

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202491124 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2024.07.26

(22) Дата подачи заявки
2022.11.11

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

(54) ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ КОМПОЗИЦИЯ ДВОЙНОГО АГОНИСТА РЕЦЕПТОРА GLP-1 И РЕЦЕПТОРА GIP И ЕЕ ПРИМЕНЕНИЕ

(31) 202111341752.0

(32) 2021.11.12

(33) CN

(86) PCT/CN2022/131375

(87) WO 2023/083301 2023.05.19

(71) Заявитель:

ФУЦЗЯНЬ ШЭНДИ
ФАРМАСЬЮТИКАЛ КО.,
ЛТД.; ЦЗЯНСУ ХЭНЖУЙ
ФАРМАСЬЮТИКАЛС КО., ЛТД.
(CN)

(72) Изобретатель:

Ли Чжэньбинь, Чэнь Цзин, Цао
Сюэтэн, Лю Кай (CN)

(74) Представитель:

Харин А.В., Стойко Г.В., Галухина
Д.В., Алексеев В.В., Буре Н.Н. (RU)

(57) Предложены фармацевтическая композиция двойного агониста рецептора GLP-1 и рецептора GIP и ее применение. В частности, указанная фармацевтическая композиция содержит аналог GLP-1, представленный в общей формуле (I), и буфер, такой как фосфатный буфер; композиция может дополнительно содержать регулятор осмотического давления, такой как пропиленгликоль, хлорид натрия или маннит. Фармацевтическая композиция обладает хорошей биологической активностью и стабильностью. Общая формула (I) представляет собой: R₁-X₁-X₂-Glu-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-X₁₀-Ser-X₁₂-X₁₃-X₁₄-X₁₅-X₁₆-X₁₇-X₁₈-X₁₉-X₂₀-Glu-Phe-X₂₃-X₂₄-Trp-Leu-X₂₇-X₂₈-X₂₉-X₃₀-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser-R₂.

A1

202491124

202491124

A1

ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ КОМПОЗИЦИЯ ДВОЙНОГО АГОНИСТА РЕЦЕПТОРА GLP-1 И РЕЦЕПТОРА GIP И ЕЕ ПРИМЕНЕНИЕ

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ

Настоящее изобретение относится к области фармацевтических составов, в частности, к фармацевтической композиции, содержащей двойной агонист рецептора GLP-1 и рецептора GIP, и ее фармацевтическому применению.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

В настоящее время многие лекарственные средства на основе GLP-1 доступны на рынке и в основном используются для лечения СД2 (сахарного диабета 2 типа), такие как лираглутид, семаглутид и дулаглутид, причем лираглутид также одобрен FDA (Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США) для реализации на рынке в качестве лекарственного средства для снижения веса. В физиологических условиях активный GLP-1 состоит из 30 аминокислот и секретируется путем расщепления проглюкагона ферментом PC1/3 в L-клетках кишечника после еды. У пациента с СД2 секреция GLP-1 после еды значительно ингибируется, но ответ GLP-1R пациента на GLP-1 в фармакологической концентрации существенно не отличается от ответа нормального человека, что дополнительно подтверждает, что мишень имеет большой потенциал лечения. Хотя агонисты GLP-1R демонстрируют большие преимущества с точки зрения терапевтических эффектов, таких как снижение уровня глюкозы в крови и снижение веса, их действие на центральную нервную систему и желудок может вызвать тошноту и рвоту, то есть будут иметь место дозозависимые нежелательные реакции со стороны желудочно-кишечного тракта. Если терапевтическая доза лекарственных средств на основе GLP-1 ограничена и нельзя продолжать увеличивать дозу для достижения более заметных эффектов лечения в отношении снижения уровня глюкозы, снижения веса и т. д., существует необходимость в дополнении другими схемами лечения для усиления эффекта лечения или снижения частоты возникновения нежелательных реакций лекарственных средств на основе GLP-1.

Глюкозозависимый инсулиноотропный полипептид (GIP) также принадлежит к инкретинам. Активный GIP содержит 42 аминокислоты и продуцируется путем расщепления предшественника GIP ферментом PC1/3 в K-клетках, осуществляющих секрецию в кишечнике. GIP может играть роль во всесторонней одновременной регуляции нервной системы и эндокринной системы и тем самым улучшать метаболизм. GLP-1 может быть эффективным за счет прямого воздействия на центральную нервную систему,

поджелудочную железу и желудок и опосредованного действия на печень, а также активный ингредиент, влияющий на жировые и мышечные ткани, тем самым всесторонне улучшая метаболизм. Исследования показали, что у пациентов с инсулиннезависимым диабетом инкретиновая функция полипептида GIP значительно ослаблена, что приводит к отсутствию или потере инкретинового эффекта у пациентов. Исследования показали, что ингибирующие свойства полипептида GIP, вырабатываемого этими пациентами с диабетом, значительно снижаются, когда уровень глюкозы в крови возвращается к норме.

Следовательно, существует клиническая необходимость в способе лечения инсулиннезависимого диабета с использованием полипептида GIP в сочетании с клинически эффективным гипогликемическим препаратом для восстановления толерантности пациентов с инсулиннезависимым диабетом к полипептиду GIP, а также в сочетании с инкретиновым эффектом полипептида GIP для получения более сильного клинического гипогликемического эффекта.

PCT/CN2021/096568 относится к производному аналога GLP-1, обладающему агонистической активностью в отношении рецептора GIP человека, который оказывает двойное агонистическое действие на рецептор GLP-1 человека и рецептор GIP человека; по сравнению с агонистами рецептора GLP-1, известными в данной области техники, указанное производное оказывает более сильное лечебное действие, заключающееся в снижении уровня глюкозы и снижении веса, обладает чрезвычайно высокой стабильностью в плазме и имеет фармакокинетические характеристики при подкожной инъекции один раз в неделю у субъектов-людей. Однако химически модифицированные полипептидные лекарственные средства имеют сложную структуру, легко разлагаются, полимеризуются или подвергаются нежелательным химическим модификациям и, таким образом, становятся нестабильными; чтобы сделать их подходящими для введения, поддерживать стабильность во время хранения и последующего применения и обеспечить лучший терапевтический эффект, особенно важно разработать стабильные составы химически модифицированных полипептидных лекарственных средств.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Согласно настоящему изобретению предложена фармацевтическая композиция, которая содержит:

- (а) аналог GLP-1 общей формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль
- $$R_1-X_1-X_2-Glu-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-X_{10}-Ser-X_{12}-X_{13}-X_{14}-X_{15}-X_{16}-X_{17}-X_{18}-X_{19}-X_{20}-Glu-Phe-X_{23}-X_{24}-Trp-Leu-X_{27}-X_{28}-X_{29}-X_{30}-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser-R_2$$

(I) (SEQ ID NO: 19),

где:

R₁ представляет собой водород (H), алкил, ацетил, формил, бензоил, трифторацетил, pGlu или отсутствует;

R₂ представляет собой -NH₂, -OH или отсутствует;

X₁, X₂, X₁₀, X₁₂, X₁₃, X₁₄, X₁₅, X₁₆, X₁₇, X₁₈, X₁₉, X₂₀, X₂₃, X₂₄, X₂₇, X₂₈, X₂₉ и X₃₀ независимо выбраны из группы, состоящей из любых природных аминокислотных остатков, любых не природных аминокислотных остатков и пептидных фрагментов, состоящих из природных аминокислотных остатков и/или не природных аминокислотных остатков; и

по меньшей мере один из группы, состоящей из (b) буфера, (c) регулятора осмотического давления, (d) регулятора pH и (e) бактериостатического агента.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит аналог GLP-1 общей формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль и буфер.

В некоторых вариантах осуществления буфер выбран из одного или более из ацетатного буфера, буфера на основе соли гистидина, фосфатного буфера, сукцинатного буфера и буфера на основе лимонной кислоты.

В некоторых вариантах осуществления буфер представляет собой фосфатный буфер, такой как гидрофосфат натрия.

В некоторых вариантах осуществления X₁ представляет собой Tyr или His; X₂ представляет собой Aib или D-Ala; X₁₀ представляет собой Val или Tyr; X₁₂ представляет собой Ser или Ile; X₁₃ представляет собой Tyr или Ala; X₁₄ представляет собой Leu или Nle; X₁₅ представляет собой Asp или Glu; X₁₆ представляет собой Arg, Glu, Gly, Lys или Aib; X₁₇ представляет собой Glu, Ile или Gln; X₁₈ представляет собой Ala, Aib или His; X₁₉ представляет собой Ala, Aib или Gln; X₂₀ представляет собой Gln, Glu или Lys; X₂₃ представляет собой Ile или Val; X₂₄ представляет собой Ala, Asn или Gln; X₂₇ представляет собой Val или Leu; X₂₈ представляет собой Arg или Ala; X₂₉ представляет собой Gly или Gln; X₃₀ представляет собой Gly или Lys.

В некоторых вариантах осуществления X₁ представляет собой Tyr или His; X₂ представляет собой Aib или D-Ala; X₁₀ представляет собой Val, Tyr или Y1; X₁₂ представляет собой Ser, Ile или Y1; X₁₃ представляет собой Tyr, Ala или Y1; X₁₄ представляет собой Leu, Nle или Y1; X₁₅ представляет собой Asp или Glu; X₁₆ представляет собой Arg, Glu, Gly, Lys, Aib или Y1; X₁₇ представляет собой Glu, Ile, Gln или Y1; X₁₈ представляет собой Ala, Aib или His; X₁₉ представляет собой Ala, Aib или Gln; X₂₀ представляет собой Gln, Glu или Lys; X₂₃ представляет собой Ile или Val; X₂₄ представляет собой Ala, Asn или Gln; X₂₇ представляет собой Val или Leu; X₂₈ представляет собой Arg или Ala; X₂₉ представляет

собой Gly или Gln; X₃₀ представляет собой Gly или Lys; Y1 представляет собой замещенный остаток Lys, Orn, Dar, Dab или Cys, например, на боковой цепи остатка Lys, Orn, Dar, Dab или Cys присутствует модифицированная группа.

В некоторых вариантах осуществления Y1 представляет собой остаток Lys, Orn, Dar, Dab или Cys с заместителем на боковой цепи, причем заместитель имеет структуру формулы {[2-(2-аминоэтоксид)-этоксид]-ацетил}_a-(y-Glu)_b-CO-(CH₂)_c-COOH; где a представляет собой целое число, равное 1-3 (может быть равно 1, 2 или 3); b равно 1 или 2; c представляет собой целое число, равное 10-30 (может представлять собой 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 или 30).

В некоторых вариантах осуществления X₁ представляет собой Tуг; X₂ представляет собой Aib; X₁₀ представляет собой Tуг; X₁₂ представляет собой Ile; X₁₃ представляет собой Tуг; X₁₄ представляет собой Y1; X₁₅ представляет собой Asp или Glu; X₁₆ представляет собой Arg или Lys; X₁₇ представляет собой Ile; X₁₈ представляет собой Ala; X₁₉ представляет собой Ala; X₂₀ представляет собой Gln; X₂₃ представляет собой Ile или Val; X₂₄ представляет собой Asn; X₂₇ представляет собой Ile или Leu; X₂₈ представляет собой Ala; X₂₉ представляет собой Gly; X₃₀ представляет собой Gly; Y1 представляет собой остаток Lys, Orn, Dar, Dab или Cys, боковая цепь которого связана с заместителем формулы {[2-(2-аминоэтоксид)-этоксид]-ацетил}_a-(y-Glu)_b-CO-(CH₂)_c-COOH; a представляет собой целое число, равное 1-3; b равно 1 или 2; c представляет собой целое число, равное 10-30.

В некоторых вариантах осуществления X₁ представляет собой Tуг; X₂ представляет собой Aib; X₁₀ представляет собой Tуг; X₁₂ представляет собой Ile; X₁₃ представляет собой Tуг; X₁₄ представляет собой Y1; X₁₅ представляет собой Asp или Glu; X₁₆ представляет собой Lys; X₁₇ представляет собой Ile; X₁₈ представляет собой Ala; X₁₉ представляет собой Ala; X₂₀ представляет собой Gln; X₂₃ представляет собой Val; X₂₄ представляет собой Asn; X₂₇ представляет собой Leu; X₂₈ представляет собой Ala; X₂₉ представляет собой Gly; X₃₀ представляет собой Gly; Y1 представляет собой остаток Lys, Orn, Dar, Dab или Cys с заместителем на боковой цепи, причем заместитель имеет структуру формулы {[2-(2-аминоэтоксид)-этоксид]-ацетил}_a-(y-Glu)_b-CO-(CH₂)_c-COOH; a представляет собой целое число, равное 1-3; b равно 1 или 2; c представляет собой целое число, равное 10-30.

В некоторых вариантах осуществления X₁ представляет собой Tуг; X₂ представляет собой Aib или D-Ala; X₁₀ представляет собой Y1; X₁₂ представляет собой Ile; X₁₃ представляет собой Tуг; X₁₄ представляет собой Leu или Nle; X₁₅ представляет собой Glu; X₁₆ представляет собой Arg или Lys; X₁₇ представляет собой Ile; X₁₈ представляет собой Ala; X₁₉ представляет собой Ala; X₂₀ представляет собой Gln или Lys; X₂₃ представляет собой Ile или Val; X₂₄ представляет собой Asn или Gln; X₂₇ представляет собой Ile или Leu; X₂₈

представляет собой Ala; X₂₉ представляет собой Gly; X₃₀ представляет собой Gly; Y1 представляет собой остаток Lys, Orn, Dar, Dab или Cys с заместителем на боковой цепи, причем заместитель имеет структуру формулы {[2-(2-аминоэтокси)-этокси]-ацетил}_a-(y-Glu)_b-CO-(CH₂)_c-COOH; где a представляет собой целое число, равное 1-3, b равно 1 или 2, и c представляет собой целое число, равное 10-30.

В некоторых вариантах осуществления X₁ представляет собой Tug; X₂ представляет собой Aib или D-Ala; X₁₀ представляет собой Tug; X₁₂ представляет собой Y1; X₁₃ представляет собой Tug; X₁₄ представляет собой Leu или Nle; X₁₅ представляет собой Glu; X₁₆ представляет собой Arg или Lys; X₁₇ представляет собой Ile; X₁₈ представляет собой Ala; X₁₉ представляет собой Ala; X₂₀ представляет собой Gln или Lys; X₂₃ представляет собой Ile или Val; X₂₄ представляет собой Asn или Gln; X₂₇ представляет собой Ile или Leu; X₂₈ представляет собой Ala; X₂₉ представляет собой Gly; X₃₀ представляет собой Gly; Y1 представляет собой остаток Lys, Orn, Dar, Dab или Cys с заместителем на боковой цепи, причем заместитель имеет структуру формулы {[2-(2-аминоэтокси)-этокси]-ацетил}_a-(y-Glu)_b-CO-(CH₂)_c-COOH; где a представляет собой целое число, равное 1-3, b равно 1 или 2, и c представляет собой целое число, равное 10-30.

В некоторых вариантах осуществления X₁ представляет собой Tug; X₂ представляет собой Aib или D-Ala; X₁₀ представляет собой Tug; X₁₂ представляет собой Ile; X₁₃ представляет собой Y1; X₁₄ представляет собой Leu или Nle; X₁₅ представляет собой Glu; X₁₆ представляет собой Arg или Lys; X₁₇ представляет собой Ile; X₁₈ представляет собой Ala; X₁₉ представляет собой Ala; X₂₀ представляет собой Gln или Lys; X₂₃ представляет собой Ile или Val; X₂₄ представляет собой Asn или Gln; X₂₇ представляет собой Ile или Leu; X₂₈ представляет собой Ala; X₂₉ представляет собой Gly; X₃₀ представляет собой Gly; Y1 представляет собой остаток Lys, Orn, Dar, Dab или Cys с заместителем на боковой цепи, причем заместитель имеет структуру формулы {[2-(2-аминоэтокси)-этокси]-ацетил}_a-(y-Glu)_b-CO-(CH₂)_c-COOH; где a представляет собой целое число, равное 1-3, b равно 1 или 2, и c представляет собой целое число, равное 10-30.

В некоторых вариантах осуществления X₁ представляет собой Tug; X₂ представляет собой Aib или D-Ala; X₁₀ представляет собой Tug; X₁₂ представляет собой Ile; X₁₃ представляет собой Tug; X₁₄ представляет собой Y1; X₁₅ представляет собой Glu; X₁₆ представляет собой Arg или Lys; X₁₇ представляет собой Ile; X₁₈ представляет собой Ala; X₁₉ представляет собой Ala; X₂₀ представляет собой Gln или Lys; X₂₃ представляет собой Ile или Val; X₂₄ представляет собой Asn или Gln; X₂₇ представляет собой Ile или Leu; X₂₈ представляет собой Ala; X₂₉ представляет собой Gly; X₃₀ представляет собой Gly; Y1 представляет собой остаток Lys, Orn, Dar, Dab или Cys с заместителем на боковой цепи,

причем заместитель имеет структуру формулы $\{[2-(2\text{-аминоэтоксид-этоксид-ацетил})_a\text{-}(y\text{-Glu})_b\text{-CO-(CH}_2)_c\text{-COOH}]\}$; где a представляет собой целое число, равное 1-3, b равно 1 или 2, и c представляет собой целое число, равное 10-30.

В некоторых вариантах осуществления X_1 представляет собой Tyr; X_2 представляет собой Aib; X_{10} представляет собой Tyr; X_{12} представляет собой Ile; X_{13} представляет собой Tyr; X_{14} представляет собой Y1; X_{15} представляет собой Glu; X_{16} представляет собой Arg или Lys; X_{17} представляет собой Ile; X_{18} представляет собой Ala; X_{19} представляет собой Ala; X_{20} представляет собой Gln; X_{23} представляет собой Ile или Val; X_{24} представляет собой Asn; X_{27} представляет собой Ile или Leu; X_{28} представляет собой Ala; X_{29} представляет собой Gly; X_{30} представляет собой Gly; Y1 представляет собой остаток Lys, Orn, Dap, Dab или Cys с заместителем на боковой цепи, причем заместитель имеет структуру формулы $\{[2-(2\text{-аминоэтоксид-этоксид-ацетил})_a\text{-}(y\text{-Glu})_b\text{-CO-(CH}_2)_c\text{-COOH}]\}$; a представляет собой целое число, равное 1-3; b равно 1 или 2; c представляет собой целое число, равное 10-30.

В некоторых вариантах осуществления X_1 представляет собой Tyr; X_2 представляет собой Aib или D-Ala; X_{10} представляет собой Tyr; X_{12} представляет собой Ile; X_{13} представляет собой Tyr; X_{14} представляет собой Leu или Nle; X_{15} представляет собой Glu; X_{16} представляет собой Y1; X_{17} представляет собой Ile; X_{18} представляет собой Ala; X_{19} представляет собой Ala; X_{20} представляет собой Gln или Lys; X_{23} представляет собой Ile или Val; X_{24} представляет собой Asn или Gln; X_{27} представляет собой Ile или Leu; X_{28} представляет собой Ala; X_{29} представляет собой Gly; X_{30} представляет собой Gly; Y1 представляет собой остаток Lys, Orn, Dap, Dab или Cys с заместителем на боковой цепи, причем заместитель имеет структуру формулы $\{[2-(2\text{-аминоэтоксид-этоксид-ацетил})_a\text{-}(y\text{-Glu})_b\text{-CO-(CH}_2)_c\text{-COOH}]\}$; где a представляет собой целое число, равное 1-3, b равно 1 или 2, и c представляет собой целое число, равное 10-30.

В некоторых вариантах осуществления X_1 представляет собой Tyr; X_2 представляет собой Aib или D-Ala; X_{10} представляет собой Tyr; X_{12} представляет собой Ile; X_{13} представляет собой Tyr; X_{14} представляет собой Leu или Nle; X_{15} представляет собой Glu; X_{16} представляет собой Arg или Lys; X_{17} представляет собой Y1; X_{18} представляет собой Ala; X_{19} представляет собой Ala; X_{20} представляет собой Gln или Lys; X_{23} представляет собой Ile или Val; X_{24} представляет собой Asn или Gln; X_{27} представляет собой Ile или Leu; X_{28} представляет собой Ala; X_{29} представляет собой Gly; X_{30} представляет собой Gly; Y1 представляет собой остаток Lys, Orn, Dap, Dab или Cys с заместителем на боковой цепи, причем заместитель имеет структуру формулы $\{[2-(2\text{-аминоэтоксид-этоксид-ацетил})_a\text{-}(y\text{-Glu})_b\text{-CO-(CH}_2)_c\text{-COOH}]\}$; где a представляет собой целое число, равное 1-3, b равно 1 или 2, и c представляет собой целое число, равное 10-30.

В некоторых вариантах осуществления каждый из X_{10} , X_{12} , X_{13} , X_{14} , X_{16} и X_{17} независимо выбран из $Y1$, где $Y1$ представляет собой остаток Lys, Orn, Dap, Dab или Cys с заместителем на боковой цепи, причем заместитель имеет структуру формулы {[2-(2-аминоэтокси)-этокси]-ацетил}_a-(y-Glu)_b-CO-(CH₂)_c-COOH; а представляет собой целое число, равное 1-3; b равно 1 или 2; c представляет собой целое число, равное 10-30.

В некоторых вариантах осуществления a равно 2, b равно 1 или 2, и c представляет собой целое число, равное 16-20 (например, c равно 16, 17, 18, 19 или 20).

В некоторых вариантах осуществления a равно 2, b равно 1 или 2, и c равно 16, 18 или 20.

В некоторых вариантах осуществления X_{10} представляет собой $Y1$; $Y1$ представляет собой Lys с заместителем на боковой цепи, причем заместитель имеет структуру формулы {[2-(2-аминоэтокси)-этокси]-ацетил}_a-(y-Glu)_b-CO-(CH₂)_c-COOH; a равно 2; b равно 1 или 2; c равно 16 или 18.

В некоторых вариантах осуществления X_{12} представляет собой $Y1$; $Y1$ представляет собой Lys с заместителем на боковой цепи, причем заместитель имеет структуру формулы {[2-(2-аминоэтокси)-этокси]-ацетил}_a-(y-Glu)_b-CO-(CH₂)_c-COOH; a равно 2; b равно 1 или 2; c равно 16 или 18.

В некоторых вариантах осуществления X_{13} представляет собой $Y1$; $Y1$ представляет собой Lys с заместителем на боковой цепи, причем заместитель имеет структуру формулы {[2-(2-аминоэтокси)-этокси]-ацетил}_a-(y-Glu)_b-CO-(CH₂)_c-COOH; a равно 2; b равно 1 или 2; c равно 16 или 18.

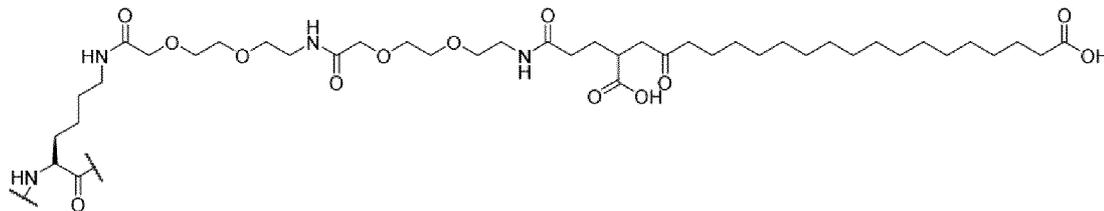
В некоторых вариантах осуществления X_{14} представляет собой $Y1$; $Y1$ представляет собой Lys с заместителем на боковой цепи, причем заместитель имеет структуру формулы {[2-(2-аминоэтокси)-этокси]-ацетил}_a-(y-Glu)_b-CO-(CH₂)_c-COOH; a равно 2; b равно 1 или 2; c равно 16 или 18.

В некоторых вариантах осуществления X_{16} представляет собой $Y1$; $Y1$ представляет собой Lys с заместителем на боковой цепи, причем заместитель имеет структуру формулы {[2-(2-аминоэтокси)-этокси]-ацетил}_a-(y-Glu)_b-CO-(CH₂)_c-COOH; a равно 2; b равно 1 или 2; c равно 16 или 18.

В некоторых вариантах осуществления X_{17} представляет собой $Y1$; $Y1$ представляет собой Lys с заместителем на боковой цепи, причем заместитель имеет структуру формулы {[2-(2-аминоэтокси)-этокси]-ацетил}_a-(y-Glu)_b-CO-(CH₂)_c-COOH; a равно 2; b равно 1 или 2; c равно 16 или 18.

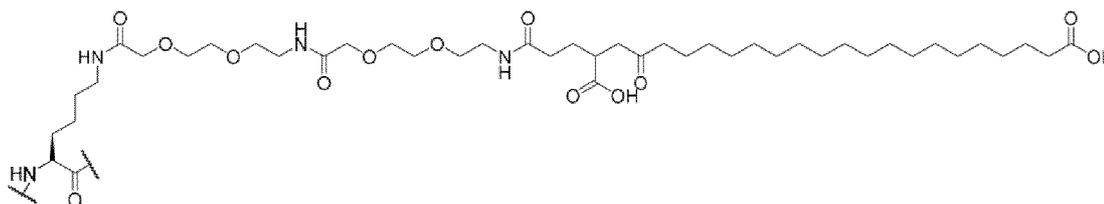
В некоторых вариантах осуществления аминокетильная группа боковой цепи остатка Lys в $Y1$ ковалентно связана с заместителем путем образования амидной связи.

В некоторых вариантах осуществления Y1 представляет собой K(-OEG-OEG-yGlu-C18-OH) или K(-OEG-OEG-yGlu-C20-OH), где K(-OEG-OEG-yGlu-C18-OH) имеет структуру, представленную ниже:



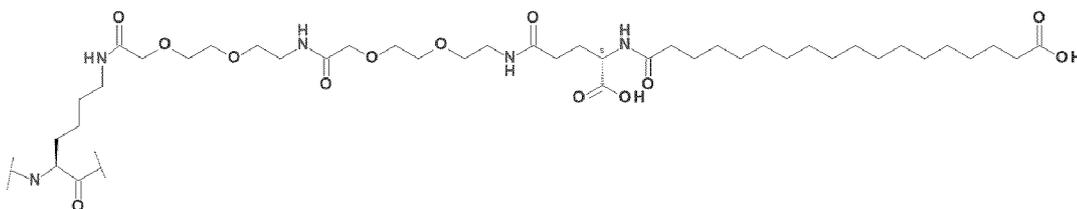
, и

K(-OEG-OEG-yGlu-C20-OH) имеет структуру, представленную ниже:



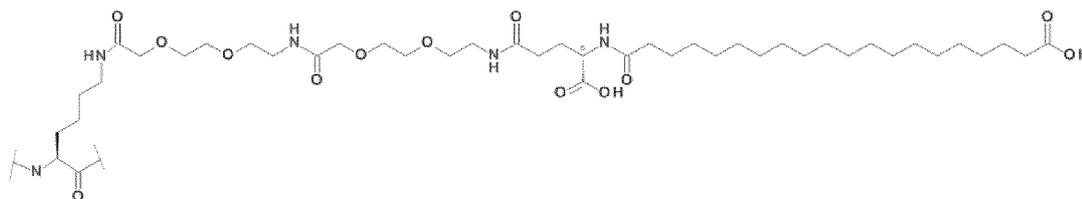
В некоторых вариантах осуществления Y1 представляет собой K(-OEG-OEG-yGlu-C18-OH) или K(-OEG-OEG-yGlu-C20-OH), где:

K(-OEG-OEG-yGlu-C18-OH) имеет структуру, представленную ниже:



, и

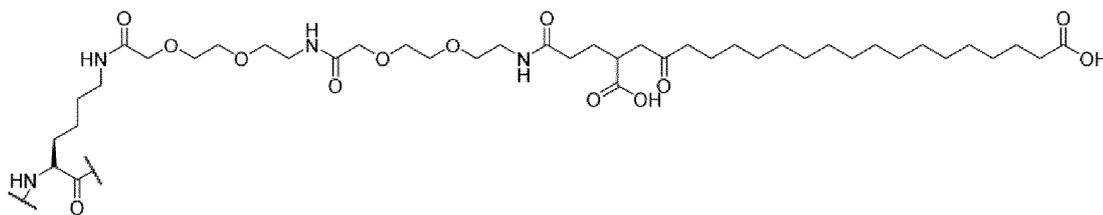
K(-OEG-OEG-yGlu-C20-OH) имеет структуру, представленную ниже:



В некоторых вариантах осуществления в Y1 ε-аминогруппа остатка Lys ковалентно связана с заместителем амидной связью, и α-аминогруппа остатка Lys связана с пептидной цепью.

