

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202491604 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2024.10.14

(22) Дата подачи заявки
2023.02.09

(51) Int. Cl. *A61K 47/54* (2017.01)
C07K 14/705 (2006.01)
C07K 14/435 (2006.01)
A61P 25/00 (2006.01)
A61K 38/00 (2006.01)

(54) НОВЫЕ ПЕПТИДЫ

(31) 22155992.5; 22160222.0

(32) 2022.02.09; 2022.03.04

(33) EP

(86) PCT/EP2023/053211

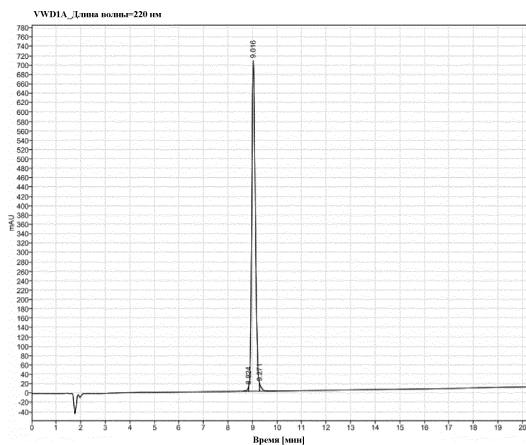
(87) WO 2023/152229 2023.08.17

(71) Заявитель:
ТЕЙТУР ТРОФИКС АПС (DK)

(72) Изобретатель:
Далби Андерс, Йенсен Симон Мёлгор,
Оллендорфф Матиас Кос, Стрёмгор
Кристиан, Фосгергау Кельд (DK)

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

(57) Связанные с SorCS2 липидированные циклические пептиды, циклические пептиды, липидированные линейные пептиды, линейные пептиды, которые могут быть применены в медицине, и связанные с ними аспекты.



A1

202491604

202491604

A1

PCT/EP/2023/053211

МПК *A61K 47/54* (2017.01) *A61P 25/00* (2006.01)
C07K 14/705 (2006.01) *A61K 38/00* (2006.01)
C07K 14/435 (2006.01)

НОВЫЕ ПЕПТИДЫ

Область техники

Настоящее изобретение относится к новым пептидам, их применению в качестве лекарственных средств, например при лечении или профилактике болезни Альцгеймера, болезни Хантингтона, болезни Паркинсона, лобно-височной деменции или депрессии, а также связанных с ними аспектов.

Уровень техники

Нейродегенеративные заболевания представляют собой заболевания, при которых прогрессирующая потеря функций нейронов и синапсов, приводящая к апоптозу, происходит в отдельных областях мозга. К ним относятся, среди прочего, болезнь Альцгеймера (AD), болезнь Паркинсона (PD), болезнь Хантингтона (HD), боковой амиотрофический склероз (ALS) и лобно-височная деменция (FTD). Отличительными признаками нейродегенеративных заболеваний являются отсутствие нейротрофической передачи сигналов и агрегация неправильно свернутых белков, а также потеря нейротрофической передачи сигналов в результате ее блокирования агрегатами.

В здоровом нейроне различные сигнальные пути, инициированные нейротрофическими факторами роста, сходятся к активации белка, связывающего ответный элемент cAMP (циклический аденозинмонофосфат) фактора транскрипции (CREB), что обеспечивает рост, пластичность нейронов и выживание (Benito, 2010; Sakamoto, 2011). В соответствии с этим при болезни Хантингтона, Альцгеймера и FTD наблюдается снижение активации нижестоящего транскрипционного фактора CREB (Sugars, 2004; Pugazhenthii, 2011; Ljungberg, 2012).

Интересно, что отдельные мутации, связанные с нейродегенеративными заболеваниями, ослабляют общие механизмы удаления неправильно свернутых белков и поврежденных органелл в клетках (Boland, 2018). К ним относятся лизосомная сеть, аутофагия, опосредованная протеасомными системами, и шаперон-опосредованная аутофагия. Например, при болезни Хантингтона мутации, включающие аномальные повторы CAG-повторов в экзоне 1 гена *HTT*, вызывают внутриядерную агрегацию белка хантингтина, что разрушает аутолизосомную сеть и снижает аксональный транспорт аутофагосом (Qin, 2004; Wong, 2014). Аналогичным образом, гетерозиготная мутация, относящаяся к потере функции, в гене *GRN* связана с FTLTD, при этом мутации приводят к

лизосомной дисфункции, в результате чего происходит агрегация белка TDP-43 (van Swieten, 2008; Beel, 2018).

Таким образом, стратегии лечения нейродегенеративных заболеваний могут включать усиление активации CREB и увеличение клиренса агрегатов неправильно свернутых белков.

Недавно в нейробиологии был обнаружен связанный с сортилином рецептор 2, содержащий домен Vps10p (SorCS2) из семейства рецепторов домена Vps10p, поскольку было показано, что он глубоко связан с жизнеспособностью и функцией нейронов (Glerup, 2014; Glerup, 2016; Leloup, 2018; Ma, 2017; Malik, 2019, Yang, 2021). Рецептор SorCS2 опосредует сортировку и транспортировку различных лигандов и рецепторов, которые имеют решающее значение для образования нейритов, синаптической пластичности и роста аксонов. Крупные когортные исследования подчеркнули клиническую значимость SorCS2, связывая его с несколькими нейродегенеративными и психическими расстройствами, включая биполярное расстройство, AD, HD, FTD, депрессию, шизофрению и синдром дефицита внимания/гиперактивности (ADHD) (Baum, 2008; Ollila, 2009, Christoforou, 2011; Alemany, 2015; Reitz, 2015). Кроме того, SorCS2 функционально связан с тяжелыми неврологическими протеинопатиями ALS и HD (Mori, 2015; Ma, 2017; Salašová, 2021), а также с заболеваниями, связанными с болью, такими как нейропатическая боль (Richner, 2012; Ma, 2017; Miki, 2018). Было показано, что при протеинопатиях SorCS2 неправильно локализуется в агрегатах заболевания, что приводит к его дефициту и ускорению прогрессирования заболевания.

Далее было показано, что SorCS2 играет решающую роль в передаче сигналов нейротрофическим фактором головного мозга (BDNF) – нейротрофином, который инициирует выживание и синаптическую пластичность посредством активации CREB (Glerup, 2016). Интересно, что это опосредование SorCS2 ограничивалось его внутриклеточным доменом. В аналогичной степени цитоплазматические домены других членов семейства рецепторов домена VPS10p, рецепторы SorCS1 и SorCS3 ранее были связаны с их функциями (Savas, 2015; Hermey, 2003; Oetjen, 2014).

Модуляторы пути SorCS2 также могут найти применение в качестве диагностических или исследовательских инструментов.

WO2017101956 относится к линейным пептидам и способам модуляции фосфорилирования рецептора SorCS1, SorCS2 или SorCS3, содержащего домен Vps10.

WO2022029281 описывает циклические пептиды и способы модуляции SorCS1,

SorCS2 или SorCS3.

Сохраняется потребность в альтернативных или улучшенных модуляторах пути SorCS2. Такие модуляторы можно более удобно изготавливать, они могут демонстрировать высокую эффективность, селективность, улучшенный профиль безопасности или желательные фармакокинетические параметры, например высокую доступность для мозга и/или низкую скорость выведения, что снижает дозу или частоту введения, необходимые для терапевтического эффекта *in vivo*.

Краткое изложение сущности изобретения

В первом аспекте предложен липидированный циклический пептид, содержащий последовательность:

	X ₂ -	X ₃ -	E -	H -	X ₄ -	E	(SEQ ID No. 51)
положение	1	2	3	4	5	6	

где:

X₂ представляет собой P, D, Q, K, G

X₃ представляет собой I, L, A, T, V

X₄ представляет собой E, A,

или консервативно замещенный вариант указанного пептида.

Во втором аспекте предложен циклический пептид, содержащий последовательность:

	X ₂ -	X ₃ -	E -	H -	X ₄ -	E	(SEQ ID No. 51)
положение	1	2	3	4	5	6	

где:

X₂ представляет собой P, D, Q, K, G

X₃ представляет собой I, L, A, T, V

X₄ представляет собой E, A,

или консервативно замещенный вариант указанного пептида, где, если X₂ представляет собой P, то X₃ отличается от V.

В третьем аспекте предложен циклический пептид, содержащий 10 или менее аминокислотных остатков в цикле и содержащий последовательность:

	X ₂ -	X ₃ -	E -	H -	X ₄ -	E	(SEQ ID No. 51)
положение	1	2	3	4	5	6	

где:

X₂ представляет собой P, D, Q, K, G

X₃ представляет собой I, L, A, T, V

X₄ представляет собой E, A,

или консервативно замещенный вариант указанного пептида.

В четвертом аспекте предложен липидированный линейный пептид, содержащий последовательность:

	X ₂ -	X ₃ -	E -	H -	X ₄ -	E	(SEQ ID No. 51)
положение	1	2	3	4	5	6	

где:

X₂ представляет собой P, D, Q, K, G

X₃ представляет собой I, L, A, T, V

X₄ представляет собой E, A

или консервативно замещенный вариант указанного пептида.

В пятом аспекте предложен линейный пептид, содержащий последовательность:

	X ₂ -	X ₃ -	E -	H -	X ₄ -	E	(SEQ ID No. 51)
положение	1	2	3	4	5	6	

где:

X₂ представляет собой P, D, Q, K, G

X₃ представляет собой I, L, A, T, V

X₄ представляет собой E, A

или консервативно замещенный вариант указанного пептида, где, если X₂ представляет собой P, то X₃ отличается от V.

В шестом аспекте предложен линейный пептид, содержащий 10 или менее аминокислотных остатков в основной цепи и содержащий последовательность:

	X ₂ -	X ₃ -	E -	H -	X ₄ -	E	(SEQ ID No. 51)
положение	1	2	3	4	5	6	

где:

X₂ представляет собой P, D, Q, K, G

X₃ представляет собой I, L, A, T, V

X₄ представляет собой E, A

или консервативно замещенный вариант указанного пептида.

Следует понимать, что пептиды согласно настоящему изобретению могут образовывать соли в соответствующих условиях, поэтому также предложены соли пептидов согласно настоящему изобретению, в частности фармацевтически приемлемые

соли. Пептиды и их соли (например, фармацевтически приемлемые соли) могут существовать в диссоциированной форме в соответствующих растворителях, таких как вода.

Модуляторы пути SogCS2 могут найти применение в медицине. Следовательно, в настоящем изобретении предложено применение липидированных циклических пептидов, липидированных линейных пептидов, циклических пептидов и линейных пептидов, описанных выше, и их фармацевтически приемлемых солей в качестве лекарственных средств, в частности при лечении или профилактике болезни Альцгеймера, болезни Хантингтона, болезни Паркинсона, лобно-височной деменции или депрессии.

Также предложены защищенные циклические пептиды, защищенные линейные пептиды и линейные пептиды, которые при циклизации образуют циклический пептид, как описано выше, и все из них могут быть использованы при получении циклических пептидов и линейных пептидов, описанных выше.

Краткое описание чертежей

Фиг. 1A – фиг. 1C: Очистка и количественная оценка CLP1: хроматограмма HPLC (высокоэффективной жидкостной хроматографии) для CLP1 с УФ-детектированием при 220 нм (фиг. 1A), хроматограмма LCMS (жидкостной хроматографии-масс-спектрометрии) (фиг. 1B) и спектр в режиме положительных ионов с полным сканированием (фиг. 1C).

Фиг. 2A и фиг. 2B: CLP1 повышает уровни мишеней транскрипции CREB: 1 мкМ пептида CLP1 значительно повысил уровни нижестоящих по отношению к CREB мишеней: нейротрофического фактора BDNF (фиг. 2A), главного митохондриального регулятора PGC1a (фиг. 2B) в первичных нейронах мыши через 16 и 24 часов. Пептид CPX продемонстрировал отсутствие эффекта в данных временных точках. Среднее±SEM (стандартная ошибка среднего).

Фиг. 3A и фиг. 3B: CLP1 обеспечивает удаление растворимого мутантного НТТ из полученных от пациентов с болезнью Хантингтона фибробластов (GM04719): пептиды CLP1 и CPX значительно снижали уровни мутантного хантингтина (mНТТ) в фибропластах, полученных от пациентов с болезнью Хантингтона (GM04719) на 50% и 25%, соответственно, через 24 часа после лечения (фиг. 3A). Также наблюдалось значительное снижение общих уровней НТТ (фиг. 3B).

Фиг. 4A - фиг. 4G: Химическая и физическая стабильность CLP1 в трех буферах: стабильность CLP1 в буферных системах с рН 4,5 (фиг. 4A), рН 6,5 (фиг. 4B) и рН 7,5

(фиг. 4C) через 14 суток при 40°C. CLP1 не демонстрировал каких-либо фибрилляций в любом из буферов при использовании анализа ThT (с применением тиофлавина Т), демонстрируя хорошую физическую стабильность при pH 4,5 (фиг. 4D), pH 6,5 (фиг. 4E) и pH 7,5 (фиг. 4F) относительно положительного контроля (фиг. 4G).

Фиг. 5А - фиг. 5С: CLP1 стабилен в гомогенатах плазмы и головного мозга: CLP1 и CPX продемонстрировали ограниченную деградацию в плазме человека (фиг. 5А), плазме мыши (фиг. 5В). CLP1 показал более высокую стабильность, чем CPX, в гомогенате головного мозга мыши (фиг. 5С).

Фиг. 6А - фиг. 6D: Метаболическая стабильность CLP1 во фракциях S9 печени: стабильность CLP1 во фракциях S9 печени от 5 независимых видов – истинный клиренс CLP1 (фиг. 6А), истинный клиренс 7-этоксикумарина в качестве положительного контроля (фиг. 6В), процент остатка CLP1 (фиг. 6С) и процент остатка 7-этоксикумарина в качестве положительного контроля (фиг. 6D).

Фиг. 7А и фиг. 7В: Свободная фракция CLP1 в головном мозге: свободная фракция CLP1 в головном мозге мыши (фиг. 7А) и головном мозге человека (фиг. 7В), измеренная с помощью LCMS.

Фиг. 8А - фиг. 8С: Фармакокинетика CLP1 у мышей дикого типа: концентрации CLP1 в плазме (фиг. 8А), целом головном мозге (фиг. 8В) и спинномозговой жидкости (фиг. 8С) в течение 1-24 часов после инъекции, определенные с помощью LCMS/MS.

Фиг. 9А - фиг. 9С: Однократная инъекция CLP1 у мышей дикого типа: CLP1 продемонстрировал сильную тенденцию к повышению BDNF через 4 часа (фиг. 9А). Анализ post-hoc показал значительный зависящий от времени эффект ($p=0,0438$) CLP1 в отношении уровней BDNF, определенный с помощью двухфакторного анализа ANOVA (не показан). CLP1 значительно повышал уровни PGC1 α в течение 2-4 часов после инъекции (фиг. 9В) и транскрипционного фактора EB (TFEB) в течение 2-8 часов после инъекции (фиг. 8С). Среднее \pm SEM.

Фиг. 10А - фиг. 10В: 7-дневная ежедневная обработка CLP1 у мышей дикого типа: CLP1 и CPX значительно повышали PGC1 α в обеих суточных дозах 0,2 мг/кг и 2 мг/кг CLP1 и 13 мг/кг CPX (фиг. 10А) и GRN в обеих суточных дозах 0,2 мг/кг и 2 мг/кг для CLP1 и 13 мг/кг для CPX (фиг. 10С). CLP1 (0,2 мг/кг) и CPX (13 мг/кг) значительно повышал уровни BDNF после однократного подкожного введения дозы в сутки (фиг. 10В).

Фиг. 11А - фиг. 11F: CLP1 улучшает поведение в модели болезни Хантингтона на

мышь R6/2: схема исследования PoC из Примера 11 (фиг. 11A). CLP1 и CPX не изменяли массу тела (фиг. 11B). CLP1 значительно улучшал поведение по сцеплению конечностей у получавших лечение мышей R6/2 в возрасте 9 и 14 недель, а CPX улучшал поведение по сцеплению только в 9 недель (фиг. 11C). Значительных эффектов в тесте с вращающимся стержнем не наблюдалось (фиг. 11D). Кривая Каплана-Майера показывает кумулятивную выживаемость (фиг. 11E), где CLP1 повышал среднюю выживаемость получавших лечение мышей R6/2 на 7 суток и медианную выживаемость – на 13 суток (фиг. 11F) в данной сложной модели болезни Хантингтона.

Фиг. 12A - фиг. 12D: CLP1 улучшает поведение в модели болезни Паркинсона у мышей (модель с МРТР (1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридин)): схема дизайна эксперимента из Примера 12 (фиг. 12A). Поведенческий тест и биохимический анализ проводили в сутки 10. Лечение с помощью CLP1 значительно повышало расстояние, пройденное в тесте в открытом поле, для 2 мг/кг (фиг. 12B). CLP1 полностью восстановил силу захвата при дозировках как 0,2, так и 2 мг/кг (фиг. 12C). Масса тела животных после инъекции МРТР сначала снижалась и постепенно увеличивалась в ходе исследования, в то время как МРТР значительно изменил массу тела в конечной точке по сравнению с не получавшими лечения мышами (имитация), получавшие лечение CLP1 мыши не демонстрировали значительного изменения массы тела в конечной точке по сравнению с группой имитации (фиг. 12D).

Фиг. 13A и фиг. 13B: CLP1 повышает выживание нейронов в модели болезни Паркинсона у мышей (модель с МРТР): положительные по тирозингидроксилазе (TH)⁺ нейроны в компактном слое черной субстанции (SNpc) от 6 мышей были иммунологически окрашены и подсчитаны в качестве меры выживания дофаминэргических нейронов. Количество положительных клеток было выражено как среднее значение трех срезов мозга. Показаны иллюстративные изображения из каждой группы (фиг. 13A). Определение TH-окрашивания демонстрирует значительный эффект CLP1 (0,2 мг/кг) в отношении выживания TH⁺ нейронов (фиг. 13B).

Фиг. 14A - фиг. 14F: CLP1 обеспечивает удаление и уменьшает распространение PFF (предварительно сформированные фибриллы) человеческого α -синуклеина *in vivo*: показана схема дизайна эксперимента из Примера 13 (фиг. 14A). Местом инъекции было миндалевидное тело, и как ипсилатеральное, так и контралатеральное распространение PFF в компактной части черной субстанции и миндалевидном теле оценивали после 32 суток лечения (фиг. 14B). Показаны иллюстративные изображения черной субстанции

(фиг. 14С) и миндалевидного тела (фиг. 14D). CLP1 значительно уменьшил количество включений PFF как с ипсилатеральной стороны черной субстанции (SN), так и с контрлатеральной стороны миндалевидного тела, при этом также продемонстрировав четкую тенденцию к уменьшению ипсилатерального включения в миндалевидном теле (фиг. 14E). Один головной мозг был иммунологически окрашен в отношении TH+ нейронов и визуализирован (фиг. 14F). Окрашивание TH четко показывает потерю дофаминергических стриарных дофаминергических окончаний у крыс, которым вводили плацебо, поскольку сигнал был почти полностью потерян в месте инъекции. Лечение с помощью CLP1 заметно сохранило дофаминергические окончания.

Фиг. 15: данные для FSL: крысы FSL в возрасте 8 недель получали лечение один раз в сутки с помощью 0,2 мг/кг или 2 мг/кг CLP1 или 13 мг/кг CPX в течение 8 суток в 4,38 mM L-His, 140 mM NaCl, 0,2% Tween-20 и 1500МЕ гиалуронидазы (pH 6,15). После лечения уровни BDNF в гиппокампе оценивали с помощью вестер-блоттинга с нормализацией по бета-актину. На графике изображена денситометрическая количественная оценка полос вестерн-блоттинга. Уровни BDNF были нормализованы к уровням BDNF у контрольных крыс (FRL).

Фиг. 16А - фиг. 16F: CLP1 увеличивает время бодрствования у крыс Вистар Киото: эффект кетамина и CLP1 на бодрствование (фиг. 16А), при сне NREM (фиг. 16В) и REM (фиг. 16С) через 0-3 часа после инъекции, и бодрствование (фиг. 16D) при сне NREM (фиг. 16Е) и REM (фиг. 16F) через 11-12 часов после инъекции.

Фиг. 17А - фиг. 17D: Стабильность CLP1-CLP10 и LLP1-LLP10 в головном мозге и в плазме: стабильность пептидов CLP1 и LLP1-LLP10 в плазме (фиг. 17А) и гомогенате головного мозга мыши (фиг. 17С) и стабильность пептидов CLP1-CLP10 в плазме (фиг. 17В) и гомогенате головного мозга мыши (фиг. 17D).

Фиг. 18А - фиг. 18D: Эффекты CLP1-CLP10 и LLP1-LLP10 в отношении генов-мишеней CREB: эффект в отношении уровней BDNF для CLP1-CLP10 (фиг. 18А) и CLP1 и LLP1-LLP10 (фиг. 18В) и PGC1a для CLP1-CLP10 (фиг. 18С) и CLP1 и LLP1-LLP10 (фиг. 18D) после 8-24 часов стимуляции с соответствующими пептидами на первичных кортикальных нейронах.

Фиг. 19А и фиг. 19В: CLP1 и CLP10 обеспечивают удаление растворимого мутантного НТТ из фибробластов, полученных от пациентов с болезнью Хантингтона (GM04719): пептиды CLP1 и CLP10 значительно снижали уровни мутантного хантингтина (mНТТ) в фибробластах, полученных от пациентов с болезнью Хантингтона (GM04719),

на 50% после 24 часов лечения (определено с применением антитела MW1, специфичного к полиглутаминовой растяжке) (фиг. 19А) и демонстрировали снижение общих уровней НТТ (фиг. 19В).

Фиг. 20А - фиг. 20D: Фармакокинетика выбранного пептида у мышей дикого типа: концентрации циклических пептидов в плазме (фиг. 20А) и головном мозге (фиг. 20С) через 1-48 часов, определенные с помощью LCMS/MS. Рассчитаны фармакокинетические показатели для плазмы (фиг. 20В) и головного мозга (фиг. 20D).

Фиг. 21А - фиг. 21С: Эффективность выбранных пептидов *in vivo* у мышей дикого типа: CLP1 значительно повышал уровни BDNF (фиг. 21А) и тропомиозинрецепторной киназы В (TrkB) наряду с CLP4 (фиг. 21С). Все варианты существенно повышали уровни PGC1a (фиг. 21В).

Фиг. 22А - фиг. 22D: Физическая стабильность CLP10 в трех буферах: CLP10 демонстрировал фибрилляцию в буфере при pH 4,5 (фиг. 22А), при этом он стабилен в буферных системах как с pH 6,5 (фиг. 22В), так и с pH 7,5 (фиг. 22С) с применением анализа ThT. Положительный контроль представлен на фиг. 22D.

Фиг. 23А и фиг. 23В: Свободная фракция CLP1 и CLP10 головного мозга: свободная фракция CLP1 и CLP10 головного мозга в головном мозге мыши (фиг. 23А) и головном мозге человека (фиг. 23В), измеренная с помощью LCMS.

Фиг. 24А и фиг. 24В: Фармакокинетика CLP10: уровни CLP10 стабильны как в плазме (фиг. 24А), так и в головном мозге (фиг. 24В) через 24 часа после инъекции.

Фиг. 25: Липидированные пептиды LLP11, LLP12 и CLP11 повышают BDNF *in vivo*: уровни BDNF у мышей дикого типа через 4-8 часов после инъекции.

Фиг. 26: Идентификация более коротких последовательностей с активностью (CP13-CP17): активность CLP1 и нелипидированных циклических пептидов (CP13-CP17 и CPX).

Фиг. 27А и фиг. 27В: Стабильность циклических нелипидированных пептидов CP1-CP12: стабильность пептидов в головном мозге (фиг. 27А) и плазме (фиг. 27В).

Фиг. 28А - фиг. 28С: Эффективность нелипидированных циклических пептидов CP5-CP12 *in vivo*: CP6, CP7 и CP10 значительно повышали уровни TFEB (фиг. 28А). CP5, CP7 и CP9 значительно повышали уровни BDNF (фиг. 28В). CP5, CP6, CP7, CP8 и CP10 значительно повышали уровни PGC1a (фиг. 28С).

Фиг. 29: Влияние изменения аминокислот на активность (CP18-CP22): уровни BDNF первичных кортикальных нейронов после лечения нелипидированными

циклическими пептидами (CP18-CP22 и CPX) по сравнению с CLP1.

Фиг. 30: Влияние различного липидирования на активность (CLP12-CLP15): уровни BDNF первичных кортикальных нейронов после лечения липидированными циклическими пептидами (CLP12-CP15) по сравнению с CLP1.

Фиг. 31A - фиг. 31C: CLP1 повышает GRN и восстанавливает лизосомные дефициты в GRN-гетерозиготной модели лобно-височной деменции (FTD) у мышей: Ежедневное подкожное введение CLP1 (0,2 мг/кг) в течение 7 суток у GRN-гетерозиготных мышей повышает уровни GRN (фиг. 31A) и нормализует лизосомные белки LAMP1 (фиг. 31B) и p62 (фиг. 31C).

Фиг. 32A - Фиг. 32I: CLP1 восстанавливает поведенческий фенотип в модели болезни Хантингтона zQ175: мыши zQ175 демонстрируют сниженную массу тела по сравнению с однопотомниками дикого типа, и лечение не оказывало эффекта на массу тела (фиг. 32A). Оценивали время до падения в поведенческом тесте с вращающимся стержнем (фиг. 32B). В возрасте 12 месяцев время до падения для групп лечения (CPX и CLP1) имело тенденцию к увеличению по сравнению с zQ175+носитель. Оценивали количество ошибок, допущенных в тесте на прохождение по перекладине (фиг. 32C). CLP1 сокращает количество ошибок, допущенных в возрасте 12 месяцев, что также значительно по сравнению с получавшей CPX группой. График, полученный при анализе методом главных компонент для данных из анализа в домашней клетке (фиг. 32D), и анализ иерархической дендрограммы (фиг. 32E) демонстрируют восстановление поведенческого фенотипа в модели HD у мышей zQ175 с помощью лечения CLP1, при этом лечение CPX также приводит к заметному восстановлению. Оценивали индивидуальные поведенческие параметры для CPX и CLP1 (фиг. 32F и фиг. 32G, соответственно). Мыши zQ175 демонстрируют более высокие уровни NfL в CSF и крови по сравнению с диким типом (фиг. 32H и фиг. 32I), и лечение с помощью CLP1 и CPX демонстрирует тенденцию к снижению этого явления.

Фиг. 33A и фиг. 33B: CLP1 повышает GBA в полученных из iPSC (индуцированные плюрипотентные стволовые клетки) дофаминергических нейронах человека: уровни TFEB и GC-азы в полученных из hIPSC дофаминергических нейронах после лечения с помощью CLP1.

Краткое описание последовательностей

SEQ ID NO: 1	Циклический липидированный пептид CLP1
SEQ ID NO: 2	Циклический липидированный пептид CLP2

SEQ ID NO: 3	Циклический липидированный пептид CLP3
SEQ ID NO: 4	Циклический липидированный пептид CLP4
SEQ ID NO: 5	Циклический липидированный пептид CLP5
SEQ ID NO: 6	Циклический липидированный пептид CLP6
SEQ ID NO: 7	Циклический липидированный пептид CLP7
SEQ ID NO: 8	Циклический липидированный пептид CLP8
SEQ ID NO: 9	Циклический липидированный пептид CLP9
SEQ ID NO: 10	Циклический липидированный пептид CLP10
SEQ ID NO: 11	Циклический липидированный пептид CLP11
SEQ ID NO: 12	Циклический липидированный пептид CLP12
SEQ ID NO: 13	Циклический липидированный пептид CLP13
SEQ ID NO: 14	Циклический липидированный пептид CLP14
SEQ ID NO: 15	Циклический липидированный пептид CLP15
SEQ ID NO: 16	Линейный липидированный пептид LLP1
SEQ ID NO: 17	Линейный липидированный пептид LLP2
SEQ ID NO: 18	Линейный липидированный пептид LLP3
SEQ ID NO: 19	Линейный липидированный пептид LLP4
SEQ ID NO: 20	Линейный липидированный пептид LLP5
SEQ ID NO: 21	Линейный липидированный пептид LLP6
SEQ ID NO: 22	Линейный липидированный пептид LLP7
SEQ ID NO: 23	Линейный липидированный пептид LLP8
SEQ ID NO: 24	Линейный липидированный пептид LLP9
SEQ ID NO: 25	Линейный липидированный пептид LLP10
SEQ ID NO: 26	Линейный липидированный пептид LLP11
SEQ ID NO: 27	Линейный липидированный пептид LLP12
SEQ ID NO: 28	Циклический пептид CP1
SEQ ID NO: 29	Циклический пептид CP2
SEQ ID NO: 30	Циклический пептид CP3
SEQ ID NO: 31	Циклический пептид CP4
SEQ ID NO: 32	Циклический пептид CP5
SEQ ID NO: 33	Циклический пептид CP6
SEQ ID NO: 34	Циклический пептид CP7
SEQ ID NO: 35	Циклический пептид CP8

SEQ ID NO: 36	Циклический пептид CP9
SEQ ID NO: 37	Циклический пептид CP10
SEQ ID NO: 38	Циклический пептид CP11
SEQ ID NO: 39	Циклический пептид CP12
SEQ ID NO: 40	Циклический пептид CP13
SEQ ID NO: 41	Циклический пептид CP14
SEQ ID NO: 42	Циклический пептид CP15
SEQ ID NO: 43	Циклический пептид CP16
SEQ ID NO: 44	Циклический пептид CP17
SEQ ID NO: 45	Циклический пептид CP18
SEQ ID NO: 46	Циклический пептид CP19
SEQ ID NO: 47	Циклический пептид CP20
SEQ ID NO: 48	Циклический пептид CP21
SEQ ID NO: 49	Циклический пептид CP22
SEQ ID NO: 50	Нативный фрагмент SorCS2
SEQ ID NO: 51	Вариабельная пептидная последовательность 1
SEQ ID NO: 52	Вариабельная пептидная последовательность 2
SEQ ID NO: 53	Вариабельная пептидная последовательность 3
SEQ ID NO: 54	Вариабельная пептидная последовательность 4
SEQ ID NO: 55	Вариабельная пептидная последовательность 5
SEQ ID NO: 56	Вариабельная пептидная последовательность 6
SEQ ID NO: 57	Вариабельная пептидная последовательность 7
SEQ ID NO: 58	Вариабельная пептидная последовательность 8
SEQ ID NO: 59	Вариабельная пептидная последовательность 9
SEQ ID NO: 60	Вариабельная пептидная последовательность 10
SEQ ID NO: 61	Вариабельная пептидная последовательность 11
SEQ ID NO: 62	Вариабельная пептидная последовательность 12
SEQ ID NO: 63	Циклический пептид CPX

Подробное описание изобретения

В первом аспекте предложен липидированный циклический пептид, содержащий последовательность:

	X ₂ -	X ₃ -	E -	H -	X ₄ -	E	(SEQ ID No. 51)
положение	1	2	3	4	5	6	

где:

X_2 представляет собой P, D, Q, K, G

X_3 представляет собой I, L, A, T, V

X_4 представляет собой E, A,

или его соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли.

Липидированный циклический пептид может содержать последовательность:

	X_2 -	X_3 -	E -	H -	X_4 -	E	(SEQ ID No. 51)
положение	1	2	3	4	5	6	

где:

X_2 представляет собой P, D, Q, K, G

X_3 представляет собой I, L, A, T, V

X_4 представляет собой E, A,

или предложена его соль. В частности, пептид циклизован по основной цепи, и все остатки основной цепи указанного пептида соединены исключительно пептидными связями.

Во втором аспекте предложен циклический пептид, содержащий последовательность:

	X_2 -	X_3 -	E -	H -	X_4 -	E	(SEQ ID No. 51)
положение	1	2	3	4	5	6	

где:

X_2 представляет собой P, D, Q, K, G

X_3 представляет собой I, L, A, T, V

X_4 представляет собой E, A,

или его соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли, где, если X_2 представляет собой P, то X_3 отличается от V.

Циклический пептид может содержать последовательность:

	X_2 -	X_3 -	E -	H -	X_4 -	E	(SEQ ID No. 51)
положение	1	2	3	4	5	6	

где:

X_2 представляет собой P, D, Q, K, G

X_3 представляет собой I, L, A, T, V

X_4 представляет собой E, A,

или предложена его соль, где, если X_2 представляет собой P, то X_3 отличается от V. В

частности, пептид циклизован по основной цепи, и все остатки основной цепи указанного пептида соединены исключительно пептидными связями.

В третьем аспекте предложен циклический пептид, содержащий 10 или менее аминокислотных остатков внутри цикла и содержащий последовательность:

	X ₂ -	X ₃ -	E -	H -	X ₄ -	E	(SEQ ID No. 51)
положение	1	2	3	4	5	6	

где:

X₂ представляет собой P, D, Q, K, G

X₃ представляет собой I, L, A, T, V

X₄ представляет собой E, A,

или его соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли.

Циклический пептид может содержать 10 или менее аминокислотных остатков в цикле и содержать последовательность:

	X ₂ -	X ₃ -	E -	H -	X ₄ -	E	(SEQ ID No. 51)
положение	1	2	3	4	5	6	

где:

X₂ представляет собой P, D, Q, K, G

X₃ представляет собой I, L, A, T, V

X₄ представляет собой E, A,

или предложена его соль. В частности, пептид циклизован по основной цепи, и все остатки основной цепи указанного пептида соединены исключительно пептидными связями.

В четвертом аспекте предложен липидированный линейный пептид, содержащий последовательность:

	X ₂ -	X ₃ -	E -	H -	X ₄ -	E	(SEQ ID No. 51)
положение	1	2	3	4	5	6	

где:

X₂ представляет собой P, D, Q, K, G

X₃ представляет собой I, L, A, T, V

X₄ представляет собой E, A,

или его соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли.

Липидированный линейный пептид может содержать последовательность:

	X ₂ -	X ₃ -	E -	H -	X ₄ -	E	(SEQ ID No. 51)
--	------------------	------------------	-----	-----	------------------	---	-----------------

положение 1 2 3 4 5 6

где:

X₂ представляет собой P, D, Q, K, G

X₃ представляет собой I, L, A, T, V

X₄ представляет собой E, A,

или предложена его соль. В частности, все остатки основной цепи пептида соединены исключительно пептидными связями.

В пятом аспекте предложен линейный пептид, содержащий последовательность:

X₂ - X₃ - E - H - X₄ - E (SEQ ID No. 51)

положение 1 2 3 4 5 6

где:

X₂ представляет собой P, D, Q, K, G

X₃ представляет собой I, L, A, T, V

X₄ представляет собой E, A,

или его соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли, где, если X₂ представляет собой P, то X₃ отличается от V.

Линейный пептид может содержать последовательность:

X₂ - X₃ - E - H - X₄ - E (SEQ ID No. 51)

положение 1 2 3 4 5 6

где:

X₂ представляет собой P, D, Q, K, G

X₃ представляет собой I, L, A, T, V

X₄ представляет собой E, A,

или предложена его соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли, где, если X₂ представляет собой P, то X₃ отличается от V. В частности, все остатки основной цепи указанного пептида соединены исключительно пептидными связями.

В шестом аспекте предложен линейный пептид, содержащий 10 или менее аминокислотных остатков в основной цепи и содержащий последовательность:

X₂ - X₃ - E - H - X₄ - E (SEQ ID No. 51)

положение 1 2 3 4 5 6

где:

X₂ представляет собой P, D, Q, K, G

X₃ представляет собой I, L, A, T, V

X₄ представляет собой E, A,

или его соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли.

Линейный пептид может содержать 10 или менее аминокислотных остатков в основной цепи и содержать последовательность:

	X ₂ -	X ₃ -	E -	H -	X ₄ -	E	(SEQ ID No. 51)
положение	1	2	3	4	5	6	

где:

X₂ представляет собой P, D, Q, K, G

X₃ представляет собой I, L, A, T, V

X₄ представляет собой E, A,

или предложена его соль. В частности, все остатки основной цепи пептида соединены исключительно пептидными связями.

Пептиды

«Пептид» представляет собой полимер из аминокислотных остатков, как правило соединенных исключительно пептидными связями.

В некоторых воплощениях пептиды могут быть модифицированы. Конкретные модификации включают N-концевое ацетилирование и/или C-концевое амидирование. В некоторых воплощениях пептиды не содержат модификаций боковых цепей. В других воплощениях пептиды не являются модифицированными.

Некоторые описанные в настоящем документе пептиды являются циклическими. Пептид может, как правило, быть циклизован четырьмя различными способами: боковая цепь-к-боковой цепи, хвост-к боковой цепи (то есть C-конец к боковой цепи), боковая цепь-к-голове (то есть N-конец к боковой цепи) или голова-к-хвосту. В настоящем документе термин «циклизованный пептид голова-к-хвосту» используется взаимозаменяемо с термином «пептид, циклизованный по основной цепи».

В одном воплощении циклический пептид представляет собой пептид, циклизованный по основной цепи. В одном воплощении циклический пептид получен путем образования амидной связи между его N-концевой и его C-концевой частями, то есть путем циклизации голова-к-хвосту. В некоторых воплощениях пептид циклизован по принципу боковая цепь-к-боковой цепи, и основная цепь пептида присоединена исключительно пептидными связями. В некоторых воплощениях пептид циклизован по принципу хвост-к-боковой цепи, и основная цепь пептида присоединена исключительно пептидными связями. В некоторых воплощениях пептид циклизован по принципу боковая

цепь-к-голове, и основная цепь пептида соединена исключительно пептидными связями.

В некоторых воплощениях циклические пептиды содержат 25 или менее аминокислотных остатков внутри цикла, например 20 или менее аминокислотных остатков внутри цикла (например, содержат 20 аминокислотных остатков внутри цикла), в частности 15 или менее аминокислотных остатков внутри цикла (например, содержат 15 аминокислотных остатков внутри цикла), в частности 12 или менее аминокислотных остатков внутри цикла (например, содержат 12 аминокислотных остатков внутри цикла), например 11 или менее аминокислотных остатков внутри цикла (например, содержат 11 аминокислотных остатков внутри цикла).

В некоторых воплощениях циклические пептиды содержат 6 или более аминокислотных остатков внутри цикла, например 7 или более аминокислотных остатков внутри цикла (например, содержат 7 аминокислотных остатков внутри цикла), в частности 8 или более аминокислотных остатков внутри цикла (например, содержат 8 аминокислотных остатков внутри цикла), в частности 9 или более аминокислотных остатков внутри цикла (например, содержат 9 аминокислотных остатков внутри цикла), например 10 или более аминокислотных остатков внутри цикла (например, содержат 10 аминокислотных остатков внутри цикла). В некоторых воплощениях циклические пептиды содержат 11 или более аминокислотных остатков внутри цикла (например, содержат 11 аминокислотных остатков внутри цикла).

В некоторых воплощениях линейные пептиды содержат 25 или менее аминокислотных остатков в основной цепи, например 20 или менее аминокислотных остатков в основной цепи (например, содержат 20 аминокислотных остатков в основной цепи), в частности 15 или менее аминокислотных остатков в основной цепи (например, содержат 15 аминокислотных остатков в основной цепи), в частности 12 или менее аминокислотных остатков в основной цепи (например, содержат 12 аминокислотных остатков в основной цепи), например 11 или менее аминокислотных остатков в основной цепи (например, содержат 11 аминокислотных остатков в основной цепи).

В некоторых воплощениях линейные пептиды содержат 6 или более аминокислотных остатков в основной цепи, таких как 7 или более аминокислотных остатков в основной цепи (например, содержат 7 аминокислотных остатков в основной цепи), в частности 8 или более аминокислотных остатков в основной цепи (например, содержат 8 аминокислотных остатков в основной цепи), в частности 9 или более аминокислотных остатков в основной цепи (например, содержат 9 аминокислотных

остатков в основной цепи), например 10 или более аминокислотных остатков в основной цепи (например, содержит 10 аминокислотных остатков в основной цепи). В некоторых воплощениях линейные пептиды содержат 11 или более аминокислотных остатков в основной цепи (например, содержат 11 аминокислотных остатков в основной цепи).

В некоторых воплощениях пептиды содержат последовательность:

	E -	X ₂ -	X ₃ -	E -	H -	X ₄ -	E	(SEQ ID No. 52)
положение	0	1	2	3	4	5	6	

где:

X₂ представляет собой P, D, Q, K, G

X₃ представляет собой I, L, A, T, V

X₄ представляет собой E, A,

или предложена их соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли.

В некоторых воплощениях пептиды содержат последовательность:

	E -	X ₂ -	X ₃ -	E -	H -	X ₄ -	E	(SEQ ID No. 52)
положение	0	1	2	3	4	5	6	

где:

X₂ представляет собой P, D, Q, K, G

X₃ представляет собой I, L, A, T, V

X₄ представляет собой E, A,

или предложена их соль.

В некоторых воплощениях пептиды содержат последовательность:

	X ₂ -	X ₃ -	E -	H -	X ₄ -	E -	D	(SEQ ID No. 53)
положение	1	2	3	4	5	6	7	

где:

X₂ представляет собой P, D, Q, K, G

X₃ представляет собой I, L, A, T, V

X₄ представляет собой E, A,

или предложена их соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли.

В некоторых воплощениях пептиды содержат последовательность:

	X ₂ -	X ₃ -	E -	H -	X ₄ -	E -	D	(SEQ ID No. 53)
положение	1	2	3	4	5	6	7	

где:

X₂ представляет собой P, D, Q, K, G

X₃ представляет собой I, L, A, T, V

X₄ представляет собой E, A,

или предложена их соль.

В некоторых воплощениях пептиды содержат последовательность:

	T -	E -	X ₂ -	X ₃ -	E -	H -	X ₄ -	E	(SEQ ID No. 54)
положение	-1	0	1	2	3	4	5	6	

где:

X₂ представляет собой P, D, Q, K, G

X₃ представляет собой I, L, A, T, V

X₄ представляет собой E, A,

или предложена их соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли.

В некоторых воплощениях пептиды содержат последовательность:

	T -	E -	X ₂ -	X ₃ -	E -	H -	X ₄ -	E	(SEQ ID No. 54)
положение	-1	0	1	2	3	4	5	6	

где:

X₂ представляет собой P, D, Q, K, G

X₃ представляет собой I, L, A, T, V

X₄ представляет собой E, A,

или предложена их соль.

В некоторых воплощениях пептиды содержат последовательность:

	E -	X ₂ -	X ₃ -	E -	H -	X ₄ -	E -	D	(SEQ ID No. 55)
положение	0	1	2	3	4	5	6	7	

где:

X₂ представляет собой P, D, Q, K, G

X₃ представляет собой I, L, A, T, V

X₄ представляет собой E, A,

или предложена их соль, или консервативно замещенный вариант указанного пептида или соли.

В некоторых воплощениях пептиды содержат последовательность:

	E -	X ₂ -	X ₃ -	E -	H -	X ₄ -	E -	D	(SEQ ID No. 55)
--	-----	------------------	------------------	-----	-----	------------------	-----	---	-----------------

положение 0 1 2 3 4 5 6 7

где:

X₂ представляет собой P, D, Q, K, G

X₃ представляет собой I, L, A, T, V

X₄ представляет собой E, A,

или предложена их соль.

В некоторых воплощениях пептиды содержат последовательность:

X₂ - X₃ - E - H - X₄ - E - D - V (SEQ ID No. 56)

положение 1 2 3 4 5 6 7 8

где:

X₂ представляет собой P, D, Q, K, G

X₃ представляет собой I, L, A, T, V

X₄ представляет собой E, A,

или предложена их соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли.

В некоторых воплощениях пептиды содержат последовательность:

X₂ - X₃ - E - H - X₄ - E - D - V (SEQ ID No. 56)

положение 1 2 3 4 5 6 7 8

где:

X₂ представляет собой P, D, Q, K, G

X₃ представляет собой I, L, A, T, V

X₄ представляет собой E, A,

или предложена их соль.

В некоторых воплощениях пептиды содержат последовательность:

X₁ - T - E - X₂ - X₃ - E - H - X₄ - E (SEQ ID No. 57)

положение -2 -1 0 1 2 3 4 5 6

где:

X₁ представляет собой M, K

X₂ представляет собой P, D, Q, K, G

X₃ представляет собой I, L, A, T, V

X₄ представляет собой E, A,

или предложена их соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли.

В некоторых воплощениях пептиды содержат последовательность:

	X ₁ -	T -	E -	X ₂ -	X ₃ -	E -	H -	X ₄ -	E (SEQ ID No. 57)
положение	-2	-1	0	1	2	3	4	5	6

где:

X₁ представляет собой M, K

X₂ представляет собой P, D, Q, K, G

X₃ представляет собой I, L, A, T, V

X₄ представляет собой E, A,

или предложена их соль.

В некоторых воплощениях пептиды содержат последовательность:

	T -	E -	X ₂ -	X ₃ -	E -	H -	X ₄ -	E -	D (SEQ ID No. 58)
положение	-1	0	1	2	3	4	5	6	7

где:

X₂ представляет собой P, D, Q, K, G

X₃ представляет собой I, L, A, T, V

X₄ представляет собой E, A,

или предложена их соль, или консервативно замещенный вариант указанного пептида или его соли.

В некоторых воплощениях пептиды содержат последовательность:

	T -	E -	X ₂ -	X ₃ -	E -	H -	X ₄ -	E -	D (SEQ ID No. 58)
положение	-1	0	1	2	3	4	5	6	7

где:

X₂ представляет собой P, D, Q, K, G

X₃ представляет собой I, L, A, T, V

X₄ представляет собой E, A,

или предложена их соль.

В некоторых воплощениях пептиды содержат последовательность:

	E -	X ₂ -	X ₃ -	E -	H -	X ₄ -	E -	D -	V (SEQ ID No. 59)
положение	0	1	2	3	4	5	6	7	8

где:

X₂ представляет собой P, D, Q, K, G

X₃ представляет собой I, L, A, T, V

X₄ представляет собой E, A,

или предложена их соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли.

В некоторых воплощениях пептиды содержат последовательность:

	E -	X ₂ -	X ₃ -	E -	H -	X ₄ -	E -	D -	V	(SEQ ID No. 59)
положение	0	1	2	3	4	5	6	7	8	

где:

X₂ представляет собой P, D, Q, K, G

X₃ представляет собой I, L, A, T, V

X₄ представляет собой E, A,

или предложена их соль.

В некоторых воплощениях пептиды содержат последовательность:

	X ₁ -	T -	E -	X ₂ -	X ₃ -	E -	H -	X ₄ -	E -	D	(SEQ ID No. 60)
положение	-2	-1	0	1	2	3	4	5	6	7	

где:

X₁ представляет собой M, K

X₂ представляет собой P, D, Q, K, G

X₃ представляет собой I, L, A, T, V

X₄ представляет собой E, A,

или предложена их соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли.

В некоторых воплощениях пептиды содержат последовательность:

	X ₁ -	T -	E -	X ₂ -	X ₃ -	E -	H -	X ₄ -	E -	D	(SEQ ID No. 60)
положение	-2	-1	0	1	2	3	4	5	6	7	

где:

X₁ представляет собой M, K

X₂ представляет собой P, D, Q, K, G

X₃ представляет собой I, L, A, T, V

X₄ представляет собой E, A,

или предложена их соль.

В некоторых воплощениях пептиды содержат последовательность:

(SEQ ID No. 61)

	T -	E -	X ₂ -	X ₃ -	E -	H -	X ₄ -	E -	D -	V
положение	-1	0	1	2	3	4	5	6	7	8

где:

X₂ представляет собой P, D, Q, K, G

X₃ представляет собой I, L, A, T, V

X₄ представляет собой E, A,

или предложена их соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли.

В некоторых воплощениях пептиды содержат последовательность:

(SEQ ID No. 61)

	T -	E -	X ₂ -	X ₃ -	E -	H -	X ₄ -	E -	D -	V
положение	-1	0	1	2	3	4	5	6	7	8

где:

X₂ представляет собой P, D, Q, K, G

X₃ представляет собой I, L, A, T, V

X₄ представляет собой E, A,

или предложена их соль.

В некоторых воплощениях пептиды содержат последовательность:

(SEQ ID No. 62)

	X ₁ -	T -	E -	X ₂ -	X ₃ -	E -	H -	X ₄ -	E -	D -	V
положение	-2	-1	0	1	2	3	4	5	6	7	8

где:

X₁ представляет собой M, K

X₂ представляет собой P, D, Q, K, G

X₃ представляет собой I, L, A, T, V

X₄ представляет собой E, A,

или предложена их соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли.

В некоторых воплощениях пептиды содержат последовательность:

(SEQ ID No. 62)

	X ₁ -	T -	E -	X ₂ -	X ₃ -	E -	H -	X ₄ -	E -	D -	V
положение	-2	-1	0	1	2	3	4	5	6	7	8

где:

X_1 представляет собой M, K

X_2 представляет собой P, D, Q, K, G

X_3 представляет собой I, L, A, T, V

X_4 представляет собой E, A,

или предложена их соль.

В некоторых воплощениях X_1 представляет собой M. В других воплощениях X_1 представляет собой K.

В некоторых воплощениях X_2 представляет собой P. В других воплощениях X_2 представляет собой D. В других воплощениях X_2 представляет собой Q. В дополнительных воплощениях X_2 представляет собой K. В некоторых воплощениях X_2 представляет собой G.

В некоторых воплощениях X_3 представляет собой I. В других воплощениях X_3 представляет собой L. В других воплощениях X_3 представляет собой A. В дополнительных воплощениях X_3 представляет собой T. В некоторых воплощениях X_3 представляет собой V.

В некоторых воплощениях X_4 представляет собой E. В других воплощениях X_4 представляет собой A.

Как будет понятно специалисту, некоторые аминокислотные остатки могут быть заменены другими аминокислотными остатками без заметного влияния на функцию (например, стабильность и/или активность). Такие замены обычно известны как консервативные замены. Как правило, консервативно замещенный вариант сохраняет по меньшей мере 50%, например по меньшей мере 80%, и в частности по меньшей мере 90% (например, по меньшей мере 100%) соответствующей функциональной возможности незамещенной референсной последовательности. Например, функциональная возможность увеличивать BDNF, PGC1 α , TFEB и/или фосфо-CREB (Ser133), например, с применением анализа, описанного в настоящем документе (например, Пример 10). В качестве альтернативы функциональная возможность может быть $t_{1/2}$, AUC или C_{max} , например с применением анализа, описанного в настоящем документе (например, Пример 9), в частности $t_{1/2}$ в головном мозге.

Консервативно замещенный вариант может включать две консервативные замены. В качестве альтернативы консервативно замещенный вариант может включать одну консервативную замену.

В некоторых воплощениях пептиды не содержат консервативных замен.

Конкретные консервативные замены можно определить эмпирически, хотя часто подходящие замены известны, например, как показано в таблице 1.

Таблица 1 – Частые консервативные замены

Аминокислота	Частая консервативная замена
A	D, E, G, S, T
C	G, R, S, W, Y
D	A, E, G, H, N, V, Y
E	A, D, G, K, Q, V
F	I, L, Y
G	A, C, D, E, R
H	D, L, N, P, Q, R, Y
I	F, L, M, N, V
K	E, M, N, Q, R, T
L	F, H, I, M, P, Q, R, V, W
M	I, K, L, R, T, V
N	D, H, I, K, S, T, Y
P	H, L, Q, R, S
Q	E, H, K, L, P, R
R	C, G, H, K, L, M, P, Q, T, W
S	A, C, N, P, T, W, Y
T	A, K, M, N, R, S
V	D, E, I, L, M
W	C, L, R, S
Y	C, D, F, H, N, S

Соответственно, в некоторых воплощениях вариант содержит замену X_1 в положении -2. X_1 может представлять собой замену для M, такую как I, (K), L, R, T, V. В качестве альтернативы X_1 может представлять собой замену для K, такую как E, (M), N, Q, R, T. X_1 может быть заменен на E, N, Q, R, T I, L или V.

В некоторых воплощениях вариант содержит замену T в положении -1, например замену на A, K, M, N, R или S, в частности A, K, M, N или R.

В некоторых воплощениях вариант содержит замену E в положении 0, например замену на A, D, G, K, Q или V, в частности G, K, Q или V.

В некоторых воплощениях вариант содержит замену X_2 в положении 1. X_2 может представлять собой замену для P, например H, L, (Q), R или S, в частности H, L, (Q) или R. В качестве альтернативы X_2 может представлять собой замену для D, например A, E, (G), H, N, V или Y. X_2 может представлять собой замену для Q, например E, H, (K), L, (P) или R. X_2 может представлять собой замену для K, например E, M, N, (Q), R, T. X_2 может

представлять собой замену для G, например A, C, (D), E или R. X₂ может быть заменен на A, C, E, H, L, M, N, R, S, T, V или Y, в частности A, E, H, L, M, N, R, T, V или Y.

В некоторых воплощениях вариант содержит замену X₃ в положении 2. X₃ может представлять собой замену для I, например F, (L), M, N или (V). В качестве альтернативы X₃ может представлять собой замену для L, например F, H, (I), M, P, Q, R, (V) или W. X₃ может представлять собой замену для A, например D, E, G, S или T, в частности D, E, G или T. X₃ может представлять собой замену для T, например (A), K, M, N, R или S, в частности (A), K, M, N или R. X₃ может представлять собой замену для V, например D, E, (I), (L) или M. X₃ может быть заменен на D, E, F, G, H, K, M, N, P, Q, S или W, в частности D, E, F, G, H, K, M, N, P, Q или W.

В некоторых воплощениях вариант содержит замену E в положении 3, например замену на A, D, G, K, Q или V, в частности G, K, Q или V.

В некоторых воплощениях вариант содержит замену H в положении 4, например замену на D, L, N, P, Q, R или Y.

В некоторых воплощениях вариант содержит замену X₄ в положении 5. X₄ может представлять собой замену для E, например (A), D, G, K, Q или V. В качестве альтернативы X₄ может представлять собой замену для D, например H, N или Y. X₄ может представлять собой замену для A, например D, (E), G, S или T, в частности D, E, G или T. X₄ может быть заменен на G, K, Q, S, T или V, в частности G, K, Q, T или V.

В некоторых воплощениях вариант содержит замену E в положении 6, например замену на A, D, G, K, Q или V.

В некоторых воплощениях вариант содержит замену D в положении 7, например замену на A, E, G, H, N, V или Y.

В некоторых воплощениях вариант содержит замену V в положении 8, например замену на D, E, I, L или M.

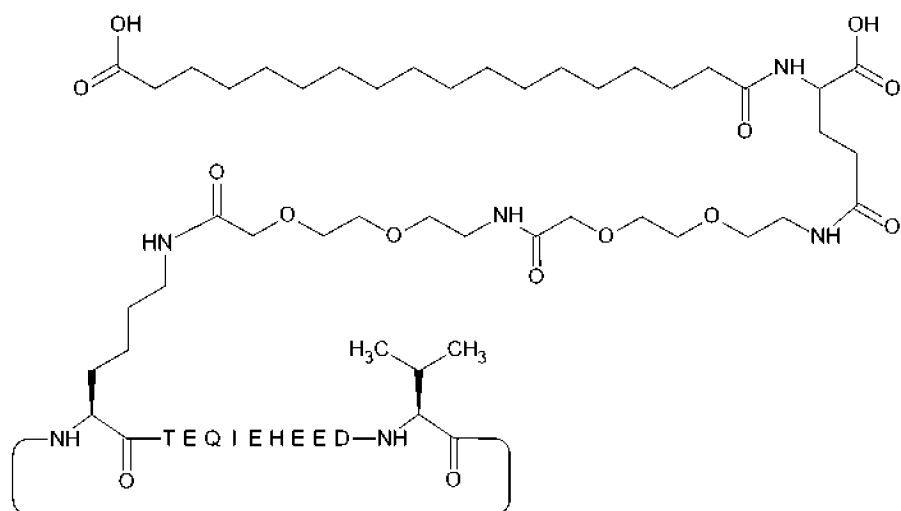
Подходящим образом, пептид содержит аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID No. 1-11, 16-42 или 49. Такие пептиды могут быть представлены в форме соли, например фармацевтически приемлемой соли.

Подходящим образом, пептид состоит из любой последовательности из CLP1-CLP11, LLP1-LLP12, CP1-CP15 или CP22 (как описано в таблицах 2 и 3). Такие пептиды могут быть представлены в форме соли, например фармацевтически приемлемой соли. Более подходящим образом, пептид состоит из CLP1 или его соли, например фармацевтически приемлемой соли.

Таблица 2 – Обзор липидированных пептидов

Пептид (SEQ ID No.)	Конформация	Аминокислотная последовательность												
Нативный фрагмент SorCS2 (50)	Линейная		M	T	S	P	V	S	H	S	E	D	V	
CLP1 (1)	Циклическая		(K*	T	E	Q	I	E	H	E	E	D	V)	
CLP2 (2)	Циклическая		(K*	T	E	K	V	E	H	E	E	D	V)	
CLP3 (3)	Циклическая		(K*	T	E	K	I	E	H	E	E	D	V)	
CLP4 (4)	Циклическая		(K*	T	E	D	V	E	H	E	E	D	V)	
CLP5 (5)	Циклическая		(K*	T	E	D	I	E	H	E	E	D	V)	
CLP6 (6)	Циклическая		(K*	T	E	Q	V	E	H	E	E	D	V)	
CLP7 (7)	Циклическая		(K	T	E	K*	V	E	H	E	E	D	V)	
CLP8 (8)	Циклическая		(K	T	E	K*	I	E	H	E	E	D	V)	
CLP9 (9)	Циклическая		(M	T	E	K*	V	E	H	E	E	D	V)	
CLP10 (10)	Циклическая		(M	T	E	K*	I	E	H	E	E	D	V)	
CLP11 (11)	Циклическая		(K*	T	E	P	V	E	H	E	E	D	V)	
CLP12 (12)	Циклическая		(K*	T	D	P	V	D	H	D	E	D	V)	
CLP13 (13)	Циклическая		(K**	T	E	P	V	E	H	E	E	D	V)	
CLP14 (14)	Циклическая		(K***	T	E	P	V	E	H	E	E	D	V)	
CLP15 (15)	Циклическая		(K****	T	E	P	V	E	H	E	E	D	V)	
LLP1 (16)	Линейная	Ac	K*	T	E	K	V	E	H	E	E	D	V	NH ₂
LLP2 (17)	Линейная	Ac	K*	T	E	K	I	E	H	E	E	D	V	NH ₂
LLP3 (18)	Линейная	Ac	K*	T	E	D	V	E	H	E	E	D	V	NH ₂
LLP4 (19)	Линейная	Ac	K*	T	E	D	I	E	H	E	E	D	V	NH ₂
LLP5 (20)	Линейная	Ac	K*	T	E	Q	V	E	H	E	E	D	V	NH ₂
LLP6 (21)	Линейная	Ac	K*	T	E	Q	I	E	H	E	E	D	V	NH ₂
LLP7 (22)	Линейная	Ac	K	T	E	K*	V	E	H	E	E	D	V	NH ₂
LLP8 (23)	Линейная	Ac	K	T	E	K*	I	E	H	E	E	D	V	NH ₂
LLP9 (24)	Линейная	Ac	M	T	E	K*	V	E	H	E	E	D	V	NH ₂
LLP10 (25)	Линейная	Ac	M	T	E	K*	I	E	H	E	E	D	V	NH ₂

Пептид (SEQ ID No.)	Конформация	Аминокислотная последовательность												
		Ac	K*	T	E	P	V	E	H	E	E	D	V	NH ₂
LLP11 (26)	Линейная	Ac	K*	T	E	P	V	E	H	E	E	D	V	NH ₂
LLP12 (27)	Линейная		K*EQEM	T	E	P	V	E	H	E	E	D	V	NH ₂
*= C18DA- γ Glu-OEG-OEG- **= C18- γ Glu-OEG-OEG- ***= C14DA- γ Glu-OEG-OEG- ****= Холестерин-OEG-OEG-														



CLP1

В CLP1 C18DA- γ Glu-OEG-OEG- может представлять собой C18DA-L- γ Glu-OEG-OEG. В качестве альтернативы, в CLP1 C18DA- γ Glu-OEG-OEG- может представлять собой C18DA-D- γ Glu-OEG-OEG.

Таблица 3 – Обзор нелипидированных пептидов

Пептид (SEQ ID No.)	Конформация	Аминокислотная последовательность										
		M	T	S	P	V	S	H	S	E	D	V
Нативный фрагмент SorCS2 (50)	Линейная	M	T	S	P	V	S	H	S	E	D	V
CP1 (28)	Циклическая	(M	T	E	P	I	E	H	E	E	D	V)
CP2 (29)	Циклическая	(M	T	E	P	L	E	H	E	E	D	V)
CP3 (30)	Циклическая	(M	T	E	P	A	E	H	E	E	D	V)
CP4 (31)	Циклическая	(M	T	E	P	T	E	H	E	E	D	V)

Пептид (SEQ ID No.)	Конформация	Аминокислотная последовательность										
		(M	T	E	G	V	E	H	E	E	D	V)
CP5 (32)	Циклическая	(M	T	E	G	V	E	H	E	E	D	V)
CP6 (33)	Циклическая	(M	T	E	D	V	E	H	E	E	D	V)
CP7 (34)	Циклическая	(M	T	E	K	V	E	H	E	E	D	V)
CP8 (35)	Циклическая	(M	T	E	Q	V	E	H	E	E	D	V)
CP9 (36)	Циклическая	(M	T	E	Q	I	E	H	E	E	D	V)
CP10 (37)	Циклическая	(M	T	E	D	I	E	H	E	E	D	V)
CP11 (38)	Циклическая	(M	T	E	Q	L	E	H	E	E	D	V)
CP12 (39)	Циклическая	(M	T	E	D	L	E	H	E	E	D	V)
CP13 (40)	Циклическая		(T	E	P	V	E	H	E	E	D)	
CP14 (41)	Циклическая		(T	E	P	V	E	H	E	E)		
CP15 (42)	Циклическая			(E	P	V	E	H	E	E)		
CP16 (43)	Циклическая			(E	P	V	E	H	E)			
CP17 (44)	Циклическая				(P	V	E	H	E)			
CP18 (45)	Циклическая	(M	T	E	P	V	D	H	D	E	D	V)
CP19 (46)	Циклическая	(M	T	D	P	V	D	H	E	E	D	V)
CP20 (47)	Циклическая	(M	T	A	P	V	E	H	E	E	D	V)
CP21 (48)	Циклическая	(M	T	E	P	V	A	H	E	E	D	V)
CP22 (49)	Циклическая	(M	T	E	P	V	E	H	A	E	D	V)
CPX (63)*	Циклическая	(M	T	E	P	V	E	H	E	E	D	V)

* описан в WO2022029281

Желательно, чтобы пептиды и их консервативно замещенные варианты демонстрировали улучшенную функциональную способность, например функциональную способность увеличивать BDNF, PGC1a, TFEB и/или фосфо-CREB (Ser133) и/или $t_{1/2}$, AUC или C_{max} (в частности, все из BDNF, PGC1a, TFEB, фосфо-CREB (Ser133), $t_{1/2}$, AUC и C_{max}) по сравнению с CPX. Наиболее подходящим образом, пептиды и их консервативно замещенные варианты демонстрируют функциональную способность, например функциональную способность увеличивать BDNF, PGC1a, TFEB и/или фосфо-CREB (Ser133), и/или $t_{1/2}$, AUC и/или C_{max} (в частности, все из BDNF, PGC1a, TFEB, фосфо-CREB (Ser133), $t_{1/2}$, AUC и C_{max}) по сравнению с по меньшей мере одним эквивалентом CLP1.

Желательно, чтобы пептиды согласно настоящему изобретению демонстрировали одно или более (например, все) из следующих свойств:

- стабильность *in vitro* – отсутствие фибрилляции при pH 6,5 и 7,5, предпочтительно при pH 4,5, pH 6,5 и pH 7,5 (например, способом из Примера 5);
- стабильность *in vivo* – $t_{1/2}$ по меньшей мере 1 час, предпочтительно по меньшей мере 4 часа, в частности по меньшей мере 8 часов (например, способом из Примера 9). Желательно, чтобы $t_{1/2}$ определяли в головном мозге.

Липидирование

Как описано выше, некоторые пептиды согласно настоящему изобретению являются липидированными. Подходы к липидированию рассмотрены в литературе, включая: Østergaard, 1993; Bech, 2018; van Witteloostuijn, 2016. В источнике Kurtzhals, 2023 представлена дополнительная информация о липидировании.

Хотя для липидирования можно использовать ряд остатков, включая Cys и Tug, липидирование удобно проводить в боковой цепи остатка Lys. Липидирование желательно проводить в направлении N-конца пептида. В настоящем изобретении липидированный остаток Lys соответствующим образом расположен в X₁ (положение -2) или X₂ (положение 1).

Липидирование может включать замену нативного аминокислотного остатка остатком, более поддающимся липидированию.

Линкерная группа обычно используется для отделения липидной цепи от пептида.

Линкер может содержать остаток γ Glu, в частности L- γ Glu. В качестве альтернативы линкер может содержать (i) L-Asp, L-Glu или D-Glu, в частности L-Glu или D-Glu (ii) бутаноил-сульфонамид. Линкер может содержать множество остатков (например, 2, 3 или 4), например множество L- γ Glu (например, 2, 3 или 4), но может удобным образом содержать один остаток, например один L- γ Glu.

Линкерная группа может также содержать спейсер, например единицы OEG, например 1-4, например 2. Линкерная группа может содержать b-Ala вместо единиц OEG.

Типичные липидные цепи включают карбоновые кислоты, например кислоты C16, C18, C20 и дикарбоновые кислоты, например, дикислоты C18DA, C20DA. Однако в некоторых случаях могут использоваться и другие длины и типы цепей, например изостеры карбоновых кислот, такие как сульфоновая кислота или тетразолы и т. п. Подходящая липидная цепь представляет собой C16DA, C18DA или C20DA, в частности C18DA или C20DA, и в частности C18DA.

Подходящим образом, пептид липидирован с помощью C18DA- γ Glu-OEG-OEG-, например C18DA-L- γ Glu-OEG-OEG или, например, C18DA-D- γ Glu-OEG-OEG.

Как правило, пептид имеет единственное липидирование.

Оптимальный выбор типа и места липидирования может зависеть от структуры конкретного пептида.

Способы получения пептидов

Пептиды согласно настоящему изобретению могут быть получены любыми способами, известными в данной области. Таким образом, пептиды могут быть получены стандартными методиками получения пептидов, например посредством синтеза в растворе или твердофазного синтеза типа синтеза Меррифилда (как показано в Примерах 1 и 2).

В одном воплощении пептид согласно настоящему изобретению изготовлен или получен синтетически. Методы синтетического получения пептидов хорошо известны в данной области. Подробные описания, а также практические советы по получению синтетических пептидов можно найти в *Synthetic Peptides: A User's Guide (Advances in Molecular Biology)*, Grant G. A. ed., Oxford University Press, 2002, или в: *Pharmaceutical Formulation: Development of Peptides and Proteins*, Frokjaer and Hovgaard eds., Taylor and Francis, 1999. В одном воплощении пептид или пептидные последовательности согласно настоящему изобретению получают синтетически, в частности методом пептидного синтеза с помощью последовательности (SAPS), посредством синтеза в растворе, посредством твердофазного пептидного синтеза (SPPS), например твердофазного синтеза типа синтеза Меррифилда.

После очистки линейных пептидов, например с помощью обращенно-фазовой HPLC, линейные пептиды могут быть далее обработаны до циклических пептидов. Методики циклизации пептида и получения циклического пептида, например, с использованием твердой подложки, известны (как проиллюстрировано в Примере 2).

В одном аспекте настоящее изобретение относится к способу получения липидированного циклического пептида согласно настоящему изобретению, где указанный способ включает стадии:

(i) получения липидированного линейного пептида, имеющего соответствующую аминокислотную последовательность, и

(ii) последующего образования циклизованного пептида из линейного пептида.

В одном аспекте настоящее изобретение включает способ получения циклического

пептида согласно настоящему изобретению, включающий стадии:

- (i) получения линейного пептида, имеющего соответствующую аминокислотную последовательность, и
- (ii) последующего образования циклизованного пептида из указанного линейного пептида.

Соответствующая аминокислотная последовательность представляет собой последовательность, которая при циклизации обеспечивает образование предполагаемого циклического пептида (например, CLP1-CLP11, CP1-CP15 или CP22). Для пептида с циклизацией по боковой цепи или по типу «голова к боковой цепи» или «хвост к боковой цепи» необходима линейная последовательность в нормальном порядке остатков от N-конца к С-концу. Однако пептид, циклизованный по основной цепи, например состоящий из CP1, может быть получен из линейного пептида MTEPIENEEDV, VMTEPIENEED или тому подобного.

Линейный пептид, как правило, будет соединен исключительно пептидными связями. Циклизованный пептид, как правило, будет соединен исключительно пептидными связями. Циклизованный пептид может быть циклизован по основной цепи.

