидридом (2,4 экв.) и DIEA (2,6 экв.) в 200 мл DCM в течение 30 минут.

**Общий протокол F для удаления пептидов из хлортритиловой смолы**

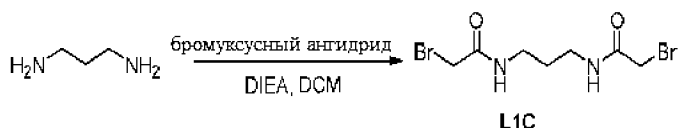
[0279] Смолу промывали дихлорметаном (3 раза), продукт удаляли из смолы с применением 5 мл раствора 10% трифторуксусной кислоты (TFA) в DCM, содержащем 10% H<sub>2</sub>O и 10% триизопропилсилана, в течение 1 часа.

**Пример 1. Синтез L1**

[0280] К раствору 1,4-диаминобутана (80 мкл, 0,795 ммоль, 1 экв.) в DCM (10 мл) при 0°C добавляли DIEA (276 мкл, 1,59 ммоль, 2 экв.), а затем бромуксусный ангидрид (413 г, 1,59 ммоль, 2 экв.), растворенный в 1 мл DCM. Затем реакционную смесь перемешивали в течение 30 минут при 0°C и в течение 90 минут при комнатной температуре и удаляли растворитель. В результате очистки методом колоночной флэш-хроматографии на силикагеле получали L1 в виде белого твердого вещества (162 мг, 0,49 ммоль, 61%). МС (ИЭР<sup>+</sup>)  $m/z$  331,0 ( $[M+H]^+$ ), ЯМР <sup>1</sup>H (400 МГц, метанол-d<sub>4</sub>) δ 3,94 (s, 4H), 3,40-3,30 (m, 4H), 1,68 (p, J = 3,5 Гц, 4H).

**Пример 2. Синтез L1B**

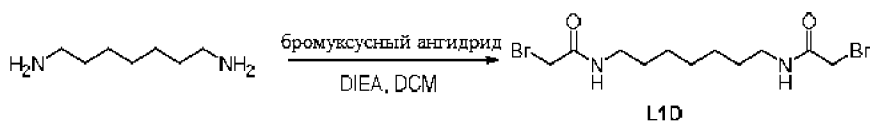
[0281] К раствору 1,2-этилендиамина (30 мкл, 0,448 ммоль, 1 экв.) в DCM (5 мл) при 0°C добавляли DIEA (172 мкл, 0,985 ммоль, 2,2 экв.), а затем бромуксусный ангидрид (233 мг, 0,897 ммоль, 2 экв.), растворенный в 1 мл DCM. Затем реакционную смесь перемешивали в течение 30 минут при 0°C и в течение 90 минут при комнатной температуре и удаляли растворитель. В результате очистки методом колоночной флэш-хроматографии на силикагеле получали L1B в виде белого твердого вещества (43,9 мг, 0,145 ммоль, 32%). МС (ИЭР<sup>+</sup>)  $m/z$  302,55 ( $[M+H]^+$ ), 304,54 ( $[M+H]^+$ ). ЯМР <sup>1</sup>H (400 МГц, метанол-d<sub>4</sub>) δ 2,49 (s, 4H), 2,06 (s, 4H).

**Пример 3. Синтез L1C**

[0282] К раствору 1,3-диаминопропана (30 мкл, 0,359 ммоль, 1 экв.) в DCM (5 мл) при 0°C добавляли DIEA (138 мкл, 0,789 ммоль, 2,2 экв.), а затем бромуксусный ангидрид (186 мг, 0,718 ммоль, 2 экв.), растворенный в 1 мл DCM. Затем реакционную смесь перемешивали в течение 30 минут при 0°C и в течение 90 минут при комнатной температуре и удаляли растворитель. В результате очистки методом колоночной флэш-хроматографии на силикагеле получали L1C в виде белого твердого вещества (60,8 мг,

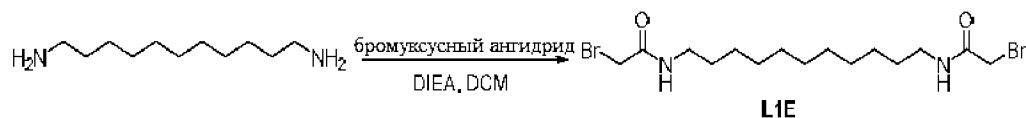
0,19 ммоль, 53%). МС (ИЭР<sup>+</sup>) m/z 316,32 ([M+H]<sup>+</sup>), 318,6 ([M+H]<sup>+</sup>). ЯМР <sup>1</sup>H (400 МГц, метанол-d<sub>4</sub>) δ 3,86 (s, 4H), 3,27 (t, J = 6,8 Гц, 4H), 1,74 (p, J = 6,8 Гц, 2H).

#### Пример 4. Синтез L1D



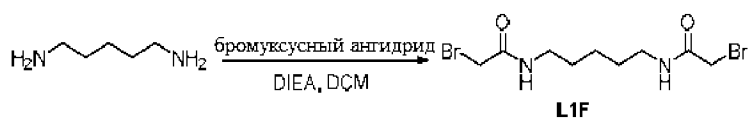
[0283] К раствору 1,7-диаминогексана (65 мг, 0,499 ммоль, 1 экв.) в DCM (15 мл) при 0°C добавляли DIEA (208 мкл, 1,197 ммоль, 2,4 экв.), а затем бромуксусный ангидрид (259 мг, 0,998 ммоль, 2 экв.), растворенный в 1 мл DCM. Затем реакционную смесь перемешивали в течение 30 минут при 0°C и в течение 90 минут при комнатной температуре и удаляли растворитель. В результате очистки методом колоночной флэш-хроматографии на силикагеле получали L1D в виде белого твердого вещества (120 мг, 0,322 ммоль, 64%). МС (ИЭР<sup>+</sup>) m/z 372,71 ([M+H]<sup>+</sup>), 374,70 ([M+H]<sup>+</sup>). ЯМР <sup>1</sup>H (400 МГц, хлороформ-d) δ 6,55 (s, 2H), 3,91 (s, 4H), 3,30 (q, J = 7,1 Гц, 4H), 1,56 (p, J = 7,1 Гц, 4H), 1,45-1,29 (m, 6H).

#### Пример 5. Синтез L1E



[0284] К раствору 1,11-диаминоундекана (48 мг, 0,257 ммоль, 1 экв.) в DCM (10 мл) при 0°C добавляли DIEA (108 мкл, 0,616 ммоль, 2,4 экв.), а затем бромуксусный ангидрид (134 мг, 0,515 ммоль, 2 экв.), растворенный в 1 мл DCM. Затем реакционную смесь перемешивали в течение 30 минут при 0°C и в течение 90 минут при комнатной температуре и удаляли растворитель. В результате очистки методом колоночной флэш-хроматографии на силикагеле получали L1E в виде белого твердого вещества (62,3 мг, 0,145 ммоль, 56%). МС (ИЭР<sup>+</sup>) m/z 428,33 ([M+H]<sup>+</sup>). ЯМР <sup>1</sup>H (400 МГц, хлороформ-d) δ 6,53 (s, 2H), 3,91 (s, 4H), 3,30 (q, J = 6,8 Гц, 4H), 1,57 (q, J = 7,2 Гц, 4H), 1,42-1,20 (m, 14H).

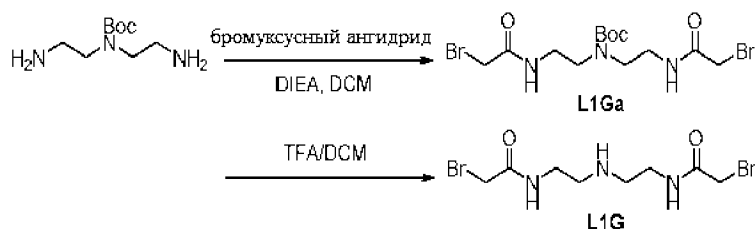
#### Пример 6. Синтез L1F



[0285] К раствору кадаверина (48 мг, 0,257 ммоль, 1 экв.) в DCM (20 мл) при 0°C добавляли DIEA (284 мкл, 1,63 ммоль, 2,4 экв.), а затем бромуксусный ангидрид (353 мг, 1,36 ммоль, 2 экв.), растворенный в 1 мл DCM. Затем реакционную смесь перемешивали в течение 30 минут при 0°C и в течение 90 минут при комнатной температуре и удаляли

растворитель. В результате очистки методом колоночной флэш-хроматографии на силикагеле получали L1F в виде белого твердого вещества (156 мг, 0,453 ммоль, 66%). МС (ИЭР<sup>+</sup>) m/z 344,65 ([M+H]<sup>+</sup>), 346,64 ([M+H]<sup>+</sup>). ЯМР <sup>1</sup>H (400 МГц, метанол-d<sub>4</sub>) δ 3,83 (s, 4H), 3,23 (q, J = 6,8 Гц, 4H), 1,57 (p, J = 7,2 Гц, 4H), 1,44-1,33 (m, 2H).

### Пример 7. Синтез L1G



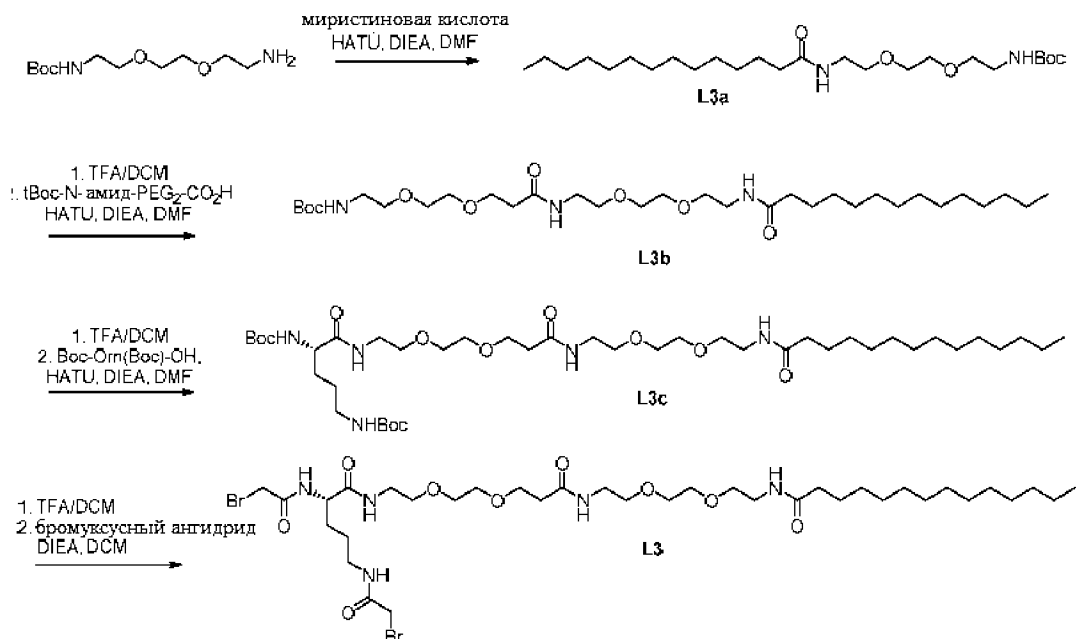
#### Промежуточное соединение L1Ga

[0286] К раствору трет-бутилбис(2-аминоэтил)карбамата (167 мг, 0,82 ммоль, 1 экв.) в DCM (20 мл) при 0°C добавляли DIEA (342 мкл, 11,96 ммоль, 2,4 экв.) затем бромуксусный ангидрид (426 мг, 1,64 ммоль, 2 экв.), растворенный в 1 мл DCM. Затем реакционную смесь перемешивали в течение 30 минут при 0°C и в течение 90 минут при комнатной температуре и удаляли растворитель. В результате очистки методом колоночной флэш-хроматографии на силикагеле получали L1Ga в виде белого твердого вещества (289 мг, 0,65 ммоль, 79%). МС (ИЭР<sup>+</sup>) m/z 445,71 ([M+H]<sup>+</sup>), 447,7 ([M+H]<sup>+</sup>). ЯМР <sup>1</sup>H (400 МГц, метанол-d<sub>4</sub>) δ 3,85 (s, 4H), 3,39 (s, 9H), 1,50 (s, 10H).

#### L1G

[0287] Соединение L1Ga (20 мг) растворяли в смеси TFA/DCM (1:1, об./об., 2 мл), перемешивали в течение 30 минут при комнатной температуре и выпаривали (совместное выпаривание с гексаном) с получением соединения L1G в виде масла. Продукт непосредственно использовали на последующих стадиях. МС (ИЭР<sup>+</sup>) m/z 345,2 ([M+H]<sup>+</sup>).

### Пример 8. Синтез L3



### Промежуточное соединение L3a

[0288] Миристиновую кислоту (184 мг, 0,805 ммоль, 1 экв.) растворяли в 4 мл DMF. Добавляли HATU (321 мг, 0,845 ммоль, 1,1 экв.) и DIEA (154 мкл, 0,885 ммоль, 1,1 экв.) с последующим добавлением Boc-NH-PEG<sub>2</sub>-COOH (200 мг, 0,805 ммоль, 1 экв.). Затем реакционную смесь перемешивали в течение 90 минут и удаляли растворитель. Продукт растворяли в EtOAc. Органический слой последовательно промывали раствором 1 М HCl, насыщенным раствором NaHCO<sub>3</sub> и концентрированным раствором NaCl, сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтровали и концентрировали. В результате очистки методом колоночной флэш-хроматографии на силикагеле получали желательное соединение L3a в виде белого твердого вещества (254 мг, 0,55 ммоль, 69%). ЯМР <sup>1</sup>H (400 МГц, хлороформ-d) δ 3,66-3,54 (m, 8H), 3,49 (q, J = 5,2 Гц, 2H), 3,35 (d, J = 6,1 Гц, 2H), 2,20 (t, J = 7,7 Гц, 2H), 1,63-1,58 (m, 2H), 1,47 (s, 8H), 1,33-1,24 (m, 21H), 0,90 (t, J = 6,9 Гц, 3H). Время удерживания t<sub>R</sub> = 2,21 минут (Agilent). МС (ИЭР<sup>+</sup>) m/z 459,6 ([M+H]<sup>+</sup>).

### Промежуточное соединение L3b

[0289] Раствор соединения L3a (242 мг, 0,527 ммоль, 1 экв.) в DCM (2 мл) обрабатывали TFA (2 мл) в течение 30 минут. Смесь концентрировали путем совместного упаривания с гексаном. К раствору BocNH-PEG<sub>2</sub>-CO<sub>2</sub>H (146 мг, 0,527 ммоль, 1 экв.), растворенного в DMF (5 мл), добавляли HATU (224 мг, 0,59 ммоль, 1,1 экв.). К реакционной смеси добавляли соединение L3a со снятой защитой и DIEA (183 мкл, 1,05 ммоль, 2 экв.) в DMF. Реакционную смесь перемешивали в течение 2 часов при комнатной температуре. Продукт разбавляли EtOAc. Органический слой последовательно промывали раствором 1 М HCl, насыщенным раствором NaHCO<sub>3</sub> и концентрированным раствором

NaCl, сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтровали и концентрировали. В результате очистки методом колоночной флэш-хроматографии на силикагеле получали желательное соединение L3b в виде масла (129 мг, 0,209 ммоль, 40%). ЯМР <sup>1</sup>H (400 МГц, хлороформ-d) δ 6,76 (s, 1H), 6,19 (s, 1H), 5,29 (s, 1H), 3,76 (t, J = 5,8 Гц, 2H), 3,69-3,62 (m, 8H), 3,57 (dt, J = 12,3, 5,0 Гц, 6H), 3,48 (dt, J = 10,4, 5,5 Гц, 4H), 3,33 (s, 2H), 2,51 (t, J = 5,8 Гц, 2H), 2,20 (t, J = 7,0 Гц, 2H), 1,90-1,75 (m, 4H), 1,64 (p, J = 7,3 Гц, 2H), 1,46 (s, 9H), 1,33-1,22 (m, 17H).

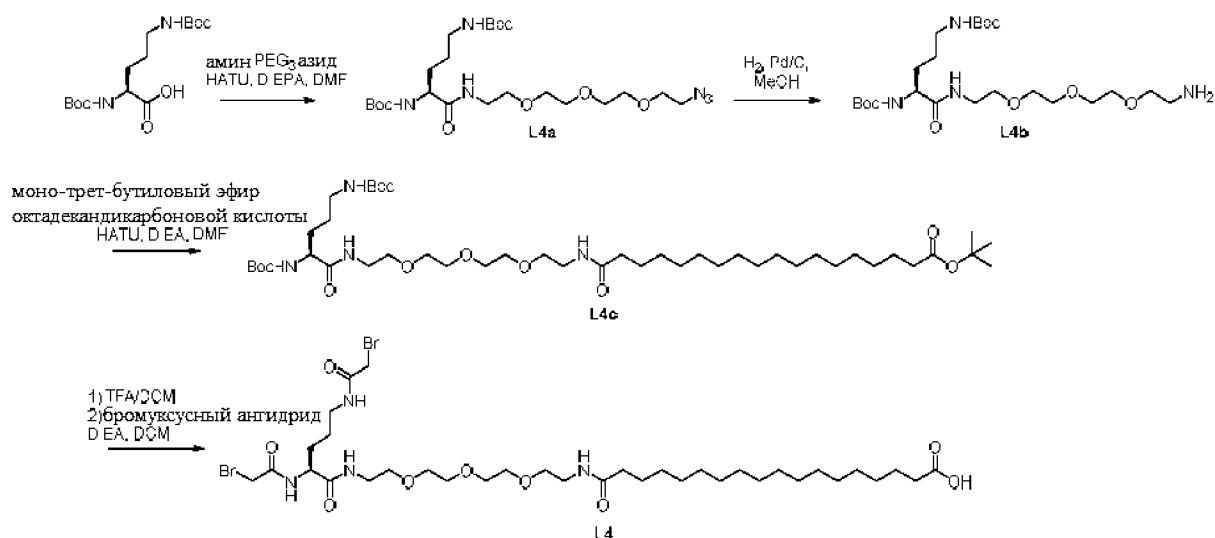
#### Промежуточное соединение L3c

[0290] Раствор соединения L3b (129 мг, 0,209 ммоль, 1 экв.) в DCM (2 мл) обрабатывали TFA (2 мл) в течение 30 минут. Смесь концентрировали путем совместного упаривания с гексаном. К раствору Вос-Оrn(Вос)-ОН (69 мг, 0,209 ммоль, 1 экв.), растворенного в DMF (5 мл), добавляли HATU (88 мг, 0,23 ммоль, 1,1 экв.). К реакционной смеси добавляли соединение L3b со снятой защитой и DIEA (73 мкл, 0,419 ммоль, 2 экв.) в DMF. Реакционную смесь перемешивали в течение 2 часов при комнатной температуре. Продукт разбавляли EtOAc. Органический слой последовательно промывали раствором 1 М HCl, насыщенным раствором NaHCO<sub>3</sub> и концентрированным раствором NaCl, сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтровали и концентрировали. В результате очистки методом колоночной флэш-хроматографии на силикагеле получали желательное соединение L3c в виде масла (137 мг, 0,164 ммоль, 78%). Время удерживания t<sub>R</sub> = 4,07 минут (Agilent). МС (ИЭР<sup>+</sup>) m/z 832,9 ([M+H]<sup>+</sup>). ЯМР <sup>1</sup>H (400 МГц, хлороформ-d) δ 7,12 (s, 1H), 6,80 (s, 1H), 6,30 (s, 1H), 4,87 (s, 1H), 3,85-3,73 (m, 2H), 3,68-3,61 (m, 7H), 3,58 (p, J = 6,1, 5,5 Гц, 7H), 3,53-3,36 (m, 6H), 3,29-3,00 (m, 2H), 2,51 (t, J = 5,8 Гц, 2H), 2,20 (t, J = 7,7 Гц, 2H), 2,00-1,74 (m, 6H), 1,71-1,51 (m, 5H), 1,45 (s, 18H), 1,35-1,22 (m, 21H).

#### L3

[0291] Раствор соединения L3c (137 мг, 0,165 ммоль, 1 экв.) в DCM (2 мл) обрабатывали TFA (2 мл) в течение 30 минут. Смесь концентрировали путем совместного упаривания с гексаном, растворяли в 10 мл DCM и охлаждали до 0°C. Добавляли DIEA (115 мкл, 0,66 ммоль, 4 экв.), а затем бромуксусный ангидрид (85,8 г, 0,33 ммоль, 2 экв.), растворенный в 1 мл DCM. Затем реакционную смесь перемешивали в течение 30 минут при 0°C и в течение 90 минут при комнатной температуре и удаляли растворитель. В результате очистки методом колоночной флэш-хроматографии на силикагеле получали L3 в виде белого твердого вещества (56 мг, 0,064 ммоль, 39%). Время удерживания t<sub>R</sub> = 3,4 минут (Agilent). МС (ИЭР<sup>+</sup>) m/z 872,4 ([M+H]<sup>+</sup>), 874,3 ([M+H]<sup>+</sup>).

#### **Пример 9. Синтез L4**



#### Промежуточное соединение L4a

[0292] К раствору Boc-Orn(Boc)-OH (595 мг, 1,79 ммоль, 1 экв.), растворенного в DMF (5 мл), добавляли HATU (750 мг, 1,79 ммоль, 1,1 экв.), DIEA (343 мкл, 1,97 ммоль, 1,1 экв.) и амин-PEG<sub>3</sub>-N<sub>3</sub> (391 мг, 1,79 ммоль, 1 экв.), растворенный в 1 мл DMF. Реакционную смесь перемешивали в течение 16 часов при комнатной температуре. Продукт разбавляли EtOAc. Органический слой последовательно промывали раствором 1 М HCl, насыщенным раствором NaHCO<sub>3</sub> и концентрированным раствором NaCl, сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтровали и концентрировали. В результате очистки методом колоночной флэш-хроматографии на силикагеле получали желательное соединение L4a в виде масла (558 мг, 1,05 ммоль, 58%). МС (ИЭР<sup>+</sup>) m/z 533,13 ([M+H]<sup>+</sup>). ЯМР <sup>1</sup>H (400 МГц, хлороформ-d) δ 6,82 (s, 1H), 5,25 (d, J = 8,3 Гц, 1H), 4,75 (s, 1H), 4,19 (s, 1H), 3,76-3,60 (m, 10H), 3,57 (t, J = 5,1 Гц, 2H), 3,43 (t, J = 4,6 Гц, 2H), 3,30-3,19 (m, 1H), 3,18-3,03 (m, 1H), 1,85 (s, 4H), 1,68-1,49 (m, 2H), 1,45 (s, 18H).

#### Промежуточное соединение L4b

[0293] К раствору соединения L4a (548 мг, 1,02 ммоль, 1 экв.) в безводном MeOH (10 мл) в атмосфере аргона добавляли Pd/C (10,9 мг, 0,102 ммоль, 0,1 экв.) и аргон вытесняли водородом. Реакционную смесь перемешивали в течение 6 часов при комнатной температуре, фильтровали на целите и выпаривали с получением соединения L4b в виде масла (516 мг, 1,02 ммоль, количественный выход). Продукт использовали без дополнительной очистки.

#### Промежуточное соединение L4c

[0294] К раствору моно-трет-бутилового эфира октадекандикарбоновой кислоты (370 мг, 1,02 ммоль, 1 экв.), растворенного в DMF (5 мл), добавляли HATU (387 мг, 1,02 ммоль, 1,1 экв.), DIEA (186 мкл, 1,07 ммоль, 2 экв.) и соединение L4b (516 мг, 1,02 ммоль,

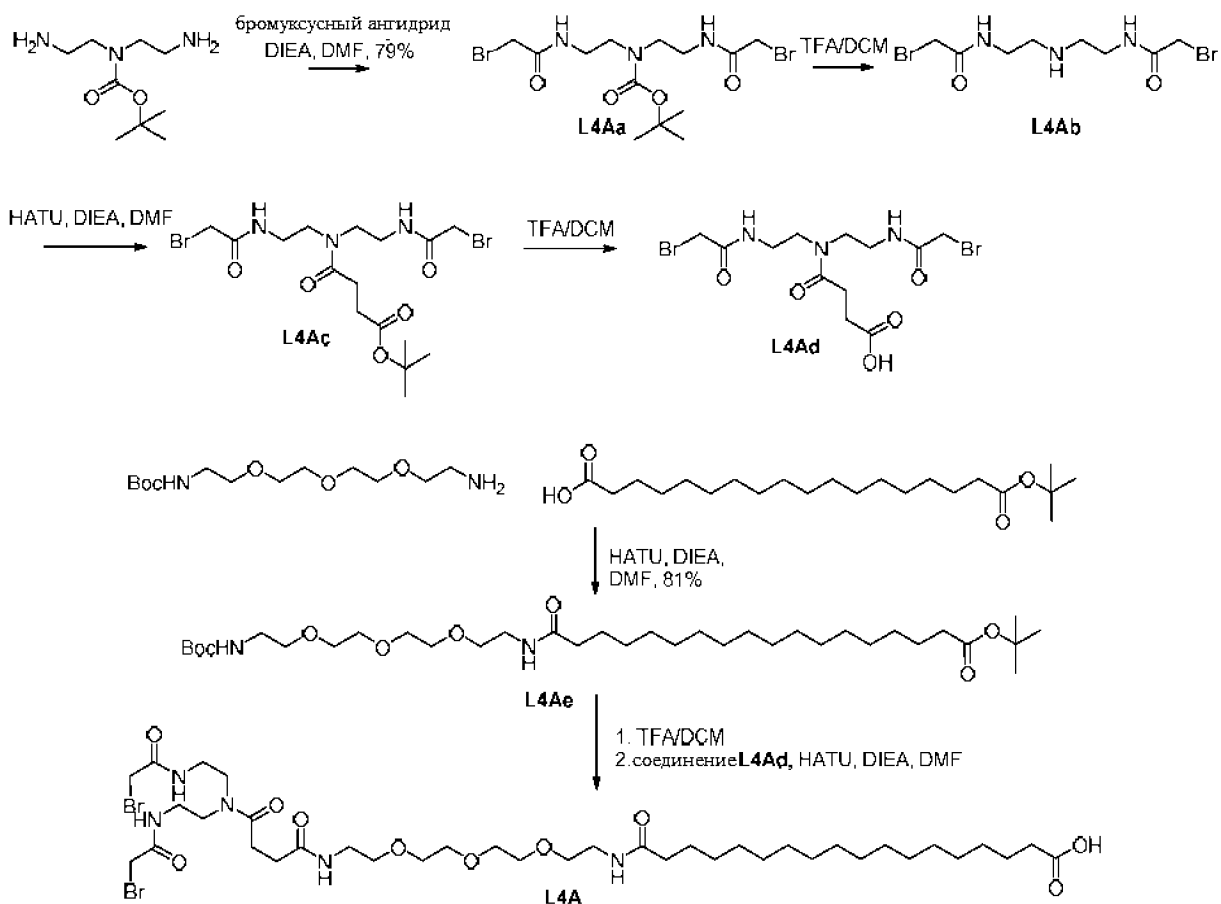
1 экв.), растворенное в 1 мл DMF. Реакционную смесь перемешивали в течение 3 часов при комнатной температуре. Продукт разбавляли EtOAc. Органический слой последовательно промывали раствором 1 М HCl, насыщенным раствором NaHCO<sub>3</sub> и концентрированным раствором NaCl, сушили над Na<sub>2</sub>SO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

#### L4

[0295] Раствор L4c (422 мг, 0,49 ммоль, 1 экв.) в DCM (2 мл) обрабатывали TFA (2 мл) в течение 30 минут. Смесь концентрировали, совместно упаривали с гексаном, растворяли в 20 мл DCM и охлаждали до 0°C. Добавляли DIEA (327 мкл, 1,96 ммоль, 4 экв.), а затем бромуксусный ангидрид (254 мг, 0,98 ммоль, 2 экв.), растворенный в 1 мл DCM. Затем реакционную смесь перемешивали в течение 30 минут при 0°C и в течение 90 минут при комнатной температуре и удаляли растворитель. В результате очистки методом колоночной флэш-хроматографии на силикагеле получали L4 в виде белого твердого вещества (53 мг, 0,063 ммоль, 12%). MS (ИЭР<sup>+</sup>) m/z 845,08 ([M+H]<sup>+</sup>), 847,07 ([M+H]<sup>+</sup>) ЯМР <sup>1</sup>H (400 МГц, метанол-d<sub>4</sub>) δ 3,68-3,60 (m, 8H), 3,54 (td, J = 5,4, 3,4 Гц, 4H), 3,43-3,35 (m, 4H), 3,30-3,16 (m, 2H), 2,27 (t, J = 7,5 Гц, 2H), 2,17 (t, J = 7,6 Гц, 2H), 1,86-1,73 (m, 1H), 1,72-1,45 (m, 8H), 1,37-1,19 (m, 28H).

#### **Пример 10. Синтез L4A**





#### Промежуточное соединение L4Aa

[0296] К раствору трет-бутилбис(2-аминоэтил)карбамата (500 мг, 2,45 ммоль, 1 экв.) и DIEA (1,02 мл, 5,88 ммоль, 2 экв.) в DCM (20 мл) при 0°C добавляли в капельном режиме бромуксусный ангидрид (1,31 г, 5,04 ммоль, 2,05 экв. в 1 мл DCM). Реакционную смесь перемешивали в течение 30 минут при 0°C и в течение 2 часов при комнатной температуре и упаривали в вакууме. В результате очистки методом колоночной флэш-хроматографии получали продукт в виде масла (883 мг, 81%). ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц, метанол- $d_4$ )  $\delta$  1,50 (s, 9H), 3,39 (s, 8H), 3,85 (s, 4H). Время удерживания  $t_R = 1,04$  мин. МС (ИЭР $^+$ )  $m/z$  445,71/447,70 ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ ).

#### Промежуточное соединение L4Ab

[0297] Раствор соединения L4Aa (1 экв.) в DCM/TFA (1:1, об./об.) перемешивали при комнатной температуре в течение 30 минут и концентрировали в вакууме (совместно выпаривали с гептаном). Соединение L4Ab использовали непосредственно на последующих стадиях без очистки. Время удерживания  $t_R = 0,58$  мин. МС (ИЭР $^+$ )  $m/z$  345,65/347,67 ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ ).

#### Промежуточное соединение L4Ac

[0298] К раствору моно-трет-бутилсукцината (1,05 экв.) в DMF добавляли HATU (1,05 экв.). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 5

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

#### Промежуточное соединение L4Ad

[0299] Раствор соединения L4Ac (1 экв.) в DCM/TFA (1:1, об./об.) перемешивали при комнатной температуре в течение 30 минут и концентрировали в вакууме (совместно выпаривали с гептаном). Соединение L4Ad использовали непосредственно на последующих стадиях без очистки. Время удерживания  $t_R = 0,57$  мин. МС (ИЭР<sup>+</sup>) m/z 445,71/447,73 ([M+H]<sup>+</sup>).

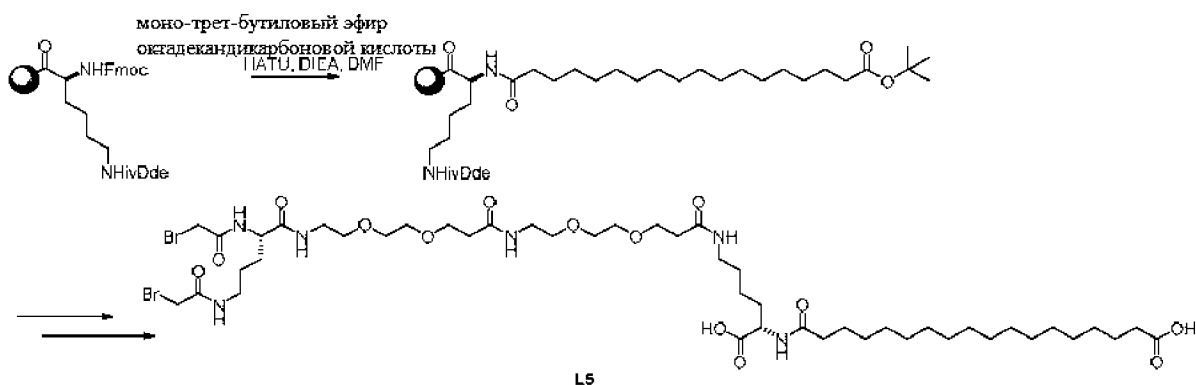
#### Промежуточное соединение L4Ae

[0300] Моно-трет-бутиловый эфир октадекандикарбоновой кислоты (200 мг, 0,54 ммоль, 1 экв.) растворяли в 5 мл DMF. Добавляли NATU (225 мг, 0,59 ммоль, 1,1 экв.) и DIEA (103 мкл, 0,59 ммоль, 1,1 экв.), а затем Вос-NH-PEG<sub>3</sub>-NH<sub>2</sub> (157,8 г, 0,54 ммоль, 1 экв.). Затем реакционную смесь перемешивали в течение 3 часов и удаляли растворитель. Продукт растворяли в EtOAc. Органический слой последовательно промывали насыщенным раствором NaHCO<sub>3</sub>, раствором 1 М HCl, концентрированным раствором NaCl, сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтровали и концентрировали. В результате очистки методом колоночной флэш-хроматографии на силикагеле получали желательный продукт L4Ae в виде белого твердого вещества (281 мг, 0,43 ммоль, 81%). МС (ИЭР<sup>+</sup>) m/z 645,5 ([M+H]<sup>+</sup>). ЯМР <sup>1</sup>H (400 МГц, хлороформ-d) δ 3,76-3,61 (m, 8H), 3,63-3,54 (m, 4H), 3,48 (q, J = 5,1 Гц, 2H), 3,34 (s, 2H), 2,20 (dt, J = 9,8, 7,6 Гц, 4H), 1,67-1,55 (m, 4H), 1,49-1,44 (m, 17H), 1,30 (s, 6H), 1,30-1,24 (m, 19H).

#### L4A

[0301] Раствор соединения L4Ae в DCM обрабатывали TFA в течение 30 минут. Смесь концентрировали, совместно упаривали с гептаном, растворяли в DMF и добавляли к раствору соединения L4Ad, NATU и DIEA в DMF. Реакционную смесь перемешивали в течение 3 часов и очищали полупрепаративной ВЭЖХ с получением желательного продукта L4A.

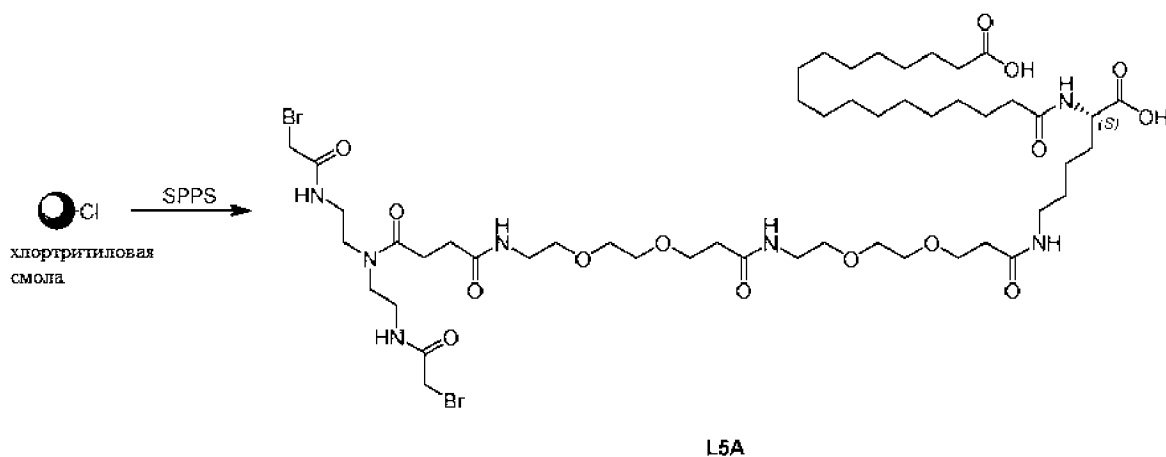
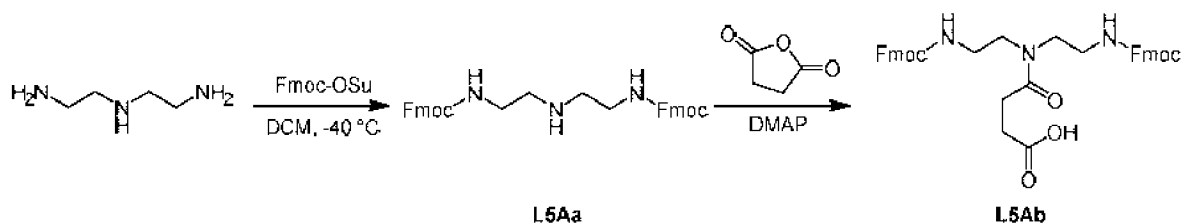
### **Пример 11. Синтез L5**



[0302] Общий протокол A, B, D (моно-трет-бутиловый эфир октадекандикарбоновой кислоты), C, D (Fmoc-PEG<sub>2</sub>-пропионовая кислота), B, D (Fmoc-PEG<sub>2</sub>-пропионовая кислота), B, D (Fmoc-Orn(Fmoc)-OH), B, E, F.

[0303] Неочищенный продукт очищали полупрепаративной ВЭЖХ с масс-спектрометрическим детектором и получали продукт L5 в виде белого твердого вещества (73 мг, 0,065 ммоль, 11%). ЯМР <sup>1</sup>H (400 МГц, метанол-d<sub>4</sub>) δ 4,36 (td, J = 8,9, 5,1 Гц, 2H), 3,89 (q, J = 11,4 Гц, 2H), 3,82 (s, 2H), 3,74 (t, J = 6,2 Гц, 2H), 3,60 (s, 4H), 3,54 (t, J = 5,5 Гц, 2H), 3,37 (q, J = 5,2 Гц, 2H), 3,29-3,11 (m, 5H), 2,44 (t, J = 6,2 Гц, 2H), 2,26 (dt, J = 12,3, 7,5 Гц, 4H), 1,89-1,77 (m, 2H), 1,76-1,49 (m, 10H), 1,48-1,38 (m, 2H), 1,37-1,25 (m, 25H).

### Пример 12. Синтез L5A



### Промежуточное соединение L5Aa

[0304] Раствор Fmoc-OSu (131 г, 388 ммоль) в DCM (200 мл) добавляли в капельном режиме к раствору диэтилентриамина (20 г, 194 ммоль) в DCM (200 мл) при -40°C в атмосфере азота, перемешивали в течение 2 часов. ЖХ-МС показала, что реакция завершена. Неочищенный продукт в растворе не очищали и использовали непосредственно на следующей стадии. ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  7,88 (d, J = 7,6 Гц, 4H), 7,68 (d, J = 7,6 Гц, 4H), 7,43-7,24 (m, 10H), 4,30 (d, J = 6,4 Гц, 4H), 4,21 (d, J = 6,4 Гц, 2H), 3,06 (d, J = 5,6 Гц, 4H), 2,57 (d, J = 7,6 Гц, 4H). МС (ИЭР $^+$ ) m/z 548,2 ([M+H] $^+$ ).

#### Промежуточное соединение L5Ab

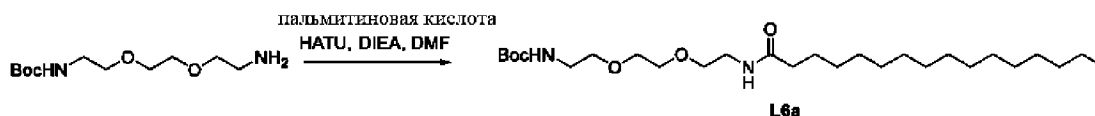
[0305] К раствору соединения L5Aa (106 г, 194 ммоль) в DCM (400 мл) добавляли диметиламинопиридин DMAP (4,74 г, 38,8 ммоль) и тетрагидрофуран-2,5-дион (67,9 г, 678 ммоль), перемешивали при 25°C в течение 14 часов. ЖХ-МС показала, что реакция завершена. К реакционной смеси добавляли 1 М HCl до pH = 5-6, перемешивали в течение 15 минут, органическую фазу отделяли, затем органическую фазу промывали водой и насыщенным раствором NaCl (500 мл), водную фазу дважды экстрагировали DCM (500 мл). Объединенный DCM сушили над безводным Na $_2$ SO $_4$  и концентрировали в вакууме. Неочищенный продукт очищали колоночной хроматографией на силикагеле, используя DCM/MeOH (80:0-5:1) в качестве элюента, с получением соединения L5Ab (57,6 г, выход 45%) в виде белого твердого порошка. ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  12,09 (s, 1 H), 7,87 (d, J = 7,5 Гц, 4 H), 7,66 (d, J = 7,0 Гц, 4 H), 7,23-7,48 (m, 10 H), 4,24-4,33 (m, 4 H), 4,14-4,22 (m, 2 H), 3,27 (s, 4 H), 2,95-3,19 (m, 4 H), 2,37-2,44 (m, 4 H). МС (ИЭР $^+$ ) m/z 648,2 ([M+H] $^+$ ).

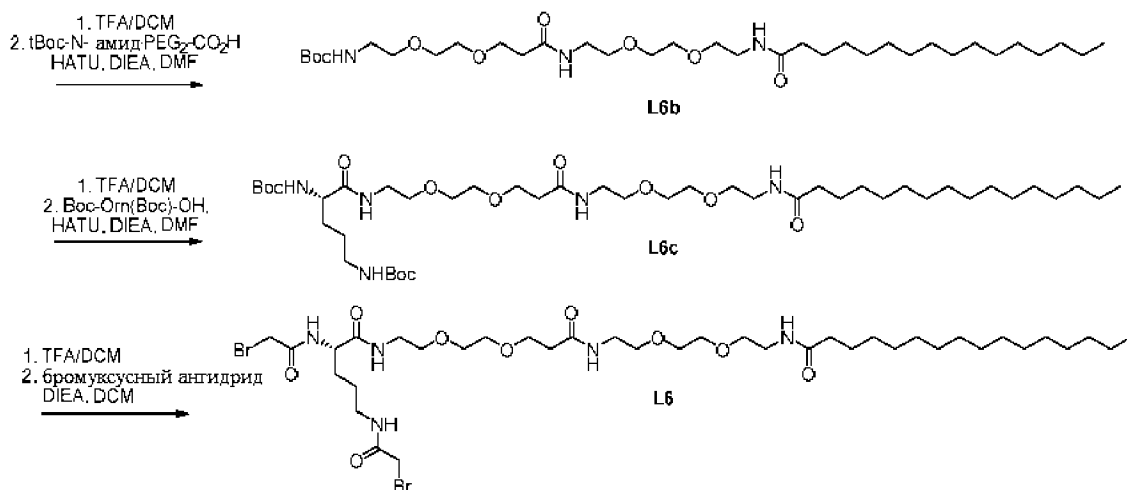
#### L5A

[0306] Общий протокол A, B, D (моно-трет-бутиловый эфир октадекандикарбоновой кислоты), C, D (Fmoc-PEG $_2$ -пропионовая кислота), B, D (Fmoc-PEG $_2$ -пропионовая кислота), B, D (соединение L5Ab), B, E, F.

[0307] Неочищенный продукт очищали полупрепаративной ВЭЖХ с масс-спектроскопическим детектором и получали продукт L5A в виде белого твердого вещества (5,2 г, выход 11%). МС (ИЭР $^+$ ) m/z 1188,5 ([M+H] $^+$ ).

#### **Пример 13. Синтез L6**





### Промежуточное соединение L6a

[0308] Пальмитиновую кислоту (235 мг, 0,919 ммоль, 1,05 экв.) растворяли в 4 мл DMF. Добавляли HATU (349 мг, 0,919 ммоль, 1,05 экв.) и DIEA (167 мкл, 0,963 ммоль, 1,1 экв.) с последующим добавлением Boc-NH-PEG<sub>2</sub>-NH<sub>2</sub> (200 мг, 0,875 ммоль, 1 экв.). Затем реакционную смесь перемешивали в течение 2 часов и удаляли растворитель. Продукт растворяли в EtOAc. Органический слой последовательно промывали раствором 1 М HCl, насыщенным раствором NaHCO<sub>3</sub>, HCl и насыщенным раствором NaCl, сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтровали и концентрировали с получением желательного соединения L6a в виде белого твердого вещества (412 мг, 0,84 ммоль, 97%). ЯМР <sup>1</sup>H (400 МГц, хлороформ-d) δ 6,17 (s, 1H), 5,07 (s, 1H), 3,58 (s, 4H), 3,53 (t, J = 5,0 Гц, 3H), 3,43 (q, J = 5,3 Гц, 2H), 3,36-3,21 (m, 2H), 2,15 (t, J = 7,5 Гц, 2H), 1,66-1,54 (m, 2H), 1,32-1,15 (m, 26H), 0,84 (t, J = 6,6 Гц, 3H).

### Промежуточное соединение L6b

[0309] Раствор соединения L6a (412 мг, 0,84 ммоль, 1 экв.) в DCM (2 мл) обрабатывали TFA (2 мл) в течение 30 минут. Смесь концентрировали путем совместного упаривания с гексаном. К раствору BocNH-PEG<sub>2</sub>-CO<sub>2</sub>H (258 мг, 0,931 ммоль, 1,1 экв.), растворенного в DMF (5 мл), добавляли HATU (353 мг, 0,931 ммоль, 1,1 экв.). К реакционной смеси добавляли соединение L6a со снятой защитой и DIEA (294 мкл, 1,69 ммоль, 2 экв.) в DMF. Реакционную смесь перемешивали в течение 2 часов при комнатной температуре. Продукт разбавляли EtOAc. Органический слой последовательно промывали раствором 1 М HCl, насыщенным раствором NaHCO<sub>3</sub>, HCl и концентрированным раствором NaCl, сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтровали и концентрировали. В результате очистки методом колоночной флэш-хроматографии на силикагеле получали желательное соединение L6b в виде масла (329 мг, 0,51 ммоль, 60%). ЯМР <sup>1</sup>H (400 МГц, хлороформ-d) δ 6,79 (s, 1H), 6,28 (s, 1H), 5,28 (s, 1H), 3,68 (t, J = 5,8 Гц, 2H), 3,61-3,44 (m, 14H), 3,38 (p, J

= 5,6 Гц, 4H), 3,24 (q, J = 5,5 Гц, 2H), 2,42 (t, J = 5,8 Гц, 2H), 2,11 (t, J = 7,9 Гц, 2H), 1,55 (p, J = 7,2 Гц, 2H), 1,38 (s, 9H), 1,32-1,10 (m, 24H), 0,81 (t, J = 6,7 Гц, 3H).