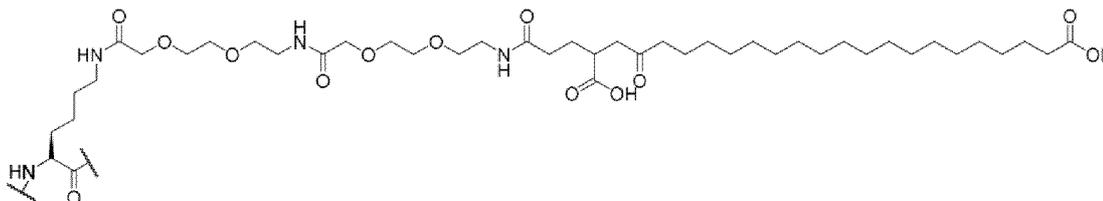
В некоторых вариантах осуществления X₁ выбран из Tug; X₂ выбран из Aib; X₁₀ выбран из Tug; X₁₂ выбран из Ile; X₁₃ выбран из Tug; X₁₄ выбран из Y1; X₁₅ выбран из группы, состоящей из Asp и Glu; X₁₆ выбран из группы, состоящей из Arg и Lys; X₁₇ выбран из Ile; X₁₈ выбран из Ala; X₁₉ выбран из Ala; X₂₀ выбран из Gln; X₂₃ выбран из Ile или Val; X₂₄ выбран из Asn; X₂₇ выбран из группы, состоящей из Ile и Leu; X₂₈ выбран из Ala; X₂₉ выбран из Gly; X₃₀ выбран из Gly; Y1 представляет собой K(-OEG-OEG-yGlu-C18-OH) или K(-OEG-

OEG-yGlu-C20-OH), где K(-OEG-OEG-yGlu-C18-OH) имеет структуру, представленную ниже:

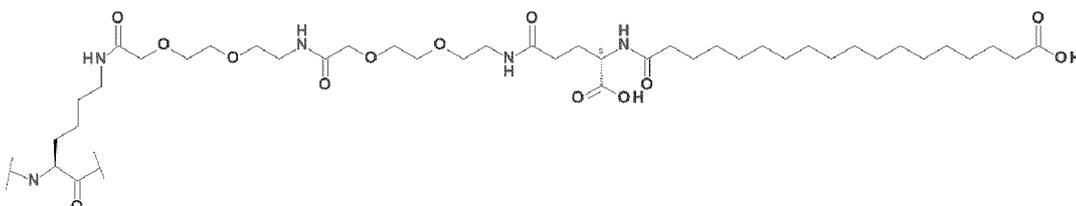


, и

K(-OEG-OEG-yGlu-C20-OH) имеет структуру, представленную ниже:

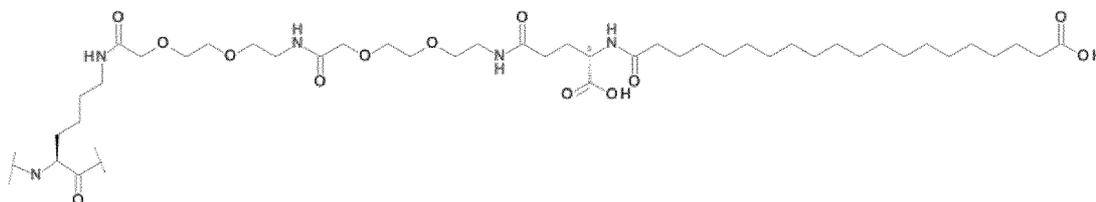


В некоторых вариантах осуществления X_1 выбран из Tug; X_2 выбран из Aib; X_{10} выбран из Tug; X_{12} выбран из Ile; X_{13} выбран из Tug; X_{14} выбран из Y1; X_{15} выбран из группы, состоящей из Asp и Glu; X_{16} выбран из группы, состоящей из Arg и Lys; X_{17} выбран из Ile; X_{18} выбран из Ala; X_{19} выбран из Ala; X_{20} выбран из Gln; X_{23} выбран из Ile или Val; X_{24} выбран из Asn; X_{27} выбран из группы, состоящей из Ile и Leu; X_{28} выбран из Ala; X_{29} выбран из Gly; X_{30} выбран из Gly; Y1 представляет собой K(-OEG-OEG-yGlu-C18-OH) или K(-OEG-OEG-yGlu-C20-OH), где K(-OEG-OEG-yGlu-C18-OH) имеет структуру, представленную ниже:



, и

K(-OEG-OEG-yGlu-C20-OH) имеет структуру, представленную ниже:



В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения аналог GLP-1 представлен общей формулой (II) (SEQ ID NO: 20):

H-YAibEGTFTSDYSIYX₁₄X₁₅X₁₆IAAQEFX₂₃NWLX₂₇AGGPSSGAPPPS-NH₂ (II), где X₁₄ представляет собой K или L, X₁₅ представляет собой D или E, X₁₆ представляет собой K или R, X₂₃ представляет собой V или I, и X₂₇ представляет собой I или L.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения аналог GLP-1 выбран из группы, состоящей из следующих соединений, пронумерованных от 1 до 18:

SEQ ID NO: Последовательность

1	H-YAibEGTFTSDYSIYKDKIAAQEFVNWLIAGGPSSGAPPPS-NH ₂
2	H-YAibEGTFTSDYSIYKDRIAAQEFVNWLIAGGPSSGAPPPS-NH ₂
3	H-YAibEGTFTSDYSIYKDKIAAQEFINWLIAGGPSSGAPPPS-NH ₂
4	H-YAibEGTFTSDYSIYKDRIAAQEFINWLIAGGPSSGAPPPS-NH ₂
5	H-YAibEGTFTSDYSIYKDKIAAQEFINWLLAGGPSSGAPPPS-NH ₂
6	H-YAibEGTFTSDYSIYKDRIAAQEFVNWLLAGGPSSGAPPPS-NH ₂
7	H-YAibEGTFTSDYSIYKDKIAAQEFVNWLLAGGPSSGAPPPS-NH ₂
8	H-YAibEGTFTSDYSIYLEKIAAQEFVNWLLAGGPSSGAPPPS-NH ₂
9	H-YAibEGTFTSDYSIYLEKIAAQEFVNWLIAGGPSSGAPPPS-NH ₂
10	H-YAibEGTFTSDYSIYLEKIAAQEFINWLIAGGPSSGAPPPS-NH ₂
11	H-YAibEGTFTSDYSIYLEKIAAQEFINWLLAGGPSSGAPPPS-NH ₂
12	H-YAibEGTFTSDYSIYKEKIAAQEFVNWLIAGGPSSGAPPPS-NH ₂
13	H-YAibEGTFTSDYSIYKERIAAQEFVNWLIAGGPSSGAPPPS-NH ₂
14	H-YAibEGTFTSDYSIYKEKIAAQEFINWLIAGGPSSGAPPPS-NH ₂
15	H-YAibEGTFTSDYSIYKERIAAQEFINWLIAGGPSSGAPPPS-NH ₂
16	H-YAibEGTFTSDYSIYKEKIAAQEFINWLLAGGPSSGAPPPS-NH ₂
17	H-YAibEGTFTSDYSIYKERIAAQEFVNWLLAGGPSSGAPPPS-NH ₂
18	H-YAibEGTFTSDYSIYKEKIAAQEFVNWLLAGGPSSGAPPPS-NH ₂ .

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения аналог GLP-1 выбран из группы, состоящей из следующих соединений, пронумерованных от 1# до 18#:

№	Последовательность
1#	H-YAibEGTFTSDYSIYK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)DKIAAQEFVNWLIAGGPSSGAPPPS-NH ₂
2#	H-YAibEGTFTSDYSIYK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)DRIAAQEFVNWLIAGGPSSGAPPPS-NH ₂
3#	H-YAibEGTFTSDYSIYK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)DKIAAQEFINWLIAGGPSSGAPPPS-NH ₂

- 4# H-YAibEGTFTSDYSIYK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)DRIAAQEFINWLIAGGPSSGAPPPS-NH₂
- 5# H-YAibEGTFTSDYSIYK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)DKIAAQEFINWLLAGGPSSGAPPPS-NH₂
- 6# H-YAibEGTFTSDYSIYK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)DRIAAQEFVNWLLAGGPSSGAPPPS-NH₂
- 7# H-YAibEGTFTSDYSIYK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)DKIAAQEFVNWLLAGGPSSGAPPPS-NH₂
- 8# H-YAibEGTFTSDYSIYLEK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)IAAQEFVNWLLAGGPSSGAPPPS-NH₂
- 9# H-YAibEGTFTSDYSIYLEK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)IAAQEFVNWLIAGGPSSGAPPPS-NH₂
- 10# H-YAibEGTFTSDYSIYLEK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)IAAQEFINWLIAGGPSSGAPPPS-NH₂
- 11# H-YAibEGTFTSDYSIYLEK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)IAAQEFINWLLAGGPSSGAPPPS-NH₂
- 12# H-YAibEGTFTSDYSIYK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)EKIAAQEFVNWLIAGGPSSGAPPPS-NH₂
- 13# H-YAibEGTFTSDYSIYK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)ERIAAQEFVNWLIAGGPSSGAPPPS-NH₂
- 14# H-YAibEGTFTSDYSIYK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)EKIAAQEFINWLIAGGPSSGAPPPS-NH₂
- 15# H-YAibEGTFTSDYSIYK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)ERIAAQEFINWLIAGGPSSGAPPPS-NH₂
- 16# H-YAibEGTFTSDYSIYK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)EKIAAQEFINWLLAGGPSSGAPPPS-NH₂
- 17# H-YAibEGTFTSDYSIYK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)ERIAAQEFVNWLLAGGPSSGAPPPS-NH₂
- 18# H-YAibEGTFTSDYSIYK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)EKIAAQEFVNWLLAGGPSSGAPPPS-NH₂.

В некоторых вариантах осуществления аналог GLP-1 согласно настоящему изобретению выбран из группы, состоящей из соединений, представленных как 7#, 12#, 13#,

14#, 15#, 16#, 17# и 18 # на фиг. 3.

В некоторых вариантах осуществления концентрация аналога GLP-1 или его фармацевтически приемлемой соли в фармацевтической композиции составляет от 0,01 до 1000 мг/мл, например, от 0,1 до 500 мг/мл, от 0,1 до 400 мг/мл, от 0,1 до 300 мг/мл, от 0,1 до 200 мг/мл, от 0,1 до 100 мг/мл, от 0,5 до 200 мг/мл, от 0,5 до 150 мг/мл, от 0,5 до 100 мг/мл, от 0,5 до 50 мг/мл, от 0,5 до 25 мг/мл, от 1,0 до 100 мг/мл, от 1,0 до 90 мг/мл, от 1,0 до 80 мг/мл, от 1,0 до 70 мг/мл, от 1,0 до 60 мг/мл, от 1,0 до 50 мг/мл, от 1,0 до 40 мг/мл, от 1,0 до 30 мг/мл, от 1,0 до 20 мг/мл, от 1,0 до 10 мг/мл, от 1,0 до 9,0 мг/мл, от 1,0 до 8,0 мг/мл, от 1,0 до 7,0 мг/мл, от 1,0 до 6,0 мг/мл, от 1,0 до 5,0 мг/мл, от 2,0 до 50 мг/мл, от 2,0 до 40 мг/мл, от 2,0 до 30 мг/мл, от 2,0 до 20 мг/мл, от 2,0 до 10 мг/мл, от 2,0 до 9,0 мг/мл, от 2,0 до 8,0 мг/мл, от 2,0 до 7,0 мг/мл, от 2,0 до 6,0 мг/мл, от 2,0 до 5,0 мг/мл, от 5,0 до 1000 мг/мл, от 5,0 до 500 мг/мл, от 5,0 до 400 мг/мл, от 5,0 до 300 мг/мл, от 5,0 до 200 мг/мл, от 5,0 до 100 мг/мл, от 5,0 до 90 мг/мл, от 5,0 до 80 мг/мл, от 5,0 до 70 мг/мл, от 5,0 до 60 мг/мл, от 5,0 до 50 мг/мл, от 5,0 до 40 мг/мл, от 5,0 до 30 мг/мл, от 5,0 до 20 мг/мл, от 5,0 до 10 мг/мл, от 6,0 до 1000 мг/мл, от 6,0 до 500 мг/мл, от 6,0 до 400 мг/мл, от 6,0 до 300 мг/мл, от 6,0 до 200 мг/мл, от 6,0 до 100 мг/мл, от 6,0 до 90 мг/мл, от 6,0 до 80 мг/мл, от 6,0 до 70 мг/мл, от 6,0 до 60 мг/мл, от 6,0 до 50 мг/мл, от 6,0 до 40 мг/мл, от 6,0 до 30 мг/мл, от 6,0 до 20 мг/мл или от 6,0 до 10 мг/мл. В некоторых вариантах осуществления концентрация аналога GLP-1 или его фармацевтически приемлемой соли в фармацевтической композиции составляет приблизительно 1,0 мг/мл, приблизительно 2,0 мг/мл, приблизительно 3,0 мг/мл, приблизительно 4,0 мг/мл, приблизительно 5,0 мг/мл, приблизительно 6,0 мг/мл, приблизительно 7,0 мг/мл, приблизительно 8,0 мг/мл, приблизительно 9,0 мг/мл, приблизительно 10,0 мг/мл, приблизительно 11,0 мг/мл, приблизительно 12,0 мг/мл, приблизительно 13,0 мг/мл, приблизительно 14,0 мг/мл, приблизительно 15,0 мг/мл, приблизительно 16,0 мг/мл, приблизительно 17,0 мг/мл, приблизительно 18,0 мг/мл, приблизительно 19,0 мг/мл, приблизительно 20,0 мг/мл, приблизительно 21,0 мг/мл, приблизительно 22,0 мг/мл, приблизительно 23,0 мг/мл, приблизительно 24,0 мг/мл, приблизительно 25,0 мг/мл, приблизительно 26,0 мг/мл, приблизительно 27,0 мг/мл, приблизительно 28,0 мг/мл, приблизительно 29,0 мг/мл или приблизительно 30,0 мг/мл. В некоторых вариантах осуществления концентрация аналога GLP-1 или его фармацевтически приемлемой соли в фармацевтической композиции составляет приблизительно 2,0 мг/мл или приблизительно 10,0 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция дополнительно содержит регулятор осмотического давления. Регулятор осмотического давления включает, не ограничиваясь перечисленным: соли (например, хлорид натрия,

фосфат, цитрат натрия, борную кислоту и тартрат натрия), сахар или сахарный спирт (например, лактозу, трегалозу, сахарозу, глюкозу, маннит, сорбит и ксилит), аминокислоты (например, L-глицин, L-гистидин, аргинин, лизин, изолейцин, аспарагиновую кислоту, триптофан и треонин), многоатомный сахарный спирт (например, глицерин, 1,2-пропандиол (также называемый в данном документе пропиленгликолем), 1,3-пропандиол и 1,3-бутандиол), полиэтиленгликоль (например, ПЭГ 400) или их смеси.

В некоторых вариантах осуществления регулятор осмотического давления выбран из одного или более из пропиленгликоля, маннита, сорбита, ксилита, глицерина, лактозы, трегалозы, сахарозы, глюкозы, хлорида натрия, фосфата, цитрата натрия, борной кислоты и тартрата натрия.

В некоторых вариантах осуществления регулятор осмотического давления представляет собой хлорид натрия.

В некоторых вариантах осуществления регулятор осмотического давления представляет собой пропиленгликоль или маннит.

В некоторых вариантах осуществления концентрация пропиленгликоля в фармацевтической композиции составляет от 10 до 20 мг/мл, например, от 10 до 19 мг/мл, от 10 до 18 мг/мл, от 10 до 17 мг/мл, от 10 до 16 мг/мл, от 10 до 15 мг/мл, от 11 до 20 мг/мл, от 11 до 19 мг/мл, от 11 до 18 мг/мл, от 11 до 17 мг/мл, от 11 до 16 мг/мл, от 11 до 15 мг/мл, от 12 до 20 мг/мл, от 12 до 19 мг/мл, от 12 до 18 мг/мл, от 12 до 17 мг/мл, от 12 до 16 мг/мл, от 12 до 15 мг/мл, от 13 до 20 мг/мл, от 13 до 19 мг/мл, от 13 до 18 мг/мл, от 13 до 17 мг/мл, от 13 до 16 мг/мл или от 13 до 15 мг/мл. В некоторых вариантах осуществления концентрация пропиленгликоля в фармацевтической композиции составляет от 12 до 16 мг/мл, например, приблизительно 14 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления концентрация хлорида натрия в фармацевтической композиции составляет от 1 до 20 мг/мл, например, от 1 до 19 мг/мл, от 1 до 18 мг/мл, от 1 до 17 мг/мл, от 1 до 16 мг/мл, от 1 до 15 мг/мл, от 2 до 18 мг/мл, от 2 до 17 мг/мл, от 2 до 16 мг/мл, от 2 до 15 мг/мл, от 3 до 18 мг/мл, от 3 до 17 мг/мл, от 3 до 16 мг/мл, от 3 до 15 мг/мл, от 4 до 14 мг/мл, от 5 до 13 мг/мл, от 6 до 12 мг/мл, от 7 до 11 мг/мл, от 7 до 10,5 мг/мл, от 7 до 10 мг/мл, от 7 до 9 мг/мл, от 7 до 9,5 мг/мл, от 7 до 9 мг/мл, от 7 до 8,5 мг/мл, от 7,5 до 11 мг/мл, от 7,5 до 10,5 мг/мл, от 7,5 до 10 мг/мл, от 7,5 до 9,5 мг/мл, от 7,5 до 9,0 мг/мл, от 7,5 до 8,5 мг/мл, от 8 до 11 мг/мл, от 8 до 10,5 мг/мл, от 8 до 10 мг/мл, от 8 до 9,5 мг/мл или от 8 до 9 мг/мл. В некоторых вариантах осуществления концентрация хлорида натрия в фармацевтической композиции составляет от 2 до 18 мг/мл. В некоторых вариантах осуществления концентрация хлорида натрия в фармацевтической композиции составляет от 3 до 15 мг/мл. В некоторых вариантах осуществления концентрация хлорида

натрия в фармацевтической композиции составляет от 7 до 10 мг/мл, например, приблизительно 7,5 мг/мл, приблизительно 7,6 мг/мл, приблизительно 7,7 мг/мл, приблизительно 7,8 мг/мл, приблизительно 7,9 мг/мл, приблизительно 8 мг/мл, приблизительно 8,1 мг/мл, приблизительно 8,2 мг/мл, приблизительно 8,3 мг/мл, приблизительно 8,4 мг/мл, приблизительно 8,5 мг/мл, приблизительно 8,6 мг/мл, приблизительно 8,7 мг/мл, приблизительно 8,8 мг/мл, приблизительно 8,9 мг/мл, приблизительно 9,0 мг/мл, приблизительно 9,1 мг/мл, приблизительно 9,28 мг/мл, приблизительно 9,3 мг/мл, приблизительно 9,4 мг/мл, приблизительно 9,5 мг/мл, приблизительно 9,6 мг/мл, приблизительно 9,7 мг/мл, приблизительно 9,8 мг/мл, приблизительно 9,9 мг/мл или приблизительно 10 мг/мл. В некоторых вариантах осуществления концентрация хлорида натрия в фармацевтической композиции составляет от 7,5 до 9,5 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления концентрация маннита в фармацевтической композиции составляет от 10 до 50 мг/мл, например, от 15 до 45 мг/мл, от 20 до 45 мг/мл, от 25 до 45 мг/мл, от 30 до 45 мг/мл, от 15 до 40 мг/мл, от 15 до 35 мг/мл, от 20 до 40 мг/мл, от 20 до 35 мг/мл, от 25 до 40 мг/мл, от 25 до 35 мг/мл, от 30 до 40 мг/мл или от 35 до 40 мг/мл. В некоторых вариантах осуществления концентрация маннита в фармацевтической композиции составляет приблизительно 25 мг/мл, 25,5 мг/мл, приблизительно 26 мг/мл, 26,5 мг/мл, приблизительно 27 мг/мл, 27,5 мг/мл, приблизительно 28 мг/мл, 28,5 мг/мл, приблизительно 29 мг/мл, 29,5 мг/мл, приблизительно 30 мг/мл, 30,5 мг/мл, приблизительно 31 мг/мл, 31,5 мг/мл, приблизительно 32 мг/мл, 32,5 мг/мл, приблизительно 33 мг/мл, 33,5 мг/мл, приблизительно 34 мг/мл, 34,5 мг/мл, приблизительно 35 мг/мл, 35,5 мг/мл, приблизительно 36 мг/мл, 36,5 мг/мл, приблизительно 37 мг/мл, 37,5 мг/мл, приблизительно 38 мг/мл, 38,5 мг/мл, приблизительно 39 мг/мл, 39,5 мг/мл или приблизительно 40 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления концентрация буфера в фармацевтической композиции составляет от 0,5 до 50,0 мМ, например, от 0,5 до 40,0 мМ, от 0,5 до 30,0 мМ, от 0,5 до 20,0 мМ, от 0,5 до 10,0 мМ, от 1,0 до 40,0 мМ, от 1,0 до 35,0 мМ, от 1,0 до 30,0 мМ, от 1,0 до 25,0 мМ, от 1,0 до 20,0 мМ, от 1,0 до 15,0 мМ, от 1,0 до 10,0 мМ, от 2,0 до 40,0 мМ, от 2,0 до 35,0 мМ, от 2,0 до 30,0 мМ, от 2,0 до 25,0 мМ, от 2,0 до 20,0 мМ, от 2,0 до 15,0 мМ, от 2,0 до 10,0 мМ или от 5,0 до 10,0 мМ. В некоторых вариантах осуществления концентрация буфера в фармацевтической композиции составляет приблизительно 1,0 мМ, приблизительно 2,0 мМ, приблизительно 3,0 мМ, приблизительно 4,0 мМ, приблизительно 5,0 мМ, приблизительно 6,0 мМ, приблизительно 7,0 мМ, приблизительно 8,0 мМ, приблизительно 9,0 мМ или приблизительно 10,0 мМ. В некоторых вариантах осуществления концентрация буфера в фармацевтической композиции составляет

приблизительно 5,0 мМ.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция дополнительно содержит регулятор рН, такой как гидроксид натрия и/или соляная кислота.

В некоторых вариантах осуществления рН фармацевтической композиции составляет от 6,5 до 9,0, например, от 6,6 до 9,0, от 6,7 до 9,0, от 6,8 до 9,0, от 6,9 до 9,0, от 7,0 до 9,0, от 7,1 до 9,0, от 7,2 до 9,0, от 7,3 до 9,0, от 7,4 до 9,0, от 7,5 до 9,0, от 7,6 до 9,0, от 7,7 до 9,0, от 7,8 до 9,0, от 7,9 до 9,0, от 8,0 до 9,0, от 7,0 до 8,9, от 7,0 до 8,8, от 7,0 до 8,7, от 7,0 до 8,6, от 7,0 до 8,5, от 7,0 до 8,4, от 7,0 до 8,3, от 7,0 до 8,2, от 7,0 до 8,1, от 7,0 до 8,0, от 7,1 до 8,9, от 7,1 до 8,8, от 7,1 до 8,7, от 7,1 до 8,6, от 7,1 до 8,5, от 7,1 до 8,4, от 7,1 до 8,3, от 7,1 до 8,2, от 7,1 до 8,1, от 7,1 до 8,0, от 7,1 до 7,9, от 7,1 до 7,8 или от 7,1 до 7,7. В некоторых вариантах осуществления рН фармацевтической композиции составляет приблизительно 7,0, приблизительно 7,1, приблизительно 7,2, приблизительно 7,3, приблизительно 7,4, приблизительно 7,5, приблизительно 7,6, приблизительно 7,7, приблизительно 7,8, приблизительно 7,9, приблизительно 8,0, приблизительно 8,1, приблизительно 8,2, приблизительно 8,3, приблизительно 8,4 или приблизительно 8,5. В некоторых вариантах осуществления рН фармацевтической композиции составляет от 7,0 до 8,0. В некоторых вариантах осуществления рН фармацевтической композиции составляет от 7,1 до 7,7, например, приблизительно 7,5 или приблизительно 7,4.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция дополнительно содержит фармацевтически приемлемый бактериостатический агент.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтически приемлемый бактериостатический агент включает, не ограничиваясь перечисленным, фенол, о-крезол, м-крезол, п-крезол, метилпарабен, пропилпарабен, 2-феноксиэтанол, бутилпарабен, 2-фенилэтиловый спирт, бензиловый спирт, этанол, хлорбутанол, тимеросал, бронопол, бензойную кислоту, имидомочевину, хлоргексидин, дегидроацетат натрия, хлоркрезол, этилпарабен, бензетония хлорид или их смеси.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтически приемлемый бактериостатический агент представляет собой фенол.