Синтетическое получение линейного пептида может потребовать, и это является преимуществом, наличия защитных групп боковой цепи на некоторых или всех остатках, содержащих боковые цепи, которые могут быть реакционноспособными, и защитные группы боковой цепи могут быть или не быть удалены, или могут быть удалены и повторно введены, в зависимости от конкретной последовательности, до образования циклизованного пептида, например пептида, циклизованного по основной цепи. Если некоторая защита боковой цепи присутствует во время образования циклизованного пептида, например пептида, циклизованного по основной цепи, она может впоследствии быть удалена с образованием незащищенного циклизованного пептида. При получении пептида, циклизованного не по основной цепи, защитные группы могут присутствовать на N- или С-концах по мере необходимости.

Линейный пептид и/или циклизованный пептид (или их защищенные версии в зависимости от ситуации) могут быть представлены в форме соли, в частности фармацевтически приемлемой соли.

В настоящем изобретении предложен линейный пептид или его защищенная версия, которая при циклизации обеспечивает циклический пептид, описанный в настоящем документе, или его защищенную версию. В настоящем изобретении

предложен линейный пептид или его защищенная по боковой цепи версия, которая при циклизации обеспечивает циклический пептид, описанный в настоящем документе, или его защищенную по боковой цепи версию.

В настоящем изобретении предложен липидированный линейный пептид или его защищенная версия, которая при циклизации обеспечивает липидированный циклический пептид, описанный в настоящем документе, или его защищенную версию. В настоящем изобретении предложен липидированный линейный пептид или его защищенная по боковой цепи версия, которая при циклизации обеспечивает липидированный циклический пептид, описанный в настоящем документе, или его защищенную по боковой цепи версию.

Защищенные циклические пептиды и защищенные липидированные циклические пептиды также являются частью настоящего изобретения.

Аминокислотные защитные группы известны специалисту и обсуждаются, например, в Isidro-Llobet et al, *Chem Rev* 2009 109 2455-2504, и Chandrudu et al, *Molecules* 2013 18(4):4373-4388. Типичные защиты боковых цепей включают: Arg(Pbf), Asn(Trt), Asp(OtBu), Cys(Trt), Gln(Trt), Glu(OtBu), His(Trt), Lys(Boc), Ser(tBu), Thr(tBu) и Tyr(tBu).

Промежуточные продукты, используемые при получении пептидов (то есть липидированный циклический, циклический, липидированный линейный или линейный и варианты любого из них) включают такие пептиды или их защищенную версию, ковалентно связанную с твердой подложкой. Ковалентное связывание с твердой подложкой может быть прямым с или через спейсерную группу.

Медицинские применения

Как продемонстрировано в примерах в настоящем документе, пептиды согласно настоящему изобретению могут способствовать очищению от вызывающих заболевания агрегатов, выживанию нейронов и улучшать митохондриальную, а также лизосомную функцию.

Подходящим образом, пептиды (липидированный циклический, циклический, липидированный линейный или линейный и варианты любого из них) согласно настоящему изобретению или их соли, в частности фармацевтически приемлемые соли, способны повышать уровни BDNF. Более подходящим образом, уровни BDNF повышаются по меньшей мере на 30% между 0 и 24 часами после введения в анализе из Примера 10.

Подходящим образом, пептиды (липидированный циклический, циклический,

липидированный линейный или линейный и варианты любого из них) согласно настоящему изобретению или их соли, в частности фармацевтически приемлемые соли, способны повышать уровни фосфо-CREB (Ser133). Более подходящим образом, уровни фосфо-CREB (Ser133) повышаются по меньшей мере на 30% между 0 и 24 часами после введения в анализе из Примера 10.

Подходящим образом, пептиды (липидированный циклический, циклический, липидированный линейный или линейный и варианты любого из них) согласно настоящему изобретению или их соли, в частности фармацевтически приемлемые соли, способны повышать уровни PGC1 α . Более подходящим образом, уровни PGC1 α повышаются по меньшей мере на 30% между 0 и 24 часами после введения в анализе из Примера 10.

Подходящим образом, пептиды (липидированный циклический, циклический, липидированный линейный или линейный и варианты любого из них) согласно настоящему изобретению или их соли, в частности фармацевтически приемлемые соли, способны повышать уровни TFEB. Более подходящим образом, уровни TFEB повышаются по меньшей мере на 30% между 0 и 24 часами после введения в анализе из Примера 10.

Подходящим образом, пептиды (липидированный циклический, циклический, липидированный линейный или линейный и варианты любого из них) согласно настоящему изобретению или их соли, в частности фармацевтически приемлемые соли, способны снижать уровни NfL. Более подходящим образом, уровни NfL уменьшаются по меньшей мере на 10%, в частности по меньшей мере на 20%, в анализе из Примера 31.

Нейродегенеративные заболевания часто связаны с заблокированной нейротрофической сигнализацией, вызванной агрегатами неправильно свернутых белков. В здоровом нейроне множество сигнальных путей, инициированных нейротрофическими факторами роста, сходятся к активации фактора транскрипции CREB, что обеспечивает рост, пластичность нейронов и выживание. Однако при ряде нейродегенеративных заболеваний наблюдается сниженная активация нижестоящего фактора транскрипции CREB.

Отличительной чертой нейродегенеративных заболеваний является агрегация неправильно свернутых белков. Было показано, что мутации, связанные с нейродегенеративными заболеваниями, ослабляют общие механизмы очистки неправильно свернутых белков и поврежденных органелл в клетках.

Влияние введения пептидов согласно настоящему изобретению может быть количественно оценено различными способами. Например, в контексте болезни Хантингтона единая шкала оценки болезни Хантингтона (UHDRS) может применяться в качестве меры двигательной функции, познавательных способностей, отклонений в поведении и функциональных возможностей, которые могут быть улучшены (улучшение обычно происходит относительно отсутствия лечения). Другие маркеры болезни Хантингтона включают измерение мутантного хантингтина в спинномозговой жидкости (CSF) субъекта, которое может быть снижено.

Общий показатель функциональной емкости (TFC) может быть улучшен.

В контексте болезни Паркинсона единая шкала оценки болезни Хантингтона (UPDRS) или спонсируемый Обществом расстройств движения пересмотр Единой шкалы оценки болезни Паркинсона (MDS-UPDRS) могут применяться в качестве оценки как двигательных, так и недвигательных симптомов, связанных с болезнью Паркинсона. Такие способы измерения могут быть улучшены.

В контексте FTD может быть интересен мониторинг PGRN в CSF или плазме.

Уровни легкой цепи нейрофиламента (NfL) в CSF или плазме крови, биомаркера потери нейронов, могут быть снижены.

Магнитно-резонансная томография (MRI) может использоваться для количественной оценки объема мозга, как всего мозга, так и определенных областей. Потеря объема мозга может быть снижена.

В клиническом контексте маркеры функции дофаминергической системы, например радиофармпрепараты PET, могут использоваться для мониторинга эффективности у людей.

В настоящем изобретении предложен липидированный циклический пептид, циклический пептид, липидированный линейный пептид, линейный пептид, вариант любого из них и/или фармацевтически приемлемая соль любого из них, описанные в настоящем документе, для применения в качестве лекарственного средства. В настоящем изобретении также предложены CLP1-CLP11, LLP1-LLP12, CP1-CP15 или CP22, или фармацевтически приемлемая соль любого из них, для применения в качестве лекарственного средства. В частности, в настоящем изобретении предложен CLP1 или любая его фармацевтически приемлемая соль для применения в качестве лекарственного средства.

В некоторых вариантах реализации лекарственное средство предназначено для

профилактического применения. В других воплощениях лекарственное средство предназначено для лечения.

Настоящее изобретение относится к липидированному циклическому пептиду, циклическому пептиду, липидированному линейному пептиду, линейному пептиду, варианту любого из них и/или фармацевтически приемлемой соли любого из них, описанным в настоящем документе, для лечения или профилактики заболевания или расстройства, выбранного из группы, состоящей из нейродегенеративных заболеваний, протеинопатий, лизосомных болезней накопления, митохондриальных расстройств, психических расстройств и других связанных с BDNF расстройств. Настоящее изобретение также относится к липидированному циклическому пептиду, циклическому пептиду, липидированному линейному пептиду, линейному пептиду, варианту любого из них и/или фармацевтически приемлемой соли любого из них, описанным в настоящем документе, для лечения заболевания или расстройства, выбранного из группы, состоящей из нейродегенеративных заболеваний, протеинопатий, лизосомных болезней накопления, митохондриальных расстройств, психических расстройств и других связанных с BDNF расстройств. Кроме того, предложен липидированный циклический пептид, циклический пептид, липидированный линейный пептид, линейный пептид, вариант любого из них и/или фармацевтически приемлемая соль любого из них, описанные в настоящем документе, для профилактики заболевания или расстройства, выбранного из группы, состоящей из нейродегенеративных заболеваний, протеинопатий, лизосомных болезней накопления, митохондриальных расстройств, психических расстройств и других связанных с BDNF расстройств.

Кроме того, предложено применение липидированного циклического пептида, циклического пептида, липидированного линейного пептида, линейного пептида, варианта любого из них и/или фармацевтически приемлемой соли любого из них, описанных в настоящем документе, в изготовлении лекарственного средства для лечения или профилактики заболевания или расстройства, выбранного из группы, состоящей из нейродегенеративных заболеваний, протеинопатий, лизосомных болезней накопления, митохондриальных расстройств, психических расстройств и других связанных с BDNF расстройств. Также предложено применение липидированного циклического пептида, циклического пептида, липидированного линейного пептида, линейного пептида, варианта любого из них и/или фармацевтически приемлемой соли любого из них, описанных в настоящем документе, в изготовлении лекарственного средства для лечения

заболевания или расстройства, выбранного из группы, состоящей из нейродегенеративных заболеваний, протеинопатий, лизосомных болезней накопления, митохондриальных расстройств, психических расстройств и других связанных с BDNF расстройств. В настоящем изобретении предложено применение липидированного циклического пептида, циклического пептида, липидированного линейного пептида, линейного пептида, варианта любого из них и/или фармацевтически приемлемой соли любого из них, описанных в настоящем документе, в изготовлении лекарственного средства для профилактики заболевания или расстройства, выбранного из группы, состоящей из нейродегенеративных заболеваний, протеинопатий, лизосомных болезней накопления, митохондриальных расстройств, психических расстройств и других связанных с BDNF расстройств.

Предложен способ лечения или профилактики заболевания или расстройства у субъекта, где указанное заболевание или расстройство выбрано из группы, состоящей из нейродегенеративных заболеваний, протеинопатий, лизосомных болезней накопления, связанных с митохондриальной дисфункцией расстройств, психических расстройств и связанных с BDNF расстройств, где указанный способ включает введение субъекту липидированного циклического пептида, циклического пептида, липидного линейного пептида, линейного пептида, варианта любого из них и/или фармацевтически приемлемой соли любого из них, описанных в настоящем документе. Кроме того, предложен способ лечения заболевания или расстройства у субъекта, где указанное заболевание или расстройство выбрано из группы, состоящей из нейродегенеративных заболеваний, протеинопатий, лизосомных болезней накопления, связанных с митохондриальной дисфункцией расстройств, психических расстройств и связанных с BDNF расстройств, где указанный способ включает введение субъекту липидированного циклического пептида, циклического пептида, липидированного линейного пептида, линейного пептида, варианта любого из них и/или фармацевтически приемлемой соли любого из них, описанных в настоящем документе. Кроме того, предложен способ профилактики заболевания или расстройства у субъекта, где указанное заболевание или расстройство выбрано из группы, состоящей из нейродегенеративных заболеваний, протеинопатий, лизосомных болезней накопления, связанных с митохондриальной дисфункцией расстройств, психических расстройств и связанных с BDNF расстройств, где указанный способ включает введение субъекту липидированного циклического пептида, циклического пептида, липидированного линейного пептида, линейного пептида,

варианта любого из них и/или фармацевтически приемлемой соли любого из них, описанных в настоящем документе.

В одном воплощении заболевание или расстройство представляет собой нейродегенеративное заболевание, в частности нейродегенеративное заболевание, связанное с уменьшением BDNF, восстановлением с BDNF, митохондриальной дисфункцией и/или лизосомной дисфункцией.

В одном воплощении заболевание или расстройство выбрано из группы, состоящей из болезни Хантингтона, болезни Паркинсона, болезни Альцгеймера, лобно-височной деменции (в частности, у субъектов с гаплонедостаточностью GRN), ALS (бокового амиотрофического склероза), рассеянного склероза, наследственных атаксий, расстройства двигательных нейронов и сосудистой деменции. В одном воплощении заболевание или расстройство представляет собой болезнь Хантингтона. В одном воплощении заболевание или расстройство представляет собой болезнь Паркинсона (PD), например, у субъекта с моноаллельной мутацией в GBA1 (Stoker, 2018 – включено посредством ссылки для раскрытия конкретных мутаций, связанных с PD), патогенные мутации включают N370S, L444P, R463C, G10S, N426K, R48W и R257Q. В одном воплощении заболевание или расстройство представляет собой болезнь Альцгеймера. В одном варианте осуществления заболевание или расстройство представляет собой лобно-височную деменцию. В одном воплощении заболевание или расстройство представляет собой лобно-височную деменцию у субъектов с гаплонедостаточностью GRN.

В одном воплощении заболевание или расстройство представляет собой протеинопатию, в частности протеинопатию, связанную с агрегацией белков. В одном воплощении протеинопатия выбрана из группы, состоящей из прионных заболеваний, альфа-синуклеинопатий, тауопатий, C9orf72-зависимого ALS/FTD, деменции с тельцами Леви, деменции с амилоидными бляшками, болезни Хантингтона, TDP-43-положительного ALS/FTD и наследственных атаксий.

В одном воплощении заболевание или расстройство представляет собой лизосомную болезнь накопления, в частности лизосомную болезнь накопления, связанную с лизосомной дисфункцией. В одном воплощении лизосомная болезнь накопления выбрана из группы, состоящей из болезни Нимана-Пика и нейронального цероидного липофусциноза. Лизосомная болезнь накопления может представлять собой болезнь Гоше, например у субъекта с биаллельной мутацией в GBA1 (Sheth, 2019 — включено посредством ссылки для раскрытия конкретных мутаций, связанных с болезнью

Гоше), в одном исследовании p.Leu483Pro была идентифицирована как наиболее часто встречающаяся мутация при болезни Гоше (62% пациентов), p.Arg535Cys (7% пациентов) и RecNcil (7% пациентов).

В одном воплощении заболевание или расстройство представляет собой связанное с митохондриальной дисфункцией расстройство. В одном воплощении связанное с митохондриальной дисфункцией расстройство выбрано из группы, состоящей из митохондриальных миопатий и синдрома Лея.

В одном воплощении заболевание или расстройство представляет собой психическое расстройство, в частности психическое расстройство, связанное с ассоциацией гена или функции SorCS2 или ассоциацией BDNF или TrkB. В одном воплощении психическое расстройство выбрано из биполярного расстройства, депрессии, шизофрении, расстройств аутистического спектра, тревожности и ADHD. Подходящим образом, заболевание или расстройство представляет собой депрессию.

В одном воплощении заболевание или расстройство представляет собой другое связанное с BDNF расстройство. В одном воплощении связанное с BDNF расстройство, выбрано из группы, состоящей из синдрома WAGR (в частности, гаплонедостаточности BDNF), инсульта и эпилепсии.

Термин «лечение» или «осуществление лечения», используемый в настоящем документе, включает контроль, смягчение, уменьшение или модуляцию заболевания или расстройства или его симптомов.

Термин «профилактика» используется в настоящем документе для обозначения предупреждения симптомов заболевания или расстройства у субъекта или предупреждения рецидива симптомов заболевания или расстройства у субъекта, страдающего заболеванием, и не ограничивается полным предупреждением заболевания.

Подходящим образом, субъект представляет собой человека.

В некоторых воплощениях липидированный циклический пептид, циклический пептид, липидированный линейный пептид, линейный пептид, вариант любого из них и/или фармацевтически приемлемая соль любого из них предназначены для лечения, то есть введения субъекту, имеющему состояние, заболевание или расстройство. Терапевтическое применение может быть направлено на смягчение или облегчение симптомов или осложнений; задержку прогрессирования состояния, заболевания или расстройства; вылечивание или устранение состояния, заболевания или расстройства.

«Лечебный эффект» или «терапевтический эффект» проявляется, если есть

изменение в состоянии, подвергаемом лечению, измеряемое критериями, составляющими определение терминов «осуществление лечения» и «лечение». «Изменение» в состоянии, подвергаемом лечению, имеется, если есть улучшение по меньшей мере на 5%, предпочтительно на 10%, более предпочтительно по меньшей мере на 25%, еще более предпочтительно по меньшей мере на 50%, например по меньшей мере на 75%, и наиболее предпочтительно по меньшей мере на 100% по одному или более параметрам. Изменение может быть основано на улучшении(ях) в отношении тяжести состояния, подвергаемого лечению, у индивидуума или на разнице в частоте улучшенных состояний в популяциях индивидуумов с и без лечения липидированным циклическим пептидом, циклическим пептидом, липидированным линейным пептидом, линейным пептидом, вариантом любого из них и/или фармацевтически приемлемой солью любого из них.

Подходящим образом, липидированный циклический пептид, циклический пептид, липидированный линейный пептид, линейный пептид, вариант любого из них и/или фармацевтически приемлемую соль любого из них вводят субъекту, нуждающемуся в этом. Подходящим образом, пептид согласно настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемую соль вводят в безопасном и эффективном количестве, то есть в количестве, обеспечивающем приемлемый баланс желаемых преимуществ и нежелательных побочных эффектов. «Безопасное и эффективное количество» подразумевает количество, эффективное для достижения желаемого эффекта в терапии и/или профилактике. Желательный эффект обычно является клинически значимым и/или измеримым, например, в контексте (а) предотвращения состояния, заболевания или расстройства, возникающих, в частности, когда субъект предрасположен или находится в группе риска, но ему еще не поставлен диагноз; (b) подавления состояния, заболевания или расстройства, то есть замедления или остановки его развития; и/или (с) облегчения состояния, заболевания или расстройства, то есть обеспечения регресса состояния, заболевания или расстройства или уменьшения связанных с ними симптомов. Безопасное и эффективное количество может быть таким, которое достаточно для достижения желаемого эффекта, либо когда пептид согласно настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемую соль вводят отдельно, или, альтернативно, когда их вводят в сочетании с одним или более дополнительными активными фармацевтическими ингредиентами, которые либо представляют собой другие пептиды согласно настоящему изобретению, либо их фармацевтически приемлемые соли, либо отличаются от пептидов согласно настоящему изобретению.

В одном воплощении настоящего изобретения липидированный циклический пептид, циклический пептид, липидированный линейный пептид, линейный пептид, вариант любого из них и/или фармацевтически приемлемую соль любого из них вводят в дозах от 1 мкг/сутки до 200 мг/сутки.

В одном воплощении настоящего изобретения вводят одну разовую дозу пептида, которая может составлять от 1 мкг/кг массы тела до 100 мг/кг массы тела, например от 1 мкг/кг массы тела до 10 мг/кг массы тела. Предпочтительная доза составляет от примерно 0,1 мг/кг до примерно 10 мг/кг, и в частности предпочтительная доза составляет от примерно 0,1 мг/кг до примерно 5 мг/кг. Доза согласно настоящему изобретению может быть введена один или несколько раз в сутки. Доза также может быть введена с прерывистыми интервалами или интервалами, при которых дозу не вводят каждые сутки. Вместо этого одну или несколько доз можно вводить каждые вторые сутки, каждые третьи сутки, каждые четвертые сутки, каждые пятые сутки, каждые шестые сутки, каждую неделю, каждую вторую неделю, каждую третью неделю, каждую четвертую неделю, каждую пятую неделю, каждую шестую неделю или в интервалы в пределах этих диапазонов (например, каждые 2–4 недели или 4–6 недель).

Следует понимать, что предпочтительный путь введения будет зависеть от общего состояния и возраста субъекта, подлежащего лечению, природы состояния, подлежащего лечению, местоположения в организме ткани, подлежащей лечению, и выбранного пептида согласно настоящему изобретению.

В одном воплощении настоящего изобретения путь введения позволяет липидированному циклическому пептиду, циклическому пептиду, липидированному линейному пептиду, варианту любого из них и/или фармацевтически приемлемой соли любого из них преодолевать гематоэнцефалический барьер.

Для системного лечения согласно настоящему изобретению путь введения обеспечивает введение в кровоток липидированного циклического пептида, циклического пептида, липидированного линейного пептида, линейного пептида, варианта любого из них и/или фармацевтически приемлемого соли любого из них, чтобы в конечном итоге воздействовать на участки желаемого действия. Такие пути введения представляют собой любые подходящие пути, например *парентеральный* путь (включая подкожное, внутримышечное, интратекальное, внутримозговое, внутривенное и внутрикожное введение). Парентеральное введение представляет собой любой путь введения, не являющийся пероральным/энтеральным путем, посредством которого лекарственное

средство избегает первичной деградации в печени. Соответственно, парентеральное введение включает любые инъекции и инфузии, например болюсную инъекцию или непрерывную инфузию, например внутривенное введение, внутримышечное введение или подкожное введение.

В одном воплощении введение осуществляют подкожно, например путем инъекции. В одном воплощении введение осуществляют внутримышечно, например путем инъекции. В одном воплощении введение осуществляют внутрикожно, например путем инъекции. В одном воплощении введение осуществляют внутривенно, например путем инъекции.

Фармацевтические композиции

Несмотря на то, что липидированный циклический пептид, циклический пептид, липидированный линейный пептид, линейный пептид, вариант любого из них и/или фармацевтически приемлемую соль любого из них согласно настоящему изобретению возможно вводить в качестве «сырого» пептида, желательнее, чтобы они были представлены в форме фармацевтической композиции. Соответственно, в настоящем изобретении дополнительно предложена фармацевтическая композиция, которая содержит липидированный циклический пептид, циклический пептид, липидированный линейный пептид, линейный пептид, вариант любого из них и/или фармацевтически приемлемую соль любого из них согласно настоящему изобретению и фармацевтически приемлемый носитель. Фармацевтические композиции могут быть получены стандартными методами, например, как описано в Remington: The Science and Practice of Pharmacy 2005, Lippincott, Williams & Wilkins.

Фармацевтически приемлемые носители включают воду. Для лучшей стабильности фармацевтические композиции могут быть сухими и перед введением восстановлены водой (или, например, физиологическим раствором).

Фармацевтически приемлемая композиция для парентерального введения должна иметь физиологически приемлемый pH и физиологически приемлемую осмоляльность.

pH водной композиции может быть скорректирован с учетом компонентов композиции и необходимой пригодности для введения. pH обычно составляет по меньшей мере 4, в частности по меньшей мере 5, в частности по меньшей мере 5,5, например по меньшей мере 6. pH обычно составляет 9 или менее, в частности 8,5 или менее, в частности 8 или менее, например 7,5 или менее. pH может составлять от 4 до 9, в частности от 5 до 8,5, в частности от 5,5 до 8, например, от 6,5 до 7,4 (например, от 6,5 до

7,1).

Для парентерального введения физиологически приемлемая осмоляльность желательна, чтобы избежать чрезмерного изменения клеток или лизиса. Физиологически приемлемая осмоляльность обычно означает, что растворы будут иметь осмоляльность, которая приблизительно соответствует изотонической или является слегка гипертонической. Подходящие для введения композиции будут иметь осмоляльность от 250 до 750 мОсм/кг, в частности от 250 до 550 мОсм/кг, в частности от 270 до 500 мОсм/кг, например от 270 до 400 мОсм/кг.

Другие компоненты, например буферы или стабилизирующие агенты, также могут присутствовать.

Фраза «фармацевтически приемлемый» используется в настоящем документе для обозначения тех материалов, композиций, лекарственных форм и т. п., которые, в рамках здравого медицинского суждения, подходят для применения в контакте с тканями людей и животных, например людей, без чрезмерной токсичности, раздражения, аллергической реакции или другой проблемы или осложнения, соразмерно разумному соотношению пользы/риска.

Следует понимать, что для применения в медицине соли пептидов должны быть фармацевтически приемлемыми. Подходящие фармацевтически приемлемые соли будут очевидны для специалистов в данной области. Фармацевтически приемлемые соли включают описанные в *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 17th ed., Mack Publishing Company, Easton, PA, 1985, p.1418. Такие фармацевтически приемлемые соли включают соли присоединения кислот, образованные с неорганическими кислотами, например, хлористоводородной, бромистоводородной, серной, азотной или фосфорной кислотой, и органическими кислотами, например янтарной, малеиновой, уксусной, фумаровой, лимонной, винной, бензойной, *n*-толуолсульфоновой, метансульфоновой или нафталинсульфоновой кислотой. Фармацевтически приемлемые соли также могут быть образованы с органическими основаниями, например, основными аминами, например с аммиаком, меглумином, трометамином, пиперазином, аргинином, холином, диэтиламином, бензатином или лизином. Соли, которые не считаются фармацевтически приемлемыми, все еще могут быть использованы, например, при получении пептидов и их фармацевтически приемлемых солей, и как таковые включены в объем настоящего изобретения.

Некоторые пептиды могут образовывать соли с одним или более эквивалентами

кислоты или основания. Настоящее изобретение включает в своем объеме все возможные стехиометрические и нестехиометрические формы.

Когда пептиды содержат основную группу, а также свободную кислотную группу, они могут быть цвиттерионными.

Фармацевтические композиции согласно настоящему изобретению могут быть введены совместно с одним или более другими терапевтическими агентами. Объединенное введение двух или более агентов может быть обеспечено несколькими различными путями. Оба они могут быть введены вместе в одной композиции, или они могут быть введены в отдельных композициях как часть комбинированной терапии. Например, один агент может быть введен до или отдельно, после или последовательно, или одновременно, или в одно время с другим.

Настоящее изобретение далее проиллюстрировано со ссылкой на следующие пункты:

Пункты настоящего изобретения

Настоящее изобретение далее проиллюстрировано со ссылкой на следующие пункты:

Пункт А1. Липидированный циклический пептид, содержащий последовательность:

	X ₂ -	X ₃ -	E -	H -	X ₄ -	E
положение	1	2	3	4	5	6

где:

X₂ представляет собой P, D, Q, K, G

X₃ представляет собой I, L, A, T, V

X₄ представляет собой E, A,

или его соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли.

Пункт А2. Липидированный циклический пептид, вариант или соль по п. А1, где указанный пептид циклизован по основной цепи.

Пункт А3. Липидированный циклический пептид, вариант или соль по п. А2, где указанный пептид циклизован по основной цепи, и все остатки указанной основной цепи пептида соединены исключительно пептидными связями.

Пункт А4. Липидированный циклический пептид, вариант или соль по любому из пп. А1-А3, содержащие 25 или менее аминокислотных остатков внутри цикла.

Пункт А5. Липидированный циклический пептид, вариант или соль по п. А4,

содержащие 20 или менее аминокислотных остатков внутри цикла, например содержащие 20 аминокислотных остатков внутри цикла.

- Пункт А6. Липидированный циклический пептид, вариант или соль по п. А5, содержащие 15 или менее аминокислотных остатков внутри цикла, например содержащие 15 аминокислотных остатков внутри цикла.
- Пункт А7. Липидированный циклический пептид, вариант или соль по п. А6, содержащие 12 или менее аминокислотных остатков внутри цикла, например содержащие 12 аминокислотных остатков внутри цикла.
- Пункт А8. Липидированный циклический пептид, вариант или соль по п. А7, содержащие 11 или менее аминокислотных остатков внутри цикла.
- Пункт А9. Липидированный циклический пептид, вариант или соль по любому из пп. А1-А8, содержащие по меньшей мере 7 аминокислотных остатков внутри цикла, например содержащие 7 аминокислотных остатков внутри цикла.
- Пункт А10. Липидированный циклический пептид, вариант или соль по п. А9, содержащие по меньшей мере 8 аминокислотных остатков внутри цикла, например содержащие 8 аминокислотных остатков внутри цикла.
- Пункт А11. Липидированный циклический пептид, вариант или соль по п. А10, содержащие по меньшей мере 9 аминокислотных остатков внутри цикла, например содержащие 9 аминокислотных остатков внутри цикла.
- Пункт А12. Липидированный циклический пептид, вариант или соль по п. А11, содержащие по меньшей мере 10 аминокислотных остатков внутри цикла, например содержащие 10 аминокислотных остатков внутри цикла.
- Пункт А13. Липидированный циклический пептид, вариант или соль по п. А12, содержащие по меньшей мере 11 аминокислотных остатков внутри цикла.
- Пункт А14. Липидированный циклический пептид, вариант или соль по п. А1, содержащие 11 аминокислотных остатков внутри цикла.
- Пункт А15. Липидированный циклический пептид, вариант или соль по любому из пп. А9-А14, содержащие последовательность:

	Е -	Х ₂ -	Х ₃ -	Е -	Н -	Х ₄ -	Е
положение	0	1	2	3	4	5	6

где:

Х₂ представляет собой Р, D, Q, К, G

Х₃ представляет собой I, L, А, Т, V

X₄ представляет собой E, A,

или их соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли.

Пункт A16. Липидированный циклический пептид, вариант или соль по любому из пп. A9-A14, содержащие последовательность:

	X ₂ -	X ₃ -	E -	H -	X ₄ -	E -	D
положение	1	2	3	4	5	6	7

где:

X₂ представляет собой P, D, Q, K, G

X₃ представляет собой I, L, A, T, V

X₄ представляет собой E, A,

или их соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли.

Пункт A17. Липидированный циклический пептид, вариант или соль по любому из пп. A10-A14, содержащие последовательность:

	T -	E -	X ₂ -	X ₃ -	E -	H -	X ₄ -	E
положение	-1	0	1	2	3	4	5	6

где:

X₂ представляет собой P, D, Q, K, G

X₃ представляет собой I, L, A, T, V

X₄ представляет собой E, A,

или их соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли.

Пункт A18. Липидированный циклический пептид, вариант или соль по любому из пп. A10-A14, содержащие последовательность:

	E -	X ₂ -	X ₃ -	E -	H -	X ₄ -	E -	D
положение	0	1	2	3	4	5	6	7

где:

X₂ представляет собой P, D, Q, K, G

X₃ представляет собой I, L, A, T, V

X₄ представляет собой E, A

или их соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли.

Пункт A19. Липидированный циклический пептид, вариант или соль по любому из пп. A10-A14, содержащие последовательность:

	X ₂ -	X ₃ -	E -	H -	X ₄ -	E -	D -	V
положение	1	2	3	4	5	6	7	8

где:

X₂ представляет собой P, D, Q, K, G

X₃ представляет собой I, L, A, T, V

X₄ представляет собой E, A,

или их соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли.

Пункт A20. Липидированный циклический пептид, вариант или соль по любому из пп. A11-A14, содержащие последовательность:

	X ₁ -	T -	E -	X ₂ -	X ₃ -	E -	H -	X ₄ -	E
положение	-2	-1	0	1	2	3	4	5	6

где:

X₁ представляет собой M, K

X₂ представляет собой P, D, Q, K, G

X₃ представляет собой I, L, A, T, V

X₄ представляет собой E, A,

или их соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли.

Пункт A21. Липидированный циклический пептид, вариант или соль по любому из пп. A11-A14, содержащие последовательность:

	T -	E -	X ₂ -	X ₃ -	E -	H -	X ₄ -	E -	D
положение	-1	0	1	2	3	4	5	6	7

где:

X₂ представляет собой P, D, Q, K, G

X₃ представляет собой I, L, A, T, V

X₄ представляет собой E, A,

или их соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли.

Пункт A22. Липидированный циклический пептид, вариант или соль по любому из пп. A11-A14, содержащие последовательность:

	E -	X ₂ -	X ₃ -	E -	H -	X ₄ -	E -	D -	V
положение	0	1	2	3	4	5	6	7	8

где:

X₂ представляет собой P, D, Q, K, G

X₃ представляет собой I, L, A, T, V

X₄ представляет собой E, A,

или их соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли.

Пункт A23. Липидированный циклический пептид, вариант или соль по любому из пп. A12-A14, содержащие последовательность:

	X ₁ -	T -	E -	X ₂ -	X ₃ -	E -	H -	X ₄ -	E -	D
положение	-2	-1	0	1	2	3	4	5	6	7

где:

X₁ представляет собой M, K

X₂ представляет собой P, D, Q, K, G

X₃ представляет собой I, L, A, T, V

X₄ представляет собой E, A,

или их соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли.

Пункт A24. Липидированный циклический пептид, вариант или соль по любому из пп. A12-A14, содержащие последовательность:

	T -	E -	X ₂ -	X ₃ -	E -	H -	X ₄ -	E -	D -	V
положение	-1	0	1	2	3	4	5	6	7	8

где:

X₂ представляет собой P, D, Q, K, G

X₃ представляет собой I, L, A, T, V

X₄ представляет собой E, A,

или их соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли.

Пункт A25. Липидированный циклический пептид, вариант или соль по любому из пп. A13-A14, содержащие последовательность:

	X ₁ -	T -	E -	X ₂ -	X ₃ -	E -	H -	X ₄ -	E -	D -	V
положение	-2	-1	0	1	2	3	4	5	6	7	8

где:

X_1 представляет собой M, K

X_2 представляет собой P, D, Q, K, G

X_3 представляет собой I, L, A, T, V

X_4 представляет собой E, A,

или их соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли.

- Пункт A26. Липидированный циклический пептид, вариант или соль по любому из пп. A1-A25, где X_1 представляет собой M.
- Пункт A27. Липидированный циклический пептид, вариант или соль по любому из пп. A1-A25, где X_1 представляет собой K.
- Пункт A28. Липидированный циклический пептид, вариант или соль по любому из пп. A1-A27, где X_2 представляет собой P.
- Пункт A29. Липидированный циклический пептид, вариант или соль по любому из пп. A1-A27, где X_2 представляет собой D.
- Пункт A30. Липидированный циклический пептид, вариант или соль по любому из пп. A1-A27, где X_2 представляет собой Q.
- Пункт A31. Липидированный циклический пептид, вариант или соль по любому из пп. A1-A27, где X_2 представляет собой K.
- Пункт A32. Липидированный циклический пептид, вариант или соль по любому из пп. A1-A27, где X_2 представляет собой G.
- Пункт A33. Липидированный циклический пептид, вариант или соль по любому из пп. A1-A32, где X_3 представляет собой I.
- Пункт A34. Липидированный циклический пептид, вариант или соль по любому из пп. A1-A32, где X_3 представляет собой L.
- Пункт A35. Липидированный циклический пептид, вариант или соль по любому из пп. A1-A32, где X_3 представляет собой A.
- Пункт A36. Липидированный циклический пептид, вариант или соль по любому из пп. A1-A32, где X_3 представляет собой T.
- Пункт A37. Липидированный циклический пептид, вариант или соль по любому из пп. A1-A32, где X_3 представляет собой V.
- Пункт A38. Липидированный циклический пептид, вариант или соль по любому из пп. A1-A37, где X_4 представляет собой E.

- Пункт A39. Липидированный циклический пептид, вариант или соль по любому из пп. A1-A37, где X_4 представляет собой A.
- Пункт A40. Липидированный циклический пептид, вариант или соль по любому из пп. A13-A14, содержащие последовательность любой из SEQ ID No. 1-11 или их соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли, например состоящий из последовательности любой из SEQ ID No. 1-11 или их соли, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли.
- Пункт A41. Липидированный циклический пептид, вариант или соль по любому из пп. A13-A14, содержащие последовательность SEQ ID No. 1 или их соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли, например состоящий из последовательности SEQ ID No. 1 или их соли, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли.
- Пункт A42. Вариант или его соль по любому из пп. A1-A41, содержащие две консервативные замены.
- Пункт A43. Вариант или его соль по любому из пп. A1-A42, содержащие замену X_1 в положении -2, например замену на E, N, Q, R, T, I, L или V.
- Пункт A44. Вариант или его соль по любому из пп. A1-A42, содержащие замену T в положении -1, например замену на A, K, M, N, R или S, в частности A, K, M, N или R.
- Пункт A45. Вариант или его соль по любому из пп. A1-A42, содержащие замену E в положении 0, например замену на A, D, G, K, Q или V, в частности G, K, Q или V.
- Пункт A46. Вариант или его соль по любому из пп. A1-A42, содержащие замену X_2 в положении 1, например замену на A, C, E, H, L, M, N, R, S, T, V или Y, в частности A, E, H, L, M, N, R, T, V или Y.
- Пункт A47. Вариант или его соль по любому из пп. A1-A42, содержащие замену X_3 в положении 2, например замену на D, E, F, G, H, K, M, N, P, Q, S или W, в частности D, E, F, G, H, K, M, N, P, Q или W.
- Пункт A48. Вариант или его соль по любому из пп. A1-A42, содержащие замену E в положении 3, например замену на A, D, G, K, Q или V, в частности G, K, Q или V.
- Пункт A49. Вариант или его соль по любому из пп. A1-A42, содержащие замену H в

- положении 4, например замену на D, L, N, P, Q, R или Y.
- Пункт A50. Вариант или его соль по любому из пп. A1-A42, содержащие замену X₄ в положении 5, например замену на G, K, Q, S, T или V, в частности G, K, Q, T или V.
- Пункт A51. Вариант или его соль по любому из пп. A1-A42, содержащие замену E в положении 6, например замену на A, D, G, K, Q или V.
- Пункт A52. Вариант или его соль по любому из пп. A1-A42, содержащие замену D в положении 7, например замену на A, E, G, H, N, V или Y.
- Пункт A53. Вариант или его соль по любому из пп. A1-A42, содержащие замену V в положении 8 например замену на D, E, I, L или M.
- Пункт A54. Вариант или его соль по любому из пп. A42-A53, содержащие замену X₁ в положении -2, например замену на E, N, Q, R, T, I, L или V.
- Пункт A55. Вариант или его соль по любому из пп. A42-A53, содержащие замену T в положении -1, например замену на A, K, M, N, R или S, в частности A, K, M, N или R.
- Пункт A56. Вариант или его соль по любому из пп. A42-A53, содержащие замену E в положении 0, например замену на A, D, G, K, Q или V, в частности G, K, Q или V.
- Пункт A57. Вариант или его соль по любому из пп. A42-A53, содержащие замену X₂ в положении 1, например замену на A, C, E, H, L, M, N, R, S, T, V или Y, в частности A, E, H, L, M, N, R, T, V или Y.
- Пункт A58. Вариант или его соль по любому из пп. A42-A53, содержащие замену X₃ в положении 2, например замену на D, E, F, G, H, K, M, N, P, Q, S или W, в частности D, E, F, G, H, K, M, N, P, Q или W.
- Пункт A59. Вариант или его соль по любому из пп. A42-A53, содержащие замену E в положении 3, например замену на A, D, G, K, Q или V, в частности G, K, Q или V.
- Пункт A60. Вариант или его соль по любому из пп. A42-A53, содержащие замену H в положении 4, например замену на D, L, N, P, Q, R или Y.
- Пункт A61. Вариант или его соль по любому из пп. A42-A53, содержащие замену X₄ в положении 5, например замену на G, K, Q, S, T или V, в частности G, K, Q, T или V.
- Пункт A62. Вариант или его соль по любому из пп. A42-A53, содержащие замену E в

положении 6, например замену на A, D, G, K, Q или V.

- Пункт A63. Вариант или его соль по любому из пп. A42-A53, содержащие замену D в положении 7, например замену на A, E, G, H, N, V или Y.
- Пункт A64. Вариант или его соль по любому из пп. A42-A53, содержащие замену V в положении 8, например замену на D, E, I, L или M.
- Пункт A65. Вариант или его соль по любому из пп. A43-A53, содержащие одну консервативную замену.
- Пункт A66. Липидированный циклический пептид или его соль по любому из пп. A1-A41.
- Пункт A67. Липидированный циклический пептид, вариант или соль по любому из пп. A1-A66, которые содержат липидированный остаток K.
- Пункт A68. Липидированный циклический пептид, вариант или соль по п. A67, где липидированный остаток K представляет собой X₂ в положении 1.
- Пункт A69. Липидированный циклический пептид, вариант или соль по п. A67, где липидированный остаток K представляет собой X₁ в положении -2.
- Пункт A70. Липидированный циклический пептид, вариант или соль по любому из пп. A1-A69, где липидная цепь представляет собой группу C16DA, C18DA или C20DA.
- Пункт A71. Липидированный циклический пептид, вариант или соль по п. A70, где липидная цепь представляет собой группу C18DA.
- Пункт A72. Липидированный циклический пептид, вариант или соль по любому из пп. A1-A71, где липид соединен с остатком K через γ Glu.
- Пункт A73. Липидированный циклический пептид, вариант или соль по п. A72, где липид соединен с остатком K через γ Glu и одну-четыре группы OEG.
- Пункт A74. Липидированный циклический пептид, вариант или соль по п. A73, где липид соединен с остатком K через γ Glu и две группы OEG.
- Пункт A75. Липидированный циклический пептид, вариант или соль по любому из пп. A1-A69, где липид представляет собой C18DA- γ Glu-OEG-OEG-.
- Пункт A76. Липидированный циклический пептид или соль по любому из пп. A1-A69, где липид представляет собой C18DA- γ Glu-OEG-OEG-.
- Пункт A77. Липидированный циклический пептид или соль по п. A75 или A76, где липид представляет собой C18DA-L- γ Glu-OEG-OEG-.
- Пункт A78. Липидированный циклический пептид или соль по п. A75 или A76, где

липид представляет собой C18DA-D- γ Glu-OEG-OEG-.

- Пункт A79. Липидированный циклический пептид или соль по п. A1, состоящие из CLP1 или его соли.
- Пункт A80. Липидированный циклический пептид или соль по п. A1, состоящие из CLP1, где липид представляет собой C18DA-L- γ Glu-OEG-OEG-, или его соли.
- Пункт A81. Липидированный циклический пептид или соль по п. A1, состоящие из CLP1, где липид представляет собой C18DA-D- γ Glu-OEG-OEG-, или его соли.
- Пункт A82. Липидированный циклический пептид или соль по п. A1, состоящие из CLP2 или его соли.
- Пункт A83. Липидированный циклический пептид или соль по п. A1, состоящие из CLP3 или его соли.
- Пункт A84. Липидированный циклический пептид или соль по п. A1, состоящие из CLP4 или его соли.
- Пункт A85. Липидированный циклический пептид или соль по п. A1, состоящие из CLP5 или его соли.
- Пункт A86. Липидированный циклический пептид или соль по п. A1, состоящие из CLP6 или его соли.
- Пункт A87. Липидированный циклический пептид или соль по п. A1, состоящие из CLP7 или его соли.
- Пункт A88. Липидированный циклический пептид или соль по п. A1, состоящие из CLP8 или его соли.
- Пункт A89. Липидированный циклический пептид или соль по п. A1, состоящие из CLP9 или его соли.
- Пункт A90. Липидированный циклический пептид или соль по п. A1, состоящие из CLP10 или его соли.
- Пункт A91. Липидированный циклический пептид или соль по п. A1, состоящие из CLP11 или его соли.
- Пункт A92. Липидированный циклический пептид, вариант или соль по любому из пп. A1-A91, где соль представляет собой фармацевтически приемлемую соль.
- Пункт A93. Липидированный циклический пептид по любому из предшествующих пунктов А.

- Пункт А94. Липидированный вариант пептида по любому из предшествующих пунктов А.
- Пункт А95. Фармацевтически приемлемая соль липидированного циклического пептида по любому из предшествующих пунктов А.
- Пункт А96. Фармацевтически приемлемая соль липидированного варианта пептида по любому из предшествующих пунктов А.
- Пункт А97. Липидированный циклический пептид по любому из пп. А1-А96, который не модифицирован по боковой цепи.
- Пункт А98. Липидированный циклический пептид по любому из пп. А1-А96, который не модифицирован.
- Пункт В1. Циклический пептид, содержащий последовательность:
- | | | | | | | |
|-----------|------------------|------------------|-----|-----|------------------|---|
| | X ₂ - | X ₃ - | E - | H - | X ₄ - | E |
| положение | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
- где:
- X₂ представляет собой P, D, Q, K, G
- X₃ представляет собой I, L, A, T, V
- X₄ представляет собой E, A,
- или его соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли, где, если X₂ представляет собой P, то X₃ отличается от V.
- Пункт В2. Циклический пептид, вариант или соль по п. В1, где пептид циклизован по основной цепи.
- Пункт В3. Циклический пептид, вариант или соль по п. В2, где указанный пептид циклизован по основной цепи, и все остатки основной цепи указанного пептида соединены исключительно пептидными связями.
- Пункт В4. Циклический пептид, вариант или соль по любому из пп. В1-В3, содержащие 25 или менее аминокислотных остатков внутри цикла.
- Пункт В5. Циклический пептид, вариант или соль по п. В4, содержащие 20 или менее аминокислотных остатков внутри цикла, например содержащий 20 аминокислотных остатков внутри цикла.
- Пункт В6. Циклический пептид, вариант или соль по п. В5, содержащие 15 или менее аминокислотных остатков внутри цикла, например содержащий 15 аминокислотных остатков внутри цикла.
- Пункт В7. Циклический пептид, вариант или соль по п. В6, содержащие 12 или менее

аминокислотных остатков внутри цикла, например содержащий 12 аминокислотных остатков внутри цикла.

- Пункт В8. Циклический пептид, вариант или соль по п. В7, содержащие 11 или менее аминокислотных остатков внутри цикла.
- Пункт В9. Циклический пептид, вариант или соль по любому из пп. В1-В8, содержащий по меньшей мере 7 аминокислотных остатков внутри цикла, например содержащий 7 аминокислотных остатков внутри цикла.
- Пункт В10. Циклический пептид, вариант или соль по п. В9, содержащие по меньшей мере 8 аминокислотных остатков внутри цикла, например содержащий 8 аминокислотных остатков внутри цикла.
- Пункт В11. Циклический пептид, вариант или соль по п. В10, содержащие по меньшей мере 9 аминокислотных остатков внутри цикла, например содержащий 9 аминокислотных остатков внутри цикла.
- Пункт В12. Циклический пептид, вариант или соль по п. В11, содержащие по меньшей мере 10 аминокислотных остатков внутри цикла, например содержащий 10 аминокислотных остатков внутри цикла.
- Пункт В13. Циклический пептид, вариант или соль по п. В12, содержащие по меньшей мере 11 аминокислотных остатков внутри цикла.
- Пункт В14. Циклический пептид, вариант или соль по п. В1, содержащие 11 аминокислотных остатков внутри цикла.
- Пункт В15. Циклический пептид, вариант или соль по любому из пп. В9-В14, содержащие последовательность:

	Е -	Х ₂ -	Х ₃ -	Е -	Н -	Х ₄ -	Е
положение	0	1	2	3	4	5	6

где:

Х₂ представляет собой Р, D, Q, K, G

Х₃ представляет собой I, L, A, T, V

Х₄ представляет собой Е, А,

или их соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли.

- Пункт В16. Циклический пептид, вариант или соль по любому из пп. В9-В14, содержащие последовательность:

Х ₂ -	Х ₃ -	Е -	Н -	Х ₄ -	Е -	Д
------------------	------------------	-----	-----	------------------	-----	---

положение 1 2 3 4 5 6 7

где:

X₂ представляет собой P, D, Q, K, G

X₃ представляет собой I, L, A, T, V

X₄ представляет собой E, A,

или их соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли.

Пункт В17. Циклический пептид, вариант или соль по любому из пп. В10-В14, содержащие последовательность:

	T -	E -	X ₂ -	X ₃ -	E -	H -	X ₄ -	E
положение	-1	0	1	2	3	4	5	6

где:

X₂ представляет собой P, D, Q, K, G

X₃ представляет собой I, L, A, T, V

X₄ представляет собой E, A,

или их соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли.

Пункт В18. Циклический пептид, вариант или соль по любому из пп. В10-В14, содержащие последовательность:

	E -	X ₂ -	X ₃ -	E -	H -	X ₄ -	E -	D
положение	0	1	2	3	4	5	6	7

где:

X₂ представляет собой P, D, Q, K, G

X₃ представляет собой I, L, A, T, V

X₄ представляет собой E, A

или их соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли.

Пункт В19. Циклический пептид, вариант или соль по любому из пп. В10-В14, содержащие последовательность:

	X ₂ -	X ₃ -	E -	H -	X ₄ -	E -	D -	V
положение	1	2	3	4	5	6	7	8

где:

X₂ представляет собой P, D, Q, K, G

X₃ представляет собой I, L, A, T, V

X₄ представляет собой E, A,

или их соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли.

Пункт В20. Циклический пептид, вариант или соль по любому из пп. В11-В14, содержащие последовательность:

	X ₁ -	T -	E -	X ₂ -	X ₃ -	E -	H -	X ₄ -	E
положение	-2	-1	0	1	2	3	4	5	6

где:

X₁ представляет собой M, K

X₂ представляет собой P, D, Q, K, G

X₃ представляет собой I, L, A, T, V

X₄ представляет собой E, A,

или их соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли.

Пункт В21. Циклический пептид, вариант или соль по любому из пп. В11-В14, содержащие последовательность:

	T -	E -	X ₂ -	X ₃ -	E -	H -	X ₄ -	E -	D
положение	-1	0	1	2	3	4	5	6	7

где:

X₂ представляет собой P, D, Q, K, G

X₃ представляет собой I, L, A, T, V

X₄ представляет собой E, A,

или их соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли.

Пункт В22. Циклический пептид, вариант или соль по любому из пп. В11-В14, содержащие последовательность:

	E -	X ₂ -	X ₃ -	E -	H -	X ₄ -	E -	D -	V
положение	0	1	2	3	4	5	6	7	8

где:

X₂ представляет собой P, D, Q, K, G

X₃ представляет собой I, L, A, T, V

X₄ представляет собой E, A,

или их соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли.

Пункт В23. Циклический пептид, вариант или соль по любому из пп. В12-В14, содержащие последовательность:

	X ₁ -	T -	E -	X ₂ -	X ₃ -	E -	H -	X ₄ -	E -	D
положение	-2	-1	0	1	2	3	4	5	6	7

где:

X₁ представляет собой M, K

X₂ представляет собой P, D, Q, K, G

X₃ представляет собой I, L, A, T, V

X₄ представляет собой E, A,

или их соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли.

Пункт В24. Циклический пептид, вариант или соль по любому из пп. В12-В14, содержащие последовательность:

	T -	E -	X ₂ -	X ₃ -	E -	H -	X ₄ -	E -	D -	V
положение	-1	0	1	2	3	4	5	6	7	8

где:

X₂ представляет собой P, D, Q, K, G

X₃ представляет собой I, L, A, T, V

X₄ представляет собой E, A,

или их соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли.

Пункт В25. Циклический пептид, вариант или соль по любому из пп. В13-В14, содержащие последовательность:

	X ₁ -	T -	E -	X ₂ -	X ₃ -	E -	H -	X ₄ -	E -	D -	V
положение	-2	-1	0	1	2	3	4	5	6	7	8

где:

X₁ представляет собой M, K

X₂ представляет собой P, D, Q, K, G

X₃ представляет собой I, L, A, T, V

X₄ представляет собой E, A,

или их соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида

или соли.

- Пункт В26. Циклический пептид, вариант или соль по любому из пп. В1-В25, где X_1 представляет собой М.
- Пункт В27. Циклический пептид, вариант или соль по любому из пп. В1-В25, где X_1 представляет собой К.
- Пункт В28. Циклический пептид, вариант или соль по любому из пп. В1-В27, где X_2 представляет собой Р.
- Пункт В29. Циклический пептид, вариант или соль по любому из пп. В1-В27, где X_2 представляет собой D.
- Пункт В30. Циклический пептид, вариант или соль по любому из пп. В1-В27, где X_2 представляет собой Q.
- Пункт В31. Циклический пептид, вариант или соль по любому из пп. В1-В27, где X_2 представляет собой К.
- Пункт В32. Циклический пептид, вариант или соль по любому из пп. В1-В27, где X_2 представляет собой G.
- Пункт В33. Циклический пептид, вариант или соль по любому из пп. В1-В32, где X_3 представляет собой I.
- Пункт В34. Циклический пептид, вариант или соль по любому из пп. В1-В32, где X_3 представляет собой L.
- Пункт В35. Циклический пептид, вариант или соль по любому из пп. В1-В32, где X_3 представляет собой А.
- Пункт В36. Циклический пептид, вариант или соль по любому из пп. В1-В32, где X_3 представляет собой Т.
- Пункт В37. Циклический пептид, вариант или соль по любому из пп. В1-В27 или В29-В32, где X_3 представляет собой V.
- Пункт В38. Циклический пептид, вариант или соль по любому из пп. В1-В37, где X_4 представляет собой E.
- Пункт В39. Циклический пептид, вариант или соль по любому из пп. В1-В37, где X_4 представляет собой А.
- Пункт В40. Циклический пептид, вариант или соль по любому из пп. В13-В14, содержащие последовательность любой из SEQ ID No. 1-10 и 28-39, или их соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли, например состоящие из последовательности любой из SEQ ID No. 1-10 и 28-

39, или их соли, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли.

- Пункт В41. Циклический пептид, вариант или соль по любому из пп. В13-В14, содержащие последовательность of SEQ ID No. 1, или их соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли, например состоящий из последовательности SEQ ID No. 1, или ее соли, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли.
- Пункт В42. Вариант или его соль по любому из пп. В1-В41, содержащие две консервативные замены.
- Пункт В43. Вариант или его соль по любому из пп. В1-В42, содержащие замену X_1 в положении -2, например замену на E, N, Q, R, T, I, L или V.
- Пункт В44. Вариант или его соль по любому из пп. В1-В42, содержащие замену T в положении -1, например замену на A, K, M, N, R или S, в частности A, K, M, N или R.
- Пункт В45. Вариант или его соль по любому из пп. В1-В42, содержащие замену E в положении 0, например замену на A, D, G, K, Q или V, в частности G, K, Q или V.
- Пункт В46. Вариант или его соль по любому из пп. В1-В42, содержащие замену X_2 в положении 1, например замену на A, C, E, H, L, M, N, R, S, T, V или Y, в частности A, E, H, L, M, N, R, T, V или Y.
- Пункт В47. Вариант или его соль по любому из пп. В1-В42, содержащие замену X_3 в положении 2, например замену на D, E, F, G, H, K, M, N, P, Q, S или W, в частности D, E, F, G, H, K, M, N, P, Q или W.
- Пункт В48. Вариант или его соль по любому из пп. В1-В42, содержащие замену E в положении 3, например замену на A, D, G, K, Q или V, в частности G, K, Q или V.
- Пункт В49. Вариант или его соль по любому из пп. В1-В42, содержащие замену H в положении 4, например замену на D, L, N, P, Q, R или Y.
- Пункт В50. Вариант или его соль по любому из пп. В1-В42, содержащие замену X_4 в положении 5, например замену на G, K, Q, S, T или V, в частности G, K, Q, T или V.
- Пункт В51. Вариант или его соль по любому из пп. В1-В42, содержащие замену E в положении 6, например замену на A, D, G, K, Q или V.

- Пункт В52. Вариант или его соль по любому из пп. В1-В42, содержащие замену D в положении 7, например замену на A, E, G, H, N, V или Y.
- Пункт В53. Вариант или его соль по любому из пп. В1-В42, содержащие замену V в положении 8, например замену на D, E, I, L или M.
- Пункт В54. Вариант или его соль по любому из пп. В42-В53, содержащие замену X₁ в положении -2, например замену на E, N, Q, R, T I, L или V.
- Пункт В55. Вариант или его соль по любому из пп. В42-В53, содержащие замену T в положении -1, например замену на A, K, M, N, R или S, в частности A, K, M, N или R.
- Пункт В56. Вариант или его соль по любому из пп. В42-В53, содержащие замену E в положении 0, например замену на A, D, G, K, Q или V, в частности G, K, Q или V.
- Пункт В57. Вариант или его соль по любому из пп. В42-В53, содержащие замену X₂ в положении 1, например замену на A, C, E, H, L, M, N, R, S, T, V или Y, в частности A, E, H, L, M, N, R, T, V или Y.
- Пункт В58. Вариант или его соль по любому из пп. В42-В53, содержащие замену X₃ в положении 2, например замену на D, E, F, G, H, K, M, N, P, Q, S или W, в частности D, E, F, G, H, K, M, N, P, Q или W.
- Пункт В59. Вариант или его соль по любому из пп. В42-В53, содержащие замену E в положении 3, например замену на A, D, G, K, Q или V, в частности G, K, Q или V.
- Пункт В60. Вариант или его соль по любому из пп. В42-В53, содержащие замену H в положении 4, например замену на D, L, N, P, Q, R или Y.
- Пункт В61. Вариант или его соль по любому из пп. В42-В53, содержащие замену X₄ в положении 5, например замену на G, K, Q, S, T или V, в частности G, K, Q, T или V.
- Пункт В62. Вариант или его соль по любому из пп. В42-В53, содержащие замену E в положении 6, например замену на A, D, G, K, Q или V.
- Пункт В63. Вариант или его соль по любому из пп. В42-В53, содержащие замену D в положении 7, например замену на A, E, G, H, N, V или Y.
- Пункт В64. Вариант или его соль по любому из пп. В42-В53, содержащие замену V в положении 8, например замену на D, E, I, L или M.
- Пункт В65. Вариант или его соль по любому из пп. В43-В53, содержащие одну

консервативную замену.

- Пункт В66. Циклический пептид или его соль по любому из пп. В1-В41.
- Пункт В67. Циклический пептид или соль по п. В1, состоящие из SEQ ID No. 1 или ее соли.
- Пункт В68. Циклический пептид или соль по п. В1, состоящие из SEQ ID No. 2 или ее соли.
- Пункт В69. Циклический пептид или соль по п. В1, состоящие из SEQ ID No. 3 или ее соли.
- Пункт В70. Циклический пептид или соль по п. В1, состоящие из SEQ ID No. 4 или ее соли.
- Пункт В71. Циклический пептид или соль по п. В1, состоящие из SEQ ID No. 5 или ее соли.
- Пункт В72. Циклический пептид или соль по п. В1, состоящие из SEQ ID No. 6 или ее соли.
- Пункт В73. Циклический пептид или соль по п. В1, состоящие из SEQ ID No. 7 или ее соли.
- Пункт В74. Циклический пептид или соль по п. В1, состоящие из SEQ ID No. 8 или ее соли.
- Пункт В75. Циклический пептид или соль по п. В1, состоящие из SEQ ID No. 9 или ее соли.
- Пункт В76. Циклический пептид или соль по п. В1, состоящие из SEQ ID No. 10 или ее соли.
- Пункт В77. Циклический пептид или соль по п. В1, состоящие из CP1 или его соли.
- Пункт В78. Циклический пептид или соль по п. В1, состоящие из CP2 или его соли.
- Пункт В79. Циклический пептид или соль по п. В1, состоящие из CP3 или его соли.
- Пункт В80. Циклический пептид или соль по п. В1, состоящие из CP4 или его соли.
- Пункт В81. Циклический пептид или соль по п. В1, состоящие из CP5 или его соли.
- Пункт В82. Циклический пептид или соль по п. В1, состоящие из CP6 или его соли.
- Пункт В83. Циклический пептид или соль по п. В1, состоящие из CP7 или его соли.
- Пункт В84. Циклический пептид или соль по п. В1, состоящие из CP8 или его соли.
- Пункт В85. Циклический пептид или соль по п. В1, состоящие из CP9 или его соли.
- Пункт В86. Циклический пептид или соль по п. В1, состоящие из CP10 или его соли.
- Пункт В87. Циклический пептид или соль по п. В1, состоящие из CP11 или его соли.

- Пункт В88. Циклический пептид или соль по п. В1, состоящие из СР12 или его соли.
- Пункт В89. Циклический пептид, вариант или соль по любому из пп. В1-В98, где указанная соль представляет собой фармацевтически приемлемую соль.
- Пункт В90. Циклический пептид по любому из предшествующих пунктов В.
- Пункт В91. Вариант пептида по любому из предыдущих пунктов В.
- Пункт В92. Фармацевтически приемлемая соль циклического пептида по любому из предшествующих пунктов В.
- Пункт В93. Фармацевтически приемлемая соль варианта пептида по любому из предшествующих пунктов В.
- Пункт В94. Циклический пептид по любому из пп. В1-В93, который не модифицирован по боковой цепи.
- Пункт В95. Циклический пептид по любому из пп. В1-В93, который не является модифицированным.
- Пункт С1. Циклический пептид, содержащий 10 или менее аминокислотных остатков внутри цикла и содержащие последовательность:
- | | | | | | | |
|-----------|------------------|------------------|-----|-----|------------------|---|
| | X ₂ - | X ₃ - | E - | H - | X ₄ - | E |
| положение | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
- где:
- X₂ представляет собой P, D, Q, K, G
- X₃ представляет собой I, L, A, T, V
- X₄ представляет собой E, A,
- или его соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли.
- Пункт С2. Циклический пептид, вариант или соль по п. С1, где указанный пептид циклизован по основной цепи.
- Пункт С3. Циклический пептид, вариант или соль по п. С2, где указанный пептид циклизован по основной цепи, и все остатки основной цепи указанного пептида соединены исключительно пептидными связями.
- Пункт С4. Циклический пептид, вариант или соль по любому из пп. С1-С3, содержащие 6 аминокислотных остатков внутри цикла.
- Пункт С5. Циклический пептид, вариант или соль по любому из пп. С1-С3, содержащие 7 аминокислотных остатков внутри цикла.
- Пункт С6. Циклический пептид, вариант или соль по любому из пп. С1-С3,

содержащие 8 аминокислотных остатков внутри цикла.

Пункт С7. Циклический пептид, вариант или соль по любому из пп. С1-С3, содержащие 9 аминокислотных остатков внутри цикла.

Пункт С8. Циклический пептид, вариант или соль по любому из пп. С1-С3, содержащие 10 аминокислотных остатков внутри цикла.

Пункт С9. Циклический пептид, вариант или соль по любому из пп. С1-С3 или С5-С8, содержащие последовательность:

	Е -	Х ₂ -	Х ₃ -	Е -	Н -	Х ₄ -	Е
положение	0	1	2	3	4	5	6

где:

Х₂ представляет собой Р, D, Q, К, G

Х₃ представляет собой I, L, А, Т, V

Х₄ представляет собой Е, А,

или их соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли.

Пункт С10. Циклический пептид, вариант или соль по любому из пп. С1-С3 или С5-С8, содержащие последовательность:

	Х ₂ -	Х ₃ -	Е -	Н -	Х ₄ -	Е -	D
положение	1	2	3	4	5	6	7

где:

Х₂ представляет собой Р, D, Q, К, G

Х₃ представляет собой I, L, А, Т, V

Х₄ представляет собой Е, А,

или их соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли.

Пункт С11. Циклический пептид, вариант или соль по любому из пп. С1-С3 или С6-С8, содержащие последовательность:

	Т -	Е -	Х ₂ -	Х ₃ -	Е -	Н -	Х ₄ -	Е
положение	-1	0	1	2	3	4	5	6

где:

Х₂ представляет собой Р, D, Q, К, G

Х₃ представляет собой I, L, А, Т, V

Х₄ представляет собой Е, А,

или их соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли.

Пункт С12. Циклический пептид, вариант или соль по любому из пп. С1-С3 или С6-С8, содержащие последовательность:

	Е -	Х ₂ -	Х ₃ -	Е -	Н -	Х ₄ -	Е -	Д
положение	0	1	2	3	4	5	6	7

где:

Х₂ представляет собой Р, D, Q, К, G

Х₃ представляет собой I, L, А, Т, V

Х₄ представляет собой Е, А,

или их соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли.

Пункт С13. Циклический пептид, вариант или соль по любому из пп. С1-С3 или С6-С8, содержащие последовательность:

	Х ₂ -	Х ₃ -	Е -	Н -	Х ₄ -	Е -	Д -	V
положение	1	2	3	4	5	6	7	8

где:

Х₂ представляет собой Р, D, Q, К, G

Х₃ представляет собой I, L, А, Т, V

Х₄ представляет собой Е, А,

или их соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли.

Пункт С14. Циклический пептид, вариант или соль по любому из пп. С1-С3 или С7-С8, содержащие последовательность:

	Х ₁ -	Т -	Е -	Х ₂ -	Х ₃ -	Е -	Н -	Х ₄ -	Е
положение	-2	-1	0	1	2	3	4	5	6

где:

Х₁ представляет собой М, К

Х₂ представляет собой Р, D, Q, К, G

Х₃ представляет собой I, L, А, Т, V

Х₄ представляет собой Е, А,

или их соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли.

Пункт С15. Циклический пептид, вариант или соль по любому из пп. С1-С3 или С7-С8, содержащие последовательность:

	Т -	Е -	X ₂ -	X ₃ -	Е -	Н -	X ₄ -	Е -	D
положение	-1	0	1	2	3	4	5	6	7

где:

X₂ представляет собой P, D, Q, K, G

X₃ представляет собой I, L, A, T, V

X₄ представляет собой E, A

или их соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли.

Пункт С16. Циклический пептид, вариант или соль по любому из пп. С1-С3 или С7-С8, содержащие последовательность:

	Е -	X ₂ -	X ₃ -	Е -	Н -	X ₄ -	Е -	D -	V
положение	0	1	2	3	4	5	6	7	8

где:

X₂ представляет собой P, D, Q, K, G

X₃ представляет собой I, L, A, T, V

X₄ представляет собой E, A

или их соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли.

Пункт С17. Циклический пептид, вариант или соль по любому из пп. С1-С3 или С8, содержащие последовательность:

	X ₁ -	Т -	Е -	X ₂ -	X ₃ -	Е -	Н -	X ₄ -	Е -	D
положение	-2	-1	0	1	2	3	4	5	6	7

где:

X₁ представляет собой M, K

X₂ представляет собой P, D, Q, K, G

X₃ представляет собой I, L, A, T, V

X₄ представляет собой E, A,

или их соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли.

Пункт С18. Циклический пептид, вариант или соль по любому из пп. С1-С3 или С8, содержащие последовательность:

	T -	E -	X ₂ -	X ₃ -	E -	H -	X ₄ -	E -	D -	V
положение	-1	0	1	2	3	4	5	6	7	8

где:

X₂ представляет собой P, D, Q, K, G

X₃ представляет собой I, L, A, T, V

X₄ представляет собой E, A,

или их соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли.

- Пункт С19. Циклический пептид, вариант или соль по любому из пп. С1-С18, где X₁ представляет собой M.
- Пункт С20. Циклический пептид, вариант или соль по любому из пп. С1-С18, где X₁ представляет собой K.
- Пункт С21. Циклический пептид, вариант или соль по любому из пп. С1-С20, где X₂ представляет собой P.
- Пункт С22. Циклический пептид, вариант или соль по любому из пп. С1-С20, где X₂ представляет собой D.
- Пункт С23. Циклический пептид, вариант или соль по любому из пп. С1-С20, где X₂ представляет собой Q.
- Пункт С24. Циклический пептид, вариант или соль по любому из пп. С1-С20, где X₂ представляет собой K.
- Пункт С25. Циклический пептид, вариант или соль по любому из пп. С1-С20, где X₂ представляет собой G.
- Пункт С26. Циклический пептид, вариант или соль по любому из пп. С1-С25, где X₃ представляет собой I.
- Пункт С27. Циклический пептид, вариант или соль по любому из пп. С1-С25, где X₃ представляет собой L.
- Пункт С28. Циклический пептид, вариант или соль по любому из пп. С1-С25, где X₃ представляет собой A.
- Пункт С29. Циклический пептид, вариант или соль по любому из пп. С1-С25, где X₃ представляет собой T.
- Пункт С30. Циклический пептид, вариант или соль по любому из пп. С1-С25, где X₃ представляет собой V.
- Пункт С31. Циклический пептид, вариант или соль по любому из пп. С1-С30, где X₄

представляет собой E.