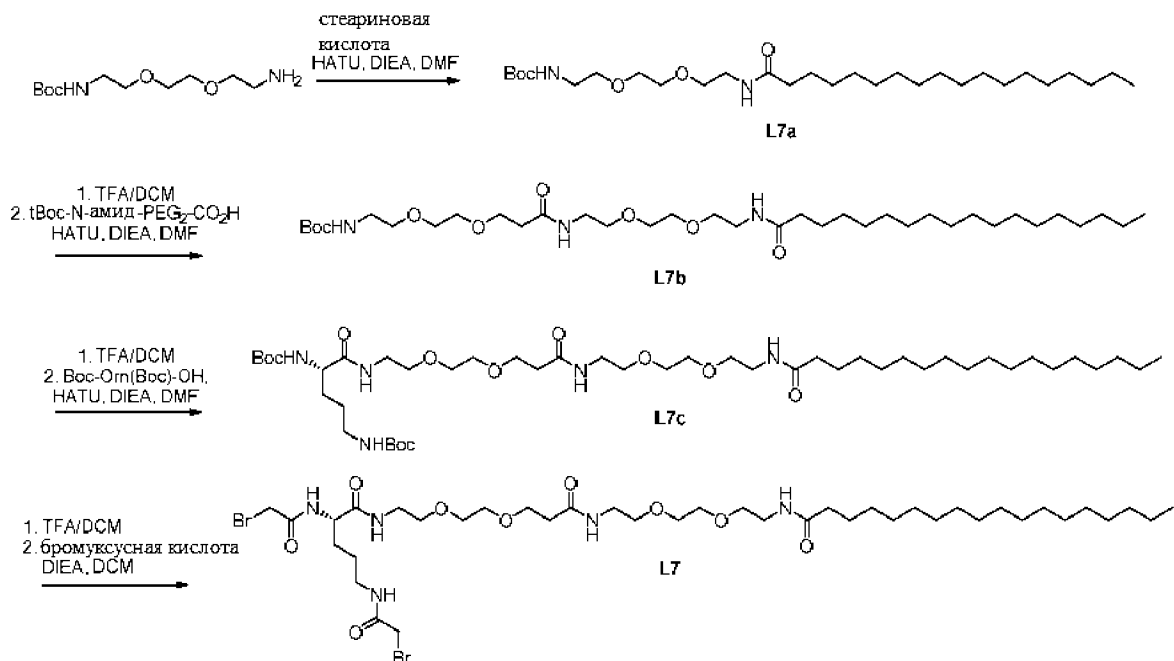
#### Промежуточное соединение L6c

[0310] Раствор соединения L6b (329 мг, 0,51 ммоль, 1 экв.) в DCM (2 мл) обрабатывали TFA (2 мл) в течение 30 минут. Смесь концентрировали путем совместного упаривания с гексаном. К раствору Вос-Orn(Вос)-ОН (186 мг, 0,56 ммоль, 1,1 экв.), растворенного в DMF (5 мл), добавляли НАТУ (213 мг, 0,56 ммоль, 1,1 экв.). К реакционной смеси добавляли соединение L6b со снятой защитой и DIEA (177 мкл, 1,02 ммоль, 2 экв.) в DMF. Реакционную смесь перемешивали в течение 2 часов при комнатной температуре. Продукт разбавляли EtOAc. Органический слой последовательно промывали насыщенным раствором NaHCO<sub>3</sub>, раствором 1 М HCl и концентрированным раствором NaCl, сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтровали и концентрировали. В результате очистки методом колоночной флэш-хроматографии на силикагеле получали желательное соединение L6c в виде масла (326 мг, 0,37 ммоль, 94%). ЯМР <sup>1</sup>H (400 МГц, хлороформ-d) δ 7,18 (s, 1H), 6,92 (s, 1H), 6,48 (s, 1H), 5,61 (d, J = 8,4 Гц, 1H), 5,08 (t, J = 5,9 Гц, 1H), 4,13 (s, 1H), 3,73-3,65 (m, 2H), 3,59-3,44 (m, 14H), 3,42-3,29 (m, 8H), 3,19-2,86 (m, 2H), 2,42 (t, J = 5,9 Гц, 2H), 2,10 (d, J = 7,3 Гц, 2H), 1,78-1,63 (m, 1H), 1,60-1,40 (m, 5H), 1,35 (s, 18H), 1,26-1,09 (m, 22H), 0,80 (t, J = 6,7 Гц, 3H).

#### L6

[0311] Раствор соединения L6c (100 мг, 0,116 ммоль, 1 экв.) в DCM (2 мл) обрабатывали TFA (2 мл) в течение 30 минут. Смесь концентрировали, совместно выпаривали с гексаном, растворяли в 10 мл DCM и охлаждали до 0°C. Добавляли DIEA (80,8 мкл, 0,46 ммоль, 4 экв.), а затем бромуксусный ангидрид (61,9 мг, 0,238 ммоль, 2,05 экв.), растворенный в 1 мл DCM. Затем реакционную смесь перемешивали в течение 30 минут при 0°C и в течение 90 минут при комнатной температуре и удаляли растворитель. В результате очистки методом колоночной флэш-хроматографии на силикагеле получали L6 в виде белого твердого вещества (50,1 мг, 0,055 ммоль, 40%). ЯМР <sup>1</sup>H (400 МГц, метанол-d<sub>4</sub>) δ 4,39 (dd, J = 8,4, 5,5 Гц, 1H), 3,91 (q, J = 11,4 Гц, 2H), 3,84 (s, 2H), 3,76 (t, J = 6,2 Гц, 2H), 3,63 (d, J = 7,1 Гц, 8H), 3,57 (q, J = 5,5 Гц, 6H), 3,43-3,36 (m, 6H), 3,25 (t, J = 13,9, 6,8 Гц, 2H), 2,49 (t, J = 6,2 Гц, 2H), 2,21 (t, J = 7,5 Гц, 2H), 1,91-1,79 (m, 1H), 1,75-1,53 (m, 5H), 1,42-1,25 (m, 24H), 0,92 (t, J = 6,7 Гц, 3H).

#### **Пример 14. Синтез L7**



#### Промежуточное соединение L7a

[0312] Стеариновую кислоту (261 мг, 0,919 ммоль, 1,05 экв.) растворяли в 4 мл DMF. Добавляли HATU (349 мг, 0,919 ммоль, 1,05 экв.) и DIEA (167 мкл, 0,963 ммоль, 1,1 экв.) с последующим добавлением Boc-NH-PEG<sub>2</sub>-NH<sub>2</sub> (200 мг, 0,875 ммоль, 1 экв.). Затем реакционную смесь перемешивали в течение 2 часов и удаляли растворитель. Продукт растворяли в EtOAc. Органический слой последовательно промывали раствором 1 М HCl, насыщенным раствором NaHCO<sub>3</sub> и концентрированным раствором NaCl, сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтровали и концентрировали с получением желательного соединения L7a в виде белого твердого вещества (430 мг, 0,83 ммоль, 95%). ЯМР <sup>1</sup>H (400 МГц, хлороформ-d) δ 3,69-3,59 (m, 4H), 3,56 (t, J = 5,1 Гц, 4H), 3,46 (q, J = 5,2 Гц, 2H), 3,40-3,23 (m, 2H), 2,18 (t, J = 7,6 Гц, 2H), 1,62 (t, J = 7,3 Гц, 2H), 1,45 (s, 9H), 1,35-1,19 (m, 30H), 0,88 (t, J = 6,7 Гц, 4H).

#### Промежуточное соединение L7b

[0313] Раствор соединения L7a (426 мг, 0,87 ммоль, 1 экв.) в DCM (2 мл) обрабатывали TFA (2 мл) в течение 30 минут. Смесь концентрировали, совместно упаривали с гексаном. К раствору BocNH-PEG<sub>2</sub>-CO<sub>2</sub>H (266 мг, 0,96 ммоль, 1,1 экв.), растворенного в DMF (5 мл), добавляли HATU (366 мг, 0,96 ммоль, 1,1 экв.). К реакционной смеси добавляли соединение L7a со снятой защитой и DIEA (304 мкл, 1,75 ммоль, 2 экв.) в DMF. Реакционную смесь перемешивали в течение 2 часов при комнатной температуре. Продукт разбавляли EtOAc. Органический слой последовательно промывали раствором 1 М HCl, насыщенным раствором NaHCO<sub>3</sub> и концентрированным раствором NaCl, сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтровали и концентрировали. В результате очистки

методом колоночной флэш-хроматографии на силикагеле получали желательное соединение L7b в виде масла (360 мг, 0,53 ммоль, 61%). ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц, хлороформ-d)  $\delta$  6,75 (s, 1H), 6,18 (s, 1H), 5,26 (s, 1H), 3,75 (t, J = 5,8 Гц, 2H), 3,69-3,52 (m, 14H), 3,47 (p, J = 5,4 Гц, 4H), 3,33 (q, J = 5,5 Гц, 2H), 2,50 (t, J = 5,8 Гц, 2H), 2,19 (t, J = 7,5 Гц, 2H), 2,07 (s, 1H), 1,63 (p, J = 7,3 Гц, 2H), 1,46 (s, 9H), 1,37-1,19 (m, 29H), 0,89 (t, J = 6,7 Гц, 3H).

#### Промежуточное соединение L7c

[0314] Раствор соединения L7b (360 мг, 0,53 ммоль, 1 экв.) в DCM (2 мл) обрабатывали TFA (2 мл) в течение 30 минут. Смесь концентрировали, совместно упаривали с гексаном. К раствору Вос-Оrn(Вос)-ОН (195 мг, 0,58 ммоль, 1,1 экв.), растворенного в DMF (5 мл), добавляли HATU (223 мг, 0,58 ммоль, 1,1 экв.). К реакционной смеси добавляли соединение L7b со снятой защитой и DIEA (186 мкл, 1,07 ммоль, 2 экв.) в DMF. Реакционную смесь перемешивали в течение 2 часов при комнатной температуре. Продукт разбавляли EtOAc. Органический слой последовательно промывали раствором 1 М HCl, насыщенным раствором  $\text{NaHCO}_3$  и концентрированным раствором NaCl, сушили над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , фильтровали и концентрировали. В результате очистки методом колоночной флэш-хроматографии на силикагеле получали желательное соединение L7c в виде масла (373 мг, 0,42 ммоль, 78%). ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц, хлороформ-d)  $\delta$  7,14 (s, 1H), 6,84 (s, 1H), 6,35 (s, 1H), 5,53 (d, J = 8,2 Гц, 1H), 5,05-4,88 (m, 1H), 4,20 (s, 1H), 3,82-3,69 (m, 2H), 3,65-3,31 (m, 22H), 3,23-3,00 (m, 2H), 2,48 (t, J = 5,8 Гц, 2H), 2,17 (t, J = 7,8 Гц, 2H), 1,87-1,72 (m, 1H), 1,67-1,48 (m, 5H), 1,42 (s, 18H), 1,34-1,14 (m, 29H), 0,87 (t, J = 6,9 Гц, 3H).

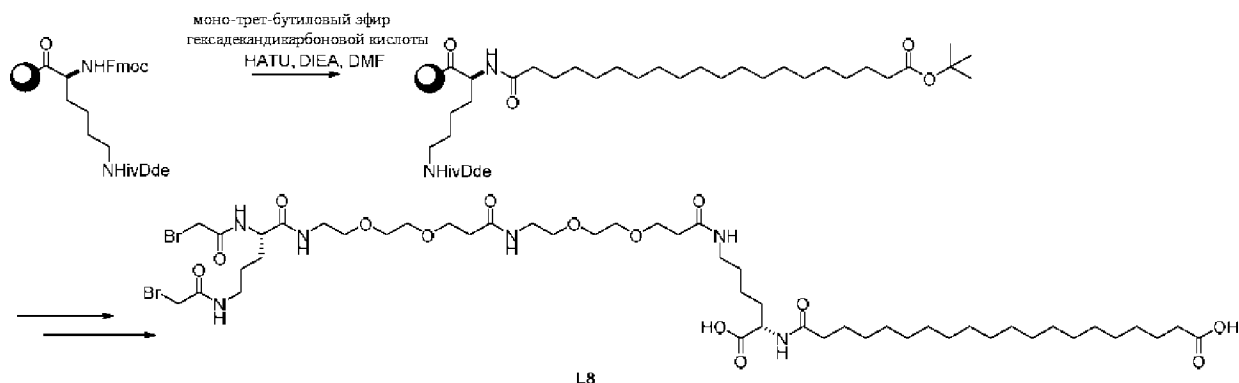
#### L7

[0315] Раствор соединения L7c (100 мг, 0,112 ммоль, 1 экв.) в DCM (2 мл) обрабатывали TFA (2 мл) в течение 30 минут. Смесь концентрировали, совместно выпаривали с гексаном, растворяли в 10 мл DCM и охлаждали до  $0^\circ\text{C}$ . Добавляли DIEA (78 мкл, 0,44 ммоль, 4 экв.), а затем бромуксусный ангидрид (62 мг, 0,24 ммоль, 2,05 экв.), растворенный в 1 мл DCM. Затем реакционную смесь перемешивали в течение 30 минут при  $0^\circ\text{C}$  и в течение 90 минут при комнатной температуре и удаляли растворитель. Продукт растворяли в EtOAc. Органический слой последовательно промывали раствором 1 М HCl, насыщенным раствором  $\text{NaHCO}_3$  и концентрированным раствором NaCl, сушили над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , фильтровали и концентрировали. В результате очистки методом колоночной флэш-хроматографии на силикагеле получали L7 в виде белого твердого вещества (95 мг, 0,10 ммоль, 91%). MS (ИЭР $^+$ ) m/z 931,31 ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ ), 933,25 ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ ). ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц, метанол-d $_4$ )  $\delta$  4,39 (dd, J = 8,5, 5,4 Гц, 1H), 3,91 (q, J = 11,3 Гц, 2H), 3,84 (s, 2H), 3,76 (t, J = 6,2 Гц, 2H), 3,63 (d, J = 7,0 Гц, 8H), 3,57 (t, J = 5,5 Гц, 6H), 3,42-3,35 (m, 6H), 3,31-3,13 (m,



4H), 2,49 (t,  $J = 6,2$  Гц, 2H), 2,20 (t,  $J = 7,4$  Гц, 2H), 1,91-1,79 (m, 1H), 1,75-1,56 (m, 6H), 1,39-1,26 (m, 26H), 0,92 (t,  $J = 6,3$  Гц, 3H).

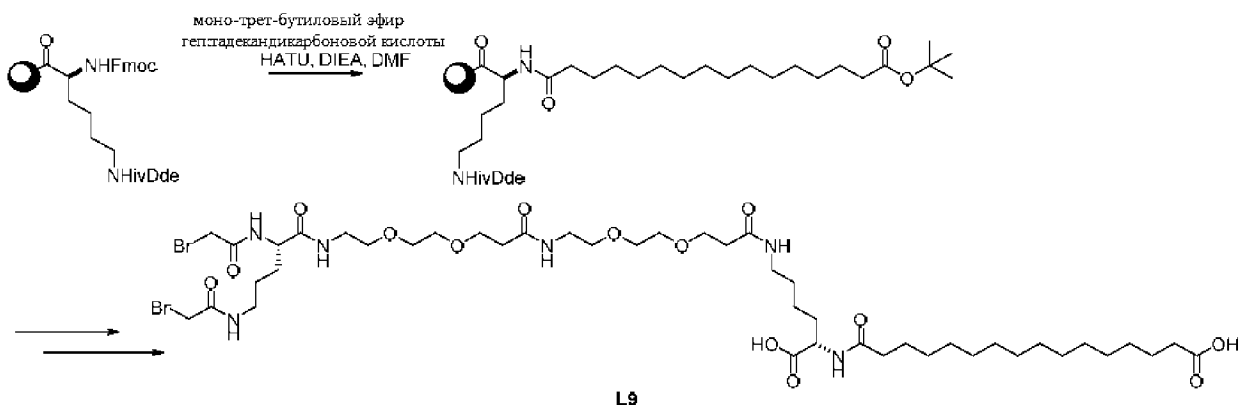
### Пример 15. Синтез L8



[0316] Общий протокол A, B, D (моно-tert-бутиловый эфир гексадекандикарбоновой кислоты), C, D (Fmoc-PEG<sub>2</sub>-пропионовая кислота), B, D (Fmoc-PEG<sub>2</sub>-пропионовая кислота), B, D (Fmoc-Orn(Fmoc)-OH), B, E, F.

[0317] Неочищенный продукт очищали полупрепаративной ВЭЖХ с масс-спектрометрическим детектором и получали продукт L8 в виде белого твердого вещества (42,6 мг, 0,038 ммоль, 22%). ЯМР <sup>1</sup>H (400 МГц, метанол-d<sub>4</sub>)  $\delta$  4,38 (td,  $J = 8,6, 5,1$  Гц, 2H), 3,91 (q,  $J = 11,3$  Гц, 2H), 3,84 (s, 2H), 3,76 (q,  $J = 6,1$  Гц, 4H), 3,65-3,59 (m, 8H), 3,56 (td,  $J = 5,5, 1,7$  Гц, 4H), 3,43-3,37 (m, 4H), 3,31-3,16 (m, 4H), 2,48 (dt,  $J = 15,7, 6,2$  Гц, 4H), 2,28 (dt,  $J = 12,6, 7,5$  Гц, 4H), 1,95-1,79 (m, 1H), 1,77-1,51 (m, 10H), 1,49-1,41 (m, 2H), 1,40-1,26 (m, 31H).

### Пример 16. Синтез L9

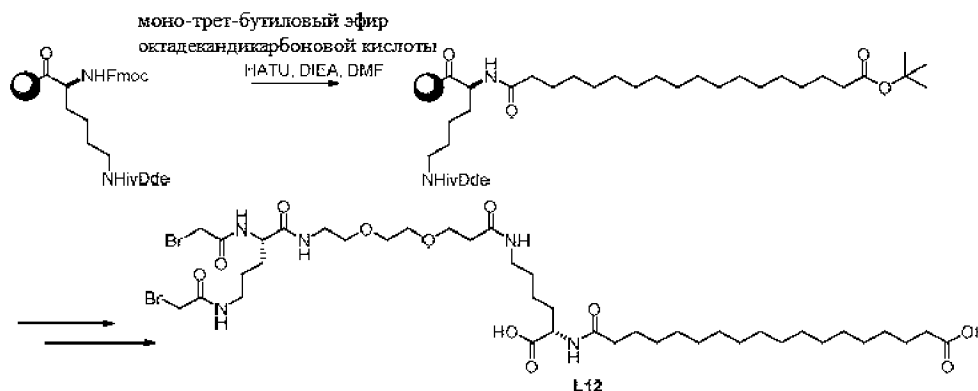


[0318] Общий протокол A, B, D (моно-tert-бутиловый эфир гептадекандикарбоновой кислоты), C, D (Fmoc-PEG<sub>2</sub>-пропионовая кислота), B, D (Fmoc-Orn(Fmoc)-OH), B, E, F.

[0319] Неочищенный продукт очищали полупрепаративной ВЭЖХ с масс-спектрометрическим детектором и получали продукт L9 в виде белого твердого вещества

(49 мг, 0,089 ммоль, 9%). ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц, метанол- $d_4$ )  $\delta$  4,45-4,33 (m, 2H), 3,92 (t,  $J = 10,9$  Гц, 2H), 3,85 (d,  $J = 1,1$  Гц, 2H), 3,77 (q,  $J = 6,0$  Гц, 4H), 3,63 (s, 8H), 3,57 (t,  $J = 5,6$  Гц, 4H), 3,40 (t,  $J = 5,5$  Гц, 4H), 3,25 (dq,  $J = 22,7, 6,7$  Гц, 4H), 2,48 (dt,  $J = 15,6, 6,2$  Гц, 4H), 2,29 (dt,  $J = 13,2, 7,4$  Гц, 4H), 1,95-1,79 (m, 2H), 1,80-1,50 (m, 10H), 1,51-1,41 (m, 2H), 1,40-1,27 (m, 20H).

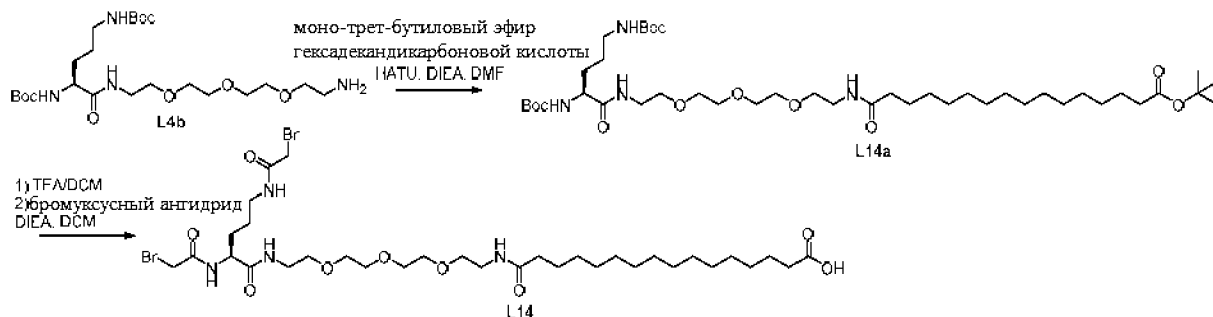
### Пример 17. Синтез L12



[0320] Общий протокол A, B, D (октадекандикарбоновая кислота), C, D (Fmoc-PEG<sub>2</sub>-пропионовая кислота), B, D (Fmoc-Orn(Fmoc)-OH), B, E, F.

[0321] Неочищенный продукт очищали полупрепаративной ВЭЖХ с масс-спектрометрическим детектором и получали продукт L12 в виде белого твердого вещества (51,7 мг, 0,054 ммоль, 3%). ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц, метанол- $d_4$ )  $\delta$  4,39 (td,  $J = 9,2, 5,1$  Гц, 2H), 3,92 (qd,  $J = 11,4, 1,2$  Гц, 2H), 3,85 (s, 2H), 3,76 (t,  $J = 6,2$  Гц, 2H), 3,63 (s, 4H), 3,57 (t,  $J = 5,5$  Гц, 2H), 3,40 (q,  $J = 5,1$  Гц, 2H), 3,30-3,12 (m, 6H), 2,47 (t,  $J = 6,1$  Гц, 2H), 2,29 (dt,  $J = 12,1, 7,4$  Гц, 4H), 1,95-1,77 (m, 2H), 1,78-1,50 (m, 10H), 1,48-1,40 (m, 2H), 1,39-1,26 (m, 22H).

### Пример 18. Синтез L14



#### Промежуточное соединение L14a

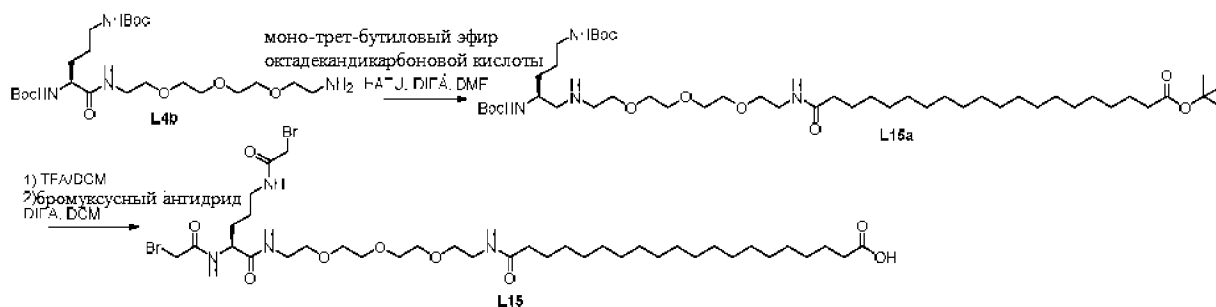
[0322] К раствору моно-трет-бутилового эфира гексадекандикарбоновой кислоты (102 мг, 0,30 ммоль, 1 экв.), растворенного в DMF (5 мл), добавляли HATU (125 мг, 0,33 ммоль, 1,1 экв.), DIEA (51 мкл, 0,33 ммоль, 1,1 экв.) и соединение L4b (151,9 мг, 0,3 ммоль, 1 экв.), растворенное в 1 мл DMF. Реакционную смесь перемешивали 3 часа при

комнатной температуре. Продукт разбавляли EtOAc. Органический слой последовательно промывали раствором 1 М HCl, насыщенным раствором NaHCO<sub>3</sub> и концентрированным раствором NaCl, сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтровали и концентрировали. В результате очистки методом колоночной флэш-хроматографии на силикагеле получали желательное соединение L14a в виде масла (147 мг, 0,176 ммоль, 59%). ЯМР <sup>1</sup>H (400 МГц, хлороформ-d) δ 6,87 (s, 1H), 6,40 (s, 1H), 5,32 (s, 2H), 4,79 (s, 1H), 4,20 (s, 1H), 3,66 (d, J = 7,0 Гц, 8H), 3,60 (dt, J = 10,0, 5,1 Гц, 4H), 3,49-3,45 (m, 3H), 3,31-3,18 (m, 1H), 3,13-3,06 (m, 1H), 2,21 (td, J = 7,8, 6,0 Гц, 4H), 1,88-1,78 (m, 1H), 1,66-1,53 (m, 7H), 1,51-1,42 (m, 27H), 1,36-1,19 (m, 20H).

#### L14

[0323] Раствор соединения L14a (40 мг, 0,048 ммоль, 1 экв.) в DCM (2 мл) обрабатывали TFA (2 мл) в течение 30 минут. Смесь концентрировали, совместно выпаривали с гексаном, растворяли в 20 мл DCM и охлаждали до 0°C. Добавляли DIEA (34 мкл, 0,1924 ммоль, 4 экв.), а затем бромуксусный ангидрид (23,63 мг, 0,098 ммоль, 2,05 экв.), растворенный в 1 мл DCM. Затем реакционную смесь перемешивали в течение 30 минут при 0°C и в течение 90 минут при комнатной температуре и удаляли растворитель. В результате очистки методом колоночной флэш-хроматографии на силикагеле получали L14 в виде белого твердого вещества (18,3 мг, 0,022 ммоль, 46%). MS (ИЭР<sup>+</sup>) m/z 817,1 ([M+H]<sup>+</sup>), 819,09 ([M+H]<sup>+</sup>). ЯМР <sup>1</sup>H (400 МГц, метанол-d<sub>4</sub>) δ 4,38 (dd, J = 8,4, 5,5 Гц, 1H), 3,92 (q, J = 11,2, 10,6 Гц, 2H), 3,84 (s, 2H), 3,69-3,61 (m, 8H), 3,56 (td, J = 5,5, 2,6 Гц, 4H), 3,44-3,36 (m, 4H), 3,30-3,14 (m, 2H), 2,29 (t, J = 7,4 Гц, 2H), 2,21 (t, J = 7,5 Гц, 2H), 1,91-1,78 (m, 1H), 1,76-1,67 (m, 1H), 1,67-1,54 (m, 6H), 1,40-1,29 (m, 20H).

#### Пример 19. Синтез L15



#### Промежуточное соединение L15a

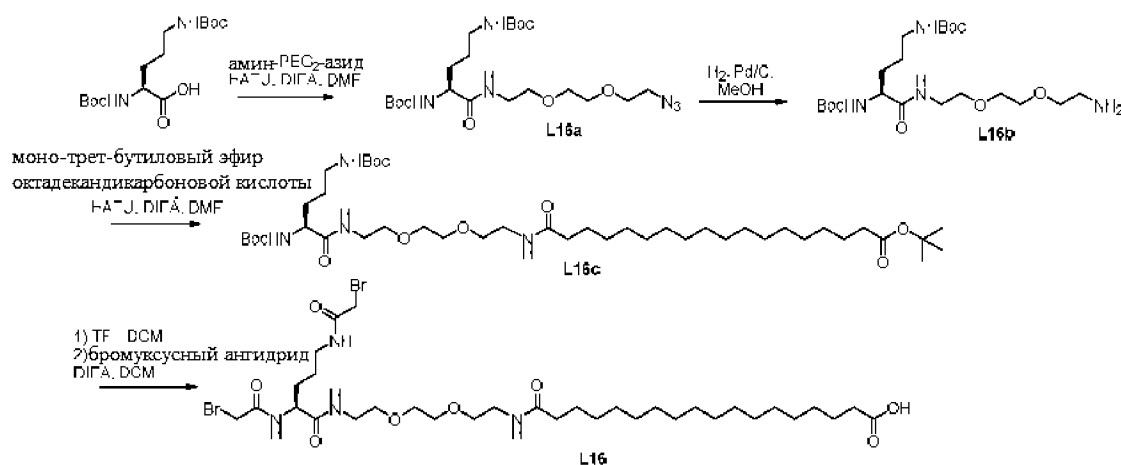
[0324] К раствору 20-(трет-бутокси)-20-оксоикозановой кислоты (360 мг, 0,90 ммоль, 1,05 экв.), растворенной в DMF (5 мл), добавляли HATU (343 мг, 0,90 ммоль, 1,05 экв.), DIEA (300 мкл, 1,71 ммоль, 2 экв.) и соединение L4b (435 мг, 0,858 ммоль, 1 экв.), растворенное в 1 мл DMF. Реакционную смесь перемешивали в течение 3 часов при комнатной температуре. Продукт разбавляли EtOAc. Органический слой последовательно

промывали раствором 1 М HCl, насыщенным раствором NaHCO<sub>3</sub> и концентрированным раствором NaCl, сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтровали и концентрировали. В результате очистки методом колоночной флэш-хроматографии на силикагеле получали желательное соединение L15a в виде масла (555 мг, 0,625 ммоль, 72%). ЯМР <sup>1</sup>H (400 МГц, хлороформ-d) δ 6,87 (s, 1H), 6,40 (s, 1H), 4,79 (s, 1H), 4,21 (s, 1H), 3,76-3,53 (m, 15H), 3,47 (s, 5H), 3,32-3,05 (m, 3H), 2,29-2,17 (m, 4H), 1,90-1,76 (m, 4H), 1,69-1,53 (m, 2H), 1,52-1,41 (m, 33H), 1,36-1,20 (m, 29H).

### L15

[0325] Раствор соединения L15a (100 мг, 0,112 ммоль, 1 экв.) в DCM (2 мл) обрабатывали TFA (2 мл) в течение 30 минут. Смесь концентрировали, совместно выпаривали с гексаном, растворяли в 20 мл DCM и охлаждали до 0°C. Добавляли DIEA (79 мкл, 0,45 ммоль, 4 экв.), а затем бромуксусный ангидрид (60 мг, 0,231 ммоль, 2,05 экв.), растворенный в 1 мл DCM. Затем реакционную смесь перемешивали в течение 30 минут при 0°C и в течение 90 минут при комнатной температуре и удаляли растворитель. В результате очистки методом колоночной флэш-хроматографии на силикагеле получали L15 в виде белого твердого вещества (17,5 мг, 0,02 ммоль, 18%). МС (ИЭР<sup>+</sup>) m/z 873,21 ([M+H]<sup>+</sup>), 875,20 ([M+H]<sup>+</sup>) ЯМР <sup>1</sup>H (400 МГц, метанол-d<sub>4</sub>) δ 4,38 (dd, J = 8,4, 5,5 Гц, 1H), 3,91 (q, J = 11,4 Гц, 2H), 3,84 (s, 2H), 3,72-3,61 (m, 8H), 3,56 (td, J = 5,5, 2,7 Гц, 4H), 3,44-3,35 (m, 5H), 3,30-3,17 (m, 2H), 2,29 (t, J = 7,4 Гц, 2H), 2,21 (t, J = 7,5 Гц, 2H), 1,92-1,77 (m, 1H), 1,75-1,53 (m, 7H), 1,40-1,27 (m, 27H).

### Пример 20. Синтез L16



### Промежуточное соединение L16a

[0326] К раствору Boc-Orn(OH) (400 мг, 1,2 ммоль, 1 экв.), растворенного в DMF (10 мл), добавляли HATU (504 мг, 1,32 ммоль, 1,1 экв.), DIEA (230 мкл, 1,32 ммоль, 1,1 экв.) и амин-PEG<sub>2</sub>-N<sub>3</sub> (210 мг, 1,20 ммоль, 1 экв.), растворенные в 1 мл DMF. Реакционную смесь перемешивали в течение 4 часов при комнатной температуре.

Продукт разбавляли EtOAc. Органический слой последовательно промывали раствором 1 М HCl, насыщенным раствором NaHCO<sub>3</sub> и концентрированным раствором NaCl, сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтровали и концентрировали. В результате очистки методом колоночной флэш-хроматографии на силикагеле получали желательное соединение L16a в виде масла (471 мг, 0,96 ммоль, 80%). ЯМР <sup>1</sup>H (400 МГц, метанол-d<sub>4</sub>) δ 4,01 (t, J = 6,6 Гц, 1H), 3,71-3,60 (m, 6H), 3,55 (t, J = 5,5 Гц, 2H), 3,41-3,37 (m, 3H), 3,04 (t, J = 6,2 Гц, 2H), 1,78-1,66 (m, 1H), 1,62-1,48 (m, 3H), 1,48-1,39 (m, 18H).

#### Промежуточное соединение L16b

[0327] К раствору соединения L16a (471 мг, 0,9 ммоль, 1 экв.) в безводном MeOH (10 мл) в атмосфере аргона добавляли Pd/C (10,2 мг, 0,09 ммоль, 0,1 экв.), и аргон вытесняли водородом. Реакционную смесь перемешивали в течение 6 часов при комнатной температуре, фильтровали на целите и выпаривали с получением соединения L16b в виде масла (295,5 мг, 0,64 ммоль, 71%). Продукт использовали без дополнительной очистки. MS (ИЭР<sup>+</sup>) m/z 462,51 ([M+H]<sup>+</sup>).

#### Промежуточное соединение L16c

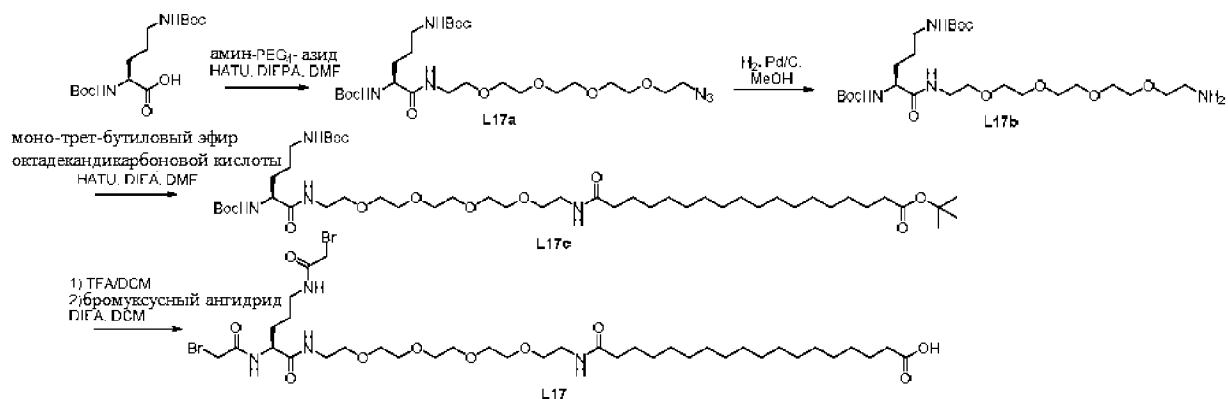
[0328] К раствору моно-трет-бутилового эфира октадекандикарбоновой кислоты (281 мг, 0,76 ммоль, 1 экв.), растворенного в DMF (5 мл), добавляли HATU (288 мг, 0,76 ммоль, 1 экв.), DIEA (132 мкл, 0,76 ммоль, 1 экв.) и соединение L16b (351 мг, 0,76 ммоль, 1 экв.), растворенное в 1 мл DMF. Реакционную смесь перемешивали в течение 3 часов при комнатной температуре. Продукт разбавляли EtOAc. Органический слой последовательно промывали раствором 1 М HCl, насыщенным раствором NaHCO<sub>3</sub> и концентрированным раствором NaCl, сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтровали и концентрировали. В результате очистки методом колоночной флэш-хроматографии на силикагеле получали желательное соединение L16c в виде масла (351 мг, 0,43 ммоль, 57%). ЯМР <sup>1</sup>H (400 МГц, метанол-d<sub>4</sub>) δ 3,61 (s, 4H), 3,54 (td, J = 5,6, 2,3 Гц, 4H), 3,40-3,34 (m, 4H), 3,04 (t, J = 6,6 Гц, 2H), 2,20 (td, J = 7,6, 5,9 Гц, 4H), 1,77-1,68 (m, 2H), 1,64-1,48 (m, 2H), 1,48-1,42 (m, 28H), 1,35-1,26 (m, 26H).

#### L16

[0329] Раствор соединения L16c (31 мг, 0,038 ммоль, 1 экв.) в DCM (2 мл) обрабатывали TFA (2 мл) в течение 30 минут. Смесь концентрировали, совместно выпаривали с гексаном, растворяли в 20 мл DCM и охлаждали до 0°C. Добавляли DIEA (27 мкл, 0,152 ммоль, 4 экв.), а затем бромуксусный ангидрид (21 мг, 0,078 ммоль, 2,05 экв.), растворенный в 1 мл DCM. Затем реакционную смесь перемешивали в течение 30 минут при 0°C и в течение 30 минут при комнатной температуре и удаляли растворитель. В результате очистки методом колоночной флэш-хроматографии на силикагеле получали

L16 в виде белого твердого вещества (12,6 мг, 0,015 ммоль, 41%). МС (ИЭР<sup>+</sup>) m/z 801,13 ([M+H]<sup>+</sup>), 803,12 ([M+H]<sup>+</sup>). ЯМР <sup>1</sup>H (400 МГц, метанол-d<sub>4</sub>) δ 4,37 (dd, J = 8,5, 5,4 Гц, 1H), 3,91 (q, J = 11,3 Гц, 2H), 3,84 (s, 2H), 3,63 (s, 4H), 3,57 (td, J = 5,6, 2,6 Гц, 4H), 3,43-3,36 (m, 4H), 3,31-3,17 (m, 1H), 2,29 (t, J = 7,4 Гц, 2H), 2,21 (t, J = 7,5 Гц, 2H), 1,90-1,79 (m, 1H), 1,76-1,54 (m, 7H), 1,41-1,30 (m, 26H).

### Пример 21. Синтез L17



#### Промежуточное соединение L17a

[0330] К раствору Boc-Orn(Boc)-OH (400 мг, 1,2 ммоль, 1 экв.), растворенного в DMF (10 мл), добавляли HATU (504 мг, 1,32 ммоль, 1,1 экв.), DIEA (230 мкл, 1,32 ммоль, 1,1 экв.) и амин-PEG<sub>2</sub>-N<sub>3</sub> (316 мг, 1,20 ммоль, 1 экв.), растворенные в 1 мл DMF. Реакционную смесь перемешивали в течение 4 часов при комнатной температуре. Продукт разбавляли EtOAc. Органический слой последовательно промывали раствором 1 М HCl, насыщенным раствором NaHCO<sub>3</sub> и концентрированным раствором NaCl, сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтровали и концентрировали. В результате очистки методом колоночной флэш-хроматографии на силикагеле получали желательное соединение L17a в виде масла (454 мг, 0,78 ммоль, 66%). ЯМР <sup>1</sup>H (400 МГц, метанол-d<sub>4</sub>) δ 4,04-3,97 (m, 1H), 3,71-3,58 (m, 14H), 3,54 (t, J = 5,4 Гц, 2H), 3,37 (t, J = 5,0 Гц, 4H), 3,04 (t, J = 6,6 Гц, 2H), 1,75-1,67 (m, 1H), 1,62-1,48 (m, 3H), 1,48-1,41 (m, 18H).

#### Промежуточное соединение L17b

[0331] К раствору соединения L17a (454 мг, 0,9 ммоль, 1 экв.) в безводном MeOH (10 мл) в атмосфере аргона добавляли Pd/C (8,3 мг, 0,078 ммоль, 0,1 экв.), и аргон вытесняли водородом. Реакционную смесь перемешивали в течение 6 часов при комнатной температуре, фильтровали на целите и выпаривали с получением соединения L17b в виде масла (192 мг, 0,35 ммоль, 45%). Продукт использовали без дополнительной очистки.

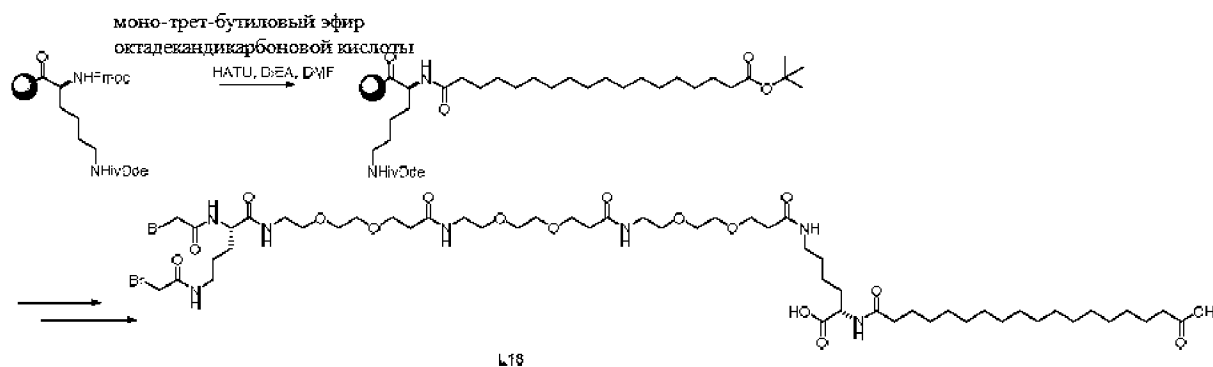
#### Промежуточное соединение L17c

[0332] К раствору моно-трет-бутилового эфира октадекандикарбоновой кислоты (225 мг, 0,61 ммоль, 1 экв.), растворенного в DMF (5 мл), добавляли HATU (231 мг, 0,61 ммоль, 1 экв.), DIEA (106 мкл, 0,61 ммоль, 1 экв.) и соединение L17b (335 мг, 0,61 ммоль, 1 экв.), растворенное в 1 мл DMF. Реакционную смесь перемешивали в течение 2 ч при комнатной температуре. Продукт разбавляли EtOAc. Органический слой последовательно промывали раствором 1 М HCl, насыщенным раствором NaHCO<sub>3</sub> и концентрированным раствором NaCl, сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтровали и концентрировали. В результате очистки методом колоночной флэш-хроматографии на силикагеле получали желательное соединение L17c в виде масла (178 мг, 0,20 ммоль, 32%). ЯМР <sup>1</sup>H (400 МГц, хлороформ-d) δ 5,32 (s, 2H), 3,74-3,63 (m, 11H), 3,59 (dt, J = 10,9, 5,0 Гц, 4H), 3,52-3,43 (m, 4H), 3,27-3,08 (m, 2H), 2,22 (d, J = 7,6 Гц, 4H), 1,69-1,52 (m, 6H), 1,51-1,42 (m, 27H), 1,27 (s, 26H).

### L17

[0333] Раствор соединения L17c (45,6 мг, 0,05 ммоль, 1 экв.) в DCM (2 мл) обрабатывали ТФУ (2 мл) в течение 30 мин. Смесь концентрировали, совместно выпаривали с гексаном, растворяли в 20 мл DCM и охлаждали до 0°C. Добавляли DIEA (36 мкл, 0,202 ммоль, 4 экв.), а затем бромуксусный ангидрид (27 мг, 0,103 ммоль, 2,05 экв.), растворенный в 1 мл DCM. Затем реакционную смесь перемешивали в течение 30 мин при 0°C и в течение 90 минут при комнатной температуре и удаляли растворитель. В результате очистки методом колоночной флэш-хроматографии на силикагеле получали L17 в виде белого твердого вещества (14,9 мг, 0,017 ммоль, 33%). МС (ИЭР<sup>+</sup>) m/z 889,18 ([M+H]<sup>+</sup>), 891,17 ([M+H]<sup>+</sup>) ЯМР <sup>1</sup>H (400 МГц, метанол-d<sub>4</sub>) δ 4,38 (dd, J = 8,3, 5,5 Гц, 1H), 3,92 (q, J = 11,3 Гц, 2H), 3,84 (s, 2H), 3,67-3,60 (m, 7H), 3,56 (td, J = 5,5, 3,5 Гц, 4H), 3,45-3,35 (m, 5H), 3,32-3,15 (m, 3H), 2,29 (t, J = 7,4 Гц, 2H), 2,21 (t, J = 7,5 Гц, 2H), 1,90-1,76 (m, 1H), 1,74-1,57 (m, 7H), 1,41-1,26 (m, 25H).

### Пример 22. Синтез L18



[0334] Общий протокол A, B, D (октадекандикарбоновая кислота), C, D (Fmoc-PEG<sub>2</sub>-пропионовая кислота), B, (Fmoc-PEG<sub>2</sub>-пропионовая кислота), B, (Fmoc-PEG<sub>2</sub>-пропионовая кислота), B, D (Fmoc-Orn(Fmoc)-OH), B, E, F.

[0335] Неочищенный продукт очищали полупрепаративной ВЭЖХ с масс-спектрометрическим детектором и получали продукт L18 в виде белого твердого вещества (47 мг, 0,036 ммоль, 10%). МС (ИЭР<sup>+</sup>) m/z 1276,39 ([M+H]<sup>+</sup>), 1278,37 ([M+H]<sup>+</sup>).

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

[0336] Пептиды растворяли в концентрации 2 мМ с 1,5 экв. бромацетилового сшивающего вещества в буферном растворе 1:3 (об./об.) MeCN/30 мМ NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub> (рН 8,5). Значение рН реакционной смеси повторно регулировали, добавляя гидроксид аммония, чтобы скорректировать снижение рН, вызванное противоионом пептида TFA. Добавляли дополнительное количество MeCN для особенно нерастворимых пептидов. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2-4 часов, затем подкисляли до рН 5 добавлением уксусной кислоты в капельном режиме. Полученный раствор лиофилизировали и очищали методом обращенно-фазовой ВЭЖХ.

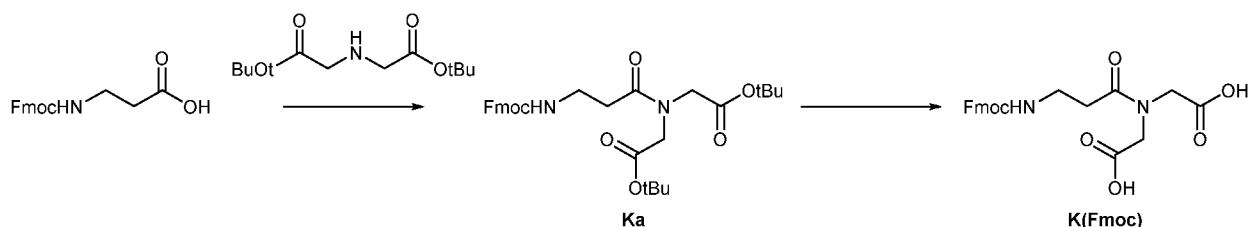
#### **Общие твердофазные протоколы лактамного сшивания**

[0337] Система пептид-смола, в которой в качестве ортогональной защиты боковой цепи амина в каждом положении сшивания присутствует группа 1-(4,4-диметил-2,6-диоксоциклогекс-1-илиден)этил/(4-метоксифенил)дифенилметил (Dde/Mmt), была подвергнута набуханию в DMF в течение 1 часа. Защитную группу Dde удаляли с первой боковой цепи обработкой 2% раствором гидразина в DMF (2 × 15 мин). Наблюдали положительный результат анализа TNBS. Указанный ниже структурный блок линкера связывали согласно описанию и наблюдали отрицательный результат анализа TNBS. Растворитель заменяли DCM, и группу Mmt удаляли со второй боковой цепи путем обработки (5 × 2 мин) раствором 1% TFA в DCM, содержащем 5% TIPS (триизопропилсилиловый эфир). Смолу промывали DCM, 10% DIEA в DMF, DMF и наблюдали положительный тест TNBS. Линкер подвергали циклизации, а участок PEG-жирная кислота сшивающего фрагмента (если применимо) удлиняли, как описано ниже. Полный сшитый пептид отделяли от смолы, используя 95% TFA, 2,5% TIPS, 2,5% H<sub>2</sub>O в течение 3 часов. Смесь для отделения пептидов упаривали до масла, растирали в порошок, промывали диэтиловым эфиром и очищали методом обращенно-фазовой ВЭЖХ.