В некоторых вариантах осуществления концентрация бактериостатического агента в фармацевтической композиции составляет 4,0-7,0 мг/мл, например, 4,2-6,9 мг/мл, 4,4-6,9 мг/мл, 4,6-6,9 мг/мл, 4,8-6,9 мг/мл, 5,0-6,9 мг/мл, 5,1-6,9 мг/мл, 5,2-6,9 мг/мл, 5,3-6,9 мг/мл, 5,4-6,9 мг/мл, 5,5-6,9 мг/мл, 4,2-6,8 мг/мл, 4,4-6,8 мг/мл, 4,6-6,8 мг/мл, 4,8-6,8 мг/мл, 5,0-6,8 мг/мл, 5,1-6,8 мг/мл, 5,2-6,8 мг/мл, 5,3-6,8 мг/мл, 5,4-6,8 мг/мл, 5,5-6,8 мг/мл, 4,4-6,7 мг/мл, 4,6-6,7 мг/мл, 4,8-6,7 мг/мл, 5,0-6,7 мг/мл, 5,1-6,7 мг/мл, 5,2-6,7 мг/мл, 5,3-6,7 мг/мл, 5,4-6,7 мг/мл, 5,5-6,7 мг/мл, 4,4-6,6 мг/мл, 4,6-6,6 мг/мл, 4,8-6,6 мг/мл, 5,0-6,6 мг/мл, 5,1-6,6 мг/мл,

5,2-6,6 мг/мл, 5,3-6,6 мг/мл, 5,4-6,6 мг/мл или 5,5-6,6 мг/мл. В некоторых вариантах осуществления концентрация бактериостатического агента составляет 4,2-6,9 мг/мл. В некоторых вариантах осуществления концентрация бактериостатического агента составляет 5,5-6,6 мг/мл, например, приблизительно 5,5 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит любую из следующих групп 1) - 6):

1) соединение, представленное как 18# на фиг. 3, или его фармацевтически приемлемую соль;

буфер, такой как фосфатный буфер, например, дигидрофосфат натрия;

пропиленгликоль или маннит; и

необязательно антибактериальный агент, такой как фенол;

2) соединение, представленное как 18# на фиг. 3, или его фармацевтически приемлемую соль;

буфер, такой как фосфатный буфер, например, дигидрофосфат натрия;

хлорид натрия; и

необязательно антибактериальный агент, такой как фенол;

3) соединение, представленное как 18# на фиг. 3, или его фармацевтически приемлемую соль;

буфер, такой как фосфатный буфер, например, дигидрофосфат натрия;

пропиленгликоль или маннит;

необязательно антибактериальный агент, такой как фенол; и

регулятор pH, такой как гидроксид натрия и/или соляная кислота;

4) соединение, представленное как 18# на фиг. 3, или его фармацевтически приемлемую соль;

буфер, такой как фосфатный буфер, например, дигидрофосфат натрия;

хлорид натрия;

необязательно антибактериальный агент, такой как фенол; и

регулятор pH, такой как гидроксид натрия и/или соляная кислота;

5) соединение, представленное как 18# на фиг. 3, или его фармацевтически приемлемую соль;

буфер, такой как фосфатный буфер, например, дигидрофосфат натрия;

пропиленгликоль или маннит;

необязательно антибактериальный агент, такой как фенол;

регулятор pH, такой как гидроксид натрия и/или соляная кислота; и

воду для инъекций;

б) соединение, представленное как 18# на фиг. 3, или его фармацевтически приемлемую соль;

буфер, такой как фосфатный буфер, например, дигидрофосфат натрия;

хлорид натрия;

необязательно антибактериальный агент, такой как фенол;

регулятор рН, такой как гидроксид натрия и/или соляная кислота; и

воду для инъекций.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция состоит из: соединения, представленного как 18# на фиг. 3, или его фармацевтически приемлемой соли; дигидрофосфата натрия; пропиленгликоля или маннита; фенола; гидроксида натрия и/или соляной кислоты; и воды для инъекций.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция состоит из: соединения, представленного как 18# на фиг. 3, или его фармацевтически приемлемой соли; дигидрофосфата натрия; пропиленгликоля или маннита; гидроксида натрия и/или соляной кислоты; и воды для инъекций.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция состоит из: соединения, представленного как 18# на фиг. 3, или его фармацевтически приемлемой соли; дигидрофосфата натрия; хлорида натрия; фенола; гидроксида натрия и/или соляной кислоты; и воды для инъекций.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция состоит из: соединения, представленного как 18# на фиг. 3, или его фармацевтически приемлемой соли; дигидрофосфата натрия; хлорида натрия; гидроксида натрия и/или соляной кислоты; и воды для инъекций.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит любое из А-К:

А) от 1,0 до 100 мг/мл соединения, представленного как 18# на фиг. 3, или его фармацевтически приемлемой соли,

от 1,0 до 35,0 мМ дигидрофосфата натрия, и

от 10 до 20 мг/мл пропиленгликоля или от 10 до 50 мг/мл маннита;

рН фармацевтической композиции составляет от 6,5 до 9,0;

В) от 1,0 до 100 мг/мл соединения, представленного как 18# на фиг. 3, или его фармацевтически приемлемой соли,

от 1,0 до 35,0 мМ дигидрофосфата натрия, и

от 2 до 18 мг/мл хлорида натрия;

pH фармацевтической композиции составляет от 6,5 до 9,0;

С) от 1,0 до 100 мг/мл соединения, представленного как 18# на фиг. 3, или его фармацевтически приемлемой соли,

от 1,0 до 35,0 мМ дигидрофосфата натрия,

от 10 до 20 мг/мл пропиленгликоля, или от 15 до 45 мг/мл маннита, или от 2 до 18 мг/мл хлорида натрия, и

необязательно антибактериальный агент, такой как от 4,0 до 7,0 мг/мл фенола;

pH фармацевтической композиции составляет от 6,5 до 9,0;

Д) от 1,0 до 30,0 мг/мл соединения, представленного как 18# на фиг. 3, или его фармацевтически приемлемой соли,

от 1,0 до 25,0 мМ дигидрофосфата натрия,

от 11 до 18 мг/мл пропиленгликоля, или от 20 до 40 мг/мл маннита, или от 3 до 15 мг/мл хлорида натрия, и

необязательно антибактериальный агент, такой как от 4,2 до 6,9 мг/мл фенола;

pH фармацевтической композиции составляет от 7,0 до 8,0;

Е) от 2,0 до 10,0 мг/мл соединения, представленного как 18# на фиг. 3, или его фармацевтически приемлемой соли,

от 2,0 до 10,0 мМ дигидрофосфата натрия,

от 12 до 16 мг/мл пропиленгликоля, или от 25 до 35 мг/мл маннита, или от 8 до 10 мг/мл хлорида натрия, и

необязательно антибактериальный агент, такой как от 4,4 до 6,8 мг/мл фенола;

pH фармацевтической композиции составляет от 7,1 до 7,7;

Ф) от 1,0 до 100 мг/мл соединения, представленного как 18# на фиг. 3, или его фармацевтически приемлемой соли,

от 1,0 до 35,0 мМ дигидрофосфата натрия,

от 10 до 20 мг/мл пропиленгликоля или от 15 до 45 мг/мл маннита или от 2 до 18 мг/мл хлорида натрия,

необязательно антибактериальный агент, такой как от 4,0 до 7,0 мг/мл фенола, и воду для инъекций;

pH фармацевтической композиции составляет от 6,5 до 9,0;

Г) от 1,0 до 30,0 мг/мл соединения, представленного как 18# на фиг. 3, или его фармацевтически приемлемой соли,

от 1,0 до 25,0 мМ дигидрофосфата натрия,

от 11 до 18 мг/мл пропиленгликоля, или от 20 до 40 мг/мл маннита, или от 3 до 15 мг/мл хлорида натрия,

необязательно антибактериальный агент, такой как от 4,2 до 6,9 мг/мл фенола, и воду для инъекций;

pH фармацевтической композиции составляет от 7,0 до 8,0;

H) от 2,0 до 20,0 мг/мл соединения, представленного как 18# на фиг. 3, или его фармацевтически приемлемой соли,

от 2,0 до 10,0 mM дигидрофосфата натрия,

от 12 до 16 мг/мл пропиленгликоля, или от 25 до 35 мг/мл маннита, или от 7 до 10 мг/мл хлорида натрия,

необязательно антибактериальный агент, такой как от 4,4 до 6,8 мг/мл фенола, и воду для инъекций;

pH фармацевтической композиции составляет от 7,1 до 7,7;

I) от 5,0 мг/мл до 15,0 мг/мл или от 5,0 мг/мл до 10,0 мг/мл соединения, представленного как 18# на фиг. 3, или его фармацевтически приемлемой соли,

от 5,0 mM до 10,0 mM дигидрофосфата натрия,

от 12 мг/мл до 16 мг/мл пропиленгликоля, или от 7 мг/мл до 10 мг/мл хлорида натрия, или от 8 мг/мл до 9 мг/мл хлорида натрия,

необязательно антибактериальный агент, такой как от 4,4 мг/мл до 6,8 мг/мл фенола,

и

воду для инъекций;

pH фармацевтической композиции составляет от 7,1 до 7,7;

J) от 5,0 мг/мл до 15,0 мг/мл или от 5,0 мг/мл до 10,0 мг/мл соединения, представленного как 18# на фиг. 3, или его фармацевтически приемлемой соли,

от 4,0 mM до 8,0 mM или от 4,0 mM до 6,0 mM дигидрофосфата натрия,

от 12 мг/мл до 16 мг/мл пропиленгликоля, или от 7 мг/мл до 10 мг/мл хлорида натрия, или от 8 мг/мл до 9 мг/мл хлорида натрия,

необязательно антибактериальный агент, такой как от 4,4 мг/мл до 6,8 мг/мл фенола,

и

воду для инъекций;

pH фармацевтической композиции составляет от 7,1 до 7,7;

K) от 1,0 до 20,0 мг/мл соединения, представленного как 18# на фиг. 3, или его фармацевтически приемлемой соли,

от 1,0 до 25,0 mM дигидрофосфата натрия,

от 11 до 18 мг/мл пропиленгликоля, или от 20 до 40 мг/мл маннита, или от 3 до 15 мг/мл хлорида натрия, и

необязательно антибактериальный агент, такой как от 4,2 до 6,9 мг/мл фенола;

pH фармацевтической композиции составляет от 7,0 до 8,0.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит:
от 6,0 до 10,0 мг/мл соединения, представленного как 18# на фиг. 3, или его фармацевтически приемлемой соли,

от 2,0 до 10,0 мМ дигидрофосфата натрия, и

от 30 до 40 мг/мл маннита.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит:
от 6,0 до 10,0 мг/мл соединения, представленного как 18# на фиг. 3, или его фармацевтически приемлемой соли,

от 2,0 до 10,0 мМ дигидрофосфата натрия, и

глицерин в концентрации 10-30, например, 10, 20 или 30 мг.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения предложены следующие фармацевтические композиции:

(1) фармацевтическая композиция, содержащая приблизительно 2,0 мг/мл соединения, представленного как 18# на фиг. 3, или его фармацевтически приемлемой соли, приблизительно 5,0 мМ дигидрофосфата натрия, приблизительно 14,0 мг/мл пропиленгликоля или приблизительно 31,5 мг/мл маннита, и приблизительно 5,5 мг/мл фенола, причем pH фармацевтической композиции составляет приблизительно 7,5 или приблизительно 7,4;

(2) фармацевтическая композиция, содержащая приблизительно 4,0 мг/мл соединения, представленного как 18# на фиг. 3, или его фармацевтически приемлемой соли, приблизительно 5,0 мМ дигидрофосфата натрия, приблизительно 14,0 мг/мл пропиленгликоля или приблизительно 31,5 мг/мл маннита, и приблизительно 5,5 мг/мл фенола, причем pH фармацевтической композиции составляет приблизительно 7,5 или приблизительно 7,4;

(3) фармацевтическая композиция, содержащая приблизительно 5,0 мг/мл соединения, представленного как 18# на фиг. 3, или его фармацевтически приемлемой соли, приблизительно 5,0 мМ дигидрофосфата натрия, приблизительно 14,0 мг/мл пропиленгликоля или приблизительно 31,5 мг/мл маннита, и приблизительно 5,5 мг/мл фенола, причем pH фармацевтической композиции составляет приблизительно 7,5 или приблизительно 7,4;

(4) фармацевтическая композиция, содержащая приблизительно 6,0 мг/мл соединения, представленного как 18# на фиг. 3, или его фармацевтически приемлемой соли, приблизительно 5,0 мМ дигидрофосфата натрия, приблизительно 14,0 мг/мл пропиленгликоля или приблизительно 31,5 мг/мл маннита, и приблизительно 5,5 мг/мл

фенола, причем рН фармацевтической композиции составляет приблизительно 7,5 или приблизительно 7,4;

(5) фармацевтическая композиция, содержащая приблизительно 8,0 мг/мл соединения, представленного как 18# на фиг. 3, или его фармацевтически приемлемой соли, приблизительно 5,0 мМ дигидрофосфата натрия, приблизительно 14,0 мг/мл пропиленгликоля или приблизительно 31,5 мг/мл маннита, и приблизительно 5,5 мг/мл фенола, причем рН фармацевтической композиции составляет приблизительно 7,5 или приблизительно 7,4;

(6) фармацевтическая композиция, содержащая приблизительно 10,0 мг/мл соединения, представленного как 18# на фиг. 3, или его фармацевтически приемлемой соли, приблизительно 5,0 мМ дигидрофосфата натрия, приблизительно 14,0 мг/мл пропиленгликоля или приблизительно 31,5 мг/мл маннита, и приблизительно 5,5 мг/мл фенола, причем рН фармацевтической композиции составляет приблизительно 7,5 или приблизительно 7,4;

(7) фармацевтическая композиция, содержащая приблизительно 20,0 мг/мл соединения, представленного как 18# на фиг. 3, или его фармацевтически приемлемой соли, приблизительно 5,0 мМ дигидрофосфата натрия, приблизительно 14,0 мг/мл пропиленгликоля или приблизительно 31,5 мг/мл маннита, и приблизительно 5,5 мг/мл фенола, причем рН фармацевтической композиции составляет приблизительно 7,5 или приблизительно 7,4;

(8) фармацевтическая композиция, содержащая приблизительно 2,0 мг/мл, приблизительно 4,0 мг/мл, приблизительно 5,0 мг/мл, приблизительно 6,0 мг/мл, приблизительно 8,0 мг/мл, 10 мг/мл или приблизительно 20 мг/мл соединения, представленного как 18# на фиг. 3, или его фармацевтически приемлемой соли, приблизительно 5,0 мМ дигидрофосфата натрия, приблизительно 8-9 мг/мл (например, приблизительно 8,2 мг/мл) хлорида натрия и необязательно приблизительно 5,5 мг/мл фенола, причем рН фармацевтической композиции составляет приблизительно 7,5 или приблизительно 7,4;

(9) фармацевтические композиции, полученные путем замены 5,0 мМ дигидрофосфата натрия в фармацевтических композициях согласно (1)-(8) на 10,0 мМ дигидрофосфата натрия;

(10) фармацевтические композиции, полученные путем замены регулятора осмотического давления в фармацевтических композициях согласно (1)-(9) на глицерин, причем концентрация глицерина составляет 20 мг; или

(11) фармацевтические композиции согласно (1)-(10) с конечным объемом 1 мл,

причем объем доводят до 1 мл с помощью воды для инъекций, когда это необходимо.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения предложены следующие фармацевтические композиции:

(1) фармацевтическая композиция, состоящая из: приблизительно 2,0 мг/мл соединения, представленного как 18# на фиг. 3, или его фармацевтически приемлемой соли, приблизительно 5,0 мМ дигидрофосфата натрия, приблизительно 14,0 мг/мл пропиленгликоля или приблизительно 31,5 мг/мл маннита, приблизительно 5,5 мг/мл фенола, надлежащего количества гидроксида натрия и/или надлежащего количества соляной кислоты, и остатка, состоящего из воды для инъекций, причем рН фармацевтической композиции составляет приблизительно 7,5 или приблизительно 7,4;

(2) фармацевтическая композиция, состоящая из: приблизительно 4,0 мг/мл соединения, представленного как 18# на фиг. 3, или его фармацевтически приемлемой соли, 5,0 мМ дигидрофосфата натрия, приблизительно 14,0 мг/мл пропиленгликоля или приблизительно 31,5 мг/мл маннита, приблизительно 5,5 мг/мл фенола, надлежащего количества гидроксида натрия и/или надлежащего количества соляной кислоты, и остатка, состоящего из воды для инъекций, причем рН фармацевтической композиции составляет приблизительно 7,5 или приблизительно 7,4;

(3) фармацевтическая композиция, состоящая из: приблизительно 5,0 мг/мл соединения, представленного как 18# на фиг. 3, или его фармацевтически приемлемой соли, 5,0 мМ дигидрофосфата натрия, приблизительно 14,0 мг/мл пропиленгликоля или приблизительно 31,5 мг/мл маннита, приблизительно 5,5 мг/мл фенола, надлежащего количества гидроксида натрия и/или надлежащего количества соляной кислоты, и остатка, состоящего из воды для инъекций, причем рН фармацевтической композиции составляет приблизительно 7,5 или приблизительно 7,4;

(4) фармацевтическая композиция, состоящая из: приблизительно 6,0 мг/мл соединения, представленного как 18# на фиг. 3, или его фармацевтически приемлемой соли, 5,0 мМ дигидрофосфата натрия, приблизительно 14,0 мг/мл пропиленгликоля или приблизительно 31,5 мг/мл маннита, приблизительно 5,5 мг/мл фенола, надлежащего количества гидроксида натрия и/или надлежащего количества соляной кислоты и остатка, состоящего из воды для инъекций, причем рН фармацевтической композиции составляет приблизительно 7,5 или приблизительно 7,4;

(5) фармацевтическая композиция, состоящая из: приблизительно 8,0 мг/мл соединения, представленного как 18# на фиг. 3, или его фармацевтически приемлемой соли, приблизительно 5,0 мМ дигидрофосфата натрия, приблизительно 14,0 мг/мл

пропиленгликоля или приблизительно 31,5 мг/мл маннита, приблизительно 5,5 мг/мл фенола, надлежащего количества гидроксида натрия и/или надлежащего количества соляной кислоты, и остатка, состоящего из воды для инъекций, причем рН фармацевтической композиции составляет приблизительно 7,5 или приблизительно 7,4;

(6) фармацевтическая композиция, состоящая из: 10,0 мг/мл соединения, представленного как 18# на фиг. 3, или его фармацевтически приемлемой соли, 5,0 мМ дигидрофосфата натрия, приблизительно 14,0 мг/мл пропиленгликоля или 31,5 мг/мл маннита, 5,5 мг/мл фенола, надлежащего количества гидроксида натрия и/или надлежащего количества соляной кислоты и остатка, состоящего из воды для инъекций, причем рН фармацевтической композиции составляет 7,5 или приблизительно 7,4;

(7) фармацевтическая композиция, состоящая из: 20,0 мг/мл соединения, представленного как 18# на фиг. 3, или его фармацевтически приемлемой соли, 5,0 мМ дигидрофосфата натрия, приблизительно 14,0 мг/мл пропиленгликоля или 31,5 мг/мл маннита, 5,5 мг/мл фенола, надлежащего количества гидроксида натрия и/или надлежащего количества соляной кислоты и остатка, состоящего из воды для инъекций, причем рН фармацевтической композиции составляет 7,5 или приблизительно 7,4;

(8) фармацевтическая композиция, состоящая из: приблизительно 2,0 мг/мл, приблизительно 4,0 мг/мл, приблизительно 5,0 мг/мл, приблизительно 6,0 мг/мл, приблизительно 8,0 мг/мл, приблизительно 10 мг/мл или приблизительно 20 мг/мл соединения, представленного как 18# на фиг. 3, или его фармацевтически приемлемой соли, приблизительно 5,0 мМ дигидрофосфата натрия, 8-9 мг/мл (например, приблизительно 8,2 мг/мл) хлорида натрия и необязательно приблизительно 5,5 мг/мл фенола, надлежащего количества гидроксида натрия и/или надлежащего количества соляной кислоты, и остатка, состоящего из воды для инъекций, причем рН фармацевтической композиции составляет приблизительно 7,5 или приблизительно 7,4;

(9) фармацевтические композиции, полученные путем замены 5,0 мМ дигидрофосфата натрия в фармацевтических композициях согласно (1)-(8) на 10,0 мМ дигидрофосфата натрия;

(10) фармацевтические композиции, полученные путем замены регулятора осмотического давления в фармацевтических композициях согласно (1)-(9) на глицерин, причем концентрация глицерина составляет 20 мг; или

(11) фармацевтические композиции согласно (1)-(10) с конечным объемом 1 мл, причем объем доводят до 1 мл с помощью воды для инъекций, когда это необходимо.

Фармацевтическая композиция согласно настоящему изобретению уже обладает

достаточной стабильностью для получения из нее лекарственного средства и может быть стабильной после длительного хранения.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция остается стабильной при 2-8 °С в течение по меньшей мере 3 месяцев, по меньшей мере 6 месяцев, по меньшей мере 12 месяцев, по меньшей мере 18 месяцев, по меньшей мере 24 месяцев или по меньшей мере 36 месяцев. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция остается стабильной при 25 °С в течение по меньшей мере 3 месяцев, по меньшей мере 6 месяцев, по меньшей мере 12 месяцев, по меньшей мере 18 месяцев или по меньшей мере 24 месяцев. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция остается стабильной при 40 °С в течение по меньшей мере 7 дней, по меньшей мере 14 дней, по меньшей мере 28 дней, по меньшей мере 1 месяца, по меньшей мере 3 месяцев, по меньшей мере 6 месяцев, по меньшей мере 12 месяцев, по меньшей мере 18 месяцев или по меньшей мере 24 месяцев.

Согласно настоящему изобретению предложен способ получения вышеупомянутой фармацевтической композиции, включающий стадию растворения аналога GLP-1 или его фармацевтически приемлемой соли.

Из фармацевтической композиции согласно настоящему изобретению может быть дополнительно получен лиофилизированный состав для удобства доставки лекарственного средства.

Согласно настоящему изобретению предложен лиофилизированный состав, который способен образовывать фармацевтическую композицию согласно любому из вышеперечисленных вариантов при восстановлении.

Согласно настоящему изобретению дополнительно предложен способ получения лиофилизированного состава, содержащего аналог GLP-1 или его фармацевтически приемлемую соль, который включает стадию лиофилизации вышеупомянутой фармацевтической композиции. В альтернативных вариантах осуществления лиофилизация включает последовательные стадии предварительного замораживания, первичной сушки и вторичной сушки.

Согласно настоящему изобретению дополнительно предложен лиофилизированный состав, содержащий аналог GLP-1 или его фармацевтически приемлемую соль, полученный вышеупомянутым способом получения лиофилизированного состава, содержащего аналог GLP-1 или его фармацевтически приемлемую соль.

Согласно настоящему изобретению дополнительно предложен способ получения восстановленного раствора лиофилизированного состава, содержащего аналог GLP-1 или его фармацевтически приемлемую соль, который включает стадию восстановления

вышеупомянутого лиофилизированного состава, где раствор, используемый для восстановления, выбран из группы, состоящей из, не ограничиваясь перечисленным, воды для инъекций, физиологического раствора и раствора глюкозы.

Согласно настоящему изобретению дополнительно предложен восстановленный раствор лиофилизированного состава, содержащего аналог GLP-1 или его фармацевтически приемлемую соль, полученный вышеупомянутым способом получения восстановленного раствора лиофилизированного состава, содержащего аналог GLP-1 или его фармацевтически приемлемую соль.

Согласно настоящему изобретению дополнительно предложено изделие или набор, которые содержат контейнер, содержащий любую из стабильных фармацевтических композиций, описанных в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления стеклянная бутылка представляет собой трубчатый флакон для инъекций, изготовленный из нейтрального боросиликатного стекла.

Согласно настоящему изобретению дополнительно предложено изделие, содержащее контейнер, где контейнер содержит вышеупомянутую фармацевтическую композицию, лиофилизированный состав или восстановленный раствор лиофилизированного состава.

Согласно настоящему изобретению дополнительно предложены фармацевтическая композиция, лиофилизированный состав или восстановленный раствор лиофилизированного состава для применения в способах лечения и предупреждения заболеваний или расстройств.

Согласно настоящему изобретению дополнительно предложено применение вышеупомянутой фармацевтической композиции, лиофилизированного состава или восстановленного раствора лиофилизированного состава для получения лекарственного средства для лечения и/или предупреждения заболеваний или расстройств.

Согласно настоящему изобретению дополнительно предложен способ лечения и предупреждения заболеваний или расстройств, включающий введение нуждающемуся в этом пациенту терапевтически эффективного количества вышеупомянутой фармацевтической композиции, лиофилизированного состава или восстановленного раствора лиофилизированного состава.

Согласно настоящему изобретению дополнительно предложено применение фармацевтической композиции для получения лекарственного средства для лечения инсулиннезависимого диабета, инсулинозависимого диабета, ожирения, неалкогольной жировой болезни печени, стеатоза печени, диабетической ретинопатии, диабетической нейропатии, диабетической нефропатии, инсулинорезистентности, дислипидемии,

связанной с инсулинорезистентностью, и/или дислипидемии, связанной с диабетом.

Согласно настоящему изобретению предложена фармацевтическая композиция для применения в лечении инсулиннезависимого диабета/диабета II типа, инсулинозависимого диабета, ожирения, неалкогольной жировой болезни печени, стеатоза печени, дислипидемии, связанной с инсулинорезистентностью, и/или дислипидемии, связанной с диабетом.

Согласно настоящему изобретению предложен способ лечения инсулиннезависимого диабета/диабета II типа, инсулинозависимого диабета, ожирения, неалкогольной жировой болезни печени, стеатоза печени, дислипидемии, связанной с инсулинорезистентностью, и/или дислипидемии, связанной с диабетом, включающий введение нуждающемуся в этом субъекту фармацевтической композиции согласно настоящему изобретению.

Согласно настоящему изобретению предложено соединение, способное одновременно активировать рецептор GLP-1 и рецептор GIP, и в некоторых вариантах осуществления аналог GLP-1 обладает большей агонистической активностью в отношении GLP-1R, чем в отношении рецептора GIP.

В некоторых конкретных вариантах осуществления аналог GLP-1 согласно настоящему изобретению имеет соотношение агонистической активности в отношении GLP-1R и агонистической активности в отношении рецептора GIP, составляющее (1-10):1, (1,1-10):1, (1,1-9,5):1, (1,1-9):1, (1,1-8,5):1, (1,1-8):1, (1,1-7,5):1, (1,1-7):1, (1,1-6,5):1, (1,1-6):1, (1,2-10):1, (1,2-9,5):1, (1,2-9):1, (1,2-8,5):1, (1,2-8):1, (1,2-7,5):1, (1,2-7):1, (1,2-6,5):1, (1,2-6):1, (1,3-10):1, (1,3-9,5):1, (1,3-9):1, (1,3-8,5):1, (1,3-8):1, (1,3-7,5):1, (1,3-7):1, (1,3-6,5):1, (1,3-6):1, (1,4-10):1, (1,4-9,5):1, (1,4-9):1, (1,4-8,5):1, (1,4-8):1, (1,4-7,5):1, (1,4-7):1, (1,4-6,5):1, (1,4-6):1, (1,5-10):1, (1,5-9,5):1, (1,5-9):1, (1,5-8,5):1, (1,5-8):1, (1,5-7,5):1, (1,5-7):1, (1,5-6,5):1, (1,5-6):1, (2-10):1, (2-9,5):1, (2-9):1, (2-8,5):1, (2-8):1, (2-7,5):1, (2-7):1, (2-6,5):1, (2-6):1, (2,5-10):1, (2,5-9,5):1, (2,5-9):1, (2,5-8,5):1, (2,5-8):1, (2,5-7,5):1, (2,5-7):1, (2,5-6,5):1, (2,5-6):1, (3-10):1, (3-9,5):1, (3-9):1, (3-8,5):1, (3-8):1, (3-7,5):1, (3-7):1, (3-6,5):1, (3-6):1, (3,5-10):1, (3,5-9,5):1, (3,5-9):1, (3,5-8,5):1, (3,5-8):1, (3,5-7,5):1, (3,5-7):1, (3,5-6,5):1, (3,5-6):1, (4-10):1, (4-9,5):1, (4-9):1, (4-8,5):1, (4-8):1, (4-7,5):1, (4-7):1, (4-6,5):1, (4-6):1, (4,5-10):1, (4,5-9,5):1, (4,5-9):1, (4,5-8,5):1, (4,5-8):1, (4,5-7,5):1, (4,5-7):1, (4,5-6,5):1, (4,5-6):1, (5-10):1, (5-9,5):1, (5-9):1, (5-8,5):1, (5-8):1, (5-7,5):1, (5-7):1, (5-6,5):1, (5-6):1, (5-5,5):1, (5,1-5,5):1, (5,2-5,4):1, (5,2-5,3):1, или любой диапазон или точечное значение между указанными значениями, например, приблизительно 1:1, приблизительно 1,1:1, приблизительно 1,2:1, приблизительно 1,3:1, приблизительно 1,4:1, приблизительно 1,5:1, приблизительно 2:1, приблизительно 2,5:1, приблизительно 3:1, приблизительно 3,5:1, приблизительно 4:1,

приблизительно 4,5:1, приблизительно 5:1, приблизительно 5,2:1, приблизительно 5,3:1, приблизительно 5,4:1, приблизительно 5,5:1, приблизительно 6:1, приблизительно 6,5:1, приблизительно 7:1, приблизительно 7,5:1, приблизительно 8:1, приблизительно 8,5:1, приблизительно 9:1, приблизительно 9,5:1 или приблизительно 10:1. Вышеуказанное соотношение представляет собой нормированное соотношение данных из анализа соответствующей агонистической активности *in vitro*. Например, соответствующая агонистическая активность может быть определена с помощью набора cAMP-Gs kinetic. В этом контексте выражение (1-10):1 и выражение от 1:1 до 10:1 имеют одно и то же значение.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения предложен вышеуказанный аналог GLP-1 и его фармацевтически приемлемая соль. Аналог GLP-1, предложенный согласно настоящему изобретению, представляет собой амфотерное соединение, которое может проявлять как кислотные, так и основные свойства. Аналог GLP-1, предложенный согласно настоящему изобретению, может быть приведен во взаимодействие с кислотными или основными соединениями с образованием солей специалистами в данной области техники с использованием хорошо известных методов.