- Пункт С32. Циклический пептид, вариант или соль по любому из пп. С1-С30, где X_4 представляет собой А.
- Пункт С33. Циклический пептид, вариант или соль по любому из пп. С1-С32, где (i) последовательность циклического пептида представляет собой часть любой из SEQ ID No. 1-10 и 28-39, или их соль, или (ii) консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли.
- Пункт С34. Циклический пептид, вариант или соль по п. С33, где (i) последовательность циклического пептида представляет собой часть SEQ ID No. 1, или ее соль, или (ii) консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли.
- Пункт С35. Циклический пептид, вариант или соль по любому из пп. С1-С32, содержащие последовательность любой из SEQ ID No. 40-42, или их соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли, например состоящие из последовательности любой из SEQ ID No. 40-42, или его соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли.
- Пункт С36. Вариант или его соль по любому из пп. С1-С35, содержащий две консервативные замены.
- Пункт С37. Вариант или его соль по любому из пп. С1-С36, содержащие замену X_1 в положении -2, например замену на E, N, Q, R, T, I, L или V.
- Пункт С38. Вариант или его соль по любому из пп. С1-С36, содержащие замену T в положении -1, например замену на A, K, M, N, R или S, в частности A, K, M, N или R.
- Пункт С39. Вариант или его соль по любому из пп. С1-С36, содержащие замену E в положении 0, например замену на A, D, G, K, Q или V, в частности G, K, Q или V.
- Пункт С40. Вариант или его соль по любому из пп. С1-С36, содержащие замену X_2 в положении 1, например замену на A, C, E, H, L, M, N, R, S, T, V или Y, в частности A, E, H, L, M, N, R, T, V или Y.
- Пункт С41. Вариант или его соль по любому из пп. С1-С36, содержащие замену X_3 в положении 2, например замену на D, E, F, G, H, K, M, N, P, Q, S или W, в частности D, E, F, G, H, K, M, N, P, Q или W.
- Пункт С42. Вариант или его соль по любому из пп. С1-С36, содержащие замену E в

- положении 3, например замену на A, D, G, K, Q или V, в частности G, K, Q или V.
- Пункт C43. Вариант или его соль по любому из пп. C1-C36, содержащие замену H в положении 4, например замену на D, L, N, P, Q, R или Y.
- Пункт C44. Вариант или его соль по любому из пп. C1-C36, содержащие замену X₄ в положении 5, например замену на G, K, Q, S, T или V, в частности G, K, Q, T или V.
- Пункт C45. Вариант или его соль по любому из пп. C1-C36, содержащие замену E в положении 6, например замену на A, D, G, K, Q или V.
- Пункт C46. Вариант или его соль по любому из пп. C1-C36, содержащие замену D в положении 7, например замену на A, E, G, H, N, V или Y.
- Пункт C47. Вариант или его соль по любому из пп. C1-C36, содержащие замену V в положении 8, например замену на D, E, I, L или M.
- Пункт C48. Вариант или его соль по любому из пп. C36-C47, содержащие замену X₁ в положении -2, например замену на E, N, Q, R, T, I, L или V.
- Пункт C49. Вариант или его соль по любому из пп. C36-C47, содержащие замену T в положении -1, например замену на A, K, M, N, R или S, в частности A, K, M, N или R.
- Пункт C50. Вариант или его соль по любому из пп. C36-C47, содержащие замену E в положении 0, например замену на A, D, G, K, Q или V, в частности G, K, Q или V.
- Пункт C51. Вариант или его соль по любому из пп. C36-C47, содержащие замену X₂ в положении 1, например замену на A, C, E, H, L, M, N, R, S, T, V или Y, в частности A, E, H, L, M, N, R, T, V или Y.
- Пункт C52. Вариант или его соль по любому из пп. C36-C47, содержащие замену X₃ в положении 2, например замену на D, E, F, G, H, K, M, N, P, Q, S или W, в частности D, E, F, G, H, K, M, N, P, Q или W.
- Пункт C53. Вариант или его соль по любому из пп. C36-C47, содержащие замену E в положении 3, например замену на A, D, G, K, Q или V, в частности G, K, Q или V.
- Пункт C54. Вариант или его соль по любому из пп. C36-C47, содержащие замену H в положении 4, например замену на D, L, N, P, Q, R или Y.
- Пункт C55. Вариант или его соль по любому из пп. C36-C47, содержащие замену X₄ в

положении 5, например замену на G, K, Q, S, T или V, в частности G, K, Q, T или V.

- Пункт С56. Вариант или его соль по любому из пп. С36-С47, содержащие замену E в положении 6, например замену на A, D, G, K, Q или V.
- Пункт С57. Вариант или его соль по любому из пп. С36-С47, содержащие замену D в положении 7, например замену на A, E, G, H, N, V или Y.
- Пункт С58. Вариант или его соль по любому из пп. С36-С47, содержащие замену V в положении 8, например замену на D, E, I, L или M.
- Пункт С59. Вариант или его соль по любому из пп. С37-С47, содержащие одну консервативную замену.
- Пункт С60. Циклический пептид или его соль по любому из пп. С1-С35.
- Пункт С61. Циклический пептид или соль по п. С1, состоящие из СР13 или его соли.
- Пункт С62. Циклический пептид или соль по п. С1, состоящие из СР14 или его соли.
- Пункт С63. Циклический пептид или соль по п. С1, состоящие из СР15 или его соли.
- Пункт С64. Циклический пептид, вариант или соль по любому из пп. С1-С63, где указанная соль представляет собой фармацевтически приемлемую соль.
- Пункт С65. Циклический пептид по любому из предшествующих пунктов С.
- Пункт С66. Вариант пептида по любому из предшествующих пунктов С.
- Пункт С67. Фармацевтически приемлемая соль циклического пептида по любому из предшествующих пунктов С.
- Пункт С68. Фармацевтически приемлемая соль варианта пептида по любому из предшествующих пунктов С.
- Пункт С69. Циклический пептид по любому из пп. С1-С68, который не модифицирован по боковой цепи.
- Пункт С70. Циклический пептид по любому из пп. С1-С68, который не модифицирован.
- Пункт D1. Липидированный линейный пептид, содержащий последовательность:

	X ₂ -	X ₃ -	E -	H -	X ₄ -	E
положение	1	2	3	4	5	6

где:

X₂ представляет собой P, D, Q, K, G

X₃ представляет собой I, L, A, T, V

X₄ представляет собой E, A,

или его соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида

или соли.

- Пункт D2. Липидированный линейный пептид, вариант или соль по п. D1, где все остатки основной цепи указанного пептида соединены исключительно пептидными связями.
- Пункт D3. Липидированный линейный пептид, вариант или соль по п. D1 или D2, содержащие 25 или менее аминокислотных остатков в основной цепи.
- Пункт D4. Липидированный линейный пептид, вариант или соль по п. D3, содержащие 20 или менее аминокислотных остатков в основной цепи, например содержащие 20 аминокислотных остатков в основной цепи.
- Пункт D5. Липидированный линейный пептид, вариант или соль по п. D4, содержащие 15 или менее аминокислотных остатков в основной цепи, например содержащие 15 аминокислотных остатков в основной цепи.
- Пункт D6. Липидированный линейный пептид, вариант или соль по п. D5, содержащие 12 или менее аминокислотных остатков в основной цепи, например содержащие 12 аминокислотных остатков в основной цепи.
- Пункт D7. Липидированный линейный пептид, вариант или соль по п. D6, содержащие 11 или менее аминокислотных остатков в основной цепи.
- Пункт D8. Липидированный линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. D1-D7, содержащие по меньшей мере 7 аминокислотных остатков в основной цепи, например содержащие 7 аминокислотных остатков в основной цепи.
- Пункт D9. Липидированный линейный пептид, вариант или соль по п. D8, содержащие по меньшей мере 8 аминокислотных остатков в основной цепи, например содержащие 8 аминокислотных остатков в основной цепи.
- Пункт D10. Липидированный линейный пептид, вариант или соль по п. D9, содержащие по меньшей мере 9 аминокислотных остатков в основной цепи, например содержащие 9 аминокислотных остатков в основной цепи.
- Пункт D11. Липидированный линейный пептид, вариант или соль по п. D10, содержащие по меньшей мере 10 аминокислотных остатков в основной цепи, например содержащие 10 аминокислотных остатков в основной цепи.
- Пункт D12. Липидированный линейный пептид, вариант или соль по п. D11, содержащие по меньшей мере 11 аминокислотных остатков в основной цепи.
- Пункт D13. Липидированный линейный пептид, вариант или соль по п. D12,

содержащие 11 аминокислотных остатков в основной цепи.

Пункт D14. Липидированный линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. D8-D13, содержащие последовательность:

	E -	X ₂ -	X ₃ -	E -	H -	X ₄ -	E
положение	0	1	2	3	4	5	6

где:

X₂ представляет собой P, D, Q, K, G

X₃ представляет собой I, L, A, T, V

X₄ представляет собой E, A,

или их соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли.

Пункт D15. Липидированный линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. D8-D13, содержащие последовательность:

	X ₂ -	X ₃ -	E -	H -	X ₄ -	E -	D
положение	1	2	3	4	5	6	7

где:

X₂ представляет собой P, D, Q, K, G

X₃ представляет собой I, L, A, T, V

X₄ представляет собой E, A,

или их соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли.

Пункт D16. Липидированный линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. D9-D13, содержащие последовательность:

	T -	E -	X ₂ -	X ₃ -	E -	H -	X ₄ -	E
положение	-1	0	1	2	3	4	5	6

где:

X₂ представляет собой P, D, Q, K, G

X₃ представляет собой I, L, A, T, V

X₄ представляет собой E, A,

или их соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли.

Пункт D17. Липидированный линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. D9-D13, содержащие последовательность:

	E -	X ₂ -	X ₃ -	E -	H -	X ₄ -	E -	D
положение	0	1	2	3	4	5	6	7

где:

X₂ представляет собой P, D, Q, K, G

X₃ представляет собой I, L, A, T, V

X₄ представляет собой E, A,

или их соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли.

Пункт D18. Липидированный линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. D9-D13, содержащие последовательность:

	X ₂ -	X ₃ -	E -	H -	X ₄ -	E -	D -	V
положение	1	2	3	4	5	6	7	8

где:

X₂ представляет собой P, D, Q, K, G

X₃ представляет собой I, L, A, T, V

X₄ представляет собой E, A,

или их соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли.

Пункт D19. Липидированный линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. D10-D13, содержащие последовательность:

	X ₁ -	T -	E -	X ₂ -	X ₃ -	E -	H -	X ₄ -	E
положение	-2	-1	0	1	2	3	4	5	6

где:

X₁ представляет собой M, K

X₂ представляет собой P, D, Q, K, G

X₃ представляет собой I, L, A, T, V

X₄ представляет собой E, A,

или их соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли.

Пункт D20. Липидированный линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. D10-D13, содержащие последовательность:

	T -	E -	X ₂ -	X ₃ -	E -	H -	X ₄ -	E -	D
положение	-1	0	1	2	3	4	5	6	7

где:

X_2 представляет собой P, D, Q, K, G

X_3 представляет собой I, L, A, T, V

X_4 представляет собой E, A,

или их соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли.

Пункт D21. Липидированный линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. D10-D13, содержащие последовательность:

	E -	X_2 -	X_3 -	E -	H -	X_4 -	E -	D -	V
положение	0	1	2	3	4	5	6	7	8

где:

X_2 представляет собой P, D, Q, K, G

X_3 представляет собой I, L, A, T, V

X_4 представляет собой E, A,

или их соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли.

Пункт D22. Липидированный линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. D11-D23, содержащие последовательность:

	X_1 -	T -	E -	X_2 -	X_3 -	E -	H -	X_4 -	E -	D
положение	-2	-1	0	1	2	3	4	5	6	7

где:

X_1 представляет собой M, K

X_2 представляет собой P, D, Q, K, G

X_3 представляет собой I, L, A, T, V

X_4 представляет собой E, A,

или их соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли.

Пункт D23. Липидированный линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. D11-D13, содержащие последовательность:

	T -	E -	X_2 -	X_3 -	E -	H -	X_4 -	E -	D -	V
положение	-1	0	1	2	3	4	5	6	7	8

где:

X_2 представляет собой P, D, Q, K, G

X₃ представляет собой I, L, A, T, V

X₄ представляет собой E, A,

или их соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли.

Пункт D24. Липидированный линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. D12-D13, содержащие последовательность:

	X ₁ -	T -	E -	X ₂ -	X ₃ -	E -	H -	X ₄ -	E -	D -	V
положение -2	-1	0	1	2	3	4	5	6	7	8	

где:

X₁ представляет собой M, K

X₂ представляет собой P, D, Q, K, G

X₃ представляет собой I, L, A, T, V

X₄ представляет собой E, A,

или их соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли.

Пункт D25. Липидированный линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. D1-D24, где X₁ представляет собой M.

Пункт D26. Липидированный линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. D1-D24, где X₁ представляет собой K.

Пункт D27. Липидированный линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. D1-D26, где X₂ представляет собой P.

Пункт D28. Липидированный линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. D1-D26, где X₂ представляет собой D.

Пункт D29. Липидированный линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. D1-D26, где X₂ представляет собой Q.

Пункт D30. Липидированный линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. D1-D26, где X₂ представляет собой K.

Пункт D31. Липидированный линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. D1-D26, где X₂ представляет собой G.

Пункт D32. Липидированный линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. D1-D31, где X₃ представляет собой I.

Пункт D33. Липидированный линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. D1-D31, где X₃ представляет собой L.

- Пункт D34. Липидированный линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. D1-D31, где X_3 представляет собой А.
- Пункт D35. Липидированный линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. D1-D31, где X_3 представляет собой Т.
- Пункт D36. Липидированный линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. D1-D31, где X_3 представляет собой V.
- Пункт D37. Липидированный линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. D1-D36, где X_4 представляет собой Е.
- Пункт D38. Липидированный линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. D1-D36, где X_4 представляет собой А.
- Пункт D39. Липидированный линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. D13-D14, содержащие последовательность любой из SEQ ID No. 1-11 или их соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли, например состоящие из последовательности любой из SEQ ID No. 1-11 или их соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли.
- Пункт D40. Липидированный линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. D13-D14, содержащие последовательность SEQ ID No. 1 или их соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли, например состоящие из последовательности SEQ ID No. 1 или ее соли, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли.
- Пункт D41. Липидированный линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. D13-D14, содержащие последовательность любого из LLP1-LLP12 или их соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли, например состоящий из последовательности любого из LLP1-LLP12 или ее соли, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли.
- Пункт D42. Вариант или его соль по любому из пп. D1-D41, содержащие две консервативные замены.
- Пункт D43. Вариант или его соль по любому из пп. D1-D42, содержащие замену X_1 в положении -2, например замену на Е, N, Q, R, T, I, L или V.
- Пункт D44. Вариант или его соль по любому из пп. D1-D42, содержащие замену Т в положении -1, например замену на А, К, М, N, R или S, в частности А, К, М, N или R.

- Пункт D45. Вариант или его соль по любому из пп. D1-D42, содержащие замену E в положении 0, например замену на A, D, G, K, Q или V, в частности G, K, Q или V.
- Пункт D46. Вариант или его соль по любому из пп. D1-D42, содержащие замену X₂ в положении 1, например замену на A, C, E, H, L, M, N, R, S, T, V или Y, в частности A, E, H, L, M, N, R, T, V или Y.
- Пункт D47. Вариант или его соль по любому из пп. D1-D42, содержащие замену X₃ в положении 2, например замену на D, E, F, G, H, K, M, N, P, Q, S или W, в частности D, E, F, G, H, K, M, N, P, Q или W.
- Пункт D48. Вариант или его соль по любому из пп. D1-D42, содержащие замену E в положении 3, например замену на A, D, G, K, Q или V, в частности G, K, Q или V.
- Пункт D49. Вариант или его соль по любому из пп. D1-D42, содержащие замену H в положении 4, например замену на D, L, N, P, Q, R или Y.
- Пункт D50. Вариант или его соль по любому из пп. D1-D42, содержащие замену X₄ в положении 5, например замену на G, K, Q, S, T или V, в частности G, K, Q, T или V.
- Пункт D51. Вариант или его соль по любому из пп. D1-D42, содержащие замену E в положении 6, например замену на A, D, G, K, Q или V.
- Пункт D52. Вариант или его соль по любому из пп. D1-D42, содержащие замену D в положении 7, например замену на A, E, G, H, N, V или Y.
- Пункт D53. Вариант или его соль по любому из пп. D1-D42, содержащие замену V в положении 8, например замену на D, E, I, L или M.
- Пункт D54. Вариант или его соль по любому из пп. D42 to D53, содержащие замену X₁ в положении -2, например замену на E, N, Q, R, T I, L или V.
- Пункт D55. Вариант или его соль по любому из пп. D42-D53, содержащие замену T в положении -1, например замену на A, K, M, N, R или S, в частности A, K, M, N или R.
- Пункт D56. Вариант или его соль по любому из пп. D42-D53, содержащие замену E в положении 0, например замену на A, D, G, K, Q или V, в частности G, K, Q или V.
- Пункт D57. Вариант или его соль по любому из пп. D42-D53, содержащие замену X₂ в положении 1, например замену на A, C, E, H, L, M, N, R, S, T, V или Y, в

частности А, Е, Н, L, М, N, R, Т, V или Y.

- Пункт D58. Вариант или его соль по любому из пп. D42-D53, содержащие замену X_3 в положении 2, например замену на D, E, F, G, H, K, M, N, P, Q, S или W, в частности D, E, F, G, H, K, M, N, P, Q или W.
- Пункт D59. Вариант или его соль по любому из пп. D42-D53, содержащие замену E в положении 3, например замену на A, D, G, K, Q или V, в частности G, K, Q или V.
- Пункт D60. Вариант или его соль по любому из пп. D42-D53, содержащие замену H в положении 4, например замену на D, L, N, P, Q, R или Y.
- Пункт D61. Вариант или его соль по любому из пп. D42-D53, содержащие замену X_4 в положении 5, например замену на G, K, Q, S, T или V, в частности G, K, Q, T или V.
- Пункт D62. Вариант или его соль по любому из пп. D42-D53, содержащие замену E в положении 6, например замену на A, D, G, K, Q или V.
- Пункт D63. Вариант или его соль по любому из пп. D42-D53, содержащие замену D в положении 7, например замену на A, E, G, H, N, V или Y.
- Пункт D64. Вариант или его соль по любому из пп. D42-D53, содержащие замену V в положении 8, например замену на D, E, I, L или M.
- Пункт D65. Вариант или его соль по любому из пп. D43-D53, содержащие одну консервативную замену.
- Пункт D66. Липидированный линейный пептид или его соль по любому из пп. D1-D41.
- Пункт D67. Липидированный линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. D1-D66, которые содержат липидированный остаток K.
- Пункт D68. Липидированный линейный пептид, вариант или соль по п. D67, где липидированный остаток K представляет собой X_2 в положении 1.
- Пункт D69. Липидированный линейный пептид, вариант или соль по п. D67, где липидированный остаток K представляет собой X_1 в положении -2.
- Пункт D70. Липидированный линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. D1-D69, где липидная цепь представляет собой группу C16DA, C18DA или C20DA.
- Пункт D71. Липидированный линейный пептид, вариант или соль по п. D70, где липидная цепь представляет собой группу C18DA.
- Пункт D72. Липидированный линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. D1-

- D71, где липид связан с остатком К через γ Glu.
- Пункт D73. Липидированный линейный пептид, вариант или соль по п. D72, где липид связан с остатком К через γ Glu и одной-четырьмя группами OEG.
- Пункт D74. Липидированный линейный пептид, вариант или соль по п. D73, где липид связан с остатком К через γ Glu и две группы OEG.
- Пункт D75. Липидированный линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. D1-D69, где липид представляет собой C18DA- γ Glu-OEG-OEG-.
- Пункт D76. Липидированный линейный пептид или соль по любому из пп. D1-D69, где липид представляет собой C18DA- γ Glu-OEG-OEG-.
- Пункт D77. Липидированный линейный пептид или соль по любому из пп. D75 или D76, где липид представляет собой C18DA-L- γ Glu-OEG-OEG-.
- Пункт D78. Липидированный линейный пептид или соль по любому из пп. D75 или D76, где липид представляет собой C18DA-D- γ Glu-OEG-OEG-.
- Пункт D79. Липидированный линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. D1-D78, которые ацетилированы по N-концу.
- Пункт D80. Липидированный линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. D1-D78, которые не модифицированы по N-концу.
- Пункт D81. Липидированный линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. D1-D80, которые амидированы по C-концу.
- Пункт D82. Липидированный линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. D1-D80, который не модифицирован по C-концу.
- Пункт D83. Липидированный линейный пептид или соль по п. D1, состоящие из LLP1 или его соли.
- Пункт D84. Липидированный линейный пептид или соль по п. D1, состоящие из LLP2 или его соли.
- Пункт D85. Липидированный линейный пептид или соль по п. D1, состоящие из LLP3 или его соли.
- Пункт D86. Липидированный линейный пептид или соль по п. D1, состоящие из LLP4 или его соли.
- Пункт D87. Липидированный линейный пептид или соль по п. D1, состоящие из LLP5 или его соли.
- Пункт D88. Липидированный линейный пептид или соль по п. D1, состоящие из LLP6 или его соли.

- Пункт D89. Липидированный линейный пептид или соль по п. D1, состоящие из LLP7 или его соли.
- Пункт D90. Липидированный линейный пептид или соль по п. D1, состоящие из LLP8 или его соли.
- Пункт D91. Липидированный линейный пептид или соль по п. D1, состоящие из LLP9 или его соли.
- Пункт D92. Липидированный линейный пептид или соль по п. D1, состоящие из LLP10 или его соли.
- Пункт D93. Липидированный линейный пептид или соль по п. D1, состоящие из LLP11 или его соли.
- Пункт D94. Липидированный линейный пептид или соль по п. D1, состоящие из LLP12 или его соли.
- Пункт D95. Липидированный линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. D1-D95, где соль представляет собой фармацевтически приемлемую соль.
- Пункт D96. Липидированный линейный пептид по любому из предшествующих пунктов D.
- Пункт D97. Липидированный вариант пептида по любому из предшествующих пунктов D.
- Пункт D98. Фармацевтически приемлемая соль липидированного линейного пептида по любому из предшествующих пунктов D.
- Пункт D99. Фармацевтически приемлемая соль липидированного варианта пептида по любому из предшествующих пунктов D.
- Пункт D100. Липидированный линейный пептид по любому из пп. D1-D99, который не модифицирован по боковой цепи.
- Пункт D101. Липидированный линейный пептид по любому из пп. D1-D99, который не является модифицированным.

Пункт E1. Линейный пептид, содержащий последовательность:

	X ₂ -	X ₃ -	E -	H -	X ₄ -	E
положение	1	2	3	4	5	6

где:

X₂ представляет собой P, D, Q, K, G

X₃ представляет собой I, L, A, T, V

X₄ представляет собой E, A,

или его соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли, где, если X_2 представляет собой R, то X_3 отличается от V.

- Пункт E2. Линейный пептид, вариант или соль по п. E1, где все остатки основной цепи пептида соединены исключительно пептидными связями.
- Пункт E3. Линейный пептид, вариант или соль по п. E1 или E2, содержащие 25 или менее аминокислотных остатков в основной цепи.
- Пункт E4. Линейный пептид, вариант или соль по п. E3, содержащие 20 или менее аминокислотных остатков в основной цепи, например содержащие 20 аминокислотных остатков в основной цепи.
- Пункт E5. Линейный пептид, вариант или соль по п. E4, содержащие 15 или менее аминокислотных остатков в основной цепи, например содержащие 15 аминокислотных остатков в основной цепи.
- Пункт E6. Линейный пептид, вариант или соль по п. E5, содержащие 12 или менее аминокислотных остатков в основной цепи, например содержащие 12 аминокислотных остатков в основной цепи.
- Пункт E7. Линейный пептид, вариант или соль по п. E6, содержащие 11 или менее аминокислотных остатков в основной цепи.
- Пункт E8. Линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. E1-E7, содержащие по меньшей мере 7 аминокислотных остатков в основной цепи, например содержащие 7 аминокислотных остатков в основной цепи.
- Пункт E9. Линейный пептид, вариант или соль по п. E8, содержащие по меньшей мере 8 аминокислотных остатков в основной цепи, например содержащие 8 аминокислотных остатков в основной цепи.
- Пункт E10. Линейный пептид, вариант или соль по п. E9, содержащие по меньшей мере 9 аминокислотных остатков в основной цепи, например содержащие 9 аминокислотных остатков в основной цепи.
- Пункт E11. Линейный пептид, вариант или соль по п. E10, содержащие по меньшей мере 10 аминокислотных остатков в основной цепи, например содержащий 10 аминокислотных остатков в основной цепи.
- Пункт E12. Линейный пептид, вариант или соль по п. E11, содержащие по меньшей мере 11 аминокислотных остатков в основной цепи.
- Пункт E13. Линейный пептид, вариант или соль по п. E12, содержащие 11 аминокислотных остатков в основной цепи.

Пункт E14. Линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. E8-E13, содержащие последовательность:

	E -	X ₂ -	X ₃ -	E -	H -	X ₄ -	E
положение	0	1	2	3	4	5	6

где:

X₂ представляет собой P, D, Q, K, G

X₃ представляет собой I, L, A, T, V

X₄ представляет собой E, A,

или их соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли.

Пункт E15. Линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. E8-E13, содержащие последовательность:

	X ₂ -	X ₃ -	E -	H -	X ₄ -	E -	D
положение	1	2	3	4	5	6	7

где:

X₂ представляет собой P, D, Q, K, G

X₃ представляет собой I, L, A, T, V

X₄ представляет собой E, A,

или их соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли.

Пункт E16. Линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. E9-E13, содержащие последовательность:

	T -	E -	X ₂ -	X ₃ -	E -	H -	X ₄ -	E
положение	-1	0	1	2	3	4	5	6

где:

X₂ представляет собой P, D, Q, K, G

X₃ представляет собой I, L, A, T, V

X₄ представляет собой E, A,

или их соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли.

Пункт E17. Линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. E9-E13, содержащие последовательность:

E -	X ₂ -	X ₃ -	E -	H -	X ₄ -	E -	D
-----	------------------	------------------	-----	-----	------------------	-----	---

положение 0 1 2 3 4 5 6 7

где:

X₂ представляет собой P, D, Q, K, G

X₃ представляет собой I, L, A, T, V

X₄ представляет собой E, A,

или их соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли.

Пункт E18. Линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. E9-E13, содержащие последовательность:

	X ₂ -	X ₃ -	E -	H -	X ₄ -	E -	D -	V
положение	1	2	3	4	5	6	7	8

где:

X₂ представляет собой P, D, Q, K, G

X₃ представляет собой I, L, A, T, V

X₄ представляет собой E, A,

или их соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли.

Пункт E19. Линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. E10-E13, содержащие последовательность:

	X ₁ -	T -	E -	X ₂ -	X ₃ -	E -	H -	X ₄ -	E
положение	-2	-1	0	1	2	3	4	5	6

где:

X₁ представляет собой M, K

X₂ представляет собой P, D, Q, K, G

X₃ представляет собой I, L, A, T, V

X₄ представляет собой E, A,

или их соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли.

Пункт E20. Линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. E10-E13, содержащие последовательность:

	T -	E -	X ₂ -	X ₃ -	E -	H -	X ₄ -	E -	D
положение	-1	0	1	2	3	4	5	6	7

где:

X_2 представляет собой P, D, Q, K, G

X_3 представляет собой I, L, A, T, V

X_4 представляет собой E, A,

или их соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли.

Пункт E21. Линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. E10-E13, содержащие последовательность:

	E -	X_2 -	X_3 -	E -	H -	X_4 -	E -	D -	V
положение	0	1	2	3	4	5	6	7	8

где:

X_2 представляет собой P, D, Q, K, G

X_3 представляет собой I, L, A, T, V

X_4 представляет собой E, A,

или их соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли.

Пункт E22. Линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. E11-E13, содержащие последовательность:

	X_1 -	T -	E -	X_2 -	X_3 -	E -	H -	X_4 -	E -	D
положение	-2	-1	0	1	2	3	4	5	6	7

где:

X_1 представляет собой M, K

X_2 представляет собой P, D, Q, K, G

X_3 представляет собой I, L, A, T, V

X_4 представляет собой E, A,

или их соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли.

Пункт E23. Линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. E11-E13, содержащие последовательность:

	T -	E -	X_2 -	X_3 -	E -	H -	X_4 -	E -	D -	V
положение	-1	0	1	2	3	4	5	6	7	8

где:

X_2 представляет собой P, D, Q, K, G

X_3 представляет собой I, L, A, T, V

X_4 представляет собой E, A,
или их соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида
или соли.

Пункт E24. Линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. E12-E13, содержащие
последовательность:

X_1 -	T -	E -	X_2 -	X_3 -	E -	H -	X_4 -	E -	D -	V
положение -2	-1	0	1	2	3	4	5	6	7	8

где:

X_1 представляет собой M, K

X_2 представляет собой P, D, Q, K, G

X_3 представляет собой I, L, A, T, V

X_4 представляет собой E, A,

или их соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида
или соли.

Пункт E25. Линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. E1-E24, где X_1
представляет собой M.

Пункт E26. Линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. E1-E24, где X_1
представляет собой K.

Пункт E27. Линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. E1-E25, где X_2
представляет собой P.

Пункт E28. Линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. E1-E25, где X_2
представляет собой D.

Пункт E29. Линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. E1-E25, где X_2
представляет собой Q.

Пункт E30. Линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. E1-E25, где X_2
представляет собой K.

Пункт E31. Линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. E1-E25, где X_2
представляет собой G.

Пункт E32. Линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. E1-E31, где X_3
представляет собой I.

Пункт E33. Линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. E1-E31, где X_3
представляет собой L.

Пункт E34. Линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. E1-E31, где X_3

представляет собой А.

- Пункт E35. Линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. E1-E31, где X_3 представляет собой Т.
- Пункт E36. Линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. E1-E26 или E28-E31, где X_3 представляет собой V.
- Пункт E37. Линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. E1-E36, где X_4 представляет собой E.
- Пункт E38. Линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. E1-E36, где X_4 представляет собой А.
- Пункт E39. Линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. E12-E13, содержащие последовательность любой из SEQ ID No. 1-10 и 16-39 или их соли, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли, например состоящий из последовательности любой из SEQ ID No. 1-10 и 16-39, или их соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли.
- Пункт E40. Линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. E12-E13, содержащие последовательность SEQ ID No. 1, или их соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли, например состоящий из последовательности SEQ ID No. 1, или ее соли, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли.
- Пункт E41. Вариант или его соль по любому из пп. E1-E40, содержащие две консервативные замены.
- Пункт E42. Вариант или его соль по любому из пп. E1-E41, содержащие замену X_1 в положении -2, например замену на E, N, Q, R, T, I, L или V.
- Пункт E43. Вариант или его соль по любому из пп. E1-E41, содержащие замену Т в положении -1, например замену на A, K, M, N, R или S, в частности A, K, M, N или R.
- Пункт E44. Вариант или его соль по любому из пп. E1-E41, содержащие замену E в положении 0, например замену на A, D, G, K, Q или V, в частности G, K, Q или V.
- Пункт E45. Вариант или его соль по любому из пп. E1-E41, содержащие замену X_2 в положении 1, например замену на A, C, E, H, L, M, N, R, S, T, V или Y, в частности A, E, H, L, M, N, R, T, V или Y.
- Пункт E46. Вариант или его соль по любому из пп. E1-E41, содержащие замену X_3 в

положении 2, например замену на D, E, F, G, H, K, M, N, P, Q, S или W, в частности D, E, F, G, H, K, M, N, P, Q или W.

- Пункт E47. Вариант или его соль по любому из пп. E1-E41, содержащие замену E в положении 3, например замену на A, D, G, K, Q или V, в частности G, K, Q или V.
- Пункт E48. Вариант или его соль по любому из пп. E1-E41, содержащие замену H в положении 4, например замену на D, L, N, P, Q, R или Y.
- Пункт E49. Вариант или его соль по любому из пп. E1-E41, содержащие замену X₄ в положении 5, например замену на G, K, Q, S, T или V, в частности G, K, Q, T или V.
- Пункт E50. Вариант или его соль по любому из пп. E1-E41, содержащие замену E в положении 6, например замену на A, D, G, K, Q или V.
- Пункт E51. Вариант или его соль по любому из пп. E1-E41, содержащие замену D в положении 7, например замену на A, E, G, H, N, V или Y.
- Пункт E52. Вариант или его соль по любому из пп. E1-E41, содержащие замену V в положении 8, например замену на D, E, I, L или M.
- Пункт E53. Вариант или его соль по любому из пп. E41-E52, содержащие замену X₁ в положении -2, например замену на E, N, Q, R, T, I, L или V.
- Пункт E54. Вариант или его соль по любому из пп. E41-E52, содержащие замену T в положении -1, например замену на A, K, M, N, R или S, в частности A, K, M, N или R.
- Пункт E55. Вариант или его соль по любому из пп. E41-E52, содержащие замену E в положении 0, например замену на A, D, G, K, Q или V, в частности G, K, Q или V.
- Пункт E56. Вариант или его соль по любому из пп. E41-E52, содержащие замену X₂ в положении 1, например замену на A, C, E, H, L, M, N, R, S, T, V или Y, в частности A, E, H, L, M, N, R, T, V или Y.
- Пункт E57. Вариант или его соль по любому из пп. E41-E52, содержащие замену X₃ в положении 2, например замену на D, E, F, G, H, K, M, N, P, Q, S или W, в частности D, E, F, G, H, K, M, N, P, Q или W.
- Пункт E58. Вариант или его соль по любому из пп. E41-E52, содержащие замену E в положении 3, например замену на A, D, G, K, Q или V, в частности G, K, Q или V.

- Пункт E59. Вариант или его соль по любому из пп. E41-E52, содержащие замену H в положении 4, например замену на D, L, N, P, Q, R или Y.
- Пункт E60. Вариант или его соль по любому из пп. E41-E52, содержащие замену X₄ в положении 5, например замену на G, K, Q, S, T или V, в частности G, K, Q, T или V.
- Пункт E61. Вариант или его соль по любому из пп. E41-E52, содержащие замену E в положении 6, например замену на A, D, G, K, Q или V.
- Пункт E62. Вариант или его соль по любому из пп. E41-E52, содержащие замену D в положении 7, например замену на A, E, G, H, N, V или Y.
- Пункт E63. Вариант или его соль по любому из пп. E41-E52, содержащие замену V в положении 8, например замену на D, E, I, L или M.
- Пункт E64. Вариант или его соль по любому из пп. E42-E52, содержащие одну консервативную замену.
- Пункт E65. Линейный пептид или его соль по любому из пп. E1-E40.
- Пункт E66. Линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. E1-E65, которые ацетилированы по N-концу.
- Пункт E67. Линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. E1-E65, которые не модифицированы по N-концу.
- Пункт E68. Линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. E1-E67, которые амидированы по C-концу.
- Пункт E69. Линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. E1-E67, которые не модифицированы по C-концу.
- Пункт E70. Линейный пептид или соль по п. E1, состоящие из SEQ ID No. 1 или его соли.
- Пункт E71. Линейный пептид или соль по п. E1, состоящие из SEQ ID No. 2 или его соли.
- Пункт E72. Линейный пептид или соль по п. E1, состоящие из SEQ ID No. 3 или его соли.
- Пункт E73. Линейный пептид или соль по п. E1, состоящие из SEQ ID No. 4 или его соли.
- Пункт E74. Линейный пептид или соль по п. E1, состоящие из SEQ ID No. 5 или его соли.
- Пункт E75. Линейный пептид или соль по п. E1, состоящие из SEQ ID No. 6 или его соли.

- соли.
- Пункт E76. Линейный пептид или соль по п. E1, состоящие из SEQ ID No. 7 или его соли.
- Пункт E77. Линейный пептид или соль по п. E1, состоящие из SEQ ID No. 8 или его соли.
- Пункт E78. Линейный пептид или соль по п. E1, состоящие из SEQ ID No. 9 или его соли.
- Пункт E79. Линейный пептид или соль по п. E1, состоящие из SEQ ID No. 10 или его соли.
- Пункт E80. Линейный пептид или соль по п. E1, состоящие из SEQ ID No. 16 или его соли.
- Пункт E81. Линейный пептид или соль по п. E1, состоящие из SEQ ID No. 17 или его соли.
- Пункт E82. Линейный пептид или соль по п. E1, состоящие из SEQ ID No. 18 или его соли.
- Пункт E83. Линейный пептид или соль по п. E1, состоящие из SEQ ID No. 19 или его соли.
- Пункт E84. Линейный пептид или соль по п. E1, состоящие из SEQ ID No. 20 или его соли.
- Пункт E85. Линейный пептид или соль по п. E1, состоящие из SEQ ID No. 21 или его соли.
- Пункт E86. Линейный пептид или соль по п. E1, состоящие из SEQ ID No. 22 или его соли.
- Пункт E87. Линейный пептид или соль по п. E1, состоящие из SEQ ID No. 23 или его соли.
- Пункт E88. Линейный пептид или соль по п. E1, состоящие из SEQ ID No. 24 или его соли.
- Пункт E89. Линейный пептид или соль по п. E1, состоящие из SEQ ID No. 25 или его соли.
- Пункт E90. Линейный пептид или соль по п. E1, состоящие из SEQ ID No. 26 или его соли.
- Пункт E91. Линейный пептид или соль по п. E1, состоящие из SEQ ID No. 27 или его соли.

- Пункт E92. Линейный пептид или соль по п. E1, состоящие из SEQ ID No. 28 или его соли.
- Пункт E93. Линейный пептид или соль по п. E1, состоящие из SEQ ID No. 29 или его соли.
- Пункт E94. Линейный пептид или соль по п. E1, состоящие из SEQ ID No. 30 или его соли.
- Пункт E95. Линейный пептид или соль по п. E1, состоящие из SEQ ID No. 31 или его соли.
- Пункт E96. Линейный пептид или соль по п. E1, состоящие из SEQ ID No. 32 или его соли.
- Пункт E97. Линейный пептид или соль по п. E1, состоящие из SEQ ID No. 33 или его соли.
- Пункт E98. Линейный пептид или соль по п. E1, состоящие из SEQ ID No. 34 или его соли.
- Пункт E99. Линейный пептид или соль по п. E1, состоящие из SEQ ID No. 35 или его соли.
- Пункт E100. Линейный пептид или соль по п. E1, состоящие из SEQ ID No. 36 или его соли.
- Пункт E101. Линейный пептид или соль по п. E1, состоящие из SEQ ID No. 37 или его соли.
- Пункт E102. Линейный пептид или соль по п. E1, состоящие из SEQ ID No. 38 или его соли.
- Пункт E103. Линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. E1-E102, где указанная соль представляет собой фармацевтически приемлемую соль.
- Пункт E104. Линейный пептид по любому из предшествующих пунктов E.
- Пункт E105. Вариант пептида по любому из предшествующих пунктов E.
- Пункт E106. Фармацевтически приемлемая соль линейного пептида по любому из предшествующих пунктов E.
- Пункт E107. Фармацевтически приемлемая соль варианта пептида по любому из предшествующих пунктов E.
- Пункт E108. Линейный пептид по любому из пп. E1-E107, который не модифицирован по боковой цепи.
- Пункт E109. Линейный пептид по любому из пп. E1-E107, который не является

модифицированным.

Пункт F1. Линейный пептид, содержащий 10 или менее аминокислотных остатков в основной цепи и содержащий последовательность:

	X ₂ -	X ₃ -	E -	H -	X ₄ -	E
положение	1	2	3	4	5	6

где:

X₂ представляет собой P, D, Q, K, G

X₃ представляет собой I, L, A, T, V

X₄ представляет собой E, A,

или его соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли.

Пункт F2. Линейный пептид, вариант или соль по п. F1, где все остатки основной цепи пептида соединены исключительно пептидными связями.

Пункт F3. Линейный пептид, вариант или соль по п. F1 или F2, содержащие 6 аминокислотных остатков в основной цепи.

Пункт F4. Линейный пептид, вариант или соль по п. F1 или F2, содержащие 7 аминокислотных остатков в основной цепи.

Пункт F5. Линейный пептид, вариант или соль по п. F1 или F2, содержащие 8 аминокислотных остатков в основной цепи.

Пункт F6. Линейный пептид, вариант или соль по п. F1 или F2, содержащие 9 аминокислотных остатков в основной цепи.

Пункт F7. Линейный пептид, вариант или соль по п. F1 или F2, содержащие 10 аминокислотных остатков в основной цепи.

Пункт F8. Линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. F1, F2 или F4-F7, содержащие последовательность:

	E -	X ₂ -	X ₃ -	E -	H -	X ₄ -	E
положение	0	1	2	3	4	5	6

где:

X₂ представляет собой P, D, Q, K, G

X₃ представляет собой I, L, A, T, V

X₄ представляет собой E, A,

или их соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли.

Пункт F9. Линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. F1, F2 или F4-F7, содержащие последовательность:

	X ₂ -	X ₃ -	E -	H -	X ₄ -	E -	D
положение	1	2	3	4	5	6	7

где:

X₂ представляет собой P, D, Q, K, G

X₃ представляет собой I, L, A, T, V

X₄ представляет собой E, A,

или их соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли.

Пункт F10. Линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. F1, F2 или F5-F7, содержащие последовательность:

	T -	E -	X ₂ -	X ₃ -	E -	H -	X ₄ -	E
положение	-1	0	1	2	3	4	5	6

где:

X₂ представляет собой P, D, Q, K, G

X₃ представляет собой I, L, A, T, V

X₄ представляет собой E, A,

или их соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли.

Пункт F11. Линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. F1, F2 или F5-F7, содержащие последовательность:

	E -	X ₂ -	X ₃ -	E -	H -	X ₄ -	E -	D
положение	0	1	2	3	4	5	6	7

где:

X₂ представляет собой P, D, Q, K, G

X₃ представляет собой I, L, A, T, V

X₄ представляет собой E, A

или их соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли.

Пункт F12. Линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. F1, F2 или F6-F7, содержащие последовательность:

X ₂ -	X ₃ -	E -	H -	X ₄ -	E -	D -	V
------------------	------------------	-----	-----	------------------	-----	-----	---

положение 1 2 3 4 5 6 7 8

где:

X_2 представляет собой P, D, Q, K, G

X_3 представляет собой I, L, A, T, V

X_4 представляет собой E, A,

или их соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли.

Пункт F13. Линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. F1, F2, F6 или F7, содержащие последовательность:

	X_1 -	T -	E -	X_2 -	X_3 -	E -	H -	X_4 -	E
положение	-2	-1	0	1	2	3	4	5	6

где:

X_1 представляет собой M, K

X_2 представляет собой P, D, Q, K, G

X_3 представляет собой I, L, A, T, V

X_4 представляет собой E, A

или их соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли.

Пункт F14. Линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. F1, F2, F6 или F7, содержащие последовательность:

	T -	E -	X_2 -	X_3 -	E -	H -	X_4 -	E -	D
положение	-1	0	1	2	3	4	5	6	7

где:

X_2 представляет собой P, D, Q, K, G

X_3 представляет собой I, L, A, T, V

X_4 представляет собой E, A,

или их соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли.

Пункт F15. Линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. F1, F2, F6 или F7, содержащие последовательность:

	E -	X_2 -	X_3 -	E -	H -	X_4 -	E -	D -	V
положение	0	1	2	3	4	5	6	7	8

где:

X_2 представляет собой P, D, Q, K, G

X_3 представляет собой I, L, A, T, V

X_4 представляет собой E, A,

или их соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли.

Пункт F16. Линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. F1, F2 или F7, содержащие последовательность:

	X_1 -	T -	E -	X_2 -	X_3 -	E -	H -	X_4 -	E -	D
положение	-2	-1	0	1	2	3	4	5	6	7

где:

X_1 представляет собой M, K

X_2 представляет собой P, D, Q, K, G

X_3 представляет собой I, L, A, T, V

X_4 представляет собой E, A

или их соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли.

Пункт F17. Линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. F1, F2 или F7, содержащие последовательность:

	T -	E -	X_2 -	X_3 -	E -	H -	X_4 -	E -	D -	V
положение	-1	0	1	2	3	4	5	6	7	8

где:

X_2 представляет собой P, D, Q, K, G

X_3 представляет собой I, L, A, T, V

X_4 представляет собой E, A

или их соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли.

Пункт F18. Линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. F1-F17, где X_1 представляет собой M.

Пункт F19. Линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. F1-F17, где X_1 представляет собой K.

Пункт F20. Линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. F1-F19, где X_2 представляет собой P.

Пункт F21. Линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. F1-F19, где X_2

- представляет собой D.
- Пункт F22. Линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. F1-F19, где X_2 представляет собой Q.
- Пункт F23. Линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. F1-F19, где X_2 представляет собой K.
- Пункт F24. Линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. F1-F19, где X_2 представляет собой G.
- Пункт F25. Линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. F1-F24, где X_3 представляет собой I.
- Пункт F26. Линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. F1-F24, где X_3 представляет собой L.
- Пункт F27. Линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. F1-F24, где X_3 представляет собой A.
- Пункт F26. Линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. F1-F24, где X_3 представляет собой T.
- Пункт F29. Линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. F1-F24, где X_3 представляет собой V.
- Пункт F30. Линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. F1-F29, где X_4 представляет собой E.
- Пункт F31. Линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. F1-F29, где X_4 представляет собой A.
- Пункт F32. Линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. F1-F31, содержащие последовательность любой из SEQ ID No. 40-42, или ее соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли.
- Пункт F33. Линейный пептид, вариант или соль по п. F32, состоящие из любой из SEQ ID No. 40-42 или ее соли, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли.
- Пункт F34. Вариант или его соль по любому из пп. F1-F33, содержащие две консервативные замены.
- Пункт F35. Вариант или его соль по любому из пп. F1-F34, содержащие замену X_1 в положении -2, например замену на E, N, Q, R, T, I, L или V.
- Пункт F36. Вариант или его соль по любому из пп. F1-F34, содержащие замену T в положении -1, например замену на A, K, M, N, R или S, в частности A, K, M,

N или R.

- Пункт F37. Вариант или его соль по любому из пп. F1-F34, содержащие замену E в положении 0, например замену на A, D, G, K, Q or V, в частности G, K, Q или V.
- Пункт F38. Вариант или его соль по любому из пп. F1-F34, содержащие замену X₂ в положении 1, например замену на A, C, E, H, L, M, N, R, S, T, V или Y, в частности A, E, H, L, M, N, R, T, V или Y.
- Пункт F39. Вариант или его соль по любому из пп. F1-F34, содержащие замену X₃ в положении 2, например замену на D, E, F, G, H, K, M, N, P, Q, S или W, в частности D, E, F, G, H, K, M, N, P, Q или W.
- Пункт F40. Вариант или его соль по любому из пп. F1-F34, содержащие замену E в положении 3, например замену на A, D, G, K, Q или V, в частности G, K, Q или V.
- Пункт F41. Вариант или его соль по любому из пп. F1-F34, содержащие замену H в положении 4, например замену на D, L, N, P, Q, R или Y.
- Пункт F42. Вариант или его соль по любому из пп. F1-F34, содержащие замену X₄ в положении 5, например замену на G, K, Q, S, T или V, в частности G, K, Q, T или V.
- Пункт F43. Вариант или его соль по любому из пп. F1-F34, содержащие замену E в положении 6, например замену на A, D, G, K, Q или V.
- Пункт F44. Вариант или его соль по любому из пп. F1-F34, содержащие замену D в положении 7, например замену на A, E, G, H, N, V или Y.
- Пункт F45. Вариант или его соль по любому из пп. F1-F34, содержащие замену V в положении 8, например замену на D, E, I, L или M.
- Пункт F46. Вариант или его соль по любому из пп. F34-F45, содержащие замену X₁ в положении -2, например замену на E, N, Q, R, T I, L или V.
- Пункт F47. Вариант или его соль по любому из пп. F34-F45, содержащие замену T в положении -1, например замену на A, K, M, N, R или S, в частности A, K, M, N или R.
- Пункт F48. Вариант или его соль по любому из пп. F34-F45, содержащие замену E в положении 0, например замену на A, D, G, K, Q или V, в частности G, K, Q или V.
- Пункт F49. Вариант или его соль по любому из пп. F34-F45, содержащие замену X₂ в

- положении 1, например замену на A, C, E, H, L, M, N, R, S, T, V или Y, в частности A, E, H, L, M, N, R, T, V или Y.
- Пункт F50. Вариант или его соль по любому из пп. F34-F45, содержащие замену X₃ в положении 2, например замену на D, E, F, G, H, K, M, N, P, Q, S или W, в частности D, E, F, G, H, K, M, N, P, Q или W.
- Пункт F51. Вариант или его соль по любому из пп. F34-F45, содержащие замену E в положении 3, например замену на A, D, G, K, Q или V, в частности G, K, Q или V.
- Пункт F52. Вариант или его соль по любому из пп. F34-F45, содержащие замену H в положении 4, например замену на D, L, N, P, Q, R или Y.
- Пункт F53. Вариант или его соль по любому из пп. F34-F45, содержащие замену X₄ в положении 5, например замену на G, K, Q, S, T или V, в частности G, K, Q, T или V.
- Пункт F54. Вариант или его соль по любому из пп. F34-F45, содержащие замену E в положении 6, например замену на A, D, G, K, Q или V.
- Пункт F55. Вариант или его соль по любому из пп. F34-F45, содержащие замену D в положении 7, например замену на A, E, G, H, N, V или Y.
- Пункт F56. Вариант или его соль по любому из пп. F34-F45, содержащие замену V в положении 8, например замену на D, E, I, L или M.
- Пункт F57. Вариант или его соль по любому из пп. F35-F45, содержащие одну консервативную замену.
- Пункт F58. Линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. F1-F57, которые ацетилированы по N-концу.
- Пункт F59. Линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. F1-F57, которые не модифицированы по N-концу.
- Пункт F60. Линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. F1-F59, которые амидированы по C-концу.
- Пункт F61. Линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. F1-F59, которые не модифицированы по C-концу.
- Пункт F62. Линейный пептид или его соль по любому из пп. F1-F33.
- Пункт F63. Линейный пептид или соль по п. F1, состоящие из SEQ ID No. 40 или ее соли.
- Пункт F64. Линейный пептид или соль по п. F1, состоящие из SEQ ID No. 41 или ее

соли.

- Пункт F65. Линейный пептид или соль по п. F1, состоящие из SEQ ID No. 42 или ее соли.
- Пункт F66. Линейный пептид, вариант или соль по любому из пп. F1-F65, где соль представляет собой фармацевтически приемлемую соль.
- Пункт F67. Линейный пептид по любому из предшествующих пунктов F.
- Пункт F68. Вариант пептида по любому из предшествующих пунктов F.
- Пункт F69. Фармацевтически приемлемая соль линейного пептида по любому из предшествующих пунктов F.
- Пункт F70. Фармацевтически приемлемая соль варианта пептида по любому из предшествующих пунктов F.
- Пункт F71. Линейный пептид по любому из пп. F1-F70, который не модифицирован по боковой цепи.
- Пункт F72. Линейный пептид по любому из пп. F1-F70, который не является модифицированным.
- Пункт G1. Защищенный циклический пептид, содержащий циклический пептид, описанный в любом из пп. A1-A98, B1-B95 или C1-C70, где по меньшей мере одна реакционноспособная аминокислотная боковая цепь защищена.
- Пункт G2. Защищенный циклический пептид по п. G1, где все реакционноспособные аминокислотные боковые цепи защищены.
- Пункт H1. Защищенный линейный пептид, содержащий линейный пептид, описанный в любом из пп. D1-D101, E1-E109 или F1-F72, где по меньшей мере одна реакционноспособная группа защищена.
- Пункт H2. Защищенный линейный пептид по п. H1, где по меньшей мере одна реакционноспособная боковая цепь аминокислоты защищена.
- Пункт H3. Защищенный линейный пептид по п. H2, где все реакционноспособные боковые цепи аминокислот защищены.
- Пункт H4. Защищенный линейный пептид по любому из пп. H1-H3, где N-конец защищен.
- Пункт H5. Защищенный линейный пептид по любому из пп. H1-H4, где C-конец защищен.
- Пункт I1. Линейный пептид, который при циклизации обеспечивает циклический пептид, описанный в любом из пп. A1-A98, B1-B95 или C1-C70.

- Пункт J1. Защищенный линейный пептид, который при циклизации обеспечивает защищенный циклический пептид, описанный в любом из пп. G1 или G2.
- Пункт K. Способ получения пептида, описанного в настоящем документе.
- Пункт L1. Липидированный циклический пептид, циклический пептид, липидированный линейный пептид, линейный пептид, вариант любого из них и/или любого из них по любому из пп. A1-A98, B1-B99, C1-C70, D1-D101, E1-E109 или F1-F72, которые способны повышать уровни BDNF.
- Пункт L2. Липидированный циклический пептид, циклический пептид, липидированный линейный пептид, линейный пептид, вариант любого из них и/или любого из них по п. J1, которые способны повышать уровни BDNF по меньшей мере на 20% в течение от 0 до 24 часов после введения в исследовании из Примера 10.
- Пункт M1. Липидированный циклический пептид, циклический пептид, липидированный линейный пептид, линейный пептид, вариант любого из них и/или соль любого из них по любому из пп. A1-A98, B1-B95, C1-C70, D1-D101, E1-E109 или F1-F72, которые способны повышать уровни фосфор-CREB (Ser133).
- Пункт M2. Липидированный циклический пептид, циклический пептид, липидированный линейный пептид, линейный пептид, вариант любого из них и/или соль любого из них по п. M1, которые способны повышать уровни CREB по меньшей мере на 30% в течение от 0 до 24 часов после введения в исследовании из Примера 10.
- Пункт N1. Липидированный циклический пептид, циклический пептид, липидированный линейный пептид, линейный пептид, вариант любого из них и/или соль любого из них по любому из пп. A1-A99, B1-B95, C1-C70, D1-D101, E1-E109 или F1-F72, которые способны повышать уровни PGC1a.
- Пункт N2. Липидированный циклический пептид, циклический пептид, липидированный линейный пептид, линейный пептид, вариант любого из них и/или соль любого из них по п. M1, которые способны повышать уровни PGC1a по меньшей мере на 30% в течение от 0 до 24 часов после введения в исследовании из Примера 10.
- Пункт O1. Липидированный циклический пептид, циклический пептид, липидированный линейный пептид, линейный пептид, вариант любого из

них и/или соль любого из них по любому из пп. A1-A99, B1-B95, C1-C70, D1-D101, E1-E109 или F1-F72, которые способны повышать уровни TFEB.

- Пункт O2. Липидированный циклический пептид, циклический пептид, липидированный линейный пептид, линейный пептид, вариант любого из них и/или соль любого из них по п. O1, которые способны повышать уровни TFEB по меньшей мере на 30% в течение от 0 до 24 часов после введения в исследовании из Примера 10.
- Пункт P1. Липидированный циклический пептид, циклический пептид, липидированный линейный пептид, линейный пептид, вариант любого из них и/или соль любого из них по любому из пп. A1-A99, B1-B95, C1-C70, D1-D101, E1-E109 или F1-F72, которые способны снижать уровни NfL.
- Пункт P2. Липидированный циклический пептид, циклический пептид, липидированный линейный пептид, линейный пептид, вариант любого из них и/или соль любого из них по п. P1, которые способны снижать уровни NfL по меньшей мере на 10% в исследовании из Примера 31.
- Пункт Q1. Пептид или его вариант и/или их соль по любому из предшествующих пунктов, которые обладают улучшенной способностью повышать BDNF, PGC1a, TFEB и/или фосфо-CREB (Ser133) по сравнению с CPX.
- Пункт Q2. Пептид или его вариант и/или их соль по любому из предшествующих пунктов, которые характеризуются улучшенными $t_{1/2}$, AUC или C_{max} , в частности в головном мозге, по сравнению с CPX.
- Пункт Q3. Пептид или его вариант и/или их соль по любому из предшествующих пунктов, которые характеризуются улучшенным $t_{1/2}$ в головном мозге по сравнению с CPX.
- Пункт Q4. Пептид или его вариант и/или их соль по любому из предшествующих пунктов, которые обладают способностью повышать BDNF, PGC1a, TFEB и/или фосфо-CREB (Ser133), по меньшей мере эквивалентной CLP1.
- Пункт Q5. Пептид или его вариант и/или их соль по любому из предшествующих пунктов, которые характеризуются $t_{1/2}$, AUC или C_{max} , в частности в головном мозге, по меньшей мере эквивалентными CLP1.
- Пункт Q6. Пептид или его вариант и/или их соль по любому из предшествующих пунктов, которые характеризуются $t_{1/2}$, в частности в головном мозге, по меньшей мере эквивалентным CLP1.

- Пункт Q7. Пептид или его вариант и/или их соль по любому из предшествующих пунктов, которые демонстрируют отсутствие фибрилляции при рН 6,5 и 7,5, предпочтительно при рН 4,5, рН 6,5 и рН 7,5 (например способом из Примера 5).
- Пункт Q8. Пептид или его вариант и/или их соль по любому из предшествующих пунктов, которые демонстрируют $t_{1/2}$ по меньшей мере 1 ч, предпочтительно по меньшей мере 4 часа, в частности по меньшей мере 8 часов (например, способом из Примера 9).
- Пункт Q9. Пептид или его вариант и/или их соль по п. Q8, которые демонстрируют $t_{1/2}$ в головном мозге по меньшей мере 1 ч, предпочтительно по меньшей мере 4 часа, в частности по меньшей мере 8 часов (например, способом из Примера 9).
- Пункт R1. Фармацевтическая композиция, содержащая липидированный циклический пептид, циклический пептид, липидированный линейный пептид, линейный пептид, вариант любого из них и/или фармацевтически приемлемую соль любого из них по любому из пп. A1-A98, B1-B95, C1-C70, D1-D101, E1-E109, F1-F72, L1 или L2, M1 или M2, N1 или N2, O1 или O2, P1 или P2, Q1-Q9, и фармацевтически приемлемый носитель или эксципиент.
- Пункт R2. Фармацевтическая композиция по п. R1, которая является твердой.
- Пункт R3. Фармацевтическая композиция по п. R2, которая является жидкой.
- Пункт R4. Фармацевтическая композиция по п. R3, где фармацевтически приемлемый носитель или эксципиент представляет собой воду.
- Пункт R5. Фармацевтическая композиция по любому из пп. R1-R4, который представляет собой стандартную лекарственную форму.
- Пункт R6. Фармацевтическая композиция по п. R5, где стандартная лекарственная форма содержит от 0,005 мг до 100 мг, более предпочтительно от 0,05 мг до 50 мг.
- Пункт R7. Липидированный циклический пептид, циклический пептид, липидированный линейный пептид, линейный пептид, вариант любого из них и/или фармацевтически приемлемая соль любого из них по любому из пп. A1-A98, B1-B95, C1-C70, D1-D101, E1-E109, F1-F72, L1 или L2, M1 или M2, N1 или N2, O1 или O2, P1 или P2, Q1-Q9 для применения в качестве лекарственного средства.

- Пункт R8. Применение липидированного циклического пептида, циклического пептида, липидированного линейного пептида, линейного пептида, варианта любого из них и/или фармацевтически приемлемой соли любого из них по любому из пп. A1-A98, B1-B95, C1-C70, D1-D101, E1-E109, F1-F72, L1 или L2, M1 или M2, N1 или N2, O1 или O2, P1 или P2, Q1-Q9 в изготовлении лекарственного средства.
- Пункт R9. Липидированный циклический пептид, циклический пептид, липидированный линейный пептид, линейный пептид, вариант любого из них и/или фармацевтически приемлемая соль любого из них по любому из пп. A1-A98, B1-B95, C1-C70, D1-D101, E1-E109, F1-F72, L1 или L2, M1 или M2, N1 или N2, O1 или O2, P1 или P2, Q1-Q9 для применения в повышении уровней BDNF.
- Пункт R10. Применение липидированного циклического пептида, циклического пептида, липидированного линейного пептида, линейного пептида, варианта любого из них и/или фармацевтически приемлемой соли любого из них по любому из пп. A1-A98, B1-B95, C1-C70, D1-D101, E1-E109, F1-F72, L1 или L2, M1 или M2, N1 или N2, O1 или O2, P1 или P2, Q1-Q9 в изготовлении лекарственного средства для повышения уровней BDNF.
- Пункт R11. Способ повышения уровней BDNF у субъекта, включающий введение субъекту липидированного циклического пептида, циклического пептида, липидированного линейного пептида, линейного пептида, варианта любого из них и/или фармацевтически приемлемой соли любого из них по любому из пп. A1-A98, B1-B95, C1-C70, D1-D101, E1-E109, F1-F72, L1 или L2, M1 или M2, N1 или N2, O1 или O2, P1 или P2, Q1-Q9.
- Пункт R12. Липидированный циклический пептид, циклический пептид, липидированный линейный пептид, линейный пептид, вариант любого из них и/или фармацевтически приемлемая соль любого из них по любому из пп. A1-A98, B1-B95, C1-C70, D1-D101, E1-E109, F1-F72, L1 или L2, M1 или M2, N1 или N2, O1 или O2, P1 или P2, Q1-Q9 для применения в повышении уровней фосфо-CREB (Ser133).
- Пункт R13. Применение липидированного циклического пептида, циклического пептида, липидированного линейного пептида, линейного пептида, варианта любого из них и/или фармацевтически приемлемой соли любого из них по

любому из пп. A1-A98, B1-B95, C1-C70, D1-D101, E1-E109, F1-F72, L1 или L2, M1 или M2, N1 или N2, O1 или O2, P1 или P2, Q1-Q9 в изготовлении лекарственного средства для повышения уровней фосфо-CREB (Ser133).

- Пункт R14. Способ повышения уровней CREB у субъекта, включающий введение субъекту липидированного циклического пептида, циклического пептида, липидированного линейного пептида, линейного пептида, варианта любого из них и/или фармацевтически приемлемой соли любого из них по любому из пп. A1-A98, B1-B95, C1-C70, D1-D101, E1-E109, F1-F72, L1 или L2, M1 или M2, N1 или N2, O1 или O2, P1 или P2, Q1-Q9.
- Пункт R15. Липидированный циклический пептид, циклический пептид, липидированный линейный пептид, линейный пептид, вариант любого из них и/или фармацевтически приемлемая соль любого из них по любому из пп. A1-A98, B1-B95, C1-C70, D1-D101, E1-E109, F1-F72, L1 или L2, M1 или M2, N1 или N2, O1 или O2, P1 или P2, Q1-Q9 для применения в повышении уровней PGC1 α .
- Пункт R16. Применение липидированного циклического пептида, циклического пептида, липидированного линейного пептида, линейного пептида, варианта любого из них и/или фармацевтически приемлемой соли любого из них по любому из пп. A1-A98, B1-B95, C1-C70, D1-D101, E1-E109, F1-F72, L1 или L2, M1 или M2, N1 или N2, O1 или O2, P1 или P2, Q1-Q9 в изготовлении лекарственного средства для повышения уровней PGC1 α .
- Пункт R17. Способ повышения уровней PGC1 α у субъекта, включающий введение субъекту липидированного циклического пептида, циклического пептида, липидированного линейного пептида, линейного пептида, варианта любого из них и/или фармацевтически приемлемой соли любого из них по любому из пп. A1-A98, B1-B95, C1-C70, D1-D101, E1-E109, F1-F72, L1 или L2, M1 или M2, N1 или N2, O1 или O2, P1 или P2, Q1-Q9.
- Пункт R18. Липидированный циклический пептид, циклический пептид, липидированный линейный пептид, линейный пептид, вариант любого из них и/или фармацевтически приемлемая соль любого из них по любому из пп. A1-A98, B1-B95, C1-C70, D1-D101, E1-E109, F1-F72, L1 или L2, M1 или M2, N1 или N2, O1 или O2, P1 или P2, Q1-Q9 для применения в повышении уровней TFEB.

- Пункт R19. Применение липидированного циклического пептида, циклического пептида, липидированного линейного пептида, линейного пептида, варианта любого из них и/или фармацевтически приемлемой соли любого из них по любому из пп. A1-A98, B1-B95, C1-C70, D1-D101, E1-E109, F1-F72, L1 или L2, M1 или M2, N1 или N2, O1 или O2, P1 или P2, Q1-Q9 в изготовлении лекарственного средства для повышения уровней TFEB.
- Пункт R20. Способ повышения уровней TFEB у субъекта, включающий введение субъекту липидированного циклического пептида, циклического пептида, липидированного линейного пептида, линейного пептида, варианта любого из них и/или фармацевтически приемлемой соли любого из них по любому из пп. A1-A98, B1-B95, C1-C70, D1-D101, E1-E109, F1-F72, L1 или L2, M1 или M2, N1 или N2, O1 или O2, P1 или P2, Q1-Q9.
- Пункт R21. Липидированный циклический пептид, циклический пептид, липидированный линейный пептид, линейный пептид, варианта любого из них и/или фармацевтически приемлемой соли любого из них по любому из пп. A1-A98, B1-B95, C1-C70, D1-D101, E1-E109, F1-F72, L1 или L2, M1 или M2, N1 или N2, O1 или O2, P1 или P2, Q1-Q9 для применения в понижении уровней NfL.
- Пункт R22. Применение липидированного циклического пептида, циклического пептида, липидированного линейного пептида, линейного пептида, варианта любого из них и/или фармацевтически приемлемой соли любого из них по любому из пп. A1-A98, B1-B95, C1-C70, D1-D101, E1-E109, F1-F72, L1 или L2, M1 или M2, N1 или N2, O1 или O2, P1 или P2, Q1-Q9 в получении лекарственного средства для снижения уровней NfL.
- Пункт R23. Способ понижения уровней NfL у субъекта, включающий введение субъекту липидированного циклического пептида, циклического пептида, липидированного линейного пептида, линейного пептида, варианта любого из них и/или фармацевтически приемлемой соли любого из них по любому из пп. A1-A98, B1-B95, C1-C70, D1-D101, E1-E109, F1-F72, L1 или L2, M1 или M2, N1 или N2, O1 или O2, P1 или P2, Q1-Q9.
- Пункт R24. Липидированный циклический пептид, циклический пептид, липидированный линейный пептид, линейный пептид, вариант любого из них и/или фармацевтически приемлемая соль любого из них по любому из

пп. A1-A98, B1-B95, C1-C70, D1-D101, E1-E109, F1-F72, L1 или L2, M1 или M2, N1 или N2, O1 или O2, P1 или P2, Q1-Q9 для применения в лечении или профилактике заболевания или расстройства, выбранного из группы, состоящей из нейродегенеративных заболеваний, протеинопатий, лизосомных болезней накопления, митохондриальных расстройств, психических расстройств и других связанных с BDNF расстройств.

Пункт R25. Применение липидированного циклического пептида, циклического пептида, липидированного линейного пептида, линейного пептида, варианта любого из них и/или фармацевтически приемлемой соли любого из них по любому из пп. A1-A98, B1-B95, C1-C70, D1-D101, E1-E109, F1-F72, L1 или L2, M1 или M2, N1 или N2, O1 или O2, P1 или P2, Q1-Q9 в изготовлении лекарственного средства для лечения или профилактики заболевания или расстройства, выбранного из группы, состоящей из нейродегенеративных заболеваний, протеинопатий, лизосомных болезней накопления, митохондриальных расстройств, психических расстройств и других связанных с BDNF расстройств.

Пункт R26. Способ лечения или профилактики заболевания или расстройства, выбранного из группы, состоящей из нейродегенеративных заболеваний, протеинопатий, лизосомных болезней накопления, митохондриальных расстройств, психических расстройств и других связанных с BDNF расстройств у субъекта, включающий введение указанному субъекту липидированного циклического пептида, циклического пептида, липидированного линейного пептида, линейного пептида, варианта любого из них и/или фармацевтически приемлемой соли любого из них по любому из пп. A1-A98, B1-B95, C1-C70, D1-D101, E1-E109, F1-F72, L1 или L2, M1 или M2, N1 или N2, O1 или O2, P1 или P2, Q1-Q9.

Пункт R27. Пептид, применение или способ по любому из пп. R24-R26 для лечения или профилактики нейродегенеративного заболевания, в частности нейродегенеративного заболевания, связанного со снижением BDNF, восстановлением с помощью BDNF, митохондриальной дисфункции и/или лизосомной дисфункции.

Пункт R28. Пептид, применение или способ по любому из пп. R24-R26 для лечения или профилактики болезни Хантингтона, болезни Паркинсона, болезни

Альцгеймера, лобно-височной деменции (в частности, у субъектов с гаплонедостаточностью GRN), ALS, рассеянного склероза, наследственных атаксий, расстройства двигательного нейрона или сосудистой деменции.

- Пункт R29. Пептид, применение или способ по п. R28, для лечения или профилактики болезни Хантингтона.
- Пункт R30. Пептид, применение или способ по п. R29, где UHDRS улучшен (по сравнению с отсутствием лечения).
- Пункт R31. Пептид, применение или способ по п. R28 для лечения или профилактики болезни Паркинсона.
- Пункт R32. Пептид, применение или способ по п. R31 у субъекта с моноаллельной мутацией в GBA1.
- Пункт R33. Пептид, применение или способ по п. R32 у субъекта с мутациями N370S, L444P, R463C, G10S, N426K, R48W и/или R257Q.
- Пункт R34. Пептид, применение или способ по любому из пп. R31-R33, где UPDRS улучшен (по сравнению с отсутствием лечения).
- Пункт R35. Пептид, применение или способ по любому из пп. R31-R34, где MDS-UPDRS улучшен (по сравнению с отсутствием лечения).
- Пункт R36. Пептид, применение или способ по п. R28 для лечения или профилактики болезни Альцгеймера.
- Пункт R37. Пептид, применение или способ по п. R28 для лечения или профилактики лобно-височной деменции, в частности субъектов с гаплонедостаточностью GRN.
- Пункт R38. Пептид, применение или способ по любому из пп. R24-R26 для лечения или профилактики протеинопатии, в частности протеинопатии, связанной с агрегацией белков.
- Пункт R39. Пептид, применение или способ по любому из пп. R24-R26 для лечения или профилактики прионных заболеваний, альфа-синуклеинопатий, тауопатий, C9orf72-зависимого ALS/FTD, деменции с тельцами Леви, деменции с амилоидными бляшками, болезни Хантингтона, TDP-43-положительного ALS/FTD или наследственных атаксий.
- Пункт R40. Пептид, применение или способ по любому из пп. R24-R26 для лечения или профилактики лизосомной болезни накопления, в частности лизосомной болезни накопления, ассоциированной с лизосомной дисфункцией.