В рамках этого подхода также может быть использована схема защиты Dde/Alloc, в которой требуется добавление аллилового спирта в смесь для снятия защиты Dde в качестве поглотителя в целях предотвращения одновременного восстановления аллильного фрагмента Alloc (аллиллоксикарбонил).

#### **Синтез линкера K(Fmoc)**





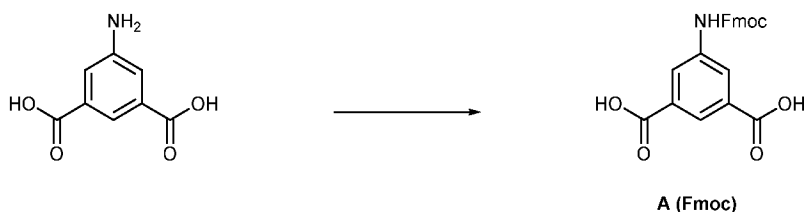
[0338] Промежуточное соединение Ка

[0339] Fmoc-β-Ala-OH (1,00 г, 3,21 ммоль) и ди-трет-бутилиминодиацетат (0,461 г, 2,68 ммоль) суспендировали в 100 мл DCM. Добавляли HATU (1,02 г, 2,68 ммоль) и DIEA (3,32 мл, 12,8 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3,5 часов. Растворитель выпаривали, а остаток растворяли в MeOH и очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии на силикагеле (гексан/EtOAc) с получением продукта в виде белого твердого вещества (0,802 г, 56%). ЯМР <sup>1</sup>H (400 МГц, хлороформ-d) δ 7,78 (d, J = 7,4 Гц, 2H), 7,62 (d, J = 7,4 Гц, 2H), 7,42 (t, J = 7,4 Гц, 2H), 7,33 (t, J = 7,4 Гц, 2H), 5,66 (t, J = 5,7 Гц, 1H), 4,35 (d, J = 7,3 Гц, 2H), 4,23 (t, J = 7,3 Гц, 1H), 4,10 (s, 2H), 4,02 (s, 2H), 3,56 (q, J = 5,7 Гц, 2H), 2,55 (t, J = 5,7 Гц, 2H), 1,49 (s, 18H).

Линкер К(Fmoc)

[0340] Соединение Ка обрабатывали 20 мл 1:1 TFA/DCM в течение 2 часов. Растворитель выпаривали, а остаток растирали и промывали диэтиловым эфиром с получением линкера К(Fmoc) в виде белого твердого вещества (0,371 г, 58%). МС (ИЭР<sup>+</sup>) m/z 427,15 ([M+H]<sup>+</sup>).

**Синтез линкера А(Fmoc)**



[0341] Раствор 5-аминоизофталевой кислоты (1,00 г, 5,5 ммоль) в 10 мл диоксана добавляли к дегазированному раствору Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (1,46 г, 5,5 ммоль) в 15 мл воды. Раствор охлаждали на льду и затем добавляли в капельном режиме раствор хлорида Fmoc (1,42 г, 5,5 ммоль) в 10 мл диоксана при перемешивании в течение 15 минут. После этого реакционную смесь перемешивали в течение 1 часа, а затем в течение 24 часов при комнатной температуре. Диоксан удаляли в вакууме, а оставшийся водный раствор подкисляли 1 М HCl. Затем полученный твердый осадок промывали диэтиловым эфиром (4×10 мл), повторно растворяли в EtOAc, фильтровали, промывали соляным раствором, сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтровали и концентрировали с получением линкера А (Fmoc) в виде белого твердого вещества (119 мг, 5%). ЯМР <sup>1</sup>H (500 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 13,24 (s, 2H),

10,12 (s, 1H), 8,33 (d, J = 1,5 Гц, 2H), 8,12 (t, J = 1,5 Гц, 1H), 7,91 (d, J = 7,6 Гц, 2H), 7,76 (dd, J = 7,6, 1,2 Гц, 2H), 7,43 (t, J = 7,6 Гц, 2H), 7,36 (td, J = 7,6, 1,2 Гц, 2H), 4,50 (d, J = 6,8 Гц, 2H), 4,33 (t, J = 6,8 Гц, 1H).

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

[0342] Для связывания линкера соответствующий структурный блок двухосновной кислоты (2 экв.) присоединяли с применением HATU (4 экв.) и DIEA (4 экв.) в DMF, 1×2 часа. Стадия циклизации была осуществлена с применением HATU (1 экв.) и DIEA (2 экв.) в DMF, 1 × 2 ч.

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

[0343] Для связывания линкера внутримолекулярный симметричный ангидрид структурного блока K(Fmoc) линкера (2 экв.) предварительно получали с применением DIC (2 экв.) и каталитического количества DMAP в сухом DCM в течение 10 минут при комнатной температуре. Растворитель системы пептид-смола заменяли DCM, затем добавляли ангидрид и перемешивали в течение ночи. Смолу сушили, промывали DCM и DMF. Линкер подвергали циклизации в течение ночи путем обработки DIC (1 экв.) и HOBT или HOAt (1 экв.) в DMF, и наблюдали отрицательный результат анализа TNBS. Оставшийся нециклизованный линкер блокировали обработкой 10% уксусным ангидридом в DMF (30 мин). Группа линкера Fmoc была лишена защиты путем обработки 20% пиперидином в DMF (2 × 10 мин). Наблюдали положительный результат анализа TNBS. Затем сшивающие структурные блоки PEG и жирных кислот были последовательно присоединены к амину, не содержащему линкер, с помощью стандартной процедуры химического сшивания: структурный блок (3 экв.), HATU (3 экв.) и DIEA (6 экв.) в DMF в течение 1 часа при комнатной температуре с применением 20% пиперидина в DMF для циклов снятия защиты (5 + 10 минут при комнатной температуре).

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

[0344] Для связывания линкера линкер структурного блока A(Fmoc) (2 экв.) присоединяли с применением HATU (4 экв.) и DIEA (4 экв.) в DMF (1×2 часа). Стадия циклизации была достигнута с применением HATU (1 экв.) и DIEA (2 экв.) в DMF (1 × 2 часа). Оставшийся нециклизованный линкер блокировали посредством обработки 10% уксусным ангидридом в DMF (30 минут). Линкерную защитную группу Fmoc удаляли посредством обработки 20% пиперидином в DMF (2 × 10 минут). Оказалось невозможным Не удалось наблюдать положительный результат анализа TNBS для анилинового азота.

Фmoc-β-Ala-OH (3 экв.) связывали с применением HATU (3 экв.) и DIEA (6 экв.) в DMF (4 × 1 час при комнатной температуре) или в виде симметричного ангидрида с применением DIC/DMAP в DCM (2 часа при комнатной температуре). Последующие сшивающие структурные блоки PEG и жирных кислот были последовательно присоединены к амину, не содержащему линкер, с помощью стандартной процедуры химического сшивания: структурный блок (3 экв.), HATU (3 экв.) и DIEA (6 экв.) в DMF в течение 1 часа при комнатной температуре с применением 20% пиперидин в DMF для циклов снятия защиты (5 + 10 минут при комнатной температуре).

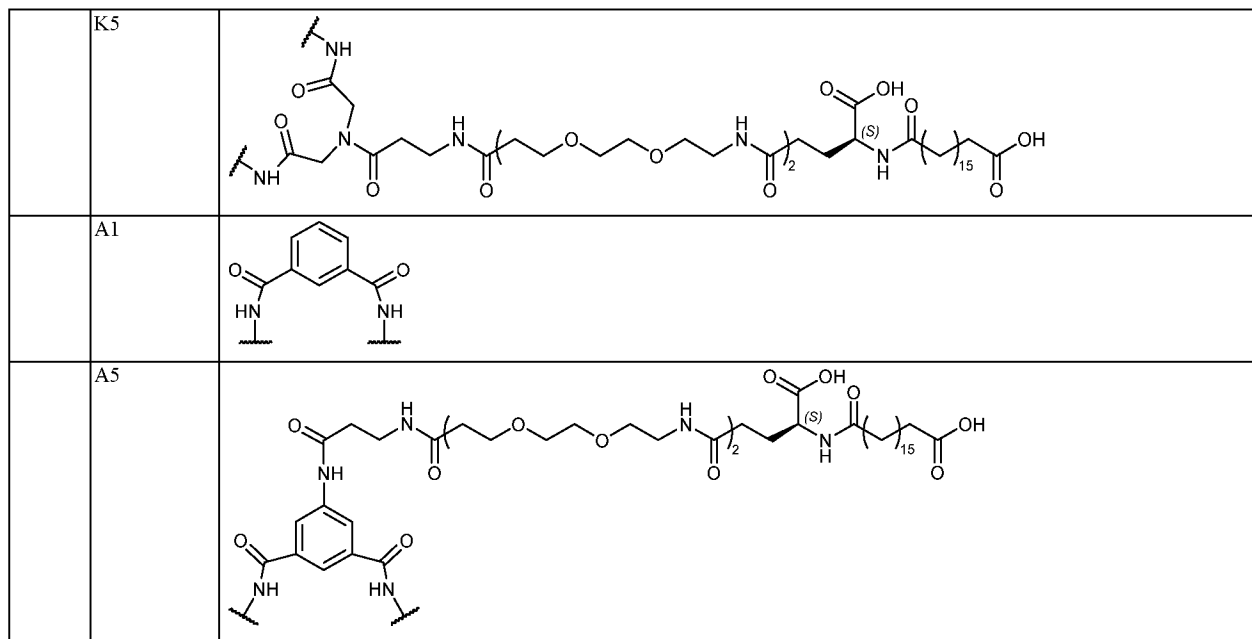
[0345] Согласно некоторым вариантам осуществления пептидный конъюгат, описанный в настоящем документе, содержит сшивающий фрагмент, представленный в таблице 2.

Таблица 2

Пример	Обозначение	Структура
1	L1	
2	L1B	
3	L1C	
4	L1D	
5	L1E	
6	L1F	
7	L1G	
8	L3	
9	L4	

10	L4A	
11	L5	
12	L5A	
	C20L5A	
13	L6	
14	L7	
15	L8	
16	L9	
17	L12	

	L13	
18	L14	
19	L15	
20	L16	
21	L17	
22	L18	
	K1	
	K1C	
	K1F	
	K1H	
	K3	
	K4	



[0346] « $\lambda$ -S» представляет собой часть остатка цистеина, гомоцистеина, 2-амино-5-меркаптопентановой кислоты или 2-амино-6-меркаптогексановой кислоты, и « $\lambda$ -NH» представляет собой часть остатка лизина, орнитина, диаминомасляной кислоты, диаминопропионовой кислоты или гомолизина.

[0347] Согласно некоторым вариантам осуществления пептидный конъюгат, описанный в настоящем документе, является таким, как представлено в таблице 3.

Таблица 3. Пептидные конъюгаты

Конъюгат	Последовательность	Положение конъюгации	Сшивающий фрагмент / НЕМ
1	GLP2-2G-1-EX4 (SEQ ID NO. 1)	17, 24	L5A
2	GLP2-2G-10Nle-1-EX4 (SEQ ID NO. 2)	17, 24	L5A
3	GLP2-2G-10L-1-EX4 (SEQ ID NO. 3)	17, 24	L5A
4	GLP2-2G-10I-1-EX4 (SEQ ID NO. 4)	17, 24	L5A
5	GLP2-2G-10Aib-1-EX4 (SEQ ID NO. 5)	17, 24	L5A
6	GLP2-2G-10Nva-1-EX4 (SEQ ID NO. 6)	17, 24	L5A
7	GLP2-2G-10V-1-EX4 (SEQ ID NO. 7)	17, 24	L5A
8	GLP2-2G-5-EX4 (SEQ ID NO. 8)	9, 16	L5A
9	GLP2-2G-5-EX4 (SEQ ID NO. 8)	9, 16	L4A
10	GLP2-2G-6-EX4 (SEQ ID NO. 9)	11, 18	L5A
11	GLP2-2G-10Nle-1K-EX4 (SEQ ID NO. 10)	17, 24	K5
12	GLP2-2G-10Nle-11f-1K-EX4 (SEQ ID NO. 11)	17, 24	K5
13	GLP2-2G-10Nle-12S-13L-1K-EX4 (SEQ ID NO. 12)	17, 24	K5
14	GLP2-2G-10Nle-13A-14Nle-1K-EX4 (SEQ ID NO. 13)	17, 24	K5
15	GLP2-2G-10Nle-13Nle-14Nle-1K-EX4 (SEQ ID NO. 14)	17, 24	K5
16	GLP2-2G-10Nle-11A-13A-14Nle-16A-1K-EX4 (SEQ ID NO. 15)	17, 24	K5
17	GLP2-2G-1K-EX4 (SEQ ID NO. 16)	17, 24	K5
18	GLP2-2G-11f-1K-EX4 (SEQ ID NO. 17)	17, 24	K5
19	GLP2-2G-1K-EX4 (SEQ ID NO. 16)	17, 24	K1
20	GLP2-2G-1K-EX4 (SEQ ID NO. 16)	17, 24	A1
21	GLP2-2G-1K-EX4 (SEQ ID NO. 16)	17, 24	K1F
22	GLP2-2G-1K-EX4 (SEQ ID NO. 16)	17, 24	K1H

23	GLP2-2G-5K-EX4 (SEQ ID NO. 18)	9, 16	K5
24	GLP2-2G-10Nle-5K-EX4 (SEQ ID NO. 19)	9, 16	K5
25	GLP2-2G-1Orn-EX4 (SEQ ID NO. 20)	17, 24	K5
26	HGDGSFSDEMNTILDNCAARDFICWLIQTKITD (SEQ ID NO. 21)	17, 24	L5A
27	HGDGSFSDE(Nle)NTILDNCAARDFICWLIQTKITD (SEQ ID NO. 22)	17, 24	L5A
28	HGDGSFSDELNTILDNCAARDFICWLIQTKITD (SEQ ID NO. 23)	17, 24	L5A
29	HGDGSFSDEINTILDNCAARDFICWLIQTKITD (SEQ ID NO. 24)	17, 24	L5A
30	HGDGSFSDE(Aib)NTILDNCAARDFICWLIQTKITD (SEQ ID NO. 25)	17, 24	L5A
31	HGDGSFSDE(Nva)NTILDNCAARDFICWLIQTKITD (SEQ ID NO. 26)	17, 24	L5A
32	HGDGSFSDEVNTILDNCAARDFICWLIQTKITD (SEQ ID NO. 27)	17, 24	L5A
33	HGDGSFSDCMNTILDCLAARDFINWLIQTKITD (SEQ ID NO. 28)	9, 16	L5A
34	HGDGSFSDCMNTILDCLAARDFINWLIQTKITD (SEQ ID NO. 28)	9, 16	L4A
35	HGDGSFSDEMCTILDNLCARDFINWLIQTKITD (SEQ ID NO. 29)	11, 18	L5A
36	HGDGSFSDE(Nle)NTILDNKAARDFIKWLIQTKITD (SEQ ID NO. 30)	17, 24	K5
37	HGDGSFSDE(Nle)(D-Phe)TILDNKAARDFIKWLIQTKITD (SEQ ID NO. 31)	17, 24	K5
38	HGDGSFSDE(Nle)NSLLDNKAARDFIKWLIQTKITD (SEQ ID NO. 32)	17, 24	K5
39	HGDGSFSDE(Nle)NTA(Nle)DNKAARDFIKWLIQTKITD (SEQ ID NO. 33)	17, 24	K5
40	HGDGSFSDE(Nle)NT(Nle)(Nle)DNKAARDFIKWLIQTKITD (SEQ ID NO. 34)	17, 24	K5
41	HGDGSFSDE(Nle)ATA(Nle)DAKAARDFIKWLIQTKITD (SEQ ID NO. 35)	17, 24	K5
42	HGDGSFSDEMNTILDNKAARDFIKWLIQTKITD (SEQ ID NO. 36)	17, 24	K5
43	HGDGSFSDEM(D-Phe)TILDNKAARDFIKWLIQTKITD (SEQ ID NO. 37)	17, 24	K5
44	HGDGSFSDEMNTILDNKAARDFIKWLIQTKITD (SEQ ID NO. 36)	17, 24	K1
45	HGDGSFSDEMNTILDNKAARDFIKWLIQTKITD (SEQ ID NO. 36)	17, 24	A1
46	HGDGSFSDEMNTILDNKAARDFIKWLIQTKITD (SEQ ID NO. 36)	17, 24	K1F
47	HGDGSFSDEMNTILDNKAARDFIKWLIQTKITD (SEQ ID NO. 36)	17, 24	K1H
48	HGDGSFSDKMNTILDKLAARDFINWLIQTKITD (SEQ ID NO. 38)	9, 16	K5
49	HGDGSFSDK(Nle)NTILDKLAARDFINWLIQTKITD (SEQ ID NO. 39)	9, 16	K5
50	HGDGSFSDEMNTILDN(Orn)AARDFI(Orn)WLIQTKITD (SEQ ID NO. 40)	17, 24	K5

**Пример А. Репортерный анализ активации рецептора в лабораторных условиях (опосредованный рецептором синтез циклического аденозинмонофосфата (сАМР))**

[0348] Пептидную активность и эффективность в отношении активации GLP-2R определяли с применением устойчивой линии клеток НЕК293, сверхэкспрессирующих люциферазный репортер, управляемый сАМР-чувствительным элементом, и GLP-2R человека в присутствии 10% FBS. GLP2-2G (тедуглутид) использовали в качестве положительного контроля.

[0349] Клетки НЕК293-GLP-1R-CRE высевали в 384-луночные планшеты с плотностью 5000 клеток на лунку и культивировали в течение 18 часов в DMEM (среда Игла, модифицированная по способу Дульбекко) с 10% FBS при температуре 37°C в атмосфере 5% CO<sub>2</sub>. Клетки обрабатывали пептидами в зависимости от дозы в течение 16 часов, и активацию рецепторов определяли по интенсивности люминесценции с применением реагента люциферазы One-Glo от компании Promega (Мэдисон, штат Висконсин, США) в соответствии с инструкциями производителя. Значение EC<sub>50</sub> каждого пептида определяли с применением программного обеспечения GraphPad Prism 6 от

компании GraphPad (Сан-Диего, штат Калифорния, США). Анализ осуществляли в трех экземплярах, и результаты получали в трех независимых экспериментах. Результаты представлены ниже в таблице 4.

Таблица 4

Конъюгат	GLP-2R - cAMP 0% FBS, нМ	GLP-2R - cAMP 10% FBS, нМ
1	0,92	20,95
2	0,44	-
3	0,87	-
5	8,71	-
6	5,74	-
7	1,45	-
8	2,44	44,84
10	2,09	102,1
11	0,64	1,57
12	2,13	-
13	3,782	-
14	2,683	-
15	1,989	-
16	1,334	-
17	1,07	-
18	1,41	-
19	0,15	-
20	0,09	-
21	0,14	-
22	0,23	-
23	1,25	-
24	8,36	-
25	2,11	-

**Пример В. Фармакокинетика (период полураспада) пептидов у мышей**

[0350] Для определения периодов полураспада агонистов GLP-2 в условиях организма проводили фармакокинетические исследования путем внутривенной или подкожной инъекции пептидов в дозе 10 нмоль/кг самкам мышей CD1 (n = 4 на группу). Уровни пептидов в плазме в различные моменты времени (5 минут, 30 минут, 1 час, 3 часа, 7 часов и 24 часа) определяли с применением репортерного анализа на основе



опосредованной GLP-2R клеточной реакции в лабораторных условиях. Расчетные конечные периоды полураспада после внутривенного или подкожного введения представлены ниже в таблице.

[0351] Вкратце, самок мышей CD-1 (n = 4 на группу) из Charles River Laboratory не кормили в течение ночи и вводили 100 мкл каждого пептида в фосфатно-солевом буферном растворе внутривенным или подкожным способом. Пищу давали мышам через 30 минут после сбора крови. Кровь собирали в пробирки с гепарином и центрифугировали при ускорении 3000 g в течение 15 минут. Полученную супернатантную плазму затем хранили при температуре -80°C для определения концентрации пептида. Концентрации пептидов в плазме в каждый момент времени определяли анализом активности клеток в лабораторных условиях. Клетки HEK293-GLP-1R-CRE обрабатывали образцами плазмы в различные моменты времени (зависимая от дозы эффективность по 5 точкам при разведении от 1:10 до 1:100 каждого образца плазмы) и инкубировали в течение 16 часов в DMEM с 10% FBS при температуре 37°C в атмосфере 5% CO<sub>2</sub>, после чего измеряли активность люциферазы светлячка. При этом такие же пептиды использовали, чтобы получать стандартные кривые и параметры для нижнего и верхнего значений, EC<sub>50</sub> и угловой коэффициент Хилла. Относительную световую единицу (RLU) для каждого образца плазмы использовали в целях вычисления концентрации пептида в плазме (нмоль/л) с применением параметров, полученных из стандартной кривой ( $RLU = \text{нижнее значение} + (\text{верхнее значение} - \text{нижнее значение}) / (1 + 10^{(\text{LogEC}_{50} - \text{конц.}) \times \text{угловой коэффициент Хилла}})$ ). Концентрации пептидов в плазме получали и наносили на график в зависимости от моментов времени для получения периода полураспада в условиях организма каждого пептида с применением программного обеспечения WinNonLin Phoenix от компании Pharsight Corp. (Сент-Луис, штат Миссури, США).

Таблица 5

Конъюгат	Мышь T <sub>1/2</sub> , ч	Мышь CL, (мл/ч/кг)	Яванский макак T <sub>1/2</sub> , ч	Яванский макак CL / (мл/ч/кг)
1	9,81 ± 0,94	9,47 ± 3,09	71,9 ± 7,02	0,66 ± 0,04
2	6,6 ± 0,26	68,4 ± 10,2	49,8 ± 4,72	1,39 ± 0,27
8	11,18 ± 1,96	6,43 ± 0,39	-	-
11	8,59 ± 0,45	6,06 ± 1,8	-	-
17	8,53 ± 0,044	14,4 ± 2,03	-	-

**Пример С. Эффективность длительно действующих агонистов GLP2R в отношении GLP2R человека в лабораторных условиях**

[0352] В этом примере оценивали активность GLP2 пролонгированного действия в отношении GLP2R. Уменьшение соотношения флуоресценции при 665 нм и 615 нм указывало на увеличение свободного сАМР вследствие повышенной активности GLP2R.

[0353] GLP2-2G (тедуглутид) использовали в качестве положительного контроля. По мере увеличения концентрации тедуглутида соотношение флуоресценции при 665 нм и 615 нм уменьшалось, что указывает на повышение активности GLP2R, как проиллюстрировано на фиг. 1А. Изменение концентрации GLP2-2G-10Nle-1K-EX4-K5, GLP2-2G-1-EX4-L5A и GLP2-2G-10Nle-1-EX4-L5A приводило к близким уровням активности по сравнению с тедуглутидом. На основании этих данных рассчитывали значения  $IC_{50}$ , которые представлены в таблице 6. Когда в анализируемый образец добавляли 10% эмбриональной бычьей сыворотки, наклон кривой для тедуглутида становился больше, чем в случае кривых длительно действующих агонистов GP2R, как проиллюстрировано на фиг. 1В. Полученные значения  $IC_{50}$  были выше для всех трех агонистов GLP2R длительного действия, как представлено в таблице 6.

Таблица 6. Значения  $IC_{50}$  длительно действующих агонистов GLP2R

	$IC_{50}$ [нМ] (отсутствие сыворотки)		$IC_{50}$ [нМ] (присутствие сыворотки)	
	Среднее значение	Среднеквадратическое отклонение	Среднее значение	Среднеквадратическое отклонение
Тедуглутид	0,23	0,03	0,14	0,06
GLP2-2G-10Nle-1K-EX4-K5	0,67	0,24	5,12	1,16
GLP2-2G-1-EX4-L5A	1,18	0,31	8,46	2,53
GLP2-2G-10Nle-EX4-L5A	1,25	0,28	7,9	2,09

**Пример D. Эффективность длительно действующих агонистов GLP2R в отношении GLP2R мыши в лабораторных условиях**

[0354] При определении активности агонистов GLP2R длительного действия в отношении GLP2R мыши уменьшение соотношения флуоресценции при 665 нм и 615 нм указывало на увеличение свободного сАМР вследствие повышенной активности GLP2R.

[0355] График соотношения флуоресценции при 665 нм и 615 нм строили в зависимости от концентрации молекулы, как проиллюстрировано на фиг. 2, и эти данные использовали для расчета значений  $IC_{50}$ , представленных в таблице 7. Тедуглутид (GLP2-2G) и апраглутид (синтетический аналог GLP-2) использовали в качестве положительного контроля. Было обнаружено, что значения  $IC_{50}$  для длительно действующих агонистов GLP2R находятся в таких же пределах, как соответствующие значения для тедуглутида и апраглутида, и это указывает на то, что длительно действующие агонисты GLP2R являются относительно сильными агонистами GLP2R мыши.

Таблица 7. Значения  $IC_{50}$  длительно действующих агонистов GLP2R в отношении GLP2R мыши

mGLP-2R	$IC_{50}$ [нМ]
Тедуглутид	0,07
GLP2-2G-10Nle-1K-EX4-K5	0,19
GLP2-2G-1-EX4-L5A	0,21
GLP2-2G-10Nle-1-EX4-L5A	0,30
Апраглутид	0,04

**Пример Е. Эффективность длительно действующих агонистов GLP2R в отношении GLP2R яванского макака в лабораторных условиях**

[0356] Для определения эффективности длительно действующих агонистов GLP2R в отношении GLP2R яванского макака строили график зависимости соотношения флуоресценции при 665 нм и 615 нм от концентрации в нМ, как проиллюстрировано на фиг. 3. Для определения эффективности длительно действующих агонистов GLP2R в отношении GLP2R яванского макака значения  $EC_{50}$  вычисляли, используя данные на фиг. 3, и соответствующие значения представлены в таблице 8. Значение  $EC_{50}$  для длительно действующих агонистов GLP2R находилось в диапазоне от 0,119 нМ до 0,156 нМ, и это указывает на то, что длительно действующие агонисты GLP2R являются относительно сильными агонистами в отношении GLP2R яванского макака.

Таблица 8. Значения  $EC_{50}$  для яванского макака

	$EC_{50}$ [нМ]
Тедуглутид	0,009
GLP2-2G-1-EX4-L5A	0,147
GLP2-2G-10Nle-1K-EX4-K5	0,119
GLP2-2G-10Nle-1-EX4-L5A	0,156

**Пример F. Длительно действующие агонисты GLP2R проявляли высокую селективность в отношении GLP2R по сравнению с другими сопряженными с G-белком рецепторами**

[0357] В этом примере оценивали влияние стабилизированных агонистов GLP2R на другие сопряженные с G-белком с рецепторы (GPCR).

[0358] Уменьшение соотношения флуоресценции при 665 нм и 615 нм показывало увеличение концентрации свободного cAMP вследствие увеличения активности GLP2R.

[0359] Ни GLP2, ни какая-либо из исследованных стабилизированных молекул (GLP2-2G-10Nle-1K-EX4-K5 или GLP2-2G-10Nle-1-L5A) не вызывали каких-либо значительных изменений уровней активности GLP-1R по сравнению с изменением,

вызываемом различными концентрациями семаглутида, агониста GLP-1R, как проиллюстрировано на фиг. 4А. При вычислении значений  $IC_{50}$ , которые представлены в таблице 9, эти значения были чрезвычайно высокими по сравнению с семаглутидом в качестве положительного контроля. Это указывало на то, что для активации GLP-1R требовались чрезвычайно высокие концентрации GLP2 и длительно действующих агонистов GLP2R.

Таблица 9. Значения  $IC_{50}$  стабилизированных агонистов GLP2R в отношении других GPCR

Молекула	$IC_{50}$ [нМ]		
	GLP-1R	GCGR	GIPR
Семаглутид	0,07	-	-
Глюкагон	-	0,04	-
GIP	-	-	0,02
GLP-2	>500	>500	>500
GLP2-2G-10Nle-1K-EX4-K5	243,30	>500	>500
GLP2-2G-10Nle-1-L5A	>500	>500	>500

[0360] Длительно действующие агонисты GLP2R не приводили к изменению уровней активности GCGR в диапазоне концентраций от  $10^{-2}$  до  $10^2$  нМ, как проиллюстрировано на фиг. 4В. Однако повышение концентрации глюкагона повлияло на уровень активности GCGR. В то время как глюкагон имел значение  $IC_{50}$ , составляющее 0,04, которое указывает на то, что он влияет на уровни активности GCGR при более низких концентрациях, значения  $IC_{50}$  для GLP2 и длительно действующих агонистов GLP2R превышали 500, как представлено в таблице 9.

[0361] Длительно действующие агонисты GLP2R также не приводили к изменению уровней активности GIPR в диапазоне концентраций от  $10^{-2}$  до  $10^2$  нМ, как проиллюстрировано на фиг. 4С. Однако повышение концентрации GIP повлияло на уровень активности GIPR. Были вычислены значения  $IC_{50}$ , которые представлены в таблице 9. GIP проявлял значение  $IC_{50}$ , составляющее 0,04, и это указывает на то, что он был относительно эффективен в воздействии на уровни активности GIPR; однако значения  $IC_{50}$  для GLP2 и длительно действующих агонистов GLP2R превышали 500.

[0362] Кроме того, GLP2-2G-1-EX4-L5A и GLP2-2G-10Nle-1K-EX4-K5 были профилированы относительно панели gpcrMAX компанией DiscoverRx. Были исследованы 168 мишеней GPCR с первичной проверкой агонистов и антагонистов. Анализы проводили с применением технологии комплементации фрагментов фермента бета-аррестина PathHunter (EFC). В режиме агониста не было идентифицировано ни одной

мишени с активностью выше 30%, за исключением GLP2. В режиме антагониста: мишени не были идентифицированы с ингибированием выше 35%.

**Пример G. Устойчивость длительно действующих агонистов GLP2R при различных температурах**

[0363] В этом примере оценивали устойчивость стабилизированных агонистов GLP2R при различных температурах в течение продолжительных периодов времени.

[0364] GLP2-2G-1-EX4-L5A (GLP2-L5A) и GLP2-2G-10Nle-1K-EX4-L5A (GLP2-K5) проявляют устойчивость при 4°C в течение 4 суток, как проиллюстрировано на фиг. 5A. При температуре 25°C наблюдали окисление 3% GLP2-2G-1-EX4-L5A, в то время как GLP2-2G-10Nle-1K-EX4-K5 оставался обоснованно неизменным в течение 4 суток, как проиллюстрировано на фиг. 5B. При температуре 37°C наблюдали окисление 11% GLP2-2G-1-EX4-L5A и увеличение примеси +12 Да на 4% в день 2. GLP2-2G-10Nle-1K-EX4-K5 проявлял более высокое процентное сохранение пептида в течение 4 суток, чем GLP2-2G-1-EX4-L5A, как проиллюстрировано на фиг. 5C. При температуре 70°C (принудительное разложение) присутствовали многочисленные рацемизированные продукты для обоих пептидов. Как для GLP2-2G-1-EX4-L5A, так и для GLP2-2G-10Nle-1K-EX4-K5 через 4 суток при температуре 70°C процентное сохранение пептидов составляло менее чем 50%, как проиллюстрировано на фиг. 5D.

**Пример H. Устойчивость длительно действующих агонистов GLP2R в различных растворах**

[0365] Устойчивость соединений в различных растворах в 0 часов измеряли, как представлено в таблице 10. Как для GLP2-2G-1-EX4-L5A, так и для GLP2-2G-10Nle-1-EX4-L5A целевое соединение не было обнаружено через 24 часа. Для GLP2-2G-10Nle-1K-EX4-K5 наблюдали хорошую защиту в группе глутатиона через 24 часа. В целом это показало, что наиболее устойчивый пептид представлял собой GLP2-2G-10Nle-1-EX4-L5A, а наименее устойчивый пептид представлял собой GLP2-2G-1-EX4-L5A.

Таблица 10. Устойчивость соединений в различных растворах в 0 часов

Условия	GLP2-2G-1-EX4-L5A	GLP2-2G-10Nle-1-EX4-L5A	GLP2-2G-10Nle-1K-EX4-K5
Пептид в PBS	Высокая чистота	Высокая чистота	Высокая чистота
+ 3% H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	100% разложение пептида	100% разложение пептида	100% разложение пептида
+ 3% H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + 10 мМ метионин	Отсутствие защиты (100% разложение пептида)	Отсутствие защиты (100% разложение пептида)	38% разложение пептида
+ 3% H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + 100 мМ метионин	Отсутствие защиты (100% разложение пептида)	Хорошая защита – отсутствие признаков разложения	Хорошая защита – отсутствие признаков разложения
+ 3% H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + 10 мМ глутатиона	92% окисление метионина – проблема растворимости	Хорошая защита – отсутствие признаков разложения	Хорошая защита – отсутствие признаков разложения
+ 3% H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + 100 мМ глутатиона	92% окисление метионина	Хорошая защита – незначительное разложение	Хорошая защита – незначительное разложение

+ 3% H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + 0,27% м-крезол	Отсутствие защиты (100% разложение пептида)	Отсутствие защиты (100% разложение пептида)	Отсутствие защиты (100% разложение пептида)
+ 3% H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + 1,2 мг/мл метабисульфита натрия	92% окисление метионина	Хорошая защита незначительное разложение	Хорошая защита незначительное разложение

**Пример Е. Долгосрочная устойчивость простотиоэфирных пептидов в жидкой и твердой формах**

[0366] В этом примере была исследована долгосрочная устойчивость простотиоэфирных пептидов

[0367] Устойчивость простотиоэфирных пептидов измеряли в отношении окисления влажным воздухом. Окисление метионина наблюдали для GLP2-2G-1-EX4-L5A через 10 суток, при этом наблюдали разложение на 16%. GLP2-2G-10Nle-1-EX4-L5A оказался более устойчивым к окислению влажным воздухом. Это указывало на то, что простотиоэфирный мостик был устойчив к окислению в течение не менее 10 суток.

[0368] Порошок хранили при 4°C в виде соли HCl. Признаки окисления метионина отсутствовали в случае GLP2-2G-1-EX4-L5A (GLP2-L5A) в течение 4 месяцев. Точно так же отсутствовали признаки окисления в случае GLP2-2G-1-EX4-L5A (GLP2-L5A) в течение 7 месяцев.

**Пример F. Устойчивость длительно действующих агонистов GLP2R при различных значениях pH**

[0369] Устойчивость пептидов измеряли в диапазоне значений pH и температуры.

[0370] При pH 3,3 и комнатной температуре GLP2-2G-1-EX4-L5A (GLP2-L5A) проявлял 100% устойчивость в течение 4 суток. GLP2-2G-10Nle-1K-EX4-K5 также проявлял устойчивость, причем пептиды сохранялись на 95% в течение 5 суток, как проиллюстрировано на фиг. 6A. GLP2-2G-10Nle-1K-EX4-K5 и GLP2-2G-1-EX4-L5A (GLP2-L5A) оказались менее устойчивыми при pH 3,3 и температуре 37°C, чем при комнатной температуре, как проиллюстрировано на фиг. 6B. При температуре 37°C GLP2-2G-10Nle-1K-EX4-K5 и GLP2-2G-1-EX4-L5A (GLP2-L5A) подвергались значительному гидролизу при pH 3,4 (-18 Да и -775 Да). Кроме того, GLP2-2G-1-EX4-L5A (GLP2-L5A) оказался нерастворимым при pH 4,6.

[0371] Как GLP2-2G-10Nle-1K-EX4-K5, так и GLP2-2G-1-EX4-L5A (GLP2-L5A) проявлял 100% устойчивость в течение 4 суток при pH 7,5 и комнатной температуре, как проиллюстрировано на фиг. 6C. При температуре 37°C GLP2-2G-10Nle-1K-EX4-K5 претерпевал 1% разложение, и L5A претерпевал 1% разложение, как проиллюстрировано на фиг. 6D. Как GLP2-2G-10Nle-1K-EX4-K5, так и GLP2-2G-1-EX4-L5A (GLP2-L5A) проявлял 100% устойчивость в течение 4 суток при pH 8,9 и комнатной температуре, как проиллюстрировано на фиг. 6E. При температуре 37°C и pH 8,9 GLP2-2G-10Nle-1K-EX4-

К5 претерпевал 1% разложение, и GLP2-2G-1-EX4-L5A (GLP2-L5A) претерпевал 1% разложение, как проиллюстрировано на фиг. 6F.

**Пример G. Устойчивость длительно действующих агонистов GLP2R в гепатоцитах**

[0372] Устойчивость в гепатоцитах длительно действующих агонистов GLP2R измеряли с течением времени. В случае GLP2-2G-1-EX4-L5A значения как для мыши, так и для яванского макака незначительно превышали 100% через 120 минут, как проиллюстрировано на фиг. 7A. Однако как для GLP2-2G-10Nle-1-EX4-L5A, так и GLP2-2G-10Nle-1K-EX4-K5, несмотря на то, что значения в случае мыши увеличились до уровня, несколько превышающего 100%, значения в случае яванского макака уменьшались до приблизительно 60% через 120 минут, как проиллюстрировано на фиг. 7B-7C.

[0373] Значения биологических периодов полуразложения ( $T_{1/2}$ ) и собственного клиренса ( $CL_{int}$ ) были вычислены для каждого пептида на основании данных, которые представлены в таблице 11. GLP2-2G-1-EX4-L5A проявлял наибольший период полуразложения и наименьший собственный клиренс как для гепатоцитов, так и для печени. GLP2-2G-10Nle-1-EX4-L5A проявлял наименьший период полуразложения, и GLP2-2G-10Nle-1-EX4-L5A проявлял наибольшие значения  $CL_{int}$  как для гепатоцитов, так и для печени.

Таблица 11. Значения периода полуразложения и собственного клиренса в гепатоцитах

Пептид	$T_{1/2}$ (минут)	$CL_{int}$ (гепатоциты) (мкл/мин/ $10^6$ )	$CL_{int}$ (печень) (мл/мин/кг)
GLP2-2G-1-EX4-L5A	>289	<4,8	<57
GLP2-2G-10Nle-1-EX4-L5A	153	9,1	107,6
GLP2-2G-10Nle-1K-EX4-K5	178	7,8	92,7

**Пример H. GLP2-2G-1-EX4-L5A проявлял увеличенный период полуразложения в случае мыши в условиях организма**

[0374] Самцам мышей C57BL/6 вводили GLP2-2G-1-EX4-L5A в дозе 1,5 мг/кг в виде прозрачного раствора в PBS (pH 7,5), и концентрацию агонистов в плазме наблюдали в течение 96 часов, как проиллюстрировано на фиг. 8. Концентрацию в плазме анализировали методом ЖХ-МС с нижним пределом количественного определения, составляющим 20 нг/мл. Эти значения также использовали для расчета других фармакокинетических свойств этого соединения в случае мышей, как для введения лекарственного средства посредством внутривенной инъекции, так и для подкожной

инъекции, как представлено в таблице 12. Наблюдали продолжительный период полураспада в условиях организма, составлявший около 8,4 часов, аналогичный к восьмичасовому периоду полураспада семаглутида для грызунов.

Таблица 12. Фармакокинетика GLP2-Met-L5A для мышей

Фармакокинетические параметры	Среднее значение при внутривенном введении	Фармакокинетические параметры	Среднее значение при подкожном введении
C <sub>0</sub> (нг/мл)	28956	C <sub>max</sub> (нг/мл)	12933
T <sub>1/2</sub> (час)	8,37	T <sub>max</sub> (час)	7,00
V <sub>dss</sub> (л/кг)	0,0966	T <sub>1/2</sub> (час)	11,0
Cl (мл/мин/кг)	0,152	T <sub>last</sub> (час)	96,0
T <sub>last</sub> (час)	72,0	AUC <sub>0-last</sub> (нг·ч/мл)	183645
AUC <sub>0-last</sub> (нг·ч/мл)	164199	AUC <sub>0-inf</sub> (нг·ч/мл)	184007
AUC <sub>0-inf</sub> (нг·ч/мл)	164585	MRT <sub>0-last</sub> (час)	13,7
MRT <sub>0-last</sub> (час)	10,4	MRT <sub>0-inf</sub> (час)	13,9
MRT <sub>0-inf</sub> (час)	10,6	AUC <sub>Extra</sub> (%)	0,197
AUC <sub>Extra</sub> (%)	0,235	AUMC <sub>Extra</sub> (%)	1,59
AUMC <sub>Extra</sub> (%)	1,86	Биодоступность (%) <sup>a</sup>	112

**Пример I. GLP2-2G-1-EX4-L5A проявлял увеличенный период полураспада в случае яванского макака в условиях организма**

[0375] Самцам яванских макаков вводили GLP2-2G-1-EX4-L5A в дозе 1,0 мг/кг в виде прозрачного раствора в PBS (pH 7,5), и концентрацию агонистов в плазме наблюдали в течение 504 часов, как проиллюстрировано на фиг. 9 Фармакокинетические свойства GLP2-2G-1-EX4-L5A анализировали для введения лекарственного средства посредством внутривенной инъекции и подкожной инъекции, как представлено в таблице 13. Концентрацию в плазме анализировали методом ЖХ-МС с нижним пределом количественного определения, составляющим 10 нг/мл. Наблюдали продолжительный период полураспада в условиях организма, составляющий приблизительно 70 часов, что превышает приблизительно 50-часовой период полураспада семаглутида у обезьян. Этот продолжительный период полураспада в условиях организма указывает на то, что возможен потенциальный перевод дозы на человека при введении один раз в неделю.

Таблица 13. Фармакокинетические свойства GLP2-2G-1-EX4-L5A для яванского макака

Фармакокине-	Среднее	Среднеквадра-	Фармакокине-	Среднее	Среднеквадрати-
--------------	---------	---------------	--------------	---------	-----------------



фактические параметры	значение при внутривенном введении	фактическое отклонение	фактические параметры	значение при подкожном введении	фактическое отклонение
$C_0$ (нг/мл)	34845	2087	$C_{max}$ (нг/мл)	12100	1652
$T_{1/2}$ (час)	68,7	8,05	$T_{max}$ (час)	9,00	1,73
$V_{dss}$ (л/кг)	0,0551	0,00244	$T_{1/2}$ (час)	71,9	7,02
Cl (мл/мин/кг)	0,0110	0000748	$T_{last}$ (час)	504	--
$T_{last}$ (час)	504	--	AUC <sub>0-last</sub> (нг·ч/мл)	1102126	157113
AUC <sub>0-last</sub> (нг·ч/мл)	1507007	103313	AUC <sub>0-inf</sub> (нг·ч/мл)	1109413	158218
AUC <sub>0-inf</sub> (нг·ч/мл)	1514090	105816	MRT <sub>0-last</sub> (час)	90,0	4,40
MRT <sub>0-last</sub> (час)	80,8	2,53	MRT <sub>0-inf</sub> (час)	93,4	3,07
MRT <sub>0-inf</sub> (час)	83,2	3,31	AUC <sub>Extra</sub> (%)	0,658	0,252
AUC <sub>Extra</sub> (%)	0,462	0,147	AUMC <sub>Extra</sub> (%)	4,34	1,80
AUMC <sub>Extra</sub> (%)	3,33	1,01	Биодоступность (%) <sup>a</sup>	73,3	--

**Пример J. GLP2-2G-10Nle-1-EX4-L5A проявлял увеличенный период полураспада в случае мышья в условиях организма**

[0376] Самцам мышья C57BL/6 вводили GLP2-2G-10Nle-1-EX4-L5A в дозе 1,5 мг/кг в виде прозрачного раствора в PBS (pH 7,5), и концентрацию агонистов в плазме наблюдали в течение 96 часов, как проиллюстрировано на фиг. 10. Концентрацию в плазме анализировали методом ЖХ-МС с нижним пределом количественного определения, составляющим 5 нг/мл. Фармакокинетические свойства лекарственного средства в случае мышья, в том числе период полураспада, были вычислены на основании этих данных, и соответствующие значения представлены в таблице 14. Для данного лекарственного средства в случае мышья наблюдали продолжительный период полураспада в условиях организма, составляющий приблизительно 8 часов.

Таблица 14. Фармакокинетические свойства GLP2-2G-10Nle-1-EX4-L5A для мышья

Фармакокинетические параметры	Среднее значение при внутривенном введении	Фармакокинетические параметры	Среднее значение при подкожном введении
$C_0$ (нг/мл)	40492	$C_{max}$ (нг/мл)	8963
$T_{1/2}$ (час)	8,07	$T_{max}$ (час)	7,0
$V_{dss}$ (л/кг)	0,0823	$T_{1/2}$ (час)	7,97
Cl (мл/мин/кг)	0,129	$T_{last}$ (час)	96
$T_{last}$ (час)	96,0	AUC <sub>0-last</sub> (нг·ч/мл)	153773

AUC <sub>0-last</sub> (нг·ч/мл)	193243	AUC <sub>0-inf</sub> (нг·ч/мл)	153830
AUC <sub>0-inf</sub> (нг·ч/мл)	193309	MRT <sub>0-last</sub> (час)	14,3
MRT <sub>0-last</sub> (час)	10,6	MRT <sub>0-inf</sub> (час)	14,3
MRT <sub>0-inf</sub> (час)	10,6	AUC <sub>Extra</sub> (%)	0,0369
AUC <sub>Extra</sub> (%)	0,034	AUMC <sub>Extra</sub> (%)	0,277
AUMC <sub>Extra</sub> (%)	0,345	Биодоступность (%) <sup>a</sup>	79,6

**Пример К. GLP2-2G-10Nle-1-EX4-L5A проявлял увеличенный период полураспада в случае яванского макака**

[0377] Самцам яванских макаков вводили GLP2-2G-10Nle-1-EX4-L5A в концентрации 1,0 мг/кг в PBS (pH 7,5) подкожно или внутривенно. Концентрацию агонистов в плазме наблюдали в течение 504 часов после введения лекарственного средства, как проиллюстрировано на фиг. 11. Концентрацию в плазме анализировали методом ЖХ-МС с нижним пределом количественного определения, составляющим 5 нг/мл. Фармакокинетические свойства лекарственного средства у обезьян, в том числе период полураспада, были вычислены на основании этих данных, и соответствующие значения представлены в таблице 15. Для этого лекарственного средства в случае обезьян наблюдали продолжительный период полураспада в условиях организма, составляющий приблизительно 57 часов.