Фармацевтическая композиция, содержащая аналог GLP-1 согласно настоящему изобретению, может быть использована для лечения пациентов, нуждающихся в таком лечении, путем парентерального введения. Для парентеральных путей введения может быть выбрана подкожная инъекция, внутримышечная инъекция или внутривенная инъекция. Полипептидное соединение с двойной агонистической активностью согласно настоящему изобретению также может быть введено чрескожным путем, необязательно посредством ионофоретического пластыря; или трансмукозальным путем.

Аналог GLP-1, предложенный согласно настоящему изобретению, синтезируют методом твердофазного синтеза. В качестве примера, синтетический вектор представляет собой амидную смолу Ринка MBHA (Xi'an sunresin Tech Ltd.). Во время синтеза α -аминогруппу используемого производного аминокислоты защищают группой Fmoc (флуоренилметоксикарбонильной). Например, для боковой цепи аминокислоты в соответствии с различием функциональных групп выбирают следующие защитные группы: сульфгидрил боковой цепи цистеина, аминогруппы боковых цепей аспарагина и глутамина и имидазол боковой цепи гистидина защищают Trt (тритилом); гуанидил боковой цепи аргинина защищают Pbf (2,2,4,6,7-пентаметилдигидробензофуран-5-сульфонил); индолил боковой цепи триптофана и аминогруппу боковой цепи лизина защищают Boc (трет-бутилоксикарбонил); и карбоксил боковых цепей аспарагиновой и глутаминовой кислот, гидроксил боковой цепи треонина, фенольную группу боковой цепи тирозина и гидроксил боковой цепи серина защищают t-Bu (трет-бутилом). Например, в ходе синтеза карбоксил

C-концевого аминокислотного остатка полипептида сначала конденсируют с нерастворимой полимерной амидной смолой Ринка МВНА в форме амидной связи; затем защитную группу Fmoc на α -аминогруппе удаляют с использованием раствора N,N-диметилформамида (DMFA), содержащего 20% 4-метилпиперидина; а затем твердофазный носитель в избытке конденсируют со следующим производным аминокислоты в полипептидной последовательности с образованием амидной связи для удлинения пептидной цепи. Процедуры «конденсация → промывка → снятие защиты → промывка → следующий цикл конденсации аминокислот» повторяли, чтобы обеспечить синтез полипептидной цепи желаемой длины; наконец, смешанный раствор трифторуксусной кислоты:воды:триизопропилсилана (например, 90:5:5, об.об.об) подвергают взаимодействию со смолой для отщепления полипептида от твердофазного носителя, и полипептид осаждают с использованием замороженного метил-трет-бутилового эфира (5 объемов) с получением неочищенного твердого продукта аналога GLP-1. Неочищенный твердый продукт полипептида растворяют в смешанном растворе ацетонитрила/воды, содержащем 0,1% трифторуксусной кислоты, и очищают и отделяют с использованием обращенно-фазовой препаративной хроматографической колонки C-18 с получением чистого продукта аналога GLP-1.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления настоящее изобретение также относится к набору из частей, который содержит:

- аналог GLP-1 или его фармацевтически приемлемую соль согласно настоящему изобретению; и

- дополнительное терапевтическое средство, выбранное из любого из средства против ожирения, противодиабетического средства, антигипертензивного средства и гиполипидемического средства, или их комбинации; где каждый из аналога GLP-1 или его фармацевтически приемлемой соли и дополнительного терапевтического средства помещен в отдельный контейнер. В некоторых вариантах осуществления аналог GLP-1 или его фармацевтически приемлемую соль и дополнительное терапевтическое средство вводят субъекту по отдельности или в комбинации (например, одновременно или последовательно).

В отдельных вариантах осуществления фармацевтическая композиция согласно настоящему изобретению и устройство для введения (например, шприц, шприц-ручка или автоматический шприц) предоставляются в комбинации. Например, фармацевтической композицией согласно настоящему изобретению предварительно заполнено устройство для введения для самостоятельного введения субъектом в домашних условиях. В качестве другого примера, фармацевтическая композиция согласно настоящему изобретению и

устройство для введения предоставляются по отдельности.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

На фиг. 1 показано влияние соединения согласно настоящему изобретению на скорость изменения массы тела мышей с диет-индуцированным ожирением.

На фиг. 2 показано влияние соединения согласно настоящему изобретению на суточный рацион потребления пищи мышей с диет-индуцированным ожирением.

На фиг. 3 показаны структуры иллюстративных соединений согласно настоящему изобретению.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Для облегчения понимания настоящего изобретения некоторые технические и научные термины отдельно определены ниже. Если иное не определено явным образом в настоящем документе, все другие технические и научные термины, используемые в настоящем документе, имеют значения, обычно понимаемые специалистами в области техники, к которой относится настоящее изобретение.

Аминокислотные последовательности согласно настоящему изобретению содержат стандартные однобуквенные или трехбуквенные коды для двадцати аминокислот, и все аминокислотные остатки согласно настоящему изобретению предпочтительно находятся в L-конфигурации, если специально не указано иное. Кроме того, Aib относится к α -аминоизомасляной кислоте, D-Ala относится к D-аланину, Orn относится к орнитину, Dar относится к 2,3-диаминопропионовой кислоте, и Dab относится к 2,4-диаминомасляной кислоте.

Термин «агонист» определен как вещество, оказывающее активирующее действие на рецептор GLP-1 или на рецептор GIP.

Термин «двойной агонист GLP-1/GIP», используемый в контексте настоящего изобретения, относится к веществу или лиганду, которые могут активировать рецептор GLP-1 и рецептор GIP.

В настоящем описании термин «лечить», «лечение» или «осуществление лечения» включает ингибирование, ослабление, остановку или реверсию прогрессирующего или выраженности существующего симптома или состояния.

Термин «природные аминокислоты» относится к 20 обычным аминокислотам, т. е. аланину (A), цистеину (C), аспарагиновой кислоте (D), глутаминовой кислоте (E), фенилаланину (F), глицину (G), гистидину (H), изолейцину (I), лизину (K), лейцину (L), метионину (M), аспарагину (N), пролину (P), глутамину (Q), аргинину (R), серину (S),

треонину (Т), валину (V), триптофану (W) и тирозину (Y).

Термин «неприродные аминокислоты» относится к аминокислотам, которые не кодируются в природе или не встречаются в генетическом коде какого-либо организма. Например, неприродные аминокислоты могут быть полностью синтетическими соединениями. Примеры неприродных аминокислот включают, не ограничиваясь перечисленным, гидроксипролин, γ -карбоксиглутаминовую кислоту, O-фосфосерин, азетидинкарбоновую кислоту, 2-аминоадипиновую кислоту, 3-аминоадипиновую кислоту, β -аланин, аминопропионовую кислоту, 2-аминомасляную кислоту, 4-аминомасляную кислоту, 6-аминогексановую кислоту, 2-аминогептановую кислоту, 2-аминоизомасляную кислоту, 3-аминоизомасляную кислоту, 2-аминопимелиновую кислоту, трет-бутилглицин, 2,4-диаминоизомасляная кислота (Dap), десмозин, 2,2'-диаминопимелиновую кислоту, 2,3-диаминопропионовую кислоту (Dab), N-этилглицин, N-метилглицин, N-этиласпарагин, гомопролин, гидроксизин, алло-гидроксизин, 3-гидроксипролин, 4-гидроксипролин, изодесмозин, алло-изолейцин, N-метилаланин, N-метилглицин, N-метилизoleyцин, N-метилпентилглицин, N-метилвалин, нафтилаланин, норвалин, норлейцин, орнитин (Orn), D-орнитин, D-аргинин, пара-аминофенилаланин, пентилглицин, пипеколиновую кислоту и тиопролин. Кроме того, данный термин также включает производные, полученные химической модификацией C-концевой карбоксильной группы (или N-концевой аминогруппы и/или функциональной группы боковой цепи) природной аминокислоты (или неприродной аминокислоты).

Термин «алкил» относится к насыщенной алифатической углеводородной группе, которая представляет собой линейную или разветвленную группу, содержащую от 1 до 20 атомов углерода, например, алкил, содержащий от 1 до 8 атомов углерода, например, алкил, содержащий от 1 до 6 атомов углерода, например, алкил, содержащий от 1 до 3 атомов углерода. Неограничивающие примеры включают метил, этил, н-пропил, изопропил, н-бутил, изобутил, трет-бутил, втор-бутил, н-пентил, 1,1-диметилпропил, 1,2-диметилпропил, 2,2-диметилпропил, 1-этилпропил, 2-метилбутил, 3-метилбутил, н-гексил, 1-этил-2-метилпропил, 1,1,2-триметилпропил, 1,1-диметилбутил, 1,2-диметилбутил, 2,2-диметилбутил, 1,3-диметилбутил, 2-этилбутил, 2-метилпентил, 3-метилпентил, 4-метилпентил, 2,3-диметилбутил, н-гептил, 2-метилгексил, 3-метилгексил, 4-метилгексил, 5-метилгексил, 2,3-диметилпентил, 2,4-диметилпентил, 2,2-диметилпентил, 3,3-диметилпентил, 2-этилпентил, 3-этилпентил, н-октил, 2,3-диметилгексил, 2,4-диметилгексил, 2,5-диметилгексил, 2,2-диметилгексил, 3,3-диметилгексил, 4,4-диметилгексил, 2-этилгексил, 3-этилгексил, 4-этилгексил, 2-метил-2-этилпентил, 2-метил-3-этилпентил, н-нонил, 2-метил-2-этилгексил, 2-метил-3-этилгексил, 2,2-диэтилпентил, н-

децил, 3,3-диэтилгексил, 2,2-диэтилгексил и их различные разветвленные изомеры, и т. п. Алкил может представлять собой, например, низший алкил, содержащий от 1 до 6 атомов углерода, и неограничивающие примеры включают метил, этил, н-пропил, изопропил, н-бутил, изобутил, трет-бутил, втор-бутил, н-пентил, 1,1-диметилпропил, 1,2-диметилпропил, 2,2-диметилпропил, 1-этилпропил, 2-метилбутил, 3-метилбутил, н-гексил, 1-этил-2-метилпропил, 1,1,2-триметилпропил, 1,1-диметилбутил, 1,2-диметилбутил, 2,2-диметилбутил, 1,3-диметилбутил, 2-этилбутил, 2-метилпентил, 3-метилпентил, 4-метилпентил, 2,3-диметилбутил и т. п. Алкил может быть замещенным или незамещенным. Когда он является замещенным, заместитель может быть замещен в любом доступном месте присоединения, и заместитель может представлять собой одну или более групп, независимо выбранных из группы, состоящей из алкила, алкенила, алкинила, алкокси, алкилтио, алкиламино, галогена, сульфгидрила, гидроксид, нитро, циано, циклоалкила, гетероциклоалкила, арила, гетероарила, циклоалкокси, гетероциклоалкокси, циклоалкилтио, гетероциклоалкилтио, оксо, карбоксила и карбоксилатной группы. Замещенный алкил согласно настоящему изобретению может представлять собой метил, этил, изопропил, трет-бутил, галогеналкил, дейтерированный алкил, алкоксизамещенный алкил или гидроксизамещенный алкил.

Выражения «X выбран из группы, состоящей из А, В или С», «X выбран из группы, состоящей из А, В и С», «X представляет собой А, В или С», «X представляет собой А, В и С» и тому подобное все имеют одно и то же значение, X может представлять собой любой один или более из А, В и С.

«Модификация» аминокислоты, как раскрыто в настоящем описании, относится к замене, добавлению или делеции аминокислоты, включая замену или добавление любой одной или более из 20 природных аминокислот.

Термин «природный GLP-1» относится к встречающейся в природе молекуле пептидных семейств глюкагона или эксендина, где пептидное семейство глюкагона кодируется геном препроглюкагона и включает три небольших пептида с высокой гомологией, т. е. глюкагон (1-29), GLP-1 (1-37) и GLP-2 (1-33); и эксендины представляют собой пептиды, экспрессируемые у ящериц и которые, как и GLP-1, являются инсулинотропными. В некоторых вариантах осуществления термин «природный GLP-1» также относится к GLP-1 (7-37) человека и GLP-1 (7-36) человека.

Термин «аналог GLP-1» относится к веществу, имеющему до 25, до 24, до 23, до 22, до 21, до 20, до 19, до 18, до 17, до 16, до 15, до 14, до 13, до 12, до 11, до 10, до 9, до 8, до 7, до 6, до 5, до 4, до 3, до 2 или 1 аминокислотной модификации или химической модификации по сравнению с природным GLP-1 (в частности, с GLP-1 (7-37) человека и

GLP-1 (7-36) человека), где аминокислотная модификация может представлять собой аминокислотную замену, добавление и/или делецию; и химическая модификация может представлять собой химическую модификацию группой, выбранной из группы, состоящей из следующих групп: амид, углевод, алкил, ацил, сложный эфир, полиэтиленгликоль (ПЭГ), сиалилирующая группа, гликозилирующая группа и т. п.

Термин аминокислотная «замена», как раскрыто в настоящем описании, относится к замене одного аминокислотного остатка другим аминокислотным остатком.

Термин «полиэтиленгликоль» или «ПЭГ» относится к смеси поликонденсатов этиленоксида и воды, присутствует в линейной или разветвленной форме и представлен общей формулой $\text{H}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OH}$, где n по меньшей мере равно 9. Если не указано иное, данный термин включает полимеры полиэтиленгликоля, имеющие среднюю общую молекулярную массу, выбранную из группы, состоящей из 5000-40000 дальтон.

Термин «жирная кислота» относится к карбоновой кислоте с алифатическим длинным хвостом (цепью), которая может быть насыщенной или ненасыщенной. Жирные кислоты в настоящем изобретении представляют собой карбоновые кислоты, имеющие линейную или разветвленную алифатическую группу C4-C30.

Термин «пептид» в контексте настоящего описания охватывает пептиды, имеющие модифицированные amino- и карбоксильные концы. Например, аминокислотная цепь, содержащая концевую карбоновую кислоту, замещенную амидной группой, также включена в аминокислотную последовательность, обозначенную как природная аминокислота.

Все атомы водорода, раскрытые в настоящем изобретении, могут быть замещены их изотопами (протий, дейтерий и тритий), и любой атом водорода в соединении согласно настоящему изобретению, к которому относится настоящее изобретение, также может быть замещен атомом изотопа.

«Необязательный» или «необязательно» означает, что событие или обстоятельство, описанное далее, может, но не обязательно должно, произойти, и что описание включает случаи, когда это событие или обстоятельство происходит или не происходит. Например, выражение «гетероциклическая группа, необязательно замещенная алкилом» означает, что алкил может присутствовать, но не обязательно присутствует, и описание включает случаи, когда гетероциклическая группа замещена или не замещена алкилом.

Термин «замещенный» означает, что один или более, предпочтительно до 5, более предпочтительно от 1 до 3 атомов водорода в группе независимо замещены заместителем. Заместитель расположен только в его возможных химических положениях, и специалисты в данной области техники смогут определить (экспериментально или теоретически) возможные или невозможные замены, не прилагая чрезмерных усилий. Например, она

его компонентов, составляющих его сопряженную кислотно-основную пару. Примеры буферов, которые удерживают pH в соответствующем диапазоне, включают ацетатный, сукцинатный, цитратный, фосфатный, глюконатный, на основе соли гистидина, оксалатный, лактатный, фосфатный, цитратный, тартратный, фумаратный, глицилглициновый и другие буферы на основе органических кислот.

«Буфер на основе соли гистидина» представляет собой буфер, содержащий ионы гистидина. Примеры буферов на основе соли гистидина включают гистидин-гидрохлоридные буферы, гистидин-ацетатные буферы, гистидин-фосфатные буферы, гистидин-сульфатные буферы и т. п., например, гистидин-ацетатные буферы или гистидин-гидрохлоридные буферы. Гистидин-ацетатные буферы получают из гистидина и уксусной кислоты, а буферы на основе соли гистидина получают из гистидина и соляной кислоты.

«Цитратный буфер» представляет собой буфер, содержащий цитрат-ионы. Примеры цитратных буферов включают лимонную кислоту-цитрат натрия, лимонную кислоту-цитрат калия, лимонную кислоту-цитрат кальция, лимонную кислоту-цитрат магния и т. п. Цитратный буфер может представлять собой лимонную кислоту-цитрат натрия.

«Сукцинатный буфер» представляет собой буфер, содержащий сукцинат-ионы. Примеры сукцинатных буферов включают янтарную кислоту-сукцинат натрия, янтарную кислоту-сукцинат калия, янтарную кислоту-сукцинат кальция и т. п. Сукцинатный буфер может представлять собой янтарную кислоту-сукцинат натрия.

«Фосфатный буфер» представляет собой буфер, содержащий фосфат-ионы. Примеры фосфатных буферов включают гидрофосфат натрия-дигидрофосфат натрия, гидрофосфат натрия-дигидрофосфата калия, гидрофосфат натрия-лимонную кислоту и т. п. Фосфатный буфер может представлять собой гидрофосфат натрия-дигидрофосфат натрия.

«Ацетатный буфер» представляет собой буфер, содержащий ацетат-ионы. Примеры ацетатных буферов включают уксусную кислоту-ацетат натрия, уксусную кислоту-соль гистидина, уксусную кислоту-ацетат калия, уксусную кислоту-ацетат кальция, уксусную кислоту-ацетат магния и т. п. Ацетатный буфер может представлять собой уксусную кислоту-ацетат натрия.

«Фармацевтическая композиция» относится к смеси, содержащей одно или более соединений, описанных в настоящем документе, или их физиологически/фармацевтически приемлемые соли или пролекарства, и другие химические компоненты, которые представляют собой, например, физиологически/фармацевтически приемлемые носители и эксципиенты. Назначение фармацевтической композиции состоит в том, чтобы облегчить введение в организм и способствовать абсорбции активного ингредиента, чтобы он мог проявлять биологическую активность. В контексте настоящего документа термины

«фармацевтическая композиция» и «состав» могут быть использованы взаимозаменяемо.

Если не указано иное, растворитель в описанной в настоящем документе фармацевтической композиции в форме раствора представляет собой воду.

«Лиофилизированный состав» относится к составу или фармацевтической композиции, полученным лиофилизацией фармацевтической композиции или состава в форме жидкости или раствора в вакууме.

Термин «приблизительно» или «примерно» в контексте настоящего документа означают, что численное значение находится в пределах допустимого диапазона погрешности для конкретного значения, определенного специалистом в данной области техники, и численное значение частично зависит от того, как значение измерено или определено (т. е. пределов системы измерений). Например, «приблизительно» может означать в пределах 1 или более чем 1 стандартного отклонения в соответствии с практикой, принятой в данной области техники. Или «приблизительно» или «по существу содержать» может означать диапазон до $\pm 20\%$; например, рН приблизительно 5,5 означает рН, составляющий $5,5 \pm 1,1$. Кроме того, в частности, для биологических систем или процессов этот термин может означать величину до порядка или до 5-кратной величины от числового значения. Если не указано иное, когда в настоящей заявке и формуле изобретения указано конкретное значение, то значение «приблизительно» или «по существу содержит» следует предполагать находящимся в допустимом диапазоне погрешности для этого конкретного значения.

Фармацевтическая композиция, описанная в настоящем документе, может достигать эффекта стабильности: аналог GLP-1 в фармацевтической композиции по существу сохраняет свою физическую и/или химическую стабильность и/или биологическую активность после хранения; например, фармацевтическая композиция по существу сохраняет свою физическую и химическую стабильность, а также свою биологическую активность после хранения. Срок хранения обычно выбирают, исходя из заранее определенного срока годности фармацевтической композиции. В настоящее время существует множество аналитических методов для измерения стабильности белка, и может быть измерена стабильность после хранения в течение выбранного периода времени при выбранной температуре.

Стабильный фармацевтический состав представляет собой состав, в котором не наблюдается существенных изменений при следующих условиях: хранение при температуре охлаждения ($2-8\text{ }^{\circ}\text{C}$) в течение по меньшей мере 3 месяцев, по меньшей мере 6 месяцев, по меньшей мере 1 года, по меньшей мере 2 лет или не более 2 лет. Кроме того, стабильные жидкие составы включают жидкие составы, которые демонстрируют

желательные характеристики после хранения при 25 °С в течение периодов, включающих 1 месяц, 3 месяца и 6 месяцев, или хранения при 40 °С в течение периодов, включающих 1 месяц. Типичными приемлемыми критериями стабильности являются следующие: как правило, разлагается не более чем приблизительно 10%, предпочтительно не более чем приблизительно 5% мономера аналога GLP-1 по данным эксклюзионной ВЭЖХ (высокоэффективная жидкостная хроматография). Фармацевтический состав является бесцветным или от прозрачного до слегка опалесцирующего, при визуальном анализе. Концентрация, рН и осмоляльность состава изменяются не более чем на $\pm 10\%$. Как правило, наблюдаются усечения, составляющие не более чем приблизительно 10%, например, не более чем приблизительно 5%. Как правило, имеет место не более чем приблизительно 10%, предпочтительно не более чем приблизительно 5% агрегации.

Аналог GLP-1 «сохраняет свою физическую стабильность» в фармацевтическом составе, если оно не демонстрирует значительного увеличения агрегации, образования осадка и/или денатурации при визуальном осмотре цвета и/или прозрачности или по данным рассеяния УФ-излучения, эксклюзионной хроматографии (ЭХ) и динамического рассеяния света (DLS). Изменения в конформации белка можно оценить с помощью флуоресцентной спектроскопии (определяющей третичную структуру белка) и с помощью ИК-Фурье-спектроскопии (определяющей вторичную структуру белка).

Аналог GLP-1 «сохраняет свою химическую стабильность» в фармацевтическом составе, если оно не демонстрирует значительных химических изменений. Химическая стабильность может быть оценена путем обнаружения и количественного определения химически измененного белка. Процессы деградации, которые часто изменяют химическую структуру белков, включают гидролиз или усечение (оценивается такими методами, как эксклюзионная хроматография и SDS-PAGE), окисление (оценивается такими методами, как пептидное картирование в сочетании с масс-спектрометрией или MALDI/TOF/MS), дезамидирование (оценивается такими методами, как ионообменная хроматография, капиллярное изоэлектрическое фокусирование, пептидное картирование и определение изоаспарагиновой кислоты) и изомеризация (оценивается определением содержания изоаспарагиновой кислоты, пептидным картированием и т. д.).

Аналог GLP-1 «сохраняет свою биологическую активность» в фармацевтическом составе, если его биологическая активность в данный момент времени находится в пределах заданного диапазона биологической активности, проявляемой во время получения фармацевтического состава. Биологическая активность аналога GLP-1 может быть определена, например, с помощью анализа связывания антигена.

Трехбуквенные коды и однобуквенные коды для аминокислот, используемые в

настоящем описании, соответствуют описанным в J. biol. chem, 243, p3558 (1968).

Примеры

Следующие конкретные варианты осуществления приведены в настоящем документе только для более подробной иллюстрации настоящего изобретения, а не для ограничения настоящего изобретения. Экспериментальные процедуры без конкретных условий, указанных в примерах настоящего изобретения, обычно проводят в соответствии с обычными условиями или в соответствии с условиями, рекомендованными производителями исходных веществ или коммерческих продуктов. Реагенты без указания конкретного происхождения являются коммерчески доступными обычными реагентами.

Таблица 1. Часть реагентов и источников, использованных в экспериментах

Реагент	Источник
Амидная смола Ринка МВНА	Xi'an sunresin Tech Ltd.
НСТУ (О-(6-хлор-1-бензотриазол-1-ил)-N,N,N',N'-тетраметилурония гексафторфосфат)	Highfine Tech Ltd., Сучжоу
Фмос-Aib-ОН	GL Biochem
Фмос-L-Lys(Mtt)-ОН	GL Biochem
N,N-диметилформаид	SinoPharm
Дихлорметан	SinoPharm
Трифторуксусная кислота	SinoPharm
Триизопропилсилан	Sigma-Aldrich
Гексафторизопропанол	Sigma-Aldrich
Ацетонитрил	Merck-Millipore
Диизопропилэтиламин	Sigma-Aldrich
4-метилпиперидин	TCI Chemicals
Метил-трет-бутиловыйэфир	TCI Chemicals
Вос-L-Tyr(tBu)-ОН	GL Biochem
Фмос-NH-PEG ₂ -COOH	GL Biochem
Фмос-L-Glu-OtBu	GL Biochem
HOOC-(CH ₂) ₁₈ -COOtBu	ChinaPeptides Co., Ltd, Сучжоу

4-метилморфолин	TCI Chemicals
DMEM/F12	Gibco 11330032
Казеин	Sigma C3400-500G
3-изобутил-1-метилксантин	Sigma I7018-250 MG
набор cAMP - Gs Dynamic - 20000 тестов	Cisbio 62AM4PEC
384-луночный планшет Corning®, малый объем	Sigma CLS4514-50EA
96-луночный планшет с V-образным дном (PS)	Axygen WIPP02280
Слайд-камеры для подсчета клеток Countess®	Invitrogen C10228
пурамицин	ThermoFisher A1113803
Гигромицин В	Sigma A1720
PBS	Gibco 10010023
0,25% трипсин-ЭДТА(1X), феноловый красный	ThermoFisher 25200-114
Фетальная бычья сыворотка Gibco™, сертифицированная, австралийского происхождения	ThermoFisher 10099-141
Глюкоза	Sigma G8270-100G

Таблица 2. Часть оборудования и источников, использованных в экспериментах

Оборудование	Источник
Аналитический сверхвысокоэффективный жидкостный хроматограф H-CLASS	WATERS
Комбинация сверхвысокоэффективный жидкостный хроматограф/масс-спектрометр Agilent 1290-6530	Agilent
Многофункциональный лиофилизатор Labconco	Thermo-Fisher Scientific
Препаративный высокоэффективный жидкостный хроматограф Prep150	WATERS
Автоматический синтезатор полипептидов	Protein Technology Inc

Prelude-X	
Многоканальная высокоскоростная центрифуга	Sigma
Центрифуга с охлаждением 5810R	Eppendorf 5810R
Активный глюкометр	Roche
Считывающее устройство для микропланшетов	BioTek H1MFD

Пример 1. Химический синтез соединения 18#

1. Синтез полипептидного остова

Амидную смолу Ринка МВНА (степень замещения: 0,48 ммоль/г, 0,1 ммоль) брали и помещали в полипропиленовую реакционную пробирку для твердофазного синтеза полипептида; добавляли N,N-диметилформамид (ДМФА, 10 мл) для набухания смолы в течение 10 мин при продувке азотом; ДМФА удаляли в вакууме и добавляли свежий ДМФА (10 мл) для промывки смолы; после повторной двукратной промывки смолы осуществляли твердофазный синтез полипептида на автоматическом синтезаторе полипептидов Prelude-X по стратегии Fmoc/tBu, в которой 10 эквивалентов аминокислотных остатков, активированных HSTU и 4-метилморфолином (молярное отношение HSTU к 4-метилморфолину к аминокислотным остаткам составляло 1:2:1) подвергали взаимодействию в ДМФА при комнатной температуре в течение 25 минут для конденсации амидной связи, чтобы достичь сочетания. Удаление N-концевой защитной группы Fmoc проводили с помощью 2 реакций (по 10 мин каждая) при комнатной температуре с использованием раствора ДМФА, содержащего 20% 4-метилпиперидина. При синтезе полипептидного остова N-концевой аминокислотный остаток конструировали с использованием Boc-L-Тур (tBu)-ОН и подвергали вторичной конденсации, которая была необходима для улучшения качества неочищенного пептида.