- Пункт R41. Пептид, применение или способ по п. R40 у субъекта с болезнью Гоше.
- Пункт R42. Пептид, применение или способ по п. R41 у субъекта с биаллельной мутацией в GBA1.
- Пункт R43. Пептид, применение или способ по п. R42 у субъекта с мутациями p.Leu483Pro, p.Arg535Cys и/или RecNcil.
- Пункт R44. Пептид, применение или способ по любому из пп. R24-R26 для лечения или профилактики болезни Ниманна-Пика или нейронального цероидного липофусциноза.
- Пункт R45. Пептид, применение или способ по любому из пп. R24-R26 для лечения или профилактики связанного с митохондриальной дисфункцией расстройства.
- Пункт R46. Пептид, применение или способ по любому из пп. R24-R26 для лечения и профилактики митохондриальных миопатий или синдрома Лея.
- Пункт R47. Пептид, применение или способ по любому из пп. R24-R26 для лечения и профилактики психического расстройства, в частности психического расстройства, связанного с ассоциацией гена или функции SorCS2, или ассоциацией BDNF или TrkB.
- Пункт R48. Пептид, применение или способ по любому из пп. R24-R26 для лечения или профилактики биполярного расстройства, депрессии, шизофрении, расстройств аутического спектра, беспокойства или ADHD.
- Пункт R49. Пептид, применение или способ по любому из пп. R24-R26 для лечения или профилактики депрессии.
- Пункт R50. Пептид, применение или способ по любому из пп. R24-R26 для лечения или профилактики другого связанного с BDNF расстройства.
- Пункт R51. Пептид, применение или способ по любому из пп. R24-R26 для лечения или профилактики синдрома WAGR (в частности, BDNF-гаплонедостаточности), инсульта или эпилепсии.
- Пункт R52. Пептид, применение или способ по любому из пп. R7-R51 для применения в лечении.
- Пункт R53. Пептид, применение или способ по любому из пп. R7-R51 для применения в профилактике.
- Пункт R54. Пептид, применение или способ по любому из пп. R7-R53 для применения у субъекта, представляющего собой человека.
- Пункт R55. Пептид, применение или способ по любому из пп. R7-R54, где

липидированный циклический пептид, циклический пептид, липидированный линейный пептид, линейный пептид, вариант любого из них и/или фармацевтически приемлемая соль любого из них представлены в форме фармацевтической композиции по любому из пп. R1-R7.

Пункт S1. Пептид по любому из пп. A1-A98, B1-B95, C1-C70, D1-D101, E1-E109, F1-F72, L1 или L2, M1 или M2, N1 или N2, O1 или O2, P1 или P2, Q1-Q9, или защищенный пептид по любому из пп. G1 и G2, H1-H5, I1 или J1, который ковалентно связан с твердой подложкой.

Настоящее изобретение также описано более подробно со ссылкой на примеры, которые следуют ниже, но не ограничивается ими. Примеры могут быть изменены без отступления от объема изобретения.

Кроме того, используемые в настоящем описании и прилагаемых пунктах формулы изобретения неопределенные и определенные формы единственного числа включают их множественные варианты, если их содержание явно не подразумевает иное. Так, например, упоминание «пептида» включает два или более таких пептидов и тому подобное.

Все публикации, патенты и патентные заявки, упоминаемые в настоящем документе, как выше, так и ниже, настоящим включены посредством ссылки в полном объеме.

Примеры

Статистика

Если не указано иное, для оценки значимости использовали двусторонний t-критерий Стьюдента. Столбцы ошибок показывают S.E.M. (стандартная ошибка среднего) * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, **** $p < 0,0001$.

Пример 1: Синтез пептидов

Линейные пептиды синтезировали с применением стандартной химии Fmoc (флуоренилметилоксикарбонила).

Получение смолы:

Fmoc-Pro-OH (0,2 ммоль, 1 экв.) и N,N-диизопропилэтиламин (DIPEA) (0,14 мл, 4 экв.) добавляли к смоле 2-СТС (0,2 ммоль, 1,00 экв., Sub 1,05 ммоль/г) в дихлорметане (DCM) (10 мл). Смесь взбалтывали с N₂ в течение 2 ч при 20°C, затем добавляли метанол (MeOH) (0,5 мл) и взбалтывали с продуванием N₂ в течение еще 30 мин. Смолу промывали трижды диметилформамидом (DMF) (15 мл).

Снятие защиты:

Удаление Fmoc осуществляли с применением 20% пиперидина в DMF (15 мл), который добавляли к смоле и взбалтывали с N₂ в течение 30 мин. Смолу промывали с помощью DMF четыре раза (15 мл) и фильтровали.

Сочетание:

Последовательные сочетания аминокислот проводили с применением раствора 2-(1H-бензотриазол-1-ил)-1,1,3,3-тетраметилуруния гексафторфосфата (HBTU) (2,85 экв.), DIPEA (6 экв.) и Fmoc-защищенных аминокислот (3 экв.) в DMF (5 мл), которые добавляли к смоле и взбалтывали с N₂ в течение 30 мин при 20°C. Затем смолу промывали четыре раза с помощью DMF (15 мл). Стадии снятия защиты Fmoc и сочетания повторяли для каждой из последующих аминокислот до тех пор, пока не была получена желаемая пептидная последовательность. Затем смолу промывали четыре раза диметилформамидом (DMF) (15 мл). Стадии удаления Fmoc и сочетания повторяли до тех пор, пока не была получена желаемая пептидная последовательность. Полученный линейный пептид с защищенной боковой цепью и связанный со смолой использовали непосредственно на следующей стадии.

Использовали следующие Fmoc-защищенные аминокислотные строительные блоки: Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Arg(Pbf)-OH, Fmoc-Asn(Trt)-OH, Fmoc-Asp(OtBu)-OH, Fmoc-Cys(Trt)-OH, Fmoc-Gln(Trt)-OH, FmocGlu(OtBu)-OH, Fmoc-Gly-OH, Fmoc-His(Trt)-OH, Fmoc-Ile-OH, Fmoc-Leu-OH, Fmoc-Lys(Boc)OH, Fmoc-Met-OH, Fmoc-Phe-OH, Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Ser(tBu)-OH, Fmoc-Thr(tBu)-OH, Fmoc-Tyr(tBu)-OH и Fmoc-L-Val-OH. Если не указано иное, использовали природные L-формы аминокислот. Добавление липидов к остаткам лизина проводили с использованием ортогонально защищенного Lys (Dde-Lys(Fmoc)-OH), в котором Dde располагается на альфа-амине, а Fmoc располагается на амине боковой цепи. После связывания защищенного Lys сначала удаляли Fmoc, затем липид подвергали сочетанию с полученным открытым амином. Затем удаляли Dde, и пептидную цепь удлиняли с использованием химического реагента Fmoc, как обычно.

Пример 2: Расщепление, циклизация и очистка пептида

После окончательного связывания аминокислот и удаления Fmoc смолу из Примера 1 промывали DMF 5 раз, MeOH 3 раза и сушили под вакуумом. Для разработки циклических пептидов пептидную смолу затем обрабатывали коктейлем для расщепления (1% трифторуксусной кислоты (TFA)/99% DCM) (15 мл) в течение 15 мин и собирали пептид, содержащий смесь TFA-DCM. Расщепление повторяли три раза. Что касается

линейных пептидов, их расщепляли и напрямую снимали защиту с помощью сильной кислоты (95% TFA). В отношении циклических пептидов пептид (в 1% TFA/99% DCM) разбавляли в дихлорметане (DCM) (200 мл) вместе с 2-(1H-бензотриазол-1-ил)-1,1,3,3-тетраметиламиний тетрафторборатом (ТВТУ) (2 экв.) и 1-гидроксибензотриазолгидратом (НОВТ) (2 экв.) и DIPEA (6 экв.) для соединения головы с хвостом пептида. Смесь перемешивали при 20 °С в течение 1 ч. Циклизацию контролировали с помощью LC-MS.

После перемешивания смесь дважды промывали 1 М соляной кислотой (HCl) (30 мл) и сушили при пониженном давлении. 5 мл буфера для расщепления (92,5% TFA / 2,5% 3-меркаптопропионовой кислоты / 2,5% триизопропилсилана / 2,5% H₂O) добавляли в колбу, содержащую циклический пептид с защищенной боковой цепью, и смесь перемешивали в течение 2 ч при 20 °С. Пептид осаждали ледяным *трет*-бутилметилловым эфиром (40 мл) и центрифугировали (2 мин при 3000 об./мин) и промывали два раза ледяным *трет*-бутилметилловым эфиром (40 мл). Неочищенный пептид сушили под вакуумом в течение 2 ч и очищали с помощью препаративной HPLC, фракцию целевого пептида лиофилизировали, получая белое твердое вещество:

Метод преп. HPLC: (система: Gilson GX-281; колонка: Gemini, C18, 110Å, 5 мкм или Luna, C18, 100Å, 10 мкм; градиент: время анализа с градиентом 50 минут; от 0 до 50 мин от 7 до 37% В; скорость потока: 20 мл/мин; температура колонки: 30°C; диодная матрица: 220/254 нм; растворитель А: 0,075% TFA в воде; растворитель В: ацетонитрил.

Количественный анализ пептидов проводили методами HPLC и LCMS (см. фиг. 1):

HPLC: колонка: Gemini C18, 110Å, 5 мкм, 150 × 4,6 мм; градиент: время анализа с градиентом 20 минут; 0,00-20,00 мин 15-45% В, 20,10-23,00 мин 95% В, 23,00-23,10 мин 95-15% В, 23,10-28,00 мин 15% В; скорость потока: 1,0 мл/мин; диодная матрица, 220/254 нм; температура колонки: 30°C; растворитель А: 0,1% TFA в воде; растворитель В: 0,075% TFA в ацетонитриле).

Метод LCMS для конечных продуктов: (система: Agilent Infinity II 1260 HPLC series; колонка: Xbridge C18, 130Å, 3,5 мкм, 2,1 × 30 мм; детектор: Agilent LCMS (G6125C), одноквадрупольное сканирование TIC; диапазон сканирования: m/z мин 100, m/z макс. 2000, положительный режим, электрораспыление; градиент: время анализа с градиентом 1 минута; 0,00-1,00 мин 10-80% В; очистка и уравнивание колонки; 1,00-1,01 80-95% В, 1,01-1,60 мин 95% В, 1,60-1,61 мин 95-10% В, 1,61-2,00 мин 10% В; скорость потока: 1,2 мл/мин; диодная матрица: 215 или 220 нм; температура колонки: комнатная температура; растворитель А: 0,1% TFA в воде; растворитель В: 0,075% TFA в

ацетонитриле.

Результаты

Обобщенные данные по чистоте, определенной методами LC-MS и HPLC представлены в таблице ниже, а иллюстративные хроматограммы и масс-спектры для CLP1 представлены на фиг. 1А - фиг. 1С.

Таблица 4 – Сводные данные по очистке методом HPLC и характеристике методом MS

Пеп. (SEQ)	RT LCMS (мин)	Чисто- та по дан- ным HPLC	Общая формула	Расч. масса*	Расч. Средняя масса	Экспер. масса			
						m/z z=1	m/z z=2	m/z z=3	m/z z=4
CLP1 (1)	1,575	98,3	C91H148N18O35	2053,035	2054,252		1027,8	685,7	
CLP2 (2)	1,552	96,0	C91H150N18O34	2039,056	2040,269		1021,0	681,1	
CLP3 (3)	1,557	90,1	C92H152N18O34	2053,072	2054,296		1028,0	685,7	
CLP4 (4)	1,561	95,4	C89H143N17O36	2025,988	2027,184		1014,4	676,8	
CLP5 (5)	1,573	96,5	C90H145N17O36	2040,004	2041,211		1021,5	681,4	
CLP6 (6)	1,579	98,2	C90H146N18O35	2039,020	2040,226		1020,8	681,1	
CLP7 (7)	1,541	99,1	C91H150N18O34	2039,056	2040,269		1020,9	681,0	
CLP8 (8)	1,551	97,7	C92H152N18O34	2053,072	2054,296		1027,9	685,6	
CLP9 (1)	1,595	99,6	C90H147N17O34S	2042,002	2043,292		1022,4	682,0	
CLP10 (10)	1,603	96,3	C91H149N17O34S	2056,017	2057,319		1029,4	666,7	

Пеп. (SEQ)	RT LCMS (мин)	Чисто- та по дан- ным HPLC	Общая формула	Расч. масса*	Расч. Средняя масса	Экспер. масса			
						m/z z=1	m/z z=2	m/z z=3	m/z z=4
CLP11 (11)	1,555	95,1	C90H145N17O34	2008,014	2009,212		1005,4	670,8	
CLP12 (12)	1,557	96,85	C87H139N17O34	1965,967	1967,132		984,2	656,5	
CLP13 (13)	1,763	95,05	C90H147N17O32	1978,040	1979,229		990,8	660,7	
CLP14 (14)	1,661	95,24	C86H137N17O34	1951,951	1953,105		977,2	652,1	
CLP15 (15)	1,724	95,56	C95H150N16O30	1995,070	1996,301		998,7		
LLP1 (16)	1,538	98,7	C93H155N19O35	2098,093	2099,336		1050,5	700,7	
LLP2 (17)	1,536	98,3	C94H157N19O35	2112,109	2113,363		1057,5	705,5	
LLP3 (18)	1,556	96,7	C91H148N18O37	2085,025	2086,251		1043,9	696,3	
LLP4 (19)	1,559	95,3	C92H150N18O37	2099,041	2100,278		1050,9	701,3	
LLP5 (20)	1,551	97,2	C92H151N19O36	2098,057	2099,293		1050,5	700,7	
LLP6 (21)	1,559	97,5	C93H153N19O36	2112,073	2113,320		1057,5	705,4	
LLP7 (22)	1,527	99,1	C93H155N19O35	2098,093	2099,336		1050,5	700,7	
LLP8 (23)	1,533	98,0	C94H157N19O35	2112,109	2113,363		1057,5	705,3	
LLP9 (24)	1,574	95,3	C92H152N18O35S	2101,039	2102,360		1051,9	701,7	

Пеп. (SEQ)	RT LCMS (мин)	Чисто- та по дан- ным HPLC	Общая формула	Расч. масса*	Расч. Средняя масса	Экспер. масса			
						m/z z=1	m/z z=2	m/z z=3	m/z z=4
LLP10 (25)	1,581	95,2	C93H154N18O35S	2115,054	2116,386		1058,9	706,3	
LLP11 (26)	1,55	98,0	C92H150N18O35	2067,051	2068,279		1034,9	690,3	
LLP12 (27)	1,74	95,6	C110H179N23O43S	2542,225	2543,796		1272,5	848,9	
CP1 (28)	1,495	94,5	C55H83N13O22S	1309,550	1310,389	1310,8	656,1		
CP2 (29)	1,516	98,3	C55H83N13O22S	1309,550	1310,389	1310,9	656,0		
CP3 (30)	1,423	95,6	C52H77N13O22S	1267,503	1268,309	1268,7	635,0		
CP4 (31)	1,426	97,1	C53H79N13O23S	1297,513	1298,335	1298,8	650,1		
CP5 (32)	1,445	97,2	C51H77N13O22S	1255,503	1256,298	1256,8	629,0		
CP6 (33)	1,46	94,1	C53H79N13O24S	1313,503	1314,334	1314,8	658,0		
CP7 (34)	1,427	98,3	C55H86N14O22S	1326,576	1327,419	1327,9	664,5		
CP8 (35)	1,433	95,5	C54H82N14O23S	1326,540	1327,376	1327,8	664,5		
CP9 (36)	1,463	94,0	C55H84N14O23S	1340,555	1341,403	1341,8	671,6		
CP10 (37)	1,482	94,3	C54H81N13O24S	1327,524	1328,361	1328,8	665,1		
CP11 (38)	1,462	98,3	C55H84N14O23S	1340,555	1341,403	1341,8	671,6		

Пеп. (SEQ)	RT LCMS (мин)	Чисто- та по дан- ным HPLC	Общая формула	Расч. масса*	Расч. Средняя масса	Экспер. масса			
						m/z z=1	m/z z=2	m/z z=3	m/z z=4
CP12 (39)	1,484	95,7	C54H81N13O24S	1327,524	1328,361	1328,8	665,0		
CP13 (40)	1,367	98,52	C44H63N11O20	1065,425	1066,035	1066,5	533,9		
CP14 (41)	1,339	98,79	C40H58N10O17	950,398	950,947	951,5	476,4		
CP15 (42)	1,392	98,28	C36H51N9O15	849,350	849,843	850,5	425,9		
CP16 (43)	1,382	92,67	C31H44N8O12	720,308	720,729	721,6			
CP17 (44)	1,412	99,23	C26H37N7O9	591,265	591,615	592,5			
CP18 (45)	1,471	99,63	C52H77N13O22S	1267,503	1268,309	1268,6	635		
CP19 (46)	1,473	98,7	C52H77N13O22S	1267,503	1268,309	1268,6	635		
CP20 (47)	1,483	98,57	C52H79N13O20S	1237,529	1238,326	1238,7	620		
CP21 (48)	1,485	99,84	C52H79N13O20S	1237,529	1238,326	1238,6	620		
CP22 (49)	1,475	97,55	C52H79N13O20S	1237,529	1238,326	1238,6	620		

* МОНОИЗОТОП

Пример 3: Лечение с применением CLP1 приводит к усилению экспрессии генов-мишеней CREB

Недавно было установлено, что SorCS2 играет ключевую роль в передаче сигналов BDNF/TrkB, поскольку он необходим для активации нижестоящих киназ (Glerup, 2016). Основной медиатор нейротрофинового ответа на BDNF является результатом активации транскрипционного фактора CREB (Finkbeiner, 1997; Walton, 2000; Benito, 2010; Sakamoto,

2011). Хорошо известно, что активация CREB улучшает выживаемость, образование синапсов и рост нейронов. Ключевым медиатором в этом является продукция самого BDNF под действием CREB (Тао, 1998), вследствие чего устанавливается цепь положительной обратной связи. Схожим образом, было описано, что активация CREB индуцирует биогенез митохондрий посредством положительной регуляции мастер-регулятора PGC1 α (Wu, 2006; Kang, 2017). Действительно, циклизованный пептид-миметик фрагмента рецептора SorCS2, CPX, повышает уровни BDNF после 4 часов стимуляции в нейронах дикого типа (WO2022029281). Поскольку CLP1 представляет собой циклизованный липидированный пептид-миметик фрагмента рецептора SorCS2, который важен для трансдукции сигнала BDNF, оценивали, приводит ли лечение с применением CLP1 к увеличению продукции BDNF и PGC1 α в нейронах дикого типа вследствие активации CREB. Действие циклизованного и стабилизированного липидированного пептида CLP1 сравнивали с действием циклизованного пептида CPX.

Кортикальные нейроны получали от мышей дикого типа р0 и высевали с плотностью 200000 на лунку (24-луночный планшет). Через 7 суток культивирования *in vitro* нейроны стимулировали с применением 1 мкМ CLP1 или CPX в среде Neurobasal A 15 и инкубировали при 37°C и 5% CO $_2$ в течение 8, 16 или 24 часов. После этого осуществляли лизис нейронов в буфере для лизиса RIPA, содержащем смесь ингибиторов протеаз с Omplete cocktail protease inhibitor. Уровни BDNF и PGC1 α анализировали с помощью вестерн-блоттинга с нормализацией относительно бета-актина.

Как показано на фиг. 2А и фиг. 2В, CLP1 обеспечивал значимую положительную регуляцию обоих анализируемых нижестоящих по отношению к CREB генов-мишеней: BDNF на 180% ($p=0,0174$) и PGC1 α на 611% ($p<0,0001$) после 24 часов стимуляции. CPX не повышал уровни ни BDNF, ни PGC1 α , возможно, в связи с тем, что его действие проявлялось до моментов времени, в которые проводили оценку. Это указывает на более длительную передачу сигналов при применении CLP1 по сравнению с CPX.

Пример 4: CLP1 обеспечивает удаление растворимого mHTT из фибробластов, полученных от пациентов с болезнью Хантингтона

Аутофагия представляет собой процесс удаления неправильно свернутых белков, агрегатов или поврежденных органелл. Было показано, что помимо стимуляции биогенеза митохондрий PGC1 α способствует биогенезу лизосом посредством регуляции TFEB (мастер-регулятора биогенеза лизосом) (Ghosh, 2015; Lynch, 2020). Оценивали индуцированное CLP1 снижение белка mHTT (мутантный хантингтин), экспрессируемого

с вызывающего болезнь гена при HD, в качестве фактора, обуславливающего положительную регуляцию PGC1 α и регуляцию TFEB. CPX, который, как было показано ранее, снижает уровни мутантного HTT (WO2022029281), был включен для сравнения эффективности. Полученные от пациентов фибробласты GM04476 (из Coriell Biobank) высевали в количестве 30000-50000 на лунку в 96-луночный планшет. На следующие сутки клетки обрабатывали 1 мкМ CLP1 или CPX и инкубировали при 37°C и 5% CO₂ в течение 24 часов. После этого осуществляли лизис клеток в буфере для лизиса RIPA, содержащем смесь ингибиторов протеаз cOmplete cocktail protease inhibitor. Уровни общего хантингтина анализировали с помощью антитела mab2166 (Sigma-Aldrich), а уровни мутантного хантингтина определяли с помощью антитела (ab MW1), которое выявляет только продукт мутантного аллеля при вестерн-блоттинге. Указанные уровни нормализовали относительно количества бета-актина. Как показано на фиг. 3А и фиг. 3В, как CLP1, так и CPX снижали уровни мутантного хантингтина до 50% ($p=0,0048$) и 75% ($p=0,0209$), соответственно, с одновременным снижением уровней общего хантингтина (мутантный и здоровый аллель) до ~65% ($p=0,0036$) в случае CLP1 и 75% в случае CPX ($p=0,0056$). Это демонстрирует повышенную эффективность CLP1 по сравнению с CPX в дополнение к тому, что CLP1 вызывает деградацию с большей специфичностью в отношении мутантного белка хантингтина, чем нормального, что обеспечивает благоприятную возможность его применения в качестве терапевтического лекарственного средства для пациентов с HD.

Пример 5: Химическая и физическая стабильность CLP1

Для лучшего понимания химических принципов стабильности и деградации CLP1 оценивали химическую и физическую стабильность CLP1 в трех буферных системах. Готовили растворы CLP1 в трех буферных системах с различными значениями pH, и полученные образцы инкубировали при температуре 40°C без перемешивания. Химическую стабильность оценивали с помощью UPLC-UV в сутки приготовления (t_0) и через две недели инкубирования (t_{14}). Физическую стабильность оценивали посредством анализа с применением тиофлавина Т (ThT) в течение четырех суток при перемешивании при 40°C.

Для каждого анализа образцы растворяли с обеспечением концентрации пептида 1 мг/мл либо в 25 % ацетонитриле (ACN) (в случае растворов аналитических стандартов), либо в одной из трех буферных систем (50 мМ натрий-ацетатный буфер, pH 4,5 (22,5 мМ ацетата натрия + 27,5 мМ ледяной уксусной кислоты); 50 мМ L-гистидиновый буфер, pH

6,5; 50 мМ натрий-фосфатный буфер, рН 7,5 (40,6 мМ Na₂HPO₄ + 9,4 мМ NaH₂PO₄). Все буферы готовили на сверхчистой воде (полученной с помощью системы очистки Milli-Q® Reference A+ System, Merck) с удельным сопротивлением 18,2 МОм·см. Образцы центрифугировали при 13300 об./мин (17000g) в течение 10 минут, после чего проводили анализ методом UPLC-UV. Для исследования физической стабильности образцы фильтровали через целлюлозные фильтры с размером пор 0,22 мкм (13 Ø, Frisnette), после чего проводили ThT-анализ.

Метод UPLC-UV для анализа химической стабильности: колонка: Kinetex 1,7 мкм C18 100 Å 150x2,1 мм от Phenomenex; подвижная фаза А: Сверхчистая вода + 0,1 % TFA; подвижная фаза В: Ацетонитрил + 0,1 % TFA; объем вводимого образца: 2 мкл CLP1; скорость потока: 0,3 мл/мин, длина волны детектирования: 220

Градиент:

Время	%В	Кривая
0,00	5	5
17,0	80	5
17,5	5	1
23,0	5	

Настройки планшетного анализатора для ThT-анализа: Длина волны возбуждения: 450 нм; дихроичный фильтр: 465 нм; длина волны излучения: 486 нм; фокусная высота: 3,5 мм; коэффициент усиления: 1000; количество циклов: 1000; длительность цикла: 360 с; количество вспышек на лунку: 20; встряхивание 300 об./мин, 5 с вкл., 5 с выкл. между циклами; температура: 40°C.

Результаты (фиг. 4А – Фиг. 4С) показывают, что наиболее выраженную деградацию в случае CLP1 наблюдали при рН 4,5 (снижение AUC на 9%). CLP1 продемонстрировал в равной степени хорошую химическую стабильность при рН 6,5 и 7,5 (снижение AUC на 1%). Физическую стабильность оценивали с помощью ThT-анализа для исследования характеристик фибриллообразования в течение 96 часов. CLP1 не продемонстрировал какого-либо фибриллообразования ни в одном из буферов, что свидетельствует о хорошей физической стабильности (фиг. 4D - Фиг. 4G). Каждая строка представляет собой отдельную повторность.

Пример 6: Свободная фракция и стабильность CLP1

Важным аспектом разработки лекарственных средств является фармакокинетика, включая абсорбцию, распределение, метаболизм и выведение (ADME). Стабильность

CLP1 оценивали в плазме как человека, так и мыши, а также в образцах гомогената головного мозга мыши. Поскольку CLP1 был стабилизирован путем замены двух аминокислот по сравнению с CPX, CPX был включен в эти исследования стабильности в качестве эталона. Стабильность CLP1 также оценивали во фракциях S9 печени мыши, собаки, крысы, человека и обезьяны. Также оценивали связывание с головным мозгом (свободная фракция) в гомогенатах головного мозга как мыши, так и человека.

Стабильность в плазме

Замороженную плазму мыши или человека перед использованием размораживали на водяной бане при 37°C. Плазму центрифугировали при 4000 об./мин в течение 5 мин и удаляли сгустки (если таковые имелись). Плазму мыши или человека инкубировали с 2 мкМ CLP1 или CPX или 2 мкМ пропантелина бромид (положительный контроль деградации) и оставляли при 37 °C на водяной бане. В каждый исследуемый момент времени добавляли останавливающий раствор (200 нг/мл толбутамида и 200 нг/мл лабеталола в MeOH) для осаждения белка, и после перемешивания и центрифугирования супернатант использовали для анализа методом LCMS. Как показано на фиг. 5А и фиг. 5В, время полужизни ($t_{1/2}$) CLP1 и CPX составляло более 28,9 часов. Это свидетельствует о высокой стабильности в плазме. % Оставшегося = $100 \times (\text{PAR в указанный момент инкубирования} / \text{PAR в момент } T_0)$, где PAR представляет собой отношение площадей пиков аналита и внутреннего стандарта (IS), а время полужизни рассчитывали по формуле $t_{1/2} = 0,693k$.

Стабильность в головном мозге мыши

Замороженный гомогенат головного мозга мыши перед использованием размораживали на водяной бане при 37°C. Гомогенат мозга мыши инкубировали с 1 мкМ CLP1 или CPX или 2 мкМ 7-этоксикумарина (положительный контроль деградации) и оставляли при 37 °C на водяной бане. В каждый исследуемый момент времени добавляли останавливающий раствор (200 нг/мл толбутамида и 200 нг/мл лабеталола в MeOH) для осаждения белка, и после перемешивания и центрифугирования супернатант использовали для анализа методом LCMS. Как показано на фиг. 5С, время полужизни ($t_{1/2}$) для CLP1 составляло 40,7 часов по сравнению с 28,9 часами для CPX. Это свидетельствует о высокой стабильности CLP1 в головном мозге, которая является улучшенной по сравнению со стабильностью CPX.

Пример 7: Метаболическая стабильность CLP1 во фракциях печени

Поскольку большая часть метаболизма лекарственных средств происходит в

печени, препараты печени *in vitro* могут служить моделями для оценки метаболической стабильности лекарственных средств. Для исследования метаболической стабильности часто используют фракции S9, которые содержат смесь нефракционированных микросом и цитозоля с рядом различных ферментов, участвующих в метаболизме лекарственных средств. Фракции S9 печени обычно применяют в качестве предпочтительной системы для исследования ADME *in vitro*.

Стабильность во фракции S9 печени

К растворам S9 печени человека, S9 печени мыши CD-1, S9 печени крысы Спрег-Дули, S9 печени собаки породы бигль и S9 печени яванского макака (1 мг белка/мл) в 100 мМ калий-фосфатном буфере добавляли CLP1 с обеспечением конечной концентрации 1 мкМ. В качестве положительного контроля для клиренса применяли 7-этоксикумарин (1 мкМ). Для инициирования реакции добавляли систему регенерации кофакторов, содержащую никотинамидадениндинуклеотидфосфат (NADP) (1,3 мМ), глюкозо-6-фосфат (G6P) (3,3 мМ), глюкозо-6-фосфатдегидрогеназу (G6PDH) (0,4 ЕД/мл), уридиндифосфатглюкуроновую кислоту (UDPGA) (2,5 мМ), 3'-фосфоаденозин-5'-фосфосульфат (PAPS) (0,1 мМ), глутатион (GSH) (5 мМ), MgCl₂ (3,3 мМ) в 100 мМ фосфатном буфере. Реакции проводили в различные моменты времени в период от 0 до 2 часов, после чего их останавливали с помощью останавливающего раствора. После встряхивания и центрифугирования планшета супернатант использовали для анализа методом LCMS. Как показано на фиг. 6А (собственный клиренс) и фиг. 6С (% оставшегося), CLP1 демонстрирует очень низкий клиренс, составляющий <2,4 мкл/мин/мг, у всех видов и время полужизни ($t_{1/2}$), составляющее по меньшей мере 289 мин. $T_{1/2}$ рассчитывали следующим образом: $T_{1/2} = \ln 2 / k_e = 0,693 / k_e$. Собственный клиренс рассчитывали следующим образом: $CL_{int}(S9) = 0,693 / T_{1/2} / \text{мг белка S9 на мл}$, где $T_{1/2}$ представляет собой время полужизни, а CL представляет собой собственный клиренс. Это свидетельствует о высокой метаболической стабильности. Результаты для контроля - 7-этоксикумарина показаны на фиг. 6В (собственный клиренс) и фиг. 6D (% оставшегося).

Пример 8: Свободная фракция CLP1 в головном мозге

Определение общей концентрации лекарственного средства в головном мозге имеет ограниченную корреляцию с его фармакодинамическими показателями. Для получения лучшей корреляции концентрацию лекарственного средства в головном мозге необходимо скорректировать с учетом связанной и несвязанной фракции лекарственного средства. Поэтому оценивали свободную фракцию CLP1 в головном мозге в гомогенатах

головного мозга как человека, так и мыши. В сутки эксперимента гомогенат головного мозга размораживали под проточной холодной водопроводной водой.

CLP1 и контрольное соединение (пропранолол) растворяли в H_2O с получением 10 мМ исходных растворов в DMSO. Рабочие растворы (400 мкМ) готовили путем разбавления 10 мкл исходных растворов 240 мкл H_2O .

Процедура ультрацентрифугирования:

Приготовление буфера

Основной раствор готовили путем растворения 14,2 г/л Na_2HPO_4 и 8,77 г/л NaCl в деионизированной воде. Кислый раствор готовили путем растворения 15,6 г/л $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$ и 8,77 г/л NaCl в деионизированной воде. Основной раствор титровали кислым раствором до pH $7,4 \pm 0,1$. Мозг мышей гомогенизировали в буфере и добавляли (2 мкМ) CLP1, а контрольное соединение (пропранолол, 2 мкМ) готовили путем разбавления 6 мкл рабочих растворов 1194 мкл холостой матрицы (без добавления соединения). Концентрация DMSO из исходных растворов соединений в конечных растворах составляла 0,5.

Для приготовления образцов в нулевой момент времени (T_0), применяемых для определения оставшегося соединения, 30 мкл загрузочной матрицы переносили ($n=2$) в планшет для сбора образцов. К образцам немедленно добавляли 30 мкл буфера с получением конечного объема 60 мкл с объемным отношением плазма:буфер (1:1, об.:об.) в каждой лунке. Добавляли 60 мкл 4% H_3PO_4 в H_2O и 480 мкл останавливающего раствора, содержащего внутренние стандарты. Затем их хранили при температуре 2-8°C вплоть до дальнейшей обработки совместно с другими образцами. Для приготовления не содержащих белка образцов (называемых F-образцами), применяемых для определения несвязанного соединения, аликвоту предварительно инкубированных гомогенатов головного мозга, содержащих либо CLP1, либо контрольное соединение, объемом 400 мкл переносили в ультрацентрифужные пробирки ($n=2$) и подвергали ультрацентрифугированию при 37°C, 47000×g (115000 об./мин) в течение 2 часов с получением F-образцов. По окончании ультрацентрифугирования из второго слоя (под верхним слоем) супернатанта образцов F отбирали 30 мкл образцов. Для приготовления образцов, применяемых для определения несвязанного и оставшегося соединения (называемых образцами T), одновременно с ультрацентрифугированием остаточную аликвоту предварительно инкубированной плазмы с добавкой соединения помещали в тот же инкубатор ($n=1$) и продолжали инкубировать при 37°C в течение 2 ч. Образцы

переносили в новые 96-луночные планшеты. К каждому образцу добавляли равный объем противоположной холостой матрицы (буфера или плазмы) с обеспечением конечного объема 60 мкл с объемным отношением плазма:буфер 1:1 (об.:об.) в каждой лунке. Ко всем образцам добавляли 60 мкл 4% H_3PO_4 в H_2O и 480 мкл останавливающего раствора, содержащего внутренние стандарты, соответственно. Полученную смесь перемешивали вихревым способом и центрифугировали при 4000 об./мин в течение примерно 20 минут. Затем из всех образцов отбирали аликвоту супернатанта объемом 100 мкл для анализа методом LC-MS/MS.

%Несвязанного, %Неразбавленного несвязанного, %Неразбавленного связанного и %Оставшегося соединения рассчитывали с помощью следующих уравнений: %Несвязанного (свободная фракция) = $100 * F / T_{4,5}$; где F представляет собой концентрацию аналита или отношение площадей пиков аналита/внутреннего стандарта в не содержащем белка образце после ультрацентрифугирования, $T_{4,5}$ представляет собой концентрацию аналита или отношение площадей пиков аналита/внутреннего стандарта в матрице после инкубирования в течение 4,5 ч. Как показано на фиг. 7А и фиг. В, свободная фракция CLP1 в гомогенатах головного мозга мыши составляет 19%, а в гомогенатах головного мозга человека - 11%.

Пример 9: Фармакокинетика CLP1

Оценивали фармакокинетику CLP1 у мышей дикого типа. Мышам дикого типа (самцам C57BL/6J) путем подкожной (п/к) инъекции вводили 10-кратные серийные разведения CLP1 (2 мг/кг, 0,2 мг/кг и 0,02 мг/кг) в 4,38 мМ L-His, 140 мМ NaCl, 0,2% Tween-20 и 1500 МЕ гиалуронидазы (рН 6,15). Концентрации в плазме, головном мозге в целом и спинномозговой жидкости определяли в различные моменты времени в период от 1 до 24 часов методом LC-MS/MS.

Процедура обработки плазмы:

В 96-луночный планшет добавляли аликвоты неизвестного образца, калибровочного стандарта, образца для контроля качества, образца для контроля качества разбавления, одинарного холостого образца и двойного холостого образца объемом 40 мкл. Каждый образец (за исключением двойного холостого образца) блокировали 160 мкл IS1 (внутренний стандарт в MeOH: 100 нг/мл каждого из лабеталола, толбутамида, верапамила, дексаметазона, глибурида и целекоксиба), соответственно (двойной холостой образец блокировали 160 мкл MeOH), и затем полученную смесь перемешивали вихревым способом в течение 10 мин при 800 об./мин и центрифугировали в течение 15 мин при

3220 g (4000 об./мин), 4 °C. 50 мкл супернатанта переносили в другой чистый 96-луночный планшет и центрифугировали в течение 5 мин при 3220 g, 4 °C, затем супернатант непосредственно вводили в систему для анализа методом LC-MS/MS.

Процедура обработки головного мозга:

Гомогенат ткани готовили путем гомогенизации ткани с 5 объемами (масс.:об.) холодного гомогенизирующего раствора (MeOH/15 mM PBS (1:2, об.:об.)). В 96-луночный планшет добавляли аликвоты неизвестного образца, калибровочного стандарта, образца для контроля качества, образца для контроля качества разбавления, одинарного холостого образца и двойного холостого образца объемом 40 мкл; затем добавляли 40 мкл плазмы самцов мышей C57BL/6J (EDTA-K2), тщательно перемешивали вихревым способом (по меньшей мере 5 мин) с помощью вихревого смесителя. Каждый образец (за исключением двойного холостого образца) блокировали 320 мкл IS1, соответственно (двойной холостой образец блокировали 320 мкл MeOH), и затем полученную смесь перемешивали вихревым способом в течение 10 мин при 800 об./мин и центрифугировали в течение 15 мин при 3220 g (4000 об./мин), 4°C. 50 мкл супернатанта переносили в другой чистый 96-луночный планшет и центрифугировали в течение 5 мин при 3220 g, 4 °C, затем супернатант непосредственно вводили в систему для анализа методом LC-MS/MS. Указанные процедуры проводили на льду.

Процедура обработки CSF:

Образцы CSF и холостую матрицу добавляли к равному объему плазмы, тщательно перемешивали и осаждали белки, используя пробирку объемом 1,5 мл. В указанную пробирку объемом 1,5 мл добавляли аликвоту калибровочного стандарта, образца для контроля качества и образца для контроля качества разбавления, одинарного холостого образца и двойного холостого образца объемом 20 мкл; каждый образец (за исключением двойного холостого образца) блокировали 400 мкл IS1, соответственно (двойной холостой образец блокировали 400 мкл MeOH), и затем полученную смесь тщательно перемешивали вихревым способом (по меньшей мере 15 с) с помощью вихревого смесителя и центрифугировали в течение 15 мин при $12000 \times g$, 4 °C;

Все перемешанные неизвестные образцы блокировали 20-кратным IS1, и затем полученную смесь тщательно перемешивали вихревым способом (по меньшей мере 15 с) с помощью вихревого смесителя и центрифугировали в течение 15 мин при $12000 \times g$, 4 °C;

Аликвоту супернатанта объемом 50 мкл переносили в 96-луночный планшет и центрифугировали в течение 5 мин при $3220 \times g$, 4 °C, затем супернатант непосредственно

вводили в систему для анализа методом LC-MS/MS. Указанные процедуры проводили на жидком льду. Указанные процедуры проводили в пробирках EP с низкой связывающей способностью и в 96-луночных планшетах с низкой связывающей способностью.

На Фиг. 8А-Фиг. 8С показаны определенные концентрации CLP1 в различные моменты времени. Фармакокинетические (ПК) параметры CLP1 приведены ниже. Эти результаты показывают, что CLP1 проникает в головной мозг и CSF после п/к инъекции. Кроме того, CLP1 демонстрирует стабильные уровни в головном мозге в течение по меньшей мере 24 часов при применении в дозе как 0,2 мг/кг, так и 2 мг/кг. Для сравнения, ранее было показано, что 13 мг/кг CPX выводятся из головного мозга через 1 час после подкожной инъекции (WO2022029281). Таким образом, CLP1 демонстрирует превосходный профиль стабильности в головном мозге после подкожной доставки.

Параметры рассчитывали с помощью программного обеспечения WinNonlin, при этом максимальная наблюдаемая концентрация C_{max} , $T_{1/2}$ (часы) = $\ln(2)/\lambda_z$. Определение λ_z (Lambda_z) представляет собой константу скорости первого порядка, связанную с конечной (логарифмически линейной) частью кривой (оцениваемую с помощью линейной регрессии зависимости логарифма концентрации от времени). AUC 0-t рассчитывали с помощью линейного/логарифмического метода трапеций. Для аппроксимации до T_{max} использовали линейную функцию, а для аппроксимации после T_{max} использовали логарифмическую функцию.

Плазма

Концентрация	$T_{1/2}$ (часы)	C_{max} (нмоль/л)	AUC 0-t (нмоль/л*ч)
2 мг/кг	12,8	7833	130170
0,2 мг/кг	11,7	759	11943

Головной мозг

Концентрация	$T_{1/2}$ (часы)	C_{max} (нмоль/кг)	AUC 0-t (нмоль/кг*ч)
2 мг/кг	15,1	55,4	915
0,2 мг/кг	21,6	6,32	111

CSF

Концентрация	$T_{1/2}$ (часы)	C_{max} (нмоль/л)	AUC 0-t (нмоль/л*ч)
2 мг/кг	16,3	7,33	106

Пример 10: Эффективность CLP1 in vivo у мышей дикого типа

В предшествующих примерах показано, что CLP1 проникает в головной мозг (в определяемых количествах) после п/к введения при инъекционном введении как 2 мг/кг, так и 0,2 мг/кг. Оценивали способность CLP1 повышать уровни нижестоящих мишеней CREB после однократной инъекции.

Однократное введение

Мышам дикого типа подкожно вводили 0,2 мг/кг CLP1 в 4,38 mM L-His, 140 mM NaCl, 0,2% Tween-20 и 1500 ME гиалуронидазы (pH 6,15). Мышей умерщвляли в исследуемые моменты времени через 2-8 часов после инъекции. Выделяли ткань полосатого тела и подвергали указанную ткань лизису с помощью TissueLyser в буфере для лизиса RIPA, содержащем ингибиторы cOmplete и phosSTOP. Уровни BDNF, PGC1a и мастер-регулятора лизосом, TFEB проверяли с помощью вестерн-блоттинга. Все белки нормализовали относительно количества бета-актина. Как показано на фиг. 9A-9C, CLP1 демонстрировал выраженную тенденцию к повышению уровней BDNF через 4 часа после п/к доставки (p-значение 0,06), при этом значительно повышал как PGC1a, так и TFEB через 2-4 часа и 2-8 часов после инъекции, соответственно. Апостериорный анализ с применением двухфакторного ANOVA выявил значимое зависящее от времени действие на уровни BDNF и суммарное значимое действие лечения на уровни PGC1a и TFEB со стороны CLP1. Таким образом, CLP1 продемонстрировал взаимодействие с мишенью *in vivo* в полосатом теле мышей дикого типа после однократного п/к введения.

Ежедневное лечение (7 суток)

В отдельном исследовании оценивали, приведет ли непрерывное ежедневное введение (п/к) CLP1 или CPX к повышению уровней генов-мишеней CREB. Кроме того, поскольку было показано, что TFEB стимулирует экспрессию лизосомного белка GRN (Tanaka, 2013), авторы настоящего изобретения оценивали эффективность CLP1 или CPX в отношении повышения уровня GRN. Гетерозиготные мутации с утратой функции в гене GRN связаны с нейродегенеративным заболеванием - лобно-височной деменцией (FTD), при которой мутации приводят к дисфункции лизосом. Таким образом, повышение уровня GRN рассматривается как терапевтический подход при FTD.

Мышам дикого типа один раз в сутки подкожно вводили 0,2 мг/кг или 2 мг/кг CLP1 или 13 мг/кг CPX в 4,38 mM L-His, 140 mM NaCl, 0,2% Tween-20 и 1500 ME гиалуронидазы (pH 6,15). Мышей умерщвляли на 8 сутки, через 24 часа после последней инъекции. Выделяли ткань полосатого тела и подвергали указанную ткань лизису с помощью TissueLyser в буфере для лизиса RIPA, содержащем ингибиторы cOmplete и

phosSTOP. Уровни BDNF, PGC1a и GRN проверяли с помощью вестерн-блоттинга. Все белки нормализовали относительно количества бета-актина.

Как показано на фиг. 10A-10C, CLP1 и CPX значительно повышали уровни как PGC1a, так и GRN в дозе как 0,2 мг/кг, так и 2 мг/кг после ежедневных инъекций в течение 7 суток. Примечательно, что уровни BDNF значительно повышались только при применении дозы CLP1 0,2 мг/кг, и в большей степени, чем при применении CPX, тогда как при применении 2 мг/кг CLP1 не наблюдалось значимого эффекта. Это демонстрирует терапевтическую ценность CLP1 для применения у пациентов с FTD, имеющих гетерозиготные мутации GRN и другие нейродегенеративные расстройства.

Пример 11: CLP1 улучшает характеристики поведения в модели болезни Хантингтона у мышей R6/2

Центральное место в патобиологии болезни Хантингтона занимает нарушение транспорта BDNF в кортико-стриарной цепи, приводящее к гибели нейронов полосатого тела (Strand, 2007; Zuccato, 2007; Conforti, 2013). Для лечения модели болезни Хантингтона у мышей R6/2 была выбрана схема, включающая введение 0,2 мг/кг в сутки в течение всего периода эксперимента.

Целью исследования была оценка действия CLP1 во время тестирования двигательных функций у мышей R6/2 (B6CBA-R6/2 (CAG 120 +/- 5) с болезнью Хантингтона, при этом основным параметром являлась продолжительность жизни в группе лечения согласно шкале Каплана-Майера. Для сравнения эффективности был включен CPX (13 мг/кг). В эксперименты включали 20 мышей R6/2 (B6CBA-R6/2 (CAG 120 +/- 5) в возрасте 5 недель и 10 однопометных особей дикого типа того же возраста. Животных содержали при стандартной температуре ($22 \pm 1^\circ\text{C}$) в условиях контролируемого освещения (освещение включено с 7 утра до 8 вечера) с доступом к пище и воде *ad libitum*. Введение осуществляли путем ежедневных подкожных (п/к) инъекций CLP1 или CPX в 4,38 mM L-His, 140 mM NaCl, 0,2% Tween-20 и 1500 ME гиалуронидазы (pH 6,15), начиная с возраста 5 недель и продолжая до 25 недель (конечная точка). Помимо тестов на двигательные функции (тест на сцепление конечностей и тест с вращающимся стержнем), каждую неделю проводили взвешивание каждой мыши.

Тест с вращающимся стержнем

Тестирование мышей проводили в дневную фазу в течение 2 суток подряд в возрасте 4 (исходный уровень) 6, 9 и 12 недель. Каждый ежедневный сеанс включает тренировочные испытания продолжительностью 5 мин при скорости 4 об./мин на

установке с вращающимся стержнем (AccuScan Instruments, Колумбус, США). Через один час животных тестировали в 3 испытаниях с последовательным ускорением продолжительностью 6 мин с изменением скорости от 0 до 40 об./мин в течение 360 секунд и с интервалом между испытаниями, составляющим по меньшей мере 30 мин. Регистрировали время до падения со стержня. Мышей, остававшихся на стержне более 360 с, удаляли, и их время оценивали как 360 сек.

Сцепление конечностей

Тестирование мышей проводили в дневную фазу в возрасте 4 (исходный уровень) 6, 9 и 12 недель. Мышей подвешивали за хвосты на высоте 50 см в течение 30 секунд и определяли реакцию сцепления конечностей как сокращение любой конечности в сторону туловища более чем на 1 секунду. Каждый сеанс тестирования состоит из трех испытаний с оценкой сцепления от 0 до 4, где 0 соответствует отсутствию сцепления, 1 соответствует сокращению любой одной конечности, 2 соответствует сокращению любых двух конечностей, 3 соответствует сокращению любых трех конечностей и 4 соответствует сокращению всех четырех конечностей. Оценки реакции сцепления конечностей усредняют для каждого сеанса тестирования для каждого животного.

Схема исследования на мышах R6/2 представлена на фиг. 11А. Как показано на фиг. 11В, ни CLP1, ни CPX не оказывали влияния на массу тела мышей. Однако CLP1 значительно улучшал результаты теста на сцепление конечностей в возрасте 9 и 14 недель, тогда как применение CPX улучшало указанные результаты только в возрасте 9 недель (фиг. 11В). Оценка эффективности в тесте с вращающимся стержнем (время до падения) представлена на фиг. 11D. CLP1 и CPX увеличивали среднюю выживаемость получавших лечение мышей R6/2 на 8 суток в случае CLP1 и на 3 суток в случае CPX, а медианную выживаемость – на 13 суток как в случае CLP1, так и в случае CPX (фиг. 11Е и фиг. 11F). Эти результаты демонстрируют благоприятное действие CLP1 в этой сложной модели болезни Хантингтона у мышей.

Пример 12: CLP1 улучшает характеристики поведения в модели болезни Паркинсона у мышей (МРТР-модель)

При многих нейродегенеративных заболеваниях наблюдается дисфункция митохондрий и, вследствие этого, энергетический дефицит и окислительный стресс (Sawa, 2001; Oliveira, 2007; Chaturvedi, 2013; Naia, 2017; Pinho, 2020). Моделью дисфункции митохондрий у мышей является модель с применением 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридина (МРТР), которую применяют в качестве модели болезни Паркинсона

(PD), поскольку нейротоксическое действие МРТР вызывает специфичное повреждение дофаминергических нейронов в компактном слое черной субстанции и полосатом теле - двух областях, подвергающихся сильному поражению при PD. Инъекционное введение МРТР приводит к образованию нейротоксина MPP+, который препятствует работе комплекса I электрон-транспортной цепи (компонента метаболизма митохондрий), вызывая хронические симптомы PD.

Модель PD у животных получали путем внутрибрюшинной инъекции МРТР мышам C57BL/6, и было обнаружено благоприятное действие CLP1 в дозах 0,2 мг/кг и 2 мг/кг в отношении индуцированной МРТР гипоактивности и уменьшения количества нейронов в компактном слое черной субстанции.

Всего 48 животных случайным образом распределяли в 4 группы. Животных содержали при 12-часовом цикле света и темноты (6:00 утра/6:00 вечера). Животные проходили адаптацию в течение 1 недели, после чего начинали исследование. За 2 суток до введения МРТР мышам подкожно вводили CLP1 (2 мг/кг или 0,2 мг/кг) в 4,38 мМ L-His, 140 мМ NaCl, 0,2% Tween-20 и 1500 МЕ гиалуронидазы (pH 6,15). Другие группы получали только буфер. Введение мышам осуществляли один раз в сутки подкожным путем в течение всего эксперимента. Начиная с суток 0 мышам группы 1 дополнительно вводили солевой раствор один раз в сутки путем п/к инъекции в течение оставшегося времени эксперимента. Мышам групп 2-4 вводили МРТР (30 мг/кг/сутки) один раз в сутки путем п/к инъекции в течение оставшегося времени эксперимента. Весь период исследования составил 10 суток.

Проводили серию исследований конечных точек, включая массу тела, общее пройденное расстояние, количество вертикальных перемещений, силу захвата и иммуноокрашивание тирозингидроксилазы. Схема с указанием поведенческих тестов и лечения представлена на фиг. 12А.

Тестирование поведения

На 9 сутки исследования, через 6 часов после инъекции МРТР, животных помещали в открытое поле для выявления изменений двигательных функций (основные показатели: общее пройденное расстояние и количество вертикальных перемещений) в течение 10 минут. На 10 сутки исследования, через 6 часов после инъекции МРТР, для определения силы захвата мышам позволяли схватиться передними конечностями за металлическую сетку измерителя силы захвата, а затем их осторожно тянули назад за хвост до момента, когда они не могли больше удерживать сетку. Регистрировали и

рассчитывали среднюю силу захвата, наблюдаемую в 10 испытаниях.

Получение образцов тканей и иммуноокрашивание

По окончании исследования получали образцы тканей головного мозга. 6 образцов головного мозга из каждой группы подвергали перфузионной фиксации для иммуноокрашивания тирозингидроксилазы. Коронарные срезы тканей головного мозга мышей заключали в парафин с использованием стандартных гистологических методик: Срезали 3 препарата на мышь, толщиной 4 мкм, на расстоянии 50 мкм друг от друга. Препараты депарафинировали и дегидратировали в 3% растворе пероксида водорода при комнатной температуре. Применяли цитратный буфер (pH 6,0) для демаскирования антигена. Чтобы избежать неспецифичного окрашивания, срезы инкубировали в блокирующей сыворотке (ДАКО#X0909) в течение 15 минут при комнатной температуре, а затем инкубировали с первичными антителами к тирозингидроксилазе (ТН) (Abcam#ab112) в разведении 1:400 в течение 1 часа. Затем добавляли вторичные поликлональные антитела козы, конъюгированные с HRP (ДАКО#K4003). Для анализа изображений нейронов использовали окрашенные на ТН срезы, которые сканировали с помощью сканера Leica Aperio CS2. Изображения открывали с помощью HALO, подсчитывали ТН-положительные нейроны SNpc с обеих сторон. Количество положительных клеток выражали в виде среднего значения по трем срезам головного мозга. Статистический анализ выполняли с применением однофакторного ANOVA (или критерия Краскела-Уоллиса).

В этом исследовании масса тела животных после инъекции МРТР сначала снижалась, но постепенно увеличивалась в ходе исследования, при этом МРТР значимо изменял массу тела в конечной точке по сравнению с не получавшими его мышами (имитацией), у получавших CLP1 мышей не наблюдалось значимого изменения массы тела в конечной точке по сравнению с группой имитации (фиг. 12D). Тест в открытом поле и тест на силу захвата показали, что пройденное расстояние, количество вертикальных перемещений и сила захвата в группе модели значимо снижались по сравнению с контрольной группой. Введение CLP1 в дозе 2 мг/кг значимо увеличивало пройденное расстояние и количество вертикальных перемещений в тесте в открытом поле по сравнению с группой модели (фиг. 12B), при этом введение как 0,2 мг/кг, так и 2 мг/кг значимо увеличивало силу захвата по сравнению с группой, не получавшей МРТР (фиг. 12C).

В качестве показателя выживаемости дофаминергических нейронов подсчитывали

положительные по тирозингидроксилазе (TH⁺) нейроны в компактном слое черной субстанции (SNpc). В группе, не получавшей МРТР, наблюдалось значимое снижение количества нейронов после инъекции МРТР. Введение 0,2 мг/кг CLP1 значимо увеличивало количество TH⁺ нейронов по сравнению с группой модели, что указывает на повышенное количество живых дофаминергических нейронов (фиг. 13А и фиг. 13В).

Это демонстрирует потенциал применения CLP1 в качестве терапевтического подхода при болезни Паркинсона и других нейродегенеративных заболеваниях, сопровождающихся дисфункцией митохондрий.

Пример 13: CLP1 обеспечивает выведение и снижает распространение PFF α-синуклеина человека при инъекционном введении у крыс дикого типа и предупреждает утрату дофаминергических нейронов

Поскольку CLP1 способен повышать экспрессию TFEB, мастер-регулятора лизосомных белков, и индуцировать аутофагию, оценивали терапевтическую эффективность CLP1 в модели PD у крыс, которым вводили предварительно сформированные фибриллы α-синуклеина человека для индуцирования патологии α-синуклеина. Миндалевидное тело было выбрано в качестве места инъекции по нескольким причинам: (1) оно является наиболее часто поражаемой областью у пациентов-людей с PD, а в некоторых случаях единственной поражаемой структурой во всем головном мозге при эпизодических случаях заболеваний с тельцами Леви (Beach, 2009; Beach, 2010; Adler, 2016), что позволяет предположить, что PD часто может начинаться в этой структуре; (2) миндалевидное тело является второй структурой ЦНС, поражаемой после первоначального запуска процесса в обонятельной луковице; (3) миндалевидное тело имеет обширную систему входящих и исходящих связей, что делает эту область головного мозга подходящей для исследования транснейронального распространения; и (4) оно моносинаптически связано с обонятельной луковицей и другими важными структурами ствола мозга, все из которых подвергаются тяжелому поражению при PD.

Крысы и инъекции

Учитывая, что возраст является наибольшим фактором риска развития PD у человека, вероятно, что более старые экспериментальные животные могут обеспечить наиболее значимые и надежные результаты. В связи с этим для эксперимента использовали крыс дикого типа старшего возраста (в возрасте четырнадцати месяцев на момент инъекции), поскольку возраст является ключевым фактором для агрегации альфа-синуклеина и его повсеместного распространения в сердце, желудок и кожу, как и у

пациентов.

Инъекции крысам выполняли с помощью шприца Гамильтона объемом 10 мкл (калибр иглы 25). 9 мкг фибрилл α -синуклеина (предварительно сформированные фибриллы, PFF) унилатерально разделяли между базолатеральными и центральным ядрами миндалевидного тела (3 мкл PFF с концентрацией 1 мкг/мкл в каждом участке), положение которых определяли с помощью стандартизированных стереотаксических координат (ML -4,45, AP -2,4, DVcentral -7,95, DVbasolateral,1 -8,6, DVbasolateral,2 -9,15). Стереотаксические координаты определяли на основе атласа головного мозга крысы Paxinos & Watson и трех пилотных испытаний. Контрольная группа для каждой группы получала интрацеребральную инъекцию солевого раствора. Крысам вводили CLP1 (0,2 мг/кг) в 4,38 mM L-His, 140 mM NaCl, 0,2% Tween-20 и 1500 ME гиалуронидазы (pH 6,15) путем п/к инъекции ежедневно в течение 32 суток. Схематическое изображение процедуры эксперимента представлено на фиг. 14А.

Получение тканей и иммуногистохимическое исследование

Через 24 часа после последнего введения крыс подвергали седации и транскардиальной перфузии PBS и 4% формальдегидом, забуференным фосфатом. Для изучения распространения патологии α -синуклеина в головном мозге брали образцы головного мозга. Кроме того, в одном образце головного мозга (n=1) определяли уровни тирозингидроксилазы (ТН) для оценки утраты дофаминергических нейронов. Ткань подвергали обработке и делали срезы. Срезы (толщиной 4 мкм, толщиной 10 мкм в случае кожи) от нескольких субъектов (от трех до шести субъектов в зависимости от размера среза) рандомизировали и монтировали на одно предметное стекло. Срезы тканей депарафинировали и окрашивали на наличие включений PFF или ТН.

Количественная оценка иммунореактивности

Изображения со срезов толщиной 4 мкм получали с помощью автоматизированного сканирующего микроскопа Olympus VS120. Проводили количественную оценку иммунологически реактивной плотности в ткани головного мозга. Чтобы получить представление о распространении, головной мозг крыс подвергали перфузионной фиксации и окрашиванию на наличие PFF. В области миндалевидного тела подсчитывали PFF-положительные нейроны как ипсилатерально, в месте инъекции, так и контралатерально для оценки распространения. Кроме того, подсчитывали PFF-положительные нейроны в компактном слое черной субстанции (SNpc). Место инъекции и анализируемые области головного мозга показаны на фиг. 14В.

Типичные изображения SNpc и миндалевидного тела как с ипсилатеральной, так и с контралатеральной стороны представлены на фиг. 14C и фиг. 14D. Количество включений представлено на фиг. 14E. Окрашивание дофаминергических нейронов полосатого тела (TH-окрашивание) представлено на фиг. 14F. CLP1 значительно уменьшал количество включений ипсилатерально в SN и контралатерально в миндалевидном теле, а также продемонстрировал тенденцию к уменьшению включений ипсилатерально в миндалевидном теле. Кроме того, CLP1 полностью сохранял стриарные дофаминергические окончания, в отличие от таковых у крыс, не получавших CLP1, у которых наблюдалась полная утрата дофаминергического сигнала в полосатом теле. Это свидетельствует о действии CLP1 как на распространение, так и на выведение а-синуклеина, что является центральным аспектом в лечении PD, с терапевтическим эффектом, заключающимся в предупреждении денервации дофаминовых окончаний полосатого тела и утраты клеток. Кроме того, это подчеркивает потенциал применения клинически подтвержденных биомаркеров дофаминергической системы, таких как некоторые радиоактивные метки для ПЭТ, в качестве клинических биомаркеров эффективности у людей.

Пример 14: Крысы FSL

BDNF связывают с депрессией, поскольку в образцах, полученных посмертно от пациентов, страдающих расстройствами настроения, наблюдаются сниженные уровни BDNF, в частности, в таких областях головного мозга, как гиппокамп и миндалевидное тело (Dwivedi, 2003; Thompson, 2011; Guilloux, 2012). Кроме того, было показано, что лекарственные средства - антидепрессанты индуцируют экспрессию BDNF или действуют на мишени сигнального пути BDNF (Chen, 2001; Casarotto, 2021).

В связи с этим оценивали терапевтический потенциал CLP1 в модели депрессии у крыс линии Flinders Sensitive Line (FSL), характеризующейся сниженными уровнями BDNF в гиппокампе, а также сниженной двигательной активностью, сниженной массой тела, увеличенной продолжительностью REM-фазы сна и когнитивными затруднениями (при обучении) (Shiromani, 1988; Shiromani, 1991; Overstreet, 1993). В качестве контрольных (здоровых) крыс использовали крыс линии Flinders Resistant Line (FRL). Крысам вводили кетамин (10 мг/кг) в качестве положительного контроля, CLP1 (в дозе 0,2 мг/кг или 2 мг/кг) или CPX (в дозе 13 мг/кг) в 4,38 мМ L-His, 140 мМ NaCl, 0,2% Tween-20 и 1500 МЕ гиалуронидазы (pH 6,15) путем п/к инъекции один раз в сутки в течение 8 суток.

Молекулярный анализ уровней BDNF

Каждую крысу подвергали анестезии с применением пентобарбитала, а затем умерщвляли путем смещения шейных позвонков, затем ткани полосатого тела, гиппокампа и коры головного мозга иссекали и мгновенно замораживали в плавающем азоте. Образцы указанных тканей подвергали лизису в буфере RIPA, содержащем смесь ингибиторов протеаз cOmplete protease inhibitor cocktail, в гомогенизаторе TissueLyser, и проверяли уровни BDNF с помощью вестерн-блоттинга. Уровни BDNF в гиппокампе представлены на фиг. 15. Как и ожидалось, крысы FSL демонстрировали значимо более низкие уровни BDNF, чем контрольные крысы дикого типа (FRL, $p=0,041$). Крысы, получавшие обе дозы CLP1, демонстрировали повышение уровней BDNF в гиппокампе, при этом доза 2 мг/кг полностью восстанавливала их до нормальных уровней ($p=0,0147$). По-видимому, CPX оказывал более ограниченное действие в сравнении с носителем, которое не было значимым. Это свидетельствует о потенциальной терапевтической ценности CLP1 в восстановлении уровней BDNF у пациентов, страдающих депрессией.

Пример 15: CLP1 увеличивает время бодрствования в модели депрессии у крыс (Wistar Kyoto)

Оценивали терапевтический потенциал CLP1 в модели депрессии у крыс Wistar Kyoto (WKY), характеризующейся повышенным тревожным и депрессивно-подобным поведением. Было показано, что эта модель демонстрирует не соответствующие норме характеристики сна и бодрствования, которые часто ассоциированы с депрессией, включая определяемые с помощью EEG (электроэнцефалография) и EMG (электромиография) параметры, такие как снижение времени бодрствования и увеличение REM-фазы и non-REM-фазы (nREM) сна (Dugovic, 2000).

Проводили оценку EEG и EMG у крыс WKY, получавших 0,2 мг/кг или 2 мг/кг CLP1, после однократных инъекций в 4,38 mM L-His, 140 mM NaCl, 0,2% Tween-20 и 1500 ME гиалуронидазы (pH 6,15). В качестве положительного контроля использовали кетамин (10 мг/кг), антагонист рецепторов N-метил-D-аспартата. Все крысы получали все виды лечения через 2 ч после начала светового дня в псевдорандомизированном перекрестном режиме с промежутком между введениями, составлявшим по меньшей мере 3 суток. Крыс индивидуально помещали в регистрирующие боксы и регистрировали характер сна и бодрствования в течение 24 ч. Сигналы EEG/EMG были усилены, подвергнуты аналоговой фильтрации (0,5–100 Гц), оцифрованы (500 Гц) и затем подвергнуты цифровой фильтрации (EEG: 0,5-100 Гц и EMG: 70-100 Гц). Записи EEG/EMG

полуавтоматически оценивались как бодрствование, non-REM-фаза сна (NREM) или REM-фаза сна с интервалом 10 с с помощью SleepSign. Стадии сна были определены следующим образом:

Стадия сна	Описание
Бодрствование	<p>a. Интеграл активности ≥ 65000 AU <i>или</i></p> <p>b. Интеграл EMG $> 4,5$ мкВ-сек</p>
NREM-фаза сна	<p>a. Мощность дельта-ритма EEG (0,65-4,5 Гц) ≥ 900 мкВ² <i>и</i> интеграл EMG $< 11,5$ мкВ-сек <i>или</i></p> <p>b. Дельта-колебания EEG / 10 с $\geq 29\%$ <i>и</i> интеграл EMG $< 6,5$ мкВ-сек</p>
REM-фаза сна	<p>a. Коэффициент мощности тета-ритма EEG (6-10 Гц) $\geq 31\%$ <i>и</i> интеграл EMG < 2 мкВ-сек <i>или</i></p> <p>b. Тета-колебания EEG / 10 с $\geq 29\%$ <i>и</i> интеграл EMG $< 4,5$ мкВ-сек</p>

Записи EEG и EMG в моменты времени 0-3 ч и 11-12 ч после введения представлены на фиг. 16, а все остальные моменты времени были исключены, поскольку не наблюдалось различий между получавшими лечение и контрольными крысами. Как и ожидалось, кетамин увеличивал время бодрствования (фиг. 16А, фиг. 16С и фиг. 16Е) за счет REM- и NREM-фаз сна в течение 0-3 ч после введения. Схожую тенденцию наблюдали для кетамина через 11-12 ч после введения (в это время происходит наступление темноты, и, следовательно, момент, когда грызуны становятся активными). CLP1 схожим образом увеличивал время бодрствования и уменьшал REM- и NREM-фазы сна через 11-12 часов после введения (фиг. 16В, Фиг. 16D и фиг. 16F). Это демонстрирует потенциальный терапевтический эффект CLP1 для пациентов, страдающих расстройствами настроения, такими как депрессия.

Пример 16: Стабильность вариантов CLP1 в головном мозге и плазме

Исследовали ряд вариантов CLP2-CLP10 и LLP1-LLP10, полученных в примерах 1 и 2:

- варианты CLP2-CLP6 представляют собой циклические последовательности и характеризуются наличием до двух замен остатков в положениях 4 и/или 5 по сравнению с CLP1.

- варианты CLP7-CLP10 представляют собой циклические

последовательности и характеризуются (i) различным положением липидирования и (ii) наличием до двух дополнительных замен остатков в положениях 1 и/или 5 по сравнению с CLP1.

- варианты LLP1-LLP6 представляют собой линейные последовательности и характеризуются наличием до двух замен остатков в положениях 4 и/или 5 по сравнению с CLP1.

- варианты LLP7-LLP10 представляют собой линейные последовательности и характеризуются (i) различным положением липидирования и (ii) наличием до двух дополнительных замен остатков в положениях 1 и/или 5 по сравнению с CLP1.

Эти варианты исследовали в отношении их стабильности как в гомогенатах головного мозга, так и в плазме мышей аналогично процедуре, описанной в примере 6.

Как показано на фиг. 17A и фиг. 17B, как циклические, так и линейные циклические пептиды продемонстрировали высокую стабильность в плазме мышей. Линейные липидированные пептиды LLP1-LLP10 продемонстрировали более короткое время полужизни в гомогенатах головного мозга, чем CLP1 (фиг. 16C). Данные о стабильности циклических липидированных пептидов CLP2-CLP10 представлены на фиг. 16D. Ряд циклических липидированных пептидов демонстрирует надлежащую стабильность, при этом CLP4, CLP5 и CLP6 по стабильности превосходят CLP1.

Пример 17: Действие вариантов на гены-мишени CREB

Варианты CLP2–CLP10 и LLP1–LLP10 исследовали в отношении их способности повышать экспрессию генов-мишеней CREB BDNF и PGC1a. Анализ проводили согласно примеру 3. Результаты представлены на фиг. 18A - Фиг. 18D. Наиболее эффективными пептидами в отношении экспрессии как BDNF, так и PGC1a оказались CLP, в отличие от LLP. CLP10 демонстрировал подходящие характеристики, в наибольшей степени увеличивая экспрессию BDNF и в относительно высокой степени увеличивая экспрессию PGC1a.

Пример 18: CLP10 обеспечивает удаление растворимого mHTT из фибробластов, полученных от пациентов с болезнью Хантингтона

Эффективность CLP10 в удалении мутантного хантингтина в фибробластах, полученных от пациентов, оценивали аналогично описанному в примере 4. Как показано на фиг. 19A, CLP10 значительно снижал содержание mHTT. Уровни общего НТТ значительно не снижались (фиг. 19B).

Пример 19: Фармакокинетика выбранных новых кандидатных соединений

Для исследования фармакокинетики (ПК) у мышей были выбраны варианты CLP4, CLP5, CLP9 и CLP10, а также CLP1 в качестве эталона. Исследование ПК проводили, как описано в примере 9.

Как показано на фиг. 20А - фиг. 20D, все новые варианты продемонстрировали надлежащие время полужизни, биодоступность и значения C_{\max} как в плазме, так и в головном мозге мышей после подкожной инъекции.