Таблица 15. Фармакокинетические свойства GLP2-2G-10Nle-1-EX4-L5A для яванских макаков

Фармакокинетические параметры	Среднее значение при внутривенном введении	Среднеквадратическое отклонение	Фармакокинетические параметры	Среднее значение при подкожном введении	Среднеквадратическое отклонение
C <sub>0</sub> (нг/мл)	30072	203	C <sub>max</sub> (нг/мл)	9313	783
T <sub>1/2</sub> (час)	57,2	7,89	T <sub>max</sub> (час)	14,7	8,08
V <sub>dss</sub> (л/кг)	0,0784	0,00189	T <sub>1/2</sub> (час)	49,8	4,72
Cl (мл/мин/кг)	0,0231	0,00446	T <sub>last</sub> (час)	504	--
T <sub>last</sub> (час)	504	--	AUC <sub>0-last</sub> (нг·ч/мл)	696366	72381
AUC <sub>0-last</sub> (нг·ч/мл)	737816	129904	AUC <sub>0-inf</sub> (нг·ч/мл)	696916	72842
AUC <sub>0-inf</sub> (нг·ч/мл)	738632	130076	MRT <sub>0-last</sub> (час)	66,5	5,12
MRT <sub>0-last</sub> (час)	57,2	8,94	MRT <sub>0-inf</sub> (час)	66,9	5,41
MRT <sub>0-inf</sub> (час)	57,8	8,94	AUC <sub>Extra</sub> (%)	0,0751	0,0576
AUC <sub>Extra</sub> (%)	0,110	0,0165	AUMC <sub>Extra</sub> (%)	0,626	0,436
AUMC <sub>Extra</sub> (%)	1,14	0,247	Биодоступность (%) <sup>a</sup>	94,4	--

**Пример L. GLP2-2G-10Nle-1K-EX4-K5 проявлял продолжительный период полураспада в случае мыши в условиях организма**

[0378] Самцам мышей C57BL/6 вводили GLP2-2G-10Nle-1K-EX4-K5 в концентрации 1,5 мг/кг в PBS (pH 7,5) подкожно или внутривенно. Концентрацию агонистов в плазме наблюдали в течение 72 часов после введения лекарственного

средства, как проиллюстрировано на фиг. 12. Концентрацию в плазме анализировали методом ЖХ-МС с нижним пределом количественного определения, составляющим 5 нг/мл. Фармакокинетические свойства лекарственного средства для мышей, в том числе период полураспада, были вычислены на основании этих данных, и соответствующие значения представлены в таблице 16. Для этого лекарственного средства в случае мышей наблюдали продолжительный период полураспада в условиях организма, составляющий приблизительно 7 часов.

Таблица 16. Фармакокинетические свойства GLP2-2G-10Nle-1K-EX4-K5 для мышей

Фармакокинетические параметры	Среднее значение при внутривенном введении	Фармакокинетические параметры	Среднее значение при подкожном введении
$C_0$ (нг/мл)	24574	$C_{max}$ (нг/мл)	6760
$T_{1/2}$ (час)	7,16	$T_{max}$ (час)	7,0
$V_{dss}$ (л/кг)	0,102	$T_{1/2}$ (час)	7,54
Cl (мл/мин/кг)	0,173	$T_{last}$ (час)	72,0
$T_{last}$ (час)	72,0	$AUC_{0-last}$ (нг·ч/мл)	104199
$AUC_{0-last}$ (нг·ч/мл)	144060	$AUC_{0-inf}$ (нг·ч/мл)	104404
$AUC_{0-inf}$ (нг·ч/мл)	144210	$MRT_{0-last}$ (час)	12,3
$MRT_{0-last}$ (час)	9,71	$MRT_{0-inf}$ (час)	12,5
$MRT_{0-inf}$ (час)	9,79	$AUC_{Extra}$ (%)	0,196
$AUC_{Extra}$ (%)	0,104	$AUMC_{Extra}$ (%)	1,3
$AUMC_{Extra}$ (%)	0,875	Биодоступность (%) <sup>a</sup>	72,4

**Пример М. GLP2-2G-10Nle-1K-EX4-K5 проявлял увеличенный период полураспада в случае яванского макака**

[0379] Самцам яванских макаков вводили GLP2-2G-10Nle-1K-EX4-K5 в концентрации 1,0 мг/кг в PBS (pH 7,5) подкожно или внутривенно. Концентрацию агонистов в плазме наблюдали в течение 504 часов после введения лекарственного средства, как проиллюстрировано на фиг. 13. Концентрацию в плазме анализировали методом ЖХ-МС с нижним пределом количественного определения, составляющим 5 нг/мл. Фармакокинетические свойства лекарственного средства в случае обезьян, в том числе период полураспада, вычисляли на основании этих данных, и соответствующие значения представлены в таблице 17. Для этого лекарственного средства в случае обезьян наблюдали продолжительный период полураспада в условиях организма, составляющий приблизительно 36 часов.

Таблица 17. Фармакокинетические свойства GLP2-2G-10Nle-1K-EX4-K5 для яванских макаков

Фармакокинетические параметры	Среднее значение при внутривенном введении	Среднеквадратическое отклонение	Фармакокинетические параметры	Среднее значение при подкожном введении	Среднеквадратическое отклонение
C <sub>0</sub> (нг/мл)	27532	4270	C <sub>max</sub> (нг/мл)	7037	626
T <sub>1/2</sub> (час)	35,7	1,09	T <sub>max</sub> (час)	14,7	8,08
V <sub>dss</sub> (л/кг)	0,0723	0,00438	T <sub>1/2</sub> (час)	31,0	2,5
Cl (мл/мин/кг)	0,0294	0,00532	T <sub>last</sub> (час)	336	--
T <sub>last</sub> (час)	336	--	AUC <sub>0-last</sub> (нг·ч/мл)	420263	21246
AUC <sub>0-last</sub> (нг·ч/мл)	577542	97811	AUC <sub>0-inf</sub> (нг·ч/мл)	420590	21369
AUC <sub>0-inf</sub> (нг·ч/мл)	578146	98047	MRT <sub>0-last</sub> (час)	48,7	4,79
MRT <sub>0-last</sub> (час)	41,2	4,65	MRT <sub>0-inf</sub> (час)	48,9	4,88
MRT <sub>0-inf</sub> (час)	41,5	4,75	AUC <sub>Extra</sub> (%)	0,0768	0,0257
AUC <sub>Extra</sub> (%)	0,101	0,0367	AUMC <sub>Extra</sub> (%)	0,590	0,140
AUMC <sub>Extra</sub> (%)	0,932	0,271	Биодоступность (%) <sup>a</sup>	72,7	--

**Пример N. GLP2-L5A вызывал кишечнотрофические эффекты у мышей**

[0380] Самки мышей CD1 в возрасте 13 недель были разделены на пять лечебных групп, перечисленных ниже: А (разбавитель PBS, подкожно, один раз в сутки), В (GLP-C14, 0,05 мг/кг, два раза в сутки), С (GLP2-2G-1-EX4-L5A, 0,1 мг/кг, один раз в сутки), D (GLP2-2G-1-EX4-L5A, 1 мг/кг, один раз в сутки), Е (GLP2-2G-10Nle-1-EX4-L5A, 0,1 мг/кг, один раз в сутки) и F (GLP2-2G-10Nle-1-EX4-L5A, 1 мг/кг, один раз в сутки). В каждой группе было по 5 мышей. Мышам вводили соответствующую дозу подкожно один раз в сутки (QD) или два раза в сутки (BID), используя DPBS в качестве разбавителя в количестве 5 мл/кг, а затем ежедневно измеряли массу тела.

[0381] Через 10 дней после введения дозы получали результаты измерения показателей желудочно-кишечного тракта. Эти показатели представляли собой сбор терминальной крови; рассечение тонкой кишки; а также измерение длины и массы тонкой кишки и измерение длины и массы пустой толстой кишки.

[0382] Отмечалось значительное увеличение массы тонкой кишки у мышей после лечения, которые получали дозу по меньшей мере 0,1 мг/кг любого длительно действующего агониста GLP2R (группы С-F), по сравнению с не получавшими лечения мышами (группа А), как проиллюстрировано на фиг. 14А. Длина тонкого кишечника была увеличена у всех мышей, получавших пролонгированное лечение с применением агонистов GLP2R, по сравнению с не получавшими лечения мышами (группа А), и значительно увеличилась у мышей, получавших лечение 0,1 мг/кг GLP2-2G-5-L5A (группа Е), как проиллюстрировано на фиг. 14В. Ни в одной группе лечения не наблюдалось значительного изменения массы тела в течение 10 суток, как проиллюстрировано на фиг. 14С.

**Пример О. GLP2-2G-10Nle-1-EX4-L5A оказался эффективным в лечении мышинной модели острого колита**

[0383] В этом примере были оценены кишечнотрофические эффекты GLP2-2G-10Nle-1-Ex4-L5A для мышей.

[0384] Самцов мышей C57B6 в возрасте 7-8 недель разделили на шесть экспериментальных групп: А (разбавитель PBS, один раз в сутки); В (тедуглутид, 0,5 мг/кг, два раза в сутки); С (GLP2-2G-10Nle-1K-EX4-K5, 0,03 мг/кг, один раз в сутки); D (GLP2-2G-10Nle-1K-EX4-K5, 0,1 мг/кг, один раз в сутки); E (GLP2-2G-10Nle-1K-EX4-K5, 0,3 мг/кг, один раз в сутки); и F (GLP2-2G-10Nle-1K-EX4-K5, 1 мг/кг, один раз в сутки). Каждая группа лечения состояла из шести мышей, за исключением группы А, которая состояла из четырех мышей. Мышам вводили лекарственное средство подкожно один раз в сутки (QD) или два раза в сутки (BID), используя FPBS в качестве разбавителя с дозируемым количеством 5 мл/кг. Ежедневно измеряли массу тела, и через 10 дней после введения лекарственного средства получали результаты измерения показателей желудочно-кишечного тракта. Эти показатели представляли собой сбор терминальной крови; рассечение тонкой кишки; а также измерение длины и массы тонкой кишки и измерение длины и массы пустой толстой кишки.

[0385] Как проиллюстрировано на фиг. 15C-15D, во всех группах лечения (B-F) наблюдали значительное увеличение длины и массы тонкой кишки по сравнению с контрольными группами. Даже самая низкая доза GLP2-2G-10Nle-1K-EX4-K5, составляющая 0,03 мг/кг (группа С), производила значительное воздействие на измерения обоих параметров тонкой кишки. Кроме того, доза GLP2-2G-10Nle-1-EX4-K5 0,1 мг/кг (группа D) продемонстрировала эффекты, сравнимые с лечением тедуглутидом в дозе 0,5 мг/кг (группа В).

[0386] У мышей, которые получали высокие дозы GLP2-2G-10Nle-1-EX4-K5 (группы E-F), наблюдалось значительное увеличение длины толстой кишки по сравнению с не получавшими лечения контрольными мышами (группа А). Во всех группах лечения наблюдалось значительное увеличение массы толстой кишки по сравнению с контрольной группой, не получавшей лечения. Однако у мышей в группах E и F, получавших самые высокие дозы GLP2-2G-10Nle-1-EX4-K5, наблюдалось наибольшее увеличение.

**Пример Р. GLP2-2G-1-EX4-L5A оказался эффективным в лечении на мышинной модели острого колита**

[0387] Острый колит индуцировали у мышей однократным пятидневным курсом введения 3% декстрансульфата натрия (DSS). Мыши были разделены на четыре лечебные группы следующим образом: А (контрольные мыши, которым не вводили DSS), В (мыши,

получавшие DSS и подкожную инъекцию PBS), С (мыши, получавшие DSS и подкожное введение 1 мг/кг GLP2-2G-1-EX4-L5) и D (мыши, получавшие DSS и внутрибрюшинное введение 20 мг/кг циклоспорина).

[0388] Массу тела измеряли в течение 12 суток, как проиллюстрировано на фиг. 16А. У мышей, получавших лечение от острого колита (группы С и D), не наблюдалось столь значительного снижения массы тела по сравнению с не получавшими лечения мышами с индуцированным колитом (группа В). Кроме того, у мышей в группе С, получавших GLP2-2G-1-EX4-L5A, наблюдалось значительное увеличение массы как толстой, так и тонкой кишки, как проиллюстрировано на фиг. 16В-16С, по сравнению с не получавшими лечения мышами с индуцированным острым колитом (группа В). У мышей, которых лечили с применением GLP2-2G-1-EX4-L5A, также наблюдалось значительное увеличение длины как толстой, так и тонкой кишки по сравнению с не получавшими лечения контрольными животными с индуцированным острым колитом (графическое изображение не представлено). Лечение с применением GLP2-2G-1-EX4-L5A также улучшило гистопатологическое состояние толстой и тонкой кишки в модели колита, вызванного DSS. Гистопатологическое исследование мышей, получавших как DSS, так и L5A, показала такую же глубину крипт в толстой кишке, что и у мышей, которым не вводили DSS, в то время как у мышей, получавших только DSS, было значительное уменьшение длины крипт, как проиллюстрировано на фиг. 16D. В тощей тонкой кишке длина ворсинок тощей кишки была больше у мышей группы С, чем у мышей группы А или группы В, как показано на фиг. 16Е. Отмечалось значительное увеличение длины ворсинок тощей кишки при сравнении мышей, получавших GLP2-2G-1-EX4-L5A, с мышами, не получавшими лечения. Кроме того, у мышей группы С не было обнаружено деформаций ворсинок и абсцессов, характерных для мышей группы В.

**Пример Q. GLP2-2G-10Nle-1K-EX4-K5 оказался эффективным в лечении на мышинной модели острого колита**

[0389] Восеминедельных самцов мышей C57BL/6 разделили на семь лечебных групп, которые перечислены ниже: А (контрольные мыши, которым не вводили DSS), В (мыши, которые получали DSS и подкожную инъекцию PBS), С (мыши, которые получали DSS и подкожное введение 0,1 мг/кг GLP2-2G-10Nle-1K-EX4-K5), D (мыши, которые получали DSS и подкожное введение 0,3 мг/кг GLP2-2G-10Nle-1K-EX4-K5), E (мыши, которые получали DSS и подкожное введение 1 мг/кг GLP2-2G-10Nle-1K-EX4-K5), F (мыши, которые получали DSS и подкожное введение 0,5 мг/кг тедуглутида) и G (мыши, которые получали DSS и внутрибрюшинное введение 20 мг/кг циклоспорина)

Каждая группа состояла из шести мышей, за исключением группы А, которая состояла из четырех мышей.

Острый колит индуцировали у мышей однократным пятидневным курсом введения 3% декстрансульфата натрия (DSS), как проиллюстрировано на фиг. 17А. Животные получали ежедневно в течение 11 дней соответствующую дозу на группу лечения. Ежедневно измеряли массу тела. Если животные теряли более 20% массы тела, их подвергали эвтаназии. В дни 10-11 образцы собирали для фармакокинетического анализа через 0, 1, 3, 7 и 24 часа после введения дозы. В день 11 животных подвергали эвтаназии и проводили вскрытие. Терминальную кровь собирали в пробирку с гепарином и перерабатывали в плазму. Тонкую кишку и толстую кишку собирали для измерения массы и длины. Ткани желудочно-кишечного тракта были собраны для гистологического исследования.

[0390] При исследовании массы тела в динамике, как проиллюстрировано на фиг. 17А, у мышей в группе G, получавших циклоспорин, наблюдалось большее процентное снижение массы тела во время введения DSS, чем у мышей в любых других группах лечения, но масса тела увеличивалась после окончания введения DSS. У мышей, получавших DSS и не получавших лечение (группа B), наблюдалось наибольшее процентное снижение массы тела после окончания введения DSS по сравнению со всеми другими группами лечения. Мыши, которым вводили GLP2-2G-10Nle-1K-EX4-K5 (группы C-E) или тедуглутид (группа F), а также мыши, не получавшие DSS (группа A), не демонстрировали значительных изменений массы тела в течение этого времени.

[0391] Лечение с применением GLP2-2G-10Nle-1K-EX4-K5 как защищало мышей от потери массы тела, так и восстанавливало укорочение ободочной кишки. Как проиллюстрировано на фиг. 17B, длина ободочной кишки была значительно увеличена у мышей, получавших высокие дозы GLP2-2G-10Nle-1K-EX4-K5 или тедуглутида (группы D-F), по сравнению с не получавшими лечения группами (группа B). Масса ободочной кишки не изменялась. В тонком кишечнике как длина, так и масса были значительно увеличены в группах, получавших тедуглутид или GLP2-2G-10Nle-1K-EX4-K5 (группы C-F), по сравнению с не получавшими лечения мышами, как проиллюстрировано на фиг. 17C-17D. Самая низкая доза GLP2-2G-10Nle-1K-EX4-K5, составляющая 0,1 мг/мл (группа C), продемонстрировала эффекты, сопоставимые с эффектами тедуглутида при введении дозе 0,5 мг/кг два раза в сутки.

[0392] Лечение с применением GLP2-2G-10Nle-1K-EX4-K5 также влияло на гистологические особенности кишечника. Все группы, получавшие тедуглутид и GLP2-2G-10Nle-1K-EX4-K5 (группы C-F), показали значительное увеличение высоты ворсинок

по сравнению с не получавшими лечения мышами (группы А-В), как видно на фиг. 17Е. Самая низкая доза GLP2-2G-10Nle-1K-EX4-K5, 0,1 мг/кг, вводимая один раз в сутки, показала сопоставимые кишечнотропные эффекты с тедуглутидом в дозе 0,5 мг/кг, вводимой два раза в сутки.

Кроме того, окрашивание с применением Ki67 показало отсутствие повышенной пролиферации в каждой из групп лечения, как проиллюстрировано на фиг. 17F. Это показало отсутствие признаков аномальной пролиферации, связанной с введением GLP2-2G-10Nle-1K-EX4-K5.

[0393] Фармакокинетические свойства групп лечения С-F проиллюстрированы графиками на фиг. 17G. Обнаружение тедуглутида становилось невозможным через 3 часа после введения. Однако все дозы GLP2-2G-10Nle-1K-EX4-K5 можно было обнаружить в течение вплоть до 24 часов после введения.

Пример R. Длительно действующие агонисты GLP2R оказались эффективными в лечении острого колита

[0394] Мышей разделяли на девять групп лечения, которые перечислены ниже: А (отсутствие DSS: разбавитель), В (DSS: разбавитель (PBS)), С (DSS: GLP2-2G-1-EX4-L5A, 0,03 мг/кг), D (DSS: GLP2-2G-1-EX4-L5A, 0,1 мг/кг), E (DSS: GLP2-2G-10Nle-1-EX4-L5A, 0,03 мг/кг), F (DSS: GLP2-2G-10Nle-1-EX4-L5A, 0,1 мг/кг), G (DSS: GLP2-2G-10Nle-1K-EX4-K5, 0,03 мг/кг), H (DSS: GLP2-2G-10Nle-1K-EX4-K5, 0,1 мг/кг) и I (DSS: циклоспорин А, 20 мг/кг, внутривентрально). Каждая группа состояла из шести самцов мышей линии C57BL/6 в возрасте 8 недель. Мышам вводили 3% DSS в течение 7 дней и одновременно вводили соответствующее лечение в течение 8 дней, чтобы вызвать острый колит. Всем животным вводили дозы подкожно, используя объем 5 мл/кг и разбавитель DPBS (фосфатно-солевой буферный раствор Дульбекко), за исключением группы I, где разбавитель представлял собой оливковое масло. В дни 6-7 фармакокинетические образцы собирали в группах С-Н через 0, 1, 3, 7 и 24 часа после введения дозы. Измерения проводились в день 9. Эти измерения включали сбор терминальной крови; рассечение тонкой кишки; измерение длины и массы тонкой кишки; а также измерение длины и массы пустой толстой кишки.

[0395] Все длительно действующие агонисты GLP-2 продемонстрировали зависимость от дозы защиты от потери массы тела по сравнению с не получавшими лечения животными, и эта защита была значительной при дозе, составляющей 0,1 мг/кг. Как проиллюстрировано на фиг. 18А, животные, получавшие любую дозу GLP2-2G-10Nle-1-Ex4-L5A (группы С и D), имели более высокую общую массу тела, чем животные, не получавшие лечения (группа В). Как проиллюстрировано на фиг. 18В, животные,



получавшие любую дозу GLP2-2G-1-EX4-L5A (группы E и F), имели большую общую массу тела, чем животные, не получавшие лечения (группа B). Как проиллюстрировано на фиг. 18C, животные, получавшие любую дозу GLP2-2G-10Nle-1K-Ex4-K5A (группы G и H), имели более высокую общую массу тела, чем животные, не получавшие лечения (группа B). Кроме того, в дозе 0,03 мг/кг GLP2-2G-10Nle-1-Ex4-L5A и GLP2-2G-10Nle-1K-Ex4-K5 более эффективно защищали от потери массы тела, чем GLP2-2G-1-EX4-L5A.

[0396] Все три длительно действующих агониста GLP-2 значительно увеличивали длину толстой кишки в модели острого колита, индуцированного DSS, при дозе 0,1 мг/кг, как проиллюстрировано на фиг. 18D. Кроме того, наблюдалась незначительная тенденция к увеличению массы толстой кишки при сравнении животных, получавших агонисты GLP2 длительного действия, с животными, не получавшими DSS, как проиллюстрировано на фиг. 18E. Кроме того, все три длительно действующих агониста GLP2 длительного действия продемонстрировали зависимые от дозы трофические эффекты как на массу, так и на длину тонкой кишки, как проиллюстрировано на фиг. 18F-18G.

[0397] Лечение с применением агонистов GLP2R также увеличивало размер желчного пузыря, как проиллюстрировано на фиг. 18H. Кроме того, количество фекальной скрытой крови измеряли с применением анализа hemocult II, как проиллюстрировано на фиг. 18I. Некоторые параметры лечения, такие как обе дозы 1L5A, снижали уровни гемоглобина по сравнению с не получавшими лечения мышами модели DSS.

[0398] Уровни длительно действующих агонистов GLP2 измеряли с течением времени. При дозах 0,03 мг/кг концентрации увеличивались вплоть до 7 часов после введения, но все еще обнаруживались через 24 часа после введения, как проиллюстрировано на фиг. 18J. При дозах 0,1 мг/кг концентрации увеличивались до 7 часов после введения и все еще обнаруживались через 24 часа после введения, как проиллюстрировано на фиг. 18K. Для обеих доз GLP2-2G-1-EX4-L5A имел самые высокие уровни присутствия, за ним следовал GLP2-2G-10Nle-1-Ex4-L5A, затем GLP2-2G-10Nle-1K-Ex4-K5. Для всех трех испытанных лекарственных средств более высокая доза приводила к более высоким концентрациям лекарственного средства, присутствующего во все исследованные моменты времени, как проиллюстрировано на фиг. 18L-18N.

[0399] Значительное снижение уровня матричной РНК для воспалительных цитокинов наблюдали в тканях ободочной кишки.

**Пример S. GLP2-2G-1-EX4-L5A оказался эффективным в лечении хронического колита**

[0400] Хронический DSS-индуцированный колит индуцировали у мышей C57BL/6 (самцы, возраст 10-12 недель) посредством 3 циклов введения 2,5% DSS в питьевой воде в течение пяти дней подряд с последующим семидневным восстановлением. Животные получали лечение ежедневно в течение 7 дней в течение последнего цикла индукции DSS. Лечение проводили подкожно (SC) или внутривнутрибрюшинно (IP), один раз в сутки (QD) или два раза в сутки (BID). Мышей лечили в соответствии с их группами лечения, как указано ниже: А (отсутствие DSS: разбавитель, подкожно, QD (n = 6)), В (DSS: разбавитель (PBS), подкожно, один раз в сутки (n = 8)), С (DSS: GLP2-2G-1-EX4-L5A, 0,1 мг/кг, подкожно, один раз в сутки (n = 8)), D (DSS: GLP2-2G-1-EX4-L5A, 0,3 мг/кг, подкожно, один раз в сутки (n = 8)), Е (DSS: циклоспорин, 20 мг/кг, внутривнутрибрюшинно (n = 6)) и F (DSS: тедуглутид, 0,3 мг/кг, подкожно, QD (n = 6)).

Массу тела измеряли три раза в неделю. Сбор фармакокинетических данных осуществляли за 3 и 4 дня до вскрытия. В день 33 проводили вскрытие и осуществляли измерения. Эти измерения представляли собой сбор терминальной крови; рассечение тонкой кишки; измерение длины и массы тонкой кишки; а также изменение длины и массы пустой толстой кишки.

[0401] GLP2-2G-1-EX4-L5A оказался эффективным при лечении потери массы в мышинной модели хронического колита. Мыши, которых лечили с применением GLP2-2G-1-EX4-L5A или тедуглутида (группы С, D и F), не продемонстрировали такой же процентной потери массы тела или общей массы тела, как мыши, не получавшие лечения (группа В), как проиллюстрировано на фиг. 19А. Защита от потери массы тела зависела от дозы, при этом более высокая доза приводила к усилению защиты. Кроме того, эти эффекты были эквивалентны лечению тедуглутидом в дозе 0,3 мг/кг, вводимой один раз в сутки.

[0402] GLP2-2G-1-EX4-L5A продемонстрировал зависимое от дозы восстановление длины толстой кишки по сравнению с мышами, которые не получали лечения, как проиллюстрировано на фиг. 19В. Кроме того, при сравнении лечения 0,3 мг/кг GLP2-2G-1-EX4-L5A с эквивалентной дозой тедуглутида эффекты GLP2-2G-1-EX4-L5A оказались менее изменчивыми, чем эффекты лечения тедуглутидом. На массу толстой кишки также влияли лечение с применением GLP2-2G-1-EX4-L5A и тедуглутида, как видно на фиг. 19С. У мышей, получавших низкую дозу GLP2-2G-1-EX4-L5A, масса толстой кишки была такой же, как у мышей, получавших тедуглутид.

[0403] Более высокая доза GLP2-2G-1-EX4-L5A показала значительное увеличение массы тонкой кишки по сравнению с мышами, которые не получали лечения, как

проиллюстрировано на фиг. 19D. Этот эффект был эквивалентен эффекту, который производил тедуглутид.

**Пример Т. GLP2-2G-10Nle-1-Ex4-L5A оказался эффективным в лечении мышинной модели хронического колита**

[0404] Хронический DSS-индуцированный колит индуцировали у мышей C57BL/6 (самцы, возраст 10-12 недель) посредством трех циклов введения 2,5% DSS в питьевой воде в течение пяти дней подряд с последующим семидневным восстановлением. Животные получали лечение ежедневно в течение 7 дней в течение последнего цикла индукции DSS. Лечение проводили подкожно (SC) или внутривентриально (IP), один раз в сутки (QD) или два раза в сутки (BID). Мышей лечили в соответствии с их группами лечения, как указано ниже: А (отсутствие DSS: разбавитель, подкожно, один раз в сутки (n = 4)), В (DSS: разбавитель (PBS), подкожно, один раз в сутки (n = 6)), С (DSS: GLP2-2G-10Nle-1-L5A, 0,03 мг/кг, подкожно, один раз в сутки (n = 6)), D (DSS: GLP2-2G-10Nle-1-L5A, 0,1 мг/кг, подкожно, один раз в сутки (n = 6)), Е (DSS: GLP2-2G-10Nle-1-L5A, 0,3 мг/кг, подкожно, один раз в сутки (n = 6)), F (DSS: GLP2-2G-10Nle-1-L5A, 1 мг/кг, подкожно, один раз в сутки (n = 6)) и G (DSS: тедуглутид, 0,5 мг/кг, подкожно, два раза в сутки (n = 6)).

[0405] Массу тела измеряли три раза в неделю. Сбор фармакокинетических данных осуществляли за 3 и 4 дня до вскрытия. В день 33 проводили вскрытие и осуществляли измерения. Эти измерения представляли собой сбор терминальной крови; рассечение тонкой кишки; измерение длины и массы тонкой кишки; а также изменение длины и массы пустой толстой кишки.

[0406] Низкие дозы GLP2-2G-10Nle-1-Ex4-L5A показали умеренное влияние на потерю массы тела. Лечение дозами 0,03 мг/кг и 0,3 мг/кг защищало от потери массы тела по сравнению с мышами, не получавшими лечения (не проиллюстрировано).

[0407] GLP2-2G-10Nle-1-Ex4-L5A увеличивал как длину, так и массу толстой кишки в модели хронического колита, индуцированного DSS, как проиллюстрировано на фиг. 20А-20В. Длина толстой кишки была значительно увеличена у животных, получавших GLP2-2G-10Nle-1-Ex4-L5A в дозах 0,1 мг/кг и выше, а также у животных, получавших тедуглутид (группы D-G), по сравнению с не получавшими лечения животными (группа В). Масса толстой кишки была увеличена у животных, получавших GLP2-2G-10Nle-1-Ex4-L5A в дозах 0,3 мг/кг или выше, а также у животных, получавших тедуглутид, по сравнению с животными, не получавшими лечения.

[0408] GLP2-2G-10Nle-1-Ex4-L5A также значительно воздействовал на массу вес и длину тонкой кишки. Лечение с применением GLP2-2G-10Nle-1-Ex4-L5A в дозах 0,1 мг/кг

и выше, а также лечение с применением тедуглутида приводило к значительному увеличению длины тонкого кишечника по сравнению с не получавшими лечения мышинными моделями, как проиллюстрировано на фиг. 20С. Лечение с применением GLP2-2G-10Nle-1-Ex4-L5A в дозах 0,3 мг/кг или выше приводило к значительному увеличению массы тонкой кишки по сравнению с не получавшими лечения мышами (не проиллюстрировано).

#### **Пример U. Лечение с применением GLP-2-2G-5-L5A в модели NASH**

[0409] Пятинедельных мышей C57BL/6 помещали на диету с дефицитом холина (CDAА, Dyets # 518753) или на контрольную диету с добавлением аминокислот (CSAA, Dyets # 518754) в общей сложности на 19 недель. Мышей разделили на три лечебные группы, по 8 мышей в группе, которые перечислены ниже: CSAA (контрольная диета, только разбавитель; CDAА (диета с лечением (MCT, PO; физиологический раствор, подкожно)); и CDAА (диета с лечением 1 мг/кг подкожно GLP2-2G-5-EX4-L5A). Через 15 недель мыши получали разбавитель или исследуемые соединения в течение 4 недель. Массу тела измеряли еженедельно на этапе введения диеты и три раза в неделю на этапе лечения. Через 19 недель животных подвергали эвтаназии и собирали образцы крови и печени для исследования сыворотки, гистологических параметров и экспрессии генов.

[0410] Длительное лечение с применением GLP2-2G-5-EX4-L5A улучшало маркеры функции печени. У мышей, которые получали диету с дефицитом холина, наблюдалось значительное снижение сывороточного уровня ALT и сывороточного уровня AST по сравнению с не получавшими лечения мышами на той же диете, как проиллюстрировано на фиг. 21А-21В. Общий сывороточный уровень билирубина также был снижен у мышей, получавших лечение GLP2-2G-5-EX4-L5A, по сравнению с мышами, не получавшими лечения, с той же диетой. Желчный пузырь был увеличен у 7 из 8 мышей, получавших GLP-2.

Лечение с применением GLP2-2G-5-EX4-L5A приводило к 20% снижению показателя фиброза печени, как проиллюстрировано на фиг. 21С. Отложение коллагена/фиброз наблюдали с применением пикросириуса красного и оценивали по степени тяжести с использованием следующей шкалы: 0 = отсутствует; 1 = минимальный; 2 = мягкий; 3 = умеренный; 4 = значительный; и 5 = тяжелый. Данное лечение не оказывало значительного влияния на массу тела, и это указывает на то, что лечение было переносимым.

[0411] Кроме того, анализировали влияние этого лечения на стеатоз и воспаление печени. Стеатоз анализировали по процентной вакуолизации гепатоцитов, определяемой по четким, округлым, неокрашивающим липидным вакуолям, и определяли степень на

основе приведенной шкалы: 0 означает менее 5%; 1 указывает 5-33%; 2 означает 33 – 66%; и 3 указывает на более чем 66%. Лечение GLP2-2G-5-EX4-L5A не оказывало существенного влияния на степень стеатоза в печени, как показано на фиг. 21D. Лобулярное воспаление анализировали путем оценки очагов воспаления на инфильтраты нейтрофилов, лимфоцитов и макрофагов. Лобулярное воспаление оценивали по следующей шкале: 0 означает отсутствие очагов; 1 означает 2 фокуса/поле 200×; 2 означает 2-4 фокуса/поле 200×; и 3 означает более чем 4 фокуса/поле 200×. Лечение с применением GLP-2-2G-5-L5A снижало уровни лобулярного воспаления по сравнению с не получавшими лечения животными на диете CDAA, как проиллюстрировано на фиг. 21E.

Этот пример продемонстрировал, что лечение с применением GLP2-2G-5-EX4-L5A улучшало маркеры повреждения печени и предотвращало ухудшение состояния при фиброзе печени в модели CDAA-NASH.

Пример V. Длительно действующие агонисты GLP2 в лечении мышинной модели экологической кишечной дисфункции (EED)

[0412] Модель недостаточного питания при отлучении от матери использовали для оценки эффективности GLP2-2G-10Nle-1K-EX4-K5 в лечении экологической кишечной дисфункции (EED). Когда мышатам было 10 дней, всех самок переводили на изокалорийную северо-восточную бразильскую диету (Regional Basic Diet, RBD), которая отличалась умеренным дефицитом белка, жира и минералов. При отъеме (в возрасте 3 недель) мышат переводили на стандартную контрольную диету (CD) или продолжали диету RBD. В возрасте 4 недель мышатам вводили лекарственное средство или плацебо (0,1 мг/кг в разбавителе (PBS)) один раз в сутки подкожно в течение 2-3 недель. Дважды в неделю измеряли массу тела и потребление пищи. Стул собирали при отлучении, в возрасте 6 и 8 недель для калориметрии и исследования кишечной флоры. Пероральный FITC (флуоресцеинизотиоцианат)-декстран использовали для измерения барьерной функции. В возрасте 6 недель мышей подвергали эвтаназии и собирали ткань тощей кишки для морфологического, иммуногистохимического и камерного исследования резистентности и проницаемости через слизистую оболочку.

Наблюдались тенденции к большему увеличению массы как у самцов, так и у самок мышей RBD, отнятых от матерей, переведенных на диету CD и получавших тедуглутид или GLP2-2G-10Nle-1K-EX4-K5, как проиллюстрировано на фиг. 22A-22B. Однако у самцов и самок мышей, отлученных от матерей и переведенных на диету от RBD, наблюдались тенденции к снижению массы при введении тедуглутида или длительно действующего агониста GLP2, как проиллюстрировано на фиг. 22C-22D.

[0413] Лечение с применением как тедуглутидам, так и длительно действующих агонистов GLP2 оказывало сильное влияние на влажную массу и длину кишечника. У самцов CD, получавших тедуглутид или GLP2-2G-10Nle-1K-EX4-K5, наблюдалось значительное увеличение соотношения влажной массы тонкой кишки и массы тела по сравнению с не получавшими лечения самцами, как проиллюстрировано на фиг. 22E. У самок CD, получавших тедуглутид или GLP2-2G-10Nle-1K-EX4-K5, наблюдалось значительное увеличение соотношения влажной массы тонкой кишки и массы тела по сравнению с самками, не получавшими лечения, как проиллюстрировано на фиг. 22F. Кроме того, лечение с применением GLP2-2G-10Nle-1K-EX4-K5 также приводило к значительному увеличению по сравнению с лечением тедуглутидом. У самцов RBD, получавших тедуглутид или GLP2-2G-10Nle-1K-EX4-K5, наблюдалось значительное увеличение соотношения влажной массы тонкой кишки и массы тела по сравнению с не получавшими лечения самцами. В случае самок RBD только для животных, получавших GLP2-2G-10Nle-1K-EX4-K5, наблюдалось значительное увеличение соотношения влажной массы тонкой кишки и массы тела по сравнению с не получавшими лечения животными.

Как у животных, переведенных на диету CD, так и на животных, переведенных на диету RBD, лечение с применением GLP2 или тедуглутида приводило к значительному увеличению длины тонкой кишки по сравнению с длиной тонкой кишки у не получавших лечения животных.

[0414] Лечение с применением GLP2-2G-10Nle-1K-EX4-K5 также оказывало кишечнотрофическое действие на животных. Самцы CD, получавшие тедуглутид или GLP2-2G-10Nle-1K-EX4-K5, имели значительно большую высоту ворсинок, чем самцы, не получавшие лечения. Самки CD, получавшие GLP2-2G-10Nle-1K-EX4-K5, также имели значительно большую длину ворсинок, чем самки, не получавшие лечения. Глубина крипты различалась для животных CD, которые получали лечение, и животных CD, которые не получали лечения. Самцы, получавшие тедуглутид или GLP2-2G-10Nle-1K-EX4-K5, имели крипту большей глубины, чем самцы, не получавшие лечения.

[0415] У этих мышей также измеряли кишечную проницаемость, причем чем выше относительная флуоресценция FITC-декстрана, тем выше кишечная проницаемость. Самцы CD, получавшие тедуглутид или GLP2-2G-10Nle-1K-EX4-K5, продемонстрировали тенденцию к снижению проницаемости в случае с получавшими лечения мышами по сравнению с не получавшими лечения мышами. У самок CD, получавших тедуглутид или GLP2-2G-10Nle-1K-EX4-K5, наблюдалось значительное снижение проницаемости по сравнению с не получавшими лечения самками мышей CD. Лечение с применением

тедуглутидом или GLP2-2G-10Nle-1K-EX4-K5 не оказывало существенного влияния на проницаемость как самок RBD, так и самцов RBD по сравнению с не получавшими лечения мышами.

[0416] Не получавшие лечения мыши CD демонстрировали более высокие уровни кишечной проницаемости, чем не получавшие лечения мыши RBD. Мыши CD и RBD имели сходные общие уровни проницаемости при лечении тедуглутидом. Самки могут иметь несколько более высокие уровни проницаемости при лечении GLP2-2G-10Nle-1K-EX4-K5 по сравнению с самцами мышей при одинаковой диете.

**ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ**

1. Пептидный конъюгат, содержащий:
  - a) пептид, который модулирует рецептор GLP-2; и
  - b) сшивающий фрагмент, присоединенный к пептиду через первую аминокислоту и вторую аминокислоту.
2. Пептидный конъюгат по п. 1, в котором первая аминокислота и вторая аминокислота независимо представляют собой содержащую аминогруппу аминокислоту или содержащую сульфгидрильную группу аминокислоту.
3. Пептидный конъюгат по п. 1 или 2, в котором первая аминокислота и вторая аминокислота независимо представляет собой цистеин, гомоцистеин, 2-амино-5-меркаптопентановую кислоту или 2-амино-6-меркаптогексановую кислоту.
4. Пептидный конъюгат по любому из пп. 1-3, в котором первая аминокислота и вторая аминокислота представляют собой цистеины.
5. Пептидный конъюгат по п. 1 или 2, в котором первая аминокислота и вторая аминокислота независимо представляет собой лизин, орнитин, диаминомасляную кислоту, диаминопропионовую кислоту или гомолизин.
6. Пептидный конъюгат по любому из пп. 1 или 2 или 5, в котором первая аминокислота и вторая аминокислота представляют собой лизины.
7. Пептидный конъюгат по любому из пп. 1 или 2 или 5, в котором первая аминокислота и вторая аминокислота представляют собой орнитин.
8. Пептидный конъюгат по любому из пп. 1-7, в котором первая аминокислота занимает положение  $i$  в пептиде, и вторая аминокислота занимает положение  $i + n$  в пептиде, причем  $n$  составляет 4-16.
9. Пептидный конъюгат по любому из пп. 1-8, в котором первая аминокислота занимает положение  $i$  в пептиде, и вторая аминокислота занимает положение  $i + n$  в пептиде, причем  $n$  составляет 4-10.
10. Пептидный конъюгат по любому из пп. 1-9, в котором первая аминокислота занимает положение  $i$  в пептиде, и вторая аминокислота занимает положение  $i + n$  в пептиде, причем  $n$  составляет 6-8.
11. Пептидный конъюгат по любому из пп. 1-10, в котором первая аминокислота занимает положение  $i$  в пептиде, и вторая аминокислота занимает положение  $i + 7$  в пептиде.







36. Пептидный конъюгат по любому из пп. 1-11, в котором пептид содержит последовательность, которая представляет собой SEQ ID NO: 10 или 30.

37. Пептидный конъюгат по любому из пп. 1-36, причем период полуразложения пептидного конъюгата является по меньшей мере около в 2 раза более продолжительным, чем период полуразложения немодифицированной формы пептида.

38. Пептидный конъюгат по любому из пп. 1-36, причем период полуразложения пептидного конъюгата является по меньшей мере около в 5 раз более продолжительным, чем период полуразложения немодифицированной формы пептида.

39. Пептидный конъюгат по любому из пп. 1-36, причем период полуразложения пептидного конъюгата является по меньшей мере около в 10 раз более продолжительным, чем период полуразложения немодифицированной формы пептида.

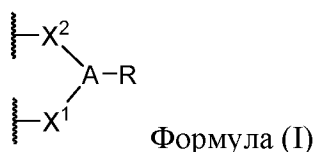
40. Пептидный конъюгат по любому из пп. 1-36, причем связывающая способность пептидного конъюгата отличается не более чем около на 5% от связывающей способности немодифицированной формы пептида.

41. Пептидный конъюгат по любому из пп. 1-36, причем связывающая способность пептидного конъюгата отличается не более чем около на 10% от связывающей способности немодифицированной формы пептида.

42. Пептидный конъюгат по любому из пп. 1-36, причем связывающая способность пептидного конъюгата отличается не более чем около на 15% от связывающей способности немодифицированной формы пептида.

43. Пептидный конъюгат по любому из пп. 1-36, причем связывающая способность пептидного конъюгата отличается не более чем около на 20% от связывающей способности немодифицированной формы пептида.

44. Пептидный конъюгат по любому из пп. 1-43, в котором сшивающий фрагмент имеет формулу (I):



причем

A представляет собой необязательно замещенный алкилен, необязательно замещенный арилен, необязательно замещенный гетероарилен, необязательно замещенный -NR<sup>3</sup>-алкилен-NR<sup>3</sup>- или -N-;

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

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

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

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

v составляет от 2 до 20;

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

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

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

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

s составляет от 0 до 20;

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

$R^b$  представляет собой  $C_1$ - $C_6$ -алкил,  $C_2$ - $C_6$ -алкенил,  $C_2$ - $C_6$ -алкинил,  $C_1$ - $C_6$ -гетероалкил,  $C_3$ - $C_8$ -циклоалкил,  $C_2$ - $C_8$ -гетероциклоалкил, арил или гетероарил; причем алкил, алкенил, алкинил и гетероалкил необязательно является замещенным и содержит один, два или три атома галогена, -ОН, -ОМе или -NH<sub>2</sub>; и циклоалкил, гетероциклоалкил, арил и гетероарил необязательно является замещенным и содержит один, два или три атома галогена,  $C_1$ - $C_6$ -алкил,  $C_1$ - $C_6$ -галогеналкил, -ОН, -ОМе или -NH<sub>2</sub>; и

каждый  $R^c$  и  $R^d$  независимо представляет собой водород,  $C_1$ - $C_6$ -алкил,  $C_2$ - $C_6$ -алкенил,  $C_2$ - $C_6$ -алкинил,  $C_1$ - $C_6$ -гетероалкил,  $C_3$ - $C_8$ -циклоалкил,  $C_2$ - $C_8$ -гетероциклоалкил, арил или гетероарил; причем алкил, алкенил, алкинил и гетероалкил необязательно является замещенным и содержит один, два или три атома галогена, -ОН, -ОМе или -NH<sub>2</sub>; и циклоалкил, гетероциклоалкил, арил и гетероарил необязательно является замещенным и содержит один, два или три атома галогена,  $C_1$ - $C_6$ -алкил,  $C_1$ - $C_6$ -галогеналкил, -ОН, -ОМе или -NH<sub>2</sub>;

или  $R^c$  и  $R^d$ , вместе с атомом азота, к которому они присоединены, образуют гетероциклоалкил или гетероарил; причем гетероциклоалкил и гетероарил необязательно является замещенным и содержит один, два или три атома галогена,  $C_1$ - $C_6$ -алкил,  $C_1$ - $C_6$ -галогеналкил, -ОН, -ОМе или -NH<sub>2</sub>.

45. Пептидный конъюгат по п. 44, в котором А представляет собой необязательно замещенный алкилен.

46. Пептидный конъюгат по п. 44 или 45, в котором А представляет собой  $-(CH_2)_t-$ , причем  $t$  составляет от 1 до 12.

47. Пептидный конъюгат по п. 44, в котором А представляет собой необязательно замещенный арилен.

48. Пептидный конъюгат по п. 44, в котором А представляет собой  $-NR^3$ -алкилен- $NR^3$ -.

49. Пептидный конъюгат по п. 44, в котором А представляет собой -N-.

50. Пептидный конъюгат по любому из пп. 44-49, в котором  $X^1$  и  $X^2$  представляют собой  $-C(=O)-$ .

51. Пептидный конъюгат по любому из пп. 44-49, в котором  $X^1$  и  $X^2$  представляют собой  $-алкилен-C(=O)-$ .

52. Пептидный конъюгат по любому из пп. 44-49, в котором  $X^1$  и  $X^2$  представляют собой  $-CH_2-C(=O)-$ .

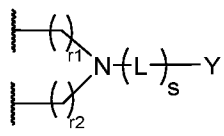
53. Пептидный конъюгат по любому из пп. 44-49, в котором  $X^1$  и  $X^2$  независимо представляют собой  $-алкилен-C(=O)NR^3$ -.

54. Пептидный конъюгат по любому из пп. 44-49, в котором  $X^1$  и  $X^2$  независимо представляют собой  $-\text{CH}_2-\text{C}(=\text{O})\text{NR}^3-$ .

55. Пептидный конъюгат по любому из пп. 44-49, в котором  $X^1$  и  $X^2$  независимо представляют собой  $-\text{алкилен}-\text{C}(=\text{O})\text{NR}^3-\text{алкилен}-$ .

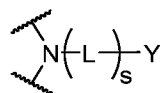
56. Пептидный конъюгат по любому из пп. 44-49, в котором  $X^1$  и  $X^2$  независимо представляют собой  $-\text{CH}_2-\text{C}(=\text{O})\text{NR}^3-\text{CH}_2\text{CH}_2-$ .