2. Селективное удаление защитной группы Mtt смолы-пептида и модификации боковой цепи жирными кислотами

После завершения удлинения полипептидного остова (или так называемой смолы-пептида) добавляли смешанный раствор (10 мл) дихлорметана, содержащий 30% гексафторизопропанола, и смесь встряхивали при комнатной температуре в течение 45 мин, а затем смешанный раствор удаляли в вакууме; добавляли смешанный раствор (10 мл) дихлорметана, содержащий 30% гексафторизопропанола, и встряхивали смесь при комнатной температуре в течение 45 мин, а затем смешанный раствор удаляли в вакууме. После завершения реакции смолу 6 раз промывали ДМФА. Боковую цепь лизина в

положении 14 удлинляли с использованием автоматического синтезатора полипептидов Prelude-X с дополнительным циклом сочетания/снятия защиты с участием аминокислотных компонентов Fmoc-NH-PEG₂-COOH и Fmoc-L-Glu-OtBu. Все сочетания проводили в ДМФА при комнатной температуре в течение 25 мин с использованием 10 эквивалентов аминокислотных остатков, активированных HSTU и 4-метилморфолином (молярное отношение HSTU к 4-метилморфолину к аминокислотным остаткам составляло 1:2:1). Удаление N-концевой защитной группы Fmoc проводили с помощью 2 реакций (по 10 мин каждая) при комнатной температуре с использованием раствора ДМФА, содержащего 20% 4-метилпиперидина. После промывки окончательно полученной смолы трижды ДХМ и ДМФА по отдельности, использовали смешанный раствор (8 мл) ДМФА, содержащий 10 эквивалентов HOOC-(CH₂)₁₈-COOtBu, 10 эквивалентов HSTU и 20 эквивалентов диизопропилэтиламина (DIEA) и подвергали смесь взаимодействию при комнатной температуре в течение 4 часов для завершения модификации жирной кислотой боковой цепи.

3. Отщепление продукта

Смолу-пептид, полученную на предыдущей стадии, последовательно промывали 3 раза ДМФА и ДХМ и сушили в вакууме с последующим добавлением свежеприготовленного буфера для отщепления (трифторуксусная кислота:триизопропилсилан:вода = 90:5:5, об.:об.:об.), и встряхивали смесь при комнатной температуре в течение 3-4 ч. После завершения реакции смесь фильтровали и смолу дважды промывали трифторуксусной кислотой. Фильтраты объединяли перед добавлением большого количества замороженного метил-трет-бутилового эфира для осаждения твердого вещества. Смесь центрифугировали и супернатант отбрасывали с получением неочищенного полипептида соединения 18#.

4. Очистка с помощью обращенно-фазовой жидкостной хроматографии

Неочищенный полипептид соединения 18# растворяли в смешанном растворителе, содержащем 0,1% трифторуксусной кислоты, 20% ацетонитрила и 20% уксусной кислоты/воды, и фильтровали раствор через мембрану на 0,22 мкм; фильтрат разделяли с использованием системы обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии WATERS Prep150 LC с буферами А (0,1% трифторуксусной кислоты, 10% ацетонитрила и воды) и В (0,1% трифторуксусной кислоты, 90% ацетонитрила и воды). Хроматографическая колонка представляла собой обращенно-фазовую хроматографическую колонку X-SELECT OBD C-18, и в процессе очистки длина волны детекции хроматографа была установлена равной 220 нм, а скорость потока составляла 15 мл/мин. Релевантные фракции продукта собирали и лиофилизировали с получением

чистого полипептидного продукта соединения 1# с выходом 18%. Чистоту чистого полипептидного продукта определяли с помощью комбинации аналитической высокоэффективной жидкостной хроматографии и сверхвысокоэффективной жидкостной хроматографии/масс-спектрометрии, и чистота составила 92,81%. Молекулярная структура соединения 18# представляет собой:

H-YAibEGTFTSDYSIYK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)EKIAAQEFVNWLLAGGPSSGAPPPS-NH₂, со структурной формулой, представленной как структура 18# на фиг. 3.

Пример 2. Химический синтез других соединений

Соединения в таблице 3 были синтезированы с использованием протокола эксперимента примера 1.

Таблица 3. Соединения согласно настоящему изобретению

№ соединения и его молекулярная структура	
1#	H-YAibEGTFTSDYSIYK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)DKIAAQEFVNWLIAGGPSSGAPPPS-NH ₂
2#	H-YAibEGTFTSDYSIYK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)DRIAAQEFVNWLIAGGPSSGAPPPS-NH ₂
3#	H-YAibEGTFTSDYSIYK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)DKIAAQEFINWLIAGGPSSGAPPPS-NH ₂
4#	H-YAibEGTFTSDYSIYK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)DRIAAQEFINWLIAGGPSSGAPPPS-NH ₂
5#	H-YAibEGTFTSDYSIYK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)DKIAAQEFINWLLAGGPSSGAPPPS-NH ₂
6#	H-YAibEGTFTSDYSIYK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)DRIAAQEFVNWLLAGGPSSGAPPPS-NH ₂
7#	H-YAibEGTFTSDYSIYK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)DKIAAQEFVNWLLAGGPSSGAPPPS-NH ₂
8#	H-YAibEGTFTSDYSIYLEK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)IAAQEFVNWLLAGGPSSGAPPPS-NH ₂
9#	H-YAibEGTFTSDYSIYLEK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)IAAQEFVNWLIAGGPSSGAPPPS-NH ₂
10#	H-YAibEGTFTSDYSIYLEK(OEG-OEG-yGlu-C20-

	OH)IAAQEFINWLIAGGPSSGAPPPS-NH ₂
11#	H-YAibEGTFTSDYSIYLEK(OEG-OEG-yGlu-C20- OH)IAAQEFINWLLAGGPSSGAPPPS-NH ₂
12#	H-YAibEGTFTSDYSIYK(OEG-OEG-yGlu-C20- OH)EKIAAQEFVNWLIAGGPSSGAPPPS-NH ₂
13#	H-YAibEGTFTSDYSIYK(OEG-OEG-yGlu-C20- OH)ERIAAQEFVNWLIAGGPSSGAPPPS-NH ₂
14#	H-YAibEGTFTSDYSIYK(OEG-OEG-yGlu-C20- OH)EKIAAQEFINWLIAGGPSSGAPPPS-NH ₂
15#	H-YAibEGTFTSDYSIYK(OEG-OEG-yGlu-C20- OH)ERIAAQEFINWLIAGGPSSGAPPPS-NH ₂
16#	H-YAibEGTFTSDYSIYK(OEG-OEG-yGlu-C20- OH)EKIAAQEFINWLLAGGPSSGAPPPS-NH ₂
17#	H-YAibEGTFTSDYSIYK(OEG-OEG-yGlu-C20- OH)ERIAAQEFVNWLLAGGPSSGAPPPS-NH ₂

Чистоту соединений определяли с помощью комбинации аналитической высокоэффективной жидкостной хроматографии и сверхвысокоэффективной жидкостной хроматографии/масс-спектрометрии, и чистота некоторых соединений приведена в таблице 4 ниже.

Таблица 4. Чистота и молекулярная масса соединений с 8# по 11#, определенные с помощью комбинации аналитической высокоэффективной жидкостной хроматографии и жидкостной хроматографии/масс-спектрометрии

№ соединения	Чистота
8#	96,30%
9#	93,28%
10#	94,56%
11#	92,18%

Биологическая оценка

Настоящее изобретение дополнительно описано и поясняется ниже со ссылкой на тестовые примеры, но эти примеры не ограничивают объем настоящего изобретения.

Пример 3. Оценка агонистической активности соединений согласно настоящему изобретению в отношении рецептора глюкагоноподобного пептида-1 (GLP-1R)

1. Цель эксперимента

Данный тестовый пример был предназначен для определения агонистической активности соединений согласно настоящему изобретению в отношении рецептора глюкагоноподобного рецептора пептида-1 (GLP-1R).

2. Методика эксперимента

Криоконсервированные стабильные клеточные линии CHO-K1/GLP-1R/CRE-luc (которые могут быть получены обычными способами в данной области техники) извлекали из резервуара с жидким азотом, быстро размораживали на водяной бане при 37 °C, ресуспендировали в среде DMEM/F12 и центрифугировали, и клетки промывали один раз, ресуспендировали в буфере для анализа, т.е. среде DMEM/F12, содержащей 0,1% казеина, корректировали на плотность клеток с помощью буфера для анализа и высевали в 384-луночный планшет (Sigma кат. № CLS4514) при плотности 2500 клеток/5 мкл/лунку. Затем в каждую лунку добавляли 2,5 мкл рабочего раствора IBMX (Sigma кат. № I7018), приготовленного в буфере (конечная концентрация IBMX составляла 0,5 мМ), и 2,5 мкл образцов последовательно разведенных полипептидов, и планшет центрифугировали при 1000 об./мин в течение 1 мин, встряхивали в течение 30 с для хорошего перемешивания и оставляли для инкубации при комнатной температуре в течение 30 мин. Детекцию проводили с использованием набора Cisbio cAMP-Gs Dynamic (Cisbio кат. № 62AM4PEC), и каждый из cAMP-d2 и Anti-cAMP-Eu³⁺-криптата подвергали 20-кратному разведению с использованием буфера для лизиса и детектирования cAMP, и каждый хорошо перемешивали. В каждую лунку добавляли по 5 мкл разведенного раствора cAMP-d2, затем добавляли 5 мкл разведенного раствора анти-cAMP-Eu³⁺-криптата, смесь встряхивали в течение 30 с для хорошего перемешивания, а затем инкубировали при комнатной температуре в течение 1 ч в темноте.

3. Обработка данных

Считывание сигнала HTRF осуществляли с помощью считывающего устройства для микропланшетов Biotek Synergy H1 при длине волны возбуждения 320 нм и длинах волны испускания 620 нм и 665 нм. Отношения сигналов (665 нм/620 нм*10000) рассчитывали и нелинейно аппроксимировали к концентрациям образцов в GraphPad Prism 6 с использованием четырехпараметрического уравнения для получения значений EC₅₀, конкретные данные приведены в таблице 5 ниже.

Пример 4. Оценка агонистической активности соединений согласно настоящему изобретению в отношении рецептора глюкозозависимого инсулиотропного полипептида

(GIPR)

1. Цель эксперимента

Данный пример был предназначен для определения агонистической активности соединений согласно настоящему изобретению в отношении рецептора глюкозозависимого инсулинотропного полипептида (GIPR).

2. Методика эксперимента

Клетки CHO-K1 дикого типа собирали, доводили клеточную суспензию до соответствующей плотности, высевали в 6-луночный планшет по 2 мл на лунку и помещали в инкубатор при 37 °C, 5% CO₂ для адгезивного культивирования на ночь. Смесь для трансфекции (плазида рецептора hGIP, Fugene HD (Promega кат. № E2311) и OptiMEM (Gibco кат. № 31985070)) хорошо перемешивали и оставляли стоять при комнатной температуре в течение 15 мин, добавляли в соответствующие клеточные лунки в объеме 100 мкл и трансфицировали в течение 24 ч для обеспечения сверхэкспрессии рецептора hGIP на поверхности клеток CHO-K1. После завершения временной трансфекции клетки в 6-луночном планшете собирали, промывали один раз буфером для анализа, то есть средой DMEM/F12 (Gibco кат. № 11330032), содержащей 0,1% казеина (Sigma кат. № C3400), корректировали на плотность клеток с помощью буфера для анализа и высевали в 384-луночный планшет (Sigma кат. № CLS4514) при плотности 5000 клеток/5 мкл/лунку. Затем в каждую лунку добавляли 2,5 мкл рабочего раствора IBMX (Sigma кат. № I7018), приготовленного в буфере (конечная концентрация IBMX составляла 0,5 мМ), и 2,5 мкл образцов разведенных полипептидов, и планшет центрифугировали при 1000 об./мин в течение 1 мин, встряхивали в течение 30 с для хорошего перемешивания и оставляли для инкубации при комнатной температуре в течение 30 мин. Детекцию проводили с использованием набора Cisbio cAMP-Gs Dynamic (Cisbio кат. № 62 AM4PEC), и каждый из cAMP-d2 и Anti-cAMP- Eu3+-криптата подвергали 20-кратному разведению с использованием буфера для лизиса и детектирования cAMP, и каждый хорошо перемешивали. В каждую лунку добавляли по 5 мкл разведенного раствора cAMP-d2, затем добавляли 5 мкл разведенного раствора анти-cAMP- Eu3+-криптата, смесь встряхивали в течение 30 с для хорошего перемешивания, а затем инкубировали при комнатной температуре в течение 1 ч в темноте.

3. Обработка данных

Считывание сигнала HTRF осуществляли с помощью считывающего устройства для микропланшетов Biotek Synergy H1 при длине волны возбуждения 320 нм и длинах волны испускания 620 нм и 665 нм. Отношения сигналов (665 нм/620 нм*10000) рассчитывали и нелинейно аппроксимировали к концентрациям образцов в GraphPad Prism 6 с

использованием четырехпараметрического уравнения для получения значений EC_{50} , конкретные данные приведены в таблицах 5 и 6 ниже.

Таблица 5. Результаты определения агонистической активности в отношении GLP-1R человека и GIPR человека

Соединение	Активность в отношении GLP-1R человека (EC_{50} , нМ)	Активность в отношении GIPR человека (EC_{50} , нМ)
Природный GLP-1	0,010	н/д
Природный GIP	н/д	0,011
Семаглутид	0,024	>10
LY3298176	0,13	0,056
7#	0,021	0,11

Таблица 6. Результаты определения агонистической активности в отношении GLP-1R человека и GIPR человека

Соединение	Активность в отношении GLP-1R человека (EC_{50} , нМ)	Активность в отношении GIPR человека (EC_{50} , нМ)
Природный GLP-1	0,006	н/д
Природный GIP	н/д	0,006
Семаглутид	0,014	>10,0
LY3298176	0,078	0,031
9#	0,049	0,040
10#	0,065	0,056
12#	0,030	0,170
13#	0,017	0,130
14#	0,013	0,130
15#	0,015	0,230

16#	0,029	0,095
17#	0,022	0,110
18#	0,013	0,060

4. Вывод по результатам эксперимента

Благодаря конструированию полипептидного остова и последующей сайт-направленной модификации жирной кислотой соединения согласно настоящему изобретению обладают более сильной агонистической активностью в отношении GLP-1/GIPR, чем многие полипептиды с двойной агонистической активностью в отношении GLP-1/GIPR, известные в данной области техники и таким образом, они имеют больший потенциал для лечения метаболических заболеваний. Кроме того, LY3298176 демонстрирует избирательную активность в отношении рецептора GIPR, в отличие от соединений 12#-18# согласно настоящему изобретению, которые демонстрируют избирательную активность в отношении GLP-1R.

Пример 5. Испытание стабильности некоторых соединений согласно настоящему изобретению

Стабильность в плазме важна для терапевтических полипептидных препаратов, поскольку полипептидные препараты склонны к чувствительности к полипептидным гидролазам и белковым гидролазам в плазме. Будут затронуты период полувыведения и эффективность полипептидов, которые нестабильны в плазме.

1. Цель эксперимента

Данный эксперимент был направлен на испытание стабильности некоторых соединений согласно настоящему изобретению в плазме крови человека.

2. Методика эксперимента

5 мкл каждого из образцов в концентрациях 20 нг/мл, 50 нг/мл, 100 нг/мл, 200 нг/мл, 500 нг/мл, 1000 нг/мл, 2000 нг/мл, 5000 нг/мл и 10000 нг/мл добавляли к 45 мкл человеческой плазмы. Содержание соединений в образцах определяли методом ЖХ-МС и строили градуировочную кривую. К 45 мкл плазмы человека добавляли 5 мкл раствора полипептида в концентрации 1 мг/мл. Для каждого тестируемого соединения готовили пять образцов, и отбирали образцы через 0 мин, 30 мин, 60 мин, 120 мин и 240 мин, соответственно, и определяли содержание остаточного соединения методом ЖХ-МС. При содержании в 0 мин в качестве стандарта (100%) рассчитывали относительное содержание остаточных соединений в образцах в других временных точках. Метод ЖХ-МС для детектирования соединений был следующим: 5% раствор ацетонитрила готовили в виде

раствора А, 95% раствор ацетонитрила готовили в виде раствора В, формировали градиент раствора при скорости потока 0,6 мл/мин в соответствии с временными точками и пропорциями раствора, приведенными в таблице 9, и вводили 15 мкл образца и определяли содержание соединений с использованием колонки для детектирования Raptor Biphenyl 2,7 мкм, см. таблицу 7.

Таблица 7. Временные точки, в которых осуществляли испытания, и пропорции раствора

Время (мин)	А (%)	В (%)
0,20	95,0	5,00
1,70	5,00	95,0
2,00	5,00	95,0
2,01	95,0	5,00
2,50	95,0	5,00

3. Результаты эксперимента

Данные по стабильности некоторых соединений согласно настоящему изобретению в плазме приведены в таблице 8 ниже.

Таблица 8. Результаты испытаний стабильности соединений в плазме

Соединение	Относительное содержание остаточных соединений в плазме (%)				
	0 мин	30 мин	60 мин	120 мин	240 мин
LY3298176	100,00	102,89	114,76	117,59	113,35
7#	100,00	101,45	101,66	103,28	102,15

Вывод:

В ходе исследования было обнаружено, что соединение 7# согласно настоящему изобретению имеет аналогичную стабильность (относительное содержание > 90%) в плазме человека по сравнению с соединением LY3298176 во временной точке 4 часа.

Пример 6. Фармакокинетические свойства некоторых соединений согласно настоящему изобретению у мышей

Стабильность в плазме является одним из факторов, влияющих на фармакокинетику

полипептидных препаратов. На фармакокинетику полипептидных препаратов *in vivo* также влияют такие факторы, как их абсорбция и клиренс полипептидных препаратов *in vivo*.

1. Цель эксперимента

Данный эксперимент был направлен на изучение фармакокинетического поведения соединений согласно настоящему изобретению у мышей Balb/c (плазма) после однократной внутривенной инъекции, при использовании мышей в качестве подопытных животных.

2. Методика эксперимента

Самцов мышей Balb/c весом 18-30 г и в возрасте от 7 до 9 недель приобретали у Shanghai Jiesijie Laboratory Animal Co., Ltd. После включения соединения 7# в буфер, содержащий 20 мМ лимонной кислоты (pH = 7,0), соединение 7# внутривенно вводили мышам в дозе 30 нмоль/кг массы тела через хвостовую вену, и отдельно брали 0,2 мл крови во временных точках 0, 0,083, 0,25, 0,5, 1, 2, 4, 6, 8, 24 и 32 часа. Собранную кровь мышей центрифугировали при 6000 об/мин в течение 6 мин при 4 °С для отделения плазмы. Содержание соединения 7# в плазме мышей анализировали с помощью экспериментальных методик примера 3.3.

3. Результаты эксперимента

Конкретные данные, полученные с помощью описанных выше методик эксперимента, приведены в таблице 9 ниже.

Таблица 9. Фармакокинетическое поведение после однократной внутривенной инъекции у мышей (плазма)

Фармакокинетические параметры	Ед. изм.	Соединение 7#
$T_{1/2}$	ч	13,0
AUC_{Inf}	ч*нг/мл	16133

AUC_{inf} - площадь под кривой концентрация-время, экстраполированной от нуля до бесконечности

4. Вывод по результатам эксперимента

В результате исследования было обнаружено, что соединение 7# согласно настоящему изобретению обладает хорошими фармакокинетическими свойствами после внутривенной инъекции мышам, что свидетельствует о том, что это соединение имеет преимущества при лечении заболеваний, например, поскольку оно позволяет осуществлять подкожную инъекцию человеку один раз в неделю.

Пример 7. Фармакокинетические свойства некоторых соединений согласно настоящему изобретению у мышей

1. Цель эксперимента

Данный эксперимент был направлен на изучение фармакокинетического поведения соединений согласно настоящему изобретению у мышей Balb/c (плазма) после однократной подкожной инъекции, при использовании мышей в качестве подопытных животных.

2. Методика эксперимента

Самцов мышей Balb/c весом 18-30 г и в возрасте от 7 до 9 недель приобретали у Shanghai Jiesijie Laboratory Animal Co., Ltd. После включения соединения 7# в буфер, содержащий 20 мМ лимонной кислоты (рН = 7,0), соединение 7# подкожно вводили мышам в дозе 30 нмоль/кг массы тела с левой стороны живота, и отдельно брали 0,2 мл крови во временных точках 0, 0,083, 0,25, 0,5, 1, 2, 4, 6, 8, 24 и 32 часа. Собранную кровь мышей центрифугировали при 6000 об/мин в течение 6 мин при 4 °С для отделения плазмы. Содержание соединения 7# в плазме мышей анализировали с помощью экспериментальных методик примера 5.2.

3. Результаты эксперимента

Конкретные данные, полученные с помощью описанных выше методик эксперимента, приведены в таблице 10 ниже.

Таблица 10. Фармакокинетические результаты для соединения 7# у мышей

Фармакокинетические параметры	Ед. изм.	Соединение 7#
$T_{1/2}$	ч	10,1
AUC_{Inf}	ч*нг/мл	14488

4. Вывод по результатам эксперимента

В результате исследования было обнаружено, что соединение согласно настоящему изобретению обладает хорошими фармакокинетическими свойствами после подкожной инъекции мышам, что свидетельствует о том, что это соединение имеет преимущества при лечении заболеваний, например, поскольку оно позволяет осуществлять подкожную инъекцию человеку один раз в неделю.

Пример 8. Эффективность *in vivo* некоторых соединений согласно настоящему изобретению

1. Цель эксперимента

Данный эксперимент был направлен на проверку регуляторного действия некоторых соединений согласно настоящему изобретению и соединения LY3298176 на уровень глюкозы в крови у нормальных мышей после однократной подкожной инъекции.

2. Методика эксперимента

Самцов мышей C57BL/6 в возрасте от 10 до 12 недель приобретали у Shanghai Jiesijie Laboratory Animal Co., Ltd. Мышам C57BL/6 подкожно вводили соединение 7# или соединение LY3298176 (доза: 10 нмоль/кг массы тела) и контрольный буфер, а затем оставляли голодать, не лишая воды. Через 18 ч внутрибрюшинно вводили раствор глюкозы в концентрации 0,2 г/мл. Значения глюкозы в крови измеряли путем взятия крови из хвоста мышей во временных точках 0 мин, 15 мин, 30 мин, 60 мин и 120 мин, в соответствии со схемой эксперимента. Конкретные процедуры были следующими: мышь физически иммобилизовали с обнаженным хвостом, и немного надрезали хвост на конце, затем хвост сдавливали до кровотечения, и определяли уровень глюкозы в крови с помощью активного глюкометра Roche после сбрасывания 1-й капли крови. Площадь под кривой уровня глюкозы в крови (AUC) рассчитывали по результатам всех временных точек.

3. Результаты эксперимента

Конкретные данные, полученные с помощью описанных выше методик эксперимента, приведены в таблице 11 ниже.

Таблица 11. Изменение значений глюкозы в крови мышей после однократного подкожного введения

Тестируемые соединения	Доза	Уровень глюкозы в крови (ммоль/л, среднее \pm СО)					AUC (ммоль/л*ч)
		0 мин	15 мин	30 мин	60 мин	120 мин	
Плацебо	-	5,3 \pm 0,6	20,5 \pm 2,0	24,0 \pm 1,4	19 \pm 1,3	10,9 \pm 1,2	34,5 \pm 2,4
7#	10 нмоль/кг	4,4 \pm 0,8	6,7 \pm 0,8	6,2 \pm 1,3	5,7 \pm 1,2	3,8 \pm 1,1	10,7 \pm 1,8
LY3298176	10 нмоль/кг	3,2 \pm 0,2	9,1 \pm 1,3	8 \pm 1,4	6,4 \pm 1,0	4,5 \pm 0,7	12,7 \pm 1,6

СО – стандартное отклонение

4. Вывод по результатам эксперимента

В данном эксперименте соединение 7# согласно настоящему изобретению демонстрирует значительный эффект снижения уровня глюкозы в крови у нормальных мышей в дозе 10 нмоль/кг массы тела, где площадь под кривой уровня глюкозы в крови в

группе соединения 7# снизилась более чем на 60% по сравнению с группой плацебо (т. е. холостого носителя).

Пример 9. Эффективность некоторых соединений согласно настоящему изобретению в отношении снижения массы тела

1. Цель эксперимента

Данный эксперимент был направлен на проверку регуляторного эффекта пронумерованных соединений на массу тела мышей с диет-индуцированным ожирением после подкожного введения.

2. Методика эксперимента

Были протестированы самцы мышей C57BL/6 с ожирением, индуцированным рационом с высоким содержанием жиров (весом 35-55 г, в возрасте от 10 до 12 недель, приобретенные у Shanghai Jiesijie Laboratory Animal Co., Ltd.). Мышам C57BL/6 с диет-индуцированным ожирением подкожно вводили соединение LY3298176 (10 нмоль/кг массы тела), соединение 7# (10 нмоль/кг массы тела) и соединение 18# (три дозы 3 нмоль/кг, 10 нмоль/кг и 100 нмоль/кг массы тела, вводимые один раз в 3 дня). В соответствии со схемой эксперимента массу тела каждой мыши измеряли и регистрировали в день 0, день 3, день 6 и так далее до дня 27, рассчитывали среднюю массу тела каждой группы мышей и строили графики изменения массы тела, принимая массу тела в первый день в качестве стандарта. В конце жир и другие внутренние органы каждой части мышей извлекали и взвешивали, и рассчитывали отношение внутренних органов/головного мозга к жиру в каждой части каждой мыши. Влияние препарата на жир определяли путем сравнения изменения отношения внутренних органов/головного мозга к жиру разных частей каждой группы мышей.

3. Результаты эксперимента

Конкретные данные, полученные с помощью описанных выше методик эксперимента, приведены в таблицах 12-14 ниже и на фиг. 1.

Таблица 12. Действие соединений, снижающее массу тела у мышей с диет-индуцированным ожирением

	Дни	Тестируемое соединение (доза)	
		Плацебо (-)	7# (10 нмоль/кг)
	День 1	0	0
	День 4	-0,9±1,6	-11,0±1,0
	День 7	-2,6±1,5	-17,6±2,6

Изменение массы тела (%, среднее \pm CO)	День 10	-3,0 \pm 2,4	-22,6 \pm 5,9
	День 13	-3,5 \pm 3,7	-22,3 \pm 6,3
	День 16	-2,7 \pm 4,8	-22,7 \pm 6,9
	День 19	-2,8 \pm 6,7	-25,9 \pm 6,2
	День 22	-2,5 \pm 8,4	-23,9 \pm 5,6
	День 25	-1,4 \pm 8,9	-23,9 \pm 5,6
	День 28	-2,1 \pm 9,6	-25,5 \pm 5,3

4. Вывод по результатам эксперимента

В этом эксперименте в дозах 3 нмоль/кг, 10 нмоль/кг и 100 нмоль/кг соединения 7# и 18# согласно настоящему изобретению демонстрируют значительное действие, снижающее массу тела у мышей с ожирением, индуцированным рационом с высоким содержанием жиров, и демонстрируют значительную зависимость от дозы. Масса тела мышей тестируемой группы, получавшей дозу 10 нмоль/кг соединения 18#, была снижена более чем на 20,0% на 27 день, напротив, масса тела мышей в той же дозовой тестируемой группе контрольного соединения LY3298176 снижена на приблизительно 13,4%. Кроме того, содержание жира в каждой части (за исключением лопаточного жира) мышей во всех группах тестируемых доз соединения 18# было значительно снижено по сравнению с таковым в группе плацебо (т. е. холостой носитель).