Пример 20: Эффективность выбранных кандидатных соединений in vivo у мышей дикого типа

Варианты CLP4, CLP5, CLP9 и CLP10 оценивали в отношении их способности повышать экспрессию нижестоящих мишеней CREB после непрерывного ежедневного введения (п/к) мышам дикого типа. Указанную оценку выполняли аналогично способу, описанному в примере 10. Уровни BDNF и PGC1a проверяли с помощью вестерн-блоттинга. Помимо этого оценивали уровни TrkB, чтобы выяснить, произошли ли какие-либо изменения в рецепторной системе BDNF. CLP1 был единственным пептидом, который значительно повышал уровни BDNF в полосатом теле (фиг. 21B). При этом все указанные пептиды повышали уровни PGC1a (фиг. 21B). CLP1 также значительно повышал уровни TrkB, наряду с CLP4, тогда как для других пептидов не наблюдалось значимых эффектов (фиг. 21C). Важно отметить, что таким образом продемонстрировано, что ни один из указанных пептидов не снижает активность рецептора BDNF, TrkB, который имеет ключевое значение для поддержания передачи сигналов BDNF/TrkB, а также примечательно, что CLP1, как было обнаружено, по существу усиливает эту систему как на уровне лиганда, так и на уровне рецептора.

Пример 21: Физическая стабильность CLP10

Физическую стабильность CLP10 оценивали аналогично примеру 5 в тех же трех буферных системах. CLP10 не продемонстрировал какого-либо фибриллообразования в буферах с рН 6,5 и 7,5 (фиг. 22B и фиг. 22C). Однако CLP10 продемонстрировал фибриллообразование при рН 4,5 (фиг. 22A).

Пример 22: Свободная фракция CLP10 в головном мозге

Свободную фракцию CLP10 в головном мозге оценивали в гомогенатах головного мозга мыши и человека, аналогично примеру 10. В этом эксперименте CLP10 продемонстрировал схожую свободную фракцию в головном мозге в гомогенатах головного мозга как мыши, так и человека, составляющую ~9% (фиг. 23A и фиг. 23B).

Пример 23: Фармакокинетика CLP10

Оценивали фармакокинетику CLP10 у мышей дикого типа. Мышам дикого типа (самцам C57BL/6J) путем п/к инъекции вводили 10-кратные серийные разведения CLP10 (2 мг/кг, 0,2 мг/кг и 0,02 мг/кг) в 4,38 mM L-His, 140 mM NaCl, 0,2% Tween-20 и 1500 ME гиалуронидазы (pH 6,15). Концентрации в плазме, головном мозге в целом и спинномозговой жидкости определяли в различные моменты времени в период от 1 до 24 часов методом LC-MS/MS. Процедуру обработки плазмы и головного проводили так же, как описано в примере 9.

На Фиг. 24А (плазма) и фиг. 24В (головной мозг) показаны результаты определения концентрации CLP10 в различные моменты времени. Концентрация CLP10 в CSF была ниже нижнего предела обнаружения, поэтому для образцов CSF результаты получены не были. Уровень CLP10 поддавался определению в головном мозге после введения 2 мг/кг, что свидетельствует о том, что CLP10 проникает в головной мозг и CSF после п/к инъекции, однако в несколько меньшей степени, чем CLP1, поскольку он не поддавался определению при применении дозы 0,2 мг/кг. Фармакокинетические (PK) параметры CLP10 приведены ниже.

Плазма

Концентрация	$T_{1/2}$ (часы)	C_{max} (нмоль/л)	AUC_{0-t} (нмоль/л*ч)
2 мг/кг	15,3	6179	120293
0,2 мг/кг	11,9	757	12953

Головной мозг

Концентрация	$T_{1/2}$ (часы)	C_{max} (нмоль/кг)	AUC_{0-t} (нмоль/кг*ч)
2 мг/кг	15,1	60,7	955

Пример 24: Липидированные варианты повышают уровень BDNF *in vivo*

В следующем эксперименте исследовали эффективность *in vivo* как циклического липидированного варианта CLP11, так и линейных вариантов LLP11 и LLP12.

- вариант CLP11 представляет собой циклическую последовательность и характеризуется наличием двух замен остатков в положениях 4 и 5 по сравнению с CLP1 (что соответствует возврату от CLP1 к нативным остаткам SorCS2 в этих положениях).

- вариант LLP11 представляет собой линейную последовательность и характеризуется наличием двух замен остатков в положениях 4 и 5 по сравнению с

CLP1 (что соответствует возврату от CLP1 к нативным остаткам SorCS2 в этих положениях).

- вариант LLP12 представляет собой линейную последовательность и характеризуется (i) наличием двух замен остатков в положениях 4 и 5 по сравнению с CLP1 (что соответствует возврату от CLP1 к нативным остаткам SorCS2 в этих положениях) (ii) включением 4 дополнительных остатков из нативной последовательности SorCS2 между положениями 1 и 2 CLP1.

Эксперимент проводили аналогично примеру 10 с применением однократного подкожного введения дозы LLP11 (21 мг/кг), LLP12 (26 мг/кг) и CLP11 (21 мг/кг) мышам дикого типа в 4,38 mM L-His, 140 mM NaCl, 0,2% Tween-20 и 1500 ME гиалуронидазы (pH 6,15) с последующим определением BDNF. Были выбраны моменты времени 4 и 8 часов.

Как показано на фиг. 25, все пептиды обеспечивали статистически значимое повышение уровней BDNF как через 4, так и через 8 часов.

Пример 25: Выявление минимальной последовательности, обладающей активностью

В следующем эксперименте исследовали эффективность *in vitro* набора вариантов пептидов на основе нативной последовательности SorCS2. Задачей данного анализа эффективности *in vitro* было выявление минимальных последовательностей в нативной последовательности SorCS2, обладающих активностью. Указанные варианты включали циклические пептиды CP13-CP17.

- Вариант CP13 представляет собой нелипидированную циклическую последовательность и характеризуется наличием двух замен остатков в положениях 4 и 5 по сравнению с CLP1 (что соответствует возврату от CLP1 к нативным остаткам SorCS2 в этих положениях) с усечением N-концевого M и C-концевого V.

- Вариант CP14 представляет собой нелипидированную циклическую последовательность и характеризуется наличием двух замен остатков в положениях 4 и 5 по сравнению с CLP1 (что соответствует возврату от CLP1 к нативным остаткам SorCS2 в этих положениях) с усечением N-концевого M и C-концевого DV.

- Вариант CP15 представляет собой нелипидированную циклическую последовательность и характеризуется наличием двух замен остатков в положениях 4 и 5 по сравнению с CLP1 (что соответствует возврату от CLP1 к нативным остаткам SorCS2 в этих положениях) с усечением N-концевого MT и C-концевого DV.

- Вариант CP16 представляет собой нелипидированную циклическую

последовательность и характеризуется наличием двух замен остатков в положениях 4 и 5 по сравнению с CLP1 (что соответствует возврату от CLP1 к нативным остаткам SorCS2 в этих положениях) с усечением N-концевого МТ и С-концевого EDV.

- Вариант CP17 представляет собой нелипидированную циклическую последовательность и характеризуется наличием двух замен остатков в положениях 4 и 5 по сравнению с CLP1 (что соответствует возврату от CLP1 к нативным остаткам SorCS2 в этих положениях) с усечением N-концевого МТЕ и С-концевого EDV.

Эти варианты оценивали в отношении их способности повышать уровни BDNF в первичных нейронах, и эксперимент проводили аналогично примеру 3 с применением конечной концентрации каждого пептида 1 мкМ и стимуляцией в течение 6 часов. Для сравнения был включен CPX.

Как показано на фиг. 26, CP13, CP14 и CP15 значительно повышали уровни BDNF, тогда как CP16 демонстрировал тенденцию к повышению ($p=0,563$), а CP17 нет. Чрезмерное усечение пептида, полученного из нативной последовательности SorCS2, снижает активность, а длина в 5 аминокислот полностью устраняет активность.

Пример 26: Стабильность циклических нелипидированных вариантов в головном мозге и плазме

Подобно примеру 16, авторы настоящего изобретения анализировали новый набор вариантов пептидов с различиями в положении аминокислоты или заменой аминокислоты вблизи сайта «QI» CLP1 - стабилизированного положения по сравнению с природным фрагментом SorCS2. Однако это были «оголенные» пептиды, не имеющие липидирования. Все новые варианты представляли собой циклические формы (циклический пептид, CP). Эти варианты исследовали в отношении их стабильности как в гомогенатах головного мозга, так и в плазме мышей аналогично процедуре, описанной в примере 6. Как показано на фиг. 27 В, все исследованные циклические пептиды продемонстрировали высокую стабильность в плазме мыши. CP с аминокислотными заменами Q→P в последовательности CLP1 продемонстрировали меньшую стабильность в гомогенатах головного мозга (CP1-CP4). Это свидетельствует о том, что добавление пролина к последовательности снижает стабильность в гомогенате головного мозга мыши.

Пример 27: Эффективность нелипидированных циклических пептидов in vivo

Оценивали эффективность стабильных в головном мозге *ex vivo* вариантов в повышении экспрессии генов-мишеней CREB *in vivo*. Эксперимент проводили аналогично примеру 10 с применением однократного подкожного введения дозы CP5-12 (13 мг/кг)

мышам дикого типа в 4,38 мМ L-His, 140 мМ NaCl, 0,2% Tween-20 и 1500 МЕ гиалуронидазы (pH 6,15) с последующим определением уровней BDNF, TFEB и PGC1a. Был выбран момент времени 4 часа.

Как показано на фиг. 28А, CP6, CP7 и CP10 значительно повышали уровень TFEB. CP5, CP7, CP9 повышали уровень BDNF (фиг. 28В). CP5, CP6, CP7, CP8 и CP10 значительно повышали уровни PGC1a (фиг. 28С). Таким образом, пептиды С5-С7 и С10 продемонстрировали повышение экспрессии двух из трех указанных регулируемых CREB белков, тогда как С7 значительно повышал уровни всех трех белков.

Пример 28: Выявление аминокислот, имеющих важное значение для активности

В следующем эксперименте исследовали эффективность циклических вариантов CP18-CP22 *in vitro*.

- Вариант CP18 представляет собой циклическую последовательность и характеризуется наличием четырех замен остатков в положениях 4 и 5 по сравнению с CLP1 (что соответствует возврату от CLP1 к нативным остаткам SorCS2 в этих положениях) и положениях 6 и 8 (замены остатков E→D) по сравнению с CLP1.

- Вариант CP19 представляет собой циклическую последовательность и характеризуется наличием четырех замен остатков в положениях 4 и 5 по сравнению с CLP1 (что соответствует возврату от CLP1 к нативным остаткам SorCS2 в этих положениях) и положениях 3 и 6 (замены остатков E→D) по сравнению с CLP1.

- Вариант CP20 представляет собой циклическую последовательность и характеризуется наличием трех замен остатков в положениях 4 и 5 по сравнению с CLP1 (что соответствует возврату от CLP1 к нативным остаткам SorCS2 в этих положениях) и положении 3 (замена остатка E→A) по сравнению с CLP1.

- Вариант CP21 представляет собой циклическую последовательность и характеризуется наличием трех замен остатков в положениях 4 и 5 по сравнению с CLP1 (что соответствует возврату от CLP1 к нативным остаткам SorCS2 в этих положениях) и положении 6 (замена остатка E→A) по сравнению с CLP1.

- Вариант CP22 представляет собой циклическую последовательность и характеризуется наличием трех замен остатков в положениях 4 и 5 по сравнению с CLP1 (что соответствует возврату от CLP1 к нативным остаткам SorCS2 в этих положениях) и положении 8 (замена остатка E→A) по сравнению с CLP1.

Эксперимент проводили аналогично примеру 3 с применением конечной

концентрации каждого пептида 1 мкМ для обработки первичных нейронов. Нейроны подвергали обработке в общей сложности в течение 6 часов. В качестве препарата сравнения был включен CPX. Как показано на фиг. 29, ни один из указанных пептидов не обеспечивает значимого повышения уровней BDNF, однако CP22 продемонстрировал тенденцию к повышению уровней BDNF ($p=0,13$).

Пример 29: Оценка влияния различий в липидировании на активность

В следующем эксперименте исследовали эффективность циклических липидированных вариантов CP12-CP15 *in vitro*.

- Вариант CLP12 представляет собой циклическую последовательность и характеризуется наличием трех замен остатков E→D в положениях 3, 6 и 8 по сравнению с CLP1.

- Вариант CLP13 представляет собой циклическую последовательность, характеризующуюся наличием липида C18- γ Glu-OEG-OEG-, в которой группа двухосновной кислоты при C18 была удалена по сравнению с CLP1.

- Вариант CLP14 представляет собой циклическую последовательность, характеризующуюся наличием липида C14DA- γ Glu-OEG-OEG, в которой длина цепи была укорочена до C14 по сравнению с CLP1.

- Вариант CLP15 представляет собой циклическую последовательность и характеризуется заменой липида холестерин-OEG-OEG- по сравнению с CLP1.

Эксперимент проводили аналогично примеру 3 с применением конечной концентрации каждого пептида 1 мкМ для обработки первичных нейронов, однако обработку нейронов проводили в течение 24 часов. Как показано на фиг. 30, ни один из указанных пептидов не обеспечивал значимого повышения уровней BDNF в условиях анализа.

Пример 30: CLP1 повышает уровень GRN и устраняет лизосомные нарушения в модели FTD у гетерозиготных по GRN мышей

CLP1 индуцирует биогенез лизосом *in vivo* посредством положительной регуляции TFEB и последующей транскрипции лизосомных белков, таких как GRN (пример 10). Это обеспечивает терапевтическое обоснование для применения CLP1 у пациентов с FTD с гаплонедостаточностью GRN. Для дальнейшей оценки терапевтического действия CLP1 в этой подгруппе пациентов авторы настоящего изобретения осуществляли лечение гетерозиготных по GRN мышей в течение 7 суток и оценивали уровни как GRN, так и лизосомного маркера LAMP1 и карго-белка аутофагосом P62. Гаплонедостаточность GRN

приводит к дисфункции лизосом и накоплению лизосомного белка LAMP1 у пациентов с FTD-TDP с мутацией GRN (Götzl, 2014). Кроме того, повышенные уровни P62 наблюдаются в полученных от пациентов с FTD (Aoki, 2017) фибробластах, а также в CSF пациентов с FTD (Rubino, 2022), что является признаком нарушения аутофагии.

Гетерозиготные (+/-) по GRN мыши были получены путем скрещивания мышей B6(Cg)-Grntm1.1Aidi/J (PGRN KO) с мышами дикого типа C57BL/J в The Jackson Laboratory. GRN+/- мышам (в возрасте 9-11 недель) один раз в сутки подкожно вводили 0,2 мг/кг CLP1 в 4,38 mM L-His, 140 mM NaCl, 0,2% Tween-20 и 1500 ME гиалуронидазы (pH 6,15). В качестве контроля использовали мышей дикого типа. Было включено 12-16 мышей на каждое условие (n=12–16). Мышей умерщвляли на 8 сутки, через 24 часа после последней инъекции. Выделяли ткань коры и подвергали указанную ткань лизису с помощью TissueLyser в буфере для лизиса RIPA, содержащем ингибиторы cOmplete и phosSTOP. Уровни GRN, p62 и LAMP1 проверяли с помощью вестерн-блоттинга. Все белки нормализовали относительно количества бета-актина.

Как показано на фиг. 31A-31C, у гетерозиготных (+/-) по GRN мышей наблюдалось снижение уровня GRN на 50%, и лечение с применением CLP1 значительно повышало уровни GRN примерно на 50% по сравнению с таковыми у GRN+/- мышей, получавших носитель (p=0,0093). Аналогичным образом, у гетерозиготных по GRN мышей наблюдались повышенные уровни как LAMP1 (на 62%), так и p62 (на 20%), что показано на фиг. 31B и фиг. 31C, соответственно. Лечение CLP1 демонстрировало тенденцию к нормализации уровней p62 (p=0,1156) при снижении уровней LAMP1 на 40% (p=0,0268). Это демонстрирует терапевтический потенциал повышения уровней GRN под действием CLP1, что обеспечивает большую функциональность лизосомной сети, приводя к нормализации уровней лизосомных белков.

Пример 31: CLP1 обеспечивает сохранение поведенческого фенотипа в модели болезни Хантингтона zQ175

Целью данного исследования было определение долгосрочного действия CPX и CLP1 в модели болезни Хантингтона (HD) у мышей zQ175DN (zQ175DN KI, B6J.zQ175DN KI с ~CAG 190) (Menalled, 2003) с применением тестирования двигательных функций и анализа в условиях домашней клетки (НСА). У мышей zQ175 наблюдается экспрессия мутантного химерного белка мыши/человека в головном мозге в количествах, схожих с уровнями нормального эндогенного белка хантингтина. Это обеспечивает получение модели медленного прогрессирования, имитирующей прогрессирующее

заболевания человека с высокими уровнями mHTT на поздней стадии (>1 года). Параметры двигательных реакций были связаны с функциональными и поведенческими данными, полученными с помощью НСА.

Животные

Всего от CHDI Foundation, Inc. были получены и использованы для экспериментов 60 мышей zQ175DN (zQ175DN KI, B6J.zQ175DN KI с ~CAG 190) и 20 однопометных особей дикого типа (WT) в возрасте 2 месяцев. Всех мышей содержали в условиях контролируемой температуры ($22\pm 1^\circ\text{C}$) и влажности (30–50%) с нормальным циклом света и темноты (8:00-20:00). Обеспечивали чистые подстилочные материалы, покрывающие дно клетки, и меняли их с частотой, необходимой для поддержания подстилки в сухом состоянии. Эта базовая среда была обогащена добавлением игровых туннелей или куполообразных домиков и древесного подстилочного материала. В домашних клетках пища и вода были доступны мышам *ad libitum*.

Сведения об исследовании и группах

Экспериментальные животные были разделены на 4 группы: WT + носитель, zQ175 + носитель, zQ175 + CPX (13 мг/кг) и zQ175 + CLP1 (0,2 мг/кг), по 20 мышей в каждой группе (n=20).

Введение осуществляли подкожным (п/к) путем один раз в сутки, начиная с возраста 3 месяцев, и продолжали до возраста 12 месяцев. После инъекции место инъекции проверяли на предмет раздражения.

Массу тела определяли каждую неделю, начиная с возраста 3 месяцев, до окончания исследования. Поведенческие тесты (тест с вращающимся стержнем и тест на прохождение перекладины), а также НСА проводили в возрасте 3 (до лечения), 6, 9 и 12 месяцев.

Вращающийся стержень

Тестирование мышей проводили в дневную фазу в течение 2 суток подряд в возрасте 3 (до лечения) 6, 9 и 12 месяцев. Каждый ежедневный сеанс включает тренировочные испытания продолжительностью 5 мин при скорости 4 об./мин на установке с вращающимся стержнем (AccuScan Instruments, Колумбус, США). Через один час животных тестировали в 3 испытаниях с последовательным ускорением продолжительностью 6 мин с изменением скорости от 0 до 40 об./мин в течение 360 секунд и с интервалом между испытаниями, составляющим по меньшей мере 30 мин. Регистрировали время до падения со стержня. Мышей, оставшихся на стержне более

360 секунд, удаляли, и их время оценивали как 360 секунд.

Тест на прохождение по перекладине

Тестирование мышей проводили в дневную фазу в возрасте 3 (до лечения) 6, 9 и 12 месяцев. Тест с перекладиной был основан на процедуре, описанной в источнике Fleming, 2004. Двигательную активность определяли с помощью нового теста с перекладиной, основанного на традиционных тестах на прохождение по перекладине. Перекладина была изготовлена из органического стекла и состояла из четырех секций (по 25 см каждая, общая длина 1 м), каждая из которых имела разную ширину. Ширина перекладины в начальной части составляла 3,5 см и постепенно сужалась до 0,5 см с шагом 1 см. Свисающие выступы (шириной 1 см) располагались на 1 см ниже верхней поверхности перекладины. Животных обучали проходить по всей длине перекладины, начиная с самой широкой части и заканчивая самой узкой, наиболее трудной частью. Узкий конец перекладины вел непосредственно в домашнюю клетку животного. Перед тестированием животных обучали в течение 2 суток, при этом все обучение выполнялось без использования сетки. В первые сутки животные проходили два испытания с ассистированием, которые включали помещение животного на перекладину и размещение домашней клетки в непосредственной близости от животного. Это стимулирует движение вперед вдоль перекладины. После двух испытаний с ассистированием животные могли проходить всю длину перекладины самостоятельно. Первые сутки обучения заканчивали после того, как все животные совершили пять самостоятельных пробежек по всей длине перекладины. На 2 сутки обучения животным требовалось пройти пять испытаний. Для дальнейшего повышения сложности в сутки тестирования над поверхностью перекладины помещали сетку (с квадратными ячейками размером 1 см) соответствующей ширины, оставляя зазор примерно в 1 см между сеткой и поверхностью перекладины. Свисающие выступы служили опорой или «костылем» для животного, когда конечность соскальзывала с сетки, и позволяли оценивать нарушения на постоянной основе, благодаря чему мышам не приходилось применять компенсаторные двигательные стратегии для выполнения задачи. Во время прохождения животных по перекладине с сетчатой поверхностью проводили видеозапись всех пяти испытаний.

Видеозаписи были просмотрены и оценены в замедленном режиме на предмет ошибок, количества шагов, сделанных каждым животным, и времени, затраченного на прохождение пяти испытаний, исследователем, не имеющим информации о группе лечения. Ошибка засчитывалась, когда во время движения вперед конечность (передняя

или задняя) проскальзывала сквозь сетку и оказывалась видна между сеткой и поверхностью перекладки. Одно животное могло допустить не более четырех проскальзываний за один шаг. Оценка проскальзываний для каждой конечности отдельно позволяла определить серьезность ошибки. Например, животному, у которого во время шага через сетку проскальзывало три конечности, присваивали показатель ошибки 3, тогда как животному, у которого во время шага через сетку проскальзывала только одна конечность, присваивали показатель ошибки 1 за этот шаг. Проскальзывания не учитывали, если животное не делало движения вперед или если голова животного была ориентирована влево или вправо от перекладки. Ошибки во время шагов и время прохождения определяли для мышей WT и zQ175 во всех пяти испытаниях и усредняли.

Анализ в условиях домашней клетки

Мышей zQ175 и WT в возрасте 2,5 месяцев помещали в домашние клетки по N=4/клетку в случайных группах. Для мониторинга каждому животному внедряли RFID-чипы. Мониторинг в условиях домашней клетки проводили поочередно с циклом 48 часов в возрасте 3 (до лечения), 6, 9 и 12 месяцев. Мониторинг всех групп мышей (n=8 в каждой группе, n=4 каждого пола) в домашних клетках осуществляли с помощью устройств ActualHSA™ в течение 48 часов для каждой клетки. Определяли следующие параметры: время движения, время изоляции, время, проведенное на периферии, время, проведенное в центральных зонах, время движения вверх, время питья, скорость движения, расстояние движения, расстояние изоляции/отделения, расстояние, пройденное на периферии, расстояние, пройденное в центральных зонах, и температуру тела. Результаты определения указанных параметров сначала обрабатывали с помощью программного обеспечения для HSA, затем выполняли визуализацию данных с помощью программного обеспечения Matlab (США).

Получение тканей

По окончании исследования мышей умерщвляли для получения образцов тканей. Сначала мышей подвергали глубокой анестезии с применением летальной дозы золетила и собирали спинномозговую жидкость (CSF) из мостомозжечковой цистерны в микропробирки типа эппендорф, замораживали на сухом льду и хранили при -80°C. Образцы крови получали посредством пункции сердца. Цельную кровь собирали в пробирки с гепарином и отделяли плазму путем центрифугирования (3000 об./мин в течение 15 мин) при 4°C. Отделенную плазму собирали в микропробирки типа эппендорф, замораживали на сухом льду и хранили при -80°C.

Анализ с помощью набора Neuronal 4PlexA в CSF

Концентрации глиального фибриллярного кислого белка (GFAP), тубулин-ассоциированного белка (Tau), белка легких цепей нейрофиламентов (Nf-L) и убиквитин-С-концевой гидролазы L1 (UCH-L1) в CSF определяли с помощью набора для анализа Simoa Neuronal 4PlexA (номер по каталогу 102153, Quanterix). Парамагнитные карбоксилированные гранулы (Quanterix Corp, Бостон, Массачусетс, США) покрывали антителами мыши к GFAP, Tau, Nf-L или UCH-L1 и инкубировали в течение 35 минут с образцом и биотинилированными антителами мыши к GFAP, Tau, Nf-L или UCH-L1 в приборе Simoa (Quanterix). Среднее количество ферментов на гранулу (АЕВ) в образцах интерполировали на калибровочную кривую, построенную по результатам определения АЕВ.

Результаты

В то время как у мышей дикого типа масса тела увеличивалась на протяжении всего исследования, в случае мышей zQ175 этого не происходило. Не наблюдалось значимых различий между получавшими лечение мышами zQ175 и получавшими носитель мышами zQ175 (фиг. 32А), что свидетельствует о том, что лечение не влияет на массу тела в этой модели HD.

Время до падения с вращающегося стержня в целом уменьшалось с возрастом во всех группах (фиг. 32В). Время до падения у получавших носитель мышей zQ175 имело тенденцию к снижению по сравнению с контрольными мышами WT. В возрасте 12 месяцев время до падения в группах лечения CLP1 и CPX имело тенденцию к увеличению по сравнению с получавшими носитель, но это не было статистически значимым. Однако это указывает на потенциальное влияние как CLP1, так и CPX на двигательные функции.

Количество ошибок, допускаемых при прохождении (тест на прохождение по перекладине, Фиг. 32С), увеличивалось с возрастом после 9 месяцев. Количество ошибок, совершаемых получавшими носитель и CPX мышами zQ175, резко возрастало в возрасте от 9 до 12 месяцев и было значимо выше, чем у мышей WT. Количество ошибок у получавших CLP1 мышей zQ175 значимо не отличалось от такового у мышей WT в возрасте 12 месяцев, что демонстрирует полное сохранение этой характеристики поведения. Указанный тест очень чувствителен в отношении демонстрации кортико-стриарной функции, эти цепи лежат в основе двигательной координации и активности. Это указывает на существенную степень купирования кортико-стриарной патологии под действием CLP1 при HD, а также может иметь значение при других расстройствах.

Множество параметров, определенных в ходе анализа в условиях домашней клетки (НСА), применяли для выполнения анализа методом главных компонент (РСА) (фиг. 32D), и на основе дендрограммы иерархического анализа группы объединяли в кластеры, соответствующие WT-подобному или нокин-подобному (KI) фенотипу (фиг. 32E), с получением целостного заключения по НСА.

На основании РСА не наблюдалось выраженного характера распределения до возраста 12 месяцев, в котором получавшие носитель мыши zQ175 явно отличались как от мышей WT, так и от мышей zQ175, получавших CPX и CLP1. В РСА получавшие CLP1 мыши zQ175 образовывали кластер в верхней части кластера мышей WT, демонстрируя поведение, идентичное поведению мышей WT, тогда как получавшие CPX мыши zQ175 образовывали кластер очень близко к кластеру мышей WT, что свидетельствует о почти идентичном поведении. Схожим образом, в возрасте 12 месяцев получавшие CPX и CLP1 мыши zQ175 образовывали кластер совместно с контрольными мышами WT в виде WT-подобного фенотипа на дендрограмме иерархического анализа ($p=0,01$). Отдельные поведенческие параметры как для получавших CPX, так и для получавших CLP1 мышей по сравнению с WT и группой получавших носитель zQ175 представлены на фиг. 32F и фиг. 32G. Таким образом, применение CPX и CLP1 у мышей с HD полностью сохраняло фенотип, определенный по 12 различным поведенческим параметрам в НСА, что свидетельствует о мощном терапевтическом действии как CPX, так и CLP1 в этой модели HD у мышей.

Наконец, определяли концентрацию Nf-L в CSF (фиг. 32H). Уровень NfL был значимо повышен в группах zQ175 по сравнению с контрольной группой WT. Однако концентрация NfL в группах лечения имела тенденцию к снижению по сравнению с получавшими носитель zQ175. NfL является клинически подтвержденным биомаркером в CSF у пациентов с HD. Это демонстрирует потенциал применения NfL в качестве биомаркера у людей для оценки эффективности CLP1 и CPX. Не наблюдалось значимого влияния на другие маркеры GFAP, Тау и UCH-L1 (данные не представлены).

Пример 32: CLP1 повышает экспрессию GBA в дофаминергических нейронах, полученных из iPSC человека

GBA1 кодирует лизосомный белок, важный для деградации липидов и обновления клеточных мембран - жизненно важной функции лизосом. Моноаллельные мутации в GBA1 обнаруживаются в 5-20 % sporadических случаев PD, что делает их наиболее распространенным (известным) генетическим фактором риска PD. Мутации в GBA1

увеличивают риск развития PD в 20–30 раз (Stoker, 2018). Кроме того, известно, что биаллельные мутации в гене GBA1 вызывают лизосомное заболевание - болезнь Гоше (GD). Примечательно, что мутации GBA1 обуславливают появление белковых вариантов GСазы (белкового продукта гена GBA1), которые более подвержены деградации, снижению активности или нарушению миграции, что приводит к истощению GСазы в компартменте лизосомы (Do, 2019).

Было показано, что TFEB не только способствует экспрессии GBA1, но и стимулирует фолдинг и миграцию GСазы (Song, 2013). В связи с этим авторы настоящего изобретения оценили, может ли лечение с применением CLP1 повышать уровень GСазы в качестве потенциального терапевтического подхода для лечения как GD, так и PD.

Для такой оценки индуцированные плюрипотентные стволовые клетки человека (DANi001-C) подвергали репрограммированию и культивированию в соответствии с описанным ранее протоколом (Chen, 2020). Культивирование продолжали в течение 95 суток, что приводило к дифференцировке hPSC с получением дофаминергических нейронов среднего мозга. На 95 сутки 6 органоидов нейронов обрабатывали либо носителем, либо CLP1 (n=6) в течение 4 часов, а затем подвергали лизису в буфере RIPA. Уровни TFEB и GBA проверяли с помощью вестерн-блоттинга с использованием бета-актина в качестве контроля нанесения.

Как показано на фиг. 33А, стимуляция с помощью CLP1 повышает уровень TFEB на 125% (p=0,02), что, как показано на фиг. 33В, приводит к увеличению уровня GCase на 25% (p=0,013). В совокупности это подтверждает, что CLP1 действительно проявляет биологическую активность в дофаминергических нейронах человека (в том числе тех, которые поражаются при PD), что дополняет его терапевтический потенциал для применения у пациентов с PD с мутациями GBA1, а также пациентов, страдающих GD.

Во всем объеме настоящего описания и последующих пунктах формулы изобретения, если иное не следует из контекста, слово «включать» и его вариации, такие как «включает» и «включающий», следует понимать как подразумевающее включение указанного целого числа, стадии, группы целых чисел или группы стадий, но не исключение любого другого целого числа, стадии, группы целых чисел или группы стадий.

Настоящая заявка, частью которой являются настоящее описание и формула изобретения, может быть использована в качестве основания для приоритета применительно к любой последующей заявке. Пункты формулы изобретения такой

последующей заявки могут быть направлены на любой признак или комбинацию признаков, описанных в настоящем документе. Они могут быть сформулированы как пункты, относящиеся к продукту, композиции, способу или применению и могут включать, в качестве примера и без ограничения, следующие пункты формулы изобретения.

Литература

A User's Guide (Advances in Molecular Biology), Grant G. A. ed., Oxford University Press, 2002.

Adler, C. H. & Beach, T. G. *Mov Disord* 31, 1114-1119, doi:10.1002/mds.26605 (2016).

Aleman, S. et al. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 168, 459- 470, doi:10.1002/ajmg.b.32341 (2015).

Aoki, Y et al. *Brain* 140(4):887-897 (2017).

Baum, A. E. et al. *Mol Psychiatry* 13, 197-207, doi:10.1038/sj.mp.4002012 (2008).

Beach, T. G. et al. *Acta Neuropathol* 117, 613-634, doi:10.1007/s00401-009-0538-8 (2009).

Beach, T. G. et al. *Acta Neuropathol* 119, 689-702, doi:10.1007/s00401-010-0664-3 (2010).

Bech, E et al., *ACS Med. Chem. Lett.* 2018, 9, 577-580.

Beel, S. et al. *Mol Neurodegener* 13, 55, doi:10.1186/s13024-018-0288-y (2018).

Benito, E. & Barco, A. *Trends Neurosci* 33, 230-240, doi:10.1016/j.tins.2010.02.001 (2010).

Boland, B. et al. *Nat Rev Drug Discov* 17, 660-688, doi:10.1038/nrd.2018.109 (2018).

Casarotto, P. C. et al. *Cell* 184, 1299-1313 e1219, doi:10.1016/j.cell.2021.01.034 (2021).

Chandrudu et al, *Molecules* 2013 18(4):4373-4388.

Chaturvedi, R. K. & Beal, M. F. *Mol Cell Neurosci* 55, 101-114, doi:10.1016/j.mcn.2012.11.011 (2013).

Chen, B. et al. *L. T. Biol Psychiatry* 50, 260-265, doi:10.1016/s0006-3223(01)01083-6 (2001).

Chen, M. et al. Christoforou, A. et al., *Mol Psychiatry* 16, 240–242 (2011), <https://doi.org/10.1038/mp.2010.25>

Conforti, P. et al. *Gene Ther* 20, 678-685, doi:10.1038/gt.2012.84 (2013).

Do, J. et al. *Molecular Neurodegeneration* volume 14, Article number: 36 (2019).

Dugovic, C. et al. *Neuroreport* 11, 627-631, doi:10.1097/00001756-200002280-00038 (2000).

Dwivedi, Y. et al. *Arch Gen Psychiatry* 60, 804-815, doi:10.1001/archpsyc.60.8.804 (2003).

Finkbeiner, S. et al. *Neuron* 19,1031-1047, doi:10.1016/s0896-6273(00)80395-5 (1997).

Fleming, S. et al. *Journal of Neuroscience* 24(42):9434-9440 (2004)

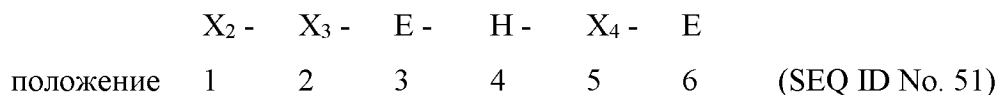
Ghosh, A. et al. *J Biol Chem* 290, 10309-10324, doi:10.1074/jbc.M114.610659 (2015).

- Glerup, S. et al. *Neuron*. 2014 Jun 4;82(5):1074-87. doi: 10.1016/j.neuron.2014.04.022.
- Glerup, S. et al. *Mol Psychiatry* 21, 1740-1751, doi:10.1038/mp.2016.108 (2016).
- Götzl, J. et al. *Acta Neuropathologica* 127:845-860 (2014).
- Guilloux, J. P. et al. *Mol Psychiatry* 17, 1130-1142, doi:10.1038/mp.2011.113 (2012).
- Hermey, G. et al. *J Biol Chem* 278, 7390-7396, doi:10.1074/jbc.M210851200 (2003).
- Isidro-Llobet et al, *Chem Rev* 2009 109 2455-2504
- Kang, H. et al. *Oncotarget* 8, 48603-48618, doi:10.18632/oncotarget.18122 (2017).
- Kurtzhals, P. et al. *Nature Reviews Drug Discovery* 22:59-80 (2023).
- Leloup, N. et al. *Nat Commun* 9, 2979, doi:10.1038/s41467-018-05405-z (2018).
- Ljungberg, M. C. et al. *Hum Mol Genet* 21, 251-267, doi:10.1093/hmg/ddr492 (2012).
- Lynch, M. R. et al. *JCI Insight* 5, doi:10.1172/jci.insight.142898 (2020).
- Ma, Q. et al. *JCI Insight* 2, doi:10.1172/jci.insight.88995 (2017).
- Malik, A. R. et al. *Cell Rep* 26, 2792-2804 e2796, doi:10.1016/j.celrep.2019.02.027 (2019).
- Menalled, L. et al. *J Comp Neurol*. 465(1):11-26. (2003) doi:10.1002/cne.10776.
- Miki, Y et al., *Neuropathology*, 38, 5, 2018 p 521-528.
- Mori, F. et al. *Neurosci Lett* 608, 6-11, doi:10.1016/j.neulet.2015.09.030 (2015).
- Naia, L. et al. *Biochem Biophys Res Commun*, 483, 1069-1077, doi:10.1016/j.bbrc.2016.07.122 (2017).
- Oetjen, S. et al. *J Comp Neurol* 522, 3386-3402, doi:10.1002/cne.23606 (2014).
- Oliveira, J. M. et al. *J Neurochem* 101, 241-249, doi:10.1111/j.1471-4159.2006.04361.x (2007).
- Ollila, H. M. et al. *Mol Psychiatry* 14, 351-353, doi:10.1038/mp.2008.122 (2009).
- Østergaard, S et al., *Sci Reports*, 2021, 11, 21179; doi.org/10.1038/s41598-021-00654-3.
- Overstreet, D. H. *Neurosci Biobehav Rev* 17, 51-68, doi:10.1016/s0149-7634(05)80230-1 (1993).
- Pharmaceutical Formulation: Development of Peptides and Proteins, Frokjaer and Hovgaard eds., Taylor and Francis, 1999.
- Pinho, B. R. et al. *Free Radic Biol Med* 146, 372-382, doi:10.1016/j.freeradbiomed.2019.11.021 (2020).
- Pugazhenthii, S. et al. *Mol Neurodegener* 6, 60, doi:10.1186/1750-1326-6-60 (2011).
- Qin, Z. H. et al. *J Neurosci* 24, 269-281, doi:10.1523/JNEUROSCI.1409-03.2004 (2004).
- Reitz, C et al. *Transl Psychiatry*. 2013 May 14;3(5):e256. doi: 10.1038/tp.2013.13.
- Richner, M. et al., *Scandinavian Journal of Pain*, vol. 3, no. 3, 2012, pp. 183-184, <https://doi.org/10.1016/j.sjpain.2012.05.028>.

- Rubino, E. et al. *Brain Sci* 12(10):1414 (2022) doi:10.3390/brainsci12101414.
- Sakamoto, K. et al. *Neurochem* 116, 1-9, doi:10.1111/j.1471-4159.2010.07080.x (2011).
- Salašová et al., *BioRxiv* 2021.11.03.466767; doi: <https://doi.org/10.1101/2021.11.03.466767>.
- Savas, J. N. et al. *Neuron* 87, 764-780, doi:10.1016/j.neuron.2015.08.007 (2015).
- Sawa, A. *J Mol Med (Berl)* 79, 375-381, doi:10.1007/s001090100223 (2001).
- Seth, J. et al. *BMC Medical Genetics* 20:31 (2019)
- Shiromani, P. J. et al. *Neuropsychopharmacology* 1, 127-133, doi:10.1016/0893-133x(88)90004-8 (1988).
- Shiromani, P. J. et al. *Sleep* 14, 116-120 (1991).
- Song, W. et al. *Human Molecular Genetics* 22(10):1994-2009 (2013).
- Stoker, B. *Pathological Mechanisms and Clinical Aspects of GBA1 Mutation-Associated Parkinson's Disease in Pathological Mechanisms and Clinical Aspects of GBA1 Mutation-Associated Parkinson's Disease* Stoker TB, Greenland JC, editors, Codon Publications 2018.
- Strand, A. D. et al. *J Neurosci* 27, 11758-11768, doi:10.1523/JNEUROSCI.2461-07.2007 (2007).
- Sugars, K. L. et al. *J Biol Chem* 279, 4988-4999, doi:10.1074/jbc.M310226200 (2004).
- Tanaka, Y. et al. *Neuroscience* 250, 8-19, doi:10.1016/j.neuroscience.2013.06.049 (2013).
- Tao, X. et al. *Neuron* 20, 709-726, doi:10.1016/s0896-6273(00)81010-7 (1998).
- Thompson Ray, M. et al. *J Psychiatry Neurosci* 36, 195-203, doi:10.1503/jpn.100048 (2011).
- van Swieten, J. C. & Heutink, P. *Lancet Neurol* 7, 965-974, doi:10.1016/S1474-4422(08)70194-7 (2008).
- van Witteloostuijn, S et al., *ChemMedChem*, 2016, 11, 2474-2495.
- Walton, M. R. & Dragunow, I. *Trends Neurosci* 23, 48-53, doi:10.1016/s0166-2236(99)01500-3 (2000).
- Wong, Y. C. & Holzbaur, E. L. *J Neurosci* 34, 1293-1305, doi:10.1523/JNEUROSCI.1870-13.2014 (2014).
- Wu, Z. et al. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103, 14379-14384, doi:10.1073/pnas.0606714103 (2006).
- Yang J et al., *Mol Psychiatry*. 2021 Mar;26(3):927-940. doi: 10.1038/s41380-020-0650-7. Epub 2020 Jan 27. PMID: 31988435.
- Zuccato, C. & Cattaneo, E. 81, 294-330, doi:10.1016/j.pneurobio.2007.01.003 (2007).
- WO2017101956
- WO2022029281

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Липидированный циклический пептид, содержащий последовательность:



где:

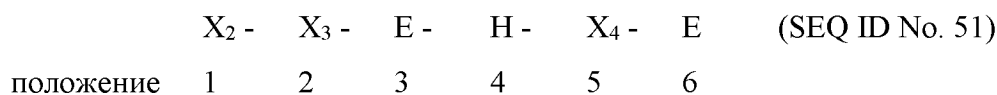
X₂ представляет собой P, D, Q, K, G,

X₃ представляет собой I, L, A, T, V,

X₄ представляет собой E, A,

или его соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли.

2. Липидированный циклический пептид по п. 1, содержащий последовательность:



где:

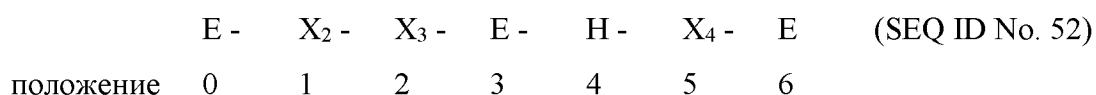
X₂ представляет собой P, D, Q, K, G,

X₃ представляет собой I, L, A, T, V,

X₄ представляет собой E, A,

или его соль, где указанный пептид содержит 15 или менее аминокислотных остатков внутри цикла, циклизован по основной цепи, и все остатки основной цепи указанного пептида соединены исключительно пептидными связями.

3. Липидированный циклический пептид по п. 2, содержащий последовательность:



где:

X₂ представляет собой P, D, Q, K, G,

X₃ представляет собой I, L, A, T, V,

X₄ представляет собой E, A,

или его соль, где указанный пептид содержит 15 или менее аминокислотных остатков внутри цикла, циклизован по основной цепи, и все остатки основной цепи указанного пептида соединены исключительно пептидными связями.

4. Липидированный циклический пептид по п. 3, где липид представляет собой C18DA-γGlu-OEG-OEG-.

5. Циклический липидированный пептид по любому из пп. 1-4, выбранный из:

Пептид (SEQ ID No.)	Конформация	Аминокислотная последовательность										
CLP1 (1)	Циклизован по основной цепи	(K*	T	E	Q	I	E	H	E	E	D	V)
CLP2 (2)	Циклизован по основной цепи	(K*	T	E	K	V	E	H	E	E	D	V)
CLP3 (3)	Циклизован по основной цепи	(K*	T	E	K	I	E	H	E	E	D	V)
CLP4 (4)	Циклизован по основной цепи	(K*	T	E	D	V	E	H	E	E	D	V)
CLP5 (5)	Циклизован по основной цепи	(K*	T	E	D	I	E	H	E	E	D	V)
CLP6 (6)	Циклизован по основной цепи	(K*	T	E	Q	V	E	H	E	E	D	V)
CLP7 (7)	Циклизован по основной цепи	(K	T	E	K*	V	E	H	E	E	D	V)
CLP8 (8)	Циклизован по основной цепи	(K	T	E	K*	I	E	H	E	E	D	V)
CLP9 (9)	Циклизован по основной цепи	(M	T	E	K*	V	E	H	E	E	D	V)
CLP10 (10)	Циклизован по основной цепи	(M	T	E	K*	I	E	H	E	E	D	V)
CLP11 (11)	Циклизован по основной цепи	(K*	T	E	P	V	E	H	E	E	D	V)
* = C18DA- γ Glu-OEG-OEG-												

или его соль, где указанные циклические пептиды циклизованы по основной цепи, и где все остатки основных цепей указанных пептидов соединены исключительно пептидными связями.

6. Циклический липидированный пептид по п. 5, состоящий из пептида CLP1:

(K*TEQIENEEDV) SEQ ID No. 1, или его соль, где * = C18DA- γ Glu-OEG-OEG-, и

где указанный пептид циклизован по основной цепи, и все остатки основной цепи указанного пептида соединены исключительно пептидными связями.

7. Циклический липидированный пептид по п. 6, состоящий из пептида CLP1:

(K*TEQIENEEDV) SEQ ID No. 1, или его соль, где *= C18DA-L- γ Glu-OEG-OEG-, и где указанный пептид циклизован по основной цепи, и все остатки основной цепи указанного пептида соединены исключительно пептидными связями.

8. Циклический липидированный пептид по п. 6, состоящий из пептида CLP1:

(K*TEQIENEEDV) SEQ ID No. 1, или его соль, где *= C18DA-D- γ Glu-OEG-OEG-, и где указанный пептид циклизован по основной цепи, и все остатки основной цепи указанного пептида соединены исключительно пептидными связями.

9. Циклический липидированный пептид по п. 5, состоящий из пептида CLP4:

(K*TEDVENEEDV) SEQ ID No. 4, или его соль, где *= C18DA- γ Glu-OEG-OEG-, и где указанный пептид циклизован по основной цепи, и все остатки основной цепи указанного пептида соединены исключительно пептидными связями.

10. Циклический липидированный пептид по п. 5, состоящий из пептида CLP5:

(K*TEDIENEEDV) SEQ ID No. 5, или его соль, где *= C18DA- γ Glu-OEG-OEG-, и где указанный пептид циклизован по основной цепи, и все остатки основной цепи указанного пептида соединены исключительно пептидными связями.

11. Циклический липидированный пептид по п. 5, состоящий из пептида CLP9:

(MTEK*VENEEDV) SEQ ID No. 9, или его соль, где *= C18DA- γ Glu-OEG-OEG-, и где указанный пептид циклизован по основной цепи, и все остатки основной цепи указанного пептида соединены исключительно пептидными связями.

12. Циклический липидированный пептид по п. 5, состоящий из пептида CLP10:

(MTEK*IENEEDV) SEQ ID No. 10, или его соль, где *= C18DA- γ Glu-OEG-OEG-, и где указанный пептид циклизован по основной цепи, и все остатки основной цепи указанного пептида соединены исключительно пептидными связями.

13. Циклический пептид, содержащий последовательность:

	X ₂ -	X ₃ -	E -	H -	X ₄ -	E	
положение	1	2	3	4	5	6	(SEQ ID No. 51)

где:

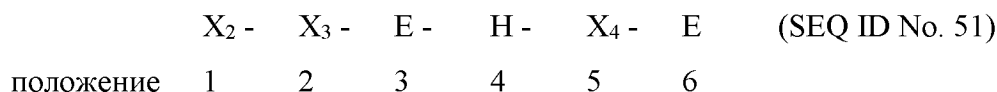
X₂ представляет собой P, D, Q, K, G,

X₃ представляет собой I, L, A, T, V,

X₄ представляет собой E, A,

или его соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли, где, если X_2 представляет собой P, то X_3 отличается от V.

14. Циклический пептид по п. 13, содержащий последовательность:



где:

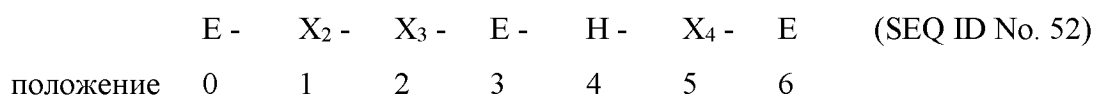
X_2 представляет собой P, D, Q, K, G,

X_3 представляет собой I, L, A, T, V,

X_4 представляет собой E, A,

или его соль, где, если X_2 представляет собой P, то X_3 отличается от V, указанный пептид содержит 15 или менее аминокислотных остатков внутри цикла, циклизован по основной цепи, и все остатки основной цепи указанного пептида соединены исключительно пептидными связями.

15. Циклический пептид по п. 14, содержащий последовательность:



где:

X_2 представляет собой P, D, Q, K, G,

X_3 представляет собой I, L, A, T, V,

X_4 представляет собой E, A,

или его соль, где, если X_2 представляет собой P, то X_3 отличается от V, указанный пептид содержит 15 или менее аминокислотных остатков внутри цикла, циклизован по основной цепи, и все остатки основной цепи указанного пептида соединены исключительно пептидными связями.

16. Циклический пептид по любому из пп. 13-15, выбранный из:

Пептид (SEQ ID No.)	Конформация	Аминокислотная последовательность
CP1 (28)	Циклизован по основной цепи	(M T E P I E H E E D V)
CP2 (29)	Циклизован по основной цепи	(M T E P L E H E E D V)
CP3 (30)	Циклизован по основной цепи	(M T E P A E H E E D V)
CP4 (31)	Циклизован по основной цепи	(M T E P T E H E E D V)
CP5 (32)	Циклизован по основной цепи	(M T E G V E H E E D V)

Пептид (SEQ ID No.)	Конформация	Аминокислотная последовательность
CP6 (33)	Циклизован по основной цепи	(M T E D V E H E E D V)
CP7 (34)	Циклизован по основной цепи	(M T E K V E H E E D V)
CP8 (35)	Циклизован по основной цепи	(M T E Q V E H E E D V)
CP9 (36)	Циклизован по основной цепи	(M T E Q I E H E E D V)
CP10 (37)	Циклизован по основной цепи	(M T E D I E H E E D V)
CP11 (38)	Циклизован по основной цепи	(M T E Q L E H E E D V)
CP12 (39)	Циклизован по основной цепи	(M T E D L E H E E D V)

или его соль, где указанные пептиды циклизованы по основной цепи, и все остатки основных цепей указанных пептидов соединены исключительно пептидными связями.

17. Циклический пептид по п. 16, состоящий из пептида CP7:

(MTEKVENEEDV) SEQ ID No. 34, или его соль, где указанный пептид циклизован по основной цепи, и все остатки основной цепи указанного пептида соединены исключительно пептидными связями.

18. Циклический пептид по п. 16, состоящий из пептида CP9:

(MTEQIENEEDV) SEQ ID No. 36, или его соль, где указанный пептид циклизован по основной цепи, и все остатки основной цепи указанного пептида соединены исключительно пептидными связями.

19. Циклический пептид по п. 15, состоящий из пептида CP10:

(MTEDIENEEDV) SEQ ID No. 37, или его соль, где указанный пептид циклизован по основной цепи, и все остатки основной цепи указанного пептида соединены исключительно пептидными связями.

20. Циклический пептид, содержащий 10 или менее аминокислотных остатков внутри цикла и содержащий последовательность:

X₂ - X₃ - E - H - X₄ - E
положение 1 2 3 4 5 6 (SEQ ID No. 51)

где:

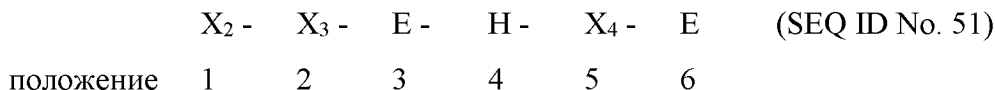
X₂ представляет собой P, D, Q, K, G,

X₃ представляет собой I, L, A, T, V,

X₄ представляет собой E, A,

или его соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли.

21. Циклический пептид по п. 20, содержащий последовательность:



где:

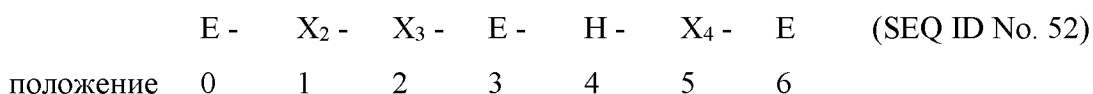
X_2 представляет собой P, D, Q, K, G,

X_3 представляет собой I, L, A, T, V,

X_4 представляет собой E, A,

или его соль, где указанный пептид циклизован по основной цепи, и все остатки основной цепи указанного пептида соединены исключительно пептидными связями.

22. Циклический пептид по п. 21, содержащий последовательность:



где:

X_2 представляет собой P, D, Q, K, G,

X_3 представляет собой I, L, A, T, V,

X_4 представляет собой E, A,

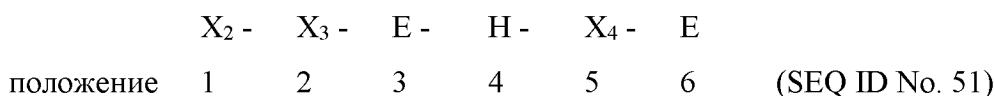
или его соль, где указанный пептид циклизован по основной цепи, и все остатки основной цепи указанного пептида соединены исключительно пептидными связями.

23. Циклический пептид по любому из пп. 20-22, выбранный из:

Пептид (SEQ ID No.)	Конформация	Аминокислотная последовательность											
CP13 (40)	Циклизован по основной цепи	(T	E	P	V	E	H	E	E)	D)
CP14 (41)	Циклизован по основной цепи	(T	E	P	V	E	H	E	E)		
CP15 (42)	Циклизован по основной цепи			(E	P	V	E	H	E	E)	

или его соль, где пептиды циклизованы по основной цепи, и все остатки основных цепей указанных пептидов соединены исключительно пептидными связями.

24. Липидированный линейный пептид, содержащий последовательность:



где:

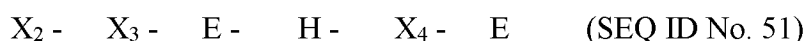
X_2 представляет собой P, D, Q, K, G,

X_3 представляет собой I, L, A, T, V,

X_4 представляет собой E, A,

или его соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли.

25. Липидированный линейный пептид по п. 24, содержащий последовательность:



положение 1 2 3 4 5 6

где:

X_2 представляет собой P, D, Q, K, G,

X_3 представляет собой I, L, A, T, V,

X_4 представляет собой E, A,

или его соль, где указанный пептид содержит 15 или менее аминокислотных остатков, и все остатки основной цепи указанного пептида соединены исключительно пептидными связями.

26. Липидированный линейный пептид по п. 25, содержащий последовательность:



положение 0 1 2 3 4 5 6

где:

X_2 представляет собой P, D, Q, K, G,

X_3 представляет собой I, L, A, T, V,

X_4 представляет собой E, A,

или его соль, где указанный пептид содержит 15 или менее аминокислотных остатков, и все остатки основной цепи указанного пептида соединены исключительно пептидными связями.

27. Липидированный циклический пептид по п. 26, где указанный липид представляет собой C18DA- γ Glu-OEG-OEG-.

28. Липидированный линейный пептид по любому из пп. 24-27, выбранный из:

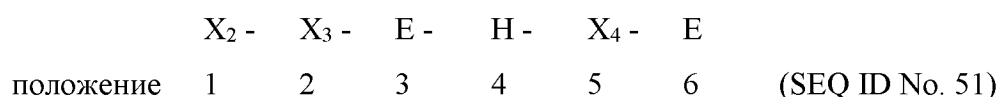
Пептид (SEQ ID No.)	Конформация	Аминокислотная последовательность												
		Ac	K*	T	E	K	V	E	H	E	E	D	V	NH ₂
LLP1 (16)	Линейный	Ac	K*	T	E	K	V	E	H	E	E	D	V	NH ₂
LLP2 (17)	Линейный	Ac	K*	T	E	K	I	E	H	E	E	D	V	NH ₂
LLP3 (18)	Линейный	Ac	K*	T	E	D	V	E	H	E	E	D	V	NH ₂
LLP4 (19)	Линейный	Ac	K*	T	E	D	I	E	H	E	E	D	V	NH ₂
LLP5 (20)	Линейный	Ac	K*	T	E	Q	V	E	H	E	E	D	V	NH ₂
LLP6 (21)	Линейный	Ac	K*	T	E	Q	I	E	H	E	E	D	V	NH ₂
LLP7 (22)	Линейный	Ac	K	T	E	K*	V	E	H	E	E	D	V	NH ₂

Пептид (SEQ ID No.)	Конформация	Аминокислотная последовательность												
		Ac	K	T	E	K*	I	E	H	E	E	D	V	NH ₂
LLP8 (23)	Линейный	Ac	K	T	E	K*	I	E	H	E	E	D	V	NH ₂
LLP9 (24)	Линейный	Ac	M	T	E	K*	V	E	H	E	E	D	V	NH ₂
LLP10 (25)	Линейный	Ac	M	T	E	K*	I	E	H	E	E	D	V	NH ₂
LLP11 (26)	Линейный	Ac	K*	T	E	P	V	E	H	E	E	D	V	NH ₂
LLP12 (27)	Линейный		K*EQEM	T	E	P	V	E	H	E	E	D	V	NH ₂

*= C18DA-γGlu-OEG-OEG-

или его соль, где все остатки основных цепей указанных пептидов соединены исключительно пептидными связями.

29. Линейный пептид, содержащий последовательность:



где:

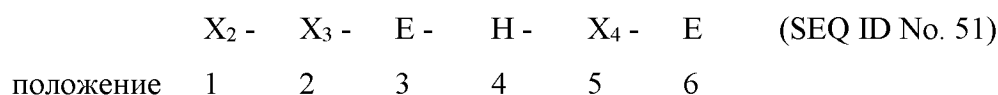
X_2 представляет собой P, D, Q, K, G,

X_3 представляет собой I, L, A, T, V,

X_4 представляет собой E, A,

или его соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли, где, если X_2 представляет собой P, то X_3 отличается от V.

30. Линейный пептид по п. 29, содержащий последовательность:



где:

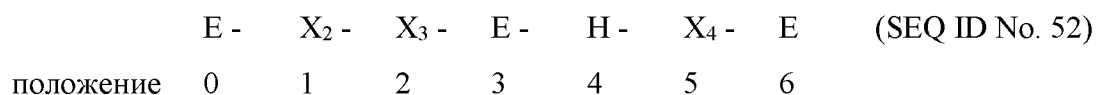
X_2 представляет собой P, D, Q, K, G,

X_3 представляет собой I, L, A, T, V,

X_4 представляет собой E, A,

или его соль, где, если X_2 представляет собой P, то X_3 отличается от V, указанный пептид содержит 15 или менее аминокислотных остатков, и все остатки основных цепей указанных пептидов соединены исключительно пептидными связями.

31. Линейный пептид по п. 30, содержащий последовательность:



где:

X_2 представляет собой P, D, Q, K, G,

X_3 представляет собой I, L, A, T, V,

X_4 представляет собой E, A,

или его соль, где, если X_2 представляет собой P, то X_3 отличается от V, указанный пептид содержит 15 или менее аминокислотных остатков, и все остатки основной цепи указанного пептида соединены исключительно пептидными связями.

32. Линейный пептид, содержащий 10 или менее аминокислотных остатков в основной цепи и содержащий последовательность:

X_2 -	X_3 -	E -	H -	X_4 -	E	
положение 1	2	3	4	5	6	(SEQ ID No. 51)

где:

X_2 представляет собой P, D, Q, K, G,

X_3 представляет собой I, L, A, T, V,

X_4 представляет собой E, A,

или его соль, или консервативно замещенный вариант указанных пептида или соли.

33. Линейный пептид по п. 32, содержащий последовательность:

X_2 -	X_3 -	E -	H -	X_4 -	E	(SEQ ID No. 51)
положение 1	2	3	4	5	6	

где:

X_2 представляет собой P, D, Q, K, G,

X_3 представляет собой I, L, A, T, V,

X_4 представляет собой E, A,

или его соль, где все остатки основной цепи указанного пептида соединены исключительно пептидными связями.

34. Линейный пептид по п. 33, содержащий последовательность:

E -	X_2 -	X_3 -	E -	H -	X_4 -	E	(SEQ ID No. 52)
положение 0	1	2	3	4	5	6	

где:

X_2 представляет собой P, D, Q, K, G,

X_3 представляет собой I, L, A, T, V,

X_4 представляет собой E, A,

или его соль, где все остатки основной цепи указанного пептида соединены

исключительно пептидными связями.

35. Пептид или его фармацевтически приемлемая соль по любому из пп. 1-34 для применения в качестве лекарственного средства.

36. Применение пептида или его фармацевтически приемлемой соли по любому из пп. 1-34 в изготовлении лекарственного средства.

37. Способ лечения или профилактики заболевания или расстройства, включающий введение пептида или его фармацевтически приемлемой соли по любому из пп. 1-34.

38. Пептид, соль, применение или способ по любому из пп. 35-37 для лечения или профилактики болезни Альцгеймера, болезни Хантингтона, болезни Паркинсона, лобно-височной деменции или депрессии.

39. Пептид, соль, применение или способ по п. 38 для лечения или профилактики болезни Хантингтона.

40. Пептид, соль, применение или способ по п. 38 для лечения или профилактики болезни Паркинсона.

41. Защищенный циклический пептид, содержащий липидированный или нелипидированный циклический пептид, описанные в любом из пп. 1-23, где по меньшей мере одна реакционноспособная группа, например боковая цепь аминокислоты, является защищенной, или их соль.

42. Защищенный линейный пептид, содержащий липидированный или нелипидированный линейный пептид, описанные в любом из пп. 24-34, где по меньшей мере одна реакционноспособная группа является защищенной, или их соль.

43. Линейный пептид, который при циклизации обеспечивает липидированный или нелипидированный циклический пептид, описанный в любом из пп. 1-23, или его соль.

44. Защищенный линейный пептид, который при циклизации обеспечивает защищенный циклический пептид, описанный в п. 41, или его соль.

45. Липидированный циклический пептид по любому из пп. 1-12, циклический пептид по любому из пп. 13-23, липидированный линейный пептид по любому из пп. 24-28, линейный пептид по любому из пп. 29-34 или их защищенная версия, которые ковалентно связаны с твердой подложкой.

46. Способ получения липидированного циклического пептида по любому из пп. 1-12, включающий стадии:

(i) получения липидированного линейного пептида, имеющего соответствующую аминокислотную последовательность (возможно защищенного), и

(ii) последующего образования циклизованного пептида (возможно защищенного) из указанного линейного пептида (возможно защищенного); и

(iii) снятия защиты при необходимости.

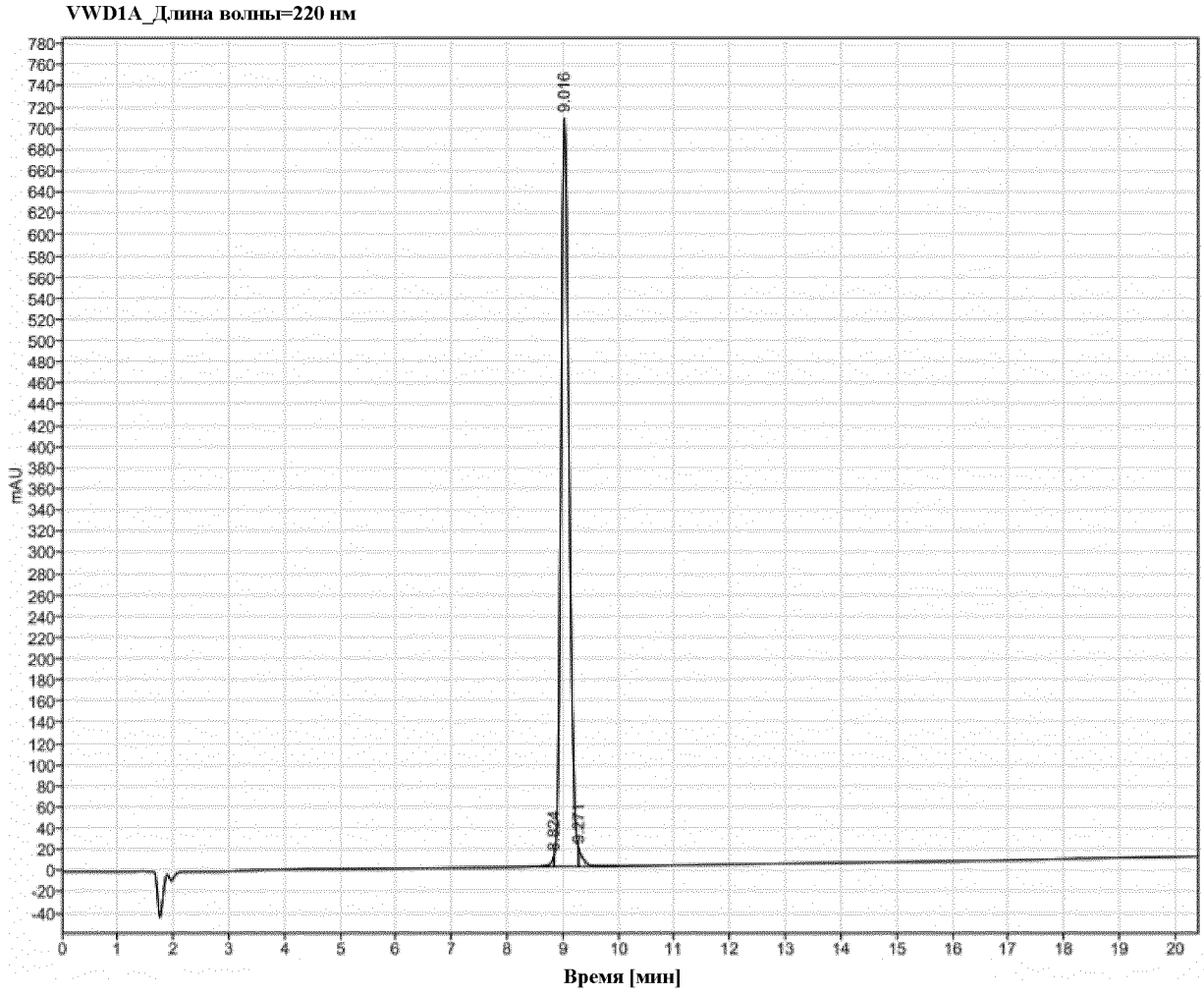
47. Способ получения циклического пептида по любому из пп. 13-23, включающий стадии:

(i) получения линейного пептида, имеющего соответствующую аминокислотную последовательность (возможно защищенного), и

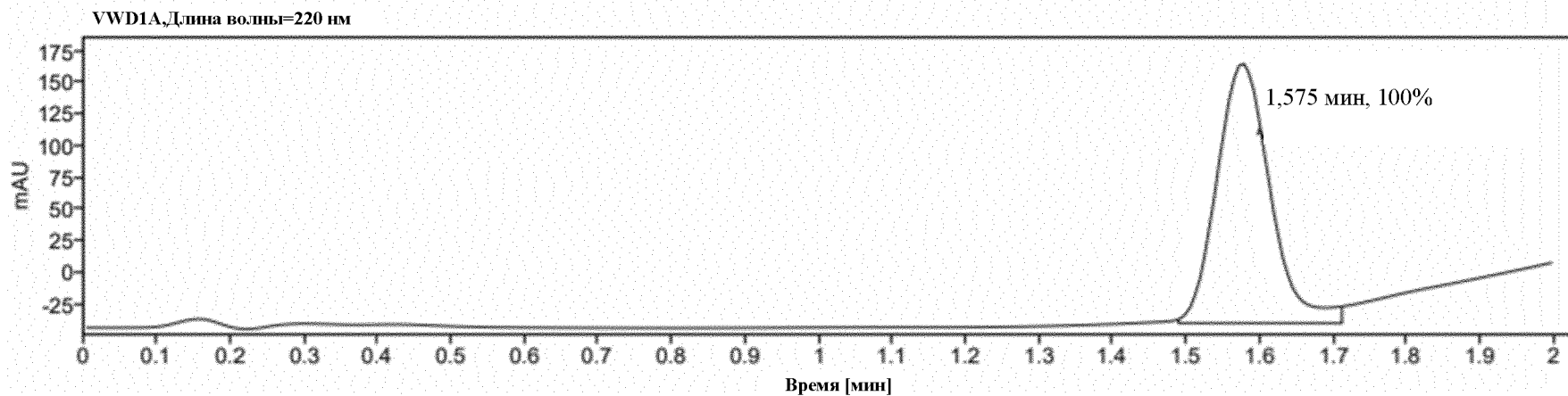
(ii) последующего образования циклизованного пептида (возможно защищенного) из указанного линейного пептида (возможно защищенного); и

(iii) снятия защиты при необходимости.