57. Пептидный конъюгат по любому из пп. 44-56, в котором  $>\text{A-R}$  имеет следующую структуру:

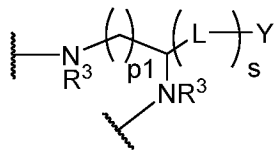


причем  $r_1$  и  $r_2$  каждый независимо составляет от 0 до 4.

58. Пептидный конъюгат по любому из пп. 44-56, в котором  $>\text{A-R}$  имеет следующую структуру:

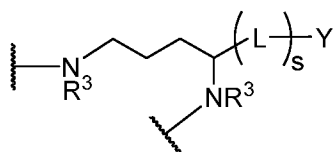


59. Пептидный конъюгат по любому из пп. 44-56, в котором  $>\text{A-R}$  имеет следующую структуру:

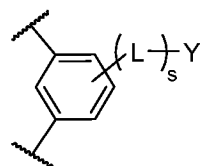


причем  $p_1$  составляет от 1 до 5.

60. Пептидный конъюгат по любому из пп. 44-56, в котором  $>\text{A-R}$  имеет следующую структуру:



61. Пептидный конъюгат по любому из пп. 44-56, в котором  $>\text{A-R}$  имеет следующую структуру:



62. Пептидный конъюгат по любому из пп. 44-61, в котором  $s$  составляет от 1 до 15.

63. Пептидный конъюгат по любому из пп. 44-62, в котором  $s$  составляет от 1 до 10.

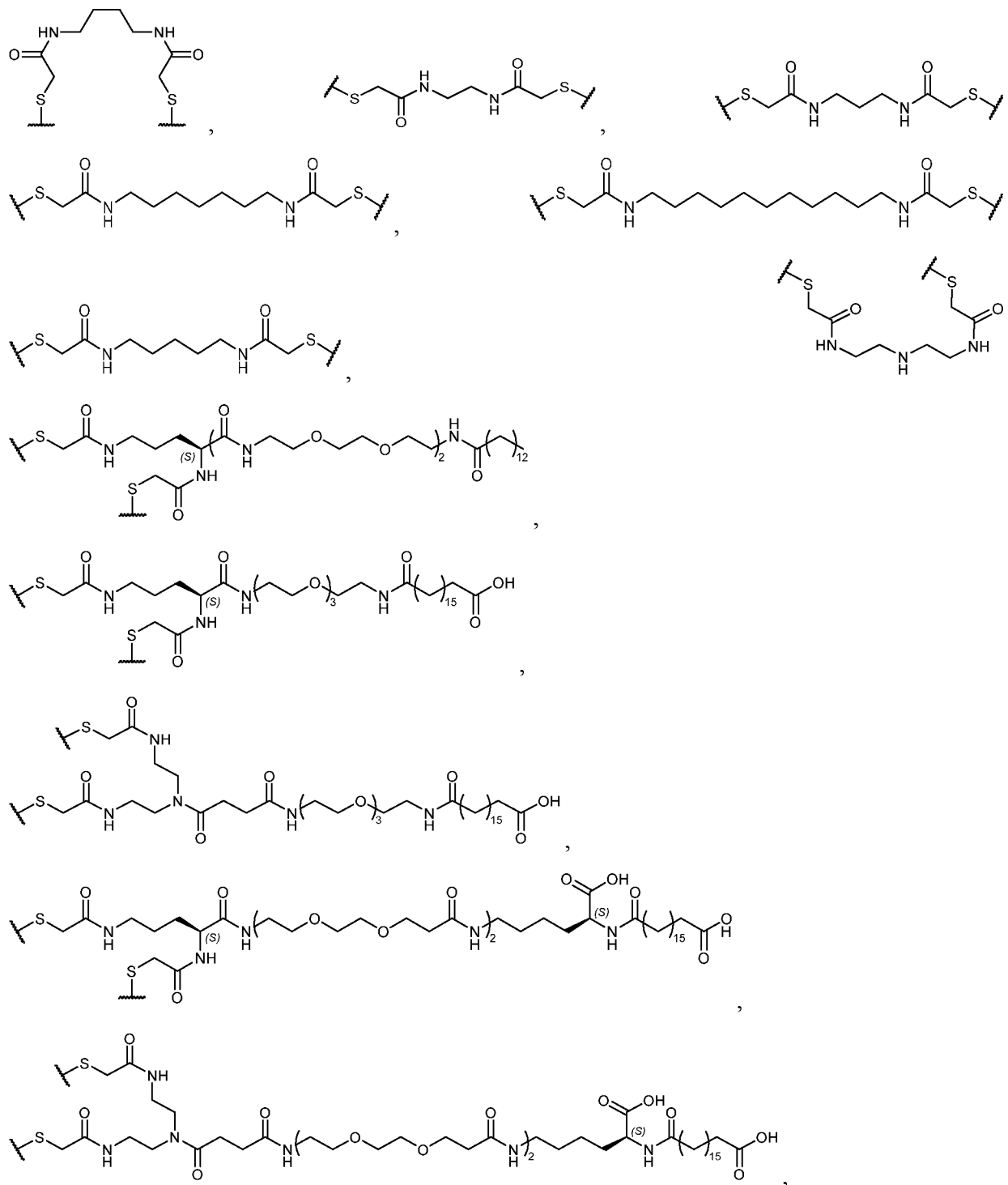
64. Пептидный конъюгат по любому из пп. 44-62, в котором  $s$  составляет от 5 до 15.

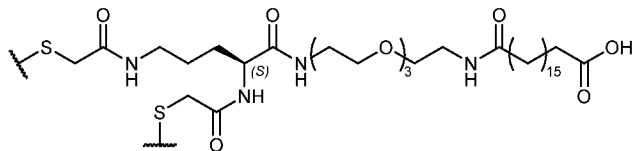
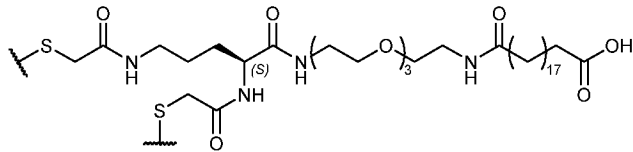
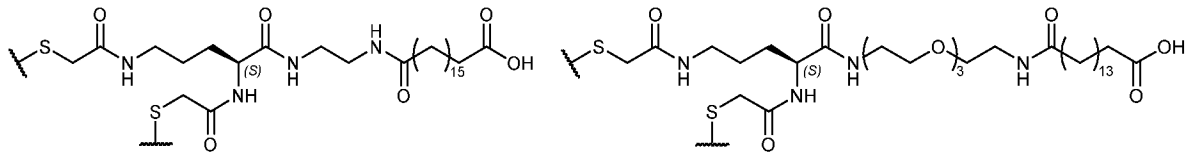
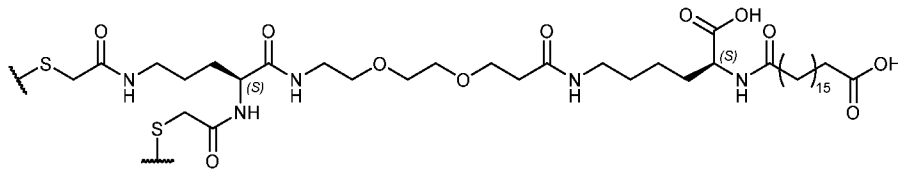
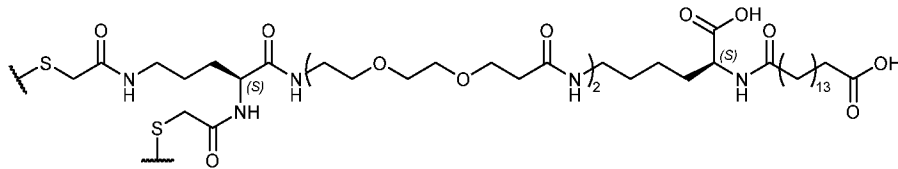
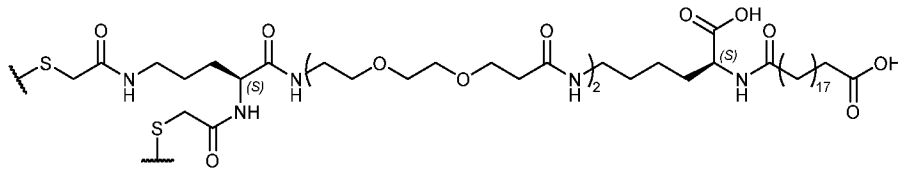
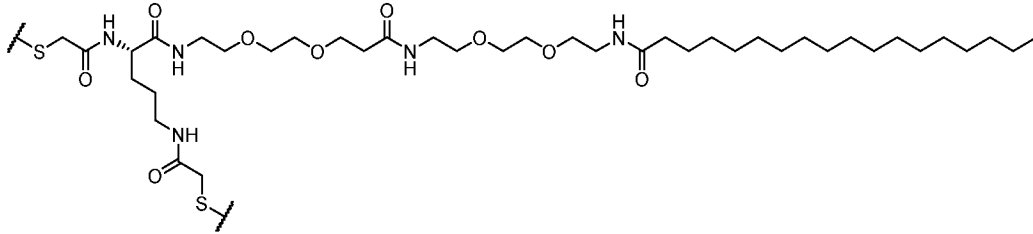
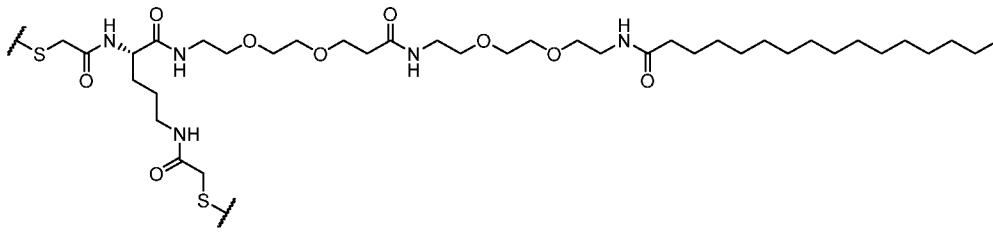
65. Пептидный конъюгат по любому из пп. 44-62, в котором  $s$  составляет от 5 до 10.

66. Пептидный конъюгат по любому из пп. 44-65, в котором  $Y$  представляет собой водород или  $-CO^2H$ .

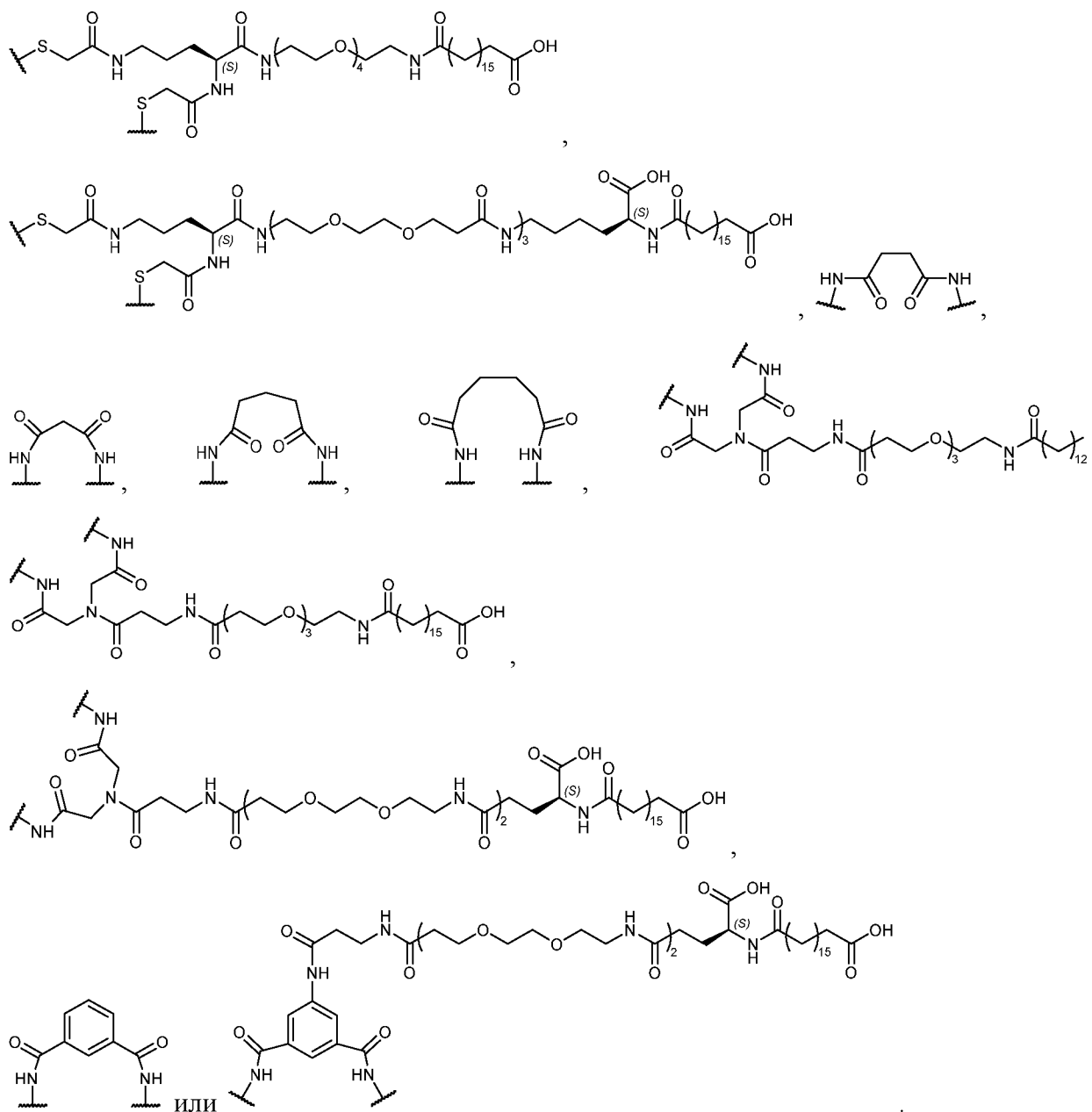
67. Пептидный конъюгат по любому из пп. 44-66, в котором каждый  $L$  независимо представляет собой  $-(CR^1R^2)_v-$ ,  $-алкилен-O-$ ,  $-C(=O)-$ ,  $-C(=O)NR^3-$ ,  $-NR^3C(=O)-$ ,  $-алкилен-C(=O)NR^3-$  или  $-алкилен-NR^3C(=O)-$ ; и  $v$  составляет от 2 до 20.

68. Пептидный конъюгат по п. 1, причем пептидный конъюгат имеет структуру:

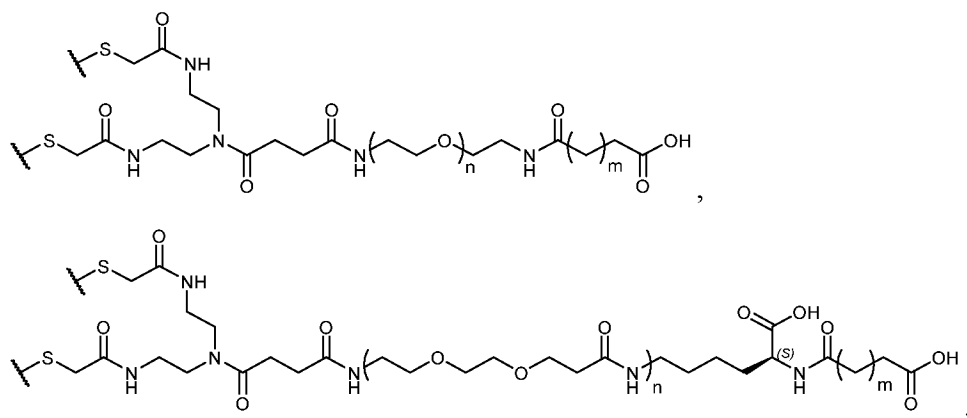


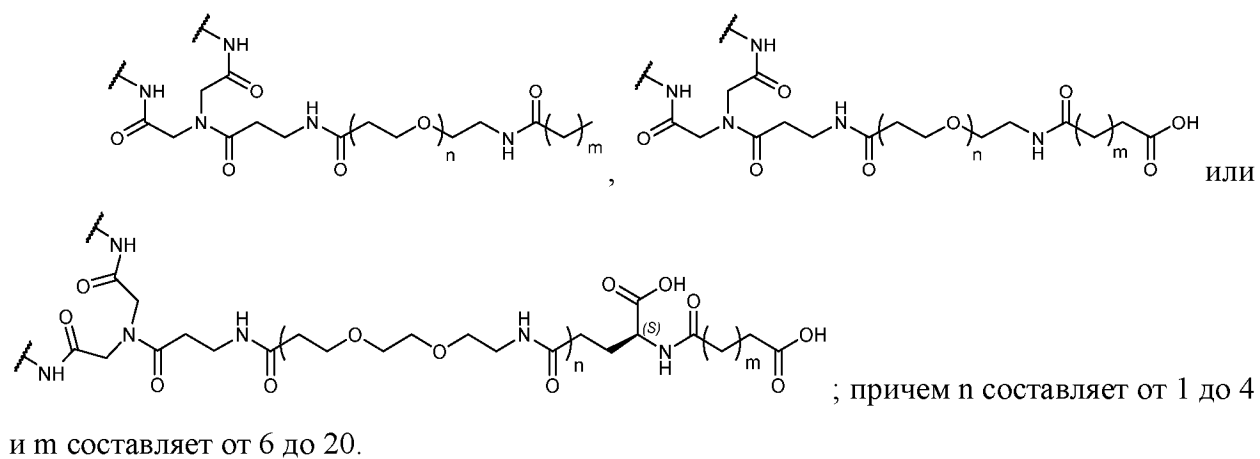




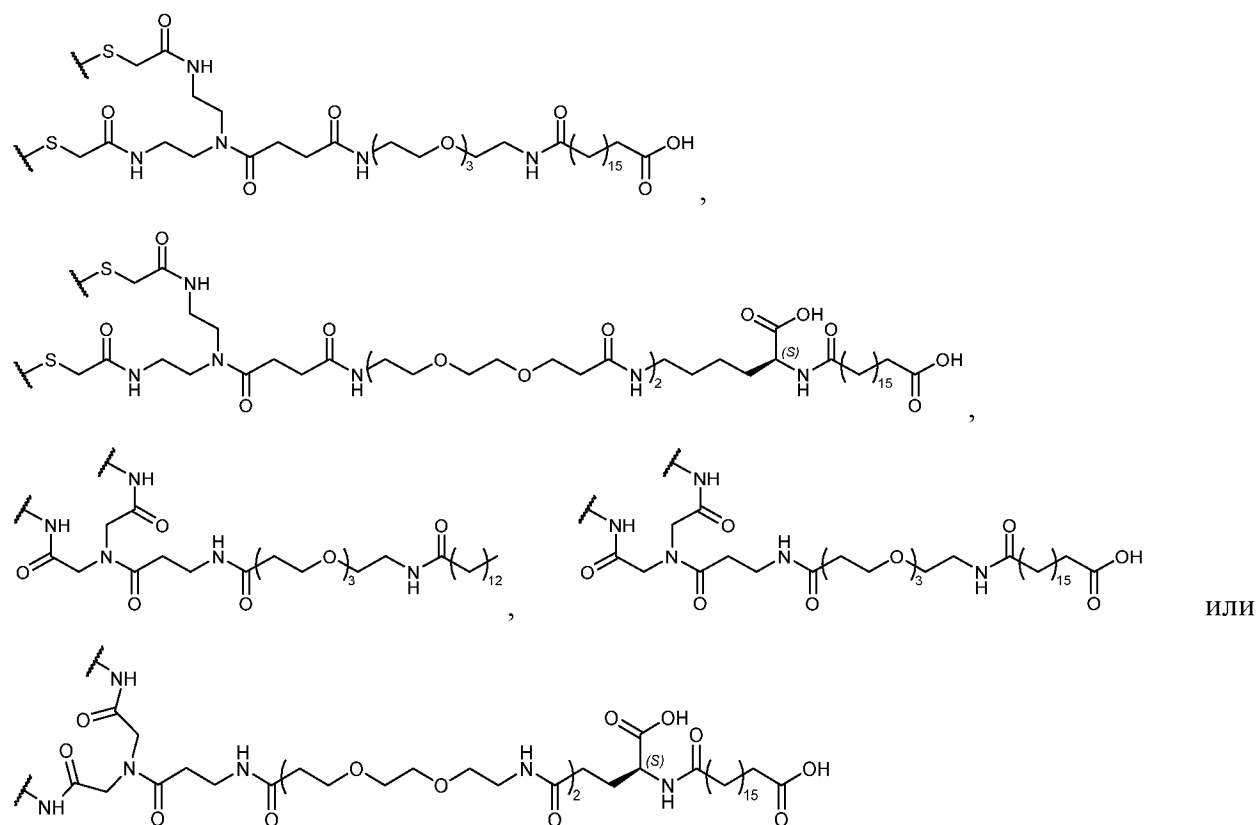


69. Пептидный конъюгат по п. 1, причем пептидный конъюгат имеет структуру:

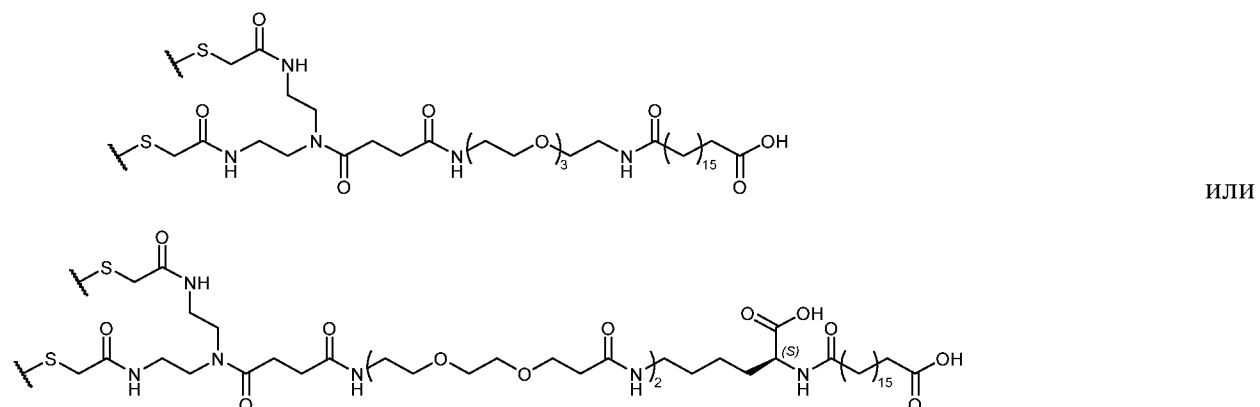




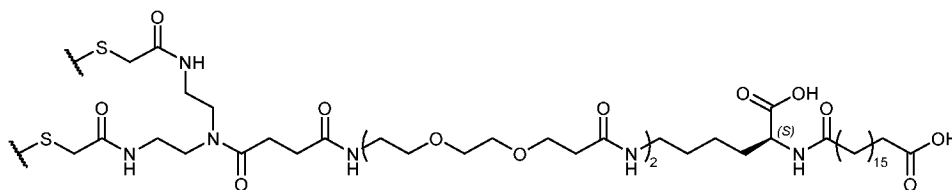
70. Пептидный конъюгат по п. 1, причем пептидный конъюгат имеет структуру:



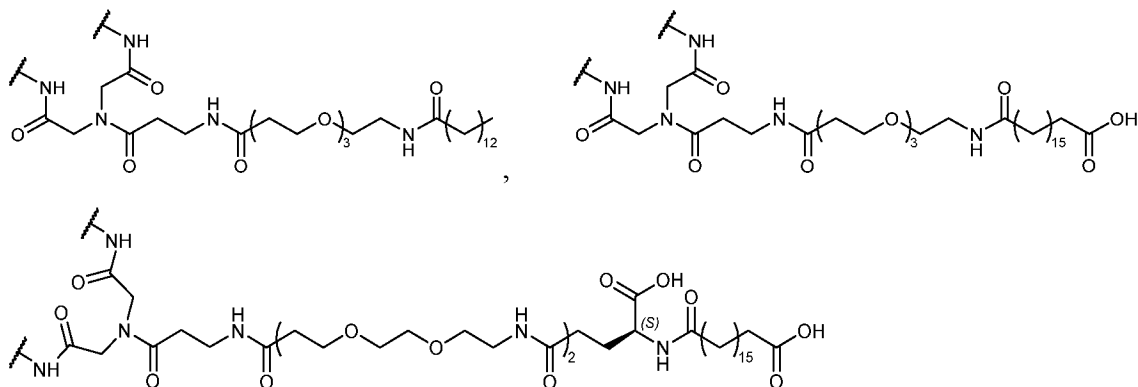
71. Пептидный конъюгат по п. 1, причем пептидный конъюгат имеет структуру:



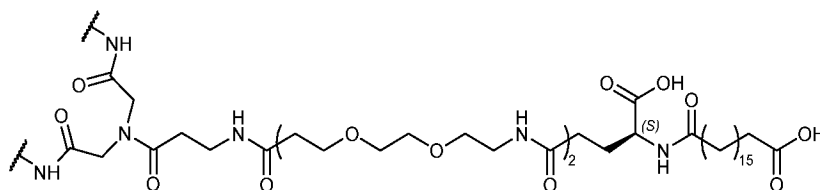
72. Пептидный конъюгат по п. 1, причем пептидный конъюгат имеет структуру:



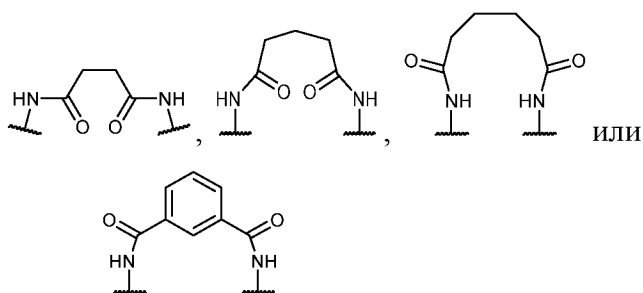
73. Пептидный конъюгат по п. 1, причем пептидный конъюгат имеет структуру:



74. Пептидный конъюгат по п. 1, причем пептидный конъюгат имеет структуру:



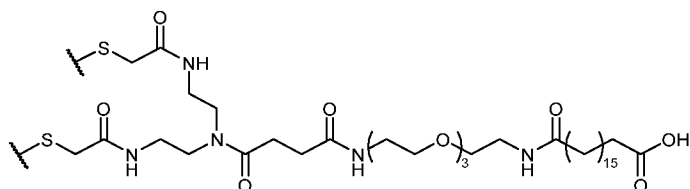
75. Пептидный конъюгат по п. 1, причем пептидный конъюгат имеет структуру:



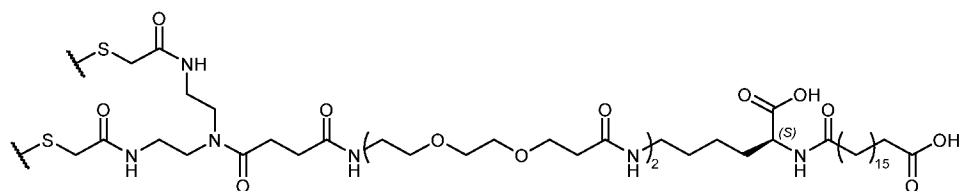
76. Пептидный конъюгат по п. 1, причем пептидный конъюгат содержит:

а) пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержащий последовательность, которая представляет собой любую из последовательностей SEQ ID NO: 1-9, 21-29; и

б) сшивающий фрагмент, присоединенный к пептиду через первый цистеин и второй цистеин, имеющий следующую структуру («S» представляет собой часть цистеинового остатка):



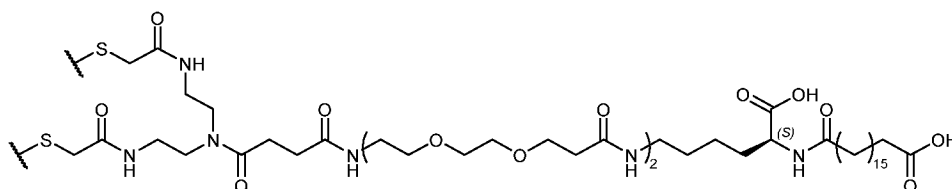
ИЛИ



77. Пептидный конъюгат по п. 1, причем пептидный конъюгат содержит:

а) пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержащий последовательность, которая представляет собой SEQ ID NO: 1 или 21; и

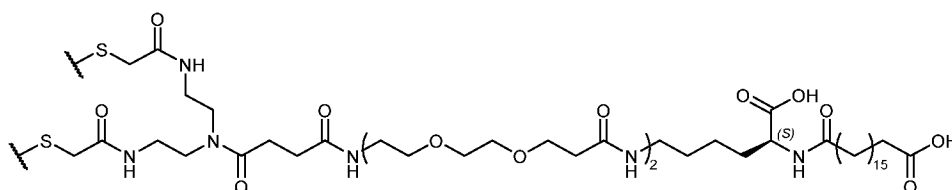
б) сшивающий фрагмент, присоединенный к пептиду через первый цистеин и второй цистеин, имеющий следующую структуру («S» представляет собой часть цистеинового остатка):



78. Пептидный конъюгат по п. 1, причем пептидный конъюгат содержит:

а) пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержащий последовательность, которая представляет собой SEQ ID NO: 2 или 22; и

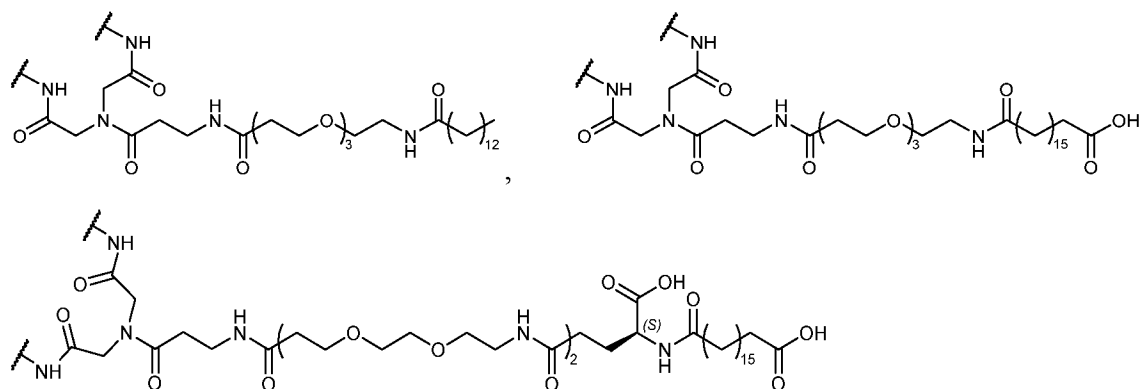
б) сшивающий фрагмент, присоединенный к пептиду через первый цистеин и второй цистеин, имеющий следующую структуру («S» представляет собой часть цистеинового остатка):



79. Пептидный конъюгат по п. 1, причем пептидный конъюгат содержит:

а) пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержащий последовательность, которая представляет собой любую из последовательностей SEQ ID NO: 10-20, 30-40; и

б) сшивающий фрагмент, присоединенный к пептиду через первый лизин и второй лизин, имеющий следующую структуру («NH» представляет собой часть лизинового остатка):

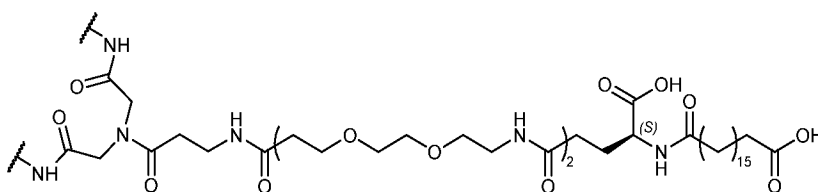


или

80. Пептидный конъюгат по п. 1, причем пептидный конъюгат содержит:

а) пептид, который модулирует рецептор GLP-2, содержащий последовательность, которая представляет собой SEQ ID NO: 10 или 30; и

б) сшивающий фрагмент, присоединенный к пептиду через первый лизин и второй лизин, имеющий следующую структуру («NH» представляет собой часть лизинового остатка):



81. Фармацевтическая композиция, содержащая пептидный конъюгат по любому из пп. 1-80 и фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество.

82. Способ лечения заболевания или состояния у нуждающегося в этом субъекта, причем способ включает введение субъекту композиции, содержащей терапевтически эффективное количество пептидного конъюгата по любому из пп. 1-80.

83. Способ по п. 81, в котором заболевание или состояние представляет собой диабет или ожирение, или медицинское состояние, связанное с диабетом или ожирением.

84. Способ по п. 82, в котором заболевание или состояние представляет собой неалкогольную жировую болезнь печени (NAFLD), неалкогольный стеатогепатит (NASH) или сердечно-сосудистое заболевание.

85. Способ по п. 82, в котором заболевание или состояние представляет собой желудочно-кишечное нарушение.

86. Способ по п. 85, в котором желудочно-кишечное нарушение представляет собой синдром короткого кишечника (SBS), воспалительный кишечный синдром (IBS) или воспалительное заболевание кишечника (IBD).

87. Способ по п. 86, в котором воспалительное заболевание кишечника (IBD) представляет собой болезнь Крона.

88. Способ по п. 86, в котором воспалительное заболевание кишечника (IBD) представляет собой язвенный колит.

89. Способ по п. 82, в котором заболевание или состояние представляет собой псориаз.

90. Способ по п. 82, в котором заболевание или состояние представляет собой болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона или болезнь Хантингтона.

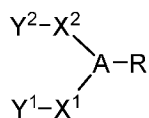
91. Способ по п. 82, в котором нуждающийся в лечении субъект проходит курс химиотерапии.

92. Способ по п. 82, в котором нуждающийся в лечении субъект имеет вызванное облучением воспаление слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта.

93. Способ по п. 82, в котором нуждающийся в лечении субъект имеет вызванную химиотерапией диарею (CID).

94. Способ по п. 82, в котором нуждающийся в лечении субъект имеет вызванную полностью парентеральным питанием (TPN) кишечную атрофию.

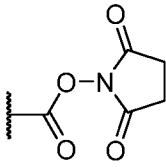
95. Сшивающий фрагмент формулы:



причем

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

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

$Y^1$  и  $Y^2$  независимо представляют собой галоген,  $-COOH$ , , или независимо представляют собой фрагмент  $-S-$  содержащей сульфгидрильную группу аминокислоты или  $-CONH-$ , причем  $-NH-$  представляет собой часть содержащей аминогруппу аминокислоты в пептиде, который модулирует рецептор GLP-2;

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

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

,  $-\text{NR}^3\text{C}(=\text{O})-$ ,  $-\text{NR}^3\text{C}(=\text{O})\text{NR}^3-$ ,  $-\text{NR}^3\text{C}(=\text{O})\text{NR}^3$ -алкилен-,  $-\text{NR}^3\text{C}(=\text{O})$ -алкилен- $\text{NR}^3-$ , алкилен- $\text{C}(=\text{O})\text{NR}^3-$ ,  $-\text{C}(=\text{O})\text{NR}^3$ -алкилен-, алкилен- $\text{NR}^3\text{C}(=\text{O})-$  или  $-\text{NR}^3\text{C}(=\text{O})$ -алкилен-;

v составляет от 2 до 20;

каждый  $\text{R}^1$  или  $\text{R}^2$  независимо представляет собой водород, галоген,  $-\text{CN}$ ,  $-\text{OR}^a$ ,  $-\text{SR}^a$ ,  $-\text{S}(=\text{O})\text{R}^b$ ,  $-\text{NO}_2$ ,  $-\text{NR}^c\text{R}^d$ ,  $-\text{S}(=\text{O})_2\text{R}^d$ ,  $-\text{NR}^a\text{S}(=\text{O})_2\text{R}^d$ ,  $-\text{S}(=\text{O})_2\text{NR}^c\text{R}^d$ ,  $-\text{C}(=\text{O})\text{R}^b$ ,  $-\text{OC}(=\text{O})\text{R}^b$ ,  $-\text{CO}_2\text{R}^a$ ,  $-\text{OCO}_2\text{R}^a$ ,  $-\text{C}(=\text{O})\text{NR}^c\text{R}^d$ ,  $-\text{OC}(=\text{O})\text{NR}^c\text{R}^d$ ,  $-\text{NR}^a\text{C}(=\text{O})\text{NR}^c\text{R}^d$ ,  $-\text{NR}^a\text{C}(=\text{O})\text{R}^b$ ,  $-\text{NR}^a\text{C}(=\text{O})\text{OR}^a$ ,  $\text{C}_1$ - $\text{C}_6$ -алкил,  $\text{C}_2$ - $\text{C}_6$ -алкенил,  $\text{C}_2$ - $\text{C}_6$ -алкинил,  $\text{C}_1$ - $\text{C}_6$ -гетероалкил,  $\text{C}_3$ - $\text{C}_8$ -циклоалкил,  $\text{C}_2$ - $\text{C}_8$ -гетероциклоалкил, арил или гетероарил; причем алкил, алкенил, алкинил и гетероалкил необязательно является замещенным и содержит один, два или три атома галогена,  $-\text{OR}^a$  или  $-\text{NR}^c\text{R}^d$ ; и циклоалкил, гетероциклоалкил, арил и гетероарил необязательно является замещенным и содержит один, два или три атома галогена,  $\text{C}_1$ - $\text{C}_6$ -алкил,  $\text{C}_1$ - $\text{C}_6$ -галогеналкил,  $-\text{OR}^a$  или  $-\text{NR}^c\text{R}^d$ ;

или  $\text{R}^1$  и  $\text{R}^2$  совместно образуют  $\text{C}_1$ - $\text{C}_6$ -циклоалкил или  $\text{C}_1$ - $\text{C}_6$ -гетероциклоалкил;

каждый  $\text{R}^3$  независимо представляет собой водород,  $-\text{S}(=\text{O})\text{R}^b$ ,  $-\text{S}(=\text{O})_2\text{R}^a$ ,  $-\text{S}(=\text{O})_2\text{NR}^c\text{R}^d$ ,  $-\text{C}(=\text{O})\text{R}^b$ ,  $-\text{CO}_2\text{R}^a$ ,  $-\text{C}(=\text{O})\text{NR}^c\text{R}^d$ ,  $\text{C}_1$ - $\text{C}_6$ -алкил,  $\text{C}_2$ - $\text{C}_6$ -алкенил,  $\text{C}_2$ - $\text{C}_6$ -алкинил,  $\text{C}_1$ - $\text{C}_6$ -гетероалкил,  $\text{C}_3$ - $\text{C}_8$ -циклоалкил,  $\text{C}_2$ - $\text{C}_8$ -гетероциклоалкил, арил или гетероарил; причем алкил, алкенил, алкинил и гетероалкил необязательно является замещенным и содержит один, два или три атома галогена,  $-\text{OR}^a$  или  $-\text{NR}^c\text{R}^d$ ; и циклоалкил, гетероциклоалкил, арил и гетероарил необязательно является замещенным и содержит один, два или три атома галогена,  $\text{C}_1$ - $\text{C}_6$ -алкил,  $\text{C}_1$ - $\text{C}_6$ -галогеналкил,  $-\text{OR}^a$  или  $-\text{NR}^c\text{R}^d$ ;

Y представляет собой водород,  $\text{C}_1$ - $\text{C}_6$ -алкил,  $-\text{CO}_2\text{H}$ ,  $-\text{CO}_2(\text{C}_1$ - $\text{C}_6$ -алкил),  $-\text{CO}_2\text{NH}_2$ ,  $-\text{CO}_2\text{N}(\text{алкил})_2$  или  $-\text{CO}_2\text{NH}(\text{алкил})$ ;

s составляет от 0 до 20;

$\text{R}^a$  представляет собой водород,  $\text{C}_1$ - $\text{C}_6$ -алкил,  $\text{C}_2$ - $\text{C}_6$ -алкенил,  $\text{C}_2$ - $\text{C}_6$ -алкинил,  $\text{C}_1$ - $\text{C}_6$ -гетероалкил,  $\text{C}_3$ - $\text{C}_8$ -циклоалкил,  $\text{C}_2$ - $\text{C}_8$ -гетероциклоалкил, арил или гетероарил; причем алкил, алкенил, алкинил и гетероалкил необязательно является замещенным и содержит один, два или три атома галогена,  $-\text{OH}$ ,  $-\text{OMe}$  или  $-\text{NH}_2$ ; и циклоалкил, гетероциклоалкил, арил и гетероарил необязательно является замещенным и содержит один, два или три атома галогена,  $\text{C}_1$ - $\text{C}_6$ -алкил,  $\text{C}_1$ - $\text{C}_6$ -галогеналкил,  $-\text{OH}$ ,  $-\text{OMe}$  или  $-\text{NH}_2$ ;

$\text{R}^b$  представляет собой  $\text{C}_1$ - $\text{C}_6$ -алкил,  $\text{C}_2$ - $\text{C}_6$ -алкенил,  $\text{C}_2$ - $\text{C}_6$ -алкинил,  $\text{C}_1$ - $\text{C}_6$ -гетероалкил,  $\text{C}_3$ - $\text{C}_8$ -циклоалкил,  $\text{C}_2$ - $\text{C}_8$ -гетероциклоалкил, арил или гетероарил; причем алкил, алкенил, алкинил и гетероалкил необязательно является замещенным и содержит один, два или три атома галогена,  $-\text{OH}$ ,  $-\text{OMe}$  или  $-\text{NH}_2$ ; и циклоалкил, гетероциклоалкил, арил и гетероарил необязательно является замещенным и содержит один, два или три атома галогена,  $\text{C}_1$ - $\text{C}_6$ -алкил,  $\text{C}_1$ - $\text{C}_6$ -галогеналкил,  $-\text{OH}$ ,  $-\text{OMe}$  или  $-\text{NH}_2$ ; и

каждый  $R^c$  и  $R^d$  независимо представляет собой водород,  $C_1$ - $C_6$ -алкил,  $C_2$ - $C_6$ -алкенил,  $C_2$ - $C_6$ -алкинил,  $C_1$ - $C_6$ -гетероалкил,  $C_3$ - $C_8$ -циклоалкил,  $C_2$ - $C_8$ -гетероциклоалкил, арил или гетероарил; причем алкил, алкенил, алкинил и гетероалкил необязательно является замещенным и содержит один, два или три атома галогена, -ОН, -ОМе или -NH<sub>2</sub>; и циклоалкил, гетероциклоалкил, арил и гетероарил необязательно является замещенным и содержит один, два или три атома галогена,  $C_1$ - $C_6$ -алкил,  $C_1$ - $C_6$ -галогеналкил, -ОН, -ОМе или -NH<sub>2</sub>;

или  $R^c$  и  $R^d$ , вместе с атомом азота, к которому они присоединены, образуют гетероциклоалкил или гетероарил; причем гетероциклоалкил и гетероарил необязательно является замещенным и содержит один, два или три атома галогена,  $C_1$ - $C_6$ -алкил,  $C_1$ - $C_6$ -галогеналкил, -ОН, -ОМе или -NH<sub>2</sub>.

96. Сшивающий фрагмент по п. 95, в котором А представляет собой необязательно замещенный алкилен.

97. Сшивающий фрагмент по п. 95 или 96, в котором А представляет собой  $-(CH_2)_t-$ , причем t составляет от 1 до 12.

98. Сшивающий фрагмент по п. 95, в котором А представляет собой необязательно замещенный арилен.

99. Сшивающий фрагмент по п. 95, в котором А представляет собой  $-NR^3$ -алкилен- $NR^3$ -.

100. Сшивающий фрагмент по п. 95, в котором А представляет собой -N-.

101. Сшивающий фрагмент по любому из пп. 95-100, в котором  $X^1$  и  $X^2$  представляют собой  $-C(=O)-$ .

102. Сшивающий фрагмент по любому из пп. 95-100, в котором  $X^1$  и  $X^2$  представляют собой -алкилен- $C(=O)-$ .

103. Сшивающий фрагмент по любому из пп. 95-100, в котором  $X^1$  и  $X^2$  представляют собой  $-CH_2-C(=O)-$ .

104. Сшивающий фрагмент по любому из пп. 95-100, в котором  $X^1$  и  $X^2$  независимо представляют собой -алкилен- $C(=O)NR^3$ -.

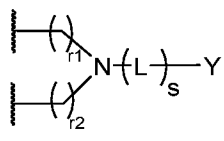
105. Сшивающий фрагмент по любому из пп. 95-100, в котором  $X^1$  и  $X^2$  независимо представляют собой  $-CH_2-C(=O)NR^3$ -.

106. Сшивающий фрагмент по любому из пп. 95-100, в котором  $X^1$  и  $X^2$  независимо представляют собой -алкилен- $C(=O)NR^3$ -алкилен-.

107. Сшивающий фрагмент по любому из пп. 95-100, в котором  $X^1$  и  $X^2$  независимо представляют собой  $-CH_2-C(=O)NR^3-CH_2CH^2$ -.

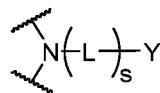


108. Сшивающий фрагмент по любому из пп. 95-107, в котором >A-R имеет следующую структуру:

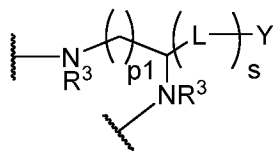


причем r1 и r2 каждый независимо составляет от 0 до 4.

109. Сшивающий фрагмент по любому из пп. 95-107, в котором >A-R имеет следующую структуру:

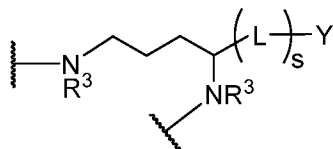


110. Сшивающий фрагмент по любому из пп. 95-107, в котором >A-R имеет следующую структуру:

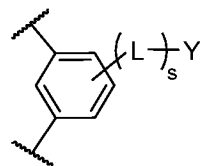


причем p1 составляет от 1 до 5.

111. Сшивающий фрагмент по любому из пп. 95-107, в котором >A-R имеет следующую структуру:



112. Сшивающий фрагмент по любому из пп. 95-107, в котором >A-R имеет следующую структуру:



113. Сшивающий фрагмент по любому из пп. 95-112, в котором s составляет от 1 до 15.

114. Сшивающий фрагмент по любому из пп. 95-113, в котором s составляет от 1 до 10.

115. Сшивающий фрагмент по любому из пп. 95-113, в котором s составляет от 5 до 15.

116. Сшивающий фрагмент по любому из пп. 95-113, в котором s составляет от 5 до 10.

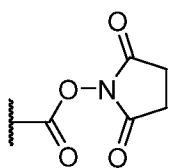
117. Сшивающий фрагмент по любому из пп. 95-116, в котором Y представляет собой водород или  $-\text{CO}_2\text{H}$ .

118. Сшивающий фрагмент по любому из пп. 95-117, в котором каждый L независимо представляет собой  $-(\text{CR}^1\text{R}^2)_v-$ , -алкилен-O-,  $-\text{C}(=\text{O})-$ ,  $-\text{C}(=\text{O})\text{NR}^3-$ ,  $-\text{NR}^3\text{C}(=\text{O})-$ , -алкилен- $\text{C}(=\text{O})\text{NR}^3-$  или -алкилен- $\text{NR}^3\text{C}(=\text{O})-$ ; и v составляет от 2 до 20.