Таблица 13. Влияние соединений на скорость изменения массы тела у мышей с диет-индуцированным ожирением (% $X \pm s$, $n = 7/8$)

Группа	Перед введением	Дни после введения														
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Нормальный контроль	0	0.7±	2.9±1.	0.7±2	-0.3±1.	1.2±2.3	1.1±1.5	1.2±2.5	-0.1±2.	-0.3±2.	0±2	-0.2±1.8	0.5±1.9	2.2±1.6		
	3.1				8				4	7						
Модельный контроль	0	0.7±	1±0.4	0.9±0.9	1.4±1	1.6±0.9	2.5±1.8	1.8±1.3	1.7±0.7	2.3±1	3.2±1.8	2.7±1.8	3.1±1.2	3.3±1		
	0.4															
LY3298																
176 (10 нмоль/кг)	0	-4.2 ±1	-4.4±1.	-7.8±1.	-8.7±2.	-7.6±2.	-10.4±2	-10.7±3	-9.6±3.	-12.3±3	-12.4±3.	-11.1±4	-13.5±4.	-13.1±5.		
	8		2	6**	1**	8**	.6***	.2***	4***	.6***	9***	***	7***	3***		
18#																
(3 нмоль/кг)	0	-5±0	-5.8±1.	-9.1±2.	-10.3±3	-10±4.4	-13±5.3	-13.9±6	-13.9±7	-16.6±7	-16.4±8.	-15.7±8.	-18.2±8.	-17.1±7.		
	.6		9	1**	.2***	***	***	.1***	.4***	.8***	2***	6***	2***	2***		
18#																
(10 нмоль/кг)	0	-6.2 ±1.1	-9.4±1.	-12.7±2	-14.5±3	-15±5.3	-18.3±6	-20.1±8	-20.3±9	-23.4±9	-23.9±1	-23.5±1	-26.4±1	-25.1±1		
	9**		6***	4***	.3***	***	.3***	***	.3***	.8***	0.7***	1.4***	1.8***	2.1***		
18#																
(100 нмоль/кг)	0	-6.3 ±0.5	-10.9±0	-13.2±	-19.2±1	-21.8±2	-24.7±3	-27.6±3	-29.6±4	-31.6±5	-33.7±6.	-34.4±7.	-35.6±6.	-36.7±5.		
	8***		1***	.9***	.3***	.3***	.3***	.7***	.7***	.3***	3***	1***	2***	7***		

, $P < 0,01$; *, $P < 0,001$, по сравнению с модельной контрольной группой

Таблица 13 (продолжение)

Группа	Дни после введения													
	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28
Нормальный контроль	2.6±2	1.7±1.6	1.2±1.7	1.8±1.1	1.1±0.9	2±2.1	2.9±1.2	2.3±1.7	2.9±1.9	2.8±1.3	3.2±2.1	3.7±1.6	4.3±2.1	5.1±1.9
Модельный контроль	3.6±1	3.5±1.4	4.1±1.4	2.8±1.6	3.2±2	3.2±2.6	3.7±2.6	4±2.5	4.3±2.7	5±2.9	5.2±2.7	5.2±2.9	5.9±3.7	6.6±3.3
LY329														
8176														
(10 нмоль/кг)	-11.3±5.5***	-14.3±6***	-14.2±6.6***	-12.8±6.6***	-16.3±6.2***	-15.7±6.6***	-13.8±6.6***	-16.1±6.8***	-15.6±7.1***	-14.1±7.1***	-16.9±7.2***	-16±7.7***	-13.4±7.8***	-15.8±7.6***
18# (3 нмоль/кг)	-15.7±7.4***	-18.6±7***	-18.3±7***	-17.9±7.1***	-20.5±7.5***	-19.8±7.4***	-17.8±7.3***	-19.3±8.2***	-19.1±7.6***	-17.3±7.4***	-19.9±7.6***	-18.8±8***	-16.1±7.6***	-19.2±8***
18# (10 нмоль/кг)	-23.4±9***	-26.6±9.7***	-25.7±8.7***	-24.6±8.2***	-27.5±7.6***	-27.3±7.2***	-24.8±6.7***	-28.1±7.4***	-27.1±7***	-26±7.1***	-28.5±8.8***	-27.8±8.3***	-24.8±8.4***	-28.2±8.3***
18# (100 нмоль/кг)	-35.7±5.6***	-38.2±6.2***	-37.8±6.5***	-37.8±6.5***	-38.5±6.5***	-39±6.5***	-37.4±6.6***	-38.3±6.2***	-38±5.9***	-36.8±5.8***	-38.6±5.7***	-38.9±6***	-36.8±5.3***	-37.9±5.7***

** , P < 0,01; *** , P < 0,001, по сравнению с модельной контрольной группой

Таблица 14. Влияние соединений на изменение отношения внутренних органов/головного мозга к массе жира в разных частях мышей с диет-индуцированным ожирением (% $\bar{X} \pm s$, n = 7-8)

Группа	Лопаточный жир	Подкожный жир	Паховый жир	Брыжеечный жир	Периренальный жир	Эпидидимальный жир
Модельный контроль	51.6±31.8	320.2±54.2	510.2±104.3	220.3±68.6	306.2±67.7	384.1±61.1
LY3298176 (10 нмоль/кг)	52±26	144.6±75.8***	289.1±169.2**	105.3±93**	163.2±57.9***	316.9±75.6
18# (3 нмоль/кг)	48±15.3	129±62***	281.5±140.1**	84.8±41.3***	159.2±87.6***	254.6±113.4*
18# (10 нмоль/кг)	42.5±17	122±73.2***	194.4±86.2***	53.3±14.6***	109.4±57.1***	211.7±80.7**
18# (100 нмоль/кг)	32.3±7	57.1±21.2***	92±34.5***	27.4±11.1***	46.6±18.2***	102.9±32.2***

*, P < 0,05; **, P < 0,01; ***, P < 0,001, по сравнению с модельной контрольной группой

Пример 10. Влияние соединений согласно настоящему изобретению на потребление пищи у мышей

Потребление пищи мышей в каждой группе измеряли ежедневно во время эксперимента. Результаты приведены в таблице 1 и на фиг. 2

Среднесуточное потребление пищи мышами DIO (с диет-индуцированным ожирением) в модельной контрольной группе составляло 2,5 г на протяжении всего эксперимента. После подкожной инъекции соединения 18# или соединения LY3298176 в различных дозах потребление пищи мышами во всех группах было снижено в разной степени.

В первые сутки после введения потребление пищи мышами в каждой группе введения было значительно снижено, при этом потребление пищи мышами в дозовых группах 3 нмоль/кг, 10 нмоль/кг и 100 нмоль/кг соединения 18# составляло 0,6 г, 0,3 г и 0,2 г, соответственно, что значительно отличалось от такового в модельной контрольной группе (2,5 г) и демонстрировало лучшую зависимость от дозы.

Совокупное потребление пищи мышами в модельной контрольной группе в течение 5 дней после введения составляло 12,8 г, в то время как совокупное потребление пищи мышами в дозовых группах 3 нмоль/кг, 10 нмоль/кг и 100 нмоль/кг соединения 18# в течение 5 дней после введения составляло 7,2 г, 3,9 г и 1,8 г, соответственно, что было значительно ниже, чем в модельной контрольной группе, и демонстрировало лучшую зависимость от дозы.

Суточное потребление пищи мышами в каждой группе введения начало уменьшаться в 1 день и восстановилось на 2 и 3 день после каждого введения. Суточное потребление пищи продемонстрировало общую тенденцию к восстановлению во время введения. Через 28 дней после введения совокупное потребление пищи в трех дозовых группах соединения 18# составляло 58,2 г, 46,8 г и 36,7 г, соответственно, что было значительно ниже, чем в модельной контрольной группе (70,8 г), и демонстрировало лучшую зависимость от дозы. Таким образом, соединение 18# может значительно снижать потребление пищи мышами DIO.

Таблица 15. Влияние долгосрочного введения соединения 18# на суточное потребление пищи мышами DIO (г, X±s, n = 7-8)

Группа	Дни после введения													
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Нормальный контроль	1±1.4	4±0.5	4.1±0.5	3.6±0.8	3.2±1	3.3±0.5	3.4±0.4	3.3±0.4	3.3±0.7	2.8±0.4	2.9±1.1	2.2±1.1	2.8±0.3	3.4±0.5
Модельный контроль	2.5±0.4	2.4±0.4	2.6±0.3	2.3±0.3	2.8±0.3	2.4±0.5	2.4±0.3	2.3±0.3	2.5±0.4	2.5±0.4	2.8±0.4	2.4±0.3	2.6±0.5	2.5±0.3
LY3298176(10 нмоль/кг)	0.8±0.2***	1.2±0.2***	2.3±0.3	0.9±0.3***	1.8±0.3***	2.3±0.3	1.2±0.3***	1.7±0.4	2.7±0.3	1.2±0.4***	2±0.3*	2.8±0.4	1.4±0.6***	2±0.5
Соединение 18# (3 нмоль/кг)	0.6±0.1***	1.3±0.5***	2±0.5	1.1±0.4***	2.2±1.3	2.1±1.1	1.1±0.6***	1.6±0.6*	2.5±0.9	1.3±0.6***	2±0.3*	3±1	1.8±1*	2.3±1
Соединение 18# (10 нмоль/кг)	0.3±0.2***	0.6±0.6***	1.1±0.7***	0.7±0.5***	1.1±0.5***	1.5±0.8**	0.8±0.4***	1.1±0.7***	2±0.6	0.9±0.4***	1.8±0.8**	2.4±0.6	0.9±0.4***	1.7±0.7*
Соединение 18# (100 нмоль/кг)	0.2±0.1***	0.1±0.1***	0.4±0.1***	0.4±0.2***	0.6±0.2***	0.7±0.3***	0.5±0.2***	0.7±0.5***	0.9±0.6***	0.9±0.6***	1.1±0.5***	2±1	1.3±0.7***	1.7±0.5*

* , P < 0,05; ** , P < 0,01; *** , P < 0,001, по сравнению с модельной контрольной группой

Таблица 15 (продолжение)

Группа	Дни после введения																											
	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28														
Нормальный контроль	3.7±0.7	3±0.4	2.6±0.2	3.3±0.3	3.1±0.3	3.3±0.5	3.3±0.2	2.7±0.4	3.3±0.3	3.1±0.3	3.3±0.8	2.8±0.8	4.1±0.3	2.5±0.3														
	2.7±0.3	2.1±0.2	2.7±0.2	2.3±0.4	2.5±0.5	2.4±0.3	2.9±0.3	2.3±0.2	2.9±0.4	2.6±0.5	2.6±0.3	2.4±0.4	3±0.5	2.1±0.3														
Модельный контроль LY3298176(10п нмоль/кг)	3±0.6	1.2±0.4**	2.1±0.4	2.9±1.1	1.2±0.8***	2±0.4	3.3±0.3	1.4±0.4**	2.5±0.5	2.8±0.4	1.8±0.6	2.4±0.4	3.9±0.5	1.4±0.3														
	2.9±0.7	1.5±0.7	2.2±0.5	2.7±0.3	1.7±0.5*	2.2±0.5	3.4±0.4	1.8±0.5	2.6±0.4	2.9±0.5	1.8±0.8*	2.5±0.9	3.9±0.5**	1.3±0.6*														
Соединение 18# (3 нмоль/кг)	3±0.9	1.2±1*	2.1±0.9	2.9±0.8	1.3±0.5***	2±0.5	3.2±0.6	1±0.4**	2.3±0.5	2.5±0.6	1.6±1.2**	2.2±0.8	3.6±1	1±0.5***														
	2±0.4	1±0.3*	1.6±0.3**	2±0.4	1.4±0.2**	1.8±0.3	2.4±0.3	1.4±0.5**	2.1±0.5*	2.3±0.4	1.5±0.3***	1.6±0.4*	2.8±0.3	1.2±0.4*														

*, P < 0,05; **, P < 0,01; ***, P < 0,001, по сравнению с модельной контрольной группой

Пример 11. Эффект улучшения, оказываемый некоторыми соединениями согласно настоящему изобретению на уровень метаболизма глюкозы у мышей db/db

1. Цель эксперимента

Данный эксперимент был направлен на проверку эффекта улучшения, оказываемого

пронумерованными соединениями на уровень метаболизма глюкозы у мышей db/db после подкожного введения.

2. Методика эксперимента

Мышам C57BL/KsJ-db/db по подкожно вводили холостой носитель (20 мМ цитрата натрия + 0,05% Tween-80, pH 7,5), соединение LY3298176 (100 нмоль/кг массы тела) и соединение 18# (три дозы 10 нмоль/кг массы тела, 30 нмоль/кг массы тела и 100 нмоль/кг массы тела) в день 0, 3, 7, 10, 14, 17, 21, 24 и 27. Каждая группа введения включала 10 мышей db/db. Согласно дизайну эксперимента, собирали кровь из хвостовой вены путем прокалывания иглой в день 0, 7, 14, 21 и 28 и определяли уровни глюкозы в крови натошак с помощью глюкометра и глюкозных тест-полосок, и мыши голодали за 6 часов до взятия крови в каждой временной точке. Кровь из хвостовой вены собирали путем прокалывания иглой в день 3, 10, 17, 24 и 27 и случайным образом определяли уровни глюкозы в крови с помощью глюкометра. Наконец, в конце эксперимента на 28 день всех животные в группах введения подвергали ингаляционной анестезии 2-5% изофлураном, и собирали 100 мкл цельной крови через глазницу каждой мыши с использованием пробирки с антикоагулянтом ЭДТА-К2, и использовали для определения гликированного гемоглобина.

3. Результаты эксперимента

Конкретные данные, полученные с помощью описанных выше методик эксперимента, приведены в таблицах 16-18 ниже.

Таблица 16. Влияние долгосрочного введения соединения 18# на уровень глюкозы в крови натошак у мышей db/db

Группа введения	Концентрация глюкозы в крови натошак (ммоль/л, среднее \pm CO)				
	День 0	День 7	14 день	День 21	День 28
Холостой контроль	14,25 \pm 1,27	17,92 \pm 1,33	22,89 \pm 1,88	24,95 \pm 1,52	25,94 \pm 1,32
LY3298176 (100 нмоль/кг)	14,35 \pm 1,41	7,44 \pm 0,76	7,56 \pm 0,88	9,42 \pm 1,67	9,89 \pm 1,28***
#18 (10 нмоль/кг)	14,77 \pm 1,30	6,05 \pm 0,42	6,30 \pm 0,46	7,89 \pm 0,81	9,41 \pm 0,97***
#18 (30 нмоль/кг)	14,13 \pm 1,32	6,21 \pm 0,26	6,40 \pm 0,57	7,03 \pm 0,52	9,68 \pm 1,03***
#18 (100 нмоль/кг)	14,67 \pm 1,46	5,85 \pm 0,33	6,25 \pm 0,32	6,13 \pm 0,19	7,89 \pm 0,41***

***: $p < 0,001$ по сравнению с группой, получавшей холостой контроль.

Таблица 17. Влияние долгосрочного введения соединения 18# на случайный уровень глюкозы в крови у мышей db/db

Группа введения	Концентрация случайно измеренной глюкозы в крови (ммоль/л, среднее \pm CO)			
	День 0	День 10	День 17	День 24
Холостой контроль	23,06 \pm 0,97	26,40 \pm 0,90	27,64 \pm 1,15	30,22 \pm 0,74
LY3298176 (100 нмоль/кг)	18,60 \pm 1,52	17,10 \pm 1,96	17,98 \pm 1,37	20,70 \pm 1,27***
#18 (10 нмоль/кг)	20,42 \pm 1,56	20,66 \pm 1,48	18,91 \pm 1,33	21,17 \pm 2,07**
#18 (30 нмоль/кг)	16,73 \pm 1,59	15,88 \pm 1,86	17,30 \pm 1,17	17,43 \pm 1,92***
#18 (100 нмоль/кг)	9,11 \pm 1,25	12,34 \pm 1,12	11,89 \pm 1,15	11,51 \pm 0,95***

** : $p < 0,01$ по сравнению с группой, получавшей холостой контроль; *** : $p < 0,001$ по сравнению с группой, получавшей холостой контроль.

Таблица 18. Влияние долгосрочного введения соединения 18# на уровень гликированного гемоглобина в крови у мышей db/db

Группа введения	Гликированный гемоглобин (% , среднее \pm CO)
Холостой контроль	6,54 \pm 0,17
LY3298176 (100 нмоль/кг)	4,58 \pm 0,23**
#18 (10 нмоль/кг)	4,71 \pm 0,23***
#18 (30 нмоль/кг)	4,53 \pm 0,17***
#18 (100 нмоль/кг)	3,78 \pm 0,13***

** : $p < 0,01$ по сравнению с группой, получавшей холостой контроль; *** : $p < 0,001$ по сравнению с группой, получавшей холостой контроль.

4. Вывод по результатам эксперимента

В этом эксперименте в дозах 10 нмоль/кг, 30 нмоль/кг и 100 нмоль/кг соединение 18# согласно настоящему изобретению демонстрирует превосходное действие улучшения уровня метаболизма глюкозы у мышей db/db и демонстрируют значительную зависимость от дозы. Уровень гликированного гемоглобина в дозовой группе 100 нмоль/кг соединения 18# составлял 3,78% в конце эксперимента, в то время как уровень гликированного гемоглобина в той же дозовой группе контрольного соединения LY3298176 составлял

4,58%. Таким образом, эффективность соединения 18# в улучшении уровня метаболизма глюкозы у мышей db/db значительно лучше, чем у контрольного соединения LY3298176 в той же дозе.

Все аналоги GLP-1, используемые в примерах 12-16, представляют собой соединение 18#.

Пример 12. Способ получения фармацевтической композиции

Фармацевтическая композиция согласно настоящему изобретению может быть получена в соответствии со следующим способом:

Стадия 1: получение

1. Получение раствора 1: в ёмкость добавляли соответствующее количество воды для инъекций и растворяли гидрофосфат натрия в количестве, указанном в рецептуре, и добавляли или добавляли в последнюю очередь аналог GLP-1 в количестве, указанном в рецептуре.

2. Получение раствора 2: пропиленгликоль и фенол, каждый в количестве, указанном в рецептуре, взвешивали по отдельности и добавляли к воде для инъекций в другой ёмкости, и смесь перемешивали до растворения.

3. К раствору 1 добавляли раствор 2 и перемешивали смесь для хорошего смешивания. рН жидкости препарата доводили до 7,4-7,8 с помощью раствора соляной кислоты или раствора гидроксида натрия, дополнительно добавляли воду для инъекций до достижения количества, указанного в рецептуре, и полученную смесь перемешивали.

Стадия 2: стерилизация и фильтрация

После получения жидкость препарата фильтровали через стерилизующий фильтрующий элемент (размер пор: 0,22 мкм).

Стерилизованную и отфильтрованную жидкость препарата, полученную на стадии 2, разливали по флаконам при 1,57-1,67 мл/флакон (целевое количество наполнения составляло 1,62 мл) с последующей укупоркой и визуальным осмотром.

Пример 13. Скрининг рН состава

Получали состав, приведенный в таблице 19, и исследовали стабильность состава при рН 6,5, 7,0, 7,5, 8,0, 8,5 и 9,0 с использованием внешнего вида, сопутствующих примесей и олигопептида в качестве показателей, и результаты приведены в таблице 20.

Таблица 19. Иллюстративный состав в стандартной дозе

Компонент	Количество	Соотношение (мас./об.%)
-----------	------------	-------------------------

Аналог GLP-1	5,00 мг	0,500
Гидрофосфат натрия	0,71 мг	0,071
Пропиленгликоль (степень чистоты для инъекций)	14,0 мг	1,400
Фенол	5,50 мг	0,550
Соляная кислота	в достаточном количестве	в достаточном количестве
Гидроксид натрия	в достаточном количестве	в достаточном количестве
Вода для инъекций	Добавление для доведения объема до 1 мл	н/д

Таблица 20. Результаты скрининга pH раствора

pH	Временная точка	Внешний вид	Щелочность	Сопутствующие примеси		Олигопептид (%)
				Максимальная одиночная примесь (%)	Общее количество примесей (%)	
pH 6,5	0 дней	Бесцветная прозрачная жидкость	6,6	0,52	1,6	0,06
	25 °C - 6 дней	Белая мутная жидкость	6,7	0,69	1,9	0,07
	25 °C - 10 дней	Белая мутная жидкость	6,8	0,73	2,0	0,08
	40 °C - 6	Белая	6,8	0,89	2,6	0,09

pH	Временная точка	Внешний вид	Щелочность	Сопутствующие примеси		Олигопептид (%)
				Максимальная одиночная примесь (%)	Общее количество во примесей (%)	
	дней	мутная жидкость				
	40 °С - 10 дней	Белая мутная жидкость	6,8	1,04	2,7	0,15
	0 дней	Бесцветная прозрачная жидкость	7,0	0,52	1,6	0,06
pH 7,0	25 °С - 6 дней	Бесцветная прозрачная жидкость	7,0	0,70	1,9	0,07
	25 °С - 10 дней	Бесцветная прозрачная жидкость	7,0	0,74	2,0	0,07
	40 °С - 6 дней	Бесцветная прозрачная жидкость	7,0	0,95	2,3	0,09
	40 °С - 10 дней	Бесцветная прозрачная жидкость	7,0	1,23	2,6	0,14
	0 дней	Бесцветная прозрачная жидкость	7,5	0,53	1,6	0,06
pH 7,5	25 °С - 6 дней	Бесцветная прозрачная жидкость	7,5	0,71	2,0	0,08

pH	Временная точка	Внешний вид	Щелочность	Сопутствующие примеси		Олигопептид (%)
				Максимальная одиночная примесь (%)	Общее количество во примесей (%)	
pH 8,0		жидкость				
	25 °С - 10 дней	Бесцветная прозрачная жидкость	7,5	0,75	2,0	0,09
	40 °С - 6 дней	Бесцветная прозрачная жидкость	7,5	1,0	2,7	0,15
	40 °С - 10 дней	Бесцветная прозрачная жидкость	7,5	1,3	3,1	0,27
	0 дней	Бесцветная прозрачная жидкость	8,0	0,55	1,8	0,07
pH 8,0	25 °С - 6 дней	Бесцветная прозрачная жидкость	8,0	0,67	1,9	0,13
	25 °С - 10 дней	Бесцветная прозрачная жидкость	8,0	0,75	2,1	0,16
	40 °С - 6 дней	Бесцветная прозрачная жидкость	8,0	0,94	3,0	0,30
	40 °С - 10 дней	Бесцветная прозрачная жидкость	8,0	1,2	5,0	0,60

pH	Временная точка	Внешний вид	Щелочность	Сопутствующие примеси		Олигопептид (%)
				Максимальная одиночная примесь (%)	Общее количество во примесей (%)	
pH 8,5	0 дней	Бесцветная прозрачная жидкость	8,5	0,52	1,6	0,07
	25 °С - 6 дней	Бесцветная прозрачная жидкость	8,5	0,69	2,2	0,24
	25 °С - 10 дней	Бесцветная прозрачная жидкость	8,5	0,73	2,6	0,39
	40 °С - 6 дней	Бесцветная прозрачная жидкость	8,5	0,83	3,6	0,73
	40 °С - 10 дней	Бесцветная прозрачная жидкость	8,5	1,2	8,2	1,4
pH 9,0	0 дней	Бесцветная прозрачная жидкость	9,0	0,52	1,6	0,07
	25 °С - 6 дней	Бесцветная прозрачная жидкость	9,0	0,64	2,8	0,59
	25 °С - 10 дней	Бесцветная прозрачная жидкость	9,0	0,76	3,9	0,99
	40 °С - 6	Бесцветная	9,0	2,28	8,9	1,8

pH	Временная точка	Внешний вид	Щелочность	Сопутствующие примеси		Олигопептид (%)
				Максимальная одиночная примесь (%)	Общее количество во примесей (%)	
	дней	прозрачная жидкость				
	40 °С - 10 дней	Бесцветная прозрачная жидкость	9,0	5,06	17,3	3,2

Результаты испытания стабильности показывают, что для промежуточного раствора состав при pH 6,5 был мутным, составы при pH 8,5 или более демонстрировали относительно большое увеличение сопутствующих примесей, а составы при pH 7,0, pH 7,5 и pH 8,0 демонстрировали относительно хорошую стабильность. Исходя из всестороннего рассмотрения, приемлемый диапазон значения pH промежуточного раствора был определен как равный 7,0-8,0.

Пример 14. Скрининг концентрации буфера

Стабильность составов изучали в случае, если концентрации гидрофосфата натрия составляли 0 мМ, 5 мМ, 10 мМ и 40 мМ, с использованием внешнего вида, сопутствующих примесей и олигопептида в качестве показателей, и результаты приведены в таблице 21.

Таблица 21. Результаты скрининга концентрации буфера

Концентрация гидрофосфата натрия	Временная точка	Внешний вид	Щелочность	Сопутствующие примеси		Олигопептид (%)
				Максимальная одиночная примесь (%)	Общее количество примесей (%)	
0 мМ	0 дней	Бесцветная прозрачная жидкость	7,6	0,52	1,5	0,07
	25 °С - 6 дней	Бесцветная прозрачная жидкость	7,6	0,71	2,0	0,09
	25 °С - 10 дней	Бесцветная прозрачная жидкость	7,5	0,74	2,0	0,09
	40 °С - 6 дней	Бесцветная прозрачная жидкость	7,5	1,0	2,6	0,12
	40 °С - 10 дней	Бесцветная прозрачная жидкость	7,5	1,3	3,2	0,19
5 мМ	0 дней	Бесцветная прозрачная жидкость	7,5	0,53	1,6	0,06
	25 °С - 6 дней	Бесцветная прозрачная жидкость	7,5	0,71	2,0	0,08
	25 °С - 10 дней	Бесцветная прозрачная жидкость	7,5	0,75	2,0	0,09
	40 °С - 6 дней	Бесцветная прозрачная жидкость	7,5	1,0	2,7	0,15

Концентрация гидрофосфата натрия	Временная точка	Внешний вид	Щелочность	Сопутствующие примеси		Олигопептид (%)
				Максимальная одиночная примесь (%)	Общее количество примесей (%)	
	дней	прозрачная жидкость				
	40 °С - 10 дней	Бесцветная прозрачная жидкость	7,5	1,3	3,1	0,27
10 мМ	0 дней	Бесцветная прозрачная жидкость	7,6	0,53	1,6	0,07
	25 °С - 6 дней	Бесцветная прозрачная жидкость	7,6	0,73	2,2	0,09
	25 °С - 10 дней	Бесцветная прозрачная жидкость	7,6	0,75	2,0	0,11
	40 °С - 6 дней	Бесцветная прозрачная жидкость	7,6	1,0	2,8	0,18
	40 °С - 10 дней	Бесцветная прозрачная жидкость	7,5	1,3	3,4	0,27
40 мМ	0 дней	Бесцветная прозрачная жидкость	7,6	0,55	1,8	0,07
	25 °С - 6 дней	Бесцветная прозрачная жидкость	7,6	0,71	2,0	0,09

Концентрация гидрофосфата натрия	Временная точка	Внешний вид	Щелочность	Сопутствующие примеси		Олигопептид (%)
				Максимальная одиночная примесь (%)	Общее количество примесей (%)	
		жидкость				
	25 °С - 10 дней	Бесцветная прозрачная жидкость	7,6	0,75	2,1	0,13
	40 °С - 6 дней	Бесцветная прозрачная жидкость	7,6	0,99	2,9	0,23
	40 °С - 10 дней	Бесцветная прозрачная жидкость	7,6	1,3	3,8	0,35

Результаты эксперимента показывают, что содержание олигопептида возрастало немного быстрее в составе, содержащем гидрофосфат натрия, чем в составе без гидрофосфата натрия (0 мМ), при этом состав с 40 мМ, содержащий гидрофосфат натрия в относительно более высокой концентрации, продемонстрировал относительно большое увеличение содержания олигопептида, составы с 5 и 10 мМ продемонстрировали относительно небольшое увеличение содержания олигопептида, и олигопептид в каждом составе находился в установленных пределах.

Пример 15. Скрининг количества бактериостатического агента

Инъекционный препарат аналога GLP-1 может быть использован в форме однократной дозы или в форме многодозовой упаковки, и для обеспечения требования к стерильности при использовании необходимо добавлять бактериостатический агент, и бактериостатический агент используется в количестве, способном ингибировать рост микроорганизмов в инъекционном препарате. Был выбран фенол в концентрации 5,5 мг/мл; принимая эту концентрацию за 100%, готовили составы при относительных концентрациях 80%, 100% и 120% для исследования бактериостатического эффекта. Результаты приведены

в таблице 22.