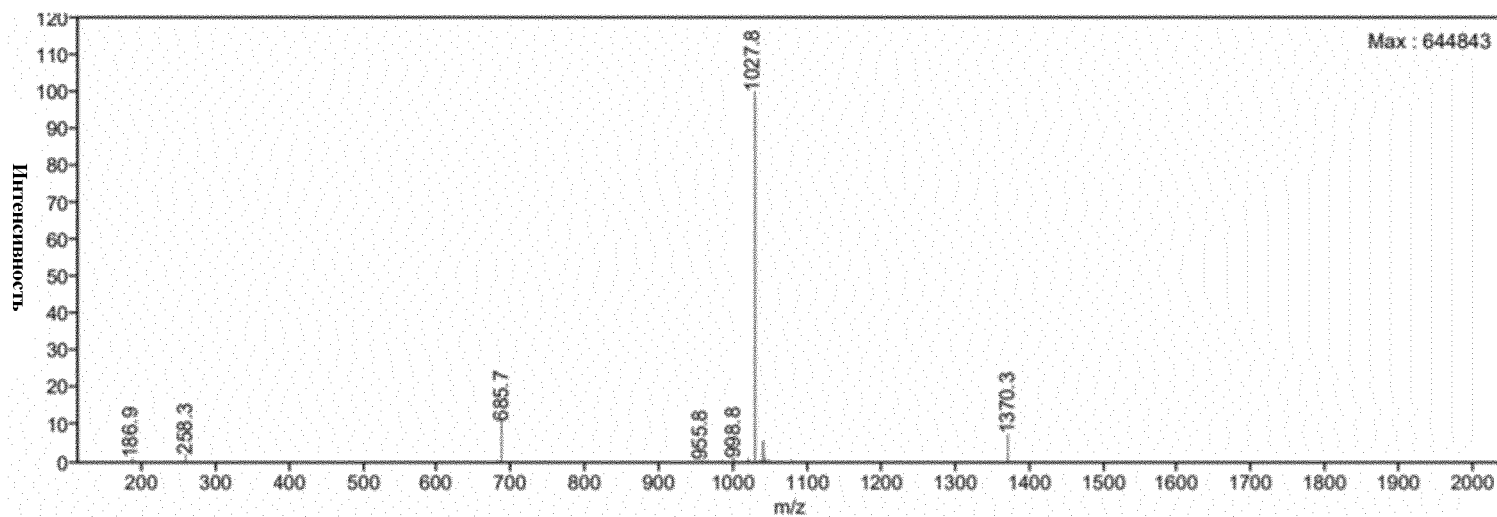
Фиг. 1А



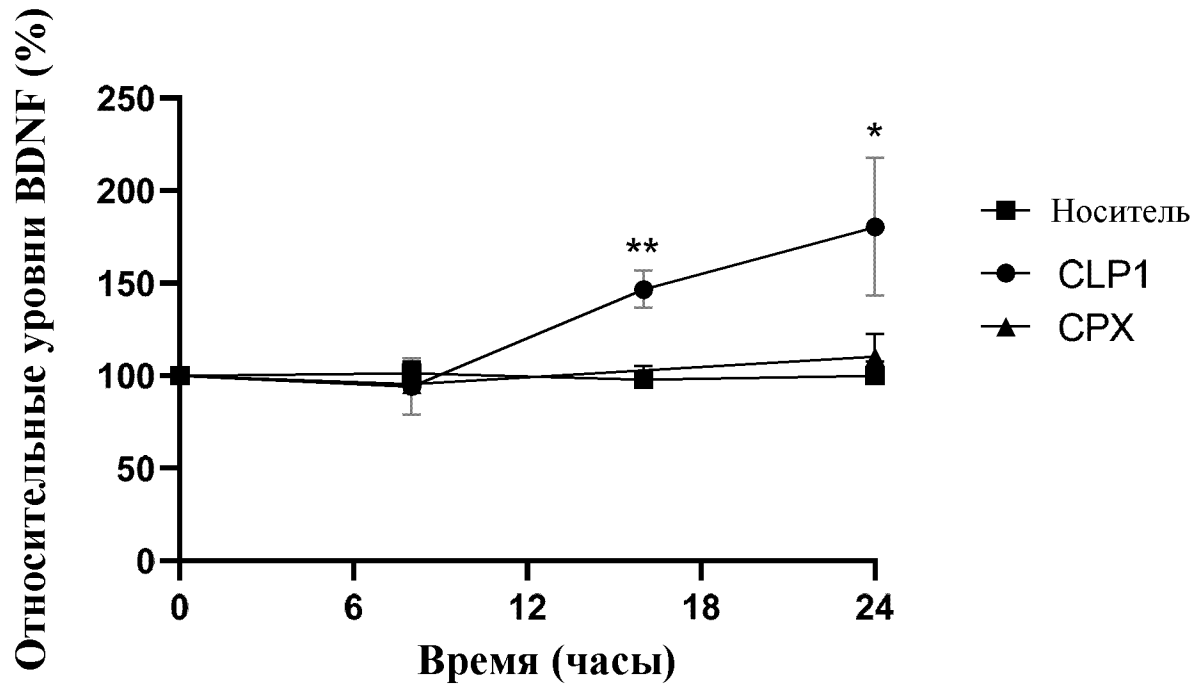
Фиг. 1В



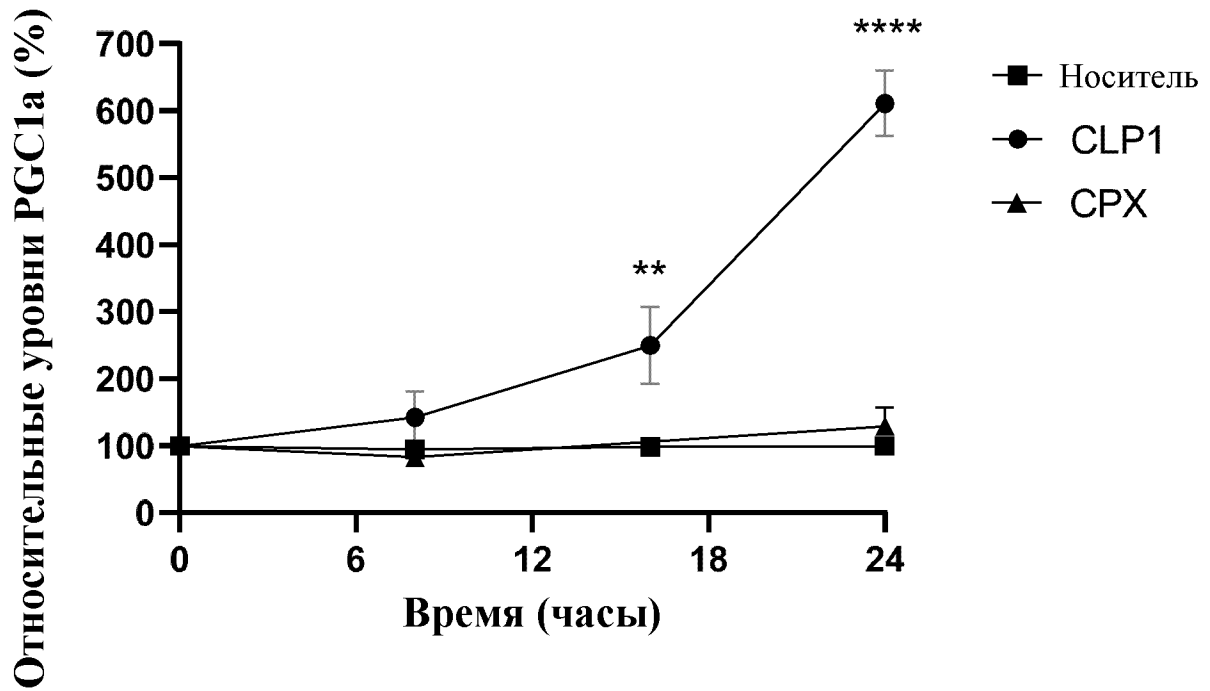
Фиг. 1С



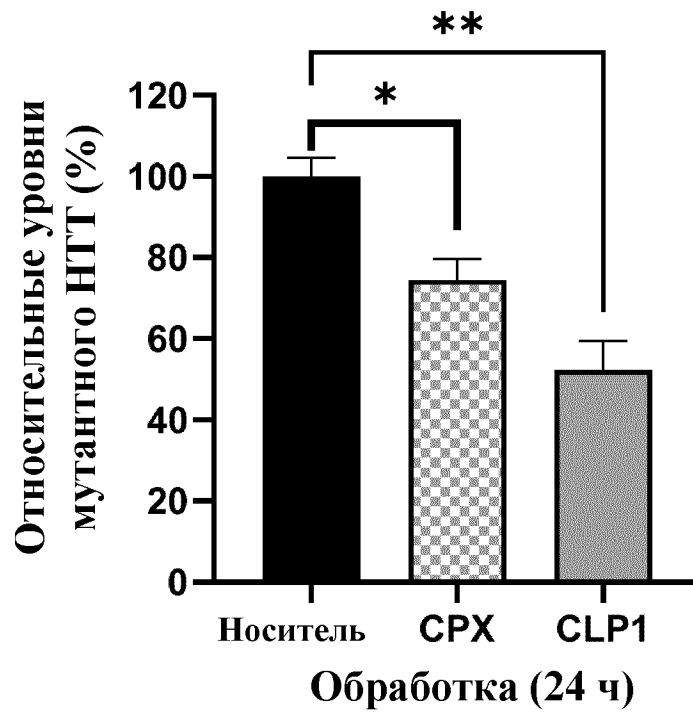
Фиг. 2А



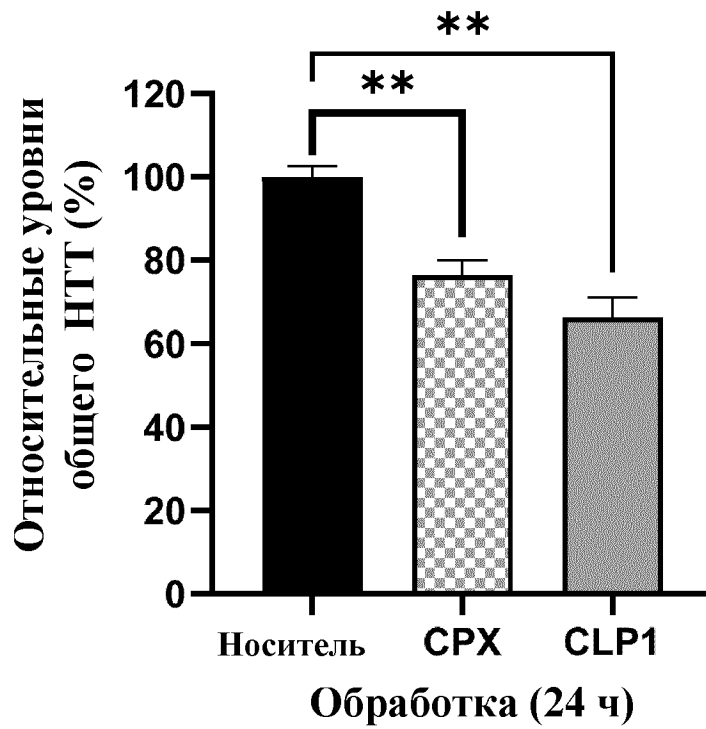
Фиг. 2В



Фиг. 3А

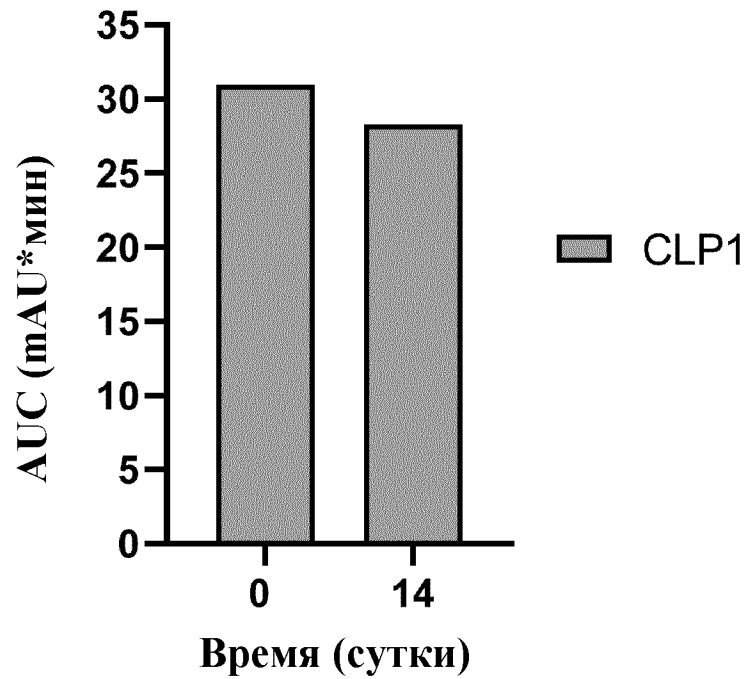


Фиг. 3В



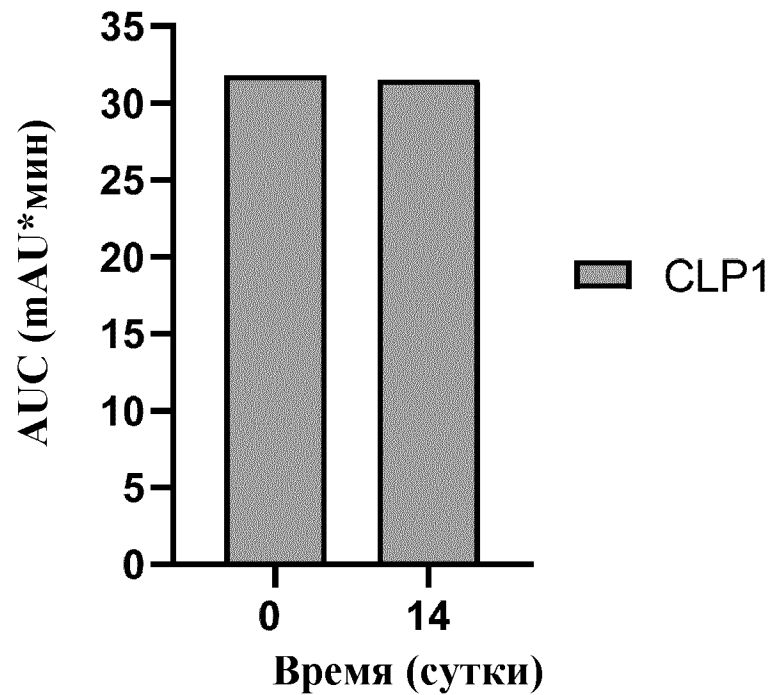
Фиг. 4А

Химическая стабильность при рН 4,5



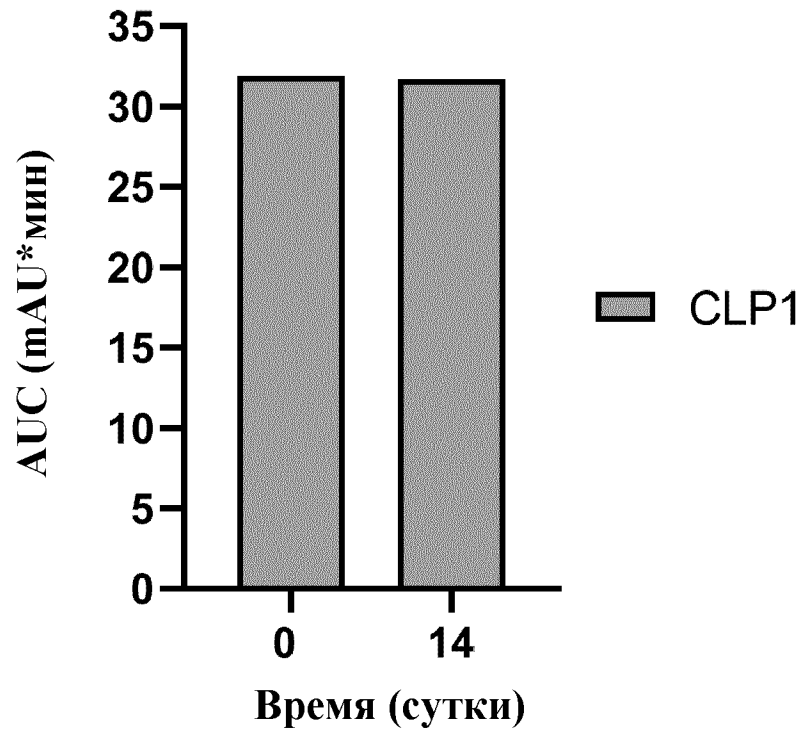
Фиг. 4В

Химическая стабильность при рН 6,5

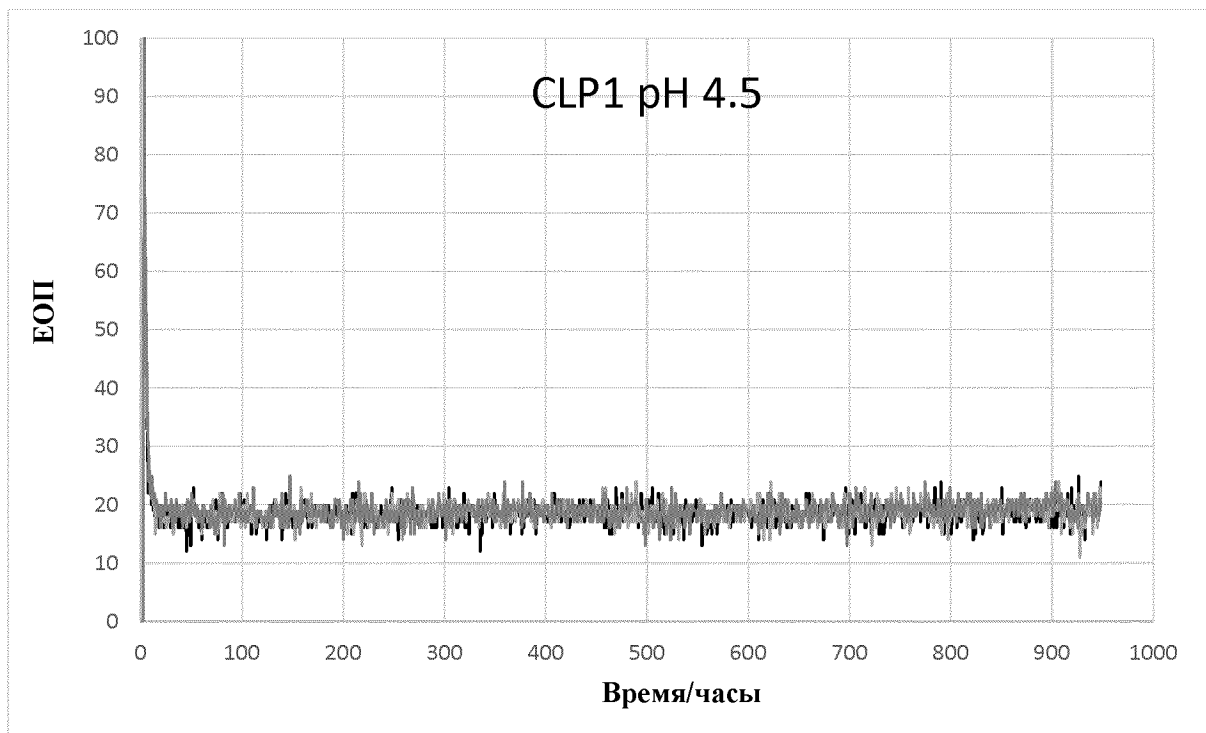


Фиг. 4С

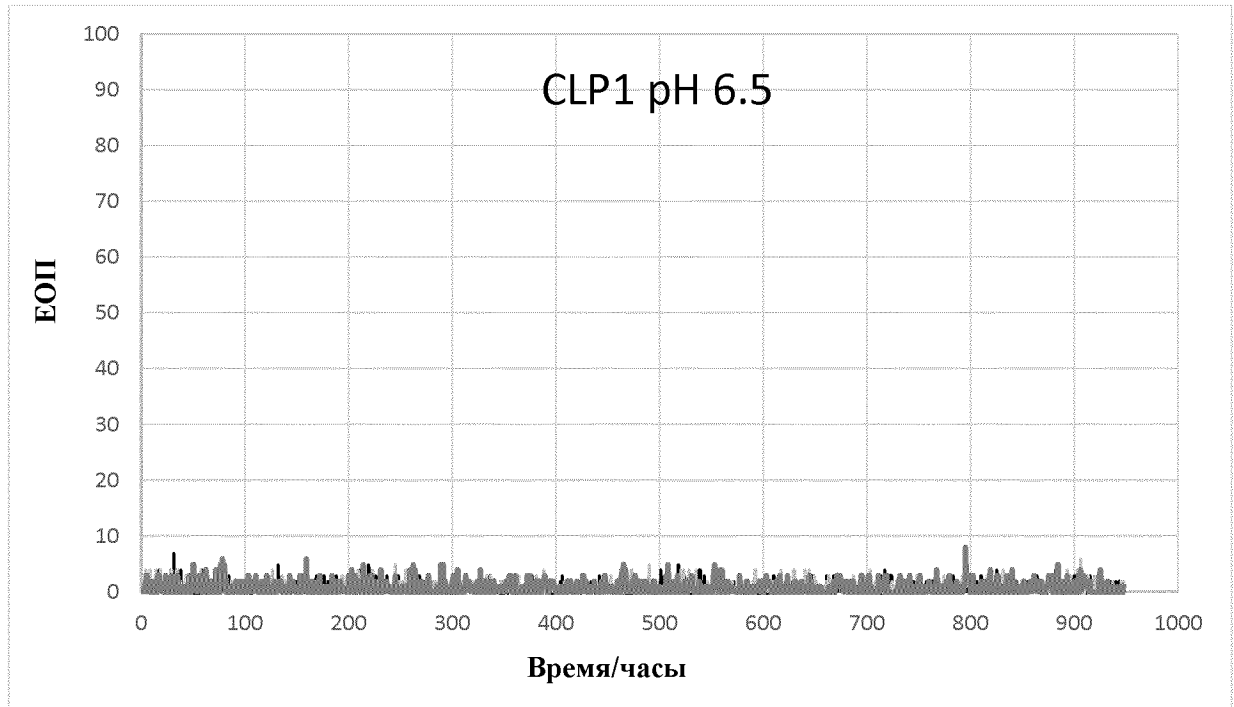
Химическая стабильность при pH 7,5



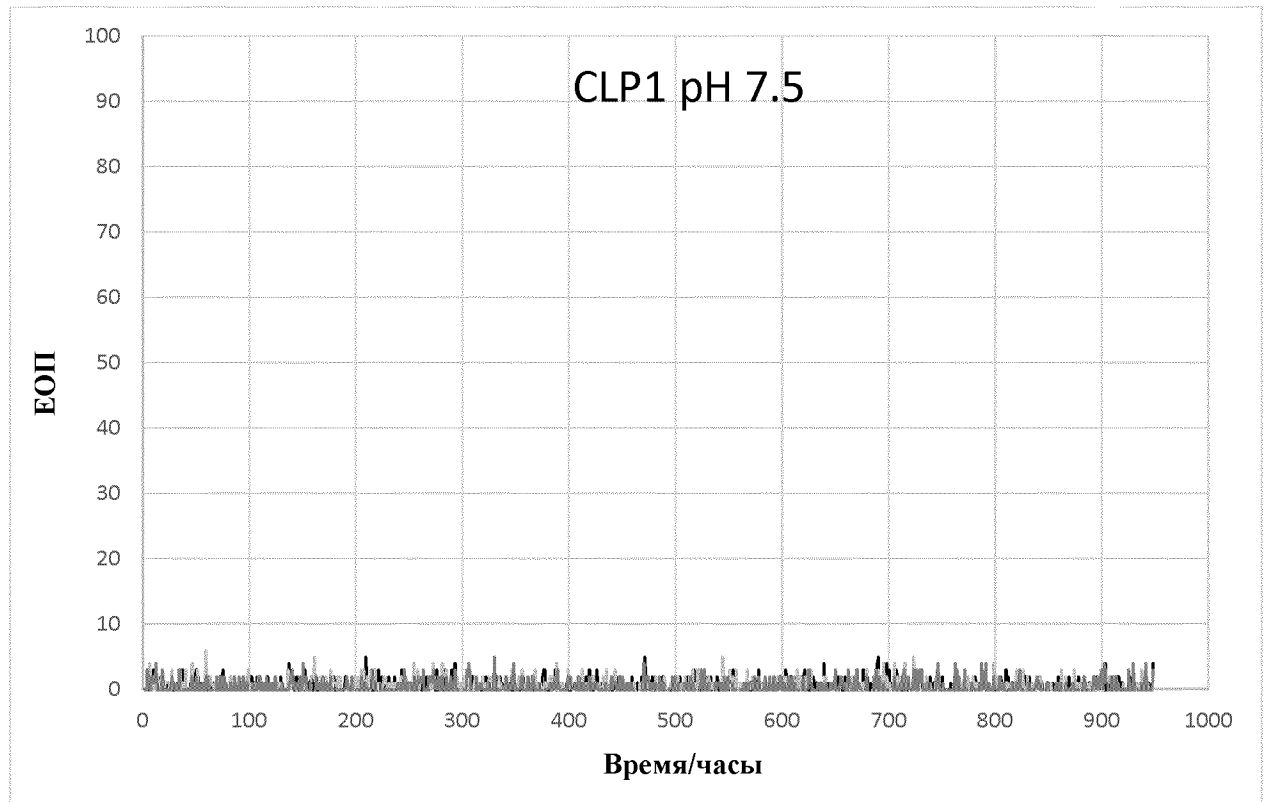
Фиг. 4D



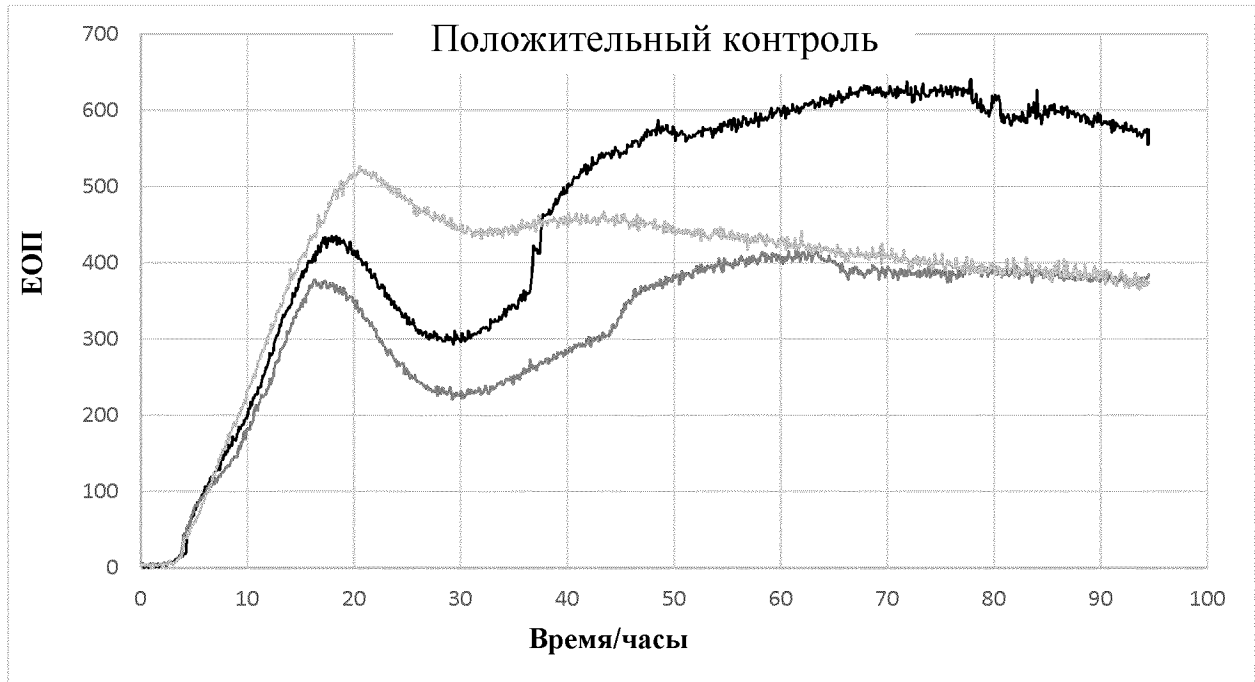
Фиг. 4Е



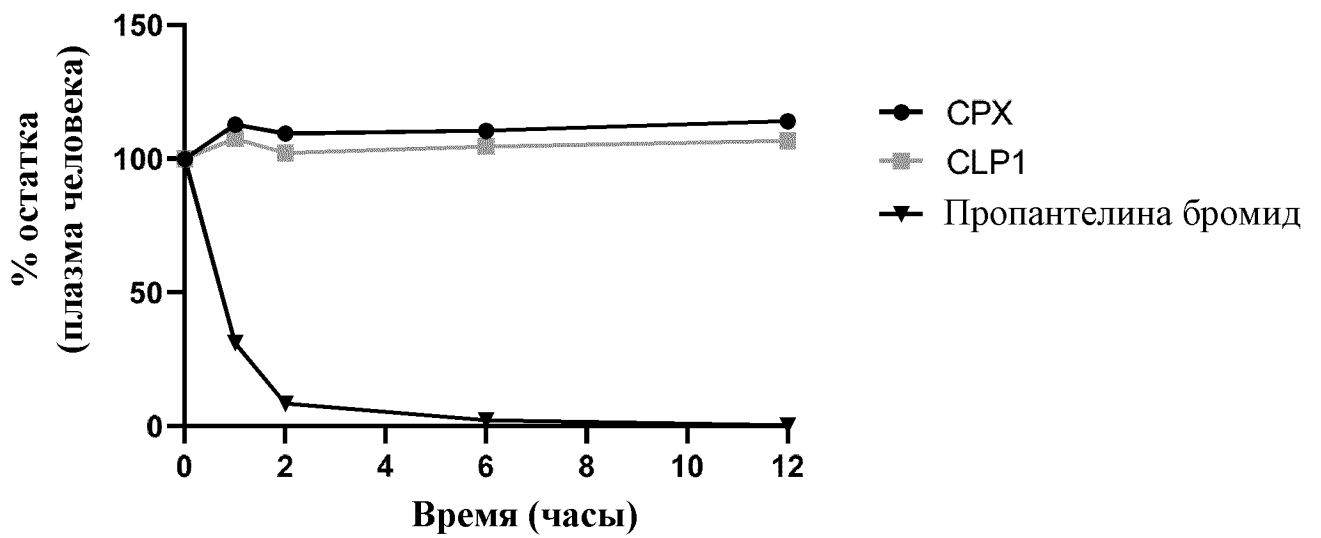
Фиг. 4F



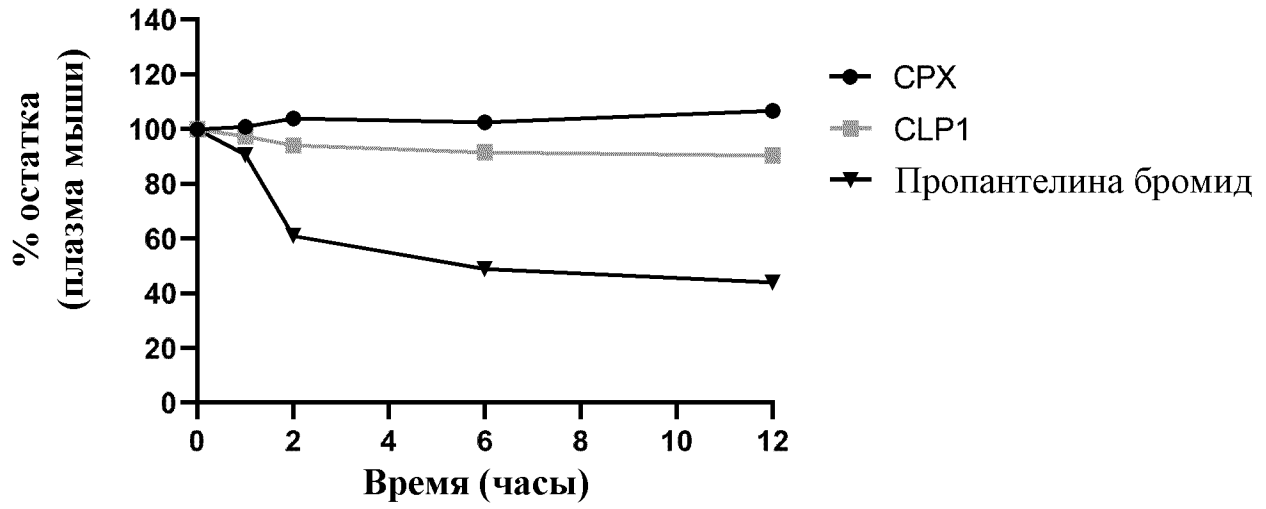
Фиг. 4G



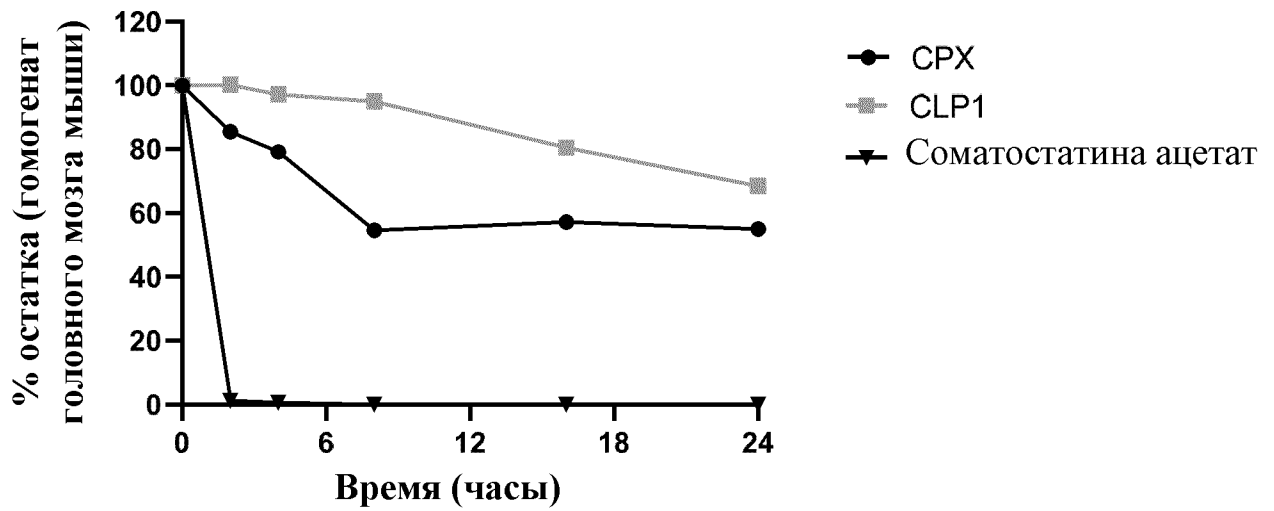
Фиг. 5А



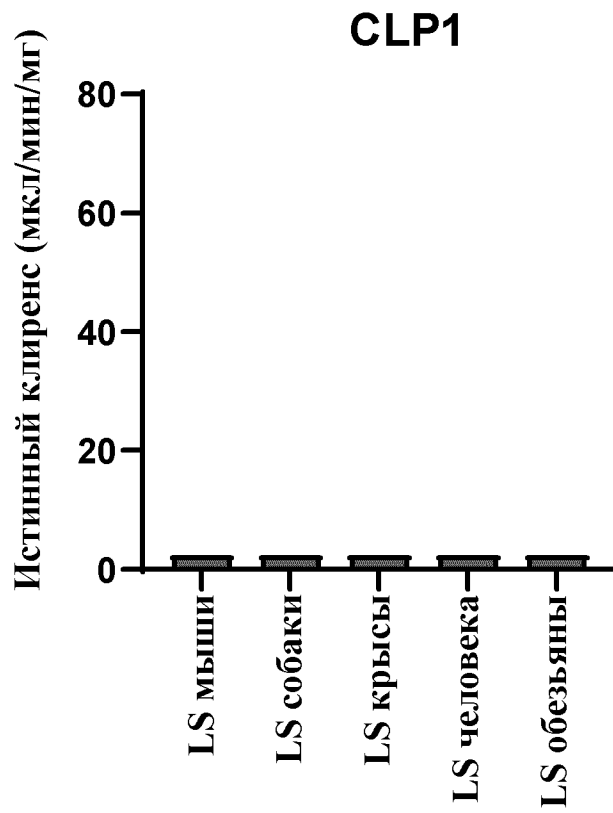
Фиг. 5В



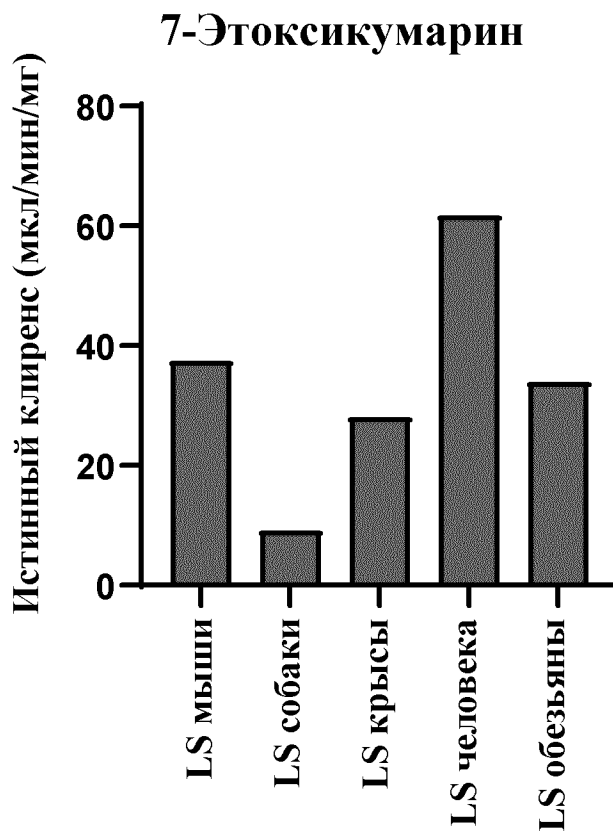
Фиг. 5С



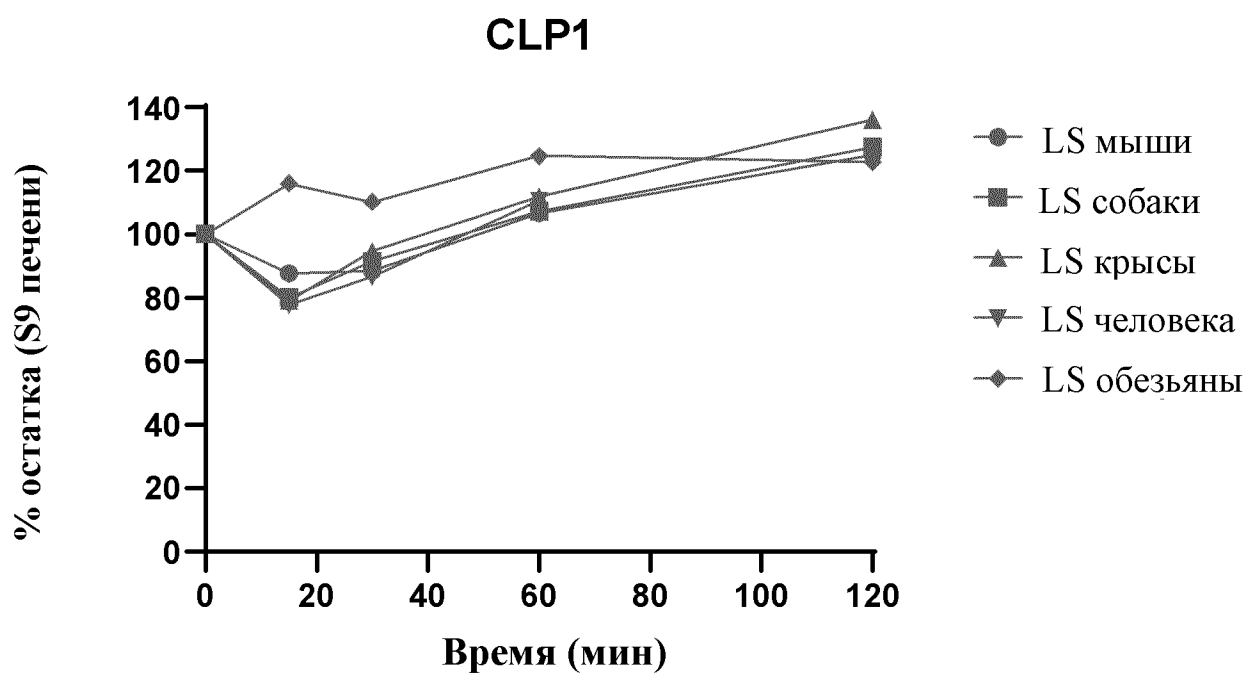
Фиг. 6А



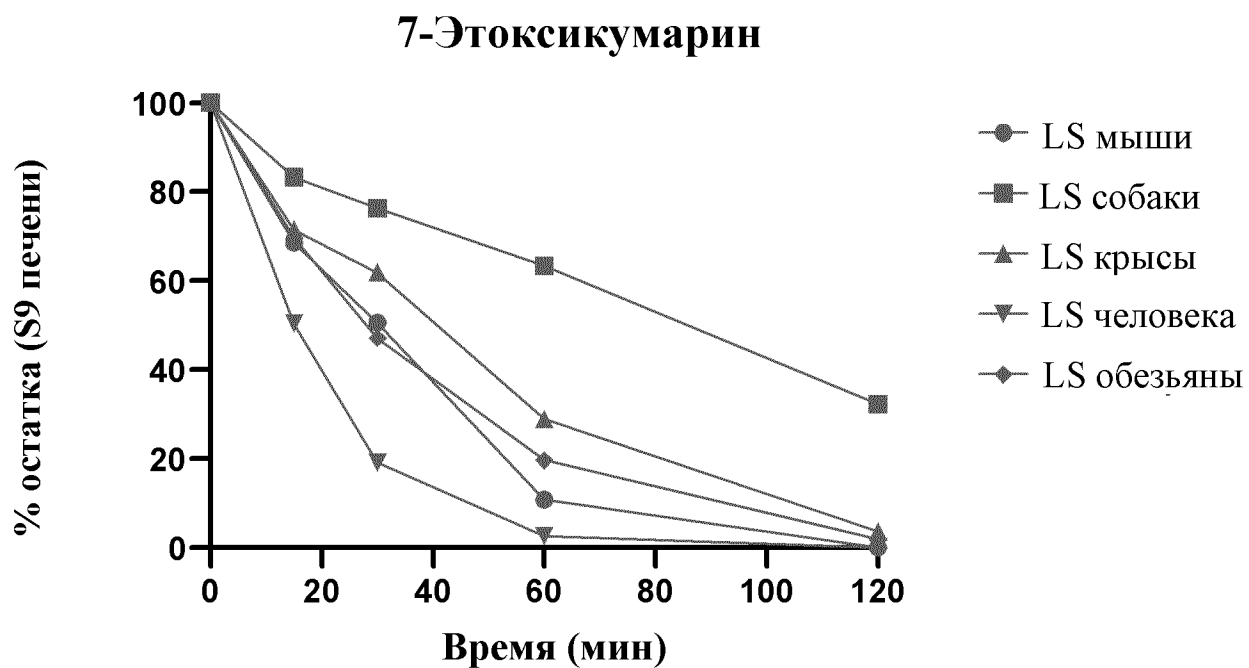
Фиг. 6В



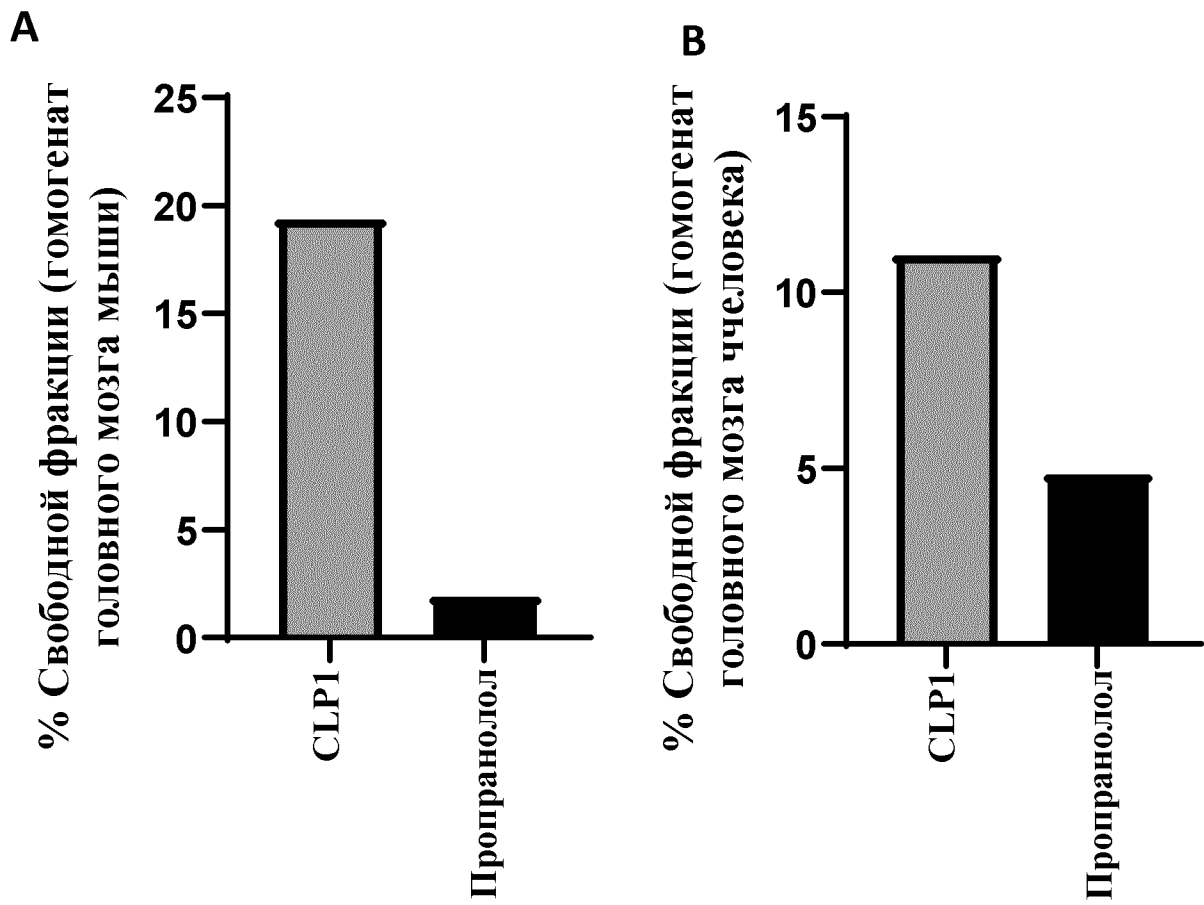
Фиг. 6С



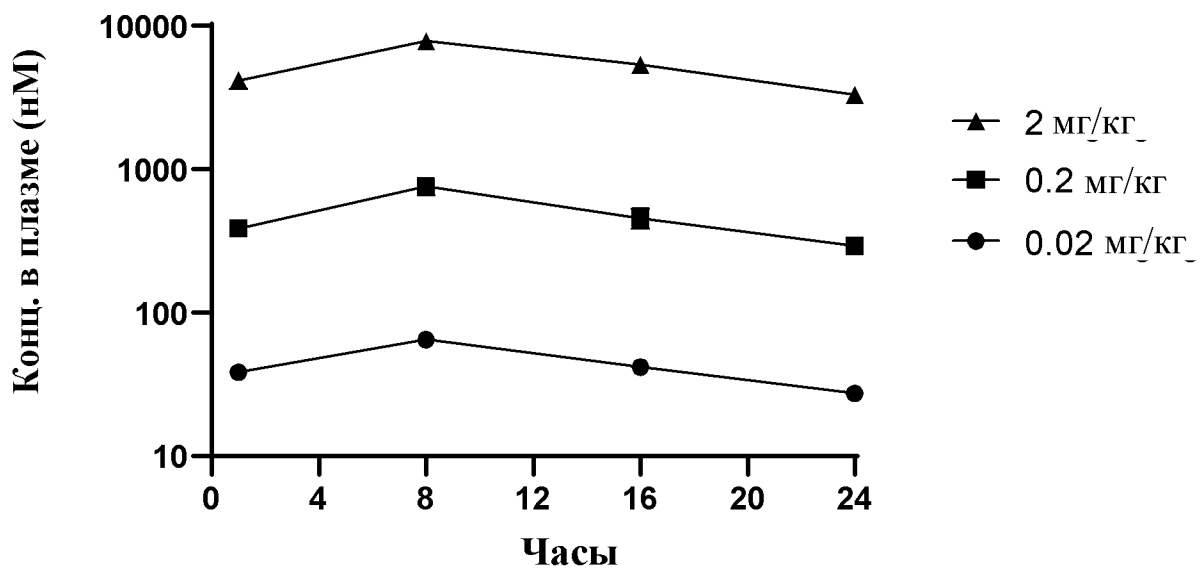
Фиг. 6D



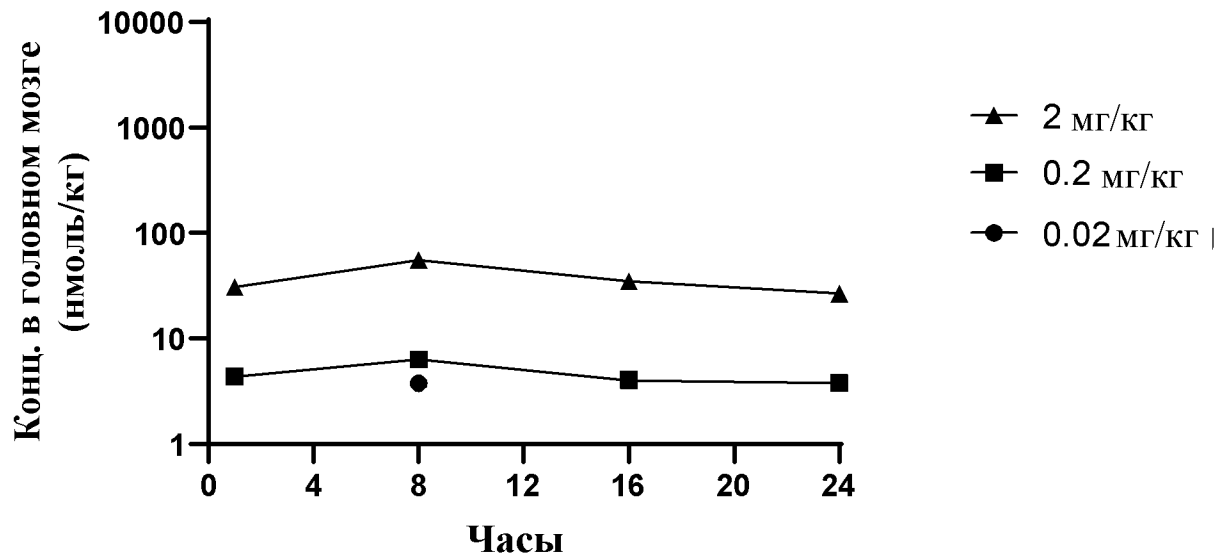
Фиг. 7А-В



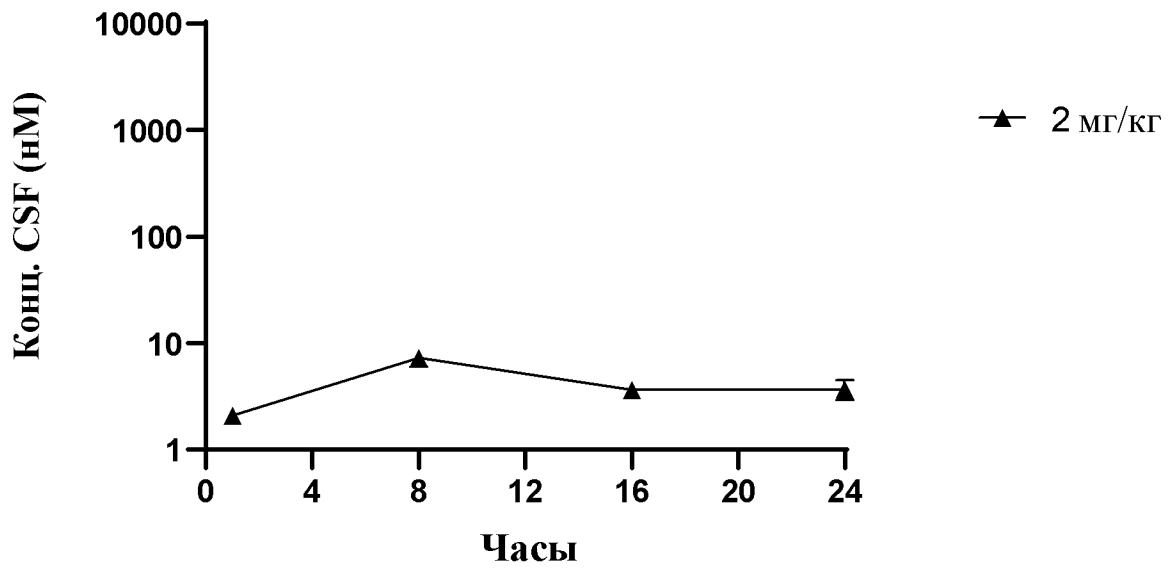
Фиг. 8А



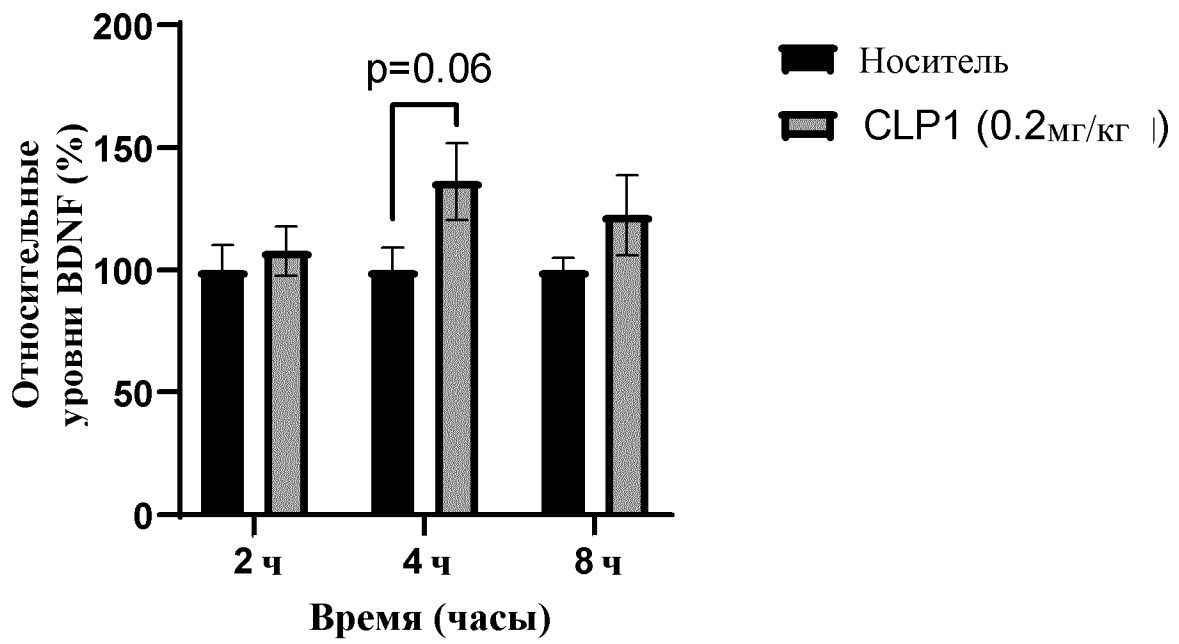
Фиг. 8В



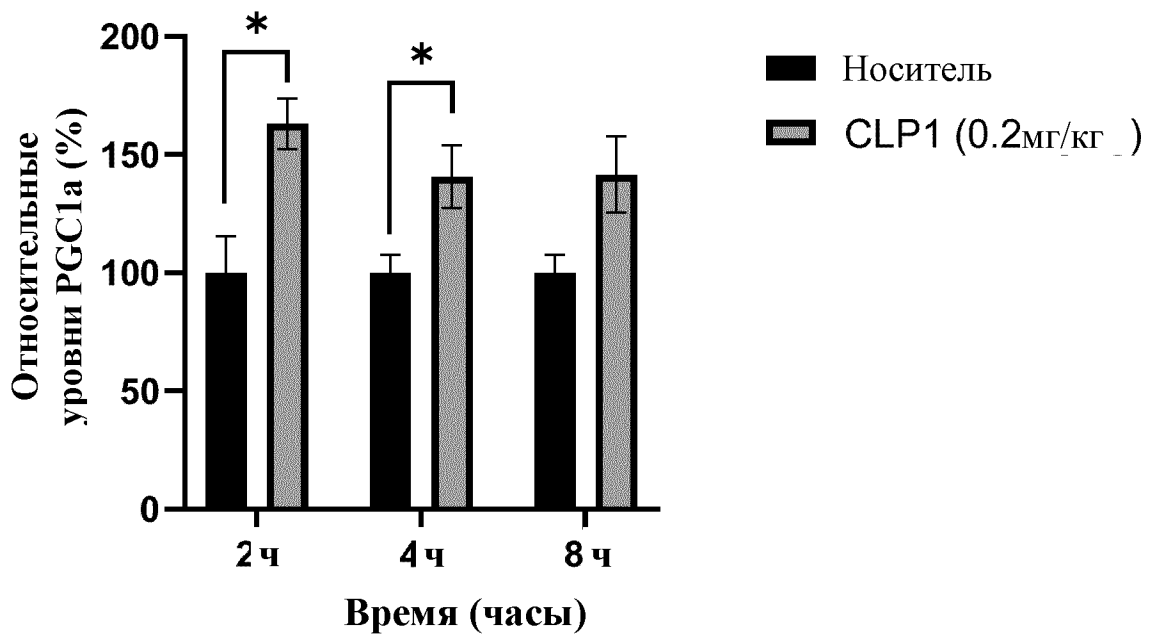
Фиг. 8С



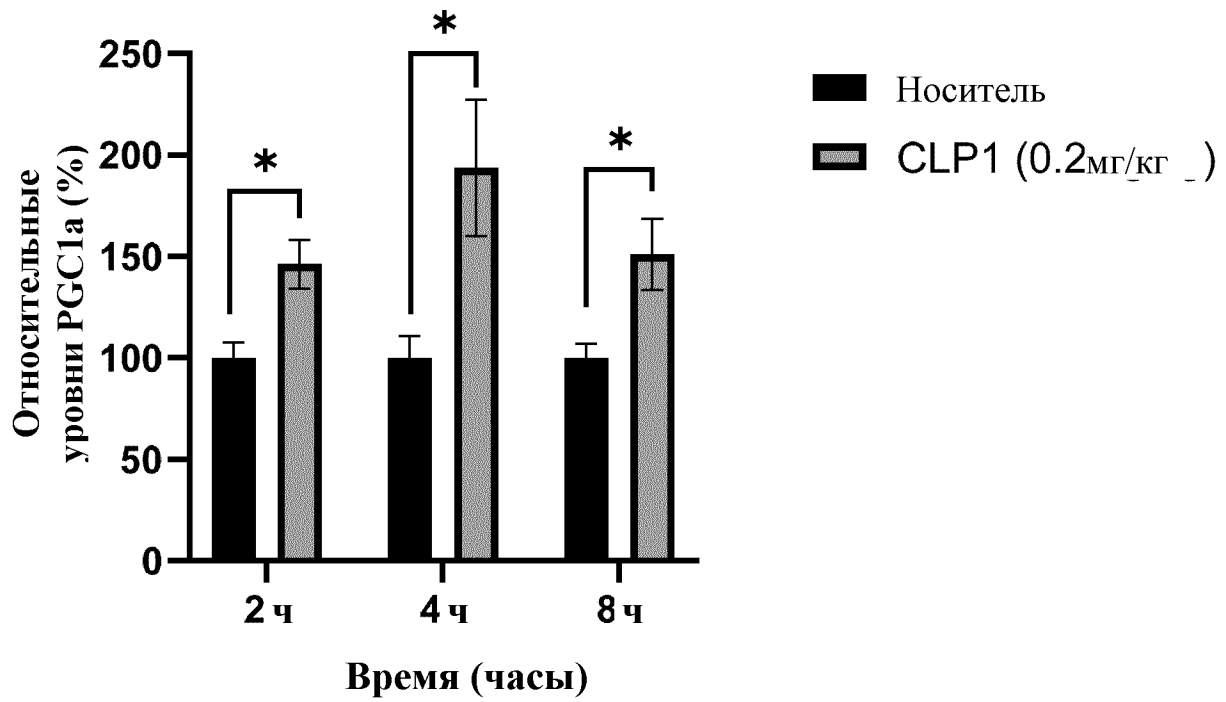
Фиг. 9А



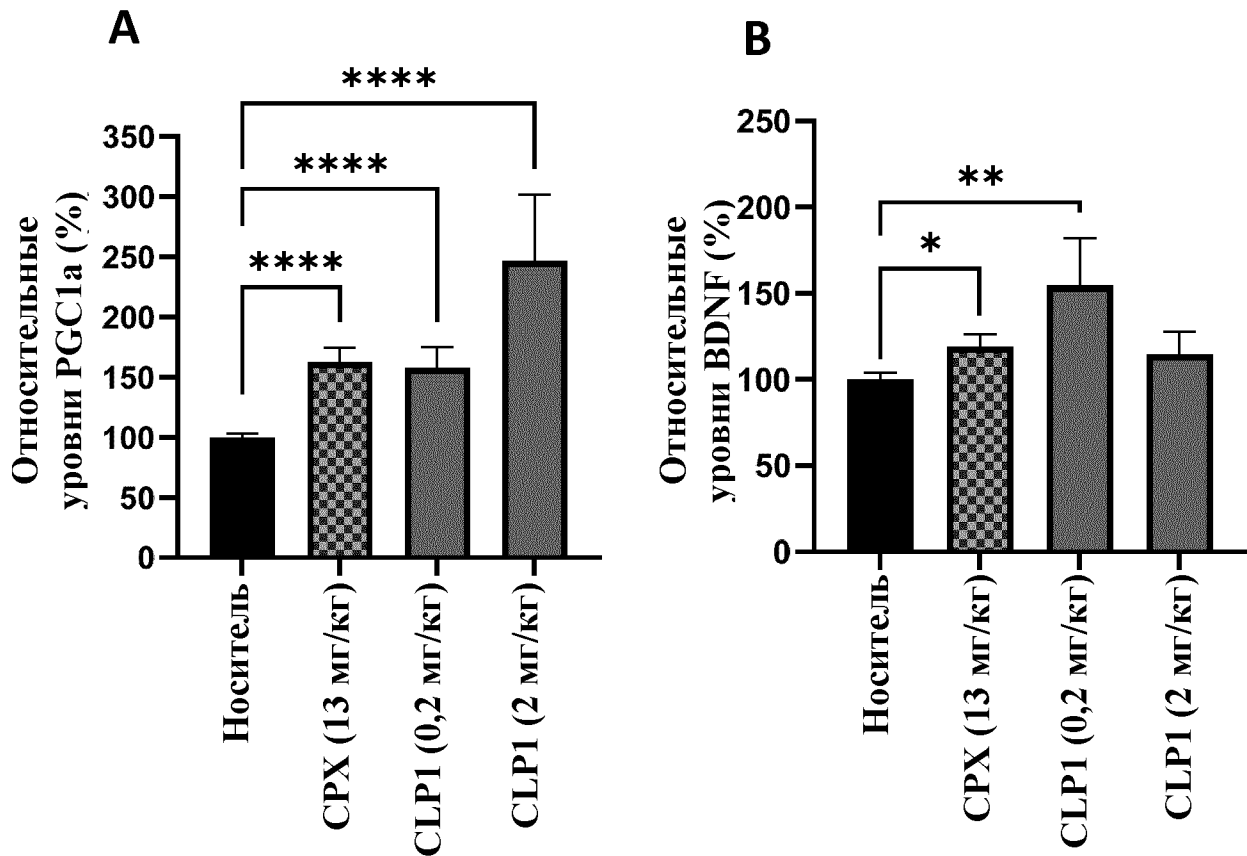
Фиг. 9В



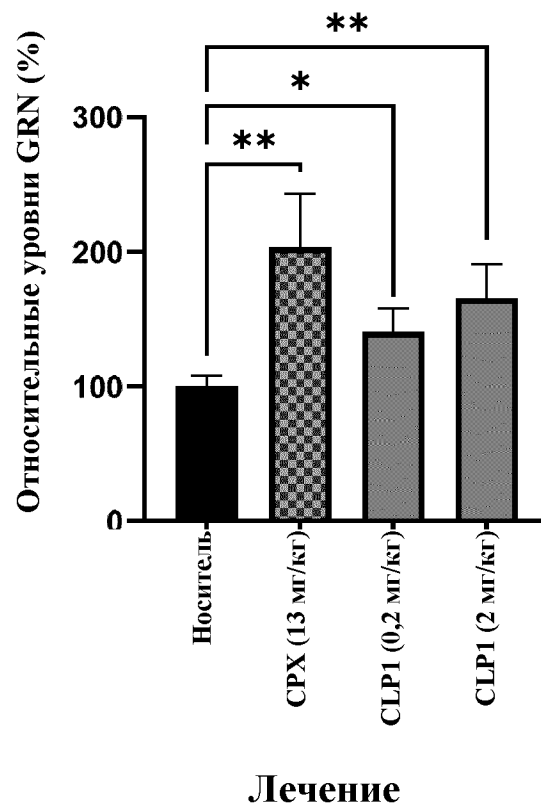
Фиг. 9С



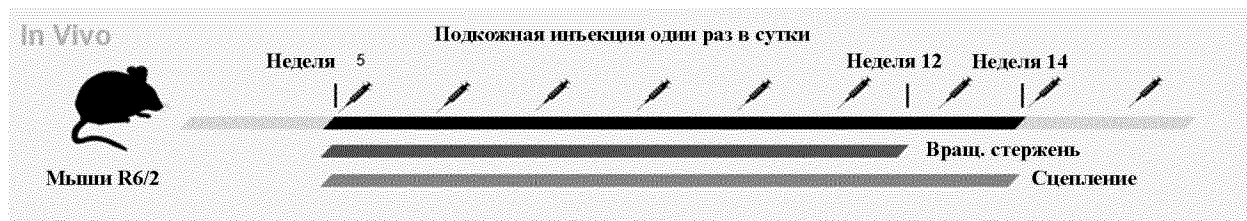
Фиг. 10А-В



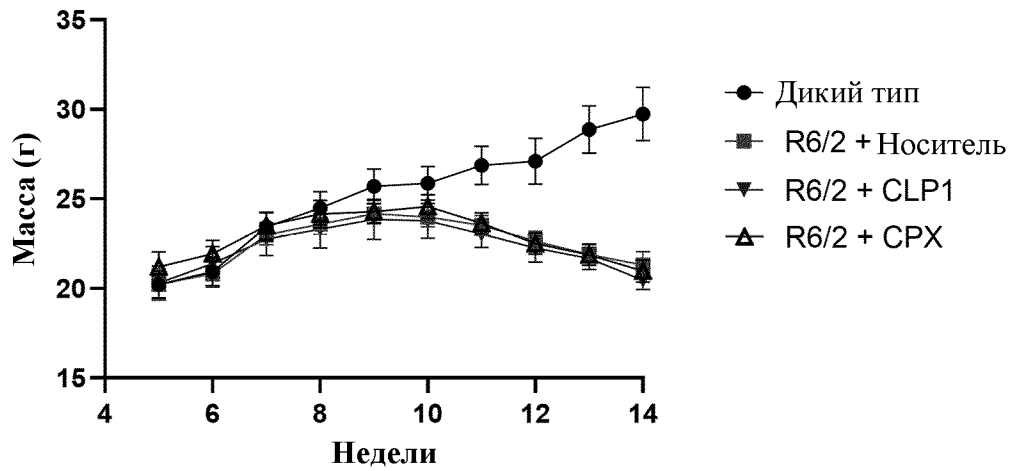
Фиг. 10С



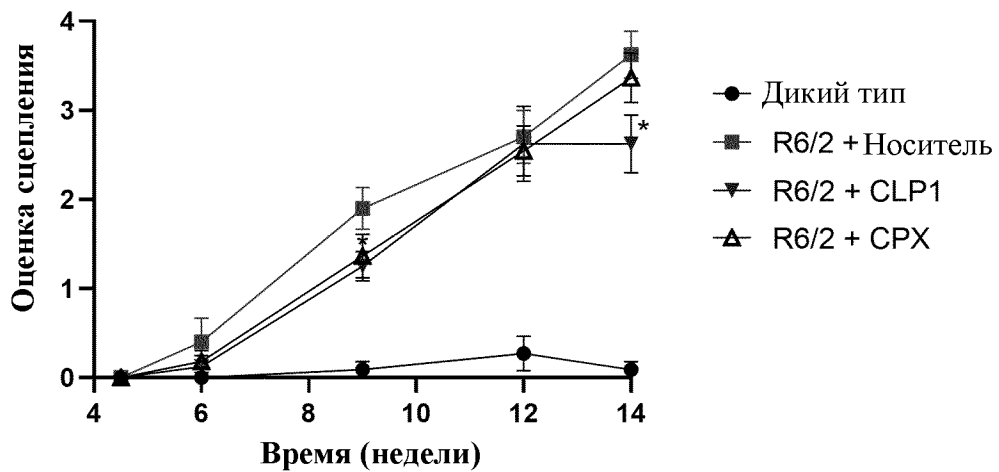
Фиг. 11А



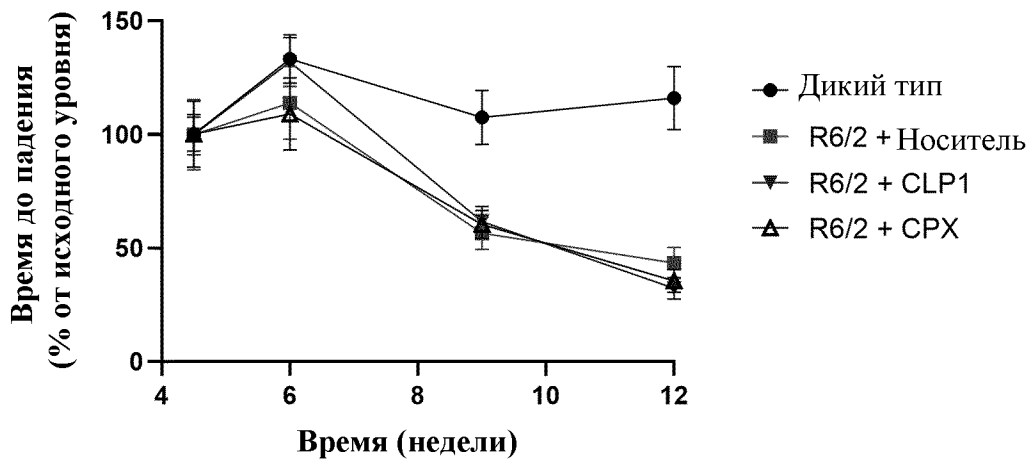
Фиг. 11В



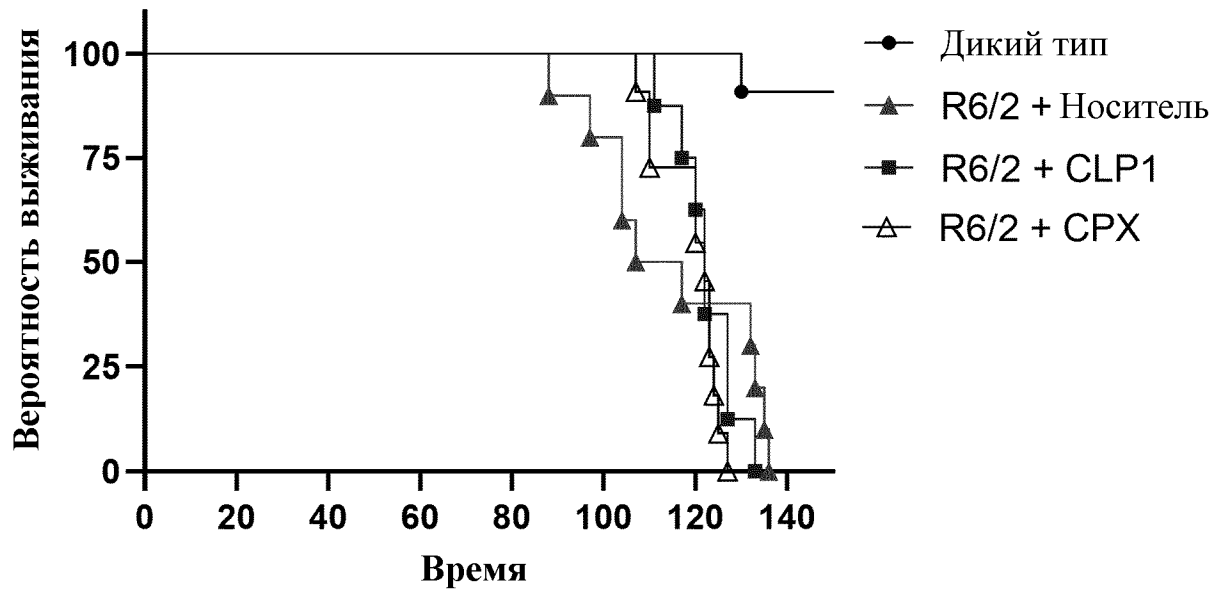
Фиг. 11С



Фиг. 11D



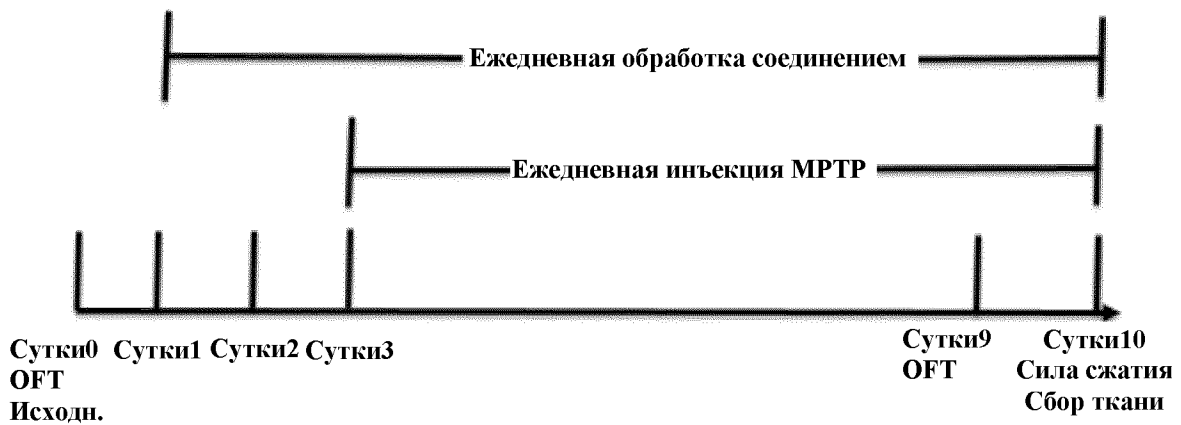
Фиг. 11Е



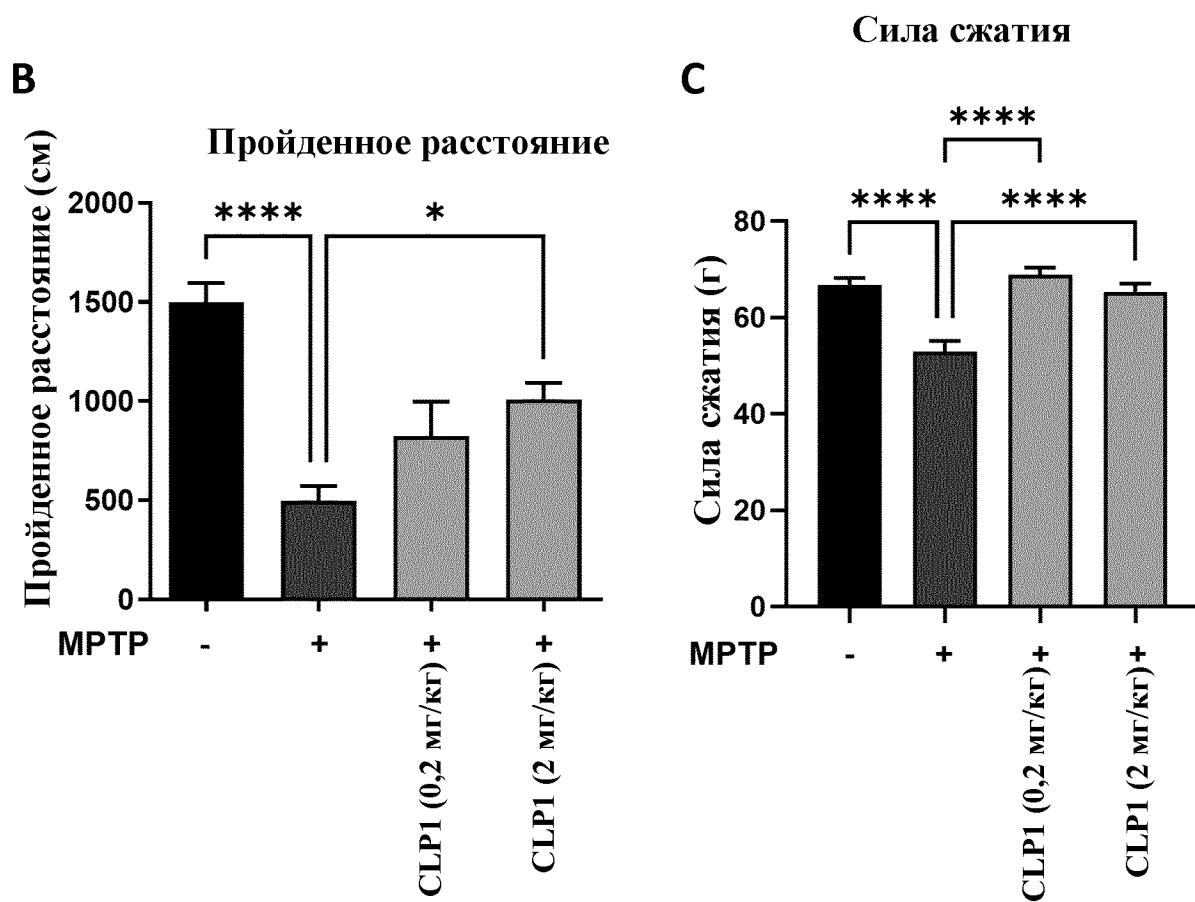
Фиг. 11F

Дикий тип	R6/2 +Носитель	R6/2 +CLP1	R6/2 +CPX
Среднее выживание (сутки)	115	122	118
Медианное выживание (сутки)	109	122	122

