

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ(12) **ЗАЯВКА НА ИЗОБРЕТЕНИЕ**

(21)(22) Заявка: 2017122609, 01.12.2015

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:

02.12.2014 US 62/086,294;

30.11.2015 US 14/954,591;

30.11.2015 US 14/954,701

(43) Дата публикации заявки: 09.01.2019 Бюл. № 01

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на национальной фазе: 03.07.2017

(86) Заявка РСТ:

US 2015/063102 (01.12.2015)

(87) Публикация заявки РСТ:

WO 2016/089818 (09.06.2016)

Адрес для переписки:

109012, Москва, ул. Ильинка, 5/2, ООО  
"Союзпатент"

(71) Заявитель(и):

**ЭНТРИАБИО, ИНК. (US)**

(72) Автор(ы):

**РОЗЕНДАЛЬ Мэри С. (US),****МАНТРИПРАГАДА Санкарам Б. (US),****ГОМЕС Элиана Б. (US)**(54) **БЕЛКИ И БЕЛКОВЫЕ КОНЬЮГАТЫ С ПОВЫШЕННОЙ ГИДРОФОБНОСТЬЮ**

## (57) Формула изобретения

1. Микросферы, содержащие биоразлагаемый полимер и белковую смесь, выбираемую из группы, состоящей из: конъюгат белок-полиэтиленгликоль и гидрофобный анион органической кислоты; белок и гидрофобный анион органической кислоты; их комбинации.

2. Микросферы по п. 1, в котором белок в конъюгате белок-полиэтиленгликоль или белок сам по себе представляет собой человеческий гормон роста.

3. Микросферы по п. 1, в котором белок в конъюгате белок-полиэтиленгликоль или белок сам по себе является глюкагоноподобным пептидом 1.

4. Микросферы по п. 3, содержащие также конъюгат инсулин-полиэтиленгликоль.

5. Микросферы по п. 1, в котором белок в конъюгате белок-полиэтиленгликоль или белок сам по себе выбирают из группы, состоящей из инсулина, гормона околощитовидной железы, фрагмента гормона околощитовидной железы, энфувиртида и октреотида.

6. Микросферы по п. 1, в котором органическая кислота является памоевой кислотой, диоктилсульфоянтарной кислотой (докузатом), пироглизиновой кислотой или их смесями.

7. Микросферы по п. 1, в котором белковая смесь содержит гидрофобный анион органической кислоты и этот гидрофобный анион органической кислоты представляет

собой анион жирной кислоты, фосфолипидный анион, полистиролсульфонат-ион или их смеси.

8. Микросферы по п. 7, в котором анион гидрофобной кислоты представляет собой фосфолипидный анион, причем фосфолипид является фосфатидилхолином, фосфатидилсерином, фосфатидилинозитом, фосфатидилэтаноламином, фосфохолином или их смесями.

9. Микросферы по п. 1, в котором белковая смесь содержит конъюгат белок-полиэтиленгликоль и полиэтиленгликоль в конъюгате белок-полиэтиленгликоль представляет собой метоксиполиэтиленгликольальдегид.

10. Микросферы по п. 1, в котором белковая смесь содержит гидрофобный анион органической кислоты и органическая кислота является памоевой кислотой, а гидрофобный анион является памоат-ионом.

11. Микросферы по п. 1, в котором белковая смесь содержит конъюгат белок-полиэтиленгликоль и гидрофобный анион органической кислоты, причем молярное отношение гидрофобный анион органической кислоты:конъюгат белок-полиэтиленгликоль составляет от 1:1 до 11:1.

12. Микросферы по п. 1, в котором белковая смесь содержит конъюгат белок-полиэтиленгликоль и конъюгат белок-полиэтиленгликоль является моноПЭГилированным.

13. Микросферы по п. 1, в котором биоразлагаемый полимер выбирают из группы, состоящей из полилактида, полигликолида, поли(d,l-лактид-ко-гликолида), поликапролактона, полиортоэфира, сополимера сложного и простого полиэфиров; сополимера полилактида и полиэтиленгликоля.

14. Микросферы по п. 1, в котором биоразлагаемый полимер является поли(d,l-лактид-ко-гликолидом).

15. Микросферы по п. 1, в котором биоразлагаемый полимер имеет молекулярную массу от 7000 Да до 17 000 Да.