Таблица 22. Результаты скрининга количества бактериостатического агента

Содержание фенола: 4,4 мг/мл		Уменьшенное значение lg ¹				
		6 ч	24 ч	7 д	14 д	28 д
Бактерии	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1,25	3,66	5,66	-	5,66
	<i>Staphylococcus aureus</i>	1,22	2,98	5,76	-	5,76
Грибы	<i>Candida albicans</i>	-	-	3,58	5,11	5,11
	<i>Aspergillus niger</i>	-	-	5,08	5,08	5,08
Содержание фенола: 5,5 мг/мл		Уменьшенное значение lg				
		6 ч	24 ч	7 д	14 д	28 д
Бактерии	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2,1	5,66	5,66	-	5,66
	<i>Staphylococcus aureus</i>	2,14	4,04	5,76	-	5,76
Грибы	<i>Candida albicans</i>	-	-	5,11	5,11	5,11
	<i>Aspergillus niger</i>	-	-	5,08	5,08	5,08
Содержание фенола: 6,6 мг/мл		Уменьшенное значение lg				
		6 ч	24 ч	7 д	14 д	28 д
Бактерии	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5,66	5,66	5,66	-	5,66
	<i>Staphylococcus aureus</i>	3,77	5,76	5,76	-	5,76
Грибы	<i>Candida albicans</i>	-	-	5,11	5,11	5,11
	<i>Aspergillus niger</i>	-	-	5,08	5,08	5,08

Примечание 1: разница между значением lg количества бактерий, измеренного в каждом интервале, и значением lg количества бактерий, инокулированных в 1 мл (г) испытуемого образца.

Результаты эксперимента показывают, что составы аналога GLP-1 проявляли бактериостатический эффект, когда содержание фенола составляло 4,40-6,60 мг/мл, и антибактериальный эффект был лучше, когда концентрация фенола составляла 5,50 мг/мл и 6,60 мг/мл.

Пример 16. Скрининг концентрации аналога GLP-1

Образцы, содержащие аналог GLP-1 в концентрациях 2 мг/мл, 4 мг/мл, 5 мг/мл, 6 мг/мл, 8 мг/мл и 10 мг/мл, получали отдельно с использованием пропиленгликоля в качестве

регулятора осмотического давления, и составы приведены в таблице 23.

Таблица 23. Результаты исследования стабильности при 25 °С

Концентрация аналога GLP-1	Временная точка		Внешний вид	Щелочность	Сопутствующие примеси (%)		Олигопептид (%)
					Максимальная одиночная примесь	Общее количество примесей	
2 мг/мл	Первоначальная		Бесцветная прозрачная жидкость	7,6	0,65	1,8	0,07
	25 °С	1М	Бесцветная прозрачная жидкость	/	0,86	2,1	0,20
		3М	Бесцветная прозрачная жидкость	7,5	1,4	3,8	0,48
		4М	Бесцветная прозрачная жидкость	7,5	1,7	4,4	0,65
4 мг/мл	Первоначальная		Бесцветная прозрачная жидкость	7,6	0,67	2,1	0,07
	25 °С	1М	Бесцветная прозрачная жидкость	7,5	0,87	2,1	0,14
		3М	Бесцветная прозрачная жидкость	7,5	1,4	3,9	0,27
		4М	Бесцветная прозрачная жидкость	7,5	1,7	4,1	0,39
5 мг/мл	Первоначальная		Бесцветная прозрачная жидкость	7,6	0,64	2,1	0,08
	25 °С	3М	Бесцветная прозрачная жидкость	7,6	1,4	4,1	0,21

Концентрация аналога GLP-1	Временная точка		Внешний вид	Щелочность	Сопутствующие примеси (%)		Олигопептид (%)
					Максимальная одиночная примесь	Общее количество примесей	
			жидкость				
6 мг/мл	Первоначальная		Бесцветная прозрачная жидкость	7,5	0,64	1,7	0,07
	25 °С	1М	Бесцветная прозрачная жидкость	7,5	0,78	1,8	0,12
		3М	Бесцветная прозрачная жидкость	7,5	1,4	3,7	0,23
		4М	Бесцветная прозрачная жидкость	7,5	1,7	4,2	0,28
8 мг/мл	Первоначальная		Бесцветная прозрачная жидкость	7,6	0,63	0,63	1,8
	25 °С	1М	Бесцветная прозрачная жидкость	7,6	0,86	2,2	0,12
		3М	Бесцветная прозрачная жидкость	7,6	1,4	3,7	0,22
		4М	Бесцветная прозрачная жидкость	7,6	1,7	4,3	0,28
10 мг/мл	Первоначальная		Бесцветная прозрачная жидкость	7,6	0,63	0,63	1,8
	25 °С	1М	Бесцветная прозрачная жидкость	7,6	0,85	2,1	0,13
		3М	Бесцветная	7,6	1,4	3,7	0,22

Концентрация аналога GLP-1	Временная точка	Внешний вид	Щелочность	Сопутствующие примеси (%)		Олигопептид (%)
				Максимальная одиночная примесь	Общее количество примесей	
		прозрачная жидкость				
	4М	Бесцветная прозрачная жидкость	7,6	1,7	4,3	0,28

Как видно из данных в приведенной выше таблице:

(1) образцы при всех концентрациях сначала представляли собой бесцветную прозрачную жидкость, что показало, что аналог GLP-1 был хорошо растворен, и образцы при всех концентрациях не демонстрировали существенной разницы в pH, сопутствующих примесях и олигопептиде;

(2) при хранении образцов в течение 3 месяцев при 25 °C все образцы при всех концентрациях представляли собой бесцветную прозрачную жидкость и не демонстрировали существенной разницы в тенденции увеличения значения pH и сопутствующих примесей; чем выше концентрация образца, тем ниже содержание олигопептида; все группы концентрации не демонстрировали существенной разницы в увеличении примеси, и не наблюдалось существенной разницы при концентрациях 5-10 мг/мл в отношении увеличения примеси и олигопептида;

(3) кроме того, было обнаружено, что образцы при всех концентрациях не демонстрировали существенной разницы в тенденции увеличения значения pH и сопутствующих примесей после хранения при 40 °C в течение 10 дней и 30 дней.

Использовали глицерин и маннит вместо пропиленгликоля в качестве регулятора осмотического давления для получения составов аналога GLP-1, и иллюстративный состав в стандартной дозе приведен в таблице 24:

Таблица 24. Иллюстративный состав в стандартной дозе

Концентрация аналога GLP-1	6 мг/мл		10 мг/мл				
Аналог GLP-1	6,00 мг	6,00 мг	10,0 мг				
Гидрофосфат натрия	0,71 мг						
Глицерин	20 мг	/	20 мг	/	/	/	/
Маннит	/	45 мг	/	45 мг	36,0 мг	31,5 мг	27,0 мг
Фенол	5,50 мг						
Гидроксид натрия	в достаточном количестве						
Соляная кислота	в достаточном количестве						
Вода для инъекций (добавляется для доведения объема до)	1 мл						

Исследовали стабильность образцов при 40 °С, и результаты в отношении стабильности приведены в таблице 25.

Таблица 25. Результаты в отношении стабильности при 40 °С

	Регулятор	Временная точка	Внешний вид	Щелочность	Сопутствующие примеси	Олигопептид, %	Содержание, %	Регулятор (мОсм)
--	-----------	-----------------	-------------	------------	-----------------------	----------------	---------------	------------------

			30 дней	Светло- желтая прозрачная жидкость	7,6	2,5	9,7	0,60	93,6
--	--	--	------------	---	-----	-----	-----	------	------

Как видно из данных в приведенной выше таблице:

(1) все составы сначала представляли собой бесцветную прозрачную жидкость, и аналог GLP-1 был хорошо растворен; все образцы составов не демонстрировали существенной разницы в pH, сопутствующих примесях, олигопептиде и содержании;

(2) все образцы состава оставались в виде прозрачной жидкости после хранения при 40 °C в течение 30 дней, и не наблюдалось гранулированных или хлопьевидных объектов, при этом два состава с использованием маннита в качестве регулятора осмотического давления и один состав с использованием глицерина в качестве регулятора осмотического давления были светло-желтыми, но изменение цвета не было очевидным; по сравнению с составами с использованием маннита в качестве регулятора осмотического давления, составы с использованием глицерина в качестве регулятора осмотического давления демонстрировали более заметное увеличение сопутствующих примесей и олигопептида и более заметное снижение содержания.

Когда количество маннита составляло 4,5 мас./об.%, осмотическое давление образца составляло не менее 350 мОсм, что было выше диапазона осмотического давления, подходящего для подкожной инъекции (300±30 мОсм). Таким образом, количество маннита было уменьшено для получения образца, и иллюстративный состав в стандартной дозе приведен в таблице 26. Исследовали стабильность образца при 40 °C, и результаты в отношении стабильности приведены в таблице 27.

Таблица 26. Иллюстративный состав в стандартной дозе

Концентрация аналога GLP-1	10 мг/мл		
	Аналог GLP-1	10,0 мг	10,0 мг
Гидрофосфат натрия	0,71 мг	0,71 мг	0,71 мг
Маннит	36,0 мг	31,5 мг	27,0 мг
Фенол	5,50 мг	5,50 мг	5,50 мг
Гидроксид	в	в	в

Концентрация аналога GLP-1	10 мг/мл		
натрия	достаточном количестве	достаточном количестве	достаточном количестве
Соляная кислота	в достаточном количестве	в достаточном количестве	в достаточном количестве
Вода для инъекций (добавляется для доведения объема до)	1 мл	1 мл	1 мл

Таблица 27. Результаты в отношении стабильности при 40 °С

Аналог GLP-1 Концентрация	Регулятор осмотического давления	Временная точка	Внешний вид	Щелочность	Сопутствующие примеси		Олигопептид, %	Содержание, %	Регулятор (мОсм)	
					Максимальная одиночная примесь, %	Общее количество примесей, %				
10 мг/мл	Маннит (3,60 мас./об.%)	0 дней		Бесцветная прозрачная жидкость	7,5	0,64	1,8	0,07	100,4	309
		40 °С	10 дней	Бесцветная прозрачная жидкость	7,6	1,3	4,0	0,22	97,1	

			30 дней	Светло - желтая прозра чная жидкос ть	7,6	2,6	7,4	0,72	89,0	
			0 дней	Бесце тная прозра чная жидкос ть	7,7	0,66	1,9	0,07	100,8	
	Маннит (3,15 мас./об.%)	40 °С	10 дней	Бесце тная прозра чная жидкос ть	7,7	1,4	4,1	0,21	98,2	286
			30 дней	Светло - желтая прозра чная жидкос ть	7,6	2,6	7,5	0,63	92,5	
	Маннит (2,70 мас./об.%)	Не может быть полностью растворен								

Как видно из данных в приведенной выше таблице:

(1) в составах с использованием маннита в качестве регулятора осмотического давления аналог GLP-1 в концентрации 10 мг/мл мог быть полностью растворен, когда маннит был либо в количестве 3,15 мас./об.%, либо 3,6 мас./об.%, и аналог GLP-1 был хорошо растворен; все образцы составов не демонстрировали существенной разницы в pH, сопутствующих примесях, олигопептиде и содержании;

(2) все образцы состава, содержащие маннит в количестве 3,15 мас./об.% и 3,6 мас./об.%, представляли собой светло-желтую прозрачную жидкость после хранения при 40 °С в течение 30 дней, но это изменение цвета было очень незначительным, и никаких видимых посторонних веществ не наблюдалось; состав, содержащий маннит в количестве

3,15% мас./об.%, демонстрировал более медленное увеличение олигопептида и снижение содержания.

Хотя вышеупомянутое изобретение было подробно описано посредством чертежей и примеров в целях ясности понимания, описание и примеры не следует рассматривать как ограничивающие объем настоящего изобретения. Содержание всех патентов и научных документов, цитируемых в настоящем документе, явным образом включено посредством ссылки в полном объеме.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Фармацевтическая композиция, содержащая:

(a) аналог GLP-1 общей формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль,
 $R_1-X_1-X_2-Glu-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-X_{10}-Ser-X_{12}-X_{13}-X_{14}-X_{15}-X_{16}-X_{17}-X_{18}-X_{19}-X_{20}-$
 $Glu-Phe-X_{23}-X_{24}-Trp-Leu-X_{27}-X_{28}-X_{29}-X_{30}-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser-R_2$
 (I),

где:

R_1 представляет собой H, алкил, ацетил, формил, бензоил, трифторацетил, pGlu или отсутствует;

R_2 представляет собой $-NH_2$, $-OH$ или отсутствует;

$X_1, X_2, X_{10}, X_{12}, X_{13}, X_{14}, X_{15}, X_{16}, X_{17}, X_{18}, X_{19}, X_{20}, X_{23}, X_{24}, X_{27}, X_{28}, X_{29}$ и X_{30} независимо выбраны из группы, состоящей из любых природных аминокислотных остатков и любых неприродных аминокислотных остатков; и

(b) буфер, где буфер выбран из любого из ацетатного буфера, буфера на основе соли гистидина, фосфатного буфера, сукцинатного буфера и буфера на основе лимонной кислоты, предпочтительно фосфатного буфера и более предпочтительно гидрофосфата натрия.

2. Фармацевтическая композиция по п. 1, где

X_1 представляет собой Trp или His; X_2 представляет собой Aib или D-Ala; X_{10} представляет собой Val, Trp или Y1; X_{12} представляет собой Ser, Ile или Y1; X_{13} представляет собой Trp, Ala или Y1; X_{14} представляет собой Leu, Nle или Y1; X_{15} представляет собой Asp или Glu; X_{16} представляет собой Arg, Glu, Gly, Lys, Aib или Y1; X_{17} представляет собой Glu, Ile, Gln или Y1; X_{18} представляет собой Ala, Aib или His; X_{19} представляет собой Ala, Aib или Gln; X_{20} представляет собой Gln, Glu или Lys; X_{23} представляет собой Ile или Val; X_{24} представляет собой Ala, Asn или Gln; X_{27} представляет собой Val или Leu; X_{28} представляет собой Arg или Ala; X_{29} представляет собой Gly или Gln; X_{30} представляет собой Gly или Lys;

Y1 представляет собой остаток Lys, Orn, Dap, Dab или Cys, содержащий заместитель на боковой цепи, причем заместитель имеет формулу $\{[2-(2\text{-аминоэтокси})\text{-этокси}]\text{-ацетил}\}_a\text{-}(y\text{-Glu})_b\text{-CO-(CH}_2)_c\text{-COOH}$;

a представляет собой целое число, равное 1-3;

b равно 1 или 2;

c представляет собой целое число, равное 10-30.

3. Фармацевтическая композиция по п. 1 или п. 2, где:

X₁ представляет собой Tyr; X₂ представляет собой Aib; X₁₀ представляет собой Tyr; X₁₂ представляет собой Ile; X₁₃ представляет собой Tyr; X₁₄ представляет собой Y1; X₁₅ представляет собой Asp или Glu; X₁₆ представляет собой Arg или Lys; X₁₇ представляет собой Ile; X₁₈ представляет собой Ala; X₁₉ представляет собой Ala; X₂₀ представляет собой Gln; X₂₃ представляет собой Ile или Val; X₂₄ представляет собой Asn; X₂₇ представляет собой Ile или Leu; X₂₈ представляет собой Ala; X₂₉ представляет собой Gly; X₃₀ представляет собой Gly;

Y1 является таким, как определено в п. 2.

4. Фармацевтическая композиция по п. 3, где

X₁₆ представляет собой Lys; X₂₃ представляет собой Val; X₂₇ представляет собой Leu.

5. Фармацевтическая композиция по п. 1, где

X₁ представляет собой Tyr; X₂ представляет собой Aib или D-Ala; X₁₀ представляет собой Y1; X₁₂ представляет собой Ile; X₁₃ представляет собой Tyr; X₁₄ представляет собой Leu или Nle; X₁₅ представляет собой Glu; X₁₆ представляет собой Arg или Lys; X₁₇ представляет собой Ile; X₁₈ представляет собой Ala; X₁₉ представляет собой Ala; X₂₀ представляет собой Gln или Lys; X₂₃ представляет собой Ile или Val; X₂₄ представляет собой Asn или Gln; X₂₇ представляет собой Ile или Leu; X₂₈ представляет собой Ala; X₂₉ представляет собой Gly; X₃₀ представляет собой Gly;

Y1 является таким, как определено в п. 2.

6. Фармацевтическая композиция по п. 1, где

X₁ представляет собой Tyr; X₂ представляет собой Aib или D-Ala; X₁₀ представляет собой Tyr; X₁₂ представляет собой Y1; X₁₃ представляет собой Tyr; X₁₄ представляет собой Leu или Nle; X₁₅ представляет собой Glu; X₁₆ представляет собой Arg или Lys; X₁₇ представляет собой Ile; X₁₈ представляет собой Ala; X₁₉ представляет собой Ala; X₂₀ представляет собой Gln или Lys; X₂₃ представляет собой Ile или Val; X₂₄ представляет собой Asn или Gln; X₂₇ представляет собой Ile или Leu; X₂₈ представляет собой Ala; X₂₉ представляет собой Gly; X₃₀ представляет собой Gly;

Y1 является таким, как определено в п. 2.

7. Фармацевтическая композиция по п. 1, где

X₁ представляет собой Tyr; X₂ представляет собой Aib или D-Ala; X₁₀ представляет собой Tyr; X₁₂ представляет собой Ile; X₁₃ представляет собой Y1; X₁₄ представляет собой Leu или Nle; X₁₅ представляет собой Glu; X₁₆ представляет собой Arg или Lys; X₁₇ представляет собой Ile; X₁₈ представляет собой Ala; X₁₉ представляет собой Ala; X₂₀ представляет собой Gln или Lys; X₂₃ представляет собой Ile или Val; X₂₄ представляет собой Asn или Gln; X₂₇ представляет собой Ile или Leu; X₂₈ представляет собой Ala; X₂₉

представляет собой Gly; X₃₀ представляет собой Gly;

Y1 является таким, как определено в п. 2.

8. Фармацевтическая композиция по п. 1, где

X₁ представляет собой Tyr; X₂ представляет собой Aib или D-Ala; X₁₀ представляет собой Tyr; X₁₂ представляет собой Ile; X₁₃ представляет собой Tyr; X₁₄ представляет собой Y1; X₁₅ представляет собой Glu; X₁₆ представляет собой Arg или Lys; X₁₇ представляет собой Ile; X₁₈ представляет собой Ala; X₁₉ представляет собой Ala; X₂₀ представляет собой Gln или Lys; X₂₃ представляет собой Ile или Val; X₂₄ представляет собой Asn или Gln; X₂₇ представляет собой Ile или Leu; X₂₈ представляет собой Ala; X₂₉ представляет собой Gly; X₃₀ представляет собой Gly;

Y1 является таким, как определено в п. 2.

9. Фармацевтическая композиция по п. 8, где

X₂ представляет собой Aib; X₂₀ представляет собой Gln; X₂₄ представляет собой Asn.

10. Фармацевтическая композиция по п. 1, где

X₁ представляет собой Tyr; X₂ представляет собой Aib или D-Ala; X₁₀ представляет собой Tyr; X₁₂ представляет собой Ile; X₁₃ представляет собой Tyr; X₁₄ представляет собой Leu или Nle; X₁₅ представляет собой Glu; X₁₆ представляет собой Y1; X₁₇ представляет собой Ile; X₁₈ представляет собой Ala; X₁₉ представляет собой Ala; X₂₀ представляет собой Gln или Lys; X₂₃ представляет собой Ile или Val; X₂₄ представляет собой Asn или Gln; X₂₇ представляет собой Ile или Leu; X₂₈ представляет собой Ala; X₂₉ представляет собой Gly; X₃₀ представляет собой Gly;

Y1 является таким, как определено в п. 2.

11. Фармацевтическая композиция по п. 10, где

X₂ представляет собой Aib; X₁₄ представляет собой Leu; X₂₀ представляет собой Gln; X₂₄ представляет собой Asn.

12. Фармацевтическая композиция по п. 1, где

X₁ представляет собой Tyr; X₂ представляет собой Aib или D-Ala; X₁₀ представляет собой Tyr; X₁₂ представляет собой Ile; X₁₃ представляет собой Tyr; X₁₄ представляет собой Leu или Nle; X₁₅ представляет собой Glu; X₁₆ представляет собой Arg или Lys; X₁₇ представляет собой Y1; X₁₈ представляет собой Ala; X₁₉ представляет собой Ala; X₂₀ представляет собой Gln или Lys; X₂₃ представляет собой Ile или Val; X₂₄ представляет собой Asn или Gln; X₂₇ представляет собой Ile или Leu; X₂₈ представляет собой Ala; X₂₉ представляет собой Gly; X₃₀ представляет собой Gly;

Y1 является таким, как определено в п. 2.

13. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 2-12, где a равно 2, b равно 1

или 2, и с представляет собой целое число, равное 16-20.

14. Фармацевтическая композиция по п. 13, где с равно 16, 18 или 20.

15. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 2-14, где Y1 представляет собой остаток Lys, содержащий заместитель на боковой цепи, причем указанный заместитель имеет формулу $\{[2-(2\text{-аминоэтоксипропилокси})\text{-этоксипропилокси}]\text{-ацетил}\}_a\text{-}(\gamma\text{-Glu})_b\text{-CO-(CH}_2)_c\text{-COOH}$;

a равно 2;

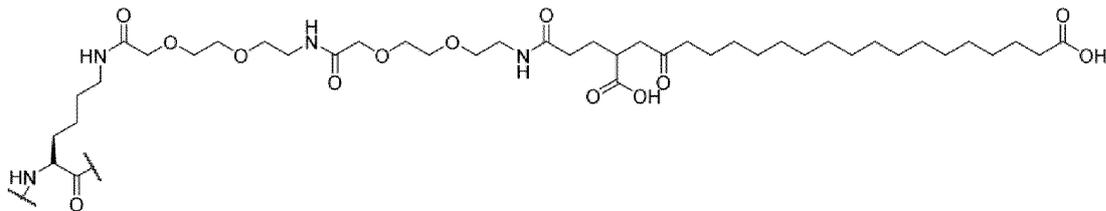
b равно 1 или 2;

c равно 16 или 18.

16. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 2-15, где заместитель ковалентно связан с аминогруппой на боковой цепи посредством амидной связи.

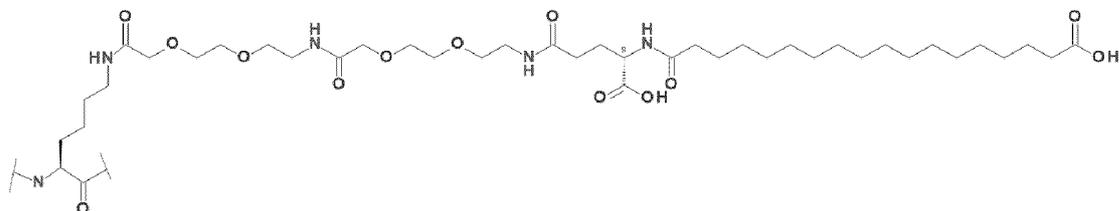
17. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 2-16, где Y1 представляет собой K(-OEG-OEG- γ Glu-C18-OH) или K(-OEG-OEG- γ Glu-C20-OH),

где K(-OEG-OEG- γ Glu-C18-OH) имеет структуру, представленную ниже:

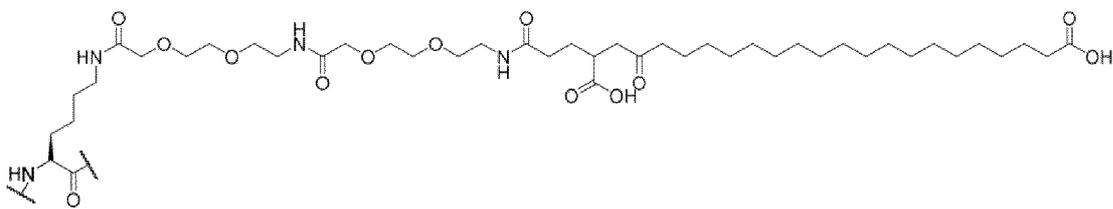


, и

предпочтительно имеет структуру, представленную ниже:

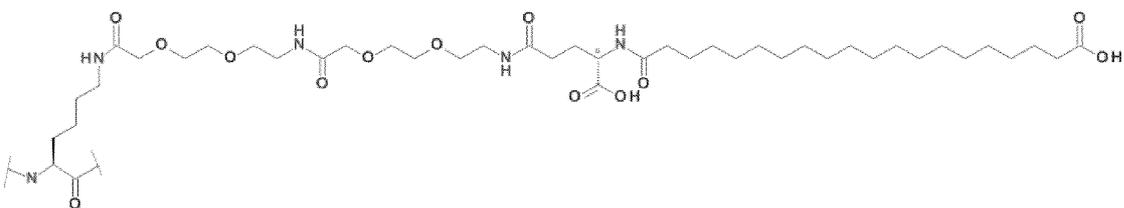


и K(-OEG-OEG- γ Glu-C20-OH) имеет структуру, представленную ниже:



, и

предпочтительно имеет структуру, представленную ниже:



18. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 2-17, где заместитель

ковалентно связан с ε-аминогруппой на боковой цепи посредством амидной связи.

19. Фармацевтическая композиция по п. 1, где аналог GLP-1 имеет последовательность, представленную в SEQ ID NO: 20;

предпочтительно аналог GLP-1 выбран из любого из следующих соединений, пронумерованных от 1 до 18:

- 1 H-YAibEGTFTSDYSIYKDKIAAQEFVNWLIAGGPSSGAPPPS-NH₂
- 2 H-YAibEGTFTSDYSIYKDRIAAQEFVNWLIAGGPSSGAPPPS-NH₂
- 3 H-YAibEGTFTSDYSIYKDKIAAQEFINWLIAGGPSSGAPPPS-NH₂
- 4 H-YAibEGTFTSDYSIYKDRIAAQEFINWLIAGGPSSGAPPPS-NH₂
- 5 H-YAibEGTFTSDYSIYKDKIAAQEFINWLLAGGPSSGAPPPS-NH₂
- 6 H-YAibEGTFTSDYSIYKDRIAAQEFVNWLLAGGPSSGAPPPS-NH₂
- 7 H-YAibEGTFTSDYSIYKDKIAAQEFVNWLLAGGPSSGAPPPS-NH₂
- 8 H-YAibEGTFTSDYSIYLEKIAAQEFVNWLLAGGPSSGAPPPS-NH₂
- 9 H-YAibEGTFTSDYSIYLEKIAAQEFVNWLIAGGPSSGAPPPS-NH₂
- 10 H-YAibEGTFTSDYSIYLEKIAAQEFINWLIAGGPSSGAPPPS-NH₂
- 11 H-YAibEGTFTSDYSIYLEKIAAQEFINWLLAGGPSSGAPPPS-NH₂
- 12 H-YAibEGTFTSDYSIYKEKIAAQEFVNWLIAGGPSSGAPPPS-NH₂
- 13 H-YAibEGTFTSDYSIYKERIAAQEFVNWLIAGGPSSGAPPPS-NH₂
- 14 H-YAibEGTFTSDYSIYKEKIAAQEFINWLIAGGPSSGAPPPS-NH₂
- 15 H-YAibEGTFTSDYSIYKERIAAQEFINWLIAGGPSSGAPPPS-NH₂
- 16 H-YAibEGTFTSDYSIYKEKIAAQEFINWLLAGGPSSGAPPPS-NH₂
- 17 H-YAibEGTFTSDYSIYKERIAAQEFVNWLLAGGPSSGAPPPS-NH₂
- 18 H-YAibEGTFTSDYSIYKEKIAAQEFVNWLLAGGPSSGAPPPS-NH₂.