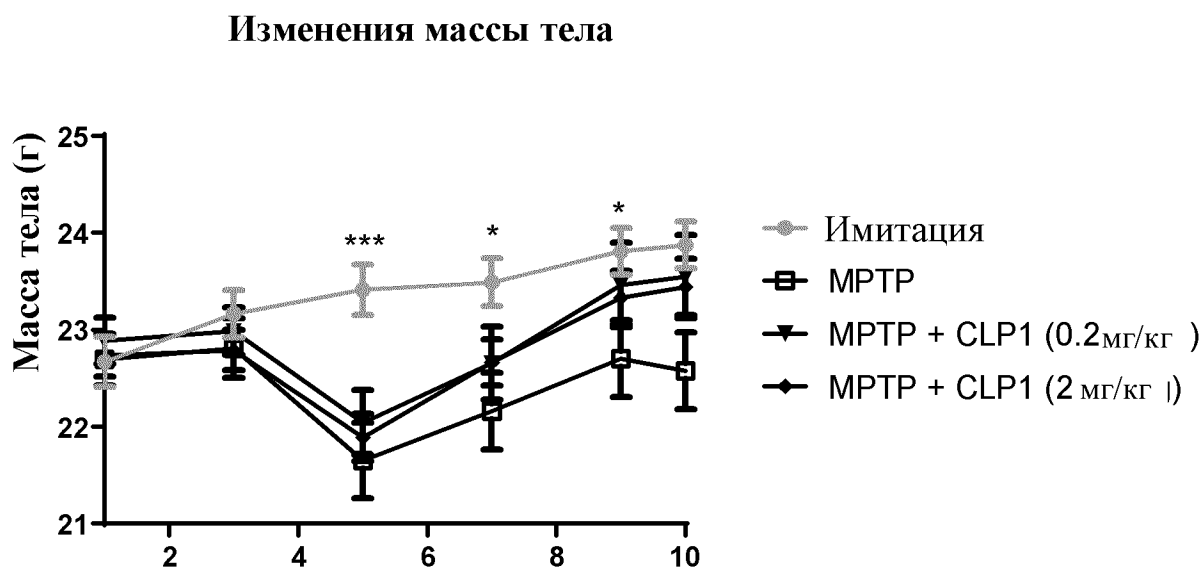
Фиг. 12А



Фиг. 12В-С

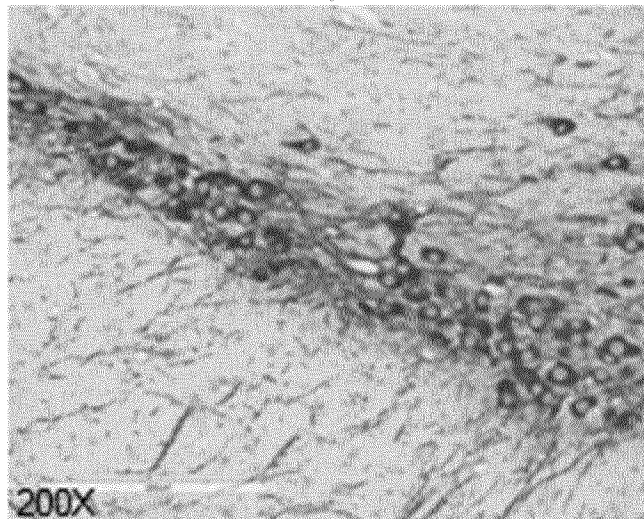
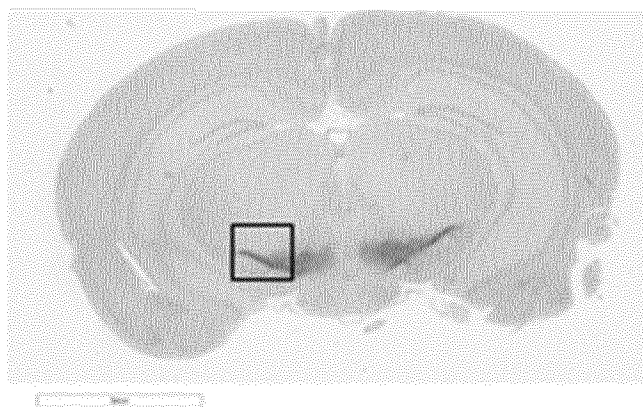


Фиг. 12D

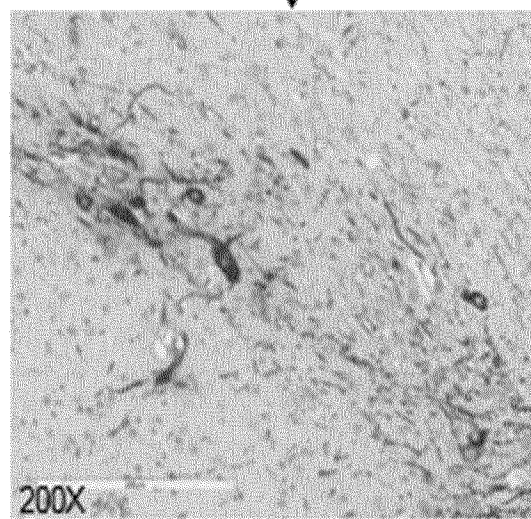
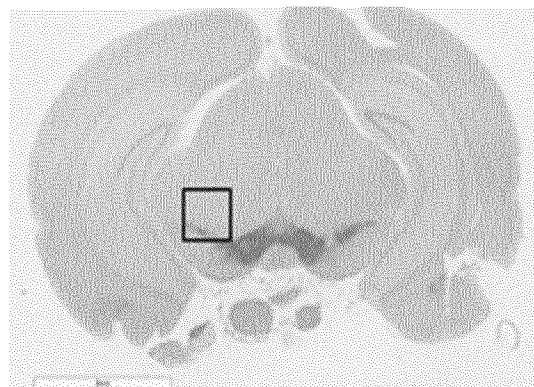


Фиг. 13А

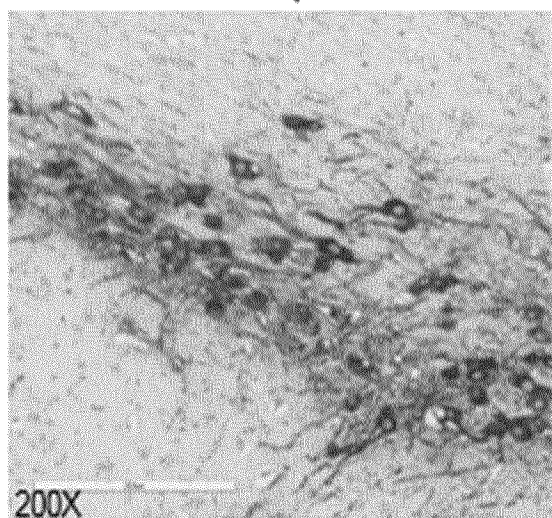
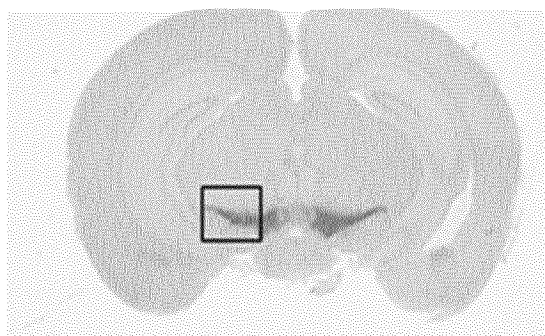
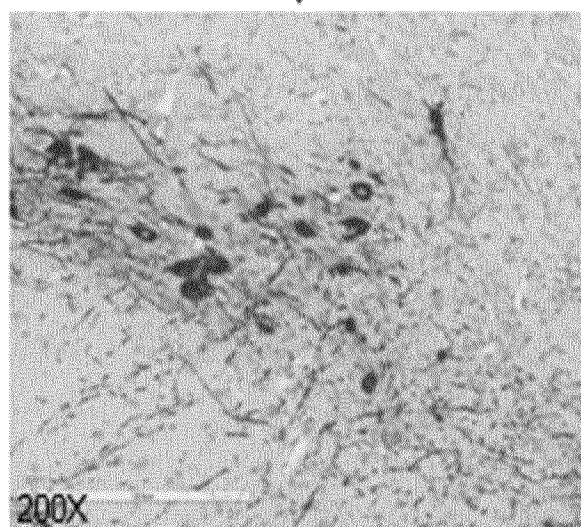
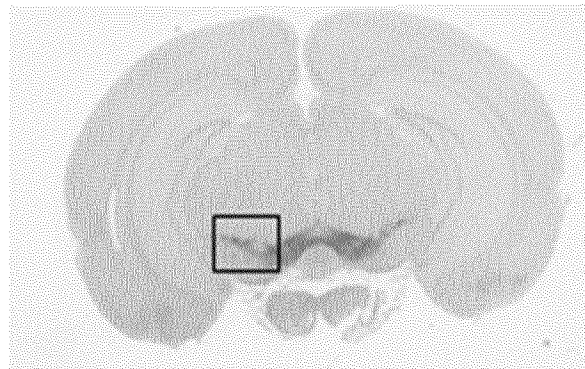
Имитация



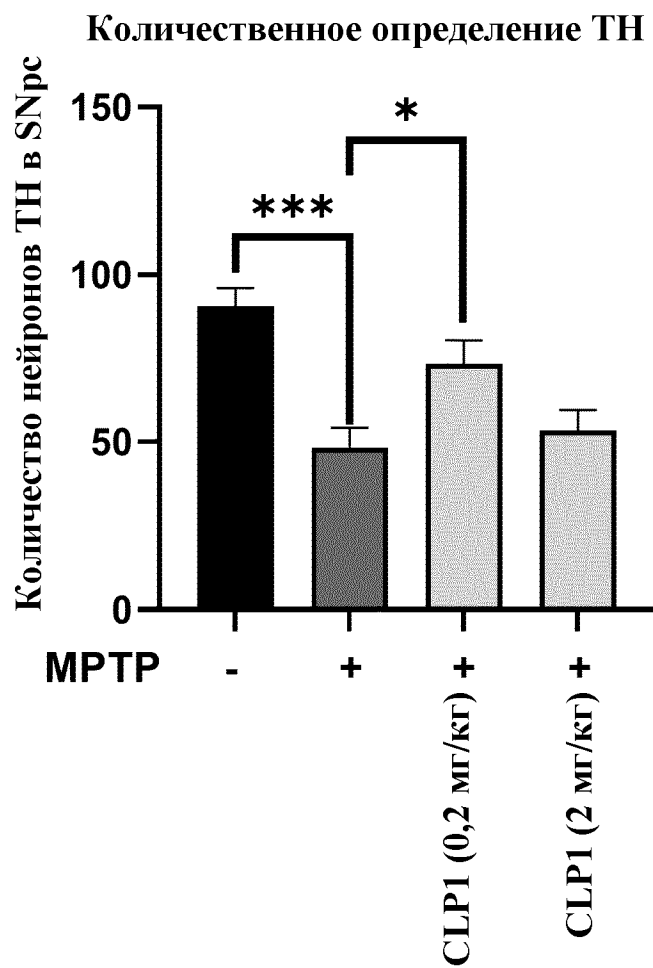
МРТР



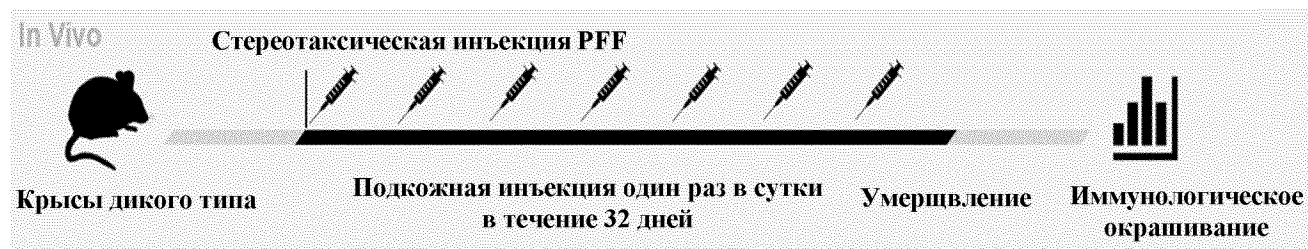
Фиг. 13А продолж.

МРТР + 0.2_{мг/кг}МРТР + 2_{мг/кг}

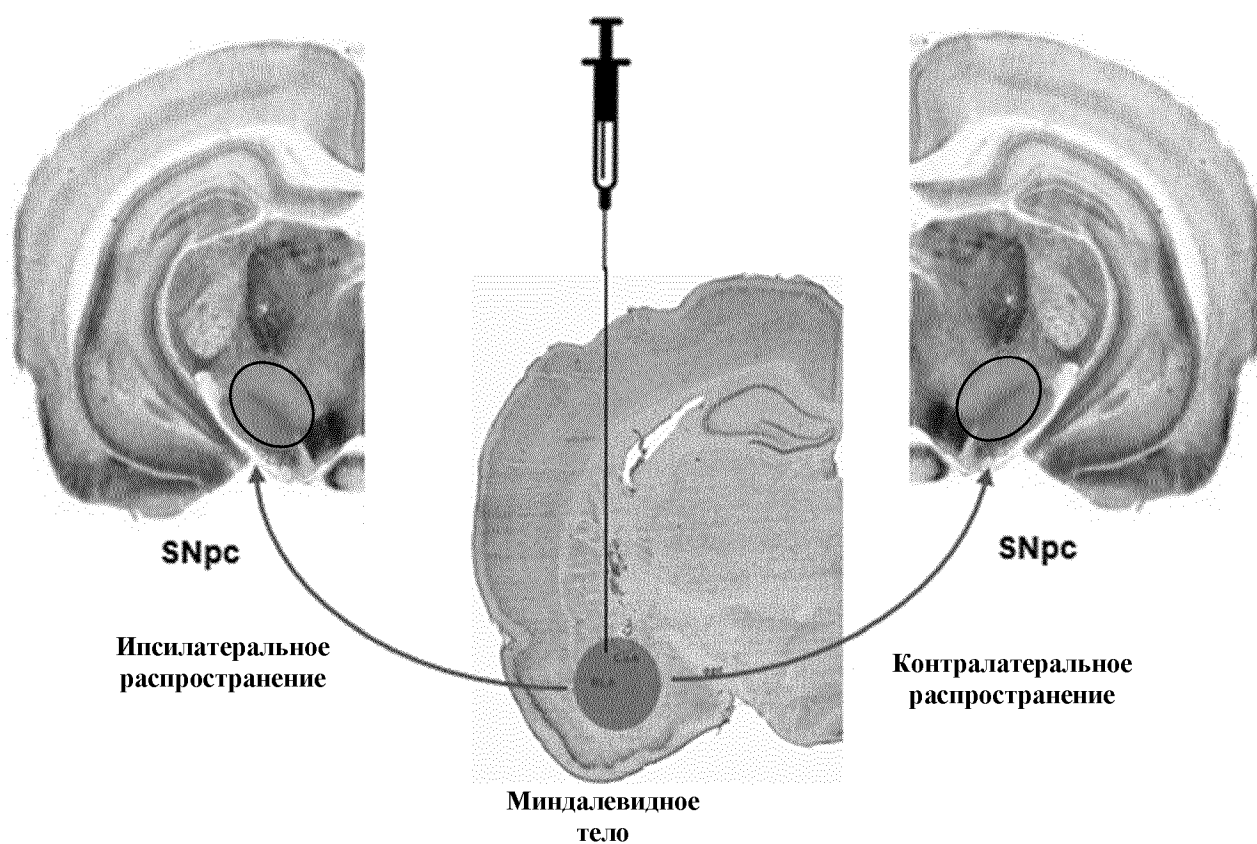
Фиг. 13В



Фиг. 14А



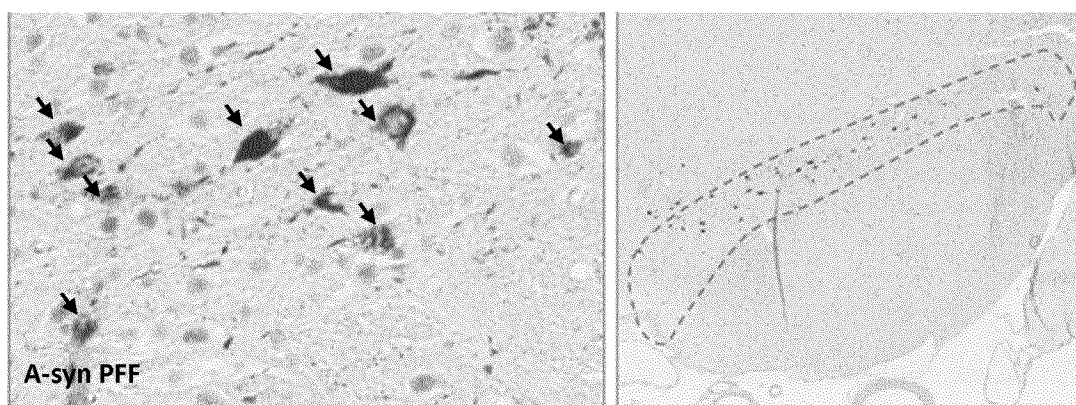
Фиг. 14В



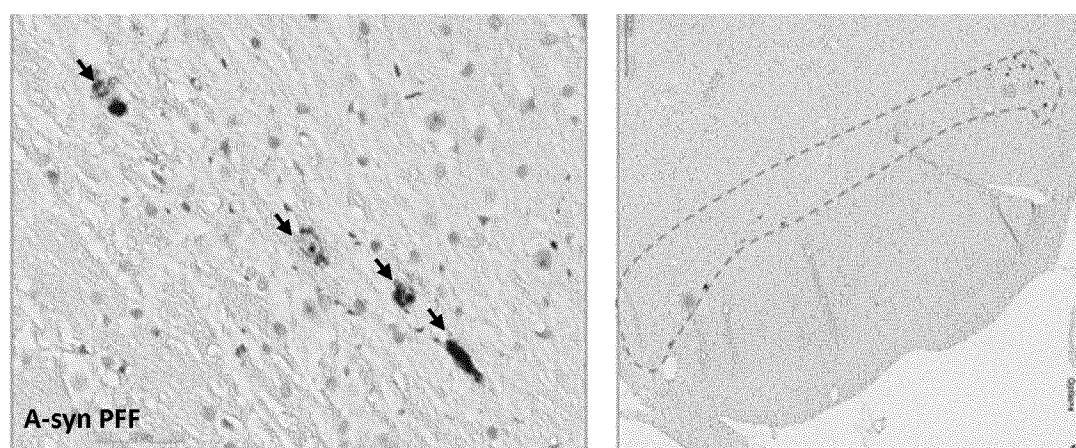
Фиг. 14С

Черная субстанция

Без обработки



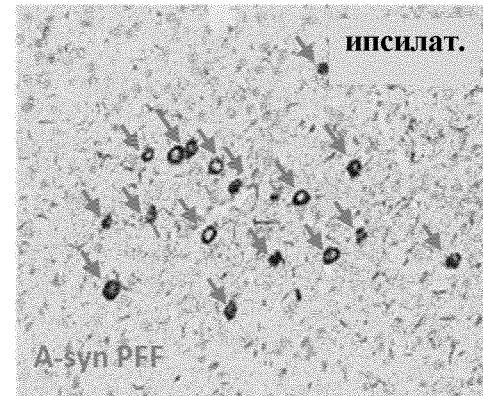
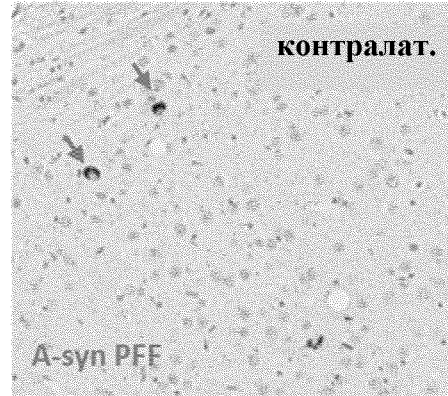
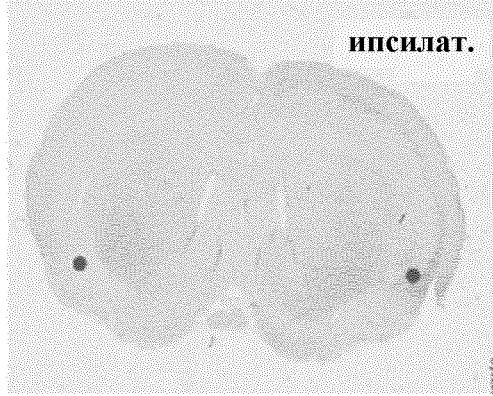
CLP1 (0.2 мг/кг)



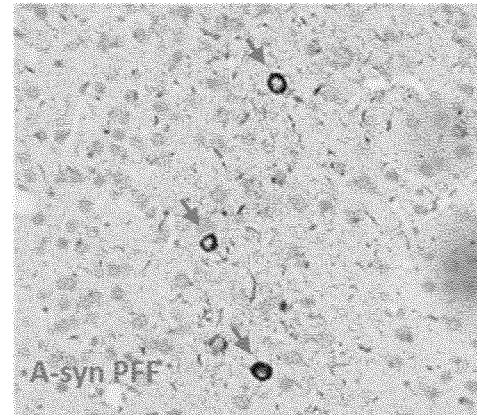
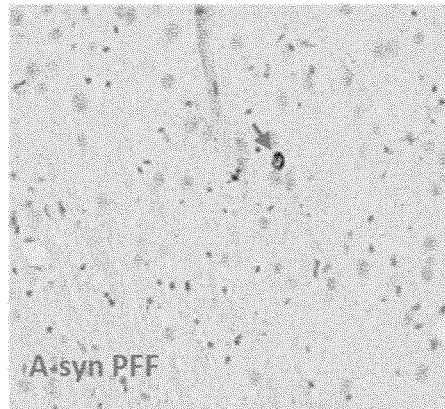
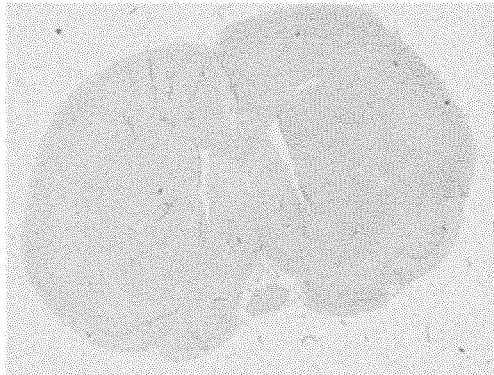
Фиг. 14D

Миндалевидное тело

Без лечения

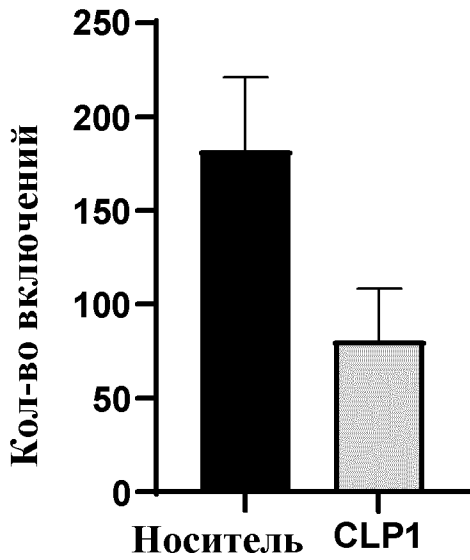


SLP1 (0,2 мг/кг)

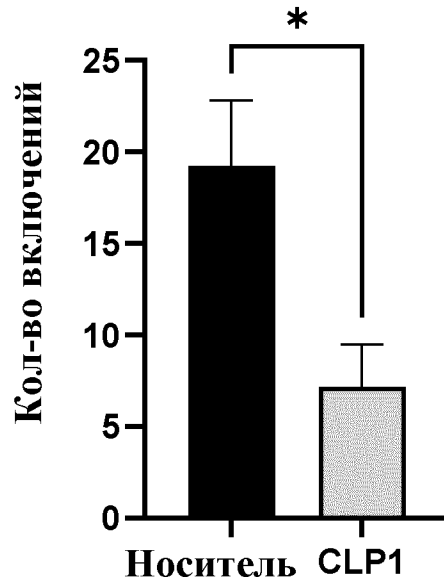


Фиг. 14Е

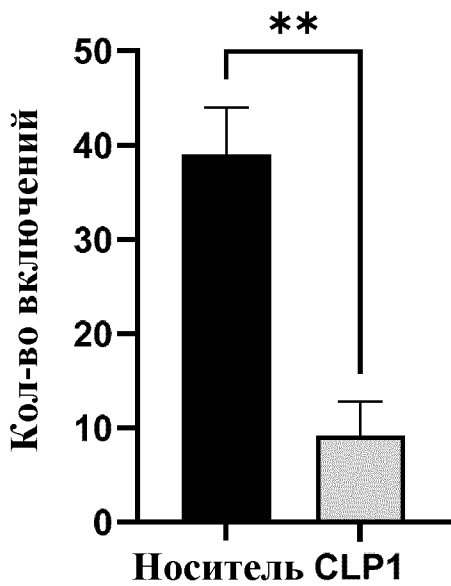
Миндалевидное тело,
ипсилатеральное распространение



SN, ипсилатеральное
распространение

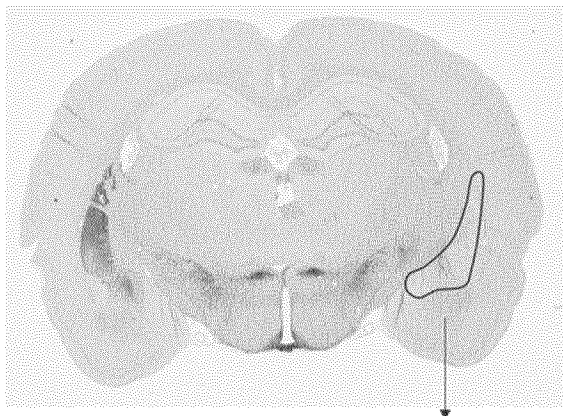


Миндалевидное тело,
контралатеральное распространение



Фиг. 14F

Без обработки



Снижение количество дофаминергических нейронов

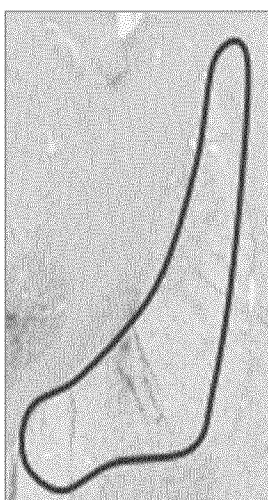
CLP1 (0.2мг/кг)



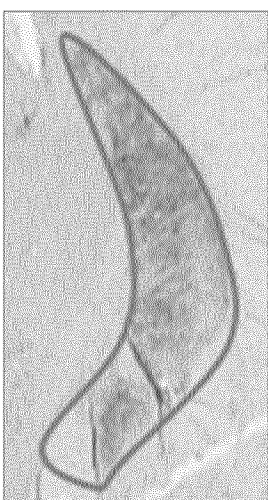
Сохранение дофаминергических нейронов

Ипсилатеральное распространение

Без лечения



CLP 1 (0,2 мг/кг)



Контралатеральное распространение

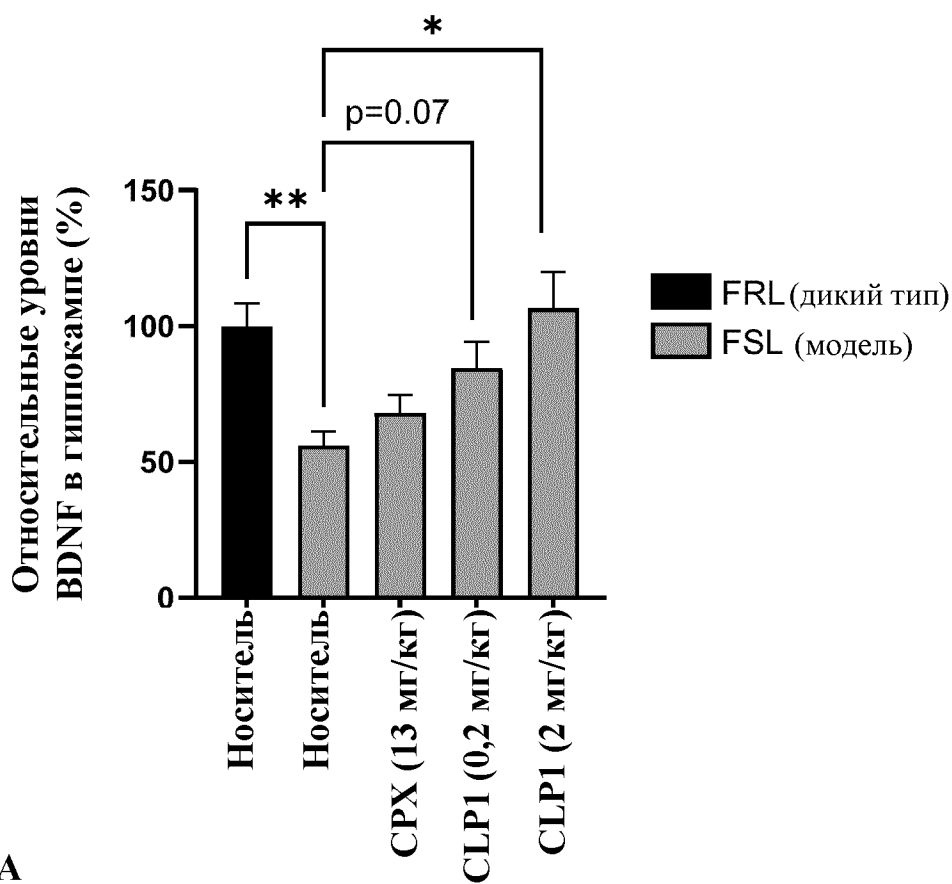
Без лечения



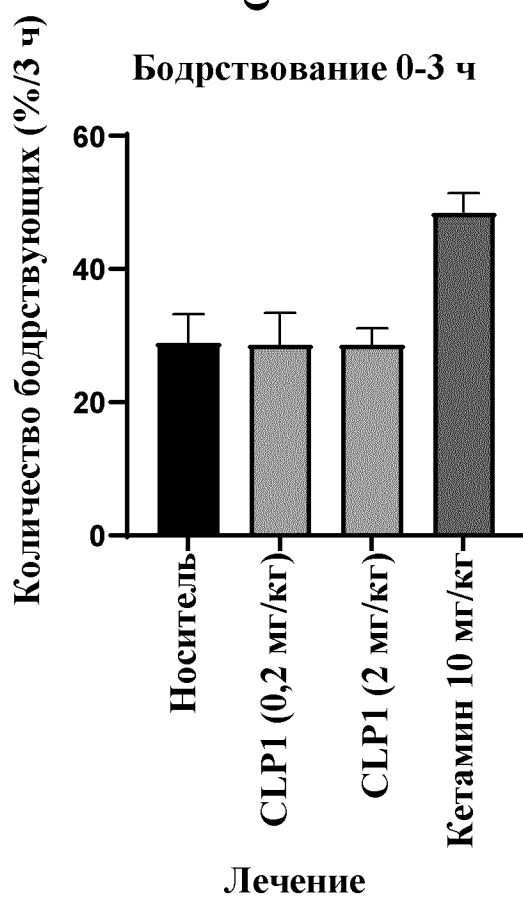
CLP 1 (0,2 мг/кг)



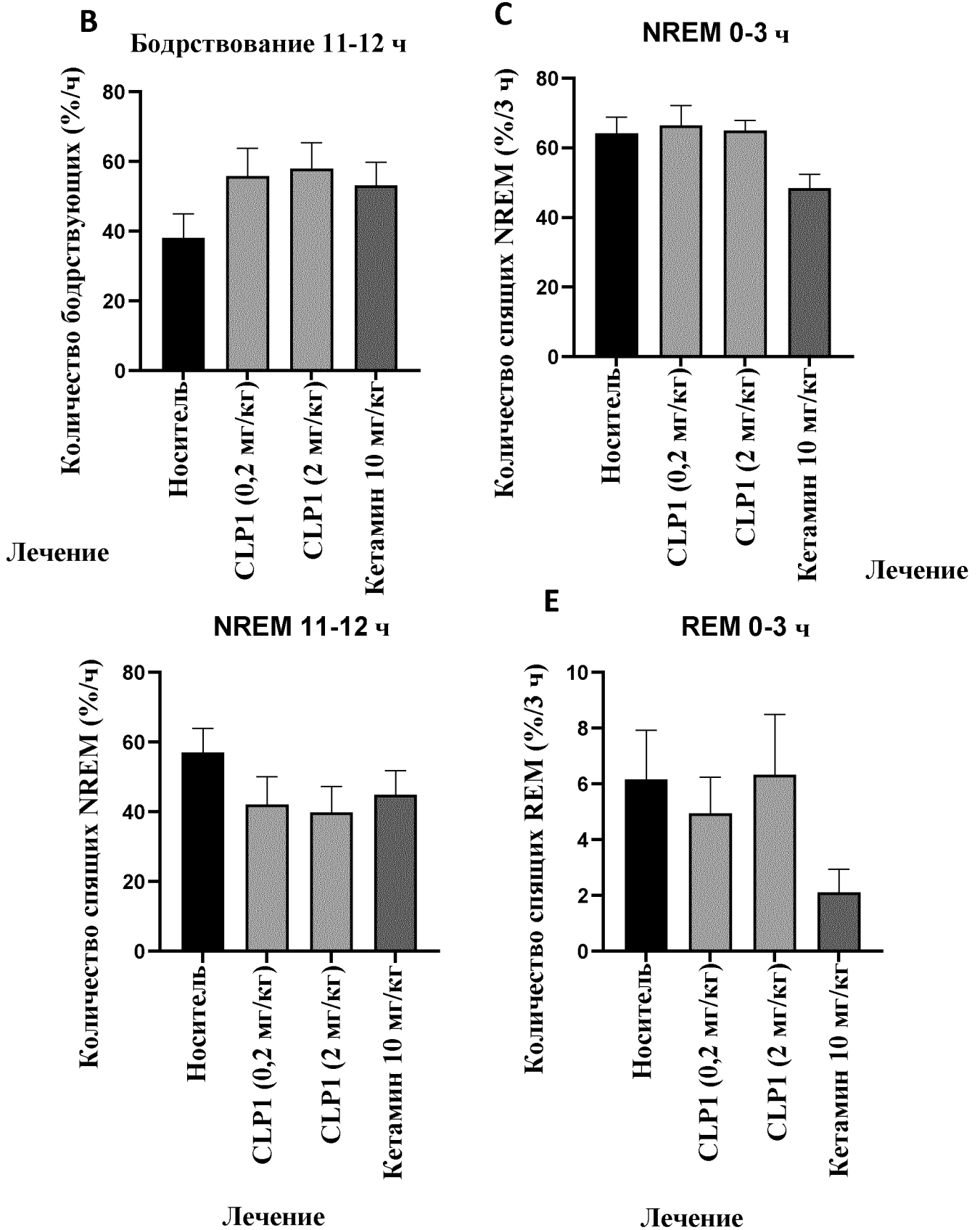
Фиг. 15



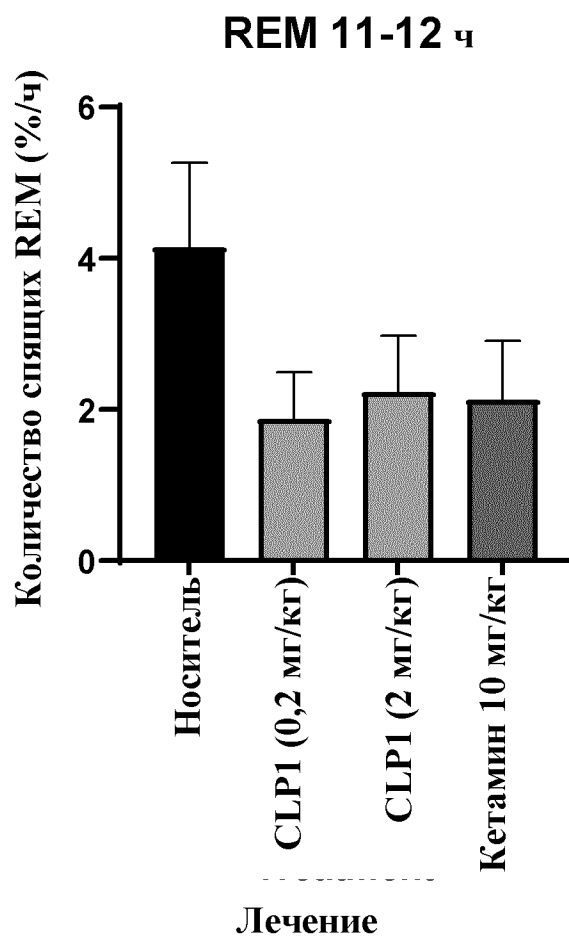
Фиг. 16А



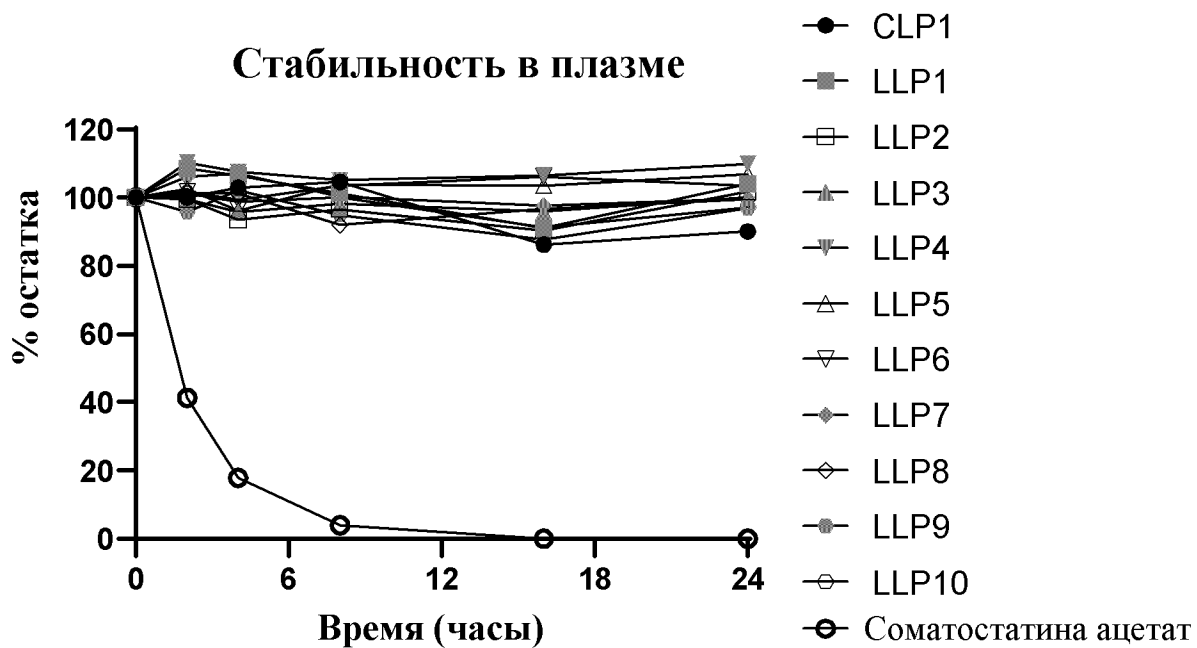
Фиг. 16В-Е



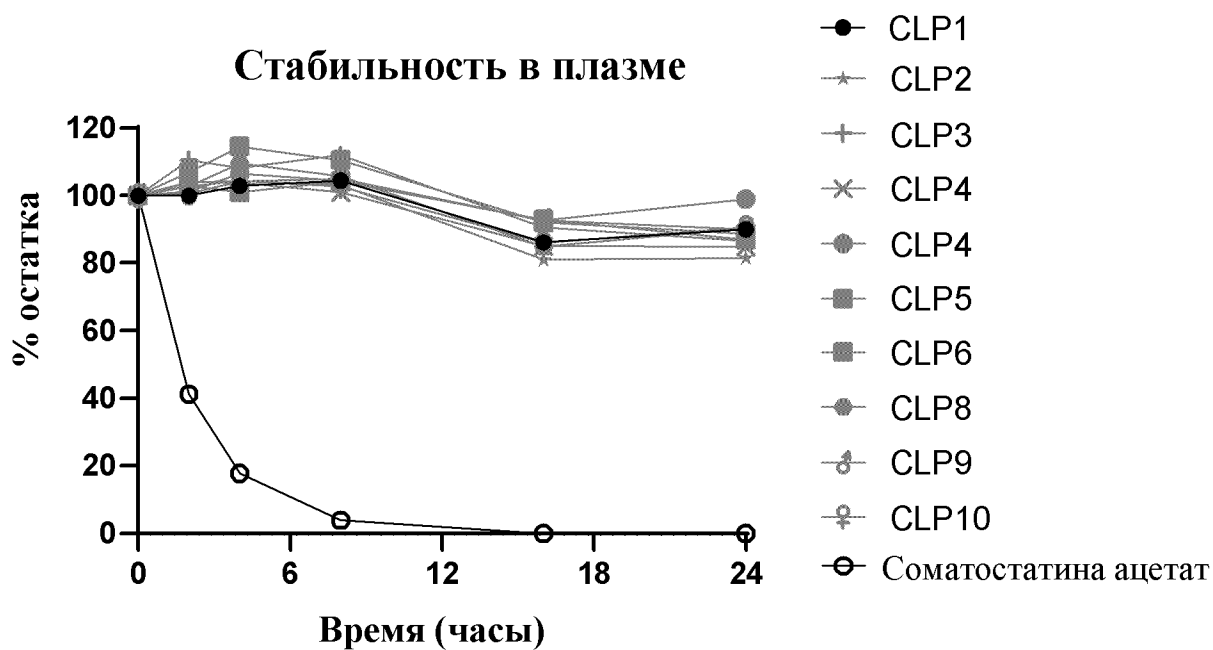
Фиг. 16F



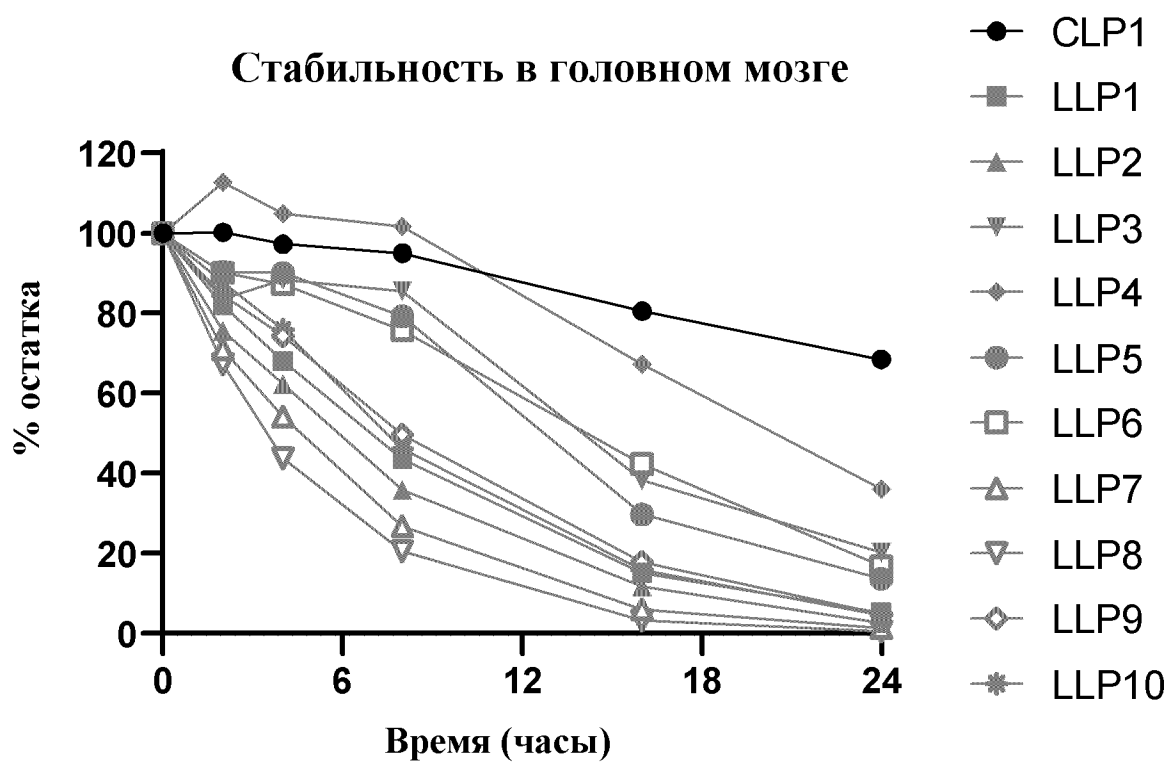
Фиг. 17А



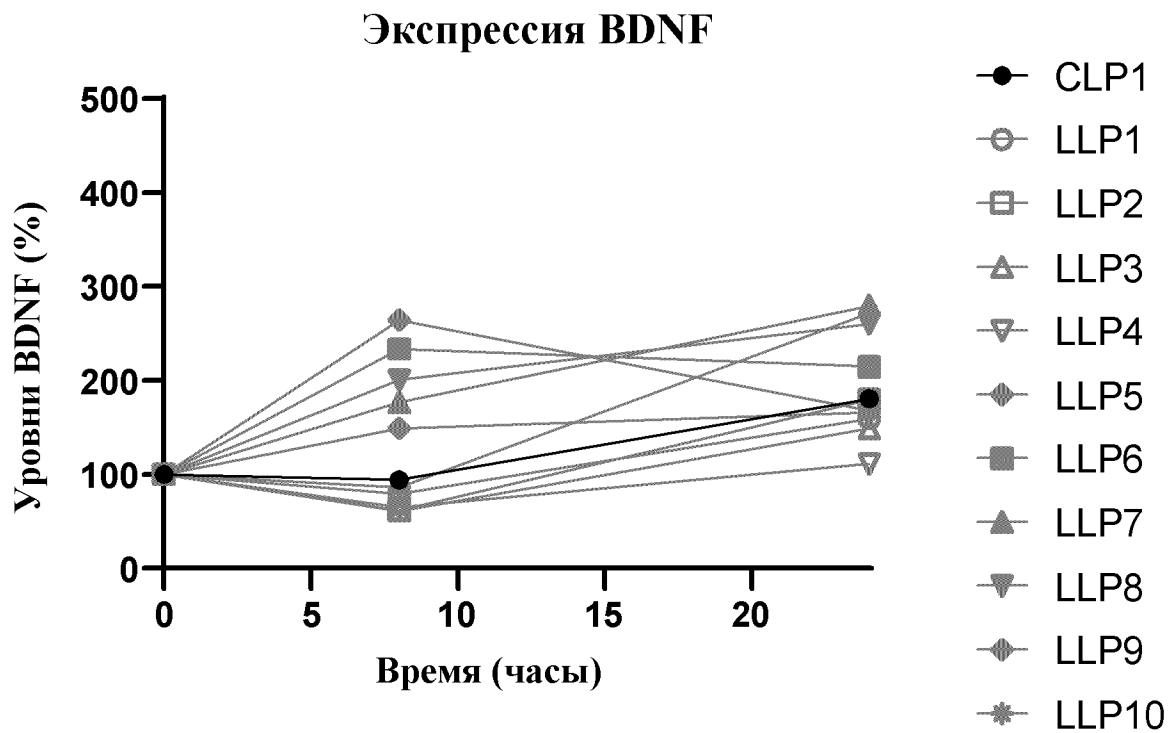
Фиг. 17В



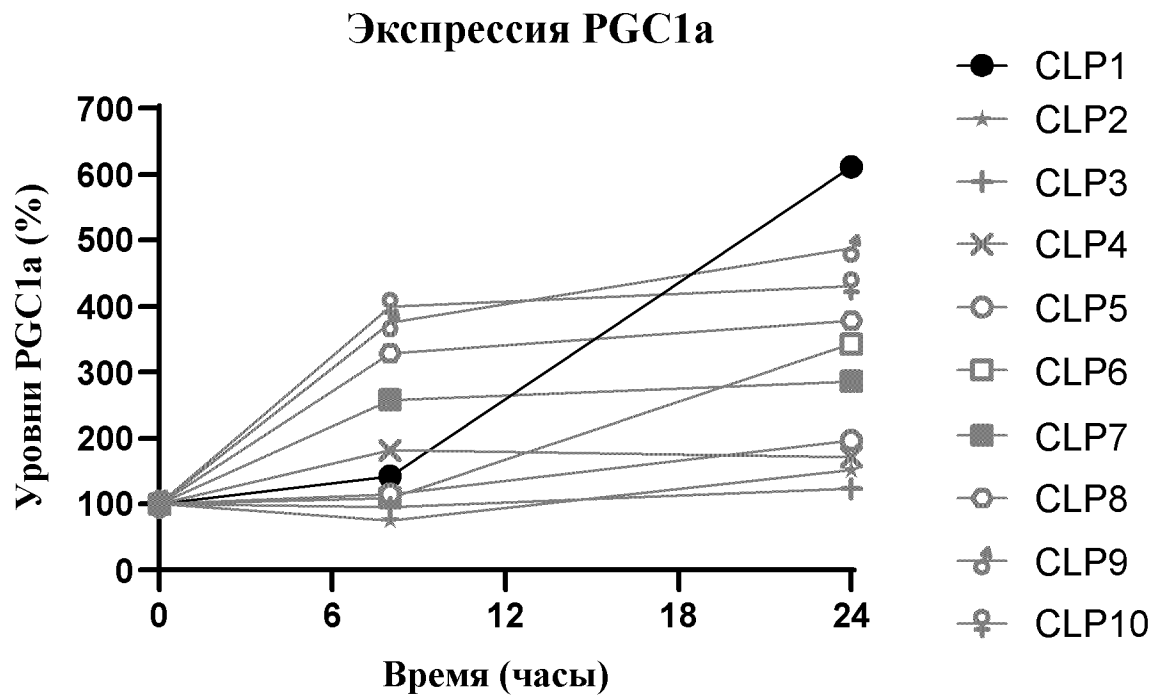
Фиг. 17С



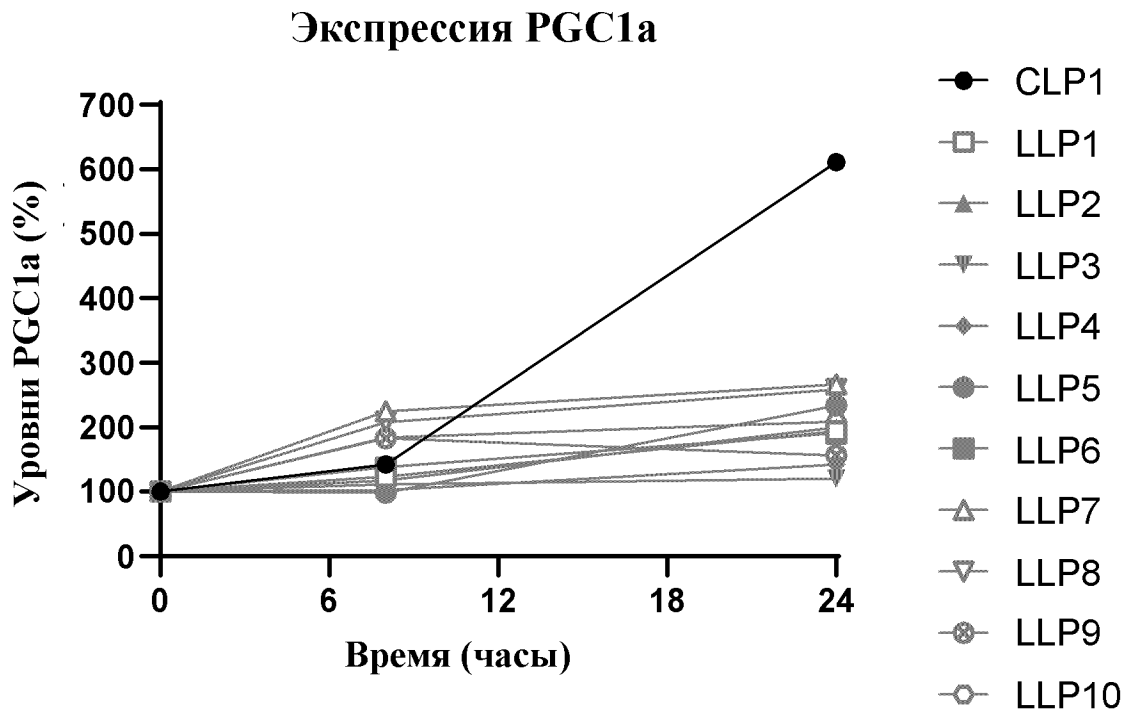
Фиг. 18В



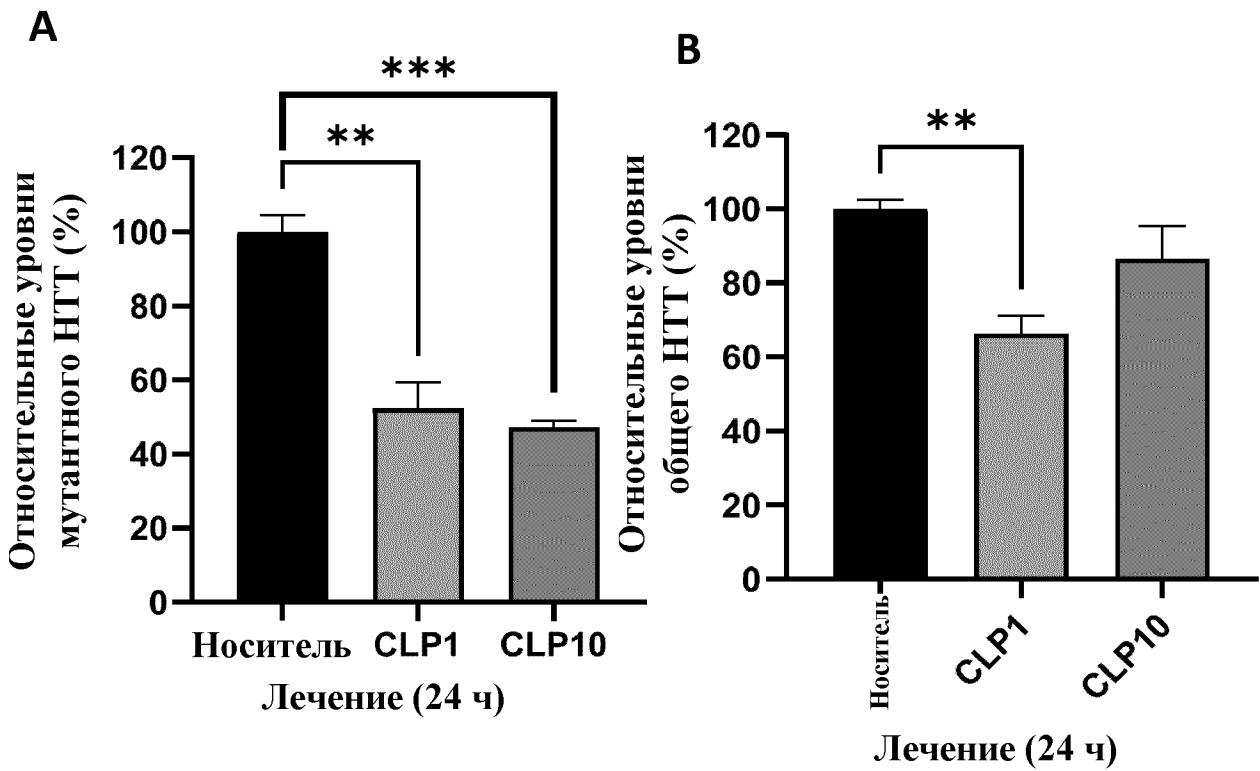
Фиг. 18С



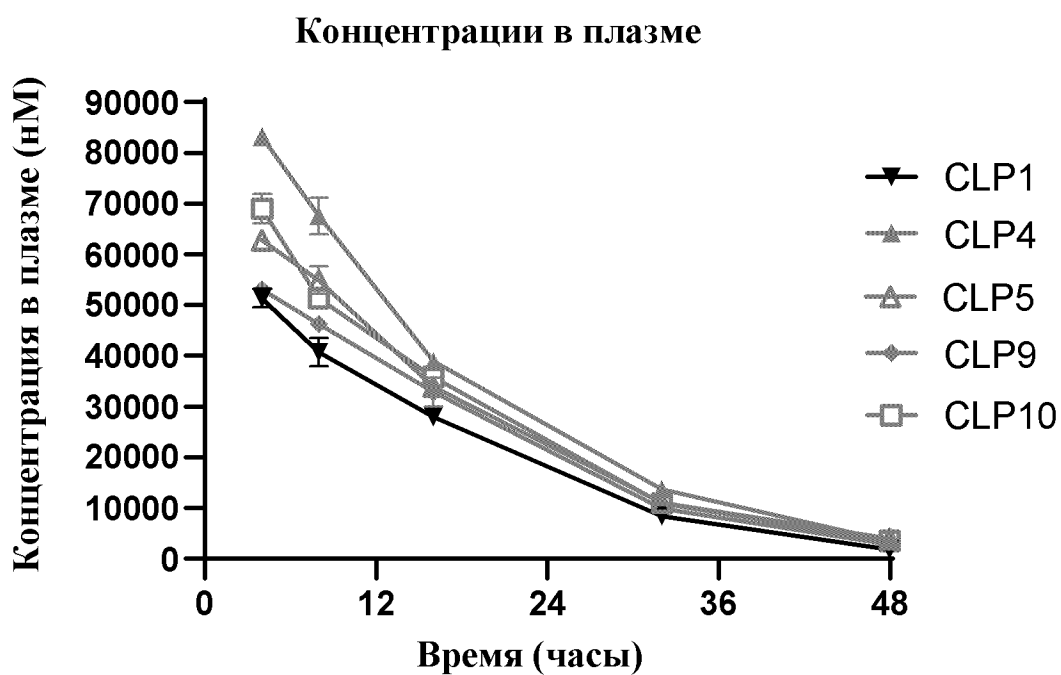
Фиг. 18D



Фиг. 19А-В



Фиг. 20А



Фиг. 20В

Соединение	$t_{1/2}$ [ч]	MRT [ч]	AUC 0-t [мкмоль/л*ч]	C_{max} [мкмоль/л]
CLP4	9.66	15.6	1,450	83.1
CLP5	10.41	16.8	1,194	62.7
CLP1	8.1	15.1	935	51.4
CLP9	9.01	16.1	1,064	53.1
CLP10	9.58	16.1	1,217	68.9

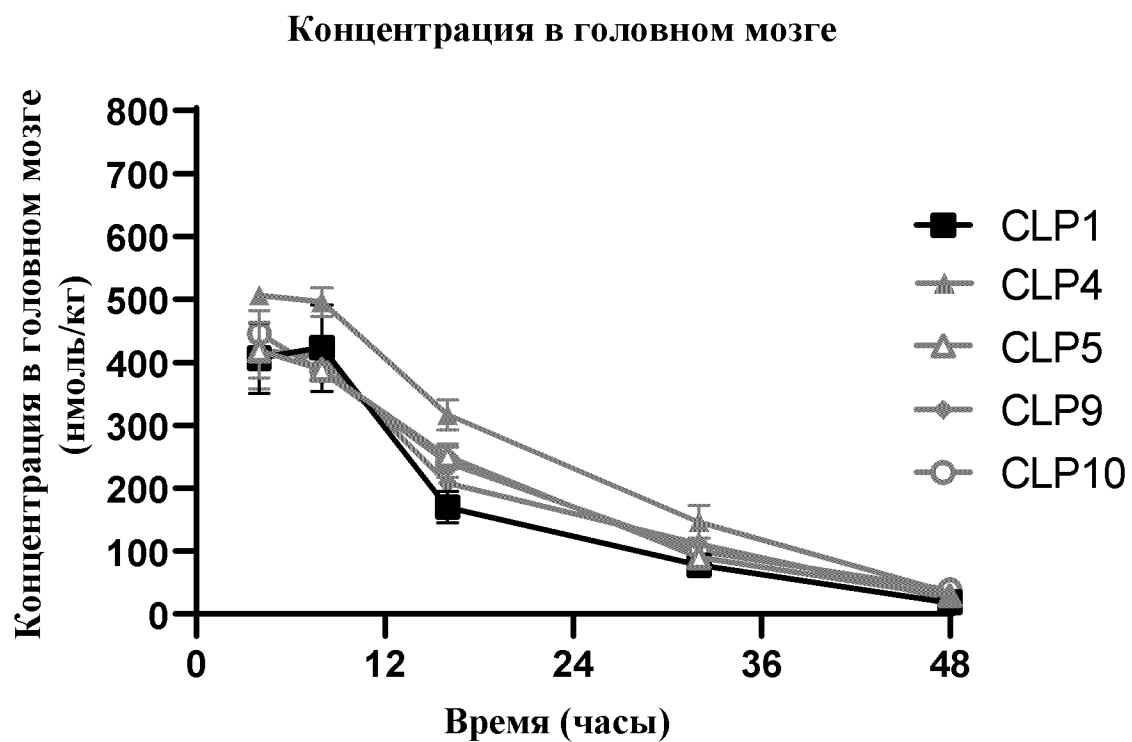
$t_{1/2}$ = период полувыведения

MRT = среднее время пребывания (среднее время, в течение которого молекула находится в организме (абсорбция + период полувыведения))