119. Сшивающий фрагмент по п. 94-118, в котором  $\text{Y}^1$  и  $\text{Y}^2$  представляют собой галоген.

120. Сшивающий фрагмент по п. 94-118, в котором  $\text{Y}^1$  и  $\text{Y}^2$  представляют собой  $-\text{COOH}$ .

121. Сшивающий фрагмент по п. 95-118, в котором  $\text{Y}^1$  и  $\text{Y}^2$  представляют собой



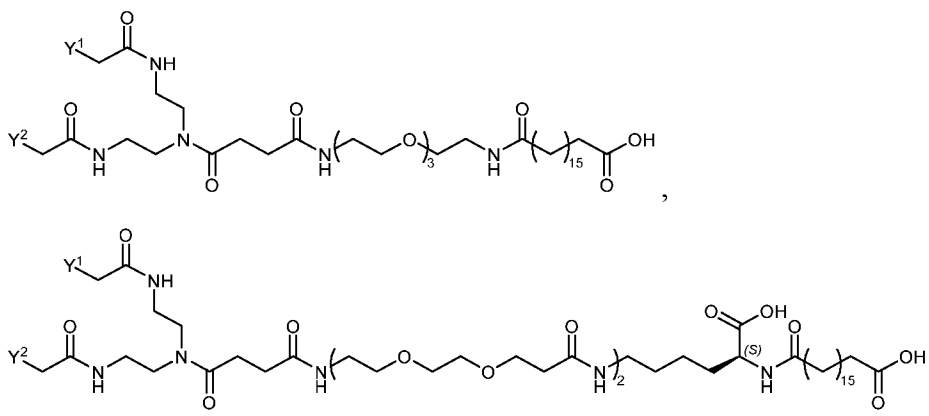
122. Сшивающий фрагмент по п. 95-118, в котором  $\text{Y}^1$  и  $\text{Y}^2$  представляют собой фрагменты -S- двух содержащих сульфгидрильную группу аминокислот в пептиде, который модулирует рецептор GLP-2.

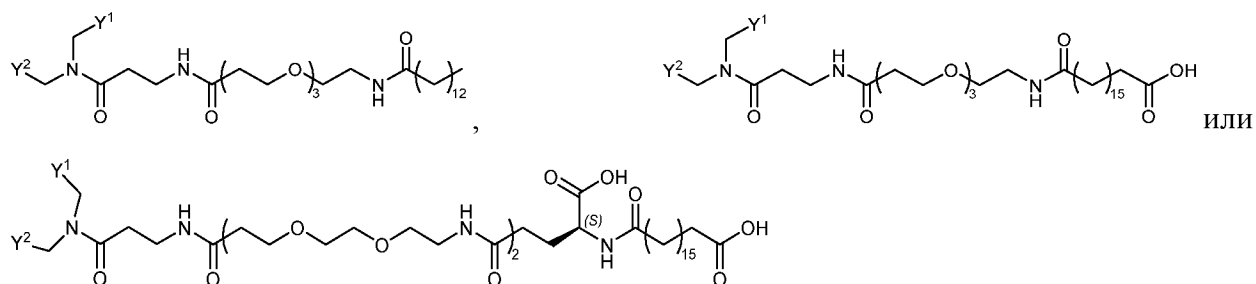
123. Сшивающий фрагмент по п. 95-118, в котором  $\text{Y}^1$  и  $\text{Y}^2$  представляют собой фрагменты -S- двух содержащих сульфгидрильную группу аминокислот в пептиде, который модулирует рецептор GLP-2, которые разделяют 7 аминокислот.

124. Сшивающий фрагмент по п. 95-118, в котором  $\text{Y}^1$  и  $\text{Y}^2$  представляют собой  $-\text{CONH}-$  в котором  $-\text{NH}-$  представляет собой часть двух содержащих аминокислот в пептиде, который модулирует рецептор GLP-2.

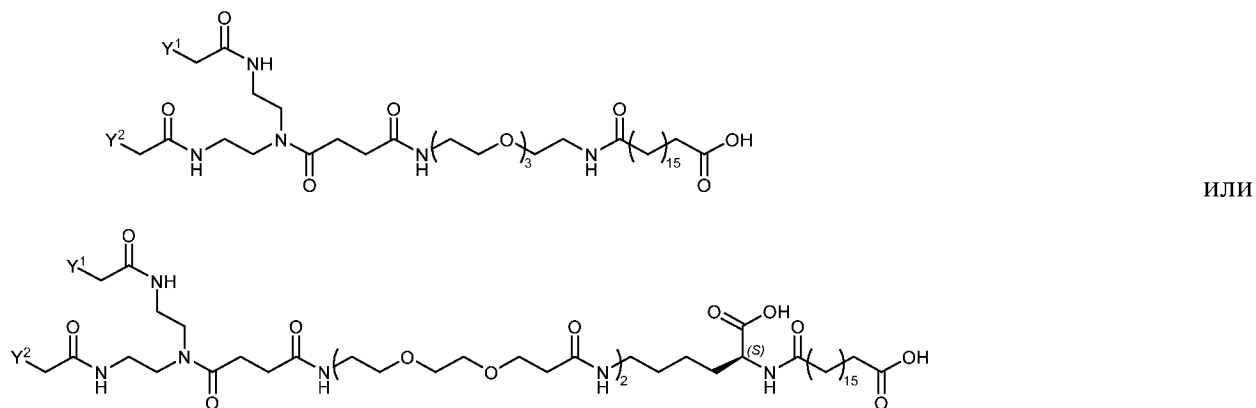
125. Сшивающий фрагмент по п. 95-118, в котором  $\text{Y}^1$  и  $\text{Y}^2$  представляет собой  $-\text{CONH}-$ , причем  $-\text{NH}-$  представляет собой часть двух содержащих аминокислот в пептиде, который модулирует рецептор GLP-2, которые разделяют 7 аминокислот.

126. Сшивающий фрагмент по п. 95, имеющий структуру:

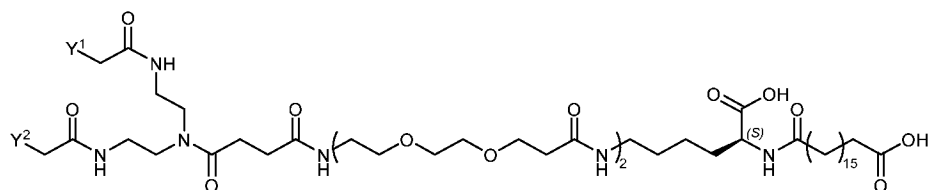




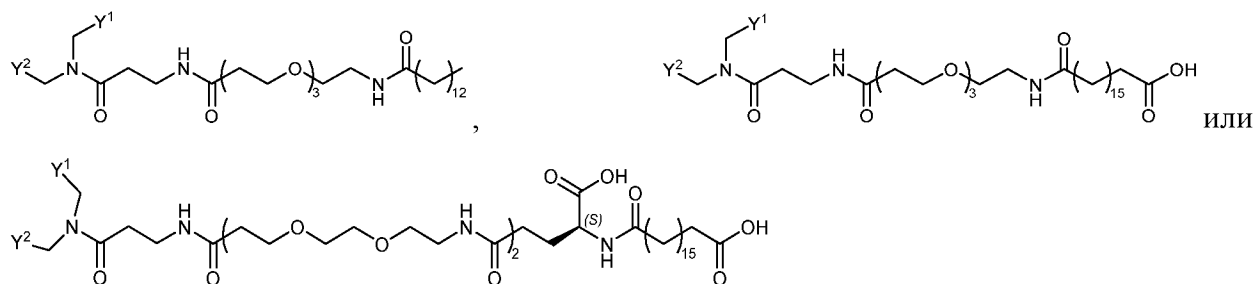
127. Сшивающий фрагмент по п. 95, имеющий структуру:



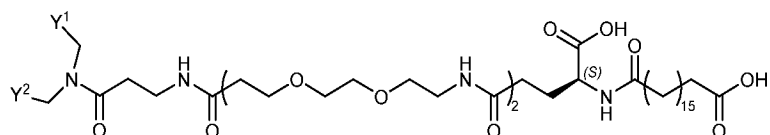
128. Сшивающий фрагмент по п. 95, имеющий структуру:



129. Сшивающий фрагмент по п. 95, имеющий структуру:



130. Сшивающий фрагмент по п. 95, имеющий структуру:



131. Пептидная последовательность, которая представляет собой SEQ ID NO: 1.

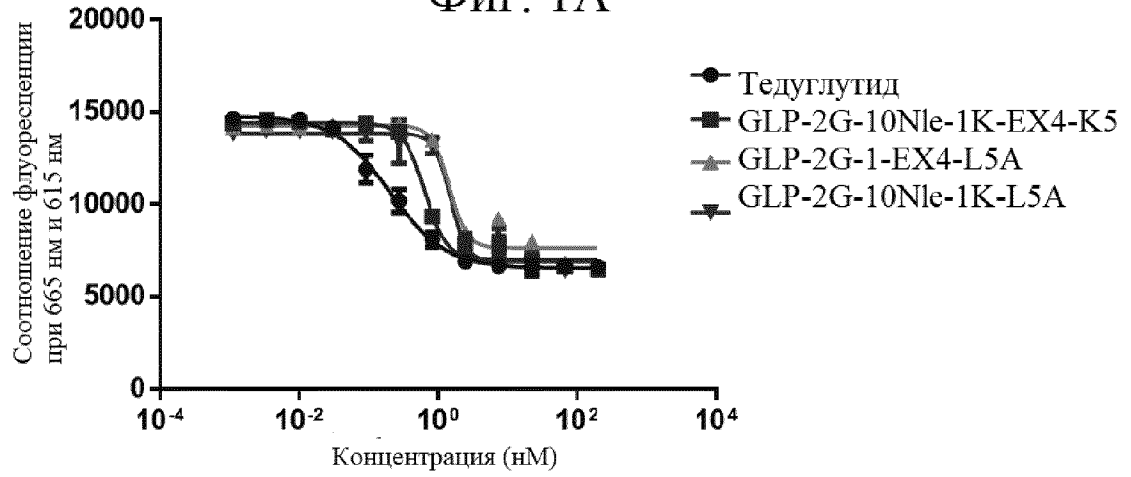
132. Пептидная последовательность, которая представляет собой SEQ ID NO: 2.

133. Пептидная последовательность, которая представляет собой SEQ ID NO: 3.

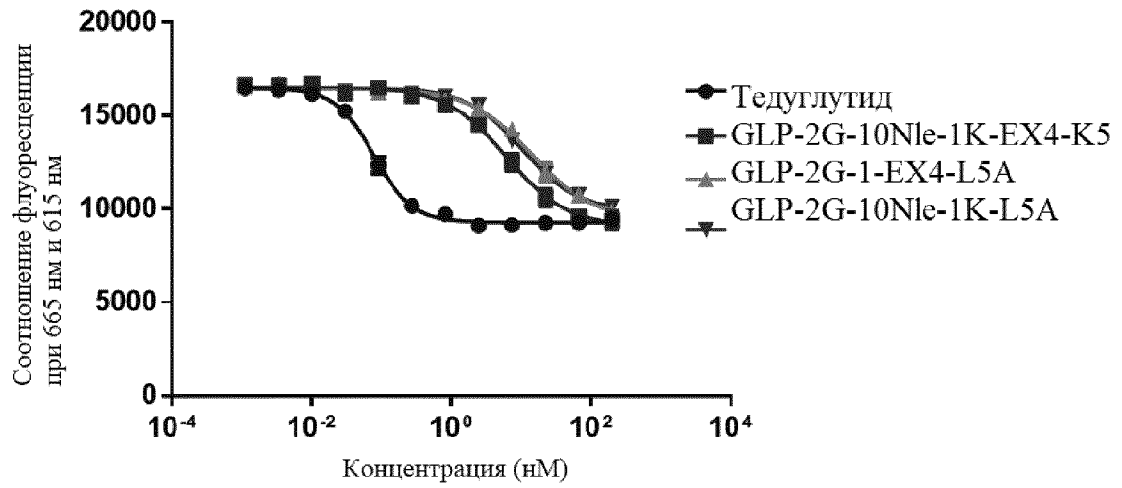
134. Пептидная последовательность, которая представляет собой SEQ ID NO: 4.

135. Пептидная последовательность, которая представляет собой SEQ ID NO: 5.
136. Пептидная последовательность, которая представляет собой SEQ ID NO: 6.
137. Пептидная последовательность, которая представляет собой SEQ ID NO: 7.
138. Пептидная последовательность, которая представляет собой SEQ ID NO: 8.
139. Пептидная последовательность, которая представляет собой SEQ ID NO: 9.
140. Пептидная последовательность, которая представляет собой SEQ ID NO: 10.
141. Пептидная последовательность, которая представляет собой SEQ ID NO: 11.
142. Пептидная последовательность, которая представляет собой SEQ ID NO: 12.
143. Пептидная последовательность, которая представляет собой SEQ ID NO: 13.
144. Пептидная последовательность, которая представляет собой SEQ ID NO: 14.
145. Пептидная последовательность, которая представляет собой SEQ ID NO: 15.
146. Пептидная последовательность, которая представляет собой SEQ ID NO: 16.
147. Пептидная последовательность, которая представляет собой SEQ ID NO: 17.
148. Пептидная последовательность, которая представляет собой SEQ ID NO: 18.
149. Пептидная последовательность, которая представляет собой SEQ ID NO: 19.
150. Пептидная последовательность, которая представляет собой SEQ ID NO: 20.

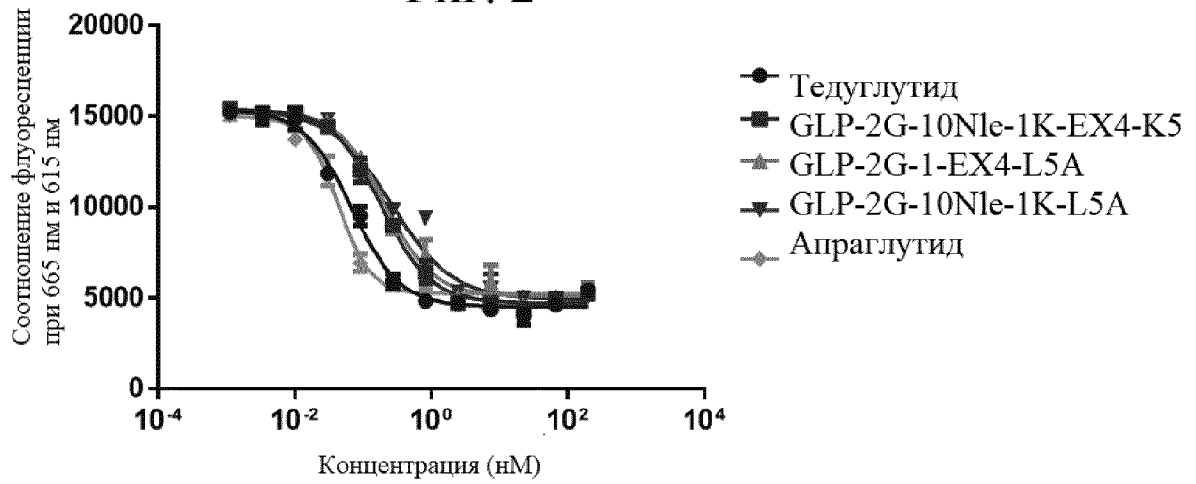
Фиг. 1А



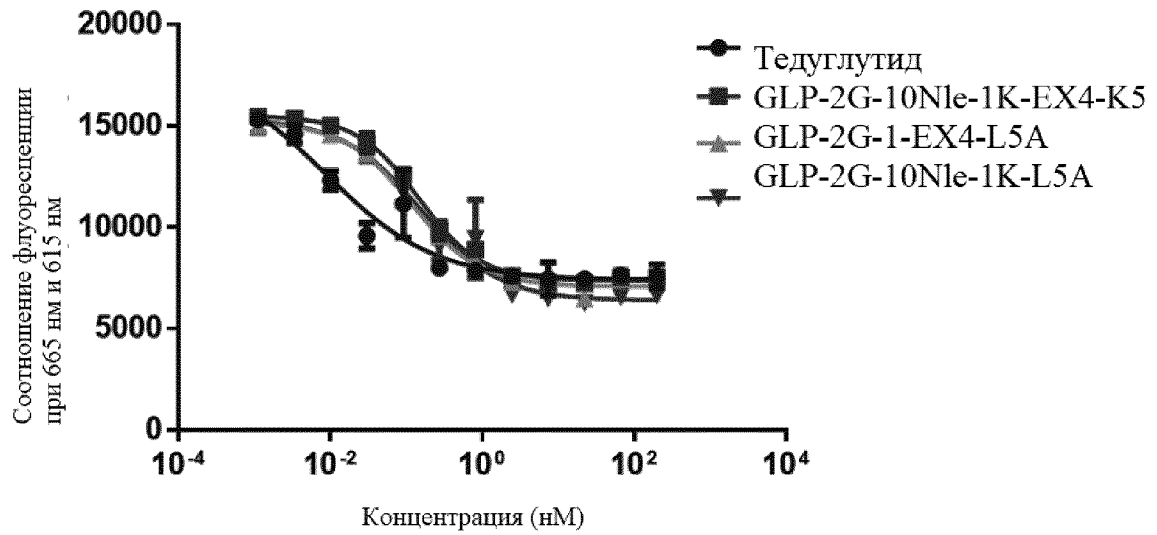
Фиг. 1В



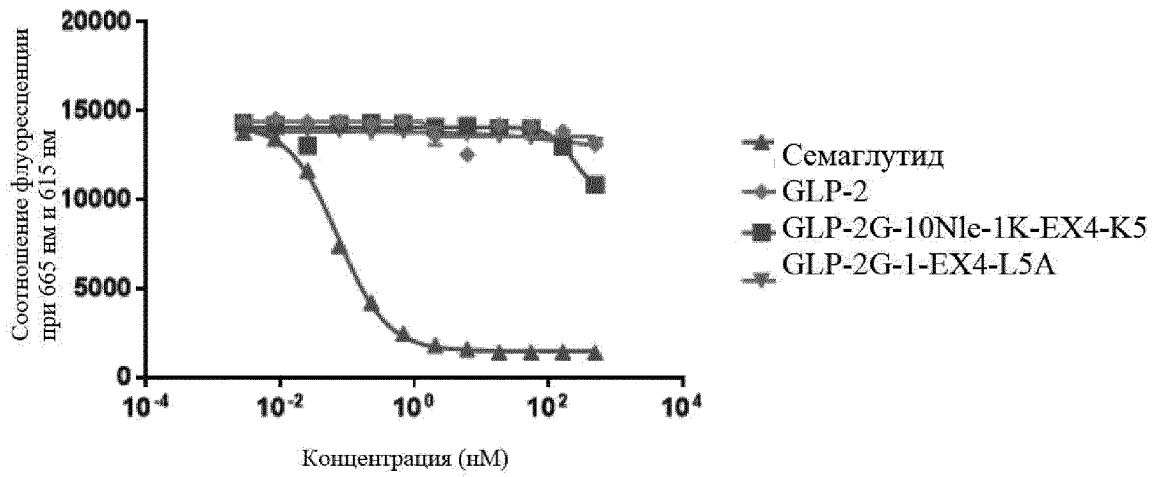
Фиг. 2



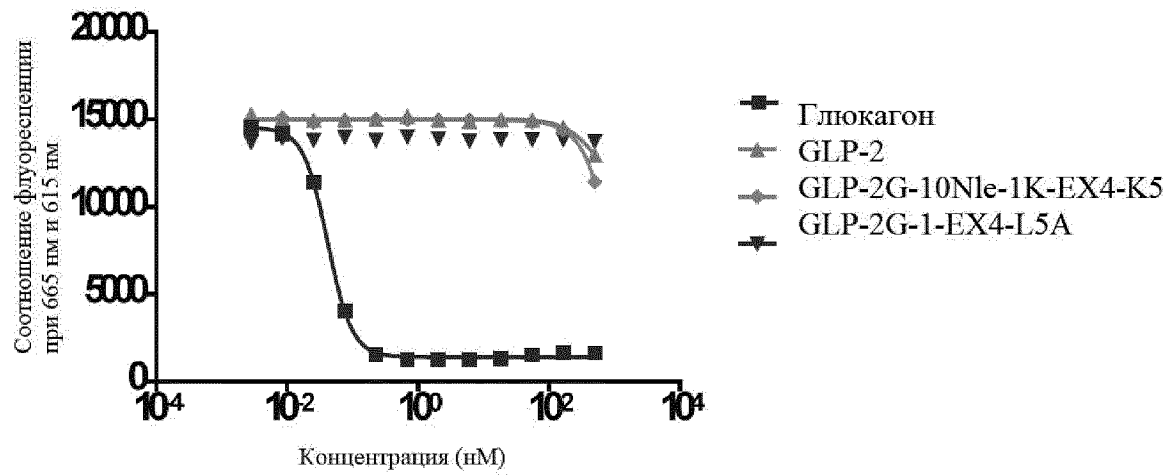
Фиг. 3



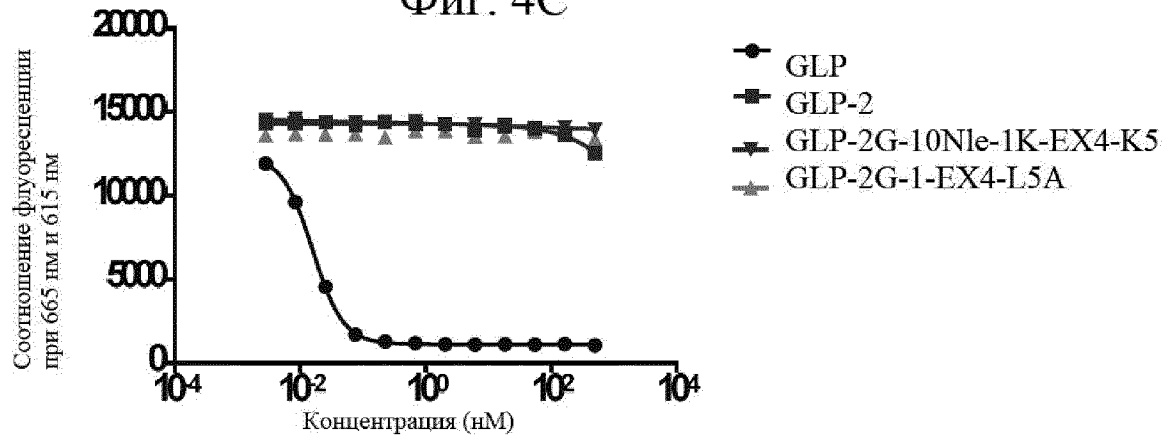
Фиг. 4А



Фиг. 4В



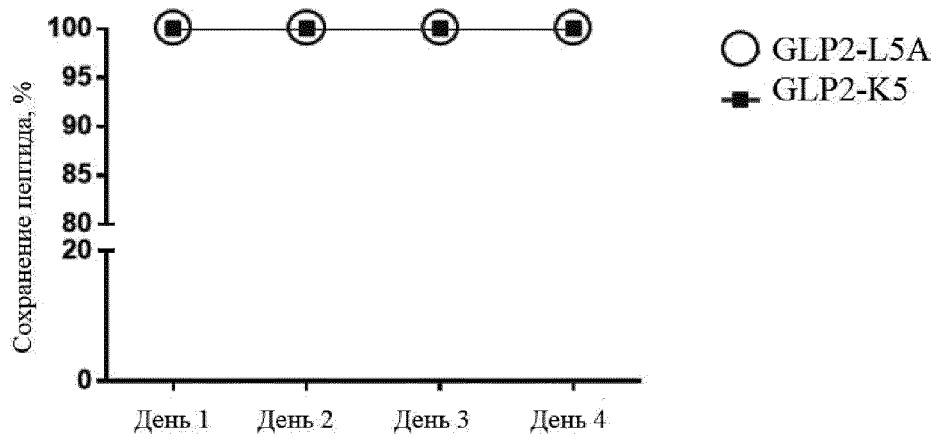
Фиг. 4С





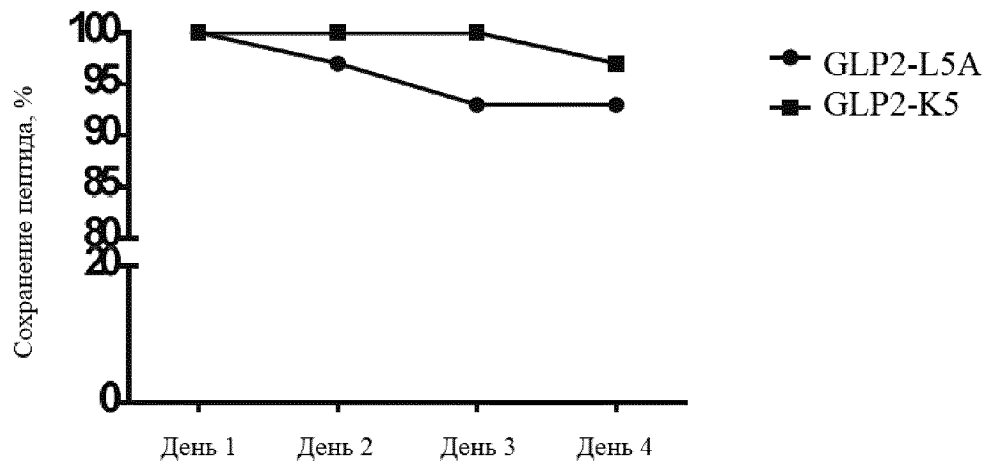
## ФИГ. 5А

Термическая устойчивость LA-GLP2 при 4°C



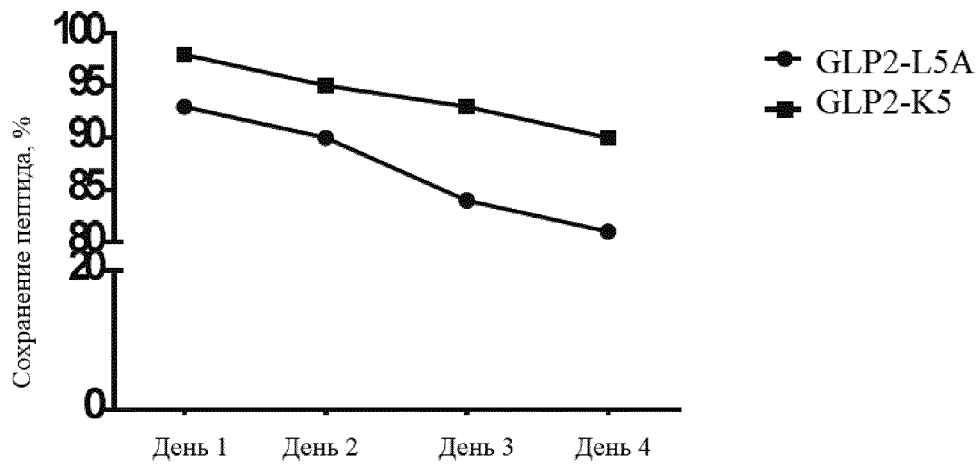
## ФИГ. 5В

Термическая устойчивость LA-GLP2 при 25°C



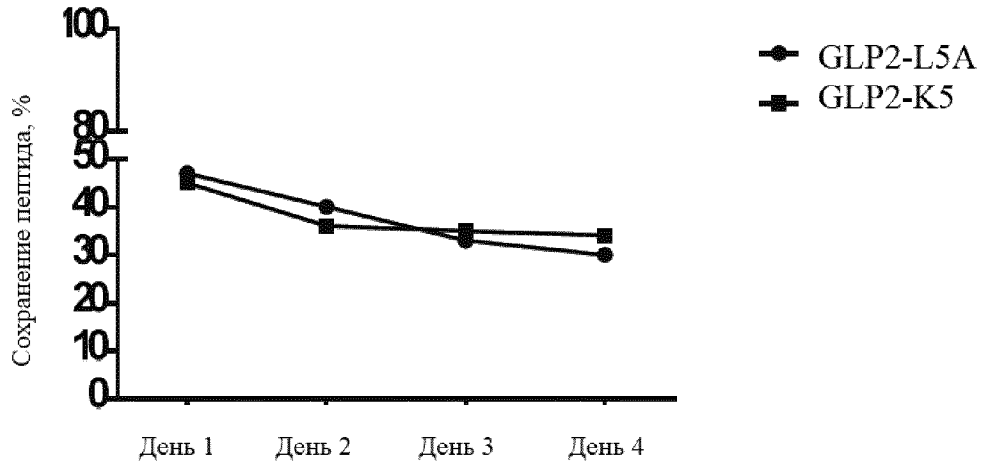
Фиг. 5С

Термическая устойчивость LA-GLP2 при 37°C



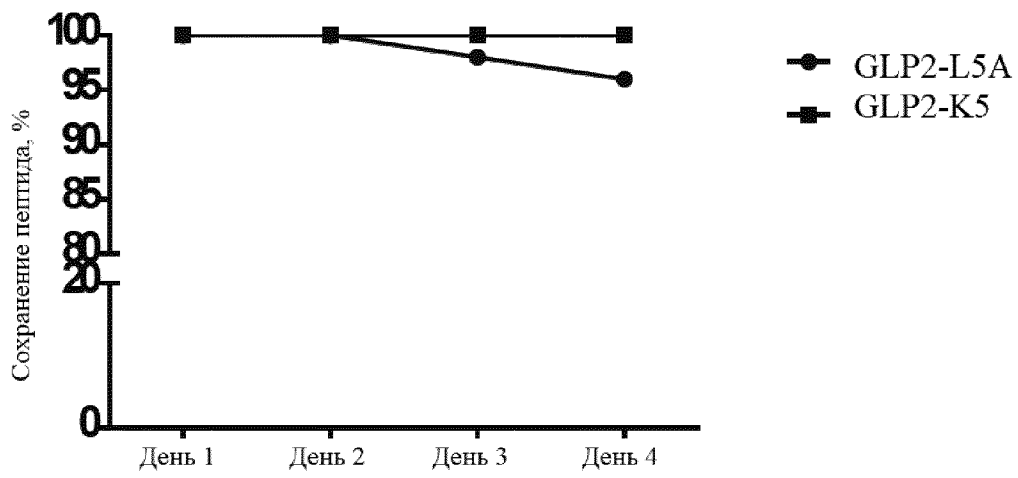
Фиг. 5D

Термическая устойчивость LA-GLP2 при 70°C



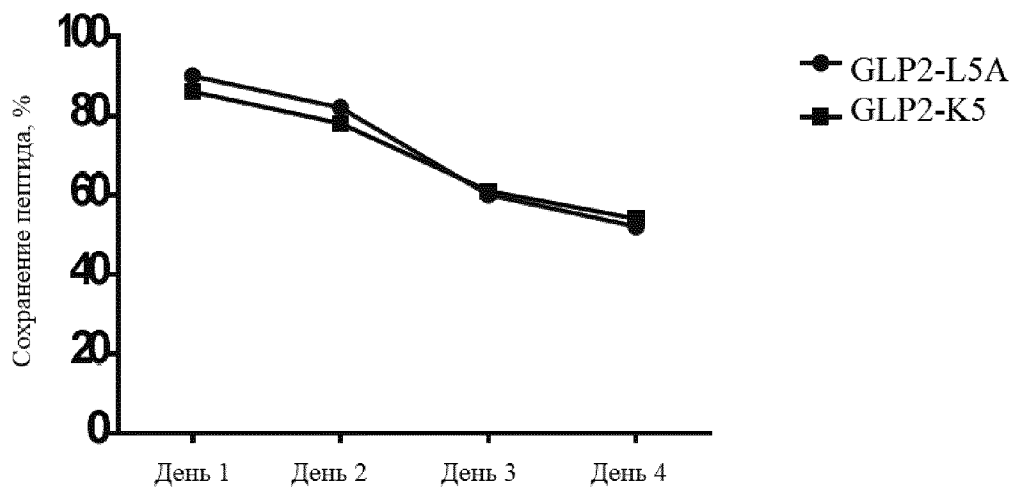
Фиг. 6А

Устойчивость LA-GLP2 при pH 3,3 и комнатной температуре

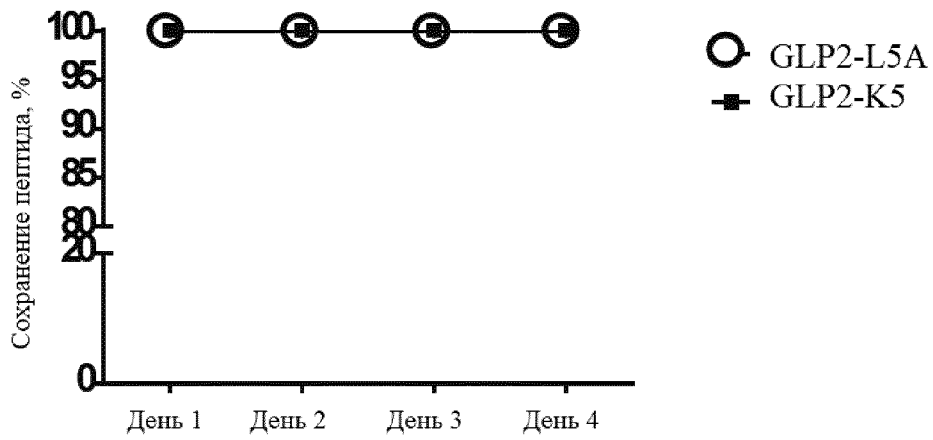


Фиг. 6В

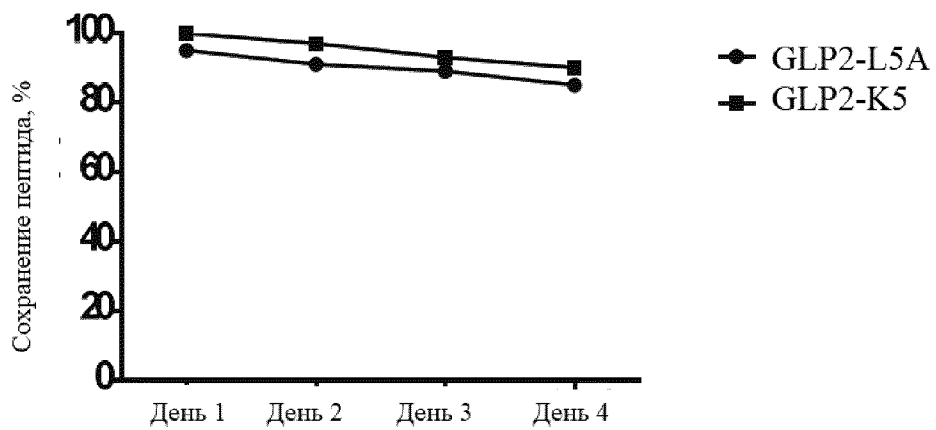
Устойчивость LA-GLP2 при pH 3,3 и 37°C



Фиг. 6С  
Устойчивость LA-GLP2 при рН 7,5 и комнатной температуре

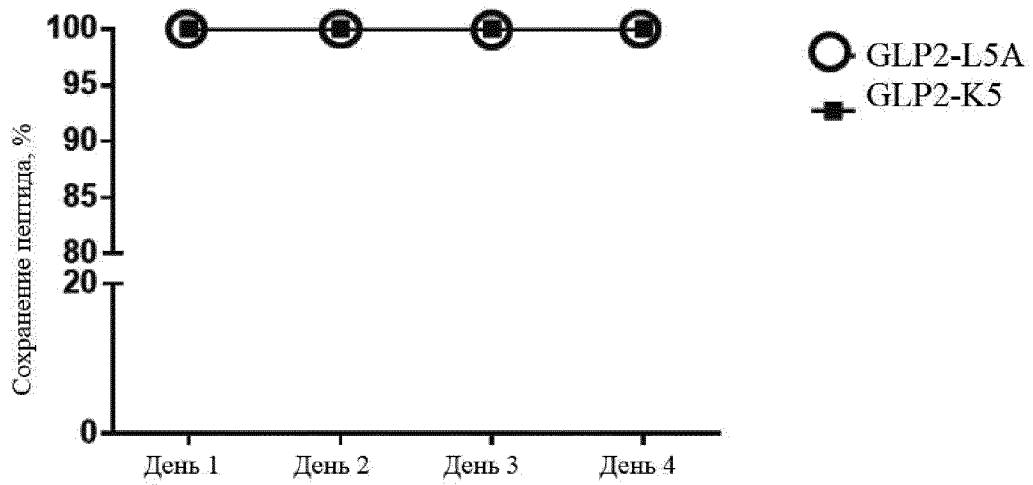


Фиг. 6D  
Устойчивость LA-GLP2 при рН 7,5 и 37°C



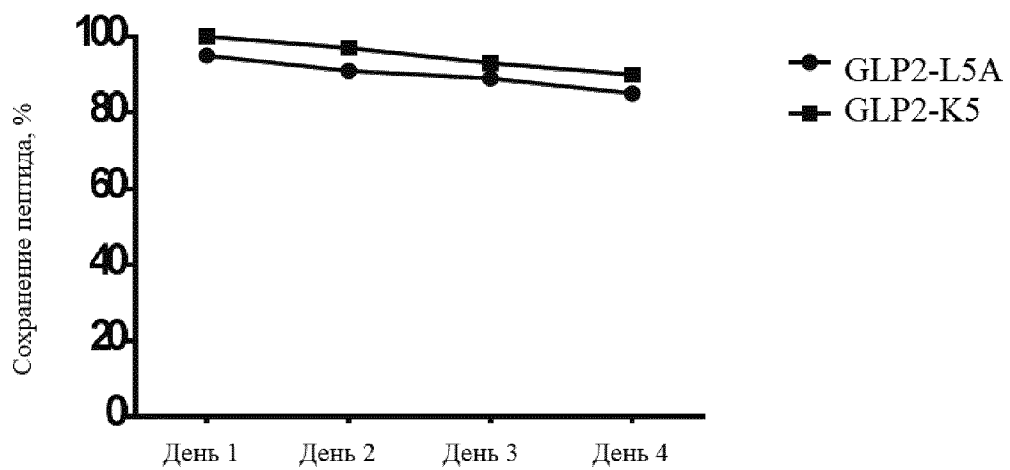
## Фиг. 6Е

Устойчивость LA-GLP2 при pH 8,9 и комнатной температуре

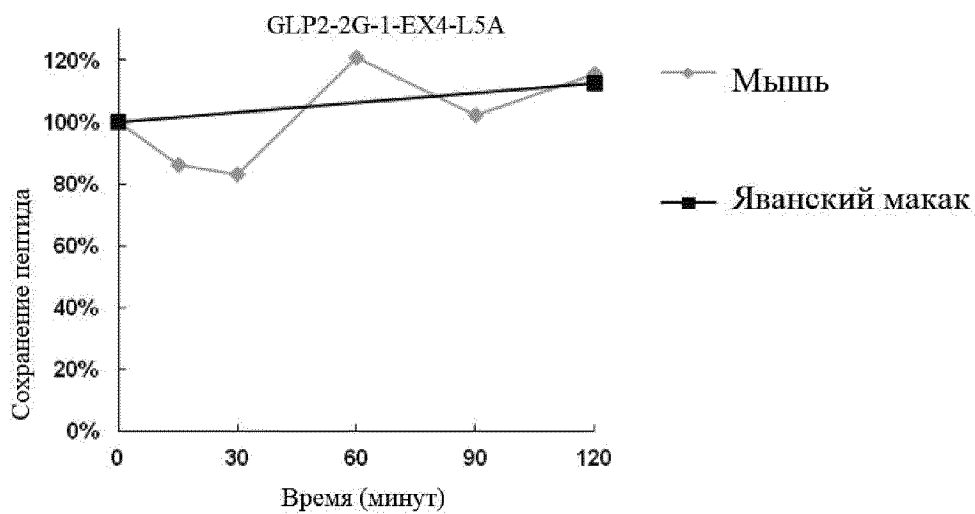


## Фиг. 6F

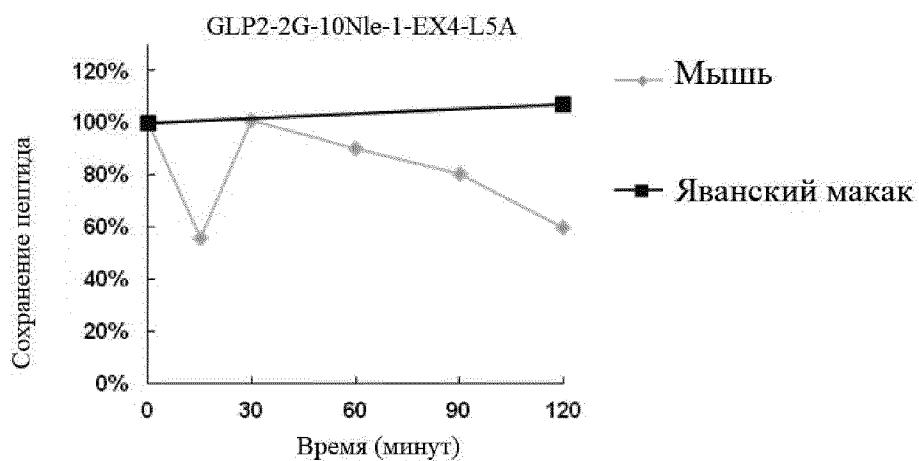
Устойчивость LA-GLP2 при pH 8,9 и 37°C



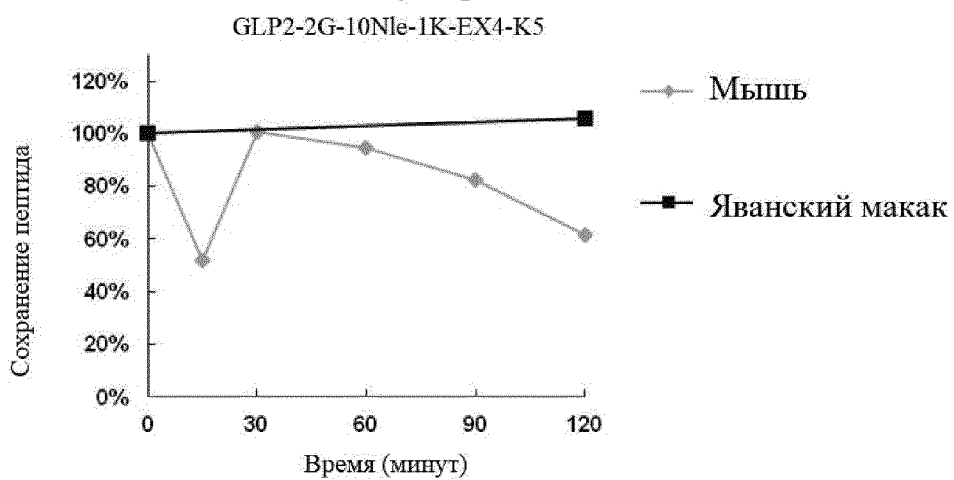
Фиг. 7А



Фиг. 7В

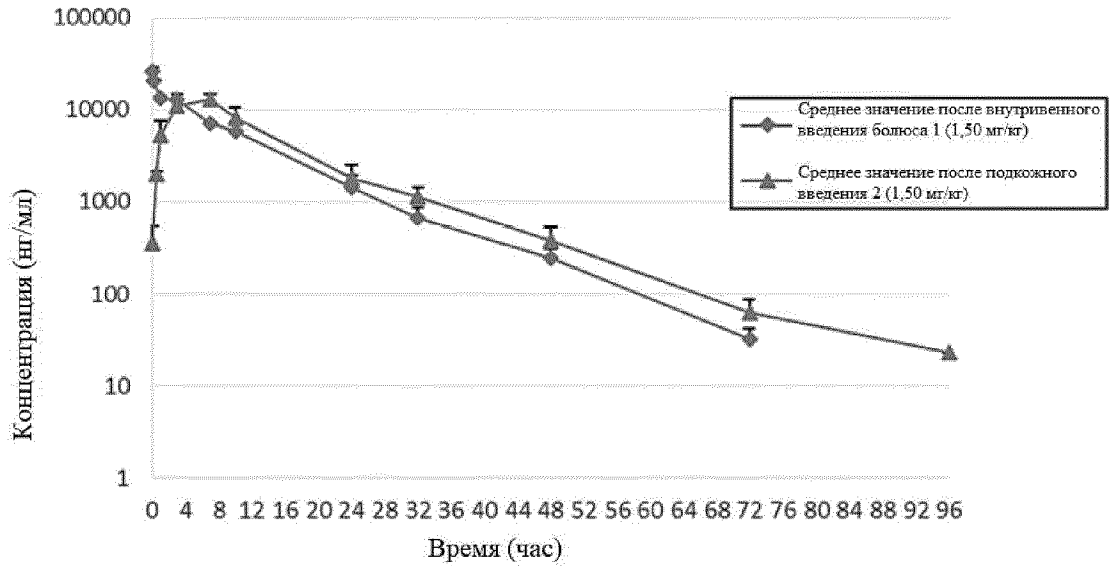


Фиг. 7С



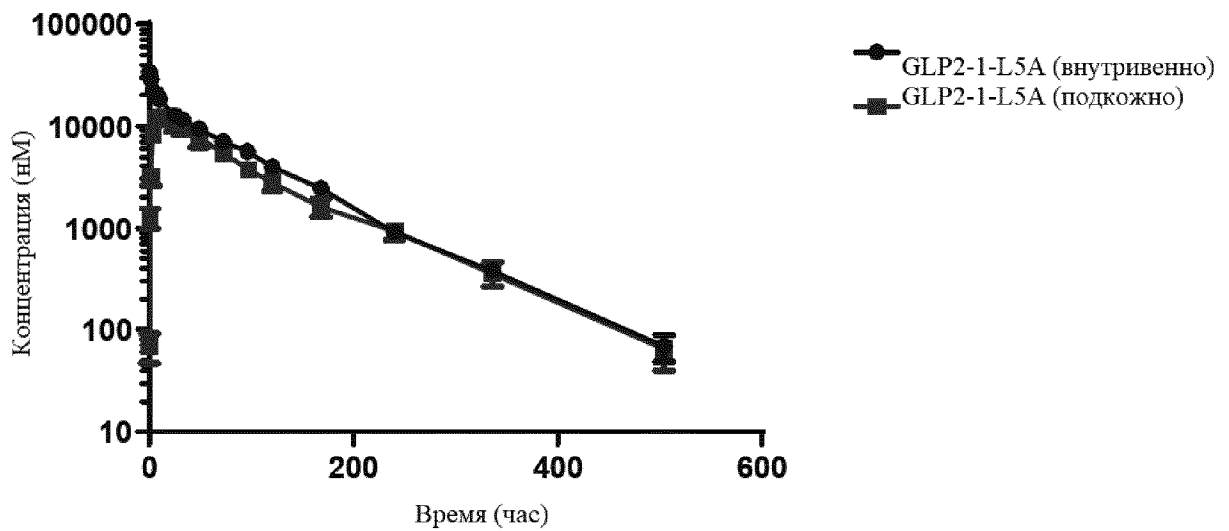
Фиг. 8

Средняя концентрация в плазме GLP2-Met-L5A  
после внутривенного введения болуса 1 и подкожного введения 2