16. Способ получения соли конъюгата белок-полиэтиленгликоль с повышенной гидрофобностью, включающий:

- получение водного белкового раствора, содержащего белок и буферный раствор, обеспечивающий определенный pH;
- взаимодействие полиэтиленгликоля с белком, в результате которого образуется конъюгат белок-полиэтиленгликоль; и
- протонирование аминогруппы в конъюгате белок-полиэтиленгликоль за счет гидрофобной органической аминокислоты, причем в результате этого протонирования образуется соль конъюгата белок-полиэтиленгликоль, содержащая гидрофобный анион, из-за чего увеличивается гидрофобность соли конъюгата белок-полиэтиленгликоль.

17. Способ по п. 16, в котором взаимодействие полиэтиленгликоля с белком представляет собой образование связи с участием аминогруппы, амидной связи, эфирной связи или дисульфидной связи между молекулой белка и молекулой полиэтиленгликоля или присоединение полиэтиленгликоля, способного к взаимодействию с тиоловой группой, к остатку цистеина в белке.

18. Способ получения конъюгата белок-полиэтиленгликоль с повышенной гидрофобностью, включающий:

- получение водного белкового раствора, содержащего белок и буферный раствор, обеспечивающий определенный pH;
- взаимодействие полиэтиленгликоля с белком, в результате которого образуется конъюгат белок-полиэтиленгликоль, причем этот конъюгат белок-полиэтиленгликоль обладает большей гидрофобностью, чем белок сам по себе.

19. Способ по п. 18, который не включает протонирование аминогруппы в белке за

счет гидрофобной органической кислоты.

20. Способ получения микросфер, обеспечивающих контролируемое высвобождение активного агента, которые содержат соль конъюгата белок-полиэтиленгликоль, причем этот способ включает:

- получение водного белкового раствора, содержащего белок и буферный раствор, обеспечивающий определенный pH;

- взаимодействие полиэтиленгликоля с белком, в результате которого образуется конъюгат белок-полиэтиленгликоль;

- протонирование аминокислотной группы в конъюгате белок-полиэтиленгликоль за счет гидрофобной органической аминокислоты, причем в результате этого протонирования образуется соль конъюгата белок-полиэтиленгликоль, содержащая гидрофобный анион;

- смешивание соли конъюгата белок-полиэтиленгликоль в органическом растворителе с биоразлагаемым полимером, в результате чего образуется смесь, в которой благодаря наличию гидрофобного аниона органической кислоты в составе соли конъюгата белок-полиэтиленгликоль увеличивается растворимость этой соли конъюгата белок-полиэтиленгликоль в органическом растворителе;

- эмульгирование смеси соли конъюгата белок-полиэтиленгликоль и биоразлагаемого полимера в водном растворе, в результате чего образуется эмульгированная смесь; и

- отверждение эмульгированной смеси соли конъюгата белок-полиэтиленгликоль и биоразлагаемого полимера, в результате чего образуются микросферы, обеспечивающие контролируемое высвобождение активного агента.

21. Композиция, содержащая биоразлагаемый полимер, органический растворитель и белковую смесь, выбираемую из группы, состоящей из: конъюгат белок-полиэтиленгликоль и гидрофобный анион органической кислоты; белок и гидрофобный анион органической кислоты; их комбинации, причем указанная композиция представлена раствором или суспензией.

22. Композиция по п. 21, в которой она представлена раствором.

23. Композиция по п. 21, в которой она представлена суспензией.

24. Композиция по п. 21, в которой белок, входящий в состав конъюгата белок-полиэтиленгликоль, или белок сам по себе выбирают из группы, состоящей из человеческого гормона роста, глюкагоноподобного пептида 1, инсулина, гормона околощитовидной железы, фрагмента гормона околощитовидной железы, энфувиртида и октреотида.

25. Композиция по п. 21, в которой органическая кислота является палмитической кислотой, диоктилсульфотетракарбонатной кислотой (докузатом), пирогликолевой кислотой или их смесью.

26. Композиция по п. 21, в которой белковая смесь содержит белок и гидрофобный анион органической кислоты, который представляет собой анион жирной кислоты, фосфолипидный анион, полистиролсульфонат-ион или их смесь.

27. Композиция по п. 21, в которой органический растворитель представляет собой N-метилпирролидон, диметилсульфоксид, пропиленгликоль, этилбензоат, бензилбензоат, триацетин, полиэтиленгликоль-400 или их смесь.

28. Композиция по п. 21, в которой биоразлагаемый полимер выбирают из группы, состоящей из полилактида, полигликолида, поли(D,L-лактид-ко-гликолида); поликапролактона, полиортоэфира, сополимера сложного и простого полиэфиров; сополимера полилактида и полиэтиленгликоля.

29. Композиция по п. 21, в которой биоразлагаемый полимер представляет собой поли(D,L-лактид-ко-гликолид).

30. Композиция по п. 21, в которой биоразлагаемый полимер имеет молекулярную массу от 24 000 Да до 38 000 Да.

31. Композиция по п. 21, в которой биоразлагаемый полимер содержит около 50%

или меньше лактида и около 50% или больше гликолида.

32. Способ получения раствора или суспензии биоразлагаемого полимера и соли конъюгата белок-полиэтиленгликоль, включающий:

- получение конъюгата белок-полиэтиленгликоль, не содержащего соли конъюгата белок-полиэтиленгликоль;
- смешивание биоразлагаемого полимера, конъюгата белок-полиэтиленгликоль, гидрофобной органической кислоты и органического растворителя;
- образование соли конъюгата белок-полиэтиленгликоль, содержащей конъюгат белок-полиэтиленгликоль и анион гидрофобной органической кислоты;
- перемешивание полученной смеси, в результате чего образуется раствор или суспензия.

33. Способ по п. 32, в котором органический растворитель представляет собой N-метилпирролидон, диметилсульфоксид, пропиленгликоль, этилбензоат, бензилбензоат, триацетин, полиэтиленгликоль-400 или их смесь.

34. Способ по п. 32, в котором:

- конъюгат белок-полиэтиленгликоль – это первый конъюгат белок-полиэтиленгликоль;
- конъюгат белок-полиэтиленгликоль является конъюгатом глюкагоноподобного пептида 1 и полиэтиленгликоля;
- смешивание также включает смешивание второго конъюгата белок-полиэтиленгликоль с биоразлагаемым полимером, конъюгатом белок-полиэтиленгликоль, гидрофобной органической кислотой и органическим растворителем; и
- второй конъюгат белок-полиэтиленгликоль является конъюгатом инсулин-полиэтиленгликоль.

35. Способ получения раствора или суспензии биоразлагаемого полимера и соли конъюгата белок-полиэтиленгликоль, включающий:

- растворение биоразлагаемого полимера в органическом растворителе с образованием смеси;
- прибавление конъюгата белок-полиэтиленгликоль и гидрофобной органической кислоты к полученной смеси;
- протонирование аминогрупп в конъюгате белок-полиэтиленгликоль за счет гидрофобной органической кислоты, в результате чего образуется соль конъюгата белок-полиэтиленгликоль, содержащая гидрофобный анион;
- перемешивание полученной смеси с образованием раствора или суспензии.

36. Способ по п. 35, в котором этот способ не включает растворение соли конъюгата белок-полиэтиленгликоль в органическом растворителе.

37. Способ по п. 35, в котором конъюгат белок-полиэтиленгликоль содержит белок, выбираемый из группы, состоящей из человеческого гормона роста, глюкагоноподобного пептида 1, инсулина, гормона околощитовидной железы, фрагмента гормона околощитовидной железы, энфувиртида и октреотида.

38. Способ по п. 35, в котором гидрофобная органическая кислота представляет собой памоевую кислоту, диоктилсульфоянтарную кислоту (докузат), пироглизовую кислоту или их смеси.

39. Способ по п. 35, в котором органический растворитель представляет собой N-метилпирролидон, диметилсульфоксид, пропиленгликоль, этилбензоат, бензилбензоат, триацетин, полиэтиленгликоль-400 или их смесь.

40. Способ по п. 35, в котором конъюгат белок-полиэтиленгликоль содержит:

- амидную связь, эфирную связь или дисульфидную связь между полиэтиленгликолем и белком или

- полиэтиленгликоль, способный к взаимодействию с тиоловой группой, присоединен к остатку цистеина в белке.

RU 2017122609 A

RU 2017122609 A