AUC = биодоступность

C_{max} = максимальная концентрация лекарственного средства

Фиг. 20С



Фиг. 20D

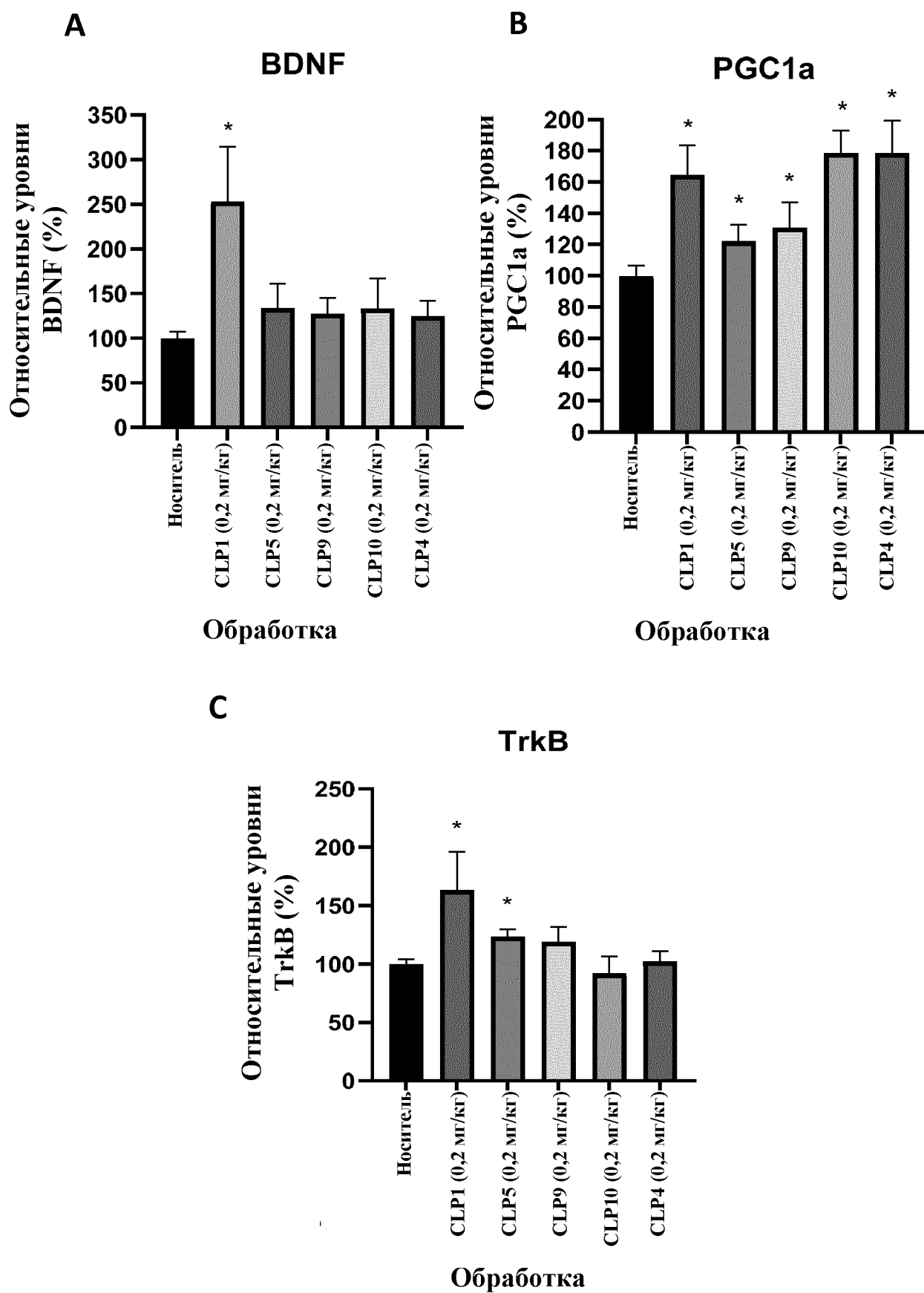
Соединение	$t_{1/2}$ [ч]	AUC 0-t [нмоль/л*ч]	C_{\max} [нмоль/л]
CLP4	10.6	11436	507
CLP5	10.4	8709	420
CLP1	9.4	7617	423
CLP9	10.9	8620	420
CLP10	12.1	8923	446

$t_{1/2}$ = период полувыведения

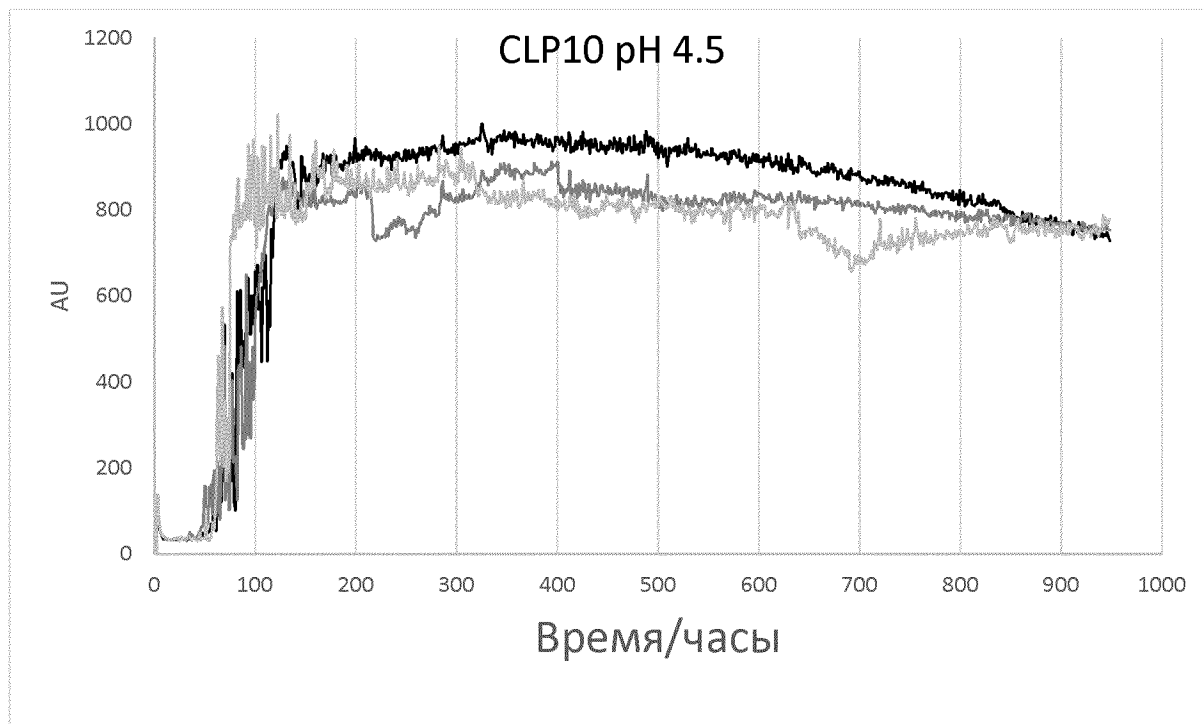
AUC = биодоступность

C_{\max} = максимальная концентрация лекарственного средства

Фиг. 21А-С



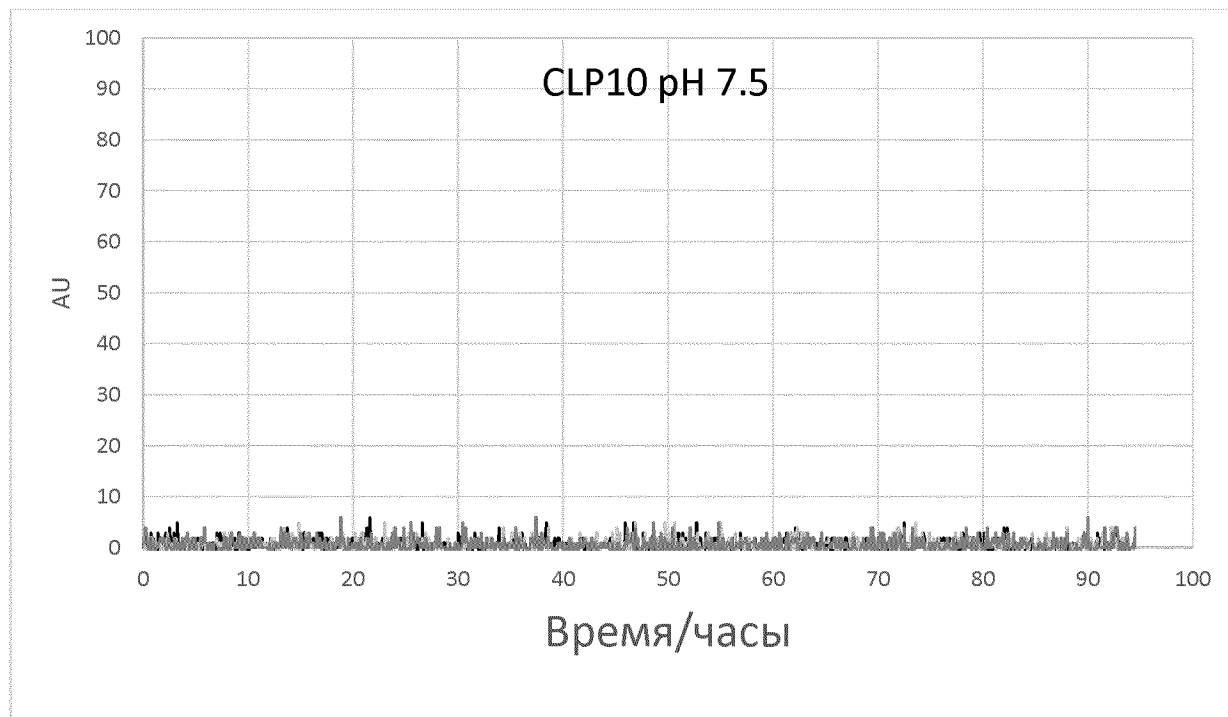
Фиг. 22А



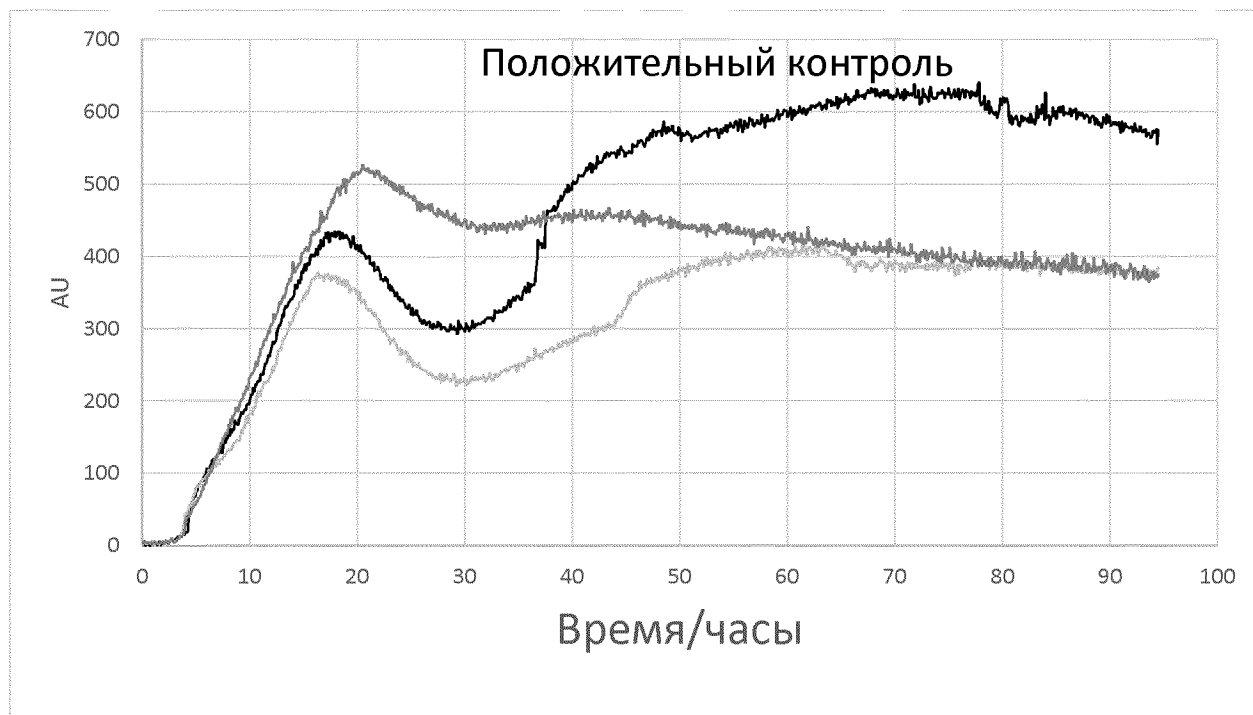
Фиг. 22В



Фиг. 22С

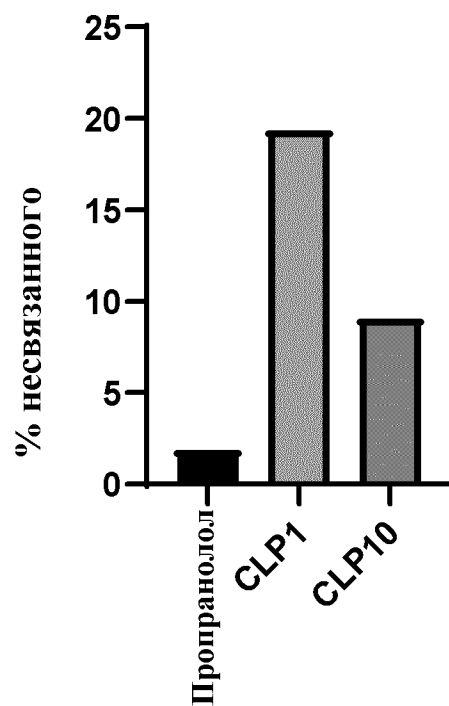


Фиг. 22D



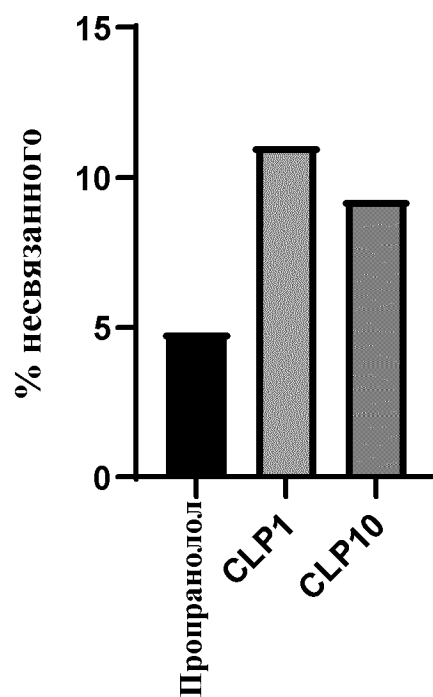
Фиг. 23А

Свободная фракция в гомогенате головного мозга мыши

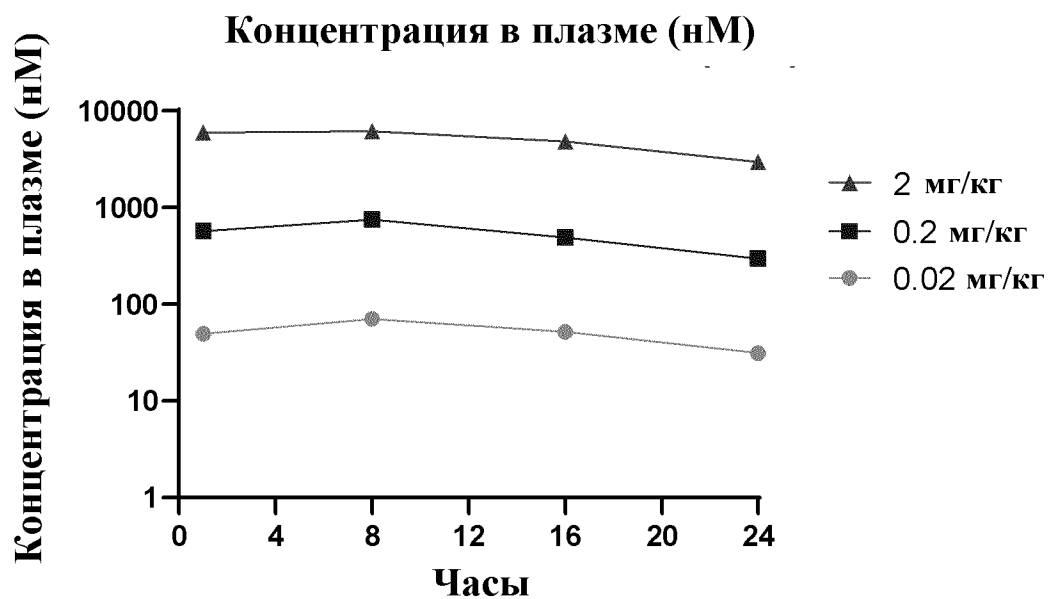


Фиг. 23В

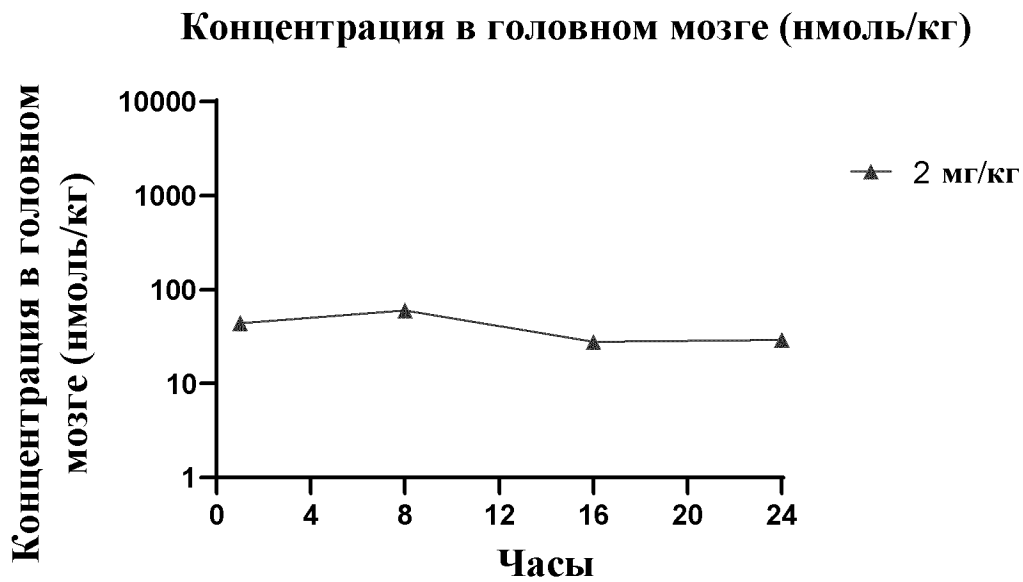
Свободная фракция в гомогенате головного мозга человека



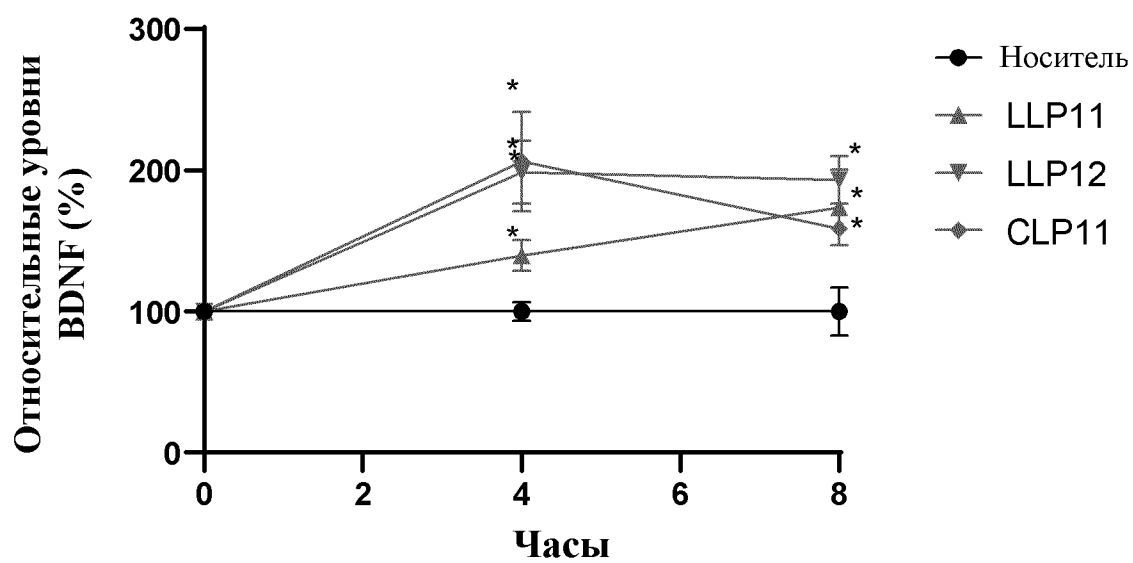
Фиг. 24А



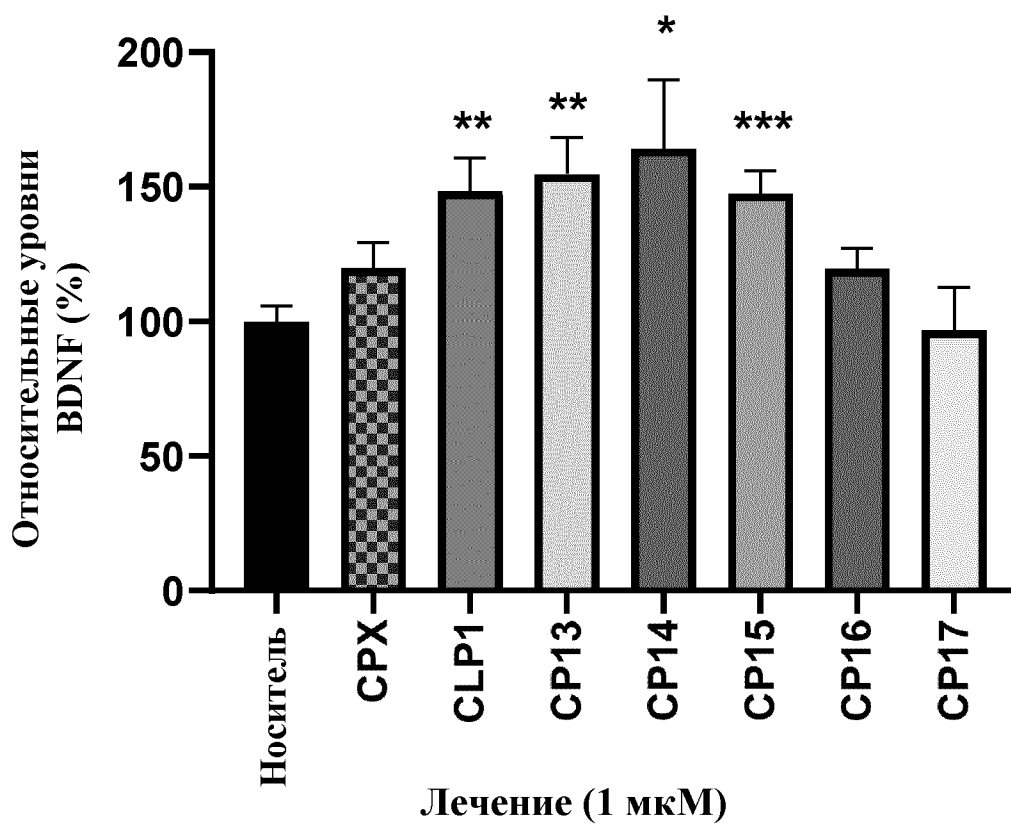
Фиг. 24В



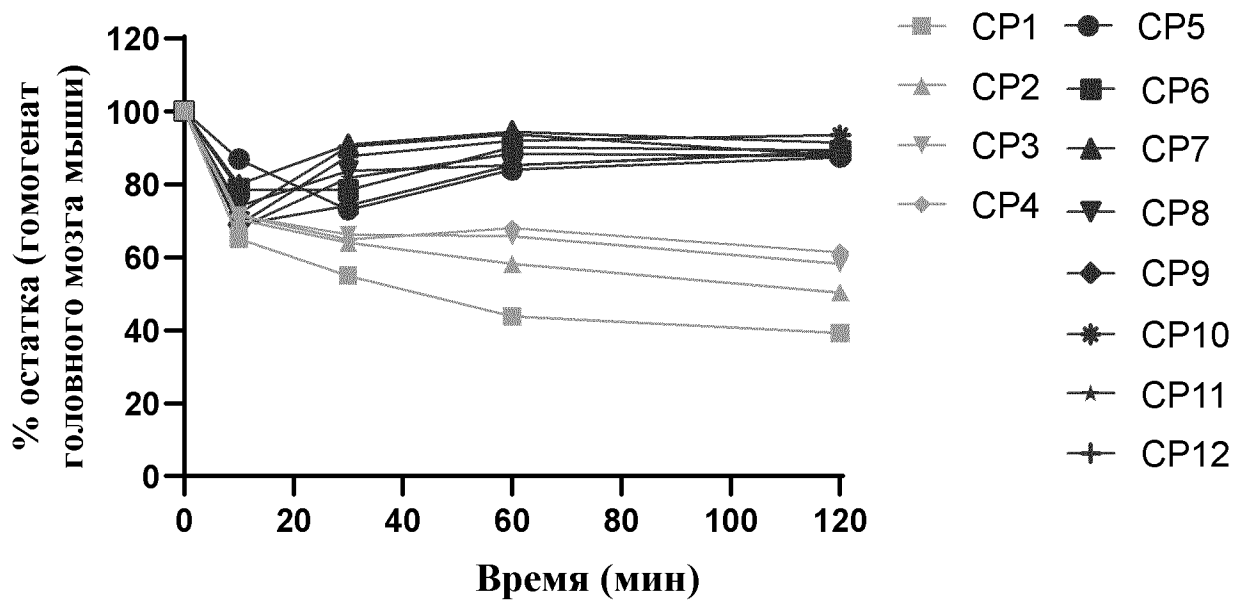
Фиг. 25



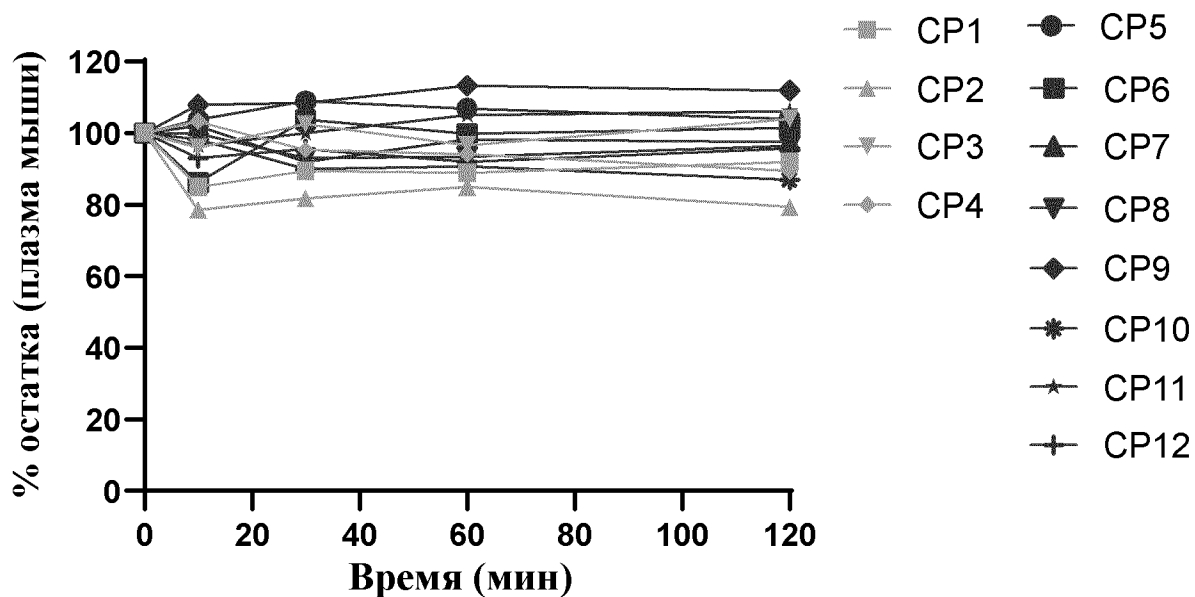
Фиг. 26



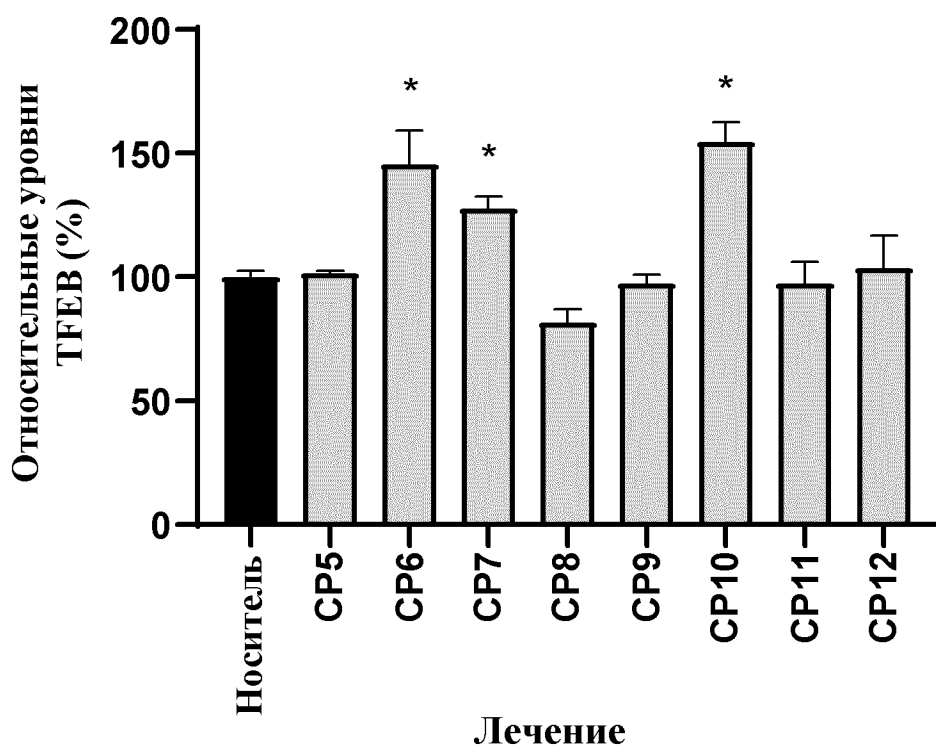
Фиг. 27А



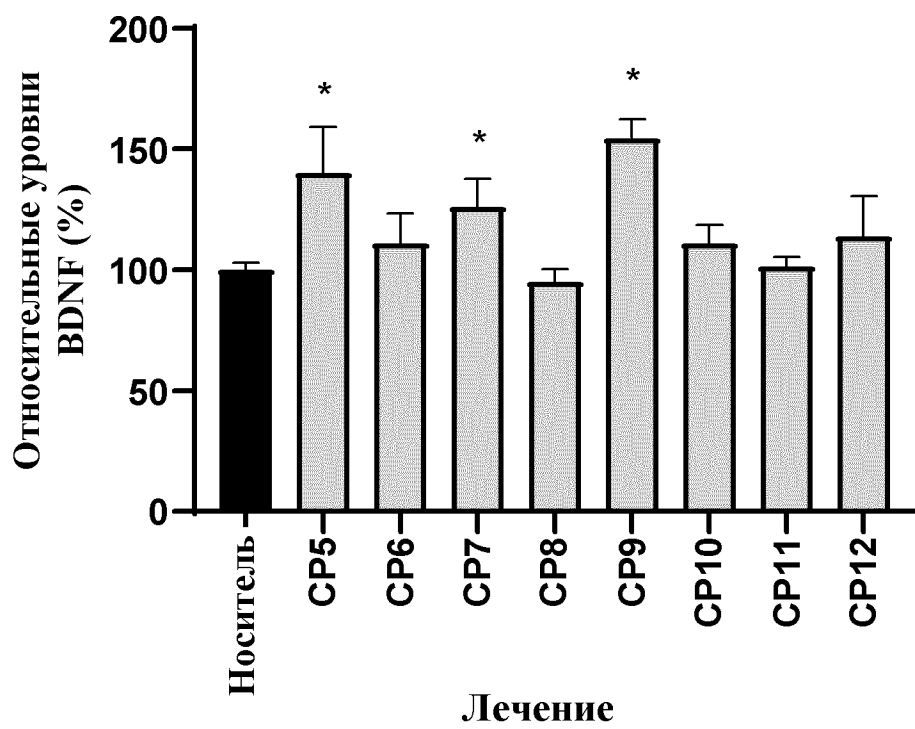
Фиг. 27В



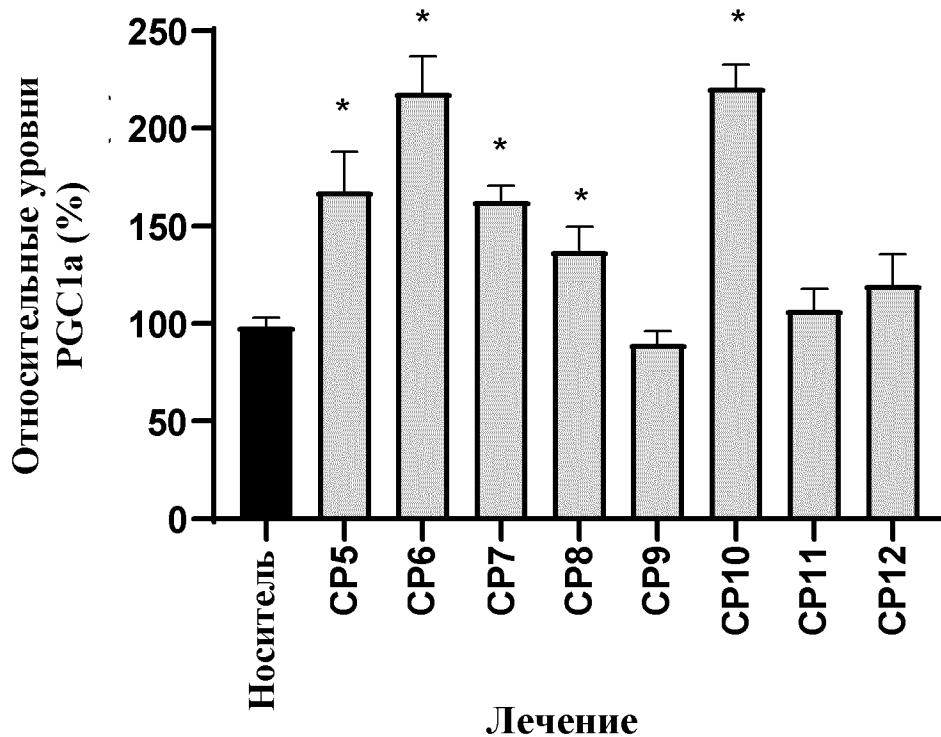
Фиг. 28А



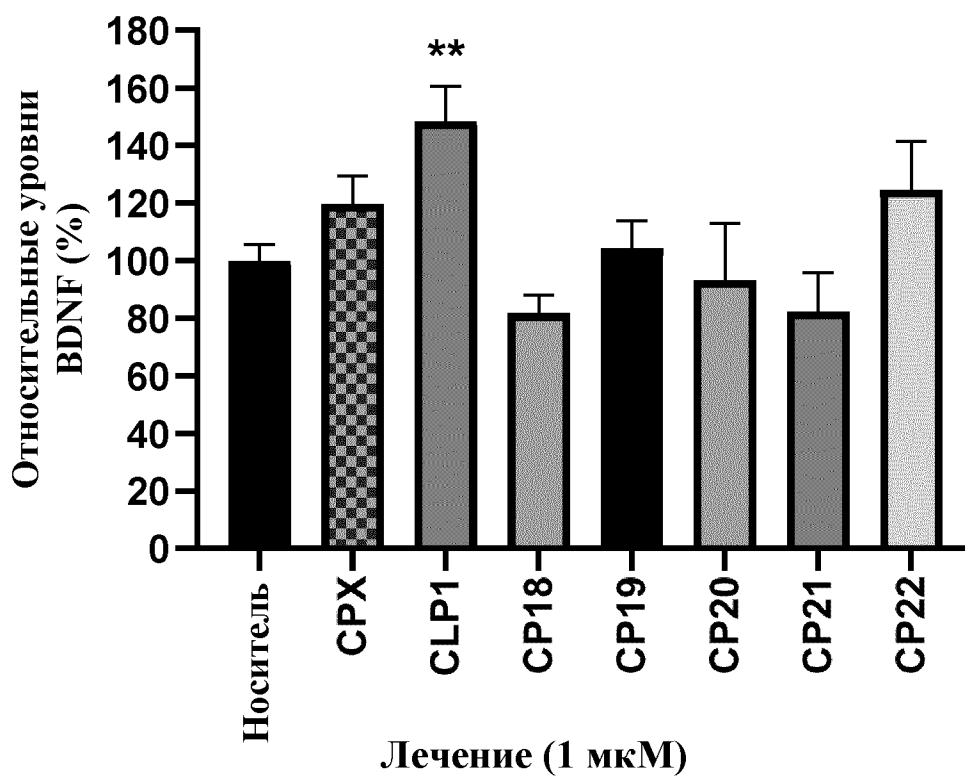
Фиг. 28В



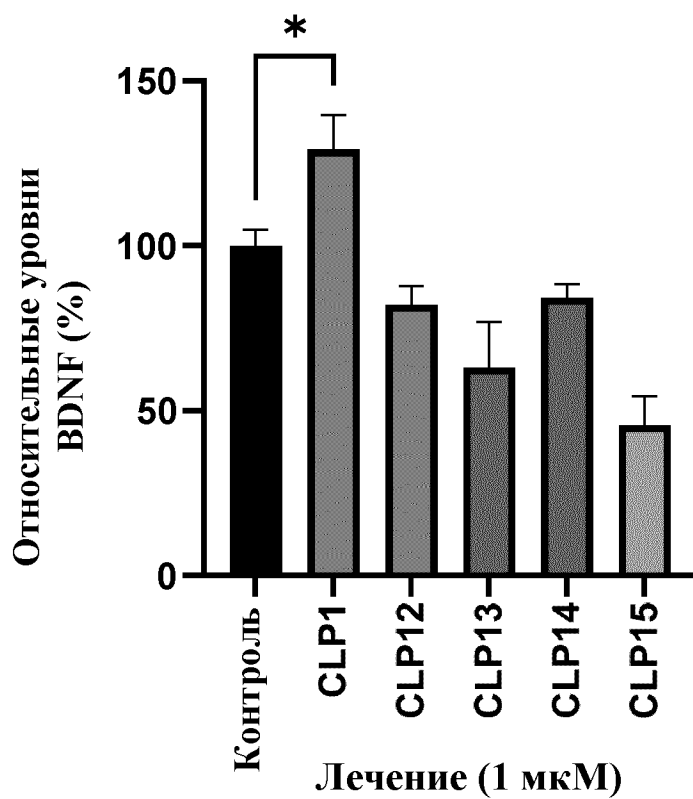
Фиг. 28С



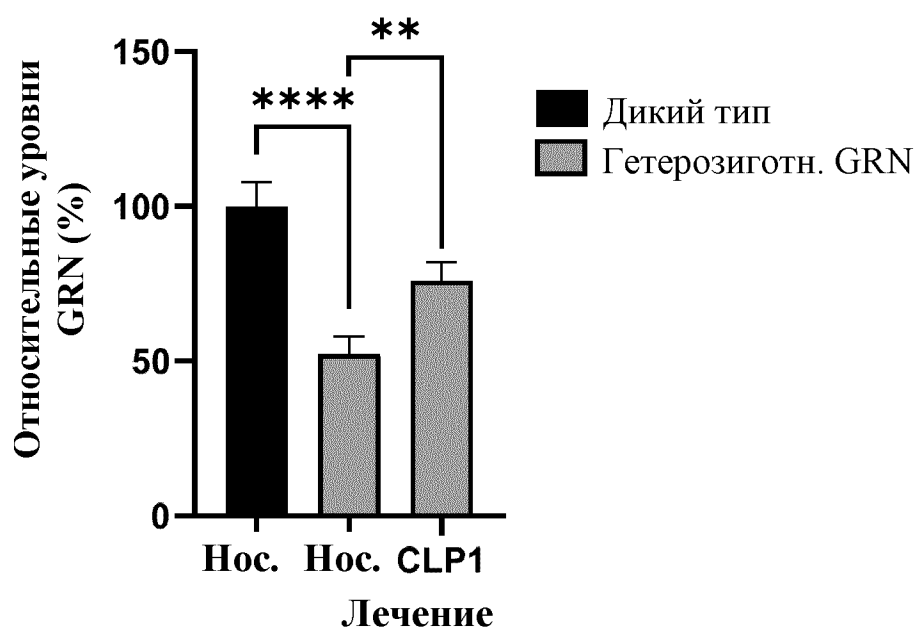
Фиг. 29



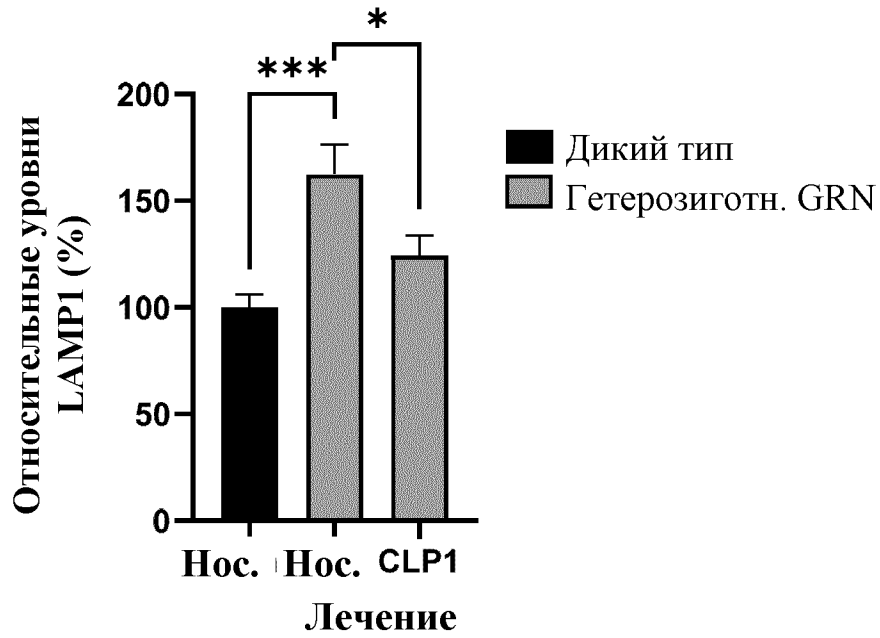
Фиг. 30



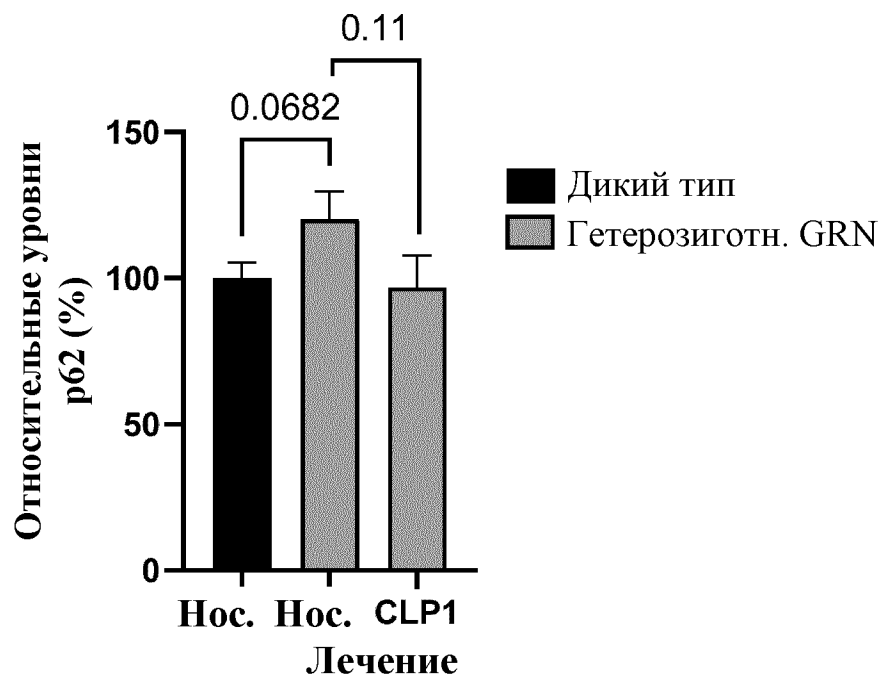
Фиг. 31А



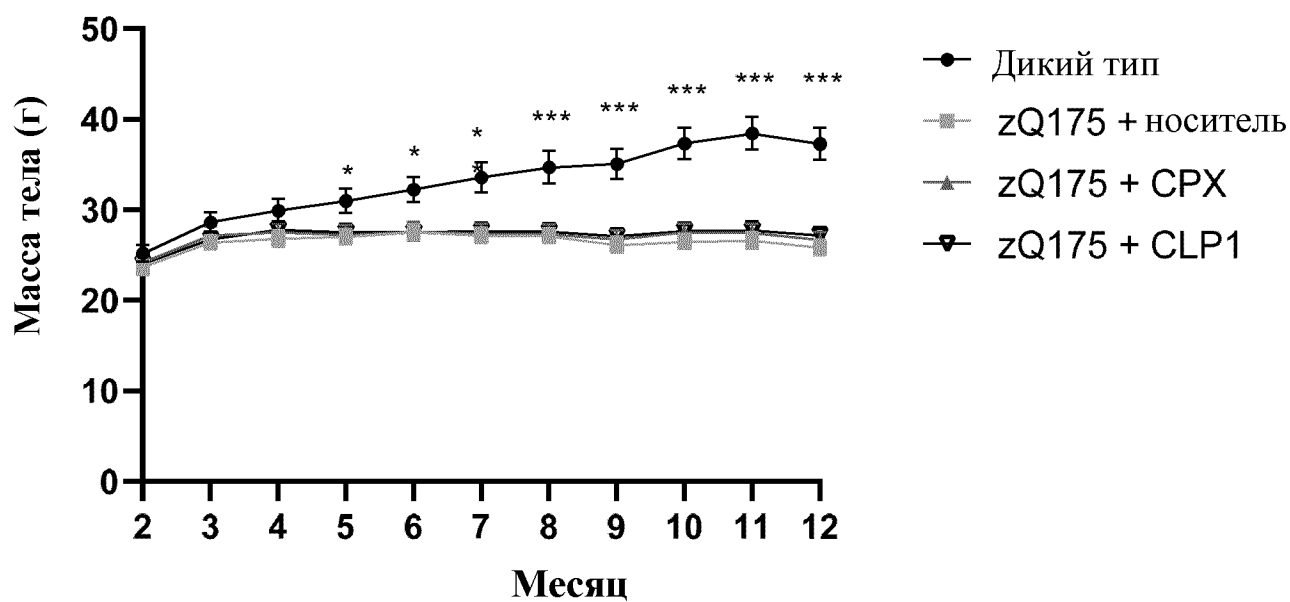
Фиг. 31В



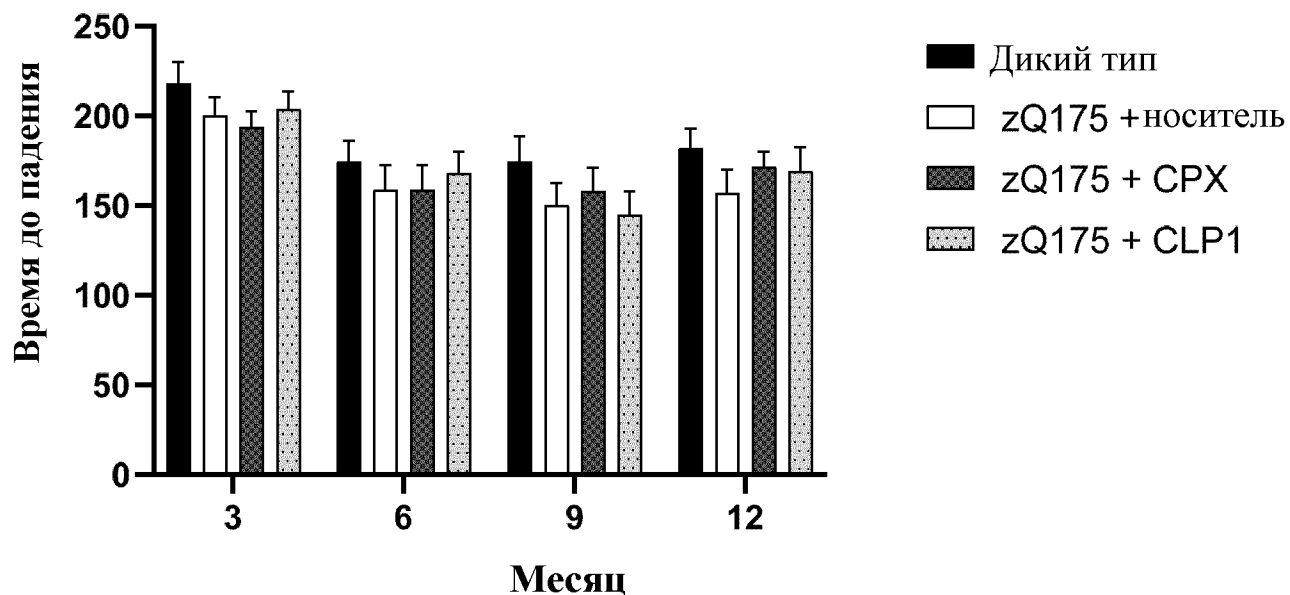
Фиг. 31С



Фиг. 32А



Фиг. 32В



Фиг. 32С

Ошибки при прохождении (n)

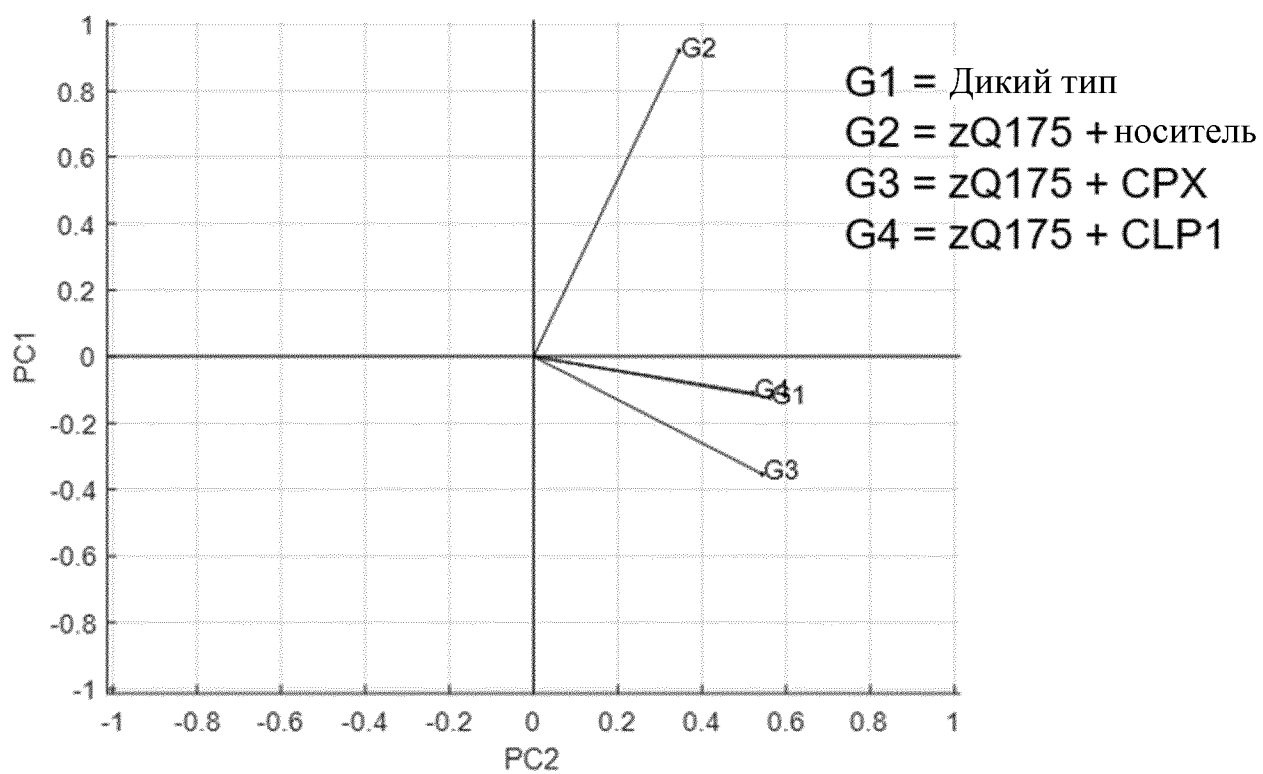
Месяц

Дикий тип

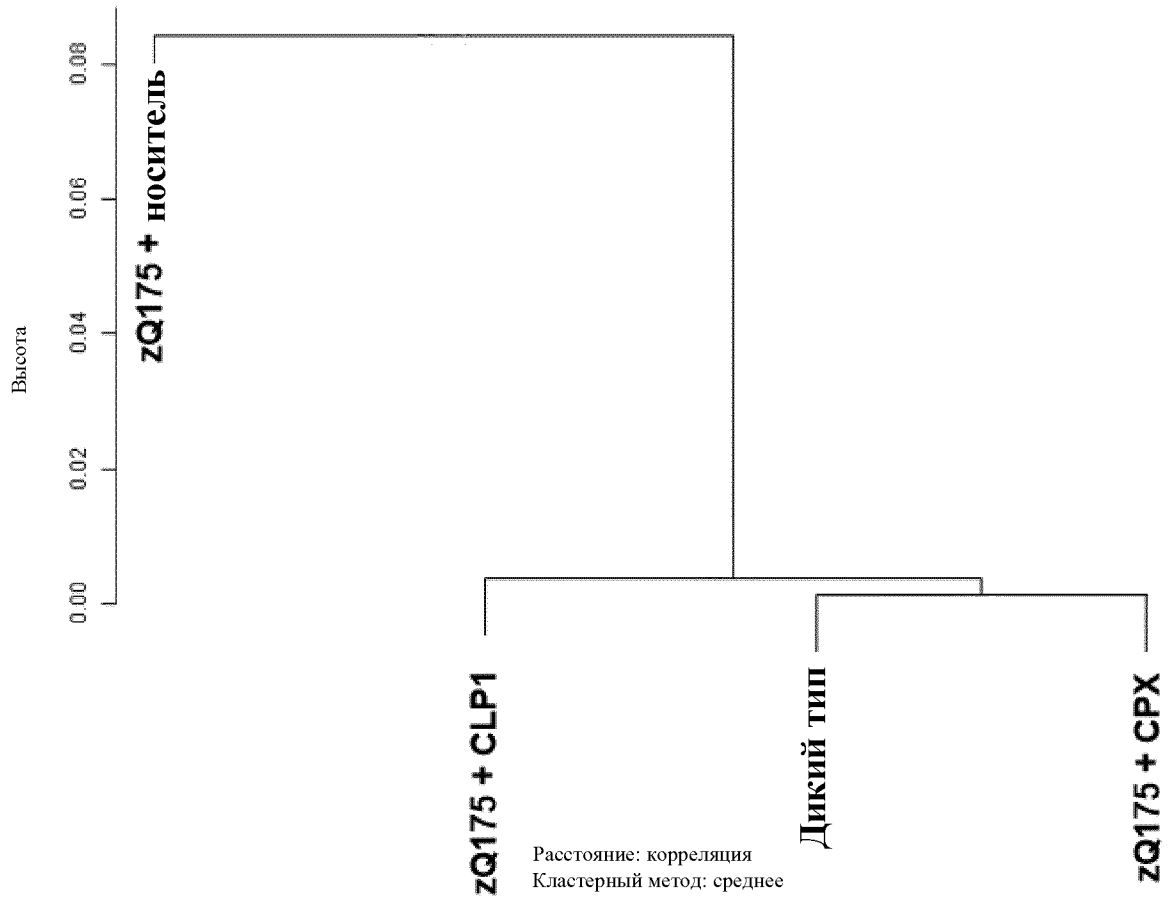
НОСИТЕЛЬ

Фиг. 32D

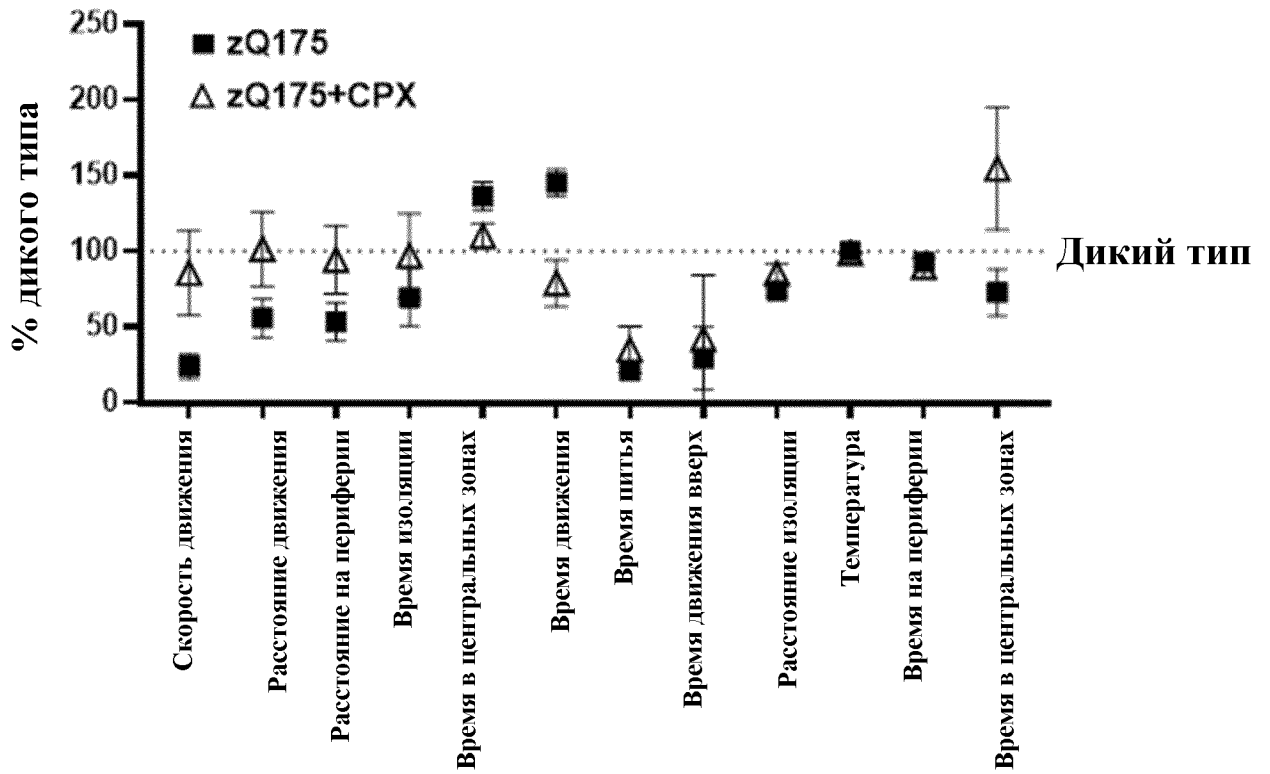
Общ. PCA за 12 месяцев



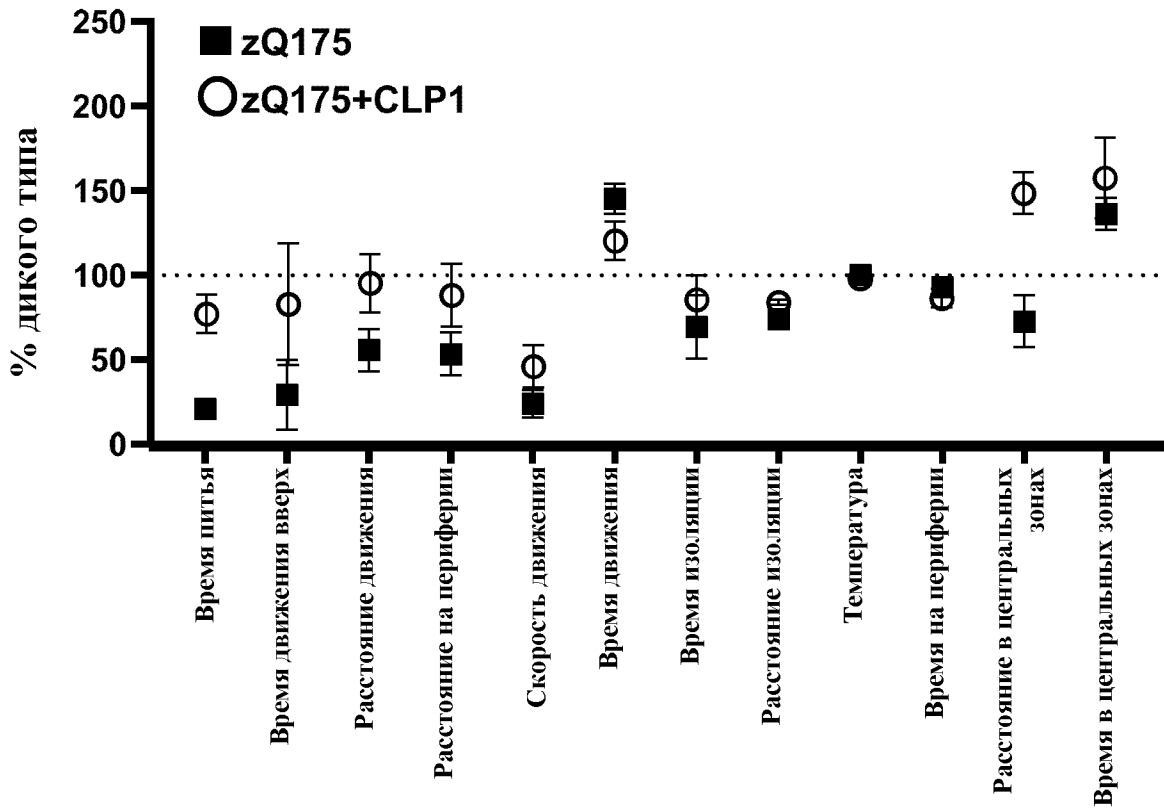
Фиг. 32Е



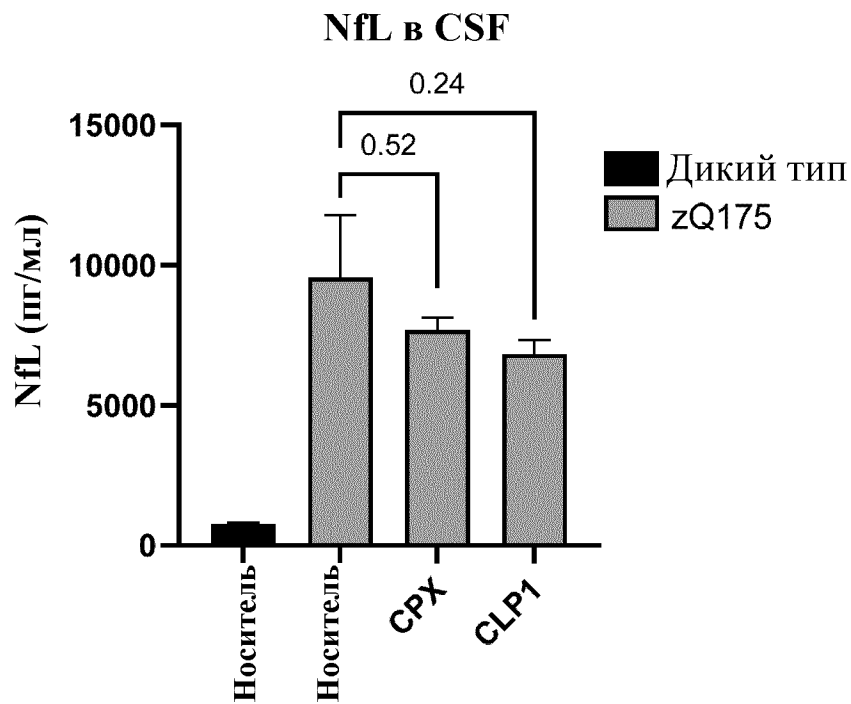
Фиг. 32F



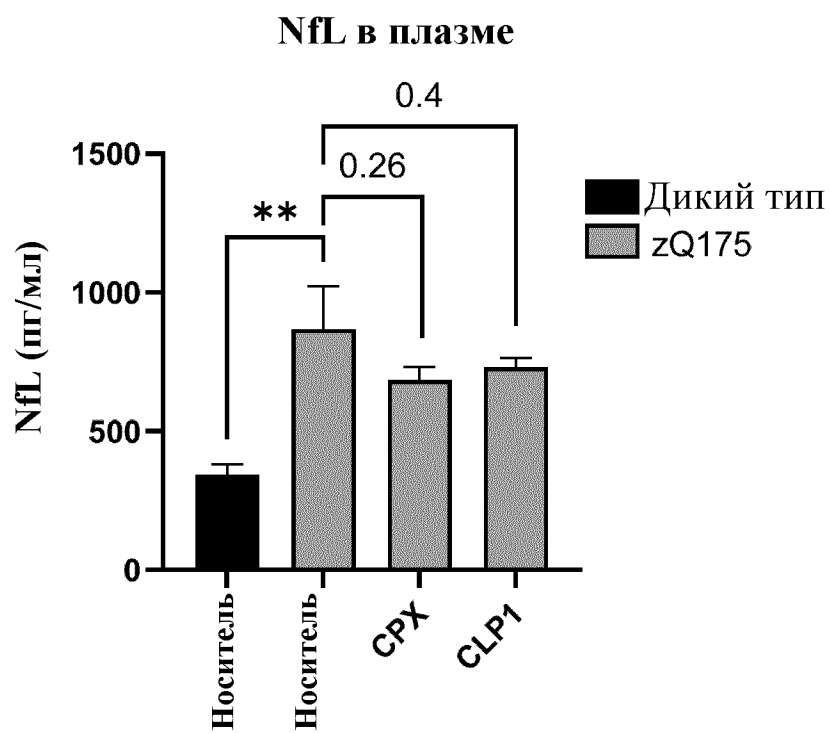
Фиг. 32G



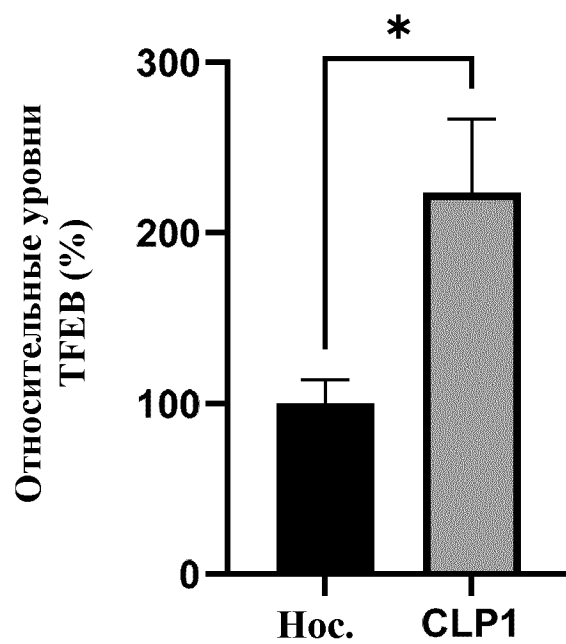
Фиг. 32H



Фиг. 32I



Фиг. 33А



Фиг. 33В