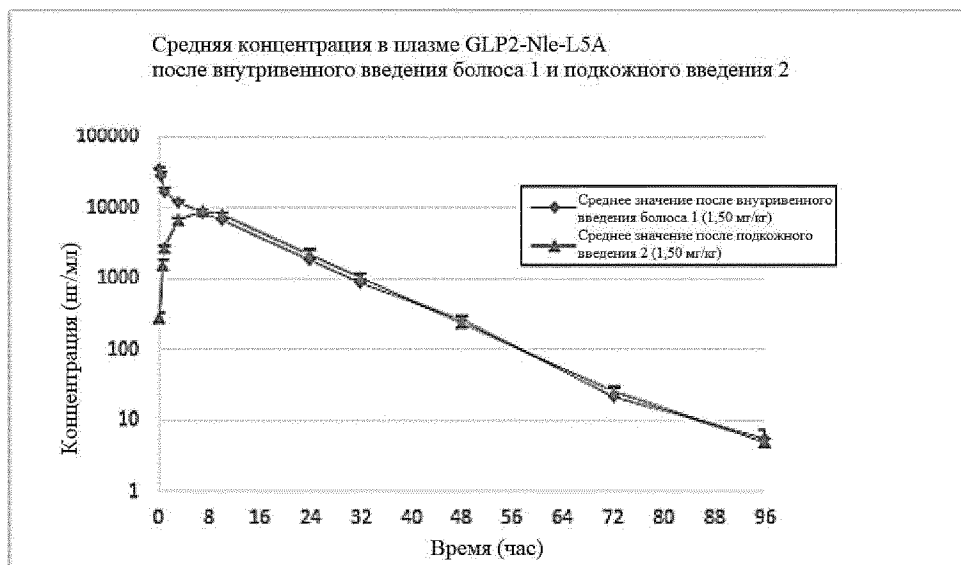


Фиг. 9

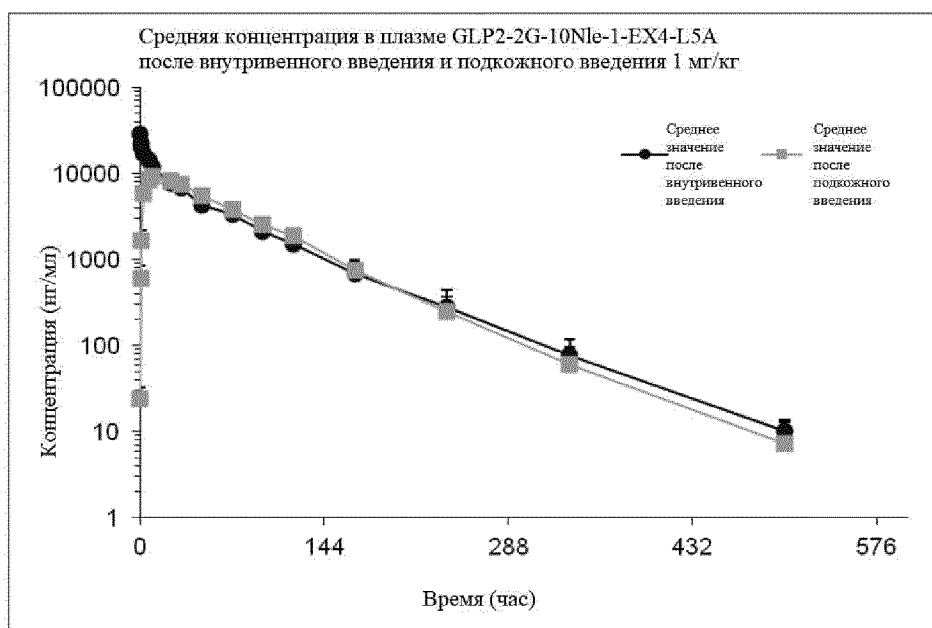
Фармакокинетика GLP2-1-L5A для обезьяны



Фиг. 10

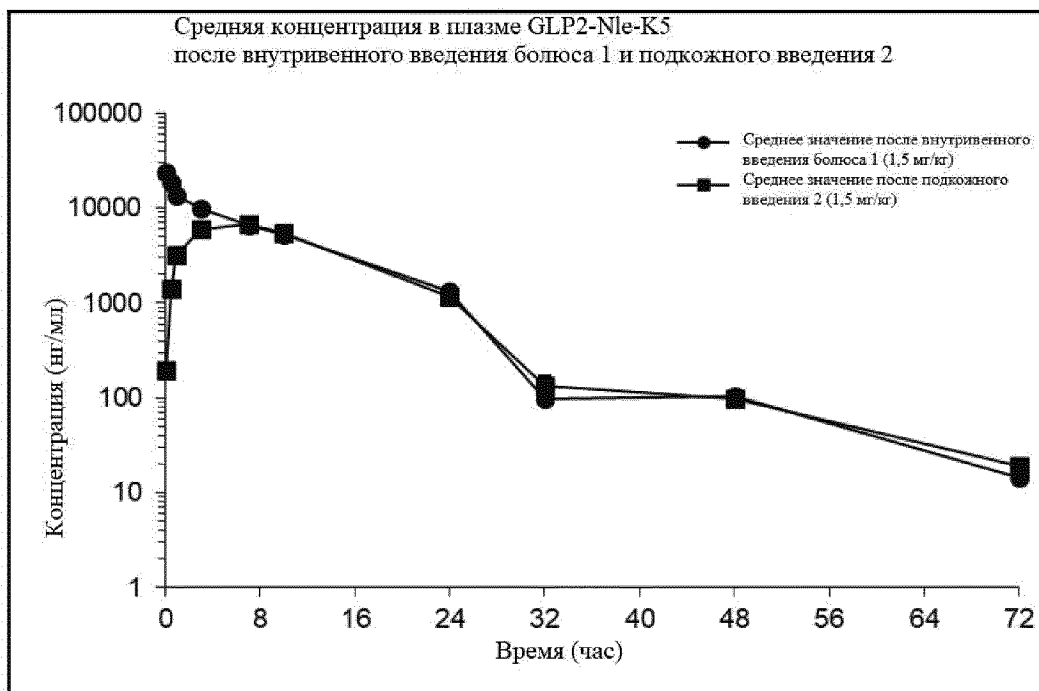


Фиг. 11

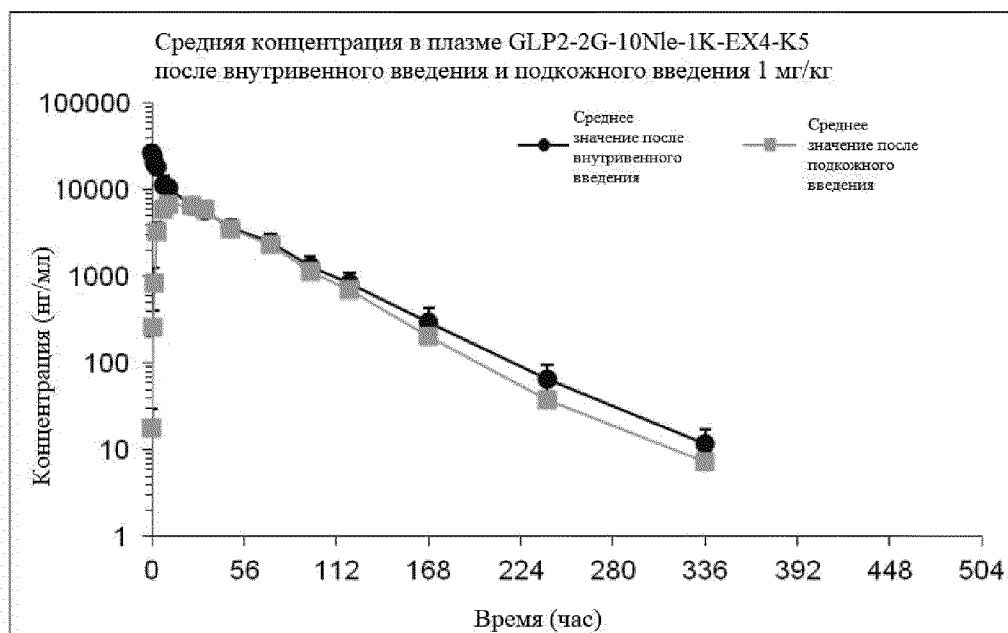




Фиг. 12

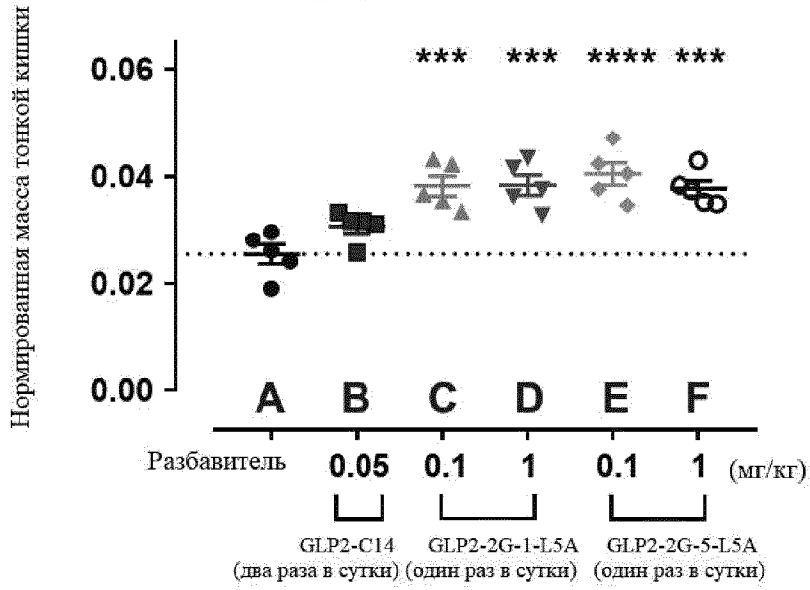


Фиг. 13



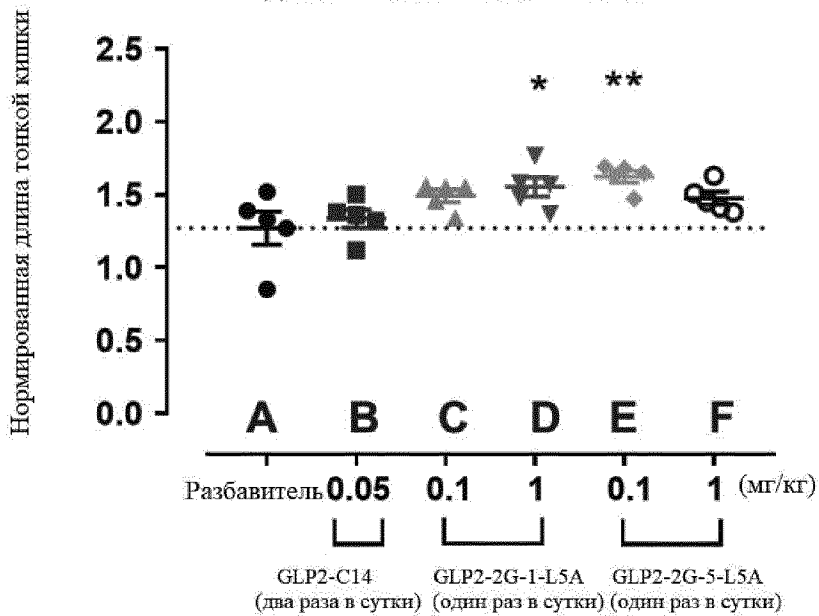
Фиг. 14А

Нормированная масса тонкой кишки

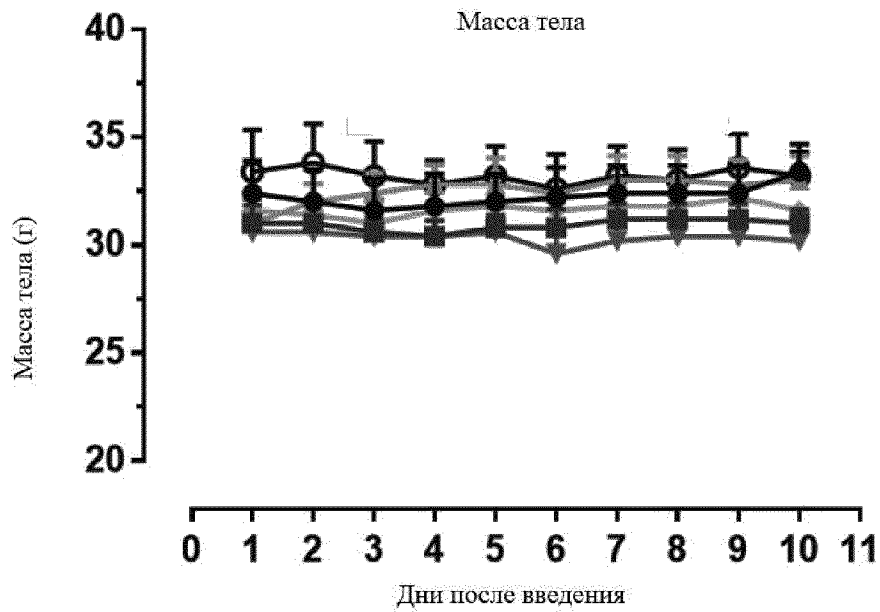


Фиг. 14В

Длина тонкой кишки / масса тела

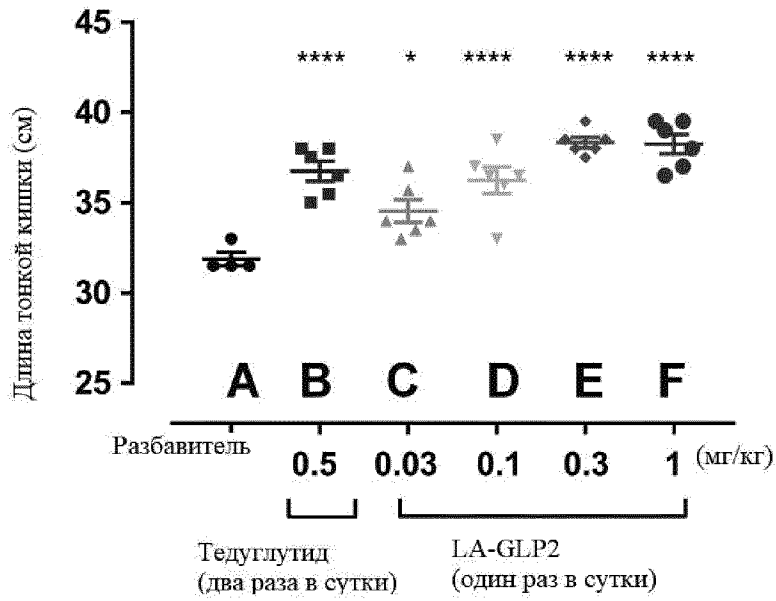


ФИГ. 14С



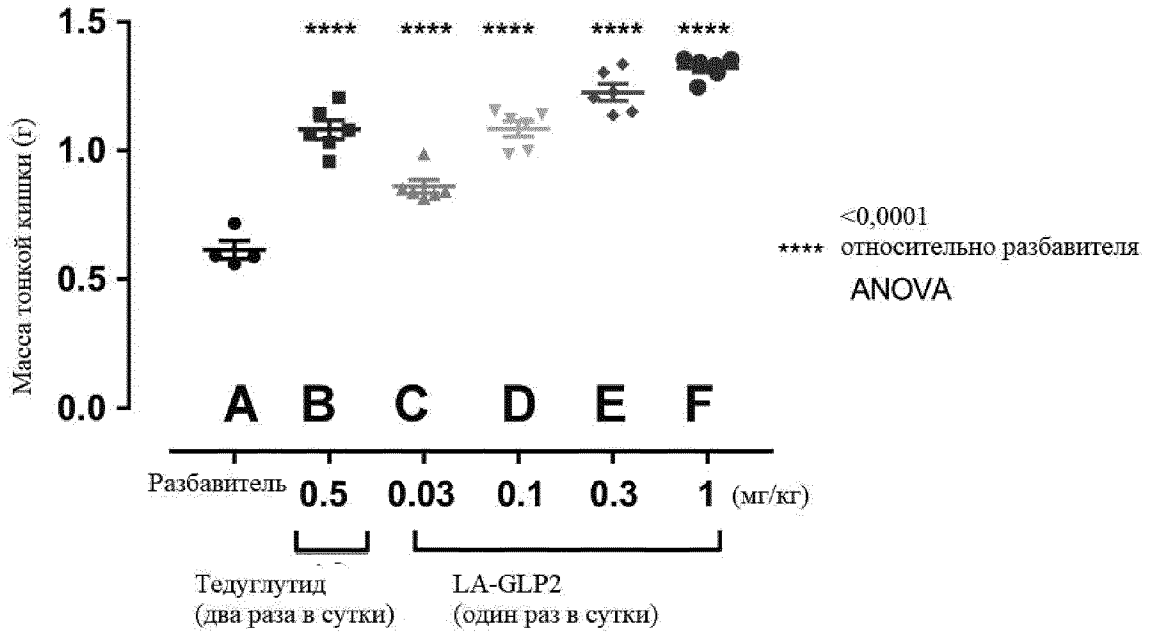
- A** ● Разбавитель DPBS 5 мг/кг подкожно два раза в сутки
- B** ■ GLP2-C14 0,05 мг/кг подкожно два раза в сутки
- C** ★ GLP2-2G-1-L5A 0,1 мг/кг подкожно один раз в сутки
- D** ▼ GLP2-2G-1-L5A 1 мг/кг подкожно один раз в сутки
- E** ◆ GLP2-2G-5-L5A 0,1 мг/кг подкожно один раз в сутки
- F** ○ GLP2-2G-5-L5A 1 мг/кг подкожно один раз в сутки

Фиг. 15А  
Длина тонкой кишки



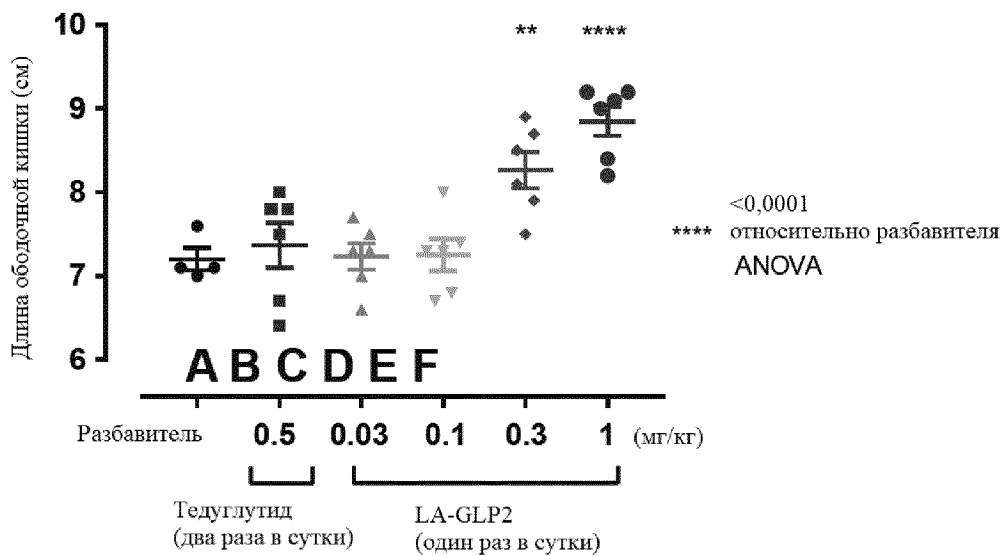
Фиг. 15В

Масса тонкой кишки



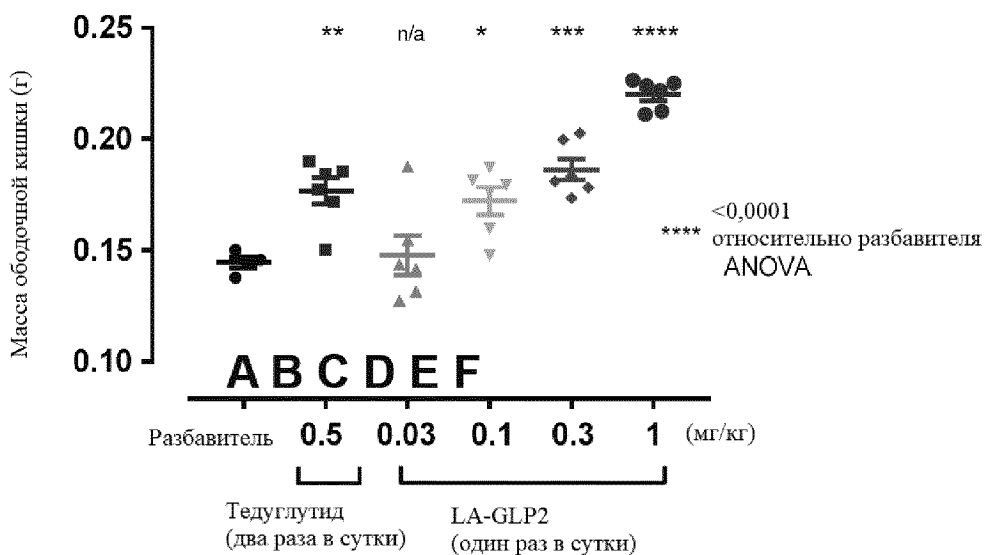
Фиг. 15С

Длина ободочной кишки



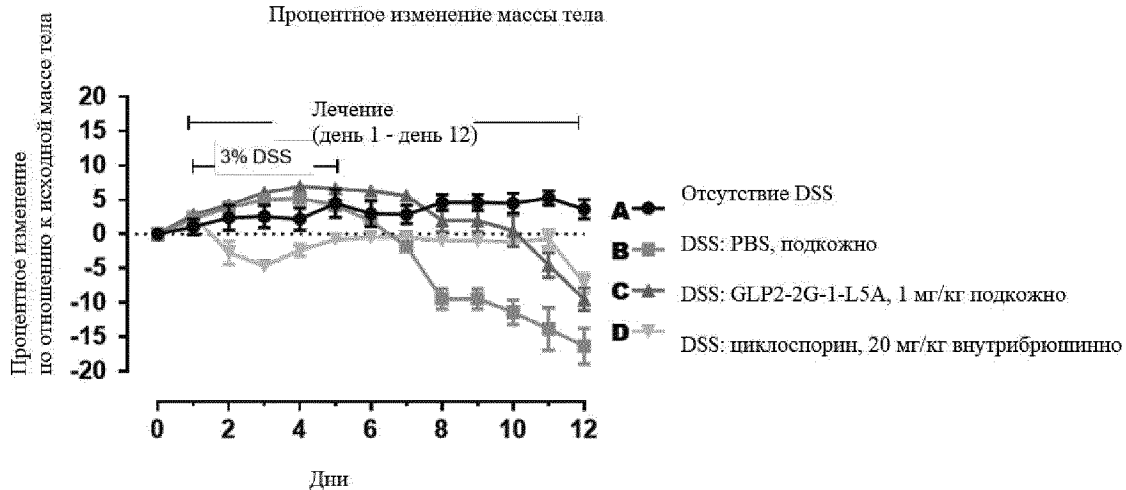
Фиг. 15D

Масса ободочной кишки



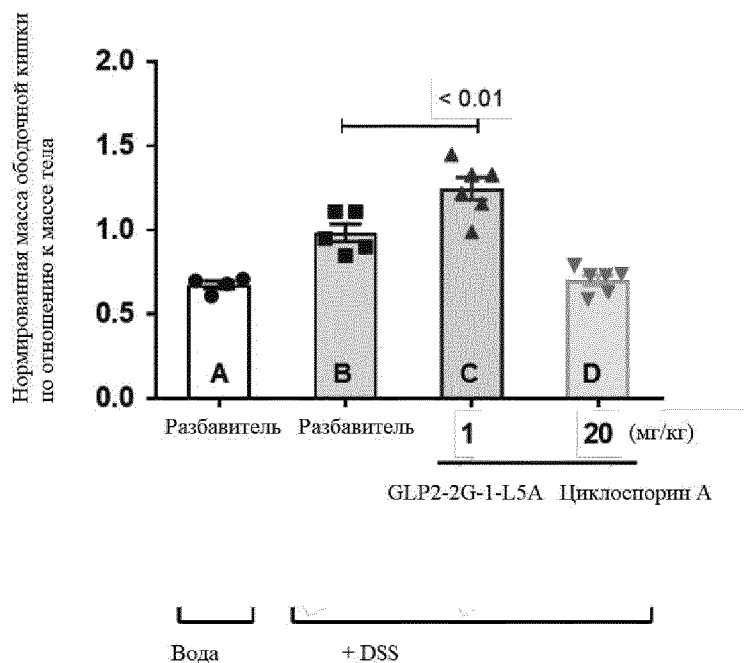
Фиг. 16А

Процентное изменение массы тела

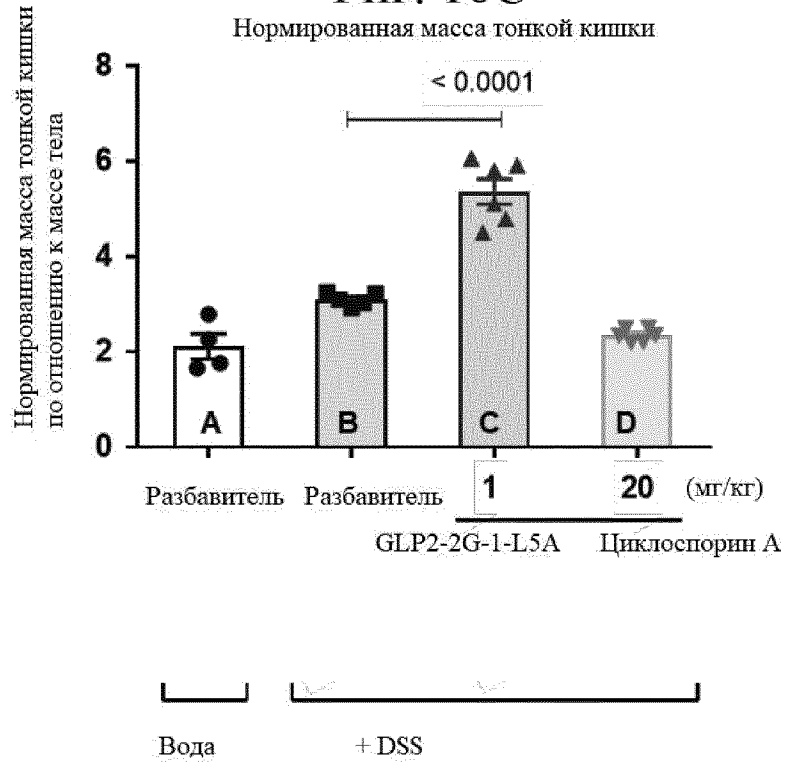


Фиг. 16В

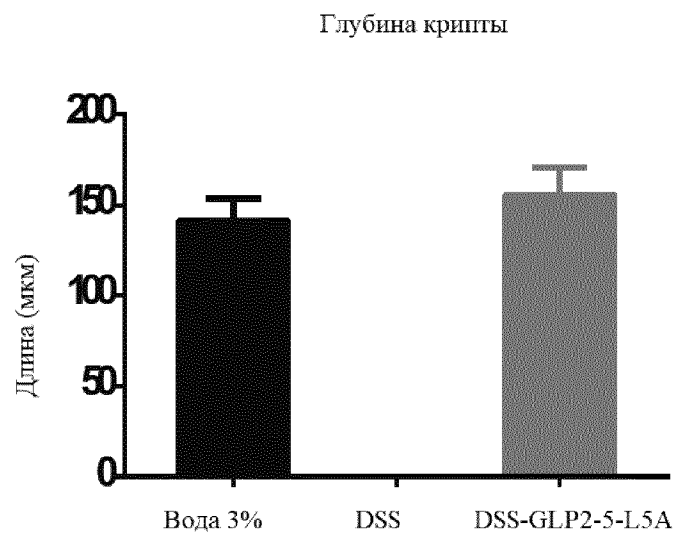
Нормированная масса ободочной кишки



Фиг. 16С

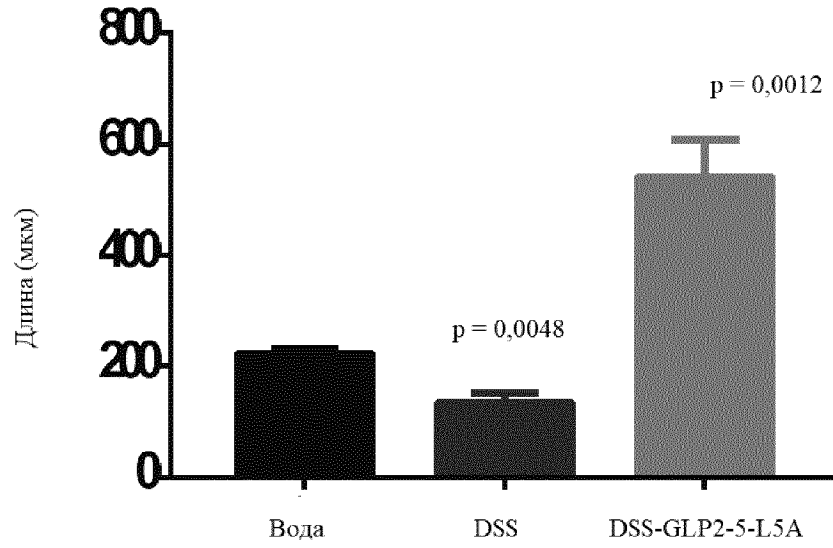


Фиг. 16D



## Фиг. 16Е

Длина ворсинок тощей кишки

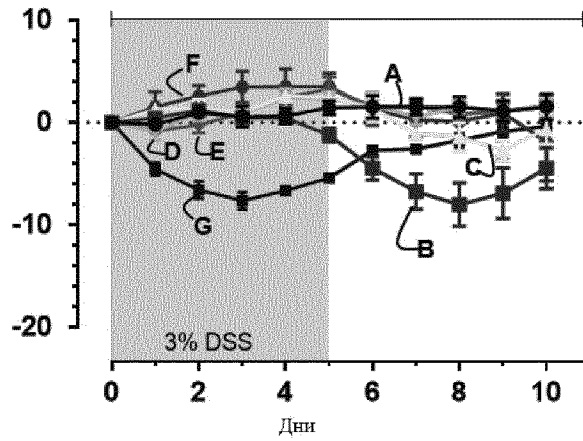




Фиг. 17А

Лечение с применением соединения

Изменение по отношению к исходной массе тела (%)

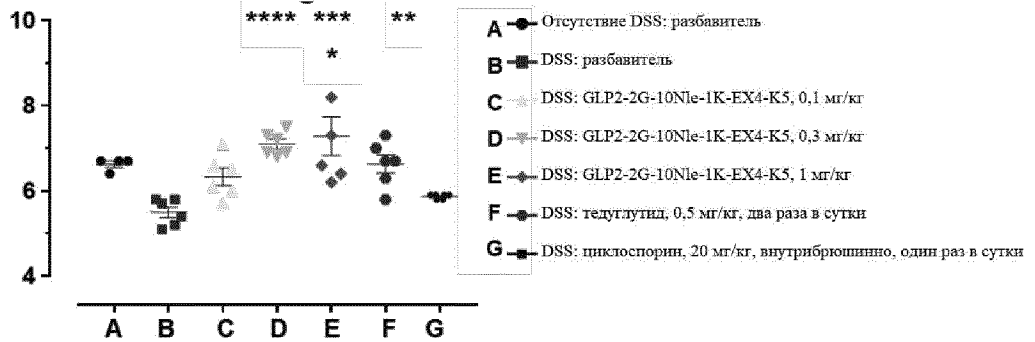


- A ● Отсутствие DSS: разбавитель
- B ■ DSS: разбавитель
- C ▲ DSS: GLP2-2G-10Nle-1K-EX4-K5, 0,1 мг/кг
- D ▼ DSS: GLP2-2G-10Nle-1K-EX4-K5, 0,3 мг/кг
- E ◆ DSS: GLP2-2G-10Nle-1K-EX4-K5, 1 мг/кг
- F ● DSS: тедуглутид, 0,5 мг/кг, два раза в сутки
- G ■ DSS: циклоспорин, 20 мг/кг, внутривнутрино, один раз в сутки

Фиг. 17В

Длина ободочной кишки

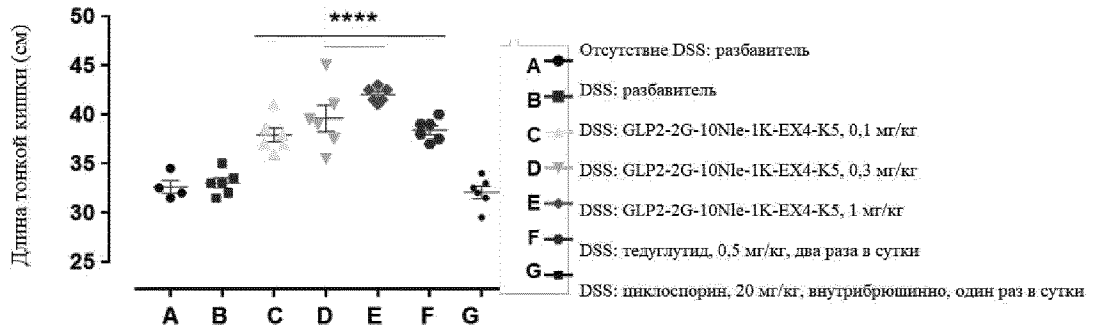
Длина ободочной кишки (см)



- A ● Отсутствие DSS: разбавитель
- B ■ DSS: разбавитель
- C ▲ DSS: GLP2-2G-10Nle-1K-EX4-K5, 0,1 мг/кг
- D ▼ DSS: GLP2-2G-10Nle-1K-EX4-K5, 0,3 мг/кг
- E ◆ DSS: GLP2-2G-10Nle-1K-EX4-K5, 1 мг/кг
- F ● DSS: тедуглутид, 0,5 мг/кг, два раза в сутки
- G ■ DSS: циклоспорин, 20 мг/кг, внутривнутрино, один раз в сутки

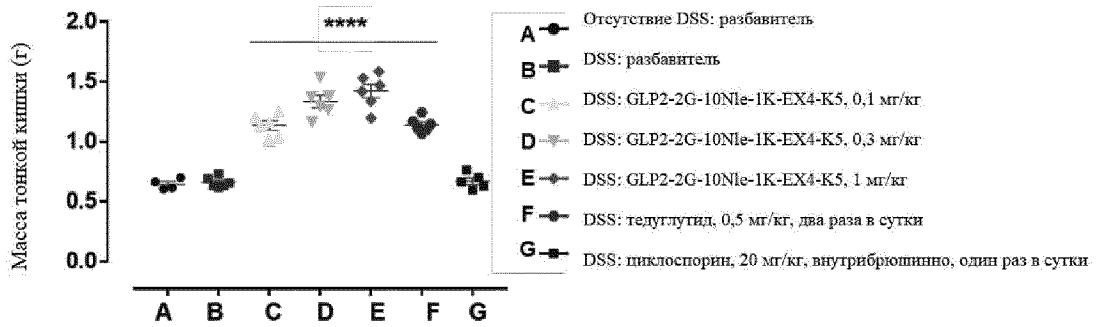
Фиг. 17С

Длина тонкой кишки



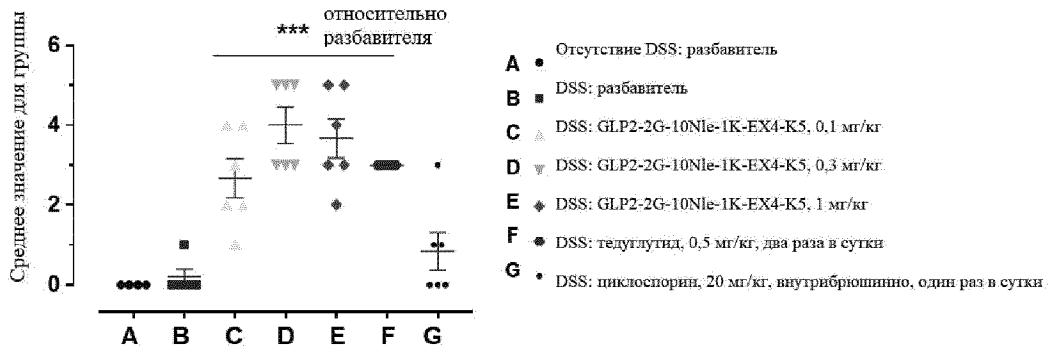
Фиг. 17D

Масса тонкой кишки



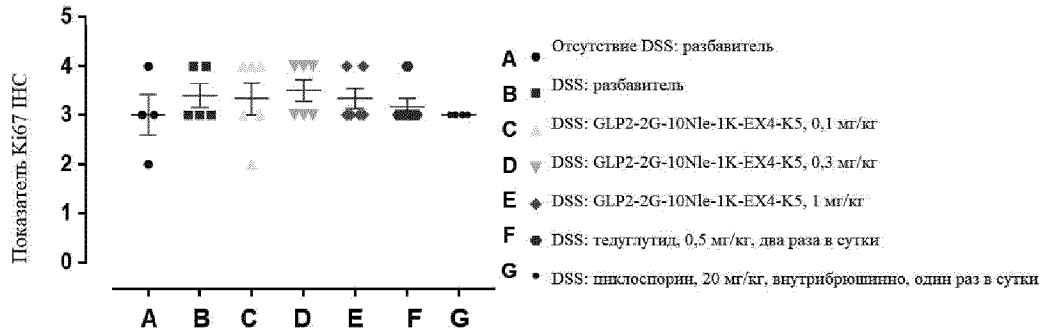
Фиг. 17Е

Высота ворсинок тощей кишки

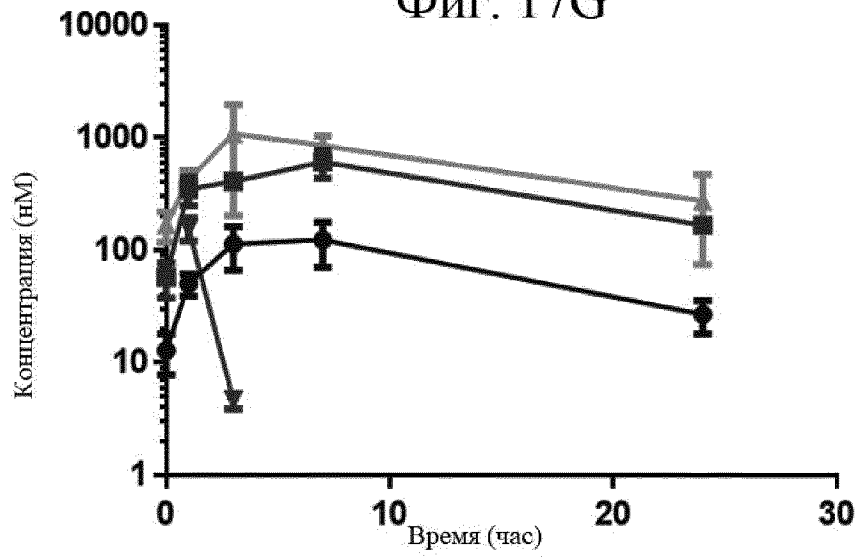


Фиг. 17F

Тощая кишка - показатель Ki67



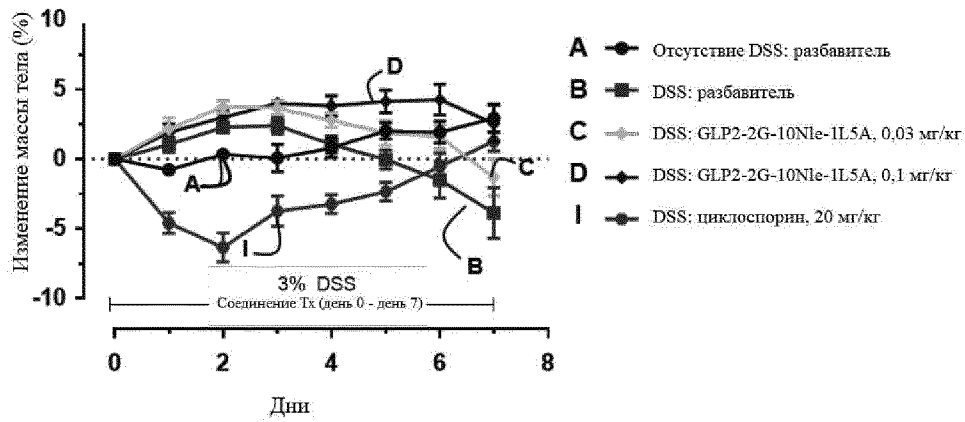
Фиг. 17G



- С** ● GLP2-2G-10Nle-1K-K5, 0,1 мг/кг
- Д** ■ GLP2-2G-10Nle-1K-K5, 0,3 мг/кг
- Е** ▲ GLP2-2G-10Nle-1K-K5, 1 мг/кг
- Ф** ▼ Тедуглутид, 0,5 мг/кг, два раза в сутки