20. Фармацевтическая композиция по п. 1, где аналог GLP-1 выбран из любого из следующих соединений, пронумерованных от 1# до 18#:

- 1# H-YAibEGTFTSDYSIYK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)DKIAAQEFVNWLIAGGPSSGAPPPS-NH₂
- 2# H-YAibEGTFTSDYSIYK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)DRIAAQEFVNWLIAGGPSSGAPPPS-NH₂
- 3# H-YAibEGTFTSDYSIYK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)DKIAAQEFINWLIAGGPSSGAPPPS-NH₂
- 4# H-YAibEGTFTSDYSIYK(OEG-OEG-yGlu-C20-

- OH)DRIAAQEFINWLIAGGPSSGAPPPS-NH₂
- 5# H-YAibEGTFTSDYSIYK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)DKIAAQEFINWLLAGGPSSGAPPPS-NH₂
- 6# H-YAibEGTFTSDYSIYK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)DRIAAQEFVNWLLAGGPSSGAPPPS-NH₂
- 7# H-YAibEGTFTSDYSIYK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)DKIAAQEFVNWLLAGGPSSGAPPPS-NH₂
- 8# H-YAibEGTFTSDYSIYLEK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)IAAQEFVNWLLAGGPSSGAPPPS-NH₂
- 9# H-YAibEGTFTSDYSIYLEK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)IAAQEFVNWLIAGGPSSGAPPPS-NH₂
- 10# H-YAibEGTFTSDYSIYLEK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)IAAQEFINWLIAGGPSSGAPPPS-NH₂
- 11# H-YAibEGTFTSDYSIYLEK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)IAAQEFINWLLAGGPSSGAPPPS-NH₂
- 12# H-YAibEGTFTSDYSIYK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)EKIAAQEFVNWLIAGGPSSGAPPPS-NH₂
- 13# H-YAibEGTFTSDYSIYK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)ERIAAQEFVNWLIAGGPSSGAPPPS-NH₂
- 14# H-YAibEGTFTSDYSIYK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)EKIAAQEFINWLIAGGPSSGAPPPS-NH₂
- 15# H-YAibEGTFTSDYSIYK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)ERIAAQEFINWLIAGGPSSGAPPPS-NH₂
- 16# H-YAibEGTFTSDYSIYK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)EKIAAQEFINWLLAGGPSSGAPPPS-NH₂
- 17# H-YAibEGTFTSDYSIYK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)ERIAAQEFVNWLLAGGPSSGAPPPS-NH₂
- 18# H-YAibEGTFTSDYSIYK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)EKIAAQEFVNWLLAGGPSSGAPPPS-NH₂.

21. Фармацевтическая композиция по п. 1, где аналог GLP-1 выбран из группы, состоящей из соединений, представленных как 7#, 12#, 13#, 14#, 15#, 16#, 17# и 18# на фиг. 3.

22. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-21, дополнительно

содержащая регулятор осмотического давления, где

предпочтительно регулятор осмотического давления выбран из одного или более из пропиленгликоля, маннита, сорбита, ксилита, глицерина, лактозы, трегалозы, сахарозы, глюкозы, хлорида натрия, фосфата, цитрата натрия, борной кислоты и тартрата натрия;

более предпочтительно регулятор осмотического давления представляет собой пропиленгликоль, хлорид натрия или маннит;

наиболее предпочтительно регулятор осмотического давления представляет собой пропиленгликоль или хлорид натрия.

23. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-22, дополнительно содержащая бактериостатический агент, где

предпочтительно бактериостатический агент выбран из группы, состоящей из фенола, о-крезола, м-крезола, п-крезола, метилпарабена, пропилпарабена, 2-феноксэтанола, бутилпарабена, 2-фенилэтилового спирта, бензилового спирта, этанола, хлорбутанола, тимеросала, бронопола, бензойной кислоты, имидомочевины, хлоргексидина, дегидроацетата натрия, хлоркрезола, этилпарабена, бензетония хлорида и их смесей, и

более предпочтительно бактериостатический агент представляет собой фенол.

24. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-23, дополнительно содержащая регулятор рН, где предпочтительно регулятор рН представляет собой гидроксид натрия и/или соляную кислоту.

25. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-24, где рН фармацевтической композиции составляет от 7,0 до 8,0, предпочтительно от 7,1 до 7,7 и наиболее предпочтительно приблизительно 7,5 или приблизительно 7,4.

26. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-25, где концентрация аналога GLP-1 или его фармацевтически приемлемой соли составляет от 0,1 до 500 мг/мл, предпочтительно от 1,0 до 100 мг/мл, более предпочтительно от 1,0 до 30,0 мг/мл и наиболее предпочтительно от 2,0 до 10,0 мг/мл.

27. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-26, где концентрация буфера в фармацевтической композиции составляет от 1,0 до 35,0 мМ, предпочтительно от 1,0 до 25,0 мМ и более предпочтительно от 2,0 до 10,0 мМ.

28. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 22-27, где: концентрация пропиленгликоля в фармацевтической композиции составляет от 10 до 20 мг/мл, предпочтительно от 12 до 16 мг/мл и более предпочтительно приблизительно 14 мг/мл; или концентрация маннита в фармацевтической композиции составляет от 30 до 45 мг/мл, предпочтительно от 30 до 40 мг/мл и более предпочтительно приблизительно 31,5 мг/мл;

или концентрация хлорида натрия в фармацевтической композиции составляет от 2 до 18 мг/мл, предпочтительно от 8 до 10 мг/мл и более предпочтительно приблизительно 9 мг/мл.

29. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 23-28, где: концентрация бактериостатического агента в фармацевтической композиции составляет от 4,0 до 7,0 мг/мл, предпочтительно от 4,4 до 6,8 мг/мл, более предпочтительно от 5,5 до 6,6 мг/мл и наиболее предпочтительно приблизительно 5,5 мг/мл.

30. Фармацевтическая композиция, содержащая:

соединение, представленное как 18# на фиг. 3, или его фармацевтически приемлемую соль;

дигидрофосфат натрия; и

пропиленгликоль, маннит или хлорид натрия;

где необязательно фармацевтическая композиция дополнительно содержит фенол.

31. Фармацевтическая композиция по п. 30, содержащая любое из А)-J), причем рН фармацевтической композиции составляет от 6,5 до 9,0, где:

А) от 1,0 до 100 мг/мл соединения, представленного как 18# на фиг. 3, или его фармацевтически приемлемой соли,

от 1,0 до 35,0 мМ дигидрофосфата натрия, и

от 10 до 20 мг/мл пропиленгликоля или от 30 до 40 мг/мл маннита;

или фармацевтическая композиция содержит:

В) от 1,0 до 100 мг/мл соединения, представленного как 18# на фиг. 3, или его фармацевтически приемлемой соли,

от 1,0 до 35,0 мМ дигидрофосфата натрия, и

от 2 до 18 мг/мл хлорида натрия;

или фармацевтическая композиция содержит:

С) от 1,0 до 100 мг/мл соединения, представленного как 18# на фиг. 3, или его фармацевтически приемлемой соли,

от 1,0 до 35,0 мМ дигидрофосфата натрия;

от 10 до 20 мг/мл пропиленгликоля, или от 15 до 45 мг/мл маннита, или от 2 до 18 мг/мл хлорида натрия; и

необязательно фармацевтическая композиция дополнительно содержит антибактериальный агент, такой как от 4,0 до 7,0 мг/мл фенола;

Д) от 1,0 до 30,0 мг/мл соединения, представленного как 18# на фиг. 3, или его фармацевтически приемлемой соли,

от 1,0 до 25,0 мМ дигидрофосфата натрия,

от 11 до 18 мг/мл пропиленгликоля, или от 20 до 40 мг/мл маннита, или от 3 до 15

мг/мл хлорида натрия, и

необязательно антибактериальный агент, такой как от 4,2 до 6,9 мг/мл фенола;

pH фармацевтической композиции составляет от 7,0 до 8,0;

Е) от 2,0 до 10,0 мг/мл соединения, представленного как 18# на фиг. 3, или его фармацевтически приемлемой соли,

от 2,0 до 10,0 мМ дигидрофосфата натрия,

от 12 до 16 мг/мл пропиленгликоля, или от 25 до 35 мг/мл маннита, или от 8 до 10 мг/мл хлорида натрия, и

необязательно антибактериальный агент, такой как от 4,4 до 6,8 мг/мл фенола;

pH фармацевтической композиции составляет от 7,1 до 7,7;

Ф) от 1,0 до 100 мг/мл соединения, представленного как 18# на фиг. 3, или его фармацевтически приемлемой соли,

от 1,0 до 35,0 мМ дигидрофосфата натрия,

от 10 до 20 мг/мл пропиленгликоля, или от 15 до 45 мг/мл маннита, или от 2 до 18 мг/мл хлорида натрия,

необязательно антибактериальный агент, такой как от 4,0 до 7,0 мг/мл фенола, и воду для инъекций;

pH фармацевтической композиции составляет от 6,5 до 9,0;

Г) от 1,0 до 30,0 мг/мл соединения, представленного как 18# на фиг. 3, или его фармацевтически приемлемой соли,

от 1,0 до 25,0 мМ дигидрофосфата натрия,

от 11 до 18 мг/мл пропиленгликоля, или от 20 до 40 мг/мл маннита, или от 3 до 15 мг/мл хлорида натрия,

необязательно антибактериальный агент, такой как от 4,2 до 6,9 мг/мл фенола, и воду для инъекций;

pH фармацевтической композиции составляет от 7,0 до 8,0;

Н) от 2,0 до 20,0 мг/мл соединения, представленного как 18# на фиг. 3, или его фармацевтически приемлемой соли,

от 2,0 до 10,0 мМ дигидрофосфата натрия,

от 12 до 16 мг/мл пропиленгликоля, или от 25 до 35 мг/мл маннита, или от 7 до 10 мг/мл хлорида натрия,

необязательно антибактериальный агент, такой как от 4,4 до 6,8 мг/мл фенола, и воду для инъекций;

pH фармацевтической композиции составляет от 7,1 до 7,7;

И) от 5,0 до 15,0 мг/мл или от 5,0 до 10,0 мг/мл соединения, представленного как 18#

на фиг. 3, или его фармацевтически приемлемой соли,

от 5,0 до 10,0 мМ дигидрофосфата натрия,

от 12 до 16 мг/мл пропиленгликоля, или от 7 до 10 мг/мл хлорида натрия, или от 8 до 9 мг/мл хлорида натрия,

необязательно антибактериальный агент, такой как от 4,4 до 6,8 мг/мл фенола, и воду для инъекций;

рН фармацевтической композиции составляет от 7,1 до 7,7;

J) от 5,0 до 15,0 мг/мл или от 5,0 до 10,0 мг/мл соединения, представленного как 18# на фиг. 3, или его фармацевтически приемлемой соли,

от 4,0 до 8,0 мМ или от 4,0 до 6,0 мМ дигидрофосфата натрия,

от 12 до 16 мг/мл пропиленгликоля, или от 7 до 10 мг/мл хлорида натрия, или от 8 до 9 мг/мл хлорида натрия,

необязательно антибактериальный агент, такой как от 4,4 до 6,8 мг/мл фенола, и воду для инъекций;

рН фармацевтической композиции составляет от 7,1 до 7,7.

32. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 30-31, где:

(1) фармацевтическая композиция содержит приблизительно 2,0 мг/мл соединения, представленного как 18# на фиг. 3, или его фармацевтически приемлемой соли, приблизительно 5,0 мМ дигидрофосфата натрия, приблизительно 14,0 мг/мл пропиленгликоля или приблизительно 31,5 мг/мл маннита, и приблизительно 5,5 мг/мл фенола, и рН фармацевтической композиции составляет приблизительно 7,5 или приблизительно 7,4;

(2) фармацевтическая композиция содержит приблизительно 4,0 мг/мл соединения, представленного как 18# на фиг. 3, или его фармацевтически приемлемой соли, приблизительно 5,0 мМ дигидрофосфата натрия, приблизительно 14,0 мг/мл пропиленгликоля или приблизительно 31,5 мг/мл маннита, и приблизительно 5,5 мг/мл фенола, и рН фармацевтической композиции составляет приблизительно 7,5 или приблизительно 7,4;

(3) фармацевтическая композиция содержит приблизительно 5,0 мг/мл соединения, представленного как 18# на фиг. 3, или его фармацевтически приемлемой соли, приблизительно 5,0 мМ дигидрофосфата натрия, приблизительно 14,0 мг/мл пропиленгликоля или приблизительно 31,5 мг/мл маннита, и приблизительно 5,5 мг/мл фенола, и рН фармацевтической композиции составляет приблизительно 7,5 или приблизительно 7,4;

(4) фармацевтическая композиция содержит приблизительно 6,0 мг/мл соединения,

представленного как 18# на фиг. 3, или его фармацевтически приемлемой соли, приблизительно 5,0 мМ дигидрофосфата натрия, приблизительно 14,0 мг/мл пропиленгликоля или приблизительно 31,5 мг/мл маннита, и приблизительно 5,5 мг/мл фенола, и рН фармацевтической композиции составляет приблизительно 7,5 или приблизительно 7,4;

(5) фармацевтическая композиция содержит приблизительно 8,0 мг/мл соединения, представленного как 18# на фиг. 3, или его фармацевтически приемлемой соли, приблизительно 5,0 мМ дигидрофосфата натрия, приблизительно 14,0 мг/мл пропиленгликоля или приблизительно 31,5 мг/мл маннита, и приблизительно 5,5 мг/мл фенола, и рН фармацевтической композиции составляет приблизительно 7,5 или приблизительно 7,4;

(6) фармацевтическая композиция содержит приблизительно 10,0 мг/мл соединения, представленного как 18# на фиг. 3, или его фармацевтически приемлемой соли, приблизительно 5,0 мМ дигидрофосфата натрия, приблизительно 14,0 мг/мл пропиленгликоля или приблизительно 31,5 мг/мл маннита, и приблизительно 5,5 мг/мл фенола, и рН фармацевтической композиции составляет приблизительно 7,5 или приблизительно 7,4;

или

(7) фармацевтическая композиция содержит приблизительно 2,0 мг/мл, приблизительно 4,0 мг/мл, приблизительно 5,0 мг/мл, приблизительно 6,0 мг/мл, приблизительно 8,0 мг/мл, 10 мг/мл или приблизительно 20 мг/мл соединения, представленного как 18# на фиг. 3, или его фармацевтически приемлемой соли, приблизительно 5,0 мМ дигидрофосфата натрия, приблизительно 9 мг/мл хлорида натрия и необязательно приблизительно 5,5 мг/мл фенола, и рН фармацевтической композиции составляет приблизительно 7,5 или приблизительно 7,4.

33. Способ получения фармацевтической композиции по любому из пп. 1-32, включающий стадию растворения аналога GLP-1 или его фармацевтически приемлемой соли.

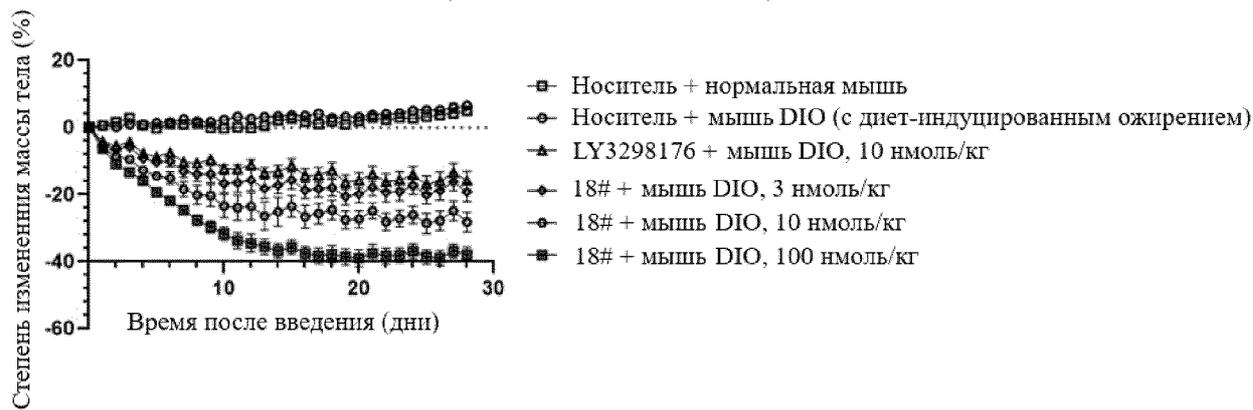
34. Лиофилизированный состав, где лиофилизированный состав способен образовывать фармацевтическую композицию по любому из пп. 1-32 при восстановлении, или лиофилизированный состав получен путем лиофилизации фармацевтической композиции по любому из пп. 1-32.

35. Восстановленный раствор, полученный путем восстановления лиофилизированного состава по п. 17.

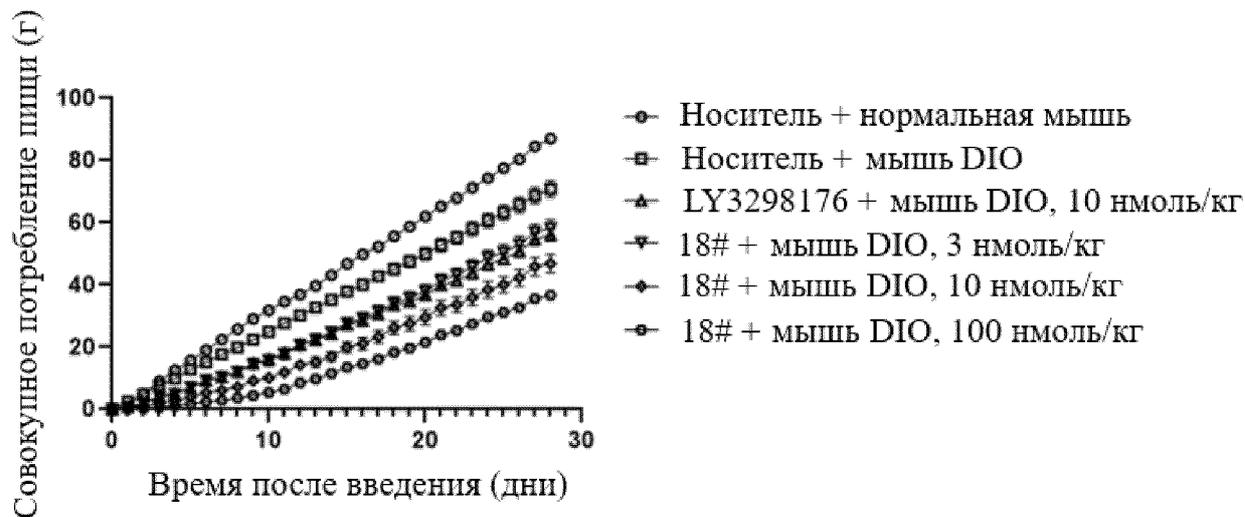
36. Изделие, содержащее контейнер, где контейнер содержит фармацевтическую

композицию по любому из пп. 1-32, лиофилизированный состав по п. 34 или восстановленный раствор по п. 35.

37. Применение фармацевтической композиции по любому из пп. 1-33, лиофилизированного состава по п. 34, восстановленного раствора по п. 35 или изделия по п. 36, для получения лекарственного средства для лечения инсулиннезависимого диабета, инсулинозависимого диабета, ожирения, неалкогольной жировой болезни печени, стеатоза печени, диабетической ретинопатии, диабетической нейропатии, диабетической нефропатии, инсулинорезистентности, дислипидемии, связанной с инсулинорезистентностью, и/или дислипидемии, связанной с диабетом.

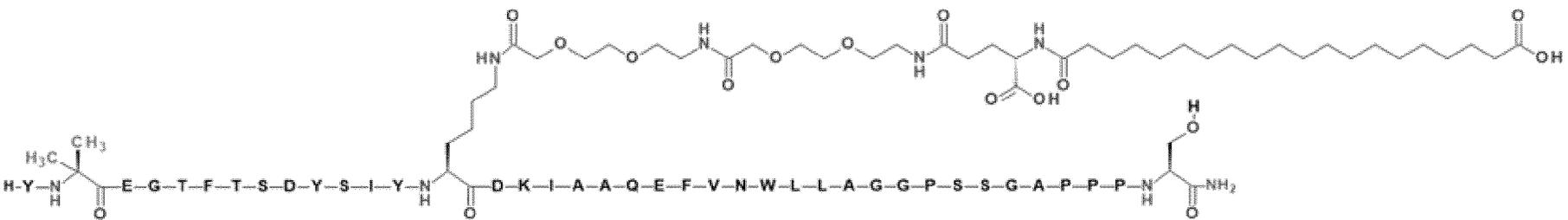


Фиг. 1

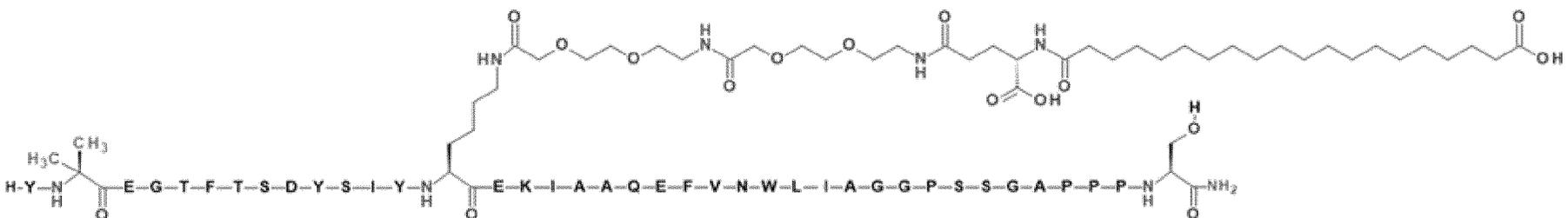


Фиг. 2

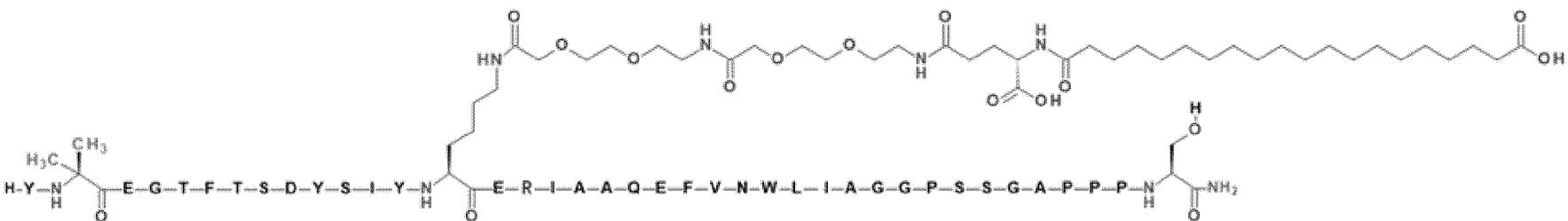
7#:



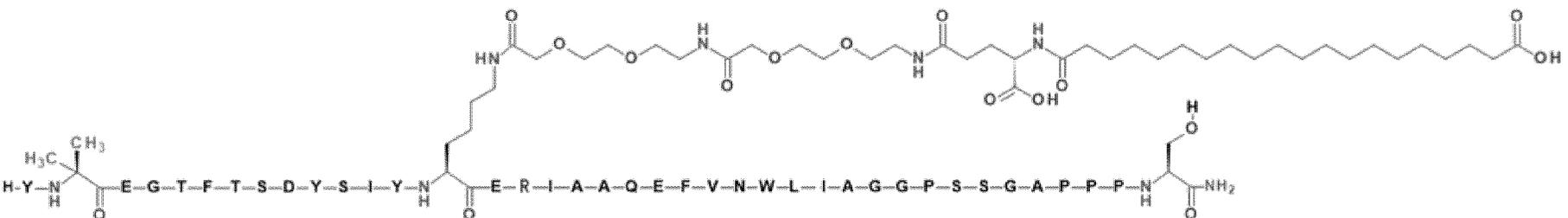
12#:



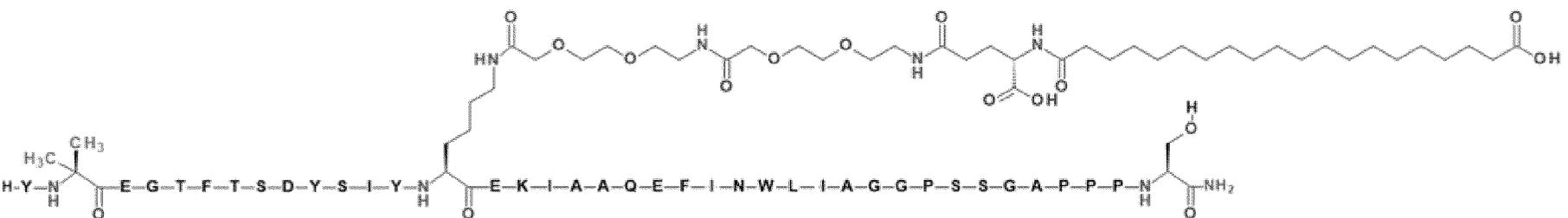
13#:



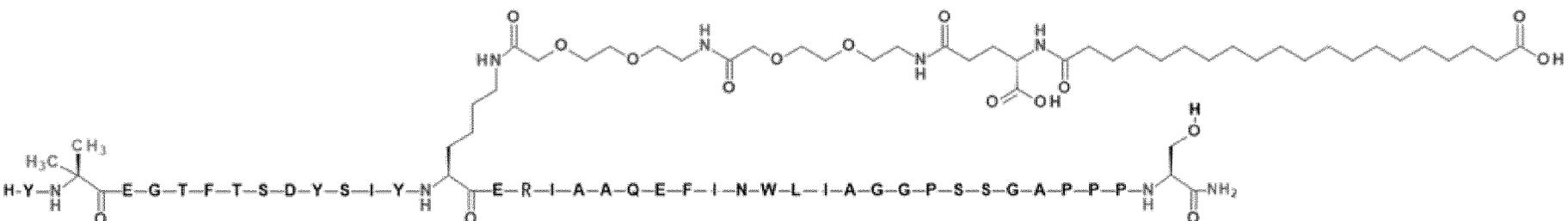
13#:



14#:

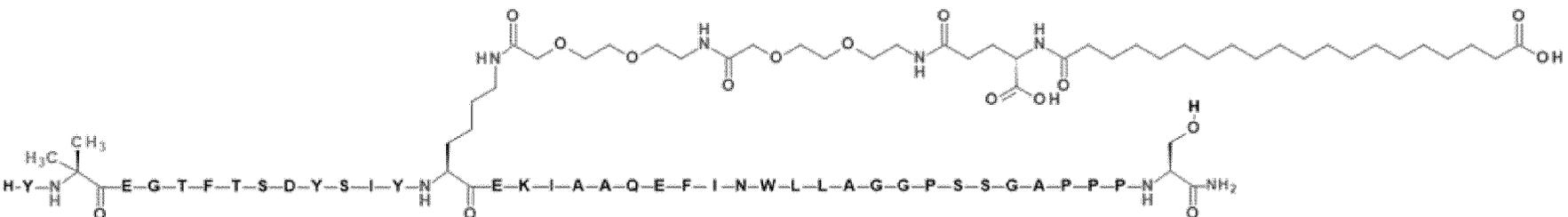


15#:

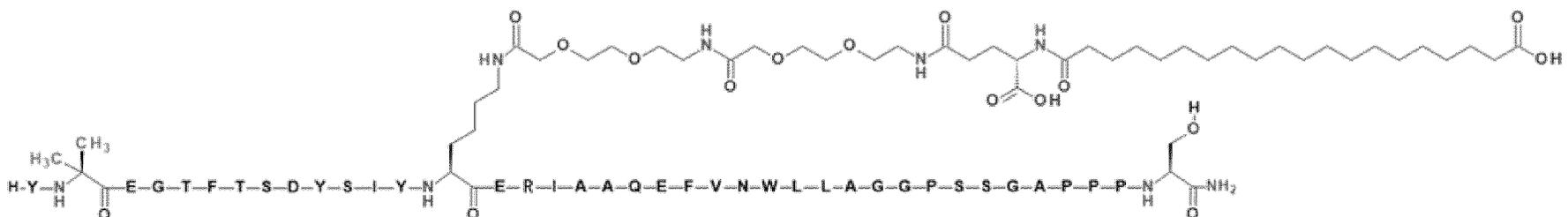


Фиг. 3 (продолжение)

16#:



17#:



18#:

