РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

(19) RU (11) 2 747 877 (13) C2

(51) МПК
C07K 14/705 (2006.01)
A61K 38/17 (2006.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК
***A61K 38/177** (2021.02); **A61P 3/06** (2021.02); **A61P 9/00** (2021.02); **C07K 14/485** (2021.02); **C07K 14/705** (2021.02); **A61K 38/00** (2021.02)*

(21)(22) Заявка: **2018127882, 13.01.2017**

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
13.01.2017

Дата регистрации:
17.05.2021

Приоритет(ы):
(30) Конвенционный приоритет:
13.01.2016 CN PCT/CN2016/070791;
17.03.2016 CN PCT/CN2016/076580;
27.10.2016 EP 16195965.5

(43) Дата публикации заявки: **13.02.2020** Бюл. № **5**

(45) Опубликовано: **17.05.2021** Бюл. № **14**

(85) Дата начала рассмотрения заявки PCT на национальной фазе: **13.08.2018**

(86) Заявка PCT:
EP 2017/050668 (13.01.2017)

(87) Публикация заявки PCT:
WO 2017/121850 (20.07.2017)

Адрес для переписки:
197101, Санкт-Петербург, а/я 128, "АРС-ПАТЕНТ", С.В. Новоселовой

(72) Автор(ы):
ЧЕН, Дзяньхэ (CN),
ЛАУ, Йеспер Ф. (DK),
КОДРА, Янош Тибор (DK),
ВЕЧОРЕК, Биргит (DK),
ЛИНДЕРОТ, Ларс (DK),
ТЁГЕРСЕН, Хеннинг (DK),
РАСМУССЕН, Салька Эльбёль (DK),
ГЭРИБЭЙ, Патрик Уилльям (DK)

(73) Патентообладатель(и):
НОВО НОРДИСК А/С (DK)

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: **WO 2012177741 A1, 27.12.2012. ZHANG Y. et al. Calcium-independent Inhibition of PCSK9 by Affinity-Improved Variants of the LDL Receptor EGF(A) Domain; J.Mol.Bio., 2012, v.422, p.685-696. EP 2296694 A2, 23.03.2011. SHAN L. et al. PCSK9 Binds to Multiple Receptors and Can Be Functionally Inhibited by an EGF-A Peptide; Biochem.&Biophys.Comm., 2008,** (см. прод.)

(54) АНАЛОГИ ЭФР(А) С ЗАМЕСТИТЕЛЯМИ - ЖИРНЫМИ КИСЛОТАМИ

(57) Реферат:

Настоящее изобретение относится к области биотехнологии, конкретно производным подобного эпидермальному фактору роста домена А (ЭФР(А)) рецептора липопротеинов низкой плотности (Р-ЛНП), и может быть использовано в медицине. Изобретение позволяет получить стабильный конъюгат пептидного аналога ЭФР(А) (Р-ЛНП(293-332)) дикого типа с по меньшей мере одним липофильным заместителем – производным жирной органической кислоты. Настоящее изобретение может быть применимо в терапии сердечно-сосудистых заболеваний и ряда метаболических заболеваний, например, для снижения уровня холестерина или для лечения дислипидемии. 3 н. и 19 з.п. ф-лы, 3 ил., 15 табл., 4 пр.

(56) (продолжение):
v.375, n.1, p.69-73. RU 2528735 C2, 20.09.2014.

RU 2747877 C2

RU 2747877 C2

RUSSIAN FEDERATION

FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(19) **RU** (11) **2 747 877** (13) **C2**

(51) Int. Cl.
C07K 14/705 (2006.01)
A61K 38/17 (2006.01)

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(52) CPC
A61K 38/177 *(2021.02);* ***A61P 3/06*** *(2021.02);* ***A61P 9/00*** *(2021.02);* ***C07K 14/485*** *(2021.02);* ***C07K 14/705*** *(2021.02);* ***A61K 38/00*** *(2021.02)*

(21)(22) Application: **2018127882, 13.01.2017**

(24) Effective date for property rights:
13.01.2017

Registration date:
17.05.2021

Priority:
(30) Convention priority:
13.01.2016 CN PCT/CN2016/070791;
17.03.2016 CN PCT/CN2016/076580;
27.10.2016 EP 16195965.5

(43) Application published: **13.02.2020** Bull. № **5**

(45) Date of publication: **17.05.2021** Bull. № **14**

(85) Commencement of national phase: **13.08.2018**

(86) PCT application:
EP 2017/050668 (13.01.2017)

(87) PCT publication:
WO 2017/121850 (20.07.2017)

Mail address:
197101, Sankt-Peterburg, a/ya 128, "ARS-PATENT", S.V. Novoselovoj

(72) Inventor(s):
CHEN, Dzyankhe (CN),
LAU, Jesper F. (DK),
KODRA, Yanosh Tibor (DK),
VECHOREK, Birgit (DK),
LINDEROT, Lars (DK),
TEGERSEN, Khenning (DK),
RASMUSSEN, Salka Elbel (DK),
GERIBEJ, Patrik Uillyam (DK)

(73) Proprietor(s):
NOVO NORDISK A/S (DK)

RU 2747877 C2

(54) ANALOGUES OF EGF(A) WITH SUBSTITUENTS-FATTY ACIDS

(57) Abstract:

FIELD: biotechnology.

SUBSTANCE: present invention relates to the field of biotechnology, specifically derivatives of epidermal growth factor (EGF(A)-like domain of a receptor of low density lipoprotein (R-LDL) receptor, and can be used in medicine. The invention makes it possible to obtain a stable conjugate of a wild-type peptide analog of EGF(A) (P-LDL(293-332)) with at least one lipophilic substituent-a derivative of an organic fatty acid

EFFECT: present invention can be applied in treatment of cardiovascular diseases and a number of metabolic diseases, for example, to reduce cholesterol levels or to treat dyslipidemia.

22 cl, 3 dwg, 15 tbl, 4 ex

RU 2747877 C2

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ

Настоящее изобретение относится к аналогам подобного эпидермальному фактору роста домена А (ЭФР(А)) и их производным, в частности к пептидным аналогам ЭФР (А) с заместителем - жирной кислотой, и их фармацевтическому применению.

ВКЛЮЧЕНИЕ ПОСРЕДСТВОМ ССЫЛКИ ПЕРЕЧНЯ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

Перечень последовательностей, озаглавленный как "Перечень последовательностей", размером 48 кб, был создан 11 января 2017 г. и включен в настоящий документ посредством ссылки.

ПРЕДШЕСТВУЮЩИЙ УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

Высокий уровень холестерина липопротеинов низкой плотности (ХС-ЛНП) и дислипидемия представляют собой хорошо известные факторы, способствующие развитию сердечно-сосудистых заболеваний.

Для лечения дислипидемии в течение последних 25 лет разрешены статины. Этот класс лекарственных препаратов показал существенное и стойкое снижение сердечно-сосудистых осложнений с приемлемым профилем безопасности. Самый популярный статин, аторвастатин (Lipitor™), был самым хорошо продаваемым лекарственным средством в течение всего этого времени, с объемом продаж более чем 125 млрд долларов с 1996 по 2012 гг.

Несмотря на доступность и распространенность применения статинов и других агентов, снижающих липиды, у многих пациентов не удается достичь их целевого уровня ХС-ЛНП, и у них сохраняется высокий риск развития сердечнососудистых заболеваний. Пропротеинконвертаза 9-го субтилизин-кексинового типа (ПКСК9) вызывает деградацию печеночного рецептора ЛНП (Р-ЛНП), снижая при этом поверхностную экспрессию печеночного Р-ЛНП и, следовательно, клиренс частиц ЛНП. Напротив, блокирование ПКСК9 увеличивает клиренс ХС-ЛНП, а также других атерогенных липопротеинов. Действительно, рецепторы ЛНП вовлечены в клиренс атерогенных липопротеинов, отличных от ЛНП, таких как липопротеины промежуточной плотности и ремнантные частицы. Увеличенный клиренс липопротеинов промежуточной плотности и ремнантных частиц может иметь терапевтическую полезность, помимо той, которая обеспечивается за счет снижения уровня ЛНП.

Статины повышают экспрессию как Р-ЛНП, так и ПКСК9 за счет фактора транскрипции - белка, связывающего стеролрегулирующие элементы 2 (SREBP2, от англ. sterol regulatory element binding protein). Повышенная экспрессия ПКСК9 может уменьшать действие статинов на клиренс ХС-ЛНП из кровотока. За счет ингибирования связывания ПКСК9 с Р-ЛНП и, соответственно, предотвращения деградации Р-ЛНП, эффективность статинов повышается. Суммируя выше сказанное, ингибирование ПКСК9 дает новый подход к управлению уровнем липидов.

Для лечения высокого уровня ХС-ЛНП недавно были разрешены два антитела к ПКСК9, алирокумаб/Praluent® и эволокумаб/Repatha®. Их вводят подкожными инъекциями 1 мл каждые две недели. Тем не менее, комплаентность такой схемы введения дозы препарата для подкожного введения, особенно в случае бессимптомного состояния, может быть спорной.

Последовательность ЭФР(А) (подобный эпидермальному фактору роста домен А) (40 аминокислот) рецептора ЛНП (Р-ЛНП-(293-332)) хорошо известна как сайт для связывания ПКСК9. Было показано, что выделенный пептид ЭФР(А) дикого типа ингибирует связывание ПКСК9 с Р-ЛНП при значениях IC_{50} в диапазоне низких мкМ (Biochemical and Biophysical Research Communications 375 (2008) 69-73). Такая низкая

удельная активность препятствует практическому фармацевтическому применению пептида ЭФР(А). Более того, ожидается, что период полувыведения таких пептидов будет слишком коротким, для того чтобы он имел терапевтическое применение.

Аналоги ЭФР(А) и их молекулы слияния с Fc-фрагментом раскрыты в следующих источниках: WO 2012177741 и J. Mol. Biol. (2012) 422, 685-696.

До сих пор сохраняется необходимость в усовершенствовании лечения пациентов, например, в плане эффективности, а также, или как вариант, в плане удобства, комфорта для пациентов, например, комфорта и удобства способа введения, и связанной с этим комплаентности.

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Настоящее изобретение относится к новым соединениям ЭФР(А), которые обладают потенциалом для улучшенного лечения пациентов, в частности, в области снижения уровня холестерина, дислипидемии и сердечно-сосудистых заболеваний.

В одном аспекте изобретение предлагает соединения с улучшенными фармакокинетическими (ФК) свойствами. В частности, соединения по изобретению имеют большой период полувыведения, и при этом демонстрируют хорошую способность ингибировать связывание ПКСК9 с Р-ЛНП.

Кроме того, или как вариант, в другом аспекте настоящего изобретения предложены соединения ЭФР(А) с улучшенной способностью ингибировать связывание ПКСК9 с Р-ЛНП или, альтернативно, в другом аспекте настоящего изобретения предложены соединения с улучшенной связывающей способностью с ПКСК9. Кроме того, или как вариант, в другом аспекте настоящего изобретения предложены соединения ЭФР(А) с пролонгированным периодом полувыведения. Кроме того, или как вариант, в другом аспекте настоящего изобретения предложены соединения ЭФР(А) с пролонгированным периодом полувыведения и без потери или без существенной потери способности ингибировать связывание ПКСК9 с Р-ЛНП. Кроме того, или как вариант, в другом аспекте настоящего изобретения предложены соединения ЭФР(А) с пролонгированным полувыведения и сохраненной связывающей способностью. В одном аспекте настоящего изобретения предложены соединения ЭФР(А) с высокой стабильностью в жидкой форме, подходящие для жидких лекарственных форм. В одном аспекте настоящего изобретения предложены соединения ЭФР(А) с высокой стабильностью in vivo. Кроме того, или как вариант, в другом аспекте настоящего изобретения предложены соединения с потенциальной возможностью для перорального введения. Кроме того, или как вариант, в другом аспекте настоящего изобретения предложены соединения ЭФР(А) с потенциальной возможностью для более удобного лечения для пациента. Кроме того, или как вариант, в другом аспекте настоящего изобретения предложены соединения с потенциальной возможностью улучшения комплаентности пациента. Настоящее изобретение может также решить другие проблемы, что будет очевидно из подробного описания примеров воплощения.

В одном аспекте настоящее изобретение относится к соединению, включающему пептидный аналог ЭФР(А) пептида ЭФР(А), определенный последовательностью SEQ ID NO.: 1: Gly-Thr-Asn-Glu-Cys-Leu-Asp-Asn-Asn-Gly-Gty-Cys-Ser-His-Val-Cys-Asn-Asp-Leu-Lys-Ile-Gly-Tyr-Glu-Cys-Leu-Cys-Pro-Asp-Gly-Phe-Gln-Leu-Val-Ala-Gln-Arg-Arg-Cys-Glu, причем указанный пептидный аналог включает 301Leu.

В одном аспекте настоящее изобретение относится к производному ЭФР(А), включающему пептидный аналог ЭФР(А), включающий 301 Leu и по меньшей мере один заместитель, включающий по меньшей мере одну группу жирной кислоты.

В одном воплощении производное ЭФР(А) включает пептидный аналог ЭФР(А), в

котором, как описано выше, аминокислота 301 представляет собой Leu(L), при этом указанный пептид дополнительно включает остаток(ки) дикого типа в одном или нескольких положениях 295 (Asn/N), 296 (Glu/E), 298 (Leu/L), 302 (Gly/G)H310 (Asp/D).

В дополнительных воплощениях пептидный аналог ЭФР(А) производного ЭФР(А) имеет 1-15 аминокислотных замен по сравнению с последовательностью SEQ ID NO: 1.

Еще в одном воплощении заместитель производного ЭФР(А) не присоединен к пептидному аналогу ЭФР(А) через аминокислотный остаток в любом из положений 295, 298, 301, 302, 307 и 310.

Еще в одном воплощении заместитель присоединен к пептидному аналогу ЭФР(А) через аминокислотный остаток, отличный от положений 295, 298, 301, 302,307 и 310.

В одном аспекте настоящее изобретение относится к пептидному аналогу ЭФР(А) домена ЭФР(А) в Р-ЛНП, определенному последовательностью SEQ ID NO.: 1, при этом указанный пептидный аналог включает 301 Leu и 310Asp и при этом указанный пептидный аналог содержит аминокислотную замену 312Lys или указанный пептидный аналог не содержит замену 299Asp на Glu, Val или His.

В дополнительных воплощениях указанные пептидные аналоги ЭФР(А) содержат один, два, три, четыре или все пять из следующих аминокислотных остатков (дикого типа): 295Asn, 296Glu, 298Leu, 302Gly и 310Asp/D.

Еще в одном воплощении указанный пептидный аналог включает три дисульфидных мостика в положениях 297Cys-308Cys, 304Cys-317Cys и 319Cys-331Cys.

В другом аспекте настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции, включающей соединение по настоящему изобретению.

В другом аспекте настоящее изобретение относится к соединению по настоящему изобретению для применения в качестве медицинского средства.

В другом аспекте настоящее изобретение относится к медицинскому применению соединений по настоящему изобретению.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ФИГУР

На Фиг. 1 показан уровень экспрессии печеночного Р-ЛНП у мышей, определенный с помощью вестерн-блоттинга, представленный в виде диаграммы рассеяния для отдельных животных.

На Фиг. 2 показан уровень холестерина ЛНП плазмы крови у хомячков, которым вводили носитель или соединения ЭФР(А) пролонгированного действия по Примеру 2.

На Фиг. 3 показан уровень экспрессии печеночного Р-ЛНП в печени хомячков, которым вводили носитель или соединения ЭФР(А) пролонгированного действия по Примеру 2, измеренный с помощью вестерн-блоттинга.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ПЕРЕЧНЯ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ Аминокислотная последовательность ЭФР(А) дикого типа (Р-ЛНП(293-332)) включена в перечень последовательностей как SEQ ID NO.: 1. Последовательности SEQ ID NO.: 2-78 представляют собой аминокислотные последовательности пептидов ЭФР(А) конкретных примеров соединений ЭФР(А) по настоящему изобретению.

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Здесь и далее греческие буквы можно представлять их символом или соответствующим написанным названием, например: α = альфа; β = бета; ε = эпсилон; γ = гамма; δ = дельта; ω = омега; и т.п. Кроме того, греческую букву μ можно обозначить как "u", например μl=ul, или μM=uM.

Здесь и далее "один" означает "один или более". Если не указано иное в описании,

термины, представленные в форме единственного числа, также включают случаи множественного числа.

Звездочка (*) в химической формуле обозначает i) место присоединения, ii) радикал и/или ill) неспаренный электрон.

В своем первом аспекте настоящее изобретение относится к соединению, включающему пептидный аналог последовательности SEQ ID NO.: 1 и по меньшей мере один заместитель, включающий по меньшей мере одну группу жирной кислоты или ее фармацевтически приемлемую соль, амид или сложный эфир.

Во втором аспекте настоящее изобретение относится к пептидному аналогу последовательности SEQ ID NO.: 1, который можно рассматривать как промежуточный продукт для получения производных по настоящему изобретению.

В третьем аспекте настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции, включающей соединение по настоящему изобретению и фармацевтически приемлемый эксципиент, в частности, подходящей для перорального введения; и применение соединения по настоящему изобретению в качестве медицинского средства. Дальнейшие аспекты настоящего изобретения описаны ниже.

Структурные характеристики

Соединение ЭФР(А)

Термин "соединение ЭФР(А)" применяется в настоящем документе в общем случае для обозначения соединения, включающего пептид ЭФР(А), охватывающий Р-ЛНП (293-332) дикого типа, определенный последовательностью SEQ ID NO.: 1, и его аналоги. Термин «соединение ЭФР(А)» охватывает производные пептида ЭФР-(А) и его аналоги, например пептидные аналоги ЭФР(А) с заместителем, описанным в настоящем документе, представляют собой типичный пример соединения ЭФР(А).

Пептиды ЭФР(А)

Термин "пептид", например, применяемый в контексте настоящего изобретения, относится к соединению, которое включает ряд аминокислот, связанных между собой амидными (или пептидными) связями. В конкретном воплощении такой пептид состоит из аминокислот, связанных между собой пептидными связями.

Пептид по настоящему изобретению включает по меньшей мере 35, например 36, 37, 38, 39 или по меньшей мере 40 аминокислот. В конкретном воплощении такой пептид составлен из 36, например 38 или 40 аминокислот. Еще в одном частном воплощении такой пептид состоит из 35, 36, 37, 38, 39 или 40 аминокислот.

При наличии добавочных аминокислот, обозначаемых в настоящем документе как N-концевые и С-концевые элонгации, пептид по настоящему изобретению может включать вплоть до 140 аминокислот. В одном воплощении пептид по настоящему изобретению может включать или состоять из 41 аминокислотных остатков. В конкретном воплощении он включает 40-140, 40-120, 40-100, 40-80, 40-60 или 40-50 аминокислот.

Термины "домен ЭФР(А) Р-ЛНП", "Р-ЛНП (293-332)", "нативный Р-ЛНП (293-332), "ЭФР(А) (293-332)", -ЭФР(А) дикого типа" или "нативный ЭФР(А)", используемые в настоящем документе, обозначают пептид, состоящий из последовательности SEQ ID NO.: 1.

SEQ ID NO.: 1 представляет собой:

Gly-Thr-Asn-Glu-Cys-Leu-Asp-Asn-Asn-Gly-Gly-Cys-Ser-His-Val-Cys-Asn-Asp-Leu-Lys-Ile-Gly-Tyr-Glu-Cys-Leu-Cys-Pro-Asp-Gly-Phe-Gln-Leu-Val-Ala-Gln-Arg-Arg-Cys-Glu.

В этой формуле нумерация аминокислотных остатков соответствует нумерации для домена ЭФР(А) Р-ЛНП (Р-ЛНП-(293-332)), при этом указанный первым (N-концевой)

аминокислотный остаток нумеруется или соответствует положению №293, и последующие аминокислотные остатки по направлению к С-концу нумеруются как 294, 295, 296 и так далее, вплоть до последнего (С-концевого) аминокислотного остатка, который в домене ЭФР(А) Р-ЛНП представляет собой Glu под номером 332.

В перечне последовательностей нумерацию проводят другим образом, при этом первому аминокислотному остатку последовательности SEQ ID NO.: 1 (Gly) приписан №1, а последнему (Glu) №40. То же самое относится к остальным последовательностям из перечня последовательностей, т.е. N-концевой аминокислоте приписывают №1, независимо от ее положения относительно аминокислоты 293Gly или аминокислотного остатка, замещающего аминокислоту в положении 293, посредством ссылки на Р-ЛНП (293-332). Тем не менее, в данном документе нумерация положений аминокислот дана со ссылкой на Р-ЛНП(293-332), как объясняется выше.

Настоящее изобретение относится к аналогам пептида ЭФР(А), определенного последовательностью SEQ ID NO.: 1, и производным таких пептидных ЭФР(А)-аналогов домена ЭФР(А) Р-ЛНП дикого типа, определенного последовательностью SEQ ID NO.: 1.

Термин "аналог" в общем случае относится к пептиду, последовательность которого имеет одну или более аминокислотных изменений, по сравнению со стандартной аминокислотной последовательностью.

Термины "аналог по настоящему изобретению", "пептидный аналог по настоящему изобретению", "аналог Р-ЛНП(293-332)", "аналог ЭФР(А)" или "аналог последовательности SEQ ID NO.: 1", используемые в настоящем документе, могут относиться к пептиду, последовательность которого включает аминокислотные замены, т.е. замещение аминокислоты относительно последовательности SEQ ID NO.: 1. Термин "аналог" может также включать аминокислотные элонгации в N-концевом и/или С-концевом положениях и/или укорочения в N-концевом и/или С-концевом положениях.

Степень идентичности относительно последовательности SEQ ID NO.: 1 можно рассчитать, определив число аминокислот, которые не были изменены относительно SEQ ID NO.: 1. Последовательность SEQ ID NO.: 1 состоит из 40 аминокислотных остатков, и если введены три аминокислотные замены, степень идентичности составит 37/40%=92,5%. Если изменено 5 аминокислотных остатков, степень идентичности составляет 87,5%. Если пептид содержит N-концевую или С-концевую элонгацию, эту часть обычно не включают в сравнение, тогда как делеция одной или более аминокислот укорачивает сравниваемую молекулу. Например, в приведенных выше примерах, если удалена N-концевая аминокислота, степень идентичности слегка понижается, соответственно, до 36/39X100% и 34/39X100%. При обсуждении идентичности последовательности основной цепи производного, аминокислотный остаток заместителя, например остаток, к которому присоединен заместитель, также обозначаемый как аминокислотный остаток заместителя, может быть как дикого типа, так и замещенной аминокислотой. Если аминокислотный остаток заместителя представляет собой остаток дикого типа, например N-концевой Gly или 312K, такой остаток включают в расчет степени идентичности, тогда как остаток Lys в любом другом положении от 293 до 332 может представлять собой аминокислотную замену, и его не включают в расчет аминокислотной идентичности относительно SEQ ID NO.: 1.

В одном воплощении пептидный аналог ЭФР(А) имеет 1-15 аминокислотных замен, по сравнению с SEQ ID NO.: 1. В одном воплощении пептидный аналог ЭФР(А) имеет 1-10 аминокислотных замен, по сравнению с SEQ ID NO.: 1. В одном воплощении пептидный аналог ЭФР(А) имеет 1-8 аминокислотных замен по сравнению с SEQ ID

NO.: 1, например, 1-7, 1-6, 1-5 аминокислотных замен по сравнению с SEQ ID NO.: 1. В конкретном воплощении может присутствовать вплоть до 7 аминокислотных замен, например вплоть до 6, 5, 4, 3, 2 или 1 аминокислотных замен могут присутствовать в пептидном аналоге ЭФР-1.

В одном воплощении аналог по настоящему изобретению имеет идентичность по меньшей мере 75%, например 80%, например 85%, например 90% или даже идентичность 95% относительно SEQ ID NO.: 1, что соответствует вплоть до 10, 8, 6, 4 и 2 аминокислотных замен относительно SEQ ID NO.: 1, соответственно, в случае отсутствия укорочения.

Каждый из указанных пептидных аналогов по настоящему изобретению может быть описан посредством ссылки на i) номер аминокислотного остатка в нативном ЭФР(А) (Р-ЛНП(293-332)), соответствующий тому аминокислотному остатку, который был изменен (т.е. соответствующее положение в нативном Р-ПНП(293-332) ЭФР(А)), и на ii) фактическое изменение.

Иными словами, пептидные аналоги по настоящему изобретению можно описать посредством ссылки на нативный пептид ЭФР(А) Р-ЛНП(293-332), а именно, как на его вариант, в котором несколько аминокислотных остатков было изменено, по сравнению с нативным ЭФР(А) Р-ЛНП(293-332) (SEQ ID NO.: 1). Эти изменения могут представлять собой, независимо, одну или более аминокислотных замен.

Ниже представлены неограничивающие примеры подходящей номенклатуры аналогов.

Пептид ЭФР(А), включенный в производное по Примеру 2 в настоящем документе, может быть обозначен как следующий аналог ЭФР(А) Р-ЛНП(293-332): (301 Leu, 309Arg) ЭФР(А) Р-ЛНП(293-332), или (Leu301, Arg309)-ЭФР(А) Р-ЛНП(293-332), или (301L,309R) Р-ЛНП(293-332), или (L301,R309) Р-ЛНП(293-332). Это означает, что если указанный аналог пространственно выравнивают с нативным Р-ЛНП(293-332), он имеет i) Leu в положении в аналоге, которое соответствует, согласно пространственному выравниванию, положению 301 в нативном ЭФР(А) Р-ЛНП(293-332), ii) Arg в положении в аналоге, которое соответствует положению 309 в нативном ЭФР(А) Р-ЛНП(293-332).

Аналоги, "включающие" конкретные указанные изменения, могут включать дополнительные изменения, по сравнению с SEQ ID NO.: 1.

В конкретном воплощении такой аналог "имеет" или "включает" указанные изменения. В конкретном воплощении такой аналог "состоит из" изменений. Если применяют термин "состоит" или "состоящий" в отношении аналога, например, аналог «состоит» или «состоящий» группы конкретных аминокислотных замен, следует понимать, что указанные аминокислотные замены представляют собой единственные аминокислотные замены в указанном пептидном аналоге. Напротив, аналог, "включающий" группу указанных аминокислотных замен, может включать также дополнительные замены.

Как очевидно из приведенных выше примеров, аминокислотные остатки можно идентифицировать по их полному названию, их однобуквенному коду, и/или их трехбуквенному коду. Эти три способа полностью эквивалентны.

Выражения "положение, эквивалентное…" или "соответствующее положение" можно применять для указания сайта изменения в варианте последовательности ЭФР(А) Р-ЛНП(293-332) посредством ссылки на стандартную последовательность нативного ЭФР(А) Р-ЛНП(293-332) (SEQ ID NO.: 1). Эквивалентные или соответствующие положения, равно как и число изменений, можно легко вывести, например, простым написанием и визуальной оценкой; и/или можно применять стандартную программу

для пространственного выравнивания белков или пептидов, такую как "align", которая основана на алгоритме Нидлмана-Вунша.

Здесь и далее, может оказаться так, что химическая формула определена таким образом, что две последовательные химические группы могут обе быть выбраны как "связь". В таких случаях такие две последовательные химические группы могут по факту отсутствовать, и только одна связь будет соединять окружающие химические группы.

Аминокислоты представляют собой молекулы, содержащие аминогруппу и карбоксильную группу, и, возможно, одну или более дополнительных групп, часто обозначаемых как боковая цепь.

Термин "аминокислота" включает протеиногенные (или природные) аминокислоты (среди них 20 стандартных аминокислот), а также непротеиногенные (или неприродные) аминокислоты. Протеиногенные аминокислоты представляют собой те, которые в природе встраиваются в белки. Стандартные аминокислоты представляют собой те, которые кодируются генетическим кодом. Непротеиногенные аминокислоты представляют собой как те, которые не присутствуют в белках, так и те, которые не синтезируются по стандартному клеточному механизму (например, они могли подвергаться посттрансляционной модификации). Неограничивающими примерами непротеиногенных аминокислот являются Aib (α-аминоизомасляная кислота, или 2-аминоизомасляная кислота), норлейцин, норвалин, а также D-изомеры протеиногенных аминокислот.

Здесь и далее каждая аминокислота пептидов по настоящему изобретению, для которой не указан оптический изомер, подразумевается как L-изомер (если не указано иное).

Пептидные аналоги по настоящему изобретению

Один аспект настоящего изобретения относится к аналогу пептида по SEQ IDNO.: 1.

Пептидные аналоги по настоящему изобретению можно определить как пептиды, включающие аминокислотную последовательность, которая представляет собой аналог последовательности SEQ ID NO.: 1. Пептидные аналоги по настоящему изобретению обладают способностью связываться с ПКСК9. В конкретном воплощении такие аналоги по настоящему изобретению обладают улучшенной способностью связываться с ПКСК9, например, по сравнению с нативным Р-ЛНП(293-332) (нативный ЭФР-(А)) или с другими ПКСК9-связывающими соединениями.

Пептидные аналоги по настоящему изобретению обладают способностью ингибировать связывание ПКСК9 с Р-ЛНП. В одном воплощении такой пептид представляет собой ингибитор ПКСК9. В одном воплощении указанный пептид ингибирует связывание ПКСК9 с человеческим рецептором липопротеинов низкой плотности (Р-ЛНП). Такое связывание можно оценить с помощью анализа, описанного в Примере D.1.1 настоящего документа. В одном воплощении пептидные аналоги и пептидные производные по настоящему изобретению представляют собой пептиды-ингибиторы ПКСК9 или просто ингибиторы ПКСК9. В одном воплощении настоящее изобретение относится к пептидному аналогу последовательности SEQ ID NO.: 1, который способен ингибировать связывание ПКСК9 с человеческим рецептором липопротеинов низкой плотности (Р-ЛНП).

В одном воплощении пептидные аналоги, соединения или ингибиторы ПКСК9 по настоящему изобретению обладают улучшенной способностью связывать ПКСК9, по сравнению с ЭФР(А), Р-ЛНП(293-332) (SEQ ID NO.: 1).

В одном воплощении пептидные аналоги, соединения или ингибиторы ПКСК9 по настоящему изобретению обладают улучшенной способностью связывать ПКСК9, по сравнению с Пр. 48 (SEQ ID NO.: 2).

В одном воплощении значение K_i пептидных аналогов, соединений или ингибиторов ПКСК9, описанных настоящем документе, измеренное в конкурентном иммуноферментном анализе (ИФА) связывания ПКСК9-Р-ЛНП, составляет ниже 10 нМ, например ниже 8 нМ или например ниже 5 нМ.

Функциональность аналогов ЭФР-(А) и их производных можно дополнительно характеризовать по их способности улучшать захват ЛНП, например, как описано в Примере D1.2 настоящего документа. В одном воплощении пептидные аналоги, соединения или ингибиторы ПКСК9 по настоящему изобретению повышают захват ЛНП в присутствии ПКСК9. В одном воплощении пептидные аналоги, соединения или ингибиторы ПКСК9 по настоящему изобретению способны обращать или снижать ПКСК9-опосредованное снижение захвата ЛНП.

В одном воплощении пептидные аналоги, соединения или ингибиторы ПКСК9 по настоящему изобретению имеют значение ЕС50, измеренное в анализе захвата ЛНП, составляющее ниже 1500 нМ, например ниже 1000 нМ или например ниже 500 нМ.

В одном воплощении пептидный аналог по настоящему изобретению можно определить как включающий по меньшей мере 1 замену аминокислоты, по сравнению с SEQ ID NO.: 1, и, возможно, элонгацию. В одном воплощении пептидный аналог по настоящему изобретению можно определить как включающий вплоть до 15, вплоть до 14, вплоть до 13, вплоть до 12, вплоть до 11, вплоть до 10, вплоть до 9, вплоть до 8, вплоть до 7, вплоть до 6, вплоть до 5, вплоть до 4, вплоть до 3, вплоть до 2 или 1 замен (у) аминокислот(ы), по сравнению с SEQ ID NO.: 1, и, возможно, элонгацию. Это означает, что пептид, включающий элонгацию на N-конце и/или на С-конце, может включать вплоть до 15 аминокислотных замен в положениях от 293 до 332, в дополнение к указанной элонгации.