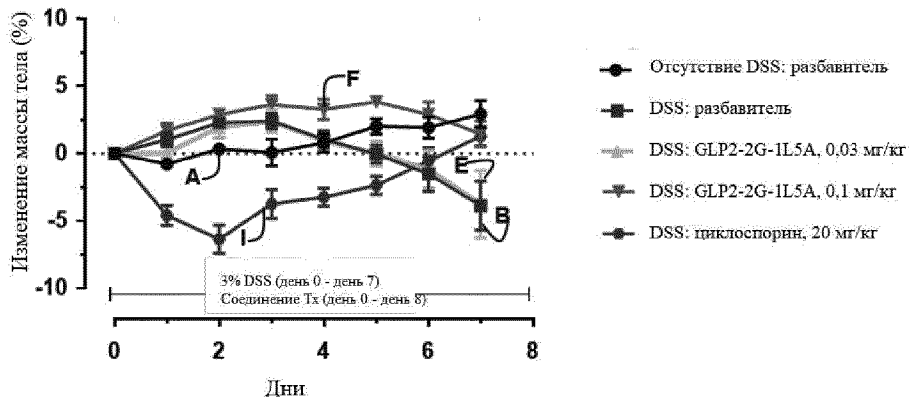
Фиг. 18А

Процентное изменение массы тела



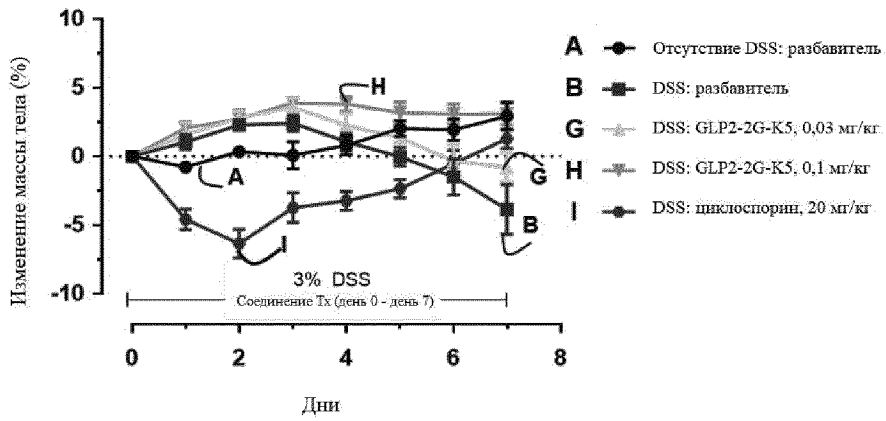
Фиг. 18В

Процентное изменение массы тела



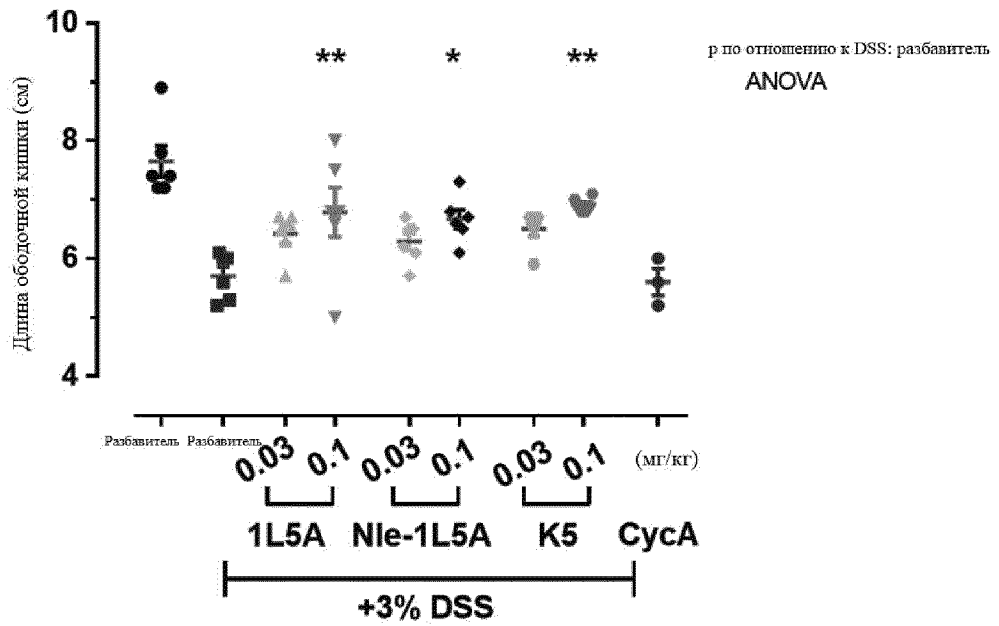
Фиг. 18С

Процентное изменение массы тела



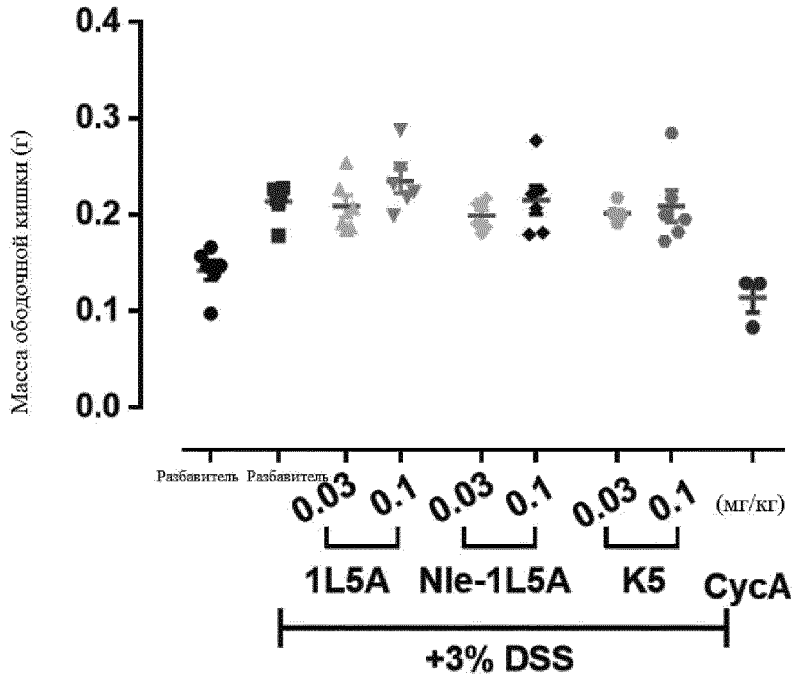
Фиг. 18D

Длина ободочной кишки



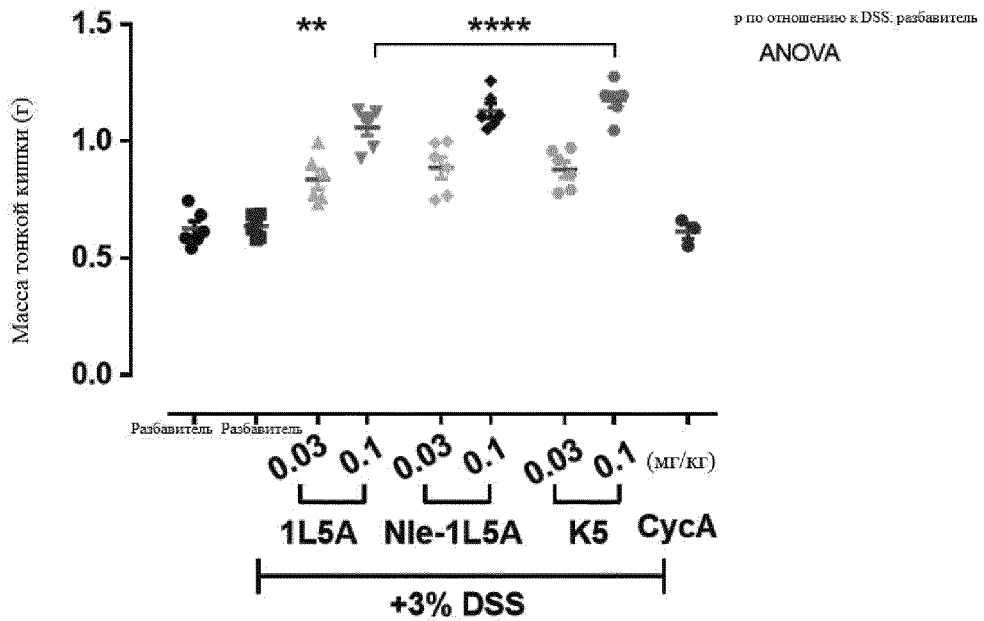
Фиг. 18Е

Масса ободочной кишки



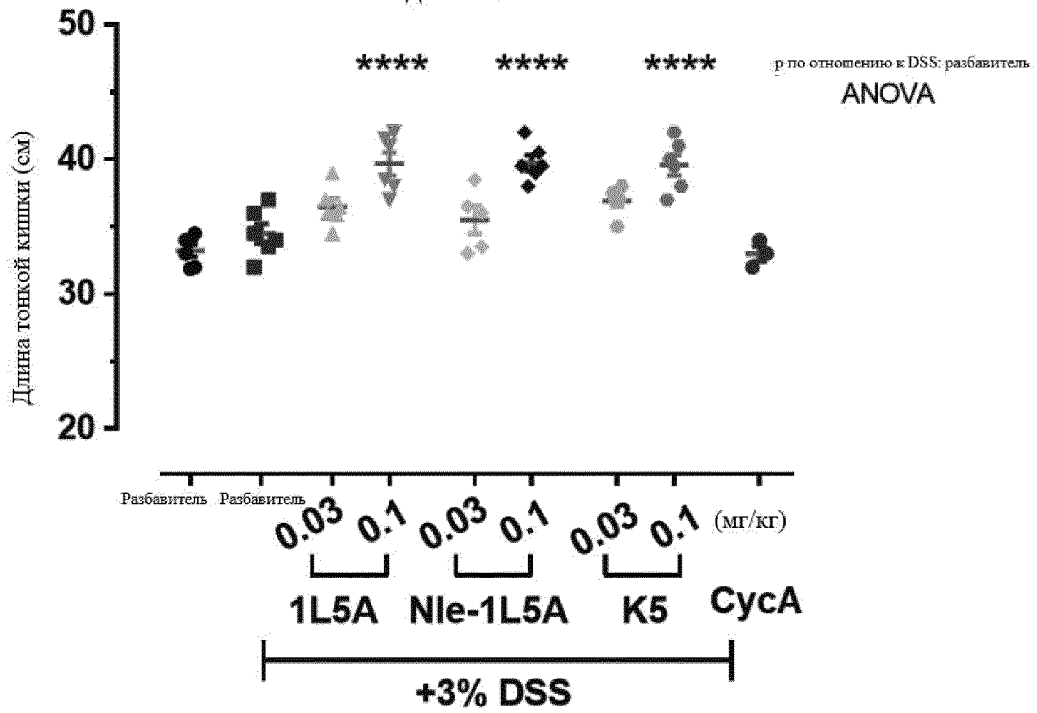
Фиг. 18F

Масса тонкой кишки



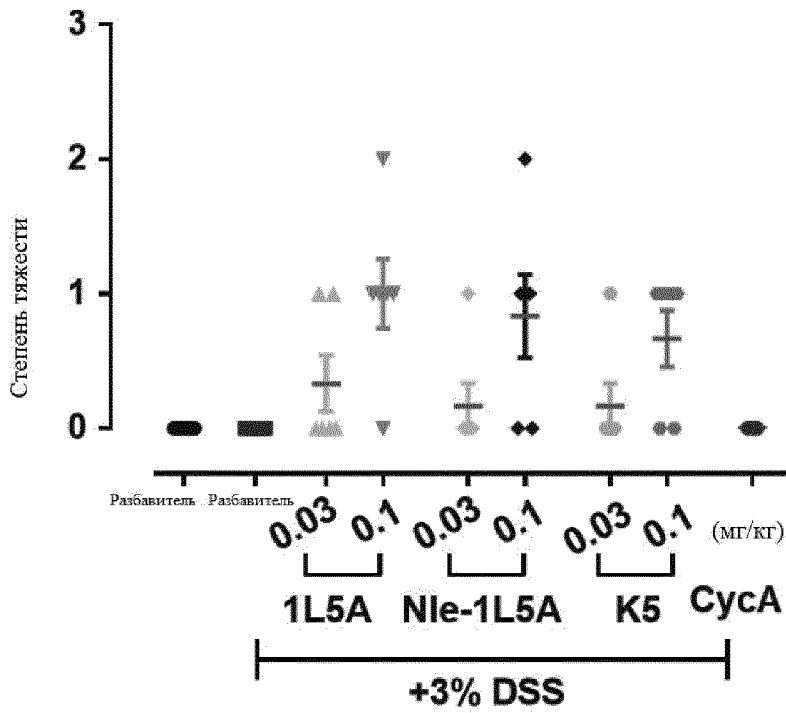
Фиг. 18G

Длина тонкой кишки



Фиг. 18H

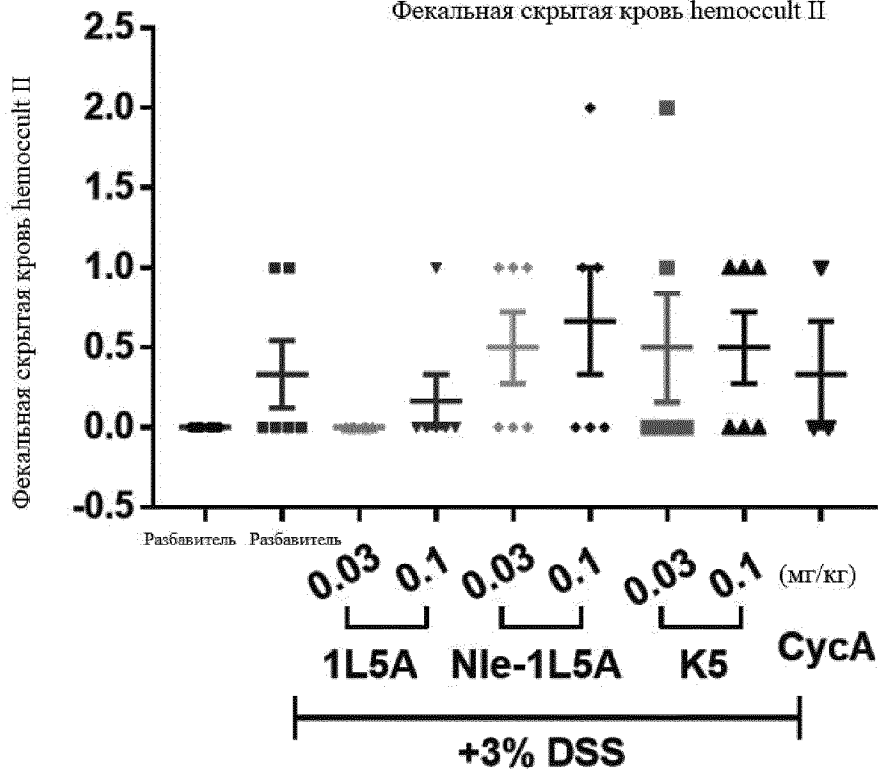
Увеличение желчного пузыря





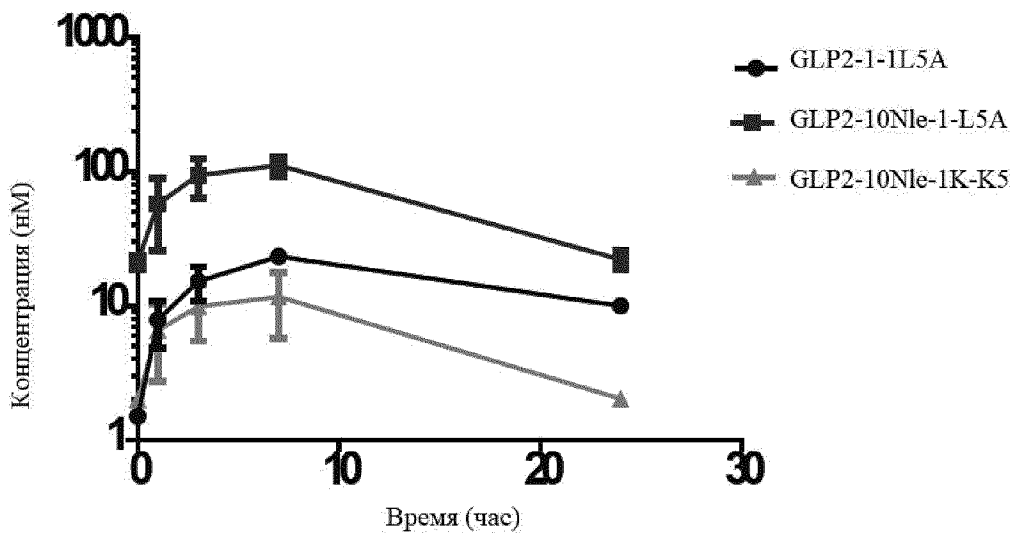
Фиг. 18I

Фекальная скрытая кровь hemocult II

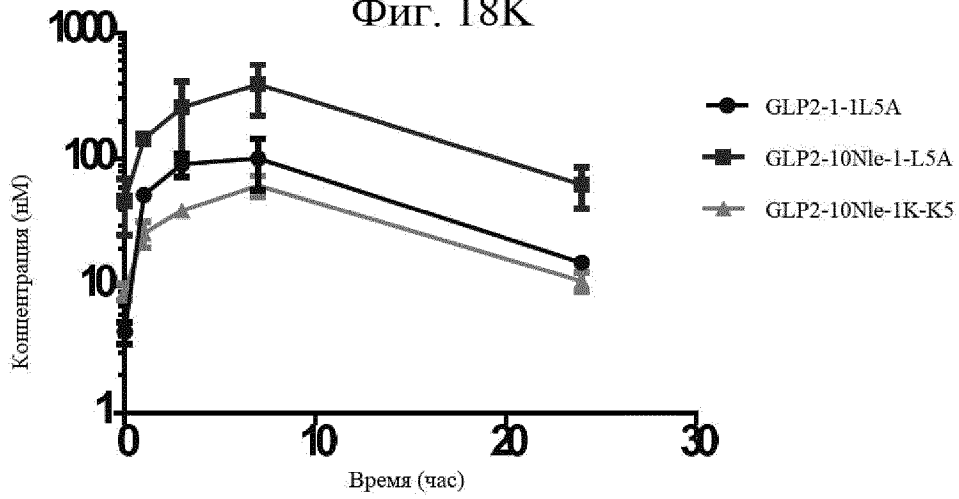


Фиг. 18J

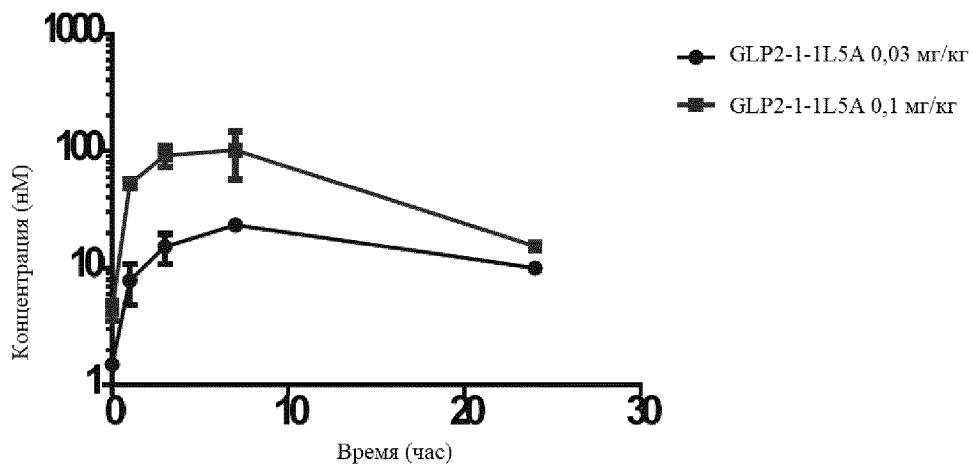
Острый колит DSS, фармакокинетика день 9, 0,03 мг/кг



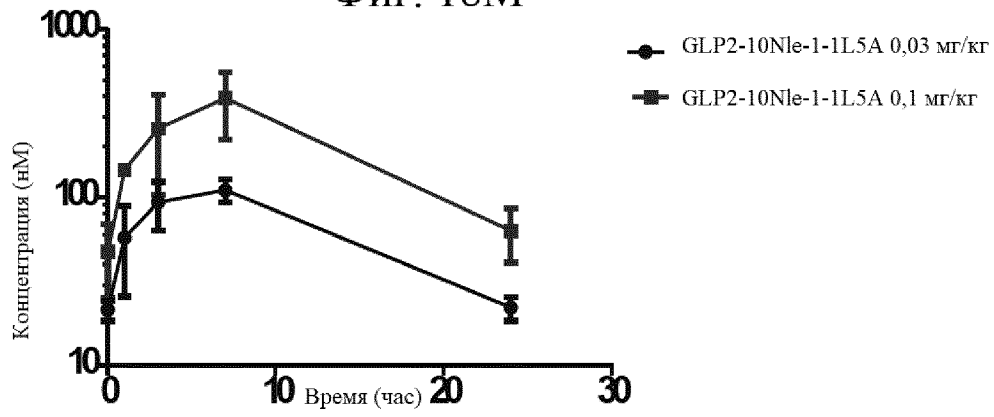
Фиг. 18К



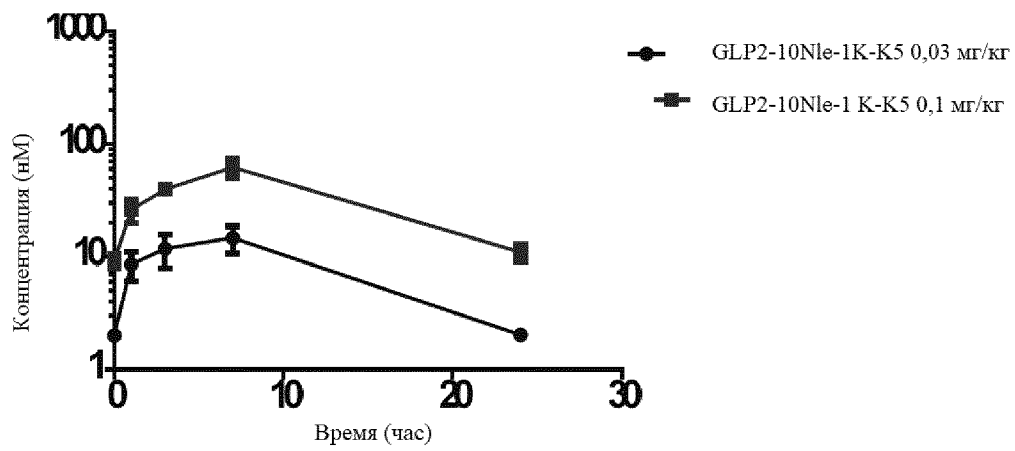
Фиг. 18L



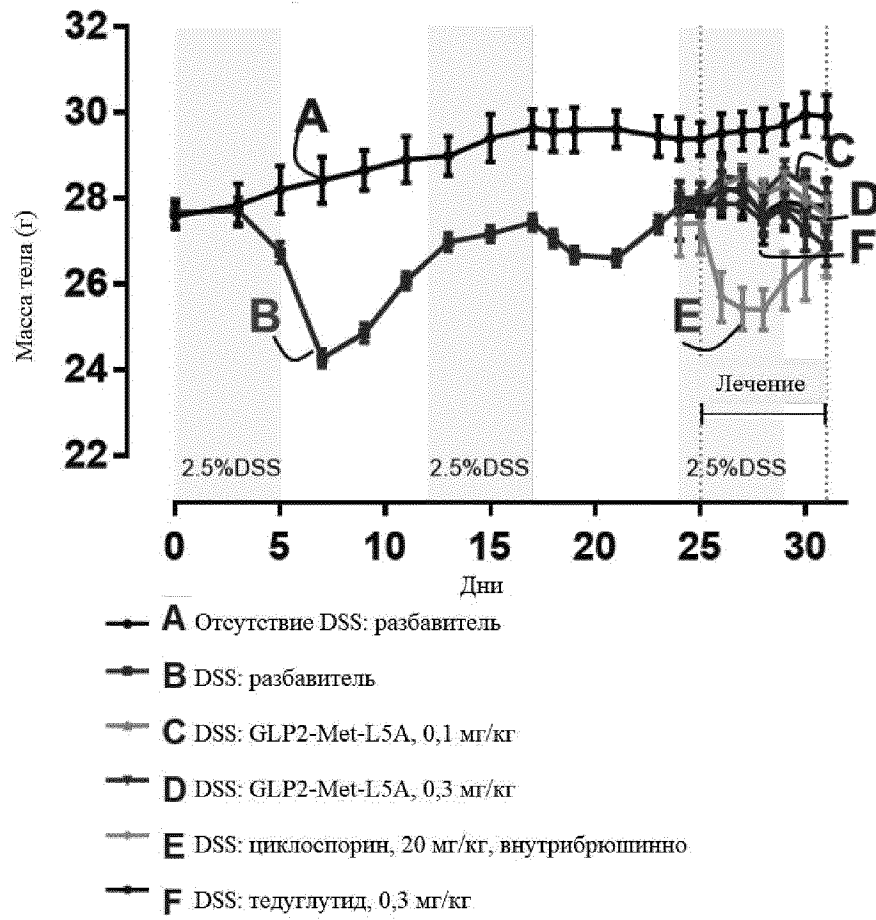
Фиг. 18М



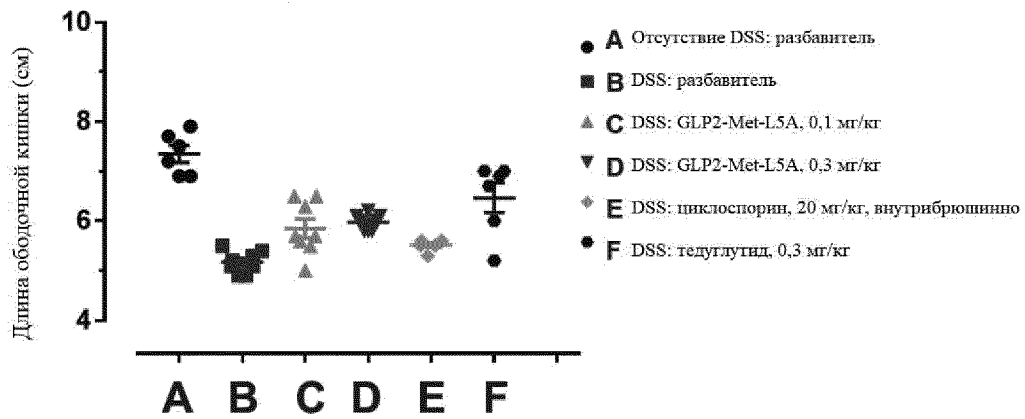
Фиг. 18N



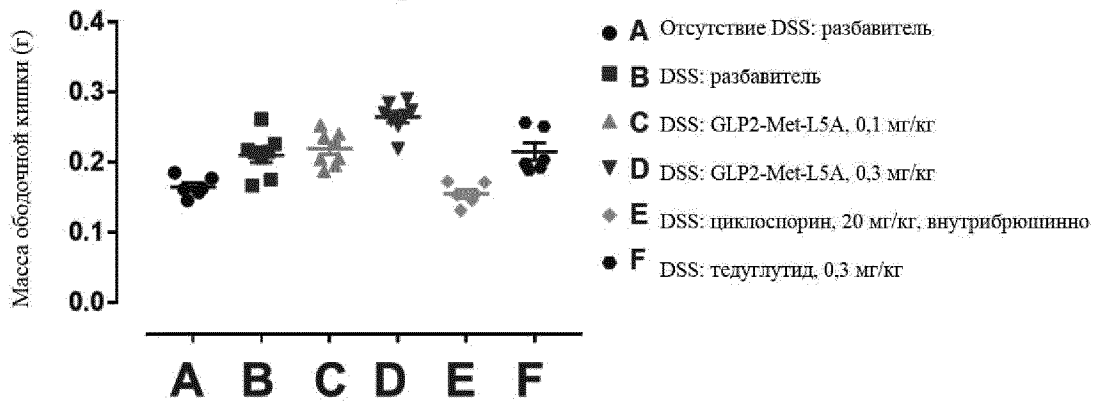
Фиг. 19А  
Изменение массы тела



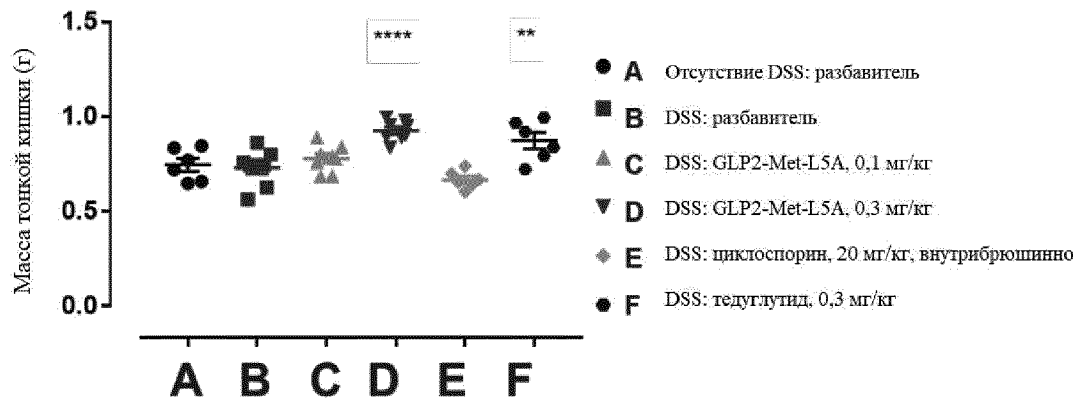
Фиг. 19В  
Длина ободочной кишки



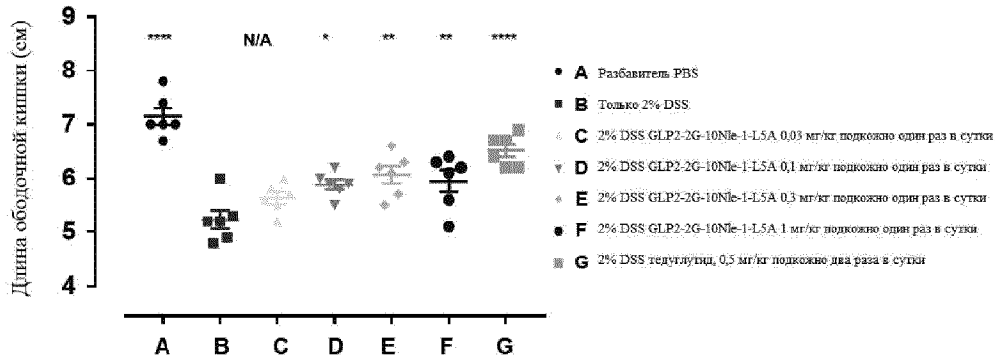
Фиг. 19С  
Масса ободочной кишки



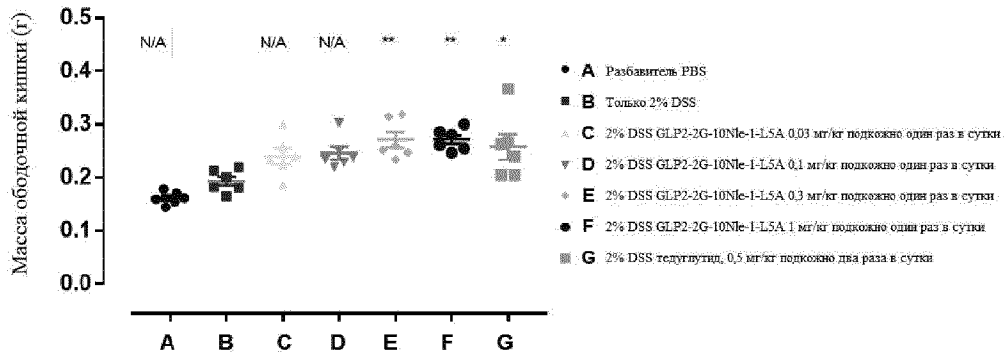
Фиг. 19D  
Масса тонкой кишки



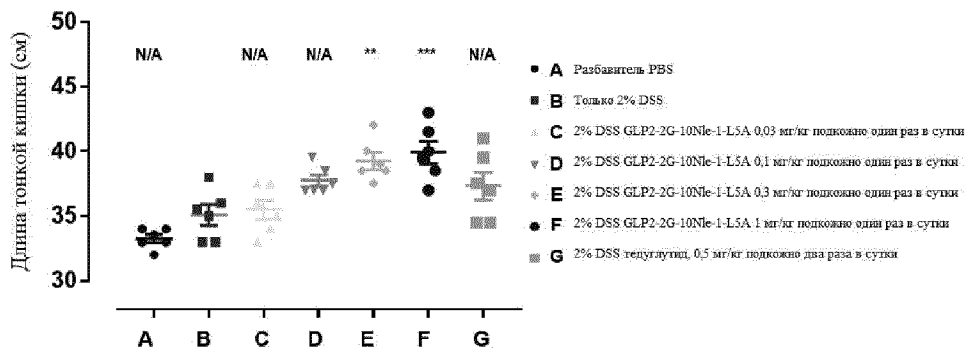
Фиг. 20А  
Длина ободочной кишки



Фиг. 20В  
Масса ободочной кишки



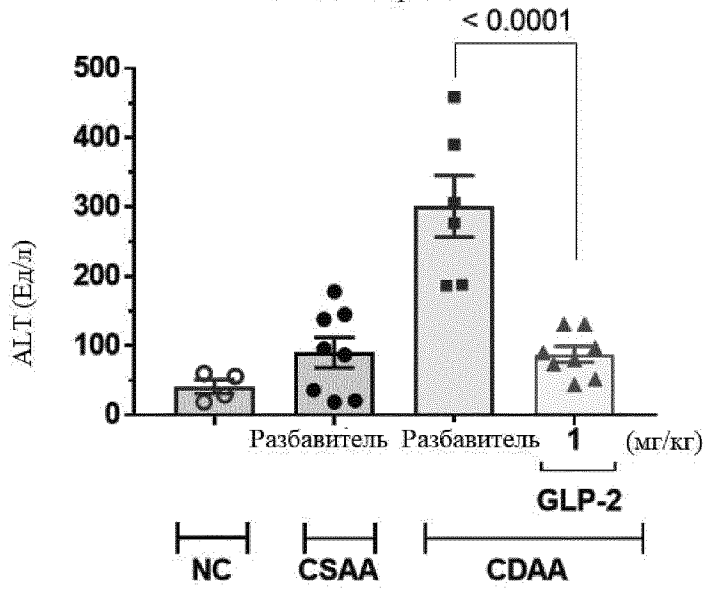
Фиг. 20С  
Длина тонкой кишки





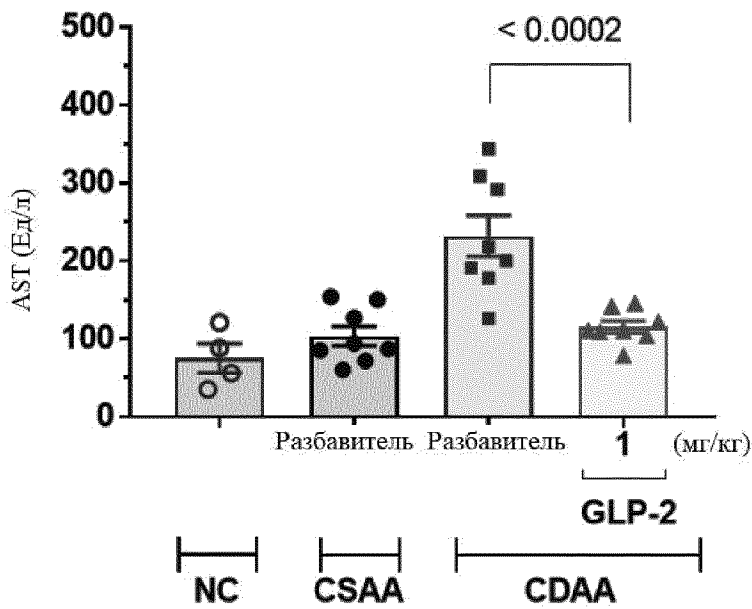
Фиг. 21А

АЛТ в сыворотке

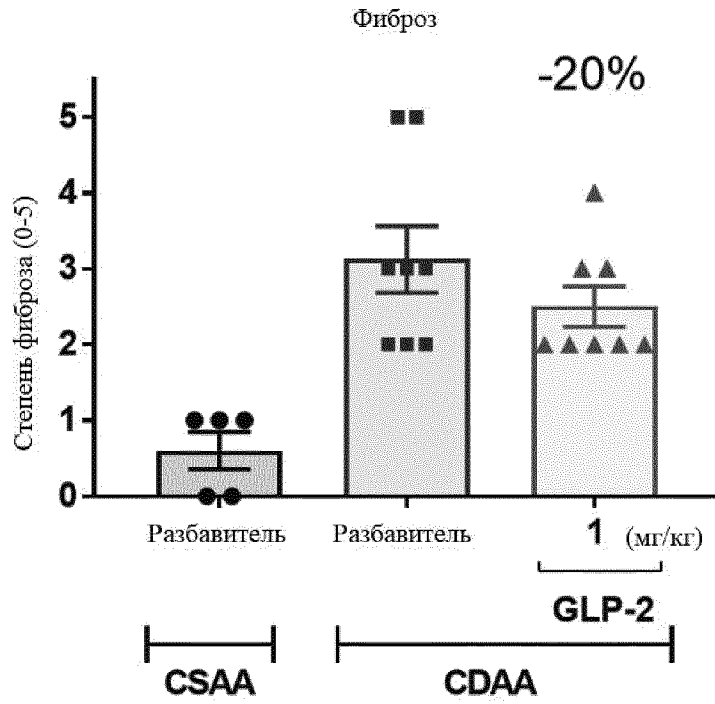


Фиг. 21В

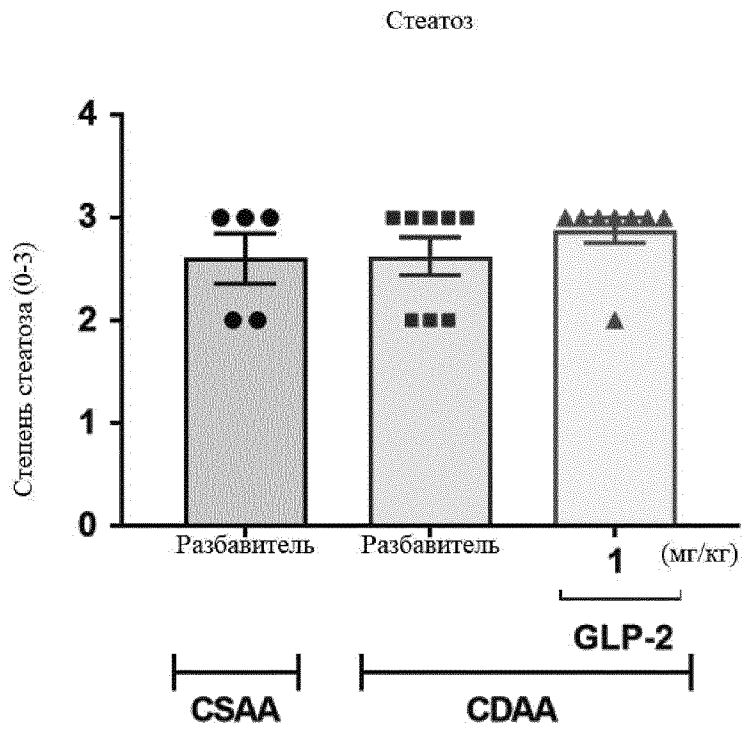
АСТ в сыворотке



Фиг. 21С

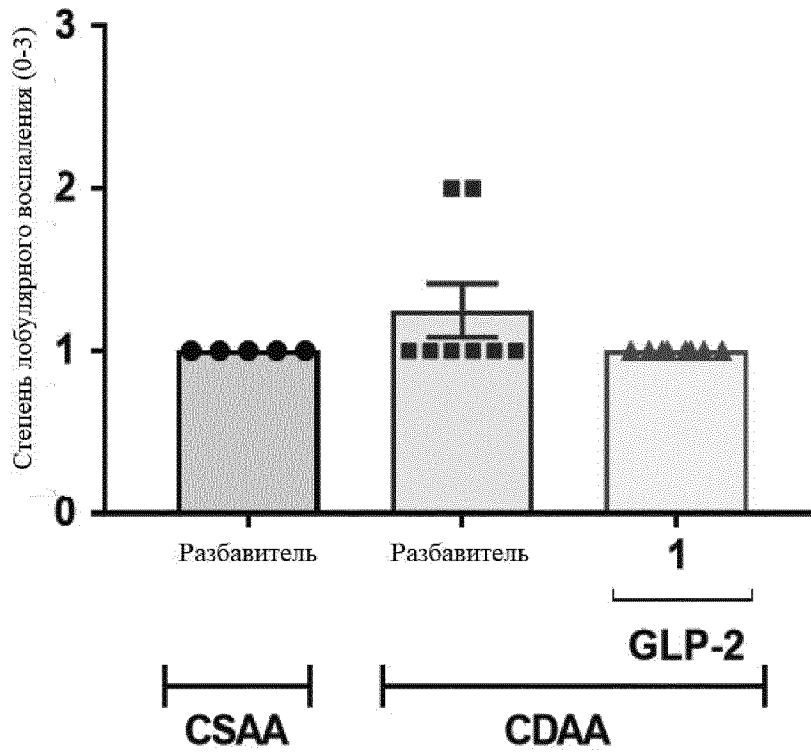


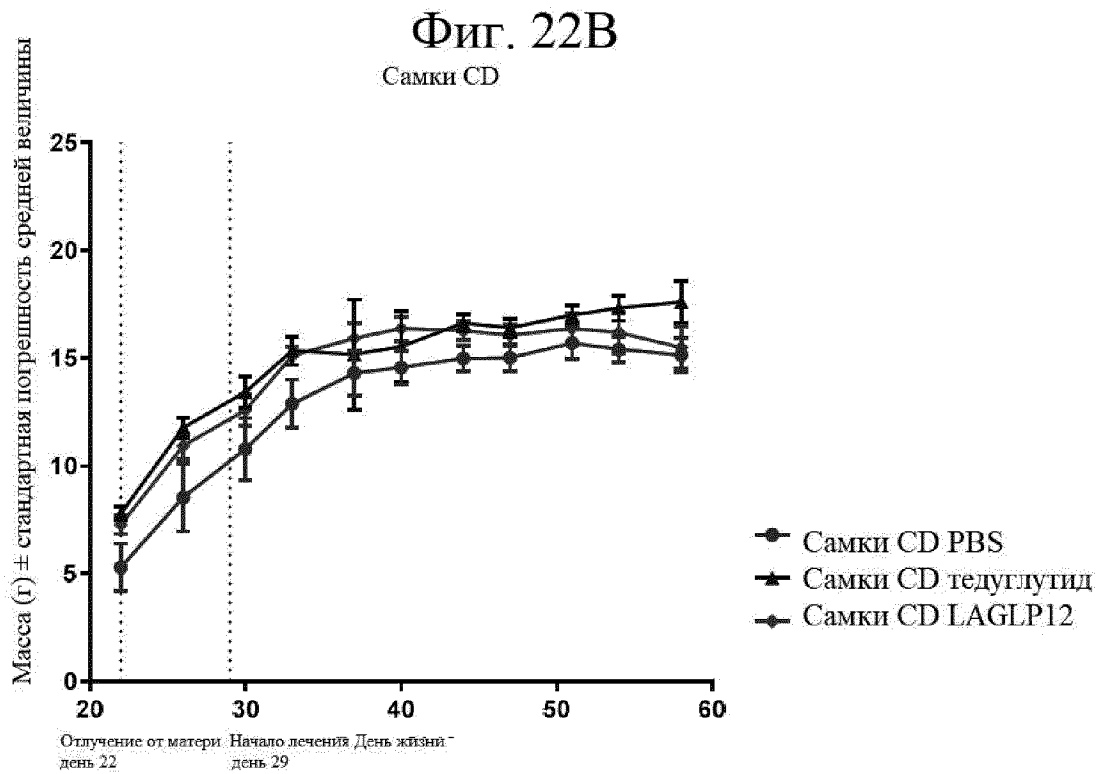
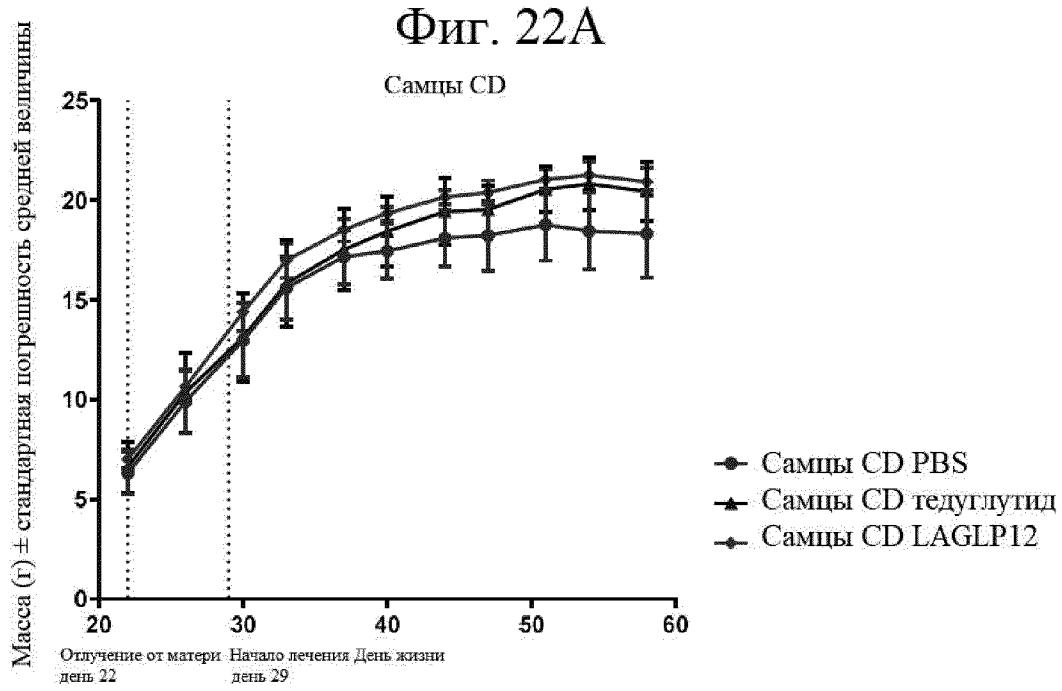
Фиг. 21D



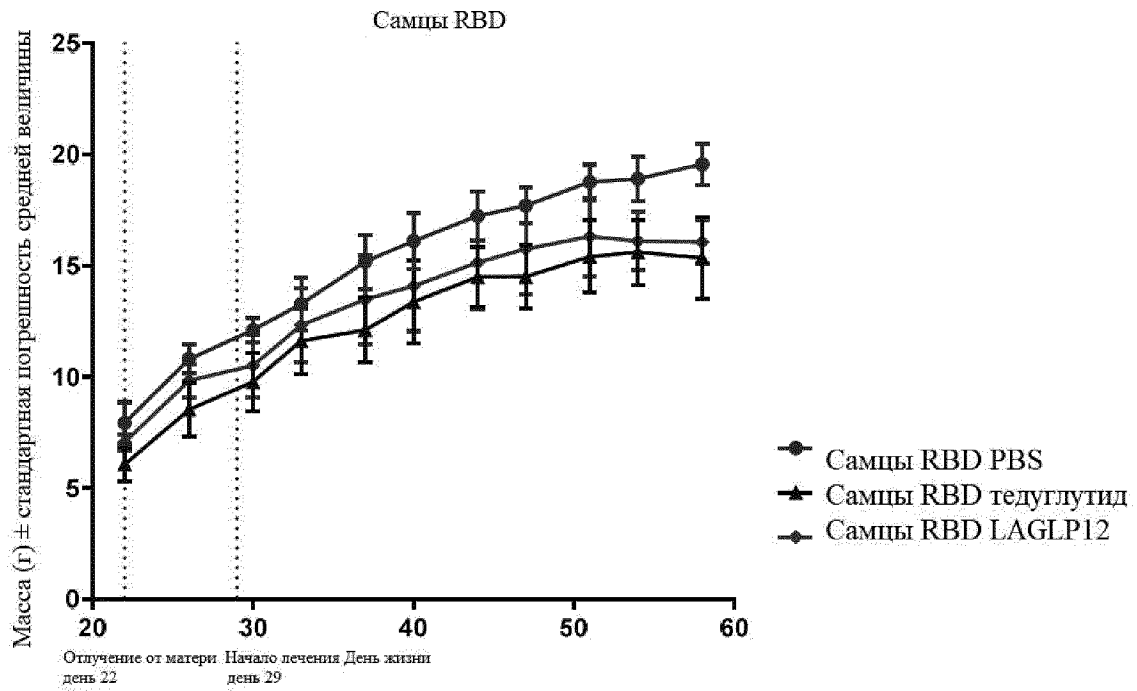
## Фиг. 21Е

Лобулярное воспаление

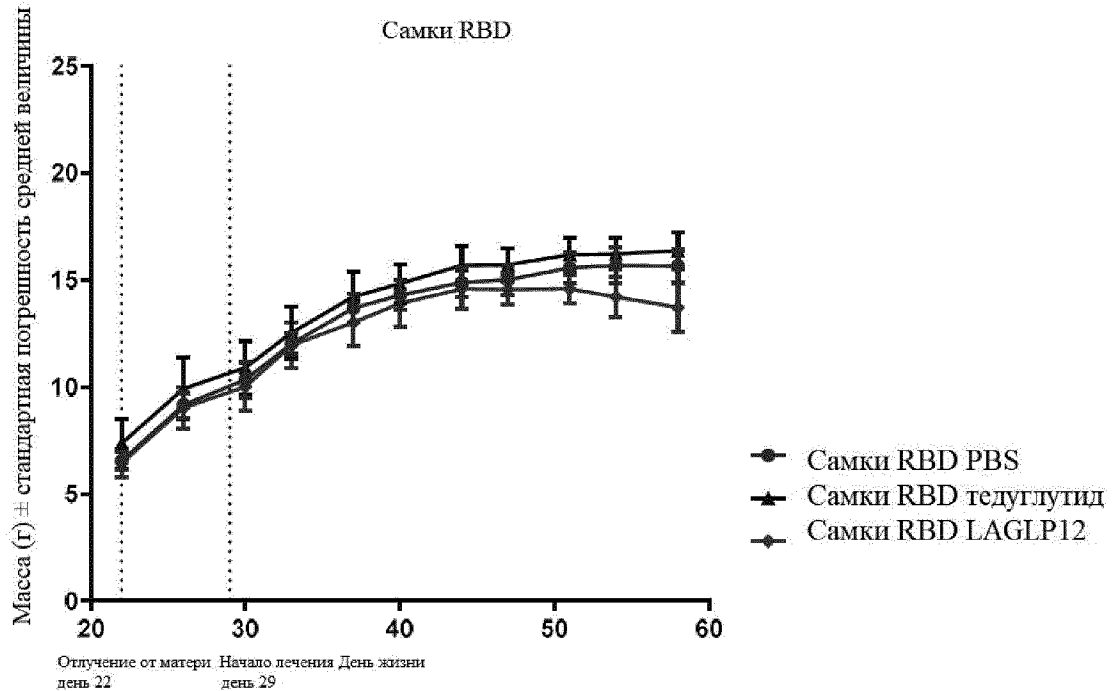




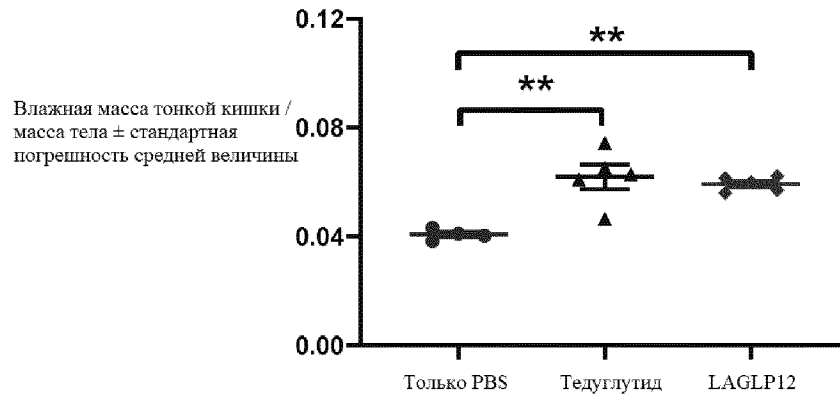
Фиг. 22С



Фиг. 22D



Фиг. 22Е



Фиг. 22F

Самки CD