Аминокислотную "элонгацию" можно также обозначить как "удлинение". В одном воплощении пептидные аналоги по настоящему изобретению включают элонгацию. Такая элонгация может представлять собой добавление вплоть до 50 аминокислотных остатков в SEQ ID NO.: положении последовательности SEQ ID NO.: 1 или ее аналога, и ее также обозначают как N-концевая элонгация, и это означает, что пептид по настоящему изобретению может включать вплоть до 50 аминокислот от положения 292 и вплоть до, например положения 242. Кроме того, или как вариант, такая элонгация может представлять собой добавление вплоть до 50 аминокислотных остатков в С-концевом положении последовательности SEQ ID NO.: 1 или ее аналога, и ее также обозначают как С-концевая элонгация, и это означает, что пептид по настоящему изобретению может включать вплоть до 50 аминокислот от положения 333 вплоть до, например, положения 383.

Указанная элонгация может присутствовать на N-конце или на С-конце, либо на обоих концах. Указанная элонгация может быть также любой длины между 0 и 50 аминокислот на каждой стороне, независимо одна от другой. В одном воплощении такие пептидные аналоги по настоящему изобретению включают N-концевую элонгацию из 1-50, 1-40, 10-40, 1-30, 10-30, 20-30, 20-40, 20-50, 30-50, 1-10, 11-20, 21-30, 31-40 или 41-50 аминокислотных остатков или 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49 или 50 аминокислотных остатков. В дополнение к этому, или как вариант, пептидные аналоги по настоящему изобретению могут включать С-концевую элонгацию

из 1-50, 1-40, 10-40, 1-30, 10-30, 20-30, 20-40, 20-50, 30-50, 1-10, 11-20, 21-30, 31-40 или 41-50 аминокислотных остатков или из 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17,18, 19,20,21,22,23,24,25,26,27, 28, 29, 30, 31, 32, 33,34,35,36,37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49 или 50 аминокислотных остатков.

Элонгацию в некоторых ситуациях можно называть заменой, поскольку вводят новый аминокислотный остаток, такой как 292A, 292Lys или 333Lys, приведенный в качестве примера в настоящем документе.

В пептидном аналоге ЭФР(А) могут присутствовать небольшие укорочения на N-конце и/или C-конце пептида ЭФР(А).

В одном воплощении такой пептид ЭФР(А) включают по меньшей мере 35 аминокислотных остатков, например 36 аминокислотных остатков, например 37 аминокислотных остатков, например 38 аминокислотных остатков или, например, 39 аминокислотных остатков. В одном воплощении указанный пептидный аналог ЭФР (А), соответственно, включает N-концевое укорочение из 1-2 аминокислотных остатков. В одном воплощении один или два N-концевых аминокислотных остатка удалены. В дополнительных воплощениях указанный пептидный аналог ЭФР(А), соответственно, включает N-концевое укорочение с удалением по меньшей мере или например аминокислоты 293Gly.

В дополнительных воплощениях указанный пептидный аналог ЭФР(А) включает N-концевое укорочение с удалением по меньшей мере или например 293Gly-294Thr.

В одном воплощении указанный пептидный аналог ЭФР(А) включает C-концевое укорочение 1 аминокислотного остатка. В одном воплощении удален единственный C-концевой аминокислотный остаток. В одном воплощении указанный пептидный аналог включает C-концевое укорочение с удалением, например, аминокислоты 332Glu.

Кроме этого, или как вариант, пептидный аналог по настоящему изобретению может включать по меньшей мере одну аминокислотную элонгацию на N-конце или на C-конце, например в положении 292 и/или 333.

Пептидный аналог ЭФР(А) по настоящему изобретению включает аминокислотную замену аминокислотного остатка 301 с Asn на Leu, также описываемую как Asn301Leu или просто 301 Leu. В конкретном воплощении указанный пептидный аналог ЭФР(А) включает замену 301 Leu.

Кроме этого, или как вариант, пептидный аналог ЭФР(А) включает аминокислотные остатки 297Cys, 304Cys, 308Cys, 317Cys, 319Cys и 331Cys. Такие остатки Cys представляют собой остатки дикого типа, которые могут участвовать в образовании дисульфидных мостиков, например дисульфидных мостиков между 297Cys и 308Cys, между 304Cys и 317Cys и между 319Cys и 331Cys.

В одном воплощении пептидный аналог ЭФР(А) включает 301Leu и несколько дополнительных аминокислотных замен, описанных выше.

В одном воплощении пептидный аналог ЭФР(А) включает 301Leu, 310Asp и аминокислотную замену 312Lys.

В одном воплощении пептидный аналог ЭФР(А) включает 301Leu и 310Asp и при этом указанный пептидный аналог не содержит замену 299Asp на Glu, Val или His.

В одном воплощении пептидный аналог ЭФР(А) включает 301Leu, 309Arg и 312Glu.

В одном воплощении пептидный аналог ЭФР(А) включает 301Leu и 309Arg при условии, что указанный пептидный аналог не содержит замену 310Asp на 310Lys или

В одном воплощении пептидный аналог ЭФР(А) включает 301Leu и 309Arg при условии, что указанный пептидный аналог не содержит замену 299Asp на Glu, Val или His.

Еще в одном воплощении указанный пептидный аналог не содержит какую-либо из замен D310K, D310N, D310Q, D310Q, D310R и D310A или даже любую замену 310Asp.

В одном воплощении указанный пептидный аналог ЭФР(А) включает один, два, три или все четыре остатка дикого типа: 295Asn, 296Glu, 298Leu и 302Gly.

В одном воплощении указанный пептидный аналог ЭФР(А) включает один, два, три, четыре или все пять остатков дикого типа: 295Asn, 296Glu, 298Leu, 302Cly и 310Asp.

В одном воплощении указанный пептид содержит 295Asn.

В одном воплощении указанный пептидный аналог содержит 296Glu. В одном воплощении указанный пептидный аналог содержит 298Leu. В одном воплощении указанный пептидный аналог содержит 302Gly. В одном воплощении указанный пептидный аналог содержит 310Asp.

В одном воплощении указанный пептидный аналог содержит два или более из 310Asp, 295Asn и 296Glu. В одном воплощении указанный пептидный аналог содержит все три из 310Asp, 295Asn и 296Glu.

Пептидный аналог ЭФР(А) может включать дополнительные аминокислотные замены, описанные настоящем документе. В одном воплощении такой аналог по настоящему изобретению может дополнительно включать одну или более аминокислотных замен в положении(ях), выбранных из группы положений: 293, 294, 296, 299, 300, 303, 305, 306, 309, 311, 312, 313, 314, 315, 316, 318, 320, 321, 322, 323, 324, 325, 326, 328, 329, 330 и 332.

В одном воплощении аналог по настоящему изобретению может дополнительно включать одну или более аминокислотных(ую) замен(у) в положении(ях), выбранных из группы положений: 293, 294, 299, 300, 303, 305, 306, 309, 311, 312, 313,314, 316, 318, 321, 322, 323, 324, 325, 326, 328, 329, 330, 331 и 332.

В одном воплощении аналог по настоящему изобретению может дополнительно включать одну или более аминокислотных(ую) замен(у) в положении(ях), выбранных из 294, 299, 300, 303, 309, 312, 313, 314, 316, 318, 321, 322,323, 324, 325,326,328,329,330 и 332.

В одном воплощении аналог по настоящему изобретению может дополнительно включать одну или более аминокислотных(ую) замен(у) в положении(ях), выбранных из 299, 300, 309, 313, 316, 318, 321, 322, 323, 324, 326, 328, 329, 330 и 332.

В одном воплощении аналог по настоящему изобретению может дополнительно включать одну или более аминокислотных(ую) замен(у) в положении(ях), выбранных из группы положений: 309, 312, 313, 321, 324, 328 и 332.

Еще в одном воплощении указанный пептидный аналог включает либо аминокислотный остаток дикого типа, либо другой остаток, т.е. аминокислотную замену в конкретных определенных положениях, в дополнение к аминокислотным остаткам, указанным в настоящем документе выше.

В одном таком воплощении аналог по настоящему изобретению включает аминокислотный остаток Gly(G) или Asn(N) в положении 293.

В одном таком воплощении аналог по настоящему изобретению включает аминокислотный остаток Trp(W), Thr(T) или Gly(G) в положении 294.

В одном таком воплощении аналог по настоящему изобретению включает аминокислотный остаток Asp(D), Gly(G), Pro(P), Arg(R), Lys(K), Ser(S), Thr(T), Asn(N), Gln(Q), Ala(A), Ile(l), Leu(L), Met(M), Phe(F), Tyr(Y) или Trp(W) в положении 299.

В одном таком воплощении аналог по настоящему изобретению включает аминокислотный остаток Asp(D), Gly(G), Pro(P), Arg(R), Lys(K), Ser(S), Thr(T), Asn(N), Gln(Q), Ala(A), Met(M), Phe(F), Tyr(Y) или Trp(W) в положении 299.

В одном таком воплощении аналог по настоящему изобретению включает аминокислотный остаток Asp(D), Ser(S), Arg(R), Leu(L), Ala (A), Lys(K) или Tyr(Y) в положении 299.

В одном таком воплощении аналог по настоящему изобретению включает аминокислотный остаток Asp(D) или Ala(A) в положении 299.

В одном таком воплощении аналог по настоящему изобретению включает аминокислотный остаток His(H) или Asn(N) в положении 300.

В одном таком воплощении аналог по настоящему изобретению включает аминокислотный остаток Val(V), Ser(S), Thr(T) или Ile(I) в положении 307.

В одном таком воплощении аналог по настоящему изобретению включает аминокислотный остаток Val(V) или Ile(I) в положении 307.

В одном таком воплощении аналог по настоящему изобретению включает Ser(S), Thr(T) или Ile(I) в положении 307.

В одном таком воплощении аналог по настоящему изобретению включает Ile(I) в положении 307.

В одном таком воплощении аналог по настоящему изобретению включает аминокислотный остаток Asn(N), Glu(E), His(H,) Arg(R), Ser(S) или Lys(K) в положении 309.

В одном таком воплощении аналог по настоящему изобретению включает аминокислотный остаток Asn(N), Arg(R), Ser(S) или Lys(K) в положении 309.

В одном таком воплощении аналог по настоящему изобретению включает аминокислотный остаток Asn(N), Arg(R) или Ser(S) в положении 309.

В одном таком воплощении аналог по настоящему изобретению включает аминокислотный остаток Asn(N) или Arg(R) в положении 309.

В одном таком воплощении аналог по настоящему изобретению включает аминокислотный остаток Lys(K) или Arg(R) в положении 309.

Пептидный аналог ЭФР(А) может включать несколько аминокислотных замен, описанных настоящем документе, например одну или более аминокислотных замен, выбранных из группы: 299Ala, 307Ile и 321Glu.

В дополнительных воплощениях пептидный аналог ЭФР(А) включает аминокислотный остаток Asp(D), Lys(K) или Glu(E) в положении 321.

В дополнительных воплощениях пептидный аналог ЭФР(А) включает аминокислотный остаток Asp(D) или Glu(E) в положении 321.

В дополнительных воплощениях пептидный аналог ЭФР(А) включает аминокислотный остаток Glu(E) в положении 321.

В дополнительных воплощениях пептидный аналог ЭФР(А) включает аминокислотный остаток Gln(Q) или Gly(G) в положении 324.

В дополнительных воплощениях пептидный аналог ЭФР(А) включает аминокислотный остаток Arg(R) или His(H) в положении 329.

В дополнительных воплощениях пептидный аналог ЭФР(А) не содержит замену 300Asn(N) на Pro(P).

Домен ЭФР(А) Р-ЛНП включает лизин в положении 312, который может быть полезен для замен, описанных настоящем документе. В тех воплощениях, где присоединение заместителя по положению 312 не желательно, 312Lys можно заменять другой аминокислотой, описанной настоящем документе.

В одном воплощении Lys в положении 312 замещен аминокислотным остатком, выбранным из: Gly, Pro, Asp, Glu, Arg, His, Ser, Thr, Asn, Gln, Ala, Val, Ile, Leu, Met, Phe и Tyr. В одном воплощении Lys в положении 312 замещен аминокислотным остатком,

выбранным из: Gly, Asp, Glu, Ser, Thr, Asn, Ala, Val, Ile, Leu, Phe и Tyr. В одном воплощении Lys в положении 312 замещен аминокислотным остатком, выбранным из: Asp, Glu, Thr, Asn, Ile, Leu, Phe и Tyr. В одном воплощении 312Lys замещен на 312Asp, 312Glu, 312Thr, 312Asn, 312Ile или 312Phe. В одном воплощении 312Lys замещен на 312Glu, 312Asp, 312Gln или 312Arg.

В одном воплощении 312Lys замещен на 312Glu, 312Thr, 312Asn, 312Ile, 312Phe или 312Tyr. В одном воплощении 312Lys замещен на 312Glu, 312Asn или 312Ile.

В одном воплощении 312Lys замещен на 312Glu или 312Arg. В одном воплощении 312Lys замещен на 312Arg. В одном воплощении 312Lys замещен на 312Glu.

Для включения возможности выбора для присоединения заместителя в различных положениях (см. ниже), Lys можно вводить аминокислотной заменой остатка дикого типа последовательности SEQ ID NO.: 1 или элонгацией пептида последовательности SEQ ID NO.: 1, например 292Lys или 333Lys.

В случае если желательно ввести более чем один заместитель, один из них можно ввести через 312Lys, а второй - через Lys, введенный элонгацией пептида или заменой в SEQ ID NO.: 1.

В одном воплощении пептидный аналог последовательности SEQ ID NO.: 1 включает по меньшей мере один остаток Lys в положении, выбранном из группы, состоящей из: 292Lys, 293Lys, 294Lys, 296Lys, 299Lys, 300Lys, 303Lys, 305Lys, 306Lys, 309Lys, 311Lys, 312Lys, 313Lys, 314Lys, 315Lys, 316Lys, 318Lys, 320Lys, 321Lys, 322Lys, 323Lys, 324Lys, 325Lys. 326Lys, 327Lys, 328Lys, 329Lys, 330Lys, 332Lys и 333Lys.

В одном воплощении пептидный аналог последовательности SEQ ID NO.: 1 включает по меньшей мере один остаток Lys в положении, выбранном из группы, состоящей из: 292Lys, 293Lys, 294Lys, 299Lys, 300Lys, 303Lys, 305Lys, 306Lys, 309Lys, 311Lys, 312Lys, 313Lys, 314Lys, 315Lys, 316Lys, 318Lys, 320Lys, 321Lys, 322Lys, 323Lys, 324Lys, 325Lys, 326Lys, 327Lys, 328Lys, 329Lys, 330Lys, 332Lys и 333Lys.

В одном воплощении пептидный аналог последовательности SEQ ID NO.: 1 включает по меньшей мере один остаток Lys в положении, выбранном из группы, состоящей из: 292Lys, 293Lys, 294Lys, 300Lys, 303Lys, 305Lys, 306Lys, 309Lys, 311Lys, 312Lys, 313Lys, 314Lys, 316Lys, 318Lys, 321Lys, 322Lys, 323Lys, 324Lys, 325Lys, 326Lys, 327Lys, 328Lys, 329Lys, 330Lys, 332Lys и 333Lys.

В одном воплощении пептидный аналог последовательности SEQ ID NO.: 1 включает по меньшей мере один остаток Lys в положении, выбранном из группы, состоящей из: 292Lys, 293Lys, 294Lys, 300Lys, 303Lys, 305Lys, 306Lys, 311Lys, 312Lys, 313Lys, 314Lys, 316Lys, 318Lys, 322Lys, 323Lys, 324Lys, 325Lys, 326Lys, 327Lys, 328Lys, 329Lys, 330Lys, 332Lys и 333Lys.

В одном воплощении пептидный аналог последовательности SEQ ID NO.: 1 включает по меньшей мере один остаток Lys в положении, выбранном из группы, состоящей из: 292Lys, 293Lys, 294Lys, 300Lys, 303Lys, 305Lys, 306Lys, 311Lys, 313Lys, 314Lys, 316Lys, 318Lys, 322Lys, 323Lys, 324Lys, 325Lys, 326Lys, 327Lys, 328Lys, 329Lys, 330Lys, 332Lys и 333Lys.

Кроме этого, или как вариант, пептидный аналог по настоящему изобретению включает по меньшей мере одну аминокислотную замену, выбранную из 292Lys, 293Lys, 294Lys, 295Lys, 296Lys, 298Lys, 299Lys, 301Lys, 302Lys, 303Lys, 305Lys, 306Lys, 307Lys, 309Lys, 310Lys, 311Lys, 313Lys, 314Lys, 315Lys, 316Lys, 318Lys, 320Lys, 321Lys, 322Lys, 323Lys, 324Lys, 325Lys, 326Lys, 327Lys, 328Lys, 329Lys, 330Lys, 332Lys и 333Lys.

Еще в одном воплощении пептидный аналог ЭФР(А) по настоящему изобретению включает по меньшей мере одну аминокислотную замену, выбранную из: 292Lys, 293Lys,

294Lys, 295Lys, 296Lys, 298Lys, 299Lys, 302Lys, 303Lys, 305Lys, 306Lys, 307Lys, 309Lys, 311Lys, 313Lys, 314Lys, 315Lys, 316Lys, 318Lys, 320Lys, 321Lys, 322Lys, 323Lys, 324Lys, 325Lys, 326Lys, 327Lys, 328Lys, 329Lys, 330Lys, 332Lys и 333Lys.

Еще в одном воплощении пептидный аналог ЭФР(А) по настоящему изобретению включает по меньшей мере одну аминокислотную замену, выбранную из 292Lys, 293Lys, 294Lys, 295Lys, 296Lys, 298Lys, 299Lys, 303Lys, 305Lys, 306Lys, 309Lys, 311Lys, 313Lys, 314Lys, 315Lys, 316Lys, 318Lys, 320Lys, 321Lys, 322Lys, 323Lys, 324Lys, 325Lys, 326Lys, 327Lys, 328Lys, 329Lys, 330Lys, 332Lys и 333Lys.

Еще в одном воплощении пептидный аналог ЭФР(А) по настоящему изобретению включает по меньшей мере одну аминокислотную замену, выбранную из 292Lys, 293Lys, 294Lys, 295Lys, 296Lys, 299Lys, 303Lys, 305Lys, 306Lys, 309Lys, 311Lys, 313Lys, 314Lys, 315Lys, 316Lys, 318Lys, 320Lys, 321Lys, 322Lys, 323Lys, 324Lys, 325Lys, 326Lys, 327Lys, 328Lys, 329Lys, 330Lys, 332Lys и 333Lys.

Еще в одном воплощении пептидный аналог ЭФР(А) по настоящему изобретению включает по меньшей мере одну аминокислотную замену, выбранную из 292Lys, 293Lys, 294Lys, 296Lys, 299Lys, 303Lys, 305Lys, 306Lys, 309Lys, 311Lys, 313Lys, 314Lys, 315Lys, 316Lys, 318Lys, 320Lys, 321Lys, 322Lys, 323Lys, 324Lys, 325Lys, 326Lys, 327Lys, 328Lys, 329Lys, 330Lys, 332Lys и 333Lys.

Еще в одном воплощении пептидный аналог ЭФР(А) по настоящему изобретению включает по меньшей мере одну аминокислотную замену, выбранную из 292Lys, 293Lys, 294Lys, 299Lys, 303Lys, 305Lys, 306Lys, 309Lys, 311Lys, 313Lys, 314Lys, 315Lys, 316Lys, 318Lys, 320Lys, 321Lys, 322Lys, 323Lys, 324Lys, 325Lys, 326Lys, 327Lys, 328Lys, 329Lys, 330Lys, 332Lys и 333Lys.

Еще в одном воплощении пептидный аналог ЭФР(А) по настоящему изобретению включает по меньшей мере одну аминокислотную замену, выбранную из 292Lys, 293Lys, 294Lys, 299Lys, 303Lys, 305Lys, 306Lys, 309Lys, 311Lys, 313Lys, 314Lys, 315Lys, 316Lys, 318Lys, 320Lys, 321Lys, 322Lys, 323Lys, 324Lys, 325Lys, 326Lys, 327Lys, 328Lys, 329Lys, 330Lys, 332Lys и 333Lys.

Еще в одном воплощении пептидный аналог ЭФР(А) по настоящему изобретению включает по меньшей мере одну аминокислотную замену, выбранную из 292Lys, 293Lys, 294Lys, 299Lys, 303Lys, 305Lys, 306Lys, 310Lys, 311Lys, 313Lys, 314Lys, 315Lys, 316Lys, 318Lys, 320Lys, 321Lys, 322Lys, 323Lys, 324Lys, 325Lys, 326Lys, 327Lys, 328Lys, 329Lys, 330Lys, 332Lys и 333Lys.

Еще в одном воплощении пептидный аналог ЭФР(А) по настоящему изобретению включает по меньшей мере одну аминокислотную замену, выбранную из 292Lys, 293Lys, 294Lys, 299Lys, 303Lys, 305Lys, 306Lys, 309Lys, 310Lys, 311Lys, 313Lys, 314Lys, 315Lys, 316Lys, 318Lys, 321Lys, 322Lys, 323Lys, 324Lys,325Lys, 326Lys, 327Lys, 328Lys, 329Lys, 330Lys, 332Lys и 333Lys.

Еще в одном воплощении пептидный аналог ЭФР(А) по настоящему изобретению включает по меньшей мере одну аминокислотную замену, выбранную из 292Lys, 293Lys, 294Lys, 303Lys, 305Lys, 306Lys, 310Lys, 311Lys, 313Lys, 314Lys, 315Lys, 316Lys, 318Lys, 321Lys, 322Lys, 323Lys, 324Lys, 325Lys, 326Lys, 327Lys, 328Lys, 329Lys, 330Lys, 332Lys и 333Lys. В одном воплощении пептидные аналоги по настоящему изобретению не включают какую-либо из следующих замен: 296K, 298K, 301K, 302K и 307K.

В одном воплощении пептидные аналоги по настоящему изобретению не включают какую-либо из следующих замен: 296K, 298K, 301K, 302K, 307K и 310K.

В одном воплощении пептидные аналоги по настоящему изобретению не включают какую-либо из следующих замен: 296K, 298K, 301K, 302K, 307 и 295K.

В одном воплощении пептидные аналоги по настоящему изобретению не включают какую-либо из следующих замен: 296K, 298K, 301K, 302K, 307K и 295D.

В конкретном воплощении пептидный аналог по настоящему изобретению включает 1 или 2 такие замены Lys.

Кроме этого, или как вариант, пептид по настоящему изобретению может включать 312Lys.

В одном воплощении пептидный аналог по настоящему изобретению включает два остатка Lys. В одном воплощении пептидный аналог по настоящему изобретению включает два остатка Lys, выбранных из пар, состоящих из:

i.	293K и 294K	xiv.	313K и 321K
ii.	293K и 312K	xv.	313K и 324K
iii.	293K и 333K	xvi.	313K и 328K
iv.	309K и 313K	xvii.	313K и 332K
v.	309K и 324K	xviii.	313K и 333K
vi.	309K и 328K	xix.	314K и 333K
vii.	309K и 332K	xx.	321K и 332K
viii.	309K и 333K	xxi.	321K и 333K
ix.	311K и 313K	xxii.	324K и 333K
x.	312K и 333K	xxiii.	324K и 328K
xi.	312K и 313K	xxiv.	328K и 333K
xii.	312K и 314K	xxv.	330K и 333K и
xiii.	313K и 314K	xxvi.	332K и 333K

Как видно выше из настоящего документа, настоящим изобретением предложены различные пептидные аналоги. Еще в одном воплощении пептидный аналог ЭФР(А) по настоящему изобретению включает по меньшей мере две аминокислотные замены, определенные любой из групп i-xxiv, показанных ниже, относительно последовательности SEQ ID NO.: 1.

И еще в одном воплощении пептидный аналог ЭФР(А) по настоящему изобретению состоит из аминокислотных замен, определенных любой из групп i-xxiv, приведенных ниже.

Еще в одном воплощении пептидный аналог ЭФР(А) по настоящему изобретению включает по меньшей мере две аминокислотные замены, определенные любой из групп i-xvi, приведенных ниже, относительно последовательности SEQ ID NO.: 1.

И еще в одном воплощении пептидный аналог ЭФР(А) по настоящему изобретению состоит из аминокислотных замен, определенных любой из групп i-xvi, приведенных ниже.

i. 301Leu и 309Arg
ii. 301Leu, 309Arg, 312Glu
iii. 301Leu, 307Ile и 309Arg
iv. 301Leu, 307Ile, 309Arg и 312Glu
v. 301Leu, 309Arg и 321Glu
vi. 301Leu, 309Arg, 321Glu и 312Glu
vii. 301 Leu, 307Ile, 309Arg и 299Ala
viii. 301Leu, 307Ile, 309Arg, 299Ala и 312Glu
ix. 301Leu и 309Arg и по меньшей мере одна замена Lys

x. 301Leu, 309Arg, 312Glu и по меньшей мере одна замена Lys
xi. 301Leu, 307Ile и 309Arg и по меньшей мере одна замена Lys
xii. 301Leu, 307Ile, 309Arg и 312Glu и по меньшей мере одна замена Lys
xiii. 301Leu, 309Arg и 321Glu и по меньшей мере одна замена Lys
xiv. 301Leu, 309Arg, 321Glu и 312Glu и по меньшей мере одна замена Lys
xv. 301Leu, 307Ile, 309Arg и 299Ala и по меньшей мере одна замена Lys или
xvi. 301Leu, 307Ile, 309Arg, 299Ala и 312Glu и по меньшей мере одна замена Lys.

Еще в одном воплощении пептидный аналог ЭФР(А) по настоящему изобретению включает по меньшей мере две аминокислотные замены, определенные любой из групп xvii-xx, приведенных ниже, относительно последовательности SEQ ID NO.: 1.

И еще в одном воплощении пептидный аналог ЭФР(А) по настоящему изобретению состоит из аминокислотных замен, определенных любой из групп xvii-xx, приведенных ниже.

xvii. 301Leu и 309Lys
xviii. 301 Leu, 309Lys и 312Glu
xix. 301Leu и 309Lys и по меньшей мере одна дополнительная замена Lys
xx. 301Leu, 309Lys и 312Glu и по меньшей мере одна дополнительная замена Lys.

Еще в одном воплощении пептидный аналог ЭФР(А) по настоящему изобретению включает по меньшей мере две аминокислотные замены, определенные любой из групп xxi-xxiv, приведенных ниже, относительно последовательности SEQ ID NO.: 1.

И еще в одном воплощении пептидный аналог ЭФР(А) по настоящему изобретению состоит из аминокислотных замен, определенных любой из групп xxi-xxiv, приведенных ниже.

xxi. 301Leu и 307Ile,
xxii. 301Leu, 307Ile и 312Glu
xxiii. 301 Leu и 307Ile и по меньшей мере одна дополнительная замена Lys и
xxiv. 301Leu, 3307Ile и 312Glu и по меньшей мере одна дополнительная замена Lys.

В других конкретных воплощениях указанный пептидный аналог или пептидный аналог соединений по настоящему изобретению включает или состоит из любой из аминокислотных последовательностей, заданных последовательностями SEQ ID NO.: 1-106.

В одном воплощении указанный пептидный аналог включает или состоит из любой из аминокислотных последовательностей, заданных последовательностями SEQ ID NO.: 2-106.

В одном воплощении указанный пептидный аналог включает или состоит из любой из аминокислотных последовательностей, заданных последовательностями SEQ ID NO.: 2-47 и 49-106.

В одном воплощении указанный пептидный аналог включает или состоит из любой из аминокислотных последовательностей заданных любой из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO.: 2-44, 46, 47 и 49-106.

В одном воплощении указанный пептидный аналог включает или состоит из любой из аминокислотных последовательностей, заданных последовательностями SEQ ID NO.: 2-44, 46, 47, 49-53, 55, 58-106.

В одном воплощении указанный пептидный аналог включает или состоит из любой из аминокислотных последовательностей, заданных последовательностями SEQ ID NO.: 2-4, 6-44, 46, 47, 49-53, 55, 58-106.

В одном воплощении указанный пептидный аналог включает или состоит из любой из аминокислотных последовательностей, заданных последовательностями SEQ ID

NO.: 2-4, 6-19, 21-44, 46, 47, 49-53, 55, 58-106.

Промежуточные соединения

Настоящее изобретение также относится к пептидным аналогам, которые могут быть включены в производные по настоящему изобретению. Такие пептидные аналоги можно обозначить как "промежуточный продукт" или "промежуточное соединение". Они существуют в форме новых аналогов Р-ЛНП(293-332), которые, как описано выше, можно включать в производные ЭФР(А) по настоящему изобретению, как дополнительно описано ниже. Такие пептидные аналоги определены в разделе выше.

В частности, пептидный аналог, или промежуточный пептид по настоящему изобретению можно обозначить как пептидный аналог последовательности SEQ ID NO.: 1.

В одном аспекте настоящее изобретение относится к пептидному аналогу ЭФР(А), описанному в настоящем документе, для применения в промышленном получении соединения ЭФР(А), такого как производное ЭФР(А).

Другие признаки, определения, аспекты и воплощения, раскрытые в настоящем документе применительно к пептидным аналогам по настоящему изобретению, можно также применять к промежуточным продуктам по настоящему изобретению.

Производные ЭФР(А)

Пептидные аналоги по настоящему изобретению могут дополнительно включать заместитель, и поэтому они становятся производными соединениями.

Термин "производное" в общем случае относится к соединению, которое можно получить из нативного пептида или его аналога путем химической модификации, в частности, ковалентным присоединением одного или двух заместителей.

Термины "производное по настоящему изобретению", "производное ЭФР(А)", "производное ЭФР(А) или "производное Р-ЛНП(293-332)" или "производное аналога Р-ЛНП(293-332)", используемые в настоящем документе, относятся к пептиду, к которому присоединены один или два заместителя. Каждое из них, кроме того или как вариант, можно обозначать как боковая цепь. Иными словами, термин "производное по настоящему изобретению" включает пептид т.е. пептидную последовательность, которая в настоящем документе представляет собой пептидный аналог ЭФР(А), и по меньшей мере один, включая, например, один или два заместитель(я).

Термин "заместитель" применяют для описания фрагмента, ковалентно связанного с пептидом ЭФР(А), например, заместитель представляет собой фрагмент, который не является частью самого пептида ЭФР(А).

В одном воплощении один или более заместитель(ей) присоединен(ы) к атому азота указанного пептидного аналога ЭФР(А). В одном воплощении указанный один или более заместитель(ей) присоединен(ы) к аминогруппе пептидного аналога ЭФР(А). В одном воплощении один или более заместитель(ей) присоединен(ы) к N-концевой аминокислоте пептидного аналога ЭФР(А) или к остатку Lys пептидного аналога ЭФР (А). В одном воплощении один или более заместитель(ей) присоединен(ы) к N-концевой аминокислоте пептидного аналога ЭФР(А). В одном воплощении один или более заместитель(ей) присоединен(ы) к альфа-азоту N-концевого аминокислотного остатка пептидного аналога ЭФР(А). В одном воплощении один или более заместитель(ей) присоединен(ы) к остатку Lys в пептидном аналоге ЭФР(А). В одном воплощении один или более заместитель(ей) присоединен(ы) к эпсилон-азоту остатка Lys в пептидном аналоге ЭФР(А).

Примеры заместителей различны и подробно описаны ниже. В одном аспекте настоящее изобретение относится к производному ЭФР(А), включающему пептидный

аналог ЭФР(А) и по меньшей мере один заместитель. В одном воплощении такой заместитель производного включает по меньшей мере одну группу жирной кислоты. Для всех воплощений термин «производное ЭФР(А)» также охватывает любую его фармацевтически приемлемую соль, амид или сложный эфир.

Заместители

Заместитель представляет собой фрагмент, присоединенный к пептидному аналогу ЭФР(А). По настоящему изобретению предпочтительно, чтобы такой фрагмент, например заместитель, не оказывал или оказывал минимальный эффект на функциональность пептида ЭФР(А), при этом привнося другие полезные свойства, такие как более длительный период полувыведения и/или улучшенное воздействие при пероральном дозировании.

Следовательно, такие производные, равно как и такие аналоги по настоящему изобретению, описанные выше, обладают способностью связываться с ПКСК9. Такое связывание с ПКСК9 ингибирует связывание ПКСК9 с Р-ЛНП, и за счет этого предотвращает деградацию Р-ЛНП и, следовательно, повышает клиренс ХС-ЛНП и атерогенных липопротеинов.

В конкретном воплощении производные и аналоги по настоящему изобретению обладают улучшенной способностью связываться с ПКСК9, например, по сравнению с нативным Р-ЛНП(293-332) или с другими ПКСК9-связывающими соединениями. Такие аналоги и производные по настоящему изобретению можно тестировать, например, на предмет их способности ингибировать ПКСК9 связывание с Р-ЛНП с помощью анализа, описанного в Примере D.1.1 настоящего документа.

В одном воплощении задача такого заместителя - улучшить функциональность пептидов.

В одном воплощении указанный заместитель увеличивает период полувыведения пептидного аналога таким образом, что производное, включающее главную цепь пептида и заместитель, имеет увеличенный период полувыведения из плазмы крови, по сравнению с периодом полувыведения главной цепи пептида, как показано в Примерах 1 и 48 (Раздел D2, Табл. 7). Способы для определения периода полувыведения у различных видов хорошо известны в данной области техники и приведены в качестве примера в настоящем документе для мышей и собак (Раздел D2 и D5).

В одном воплощении производное ЭФР(А) по настоящему изобретению имеет период полувыведения свыше 4 часов.

В одном воплощении производное ЭФР(А) по настоящему изобретению имеет период полувыведения свыше 6 часов, например свыше 8 часов или, например, свыше 10 часов у мышей, который измеряли после подкожного либо внутривенного дозирования.

В одном воплощении производное ЭФР(А) по настоящему изобретению имеет период полувыведения выше 25 часов у собак.

В одном воплощении производное ЭФР(А) по настоящему изобретению имеет период полувыведения выше 50 часов, например свыше 100 часов или например свыше 150 часов у собак.

В одном воплощении заместитель, увеличивающий период полувыведения, представляет собой белковый фрагмент. Еще в одном таком воплощении указанный белковый фрагмент может включать человеческий альбумин, Fc-домен или неструктурированное удлинение белка. Еще в одном воплощении такой белковый фрагмент может представлять собой молекулу, слитую с указанным пептидным аналогом. Еще в одном воплощении такой белковый фрагмент представляет собой Fc-домен, и этот Fc-домен слит с указанным пептидным аналогом. Если проводят слияние

с Fc, получаемое соединение, как правило, является бивалентным, поскольку один Fc-домен образован двумя Fc-полипептидами.

В одном воплощении указанный заместитель не представляет собой белковый фрагмент. В одном воплощении такой заместитель не представляет собой белковый фрагмент, слитый с пептидным аналогом ЭФР(А). В одном воплощении такой белковый фрагмент не представляет собой Fc-домен.

В другом воплощении указанный заместитель представляет собой небелковый фрагмент.

В конкретном воплощении указанный заместитель способен образовывать нековалентные комплексы с альбумином, таким путем способствуя циркуляции производного с током крови, и также имеет эффект увеличения времени действия производного. В конкретном воплощении указанный заместитель способен увеличивать время действия соединения ЭФР(А) без существенного снижения его связывающей способности с ПКСК9.

В одном воплощении производное ЭФР(А) включает заместитель, увеличивающий период полувыведения. Различные заместители, увеличивающие период полувыведения, хорошо известны в данной области техники и включают, в частности, вещества, связывающие альбумин, включающие группу жирной кислоты, как описано ниже, и такие вещества, связывающие альбумин, представляют собой не-белковые заместители.

Указанный заместитель включает по меньшей мере одну группу жирной кислоты.

В конкретном воплощении такая группа жирной кислоты включает углеродную цепь, содержащую по меньшей мере 8 последовательно соединенных $-CH_2-$ групп. В одном воплощении указанная группа жирной кислоты включает по меньшей мере 10 последовательно соединенных $-CH_2-$ групп, например по меньшей мере 12 последовательно соединенных $-CH_2-$ групп, по меньшей мере 14 последовательно соединенных $-CH_2-$ групп, по меньшей мере 16 последовательно соединенных $-CH_2-$ групп, по меньшей мере 18 последовательно соединенных $-CH_2-$ групп.

В одном воплощении такая группа жирной кислоты включает 8-20 последовательно соединенных $-CH_2-$ групп. В одном воплощении такая группа жирной кислоты включает 10-18 последовательно соединенных $-CH_2-$ групп. В одном воплощении такая группа жирной кислоты включает 12-18 последовательно соединенных $-CH_2-$ групп. В одном воплощении такая группа жирной кислоты включает 14-18 последовательно соединенных$-CH_2-$ групп.

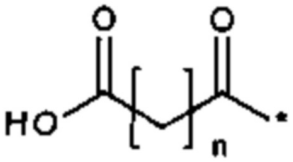
В ситуации, когда производное включает два заместителя, увеличенный период полувыведения можно получить за счет более коротких групп жирной кислоты, поэтому в воплощении, где указанное производное включают два заместителя, группы жирной кислоты могут включать по меньшей мере 8 последовательно соединенных $-CH_2-$ групп, например по меньшей мере 10 последовательно соединенных $-CH_2-$ групп, например по меньшей мере 12 последовательно соединенных $-CH_2-$ групп, по меньшей мере 14 последовательно соединенных $-CH_2-$ групп, по меньшей мере 16 последовательно соединенных $-CH_2-$ групп.

Еще в одном воплощении, где производное включает два заместителя, такие заместители каждый включают группу жирной кислоты, включающую 8-18 последовательно соединенных $-CH_2-$ групп. В других подобных воплощениях указанные группы жирной кислоты включают 10-18 последовательно соединенных $-CH_2-$ групп,

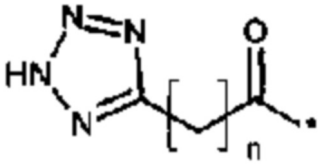
например 12-18 последовательно соединенных -CH_2-групп, например 14-18 последовательно соединенных-CH_2- групп.

Термин "группа жирной кислоты", используемый в настоящем документе, может обозначать химическую группу, включающую по меньшей мере одну функциональную группу, представляющую собой кислоту Бренстеда-Лоури с pKa<7. Неограничивающие примеры таких функциональных групп, представляющих собой кислоты Бренстеда-Лоури, включают карбоксильную группу (включая также карбоксифеноксигруппу), группу сульфоновой кислоты, тетразоловый фрагмент.

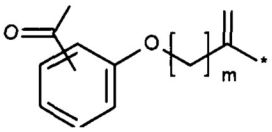
В одном воплощении указанная группа жирной кислоты включает функциональную группу, выбранную из следующего: карбоксильная группа, группа сульфоновой кислоты, тетразоловый фрагмент, метилсульфонил-карбамоиламиновый фрагмент (МСК) и 3-гидрокси-изоксазолизоксазоловый фрагмент. Таким образом, заместитель, увеличивающий период полувыведения, по настоящему изобретению в одном воплощении включает карбоновую кислоту, сульфоновую кислоту, тетразоловый фрагмент, метилсульфонил-карбамоиламиновый фрагмент или гидрокси-изоксазол-изоксазоловый фрагмент, дополнительно включающие 8-20 последовательно соединенных -CH_2- групп, и определен как:

Хим. формула 1: HOOC-$(CH_2)_n$-CO-*, в которой n представляет собой целое число в интервале 8-20, которую можно также обозначить как двухосновную кислоту C(n+2) или как Хим. формула 1b:  , в которой n представляет собой целое число в интервале 8-20;

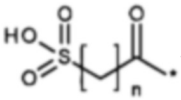
Хим. формула 2: 5-тетразолил-$(CH_2)_n$-CO-*, в которой n представляет собой целое число в интервале 8-20, которую можно также обозначить как

Хим. формула 2b:  , в которой n представляет собой целое число в интервале 8-20;

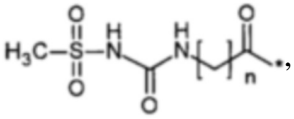
Хим. формула 3: HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_m$-CO-*, в которой n представляет собой целое число в интервале 8-20, которую можно также обозначить как

Хим. формула 3b:  , в которой карбоксильная группа находится в положении 2, 3 или 4 (C_6H_4)-группы Хим. формулы 3 и, в которой m представляет собой целое число в интервале 8-11;

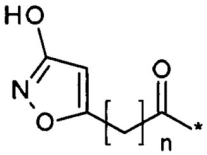
Хим. формула 4: HO-$S(O)_2$-$(CH_2)_n$-CO-*, в которой n представляет собой целое число в интервале 8-20, которую можно также обозначить как

Хим. формула 4b:  , в которой n представляет собой целое число в 15 интервале 8-20;

Хим. формула 5: $MeS(O)_2NH(CO)NH-(CH_2)_n-CO-*$, в которой n представляет собой целое число в интервале 8-20, которую можно также обозначить как.

Хим. формула 5b:  , в которой n представляет собой целое число в интервале 8-20;

Хим. формула 6: 3-HO-изоксазол-$(CH_2)_n$-CO-*, в которой n представляет собой целое число в интервале 8-20, которую можно также обозначить как Хим. формула 6b:

 , в которой n представляет собой целое число в интервале 8-20.

Термин функциональная группа в ее кислотной форме обозначается как FG-H, а ее форма как конъюгированное основание обозначается как FG^-. Термин "функциональная группа с pKa<7", используемый в настоящем документе, можно определить как кислота Бренстеда-Лоури, которая в форме его метильного производного (CH_3-FG-H) в водном растворе имеет равновесную pKa ниже 7, при этом указанная pKa представляет собой -log от равновесную константу (Ka) равновесия, показанного ниже:

$$CH_3\text{-}FG\text{-}H + H_2O \rightleftharpoons CH_3\text{-}FG^- + H_3O^+.$$

Способы определения pKa хорошо известны в данной области техники. Такой способ был описан, например, в литературе: Reijenga et al., Anal Chem Insights 2013 (2013; 8: 53-71).

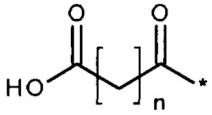
Заместители по настоящему изобретению в одном воплощении включают один или более элементов линкера. Элементы линкера могут быть присоединены к группе жирной кислоты амидными связями и обозначаются как Z_2-Z_{10}. Как уточняется ниже в настоящем документе, число элементов линкера может составлять самое большее 10.

В конкретном воплощении указанный заместитель задан Формулой I:

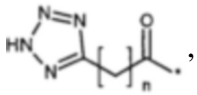
Z_1-Z_2-Z_3-Z_4-Z_5-Z_6-Z_7-Z_8-Z_9-Z_{10}- [I], в которой

Z_1 выбран из следующего:

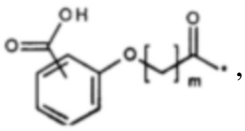
Хим. формула 1: $HOOC-(CH_2)_n-CO-*$ или

Хим. формула 1b:  ,

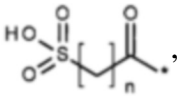
Хим. формула 2: 5-тетразолил-$(CH_2)_n$-CO-* или

Хим. формула 2b:  ,

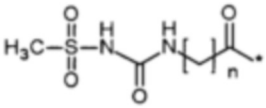
Хим. формула 3: $HOOC-(C_6H_4)-O-(CH_2)_m-CO-*$ или

Хим. формула 3b:  , в которой карбоксигруппа находится в положении 2, 3 или 4 фрагмента $-(C_6H_4)-$,

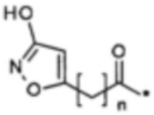
Хим. формула 4: $HOS(O)_2-(CH_2)_n-CO-*$ или

Хим. формула 4b:  ,

Хим. формула 5: $MeS(O)_2NH_2N(CO)NHN-(CH_2)_n-CO-*$ или

Хим. формула 5b:  и

Хим. формула 6: 3-HO-изоксазол-$(CH_2)_n$-CO-* или

Хим. формула 6b: 

в которой n представляет собой целое число в интервале 8-20, а m представляет собой целое число в интервале 8-11.

В конкретном воплощении n равно 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 в Хим. формуле 1 или 1b. В конкретном воплощении n равно 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 в Хим. формуле 2 или 2b. В конкретном воплощении n равно 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 в Хим. формуле 4 или 4b. В конкретном воплощении m равно 8, 9, 10 или 11 в Хим. формуле 3 или 3b.

В конкретном воплощении n равно 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 в Хим. формуле 5 или 5b.

В конкретном воплощении n равно 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 в Хим. формуле 6 или 6b.

В конкретном воплощении символ * указывает на место присоединения к атому азота в Z_2. В другом воплощении, где Z_2 представляет собой связь, символ * указывает на место присоединения к атому азота соседнего Z-элемента.

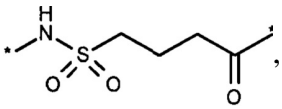
Термин "связь", используемый в контексте Формулы I, обозначает ковалентную связь. Если компонент Формулы I (Z_1-Z_{10}) определен как связь, он эквивалентен формуле I, в которой указанный компонент отсутствует.

Указание в данном тексте ниже на то, что любой из Z_2-Z_{10} представляет собой связь, можно также прочитать как то, что любой из Z_2-Z_{10} отсутствует. По логике "связь" не может следовать за "связью". Обозначение "связь" в данном тексте, таким образом, означает, что предыдущий Z-элемент ковалентно связан со следующим Z-элементом, который не представляет собой "связь" (или который не отсутствует).

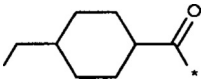
Элементы линкера Z_2-Z_{10} выбраны из химических фрагментов, которые способны образовывать амидные связи, включающие подобные аминокислотам фрагменты, такие как Glu, γGlu (также называемый гамма Glu или gGlu и, определенный последовательностью *-NH-CH-(COOH)-CH_2-CH_2-CO-*), Gly, Ser, Ala, Thr, Ado, Aeep, Aeeep и TtdSuc и другие фрагменты, определенные ниже.

Z_2 выбран из следующего:

Хим. формула 7: *-NH-SO_2-$(CH_2)_3$-CO-* или

Хим. формула 7b:  ,

Хим. формула 8: *-NH-CH_2-(C_6H_{10})-CO-* или

Хим. формула 8b:  и связь.

Z_3 выбран из γGlu, Glu или связи.

Z_3 выбран из γGlu, Glu или связи, если Z_2 описан Хим. формулой 7 или Хим. формулой 7b.

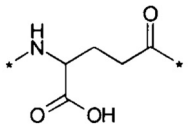
Z_3 выбран из γGlu, Glu или связи, при условии что Z_3 выбран из γGlu, Glu, если Z_2 описан Хим. формулой 8.

Z_3 выбран из γGlu и Glu, если Z_2 описан Хим. формулой 8.

Z_4, Z_5, Z_6, Z_7, Z_8, Z_9 выбраны независимо друг от друга из Glu, γGlu, Gly, Ser, Ala, Thr, Ado, Aeep, Aeeep, TtdSuc и связи.

Glu, Gly, Ser, Ala, Thr представляют собой аминокислотные остатки, хорошо известные в данной области техники.

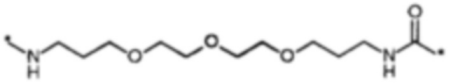
γGlu описан Хим. формулой 9: *-NH-CH(COOH)-$(CH_2)_2$-CO-*, представляющей собой то же самое, что и Хим. формула 9b:


и может также быть обозначен как gGlu.

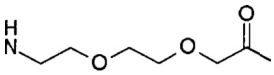
TtdSuc описан Хим. формулой 10:

-NH-$(CH_2)_3$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$O-$(CH_2)_3$-NHCO или

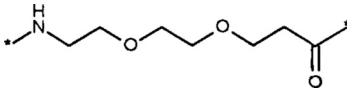
-NH-$CH_2CH_2CH_2OCH_2CH_2OCH_2CH_2OCH_2CH_2CH_2NHCO$, представляющей собой то же самое, что и

Хим. формула 10b: 

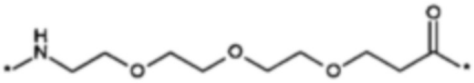
Ado описан Хим. формулой 11: *-NH-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-CH_2-CO-*, что можно обозначить также как 8-амино-3,6-диоксаоктановая кислота, представляющей собой то же самое, что и

Хим. формула b 11b: 

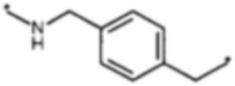
Aeep описан Хим. формулой 12: *NH-$CH_2CH_2OCH_2CH_2OCH_2CH_2CO$*, которую можно также обозначить как

Хим. формула 12b: 

Aeeep описан Хим. формулой 13: *NH-$CH_2CH_2OCH_2CH_2OCH_2CH_2OCH_2CH_2CO$*, которую можно также обозначить как

Хим. формула 13b: 

Z_{10} выбран из связи и Хим. формулы 14: *-NH-CH_2-(C_6H_4)-CH_2-*, которую можно также обозначить как

Хим. формула 14b: 

В конкретном воплощении, если Z_{10} описан Хим. формулой 14, указанный заместитель присоединен к N-концевой аминогруппе указанного пептида.

В другом воплощении, если Z_{10} представляет собой связь, указанный заместитель присоединен по эпсилон-положению остатка Lys, присутствующего в указанном пептиде,

или к N-концевому аминокислотному остатку указанного пептида.

В одном воплощении указанное производное включает два заместителя. В одном таком воплощении такие два заместителя идентичны. В одном таком воплощении такие два заместителя различаются. В одном воплощении такие два заместителя присоединены к атомам азота пептидного аналога ЭФР(А). В одном воплощении такие два заместителя присоединены к аминогруппам пептидного аналога ЭФР(А). В одном воплощении такие два заместителя присоединены к N-концевой аминокислоте ЭФР(А) и к остатку Lys пептидного аналога ЭФР(А). В одном воплощении один заместитель присоединен к альфа-азоту N-концевого аминокислотного остатка пептидного аналога ЭФР(А) и один заместитель присоединен к остатку Lys пептидного аналога ЭФР(А). В одном воплощении два заместителя присоединены к N-концевой аминокислоте пептидного аналога ЭФР(А). В одном воплощении такие два заместителя присоединены к разным остаткам Lys пептидного аналога ЭФР(А). В одном воплощении такие два заместителя присоединены к эпсилон-атомам азота разных остатков Lys в пептидном аналоге ЭФР (А).

В одном воплощении, где присутствуют два заместителя, Z_{10} описан Хим. формулой 14 в одном заместителе, который присоединен к N-концевой аминогруппе пептидного аналога, и Z_{10} представляет собой связь в другом заместителе, который присоединен по эпсилон-положению остатка Lys, присутствующего в указанном пептидном аналоге.

В другом воплощении, где присутствуют два заместителя, Z_{10} представляет собой связь в одном заместителе, который присоединен к N-концевой аминогруппе пептидного аналога, и Z_{10} представляет собой связь в другом заместителе, который присоединен по эпсилон-положению остатка Lys, присутствующего в указанном пептидном аналоге.

В другом воплощении, где присутствуют два заместителя, Z_{10} представляет собой связь в обоих заместителях, и каждый из таких двух заместителей присоединен по эпсилон-положению разных остатков Lys, присутствующих в пептидном аналоге.

В конкретном воплощении производные по настоящему изобретению можно получить из пептидного аналога ЭФР(А) ковалентным присоединением одного или двух заместителя(ей).

В конкретном воплощении такие два заместителя описаны Формулой I: Z_1-Z_2-Z_3-Z_4-Z_5-Z_6-Z_7-Z_8-Z_9-Z_{10}- [I]. Элементы от Z_1 до Z_{10} определены выше. В конкретном воплощении такие два заместителя описаны Формулой I и идентичны, в том смысле, что выбранные элементы от Z_1 до Z_{10} одинаковы в обоих заместителях. В другом воплощении такие два заместителя описаны Формулой I и различны, в том смысле, что один или более из выбранных элементов от Z_1 до Z_{10} различаются между одним и другим заместителем.

Особые заместители

Как было раскрыто выше, специалистами в данной области техники могут быть получены различные заместители. Такие заместители включены в настоящую заявку, и потому их не следует рассматривать как ограничение настоящего изобретения.

В одном воплощении такие один или два заместитель(я) выбран(ы) из группы из заместителей, состоящей из следующего:

$HOOC-(CH_2)_{18}$-CO-gGlu-2xAdo

$HOOC-(CH_2)_{18}$-CO-NH-CH_2-(C_6H_{10})-CO-gGlu-2xAdo

$HOOC-(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo

HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo-NH-CH_2-(C_6H_4)-CH_2
HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu
HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-NH-CH_2-(C_6H_{10})-CO-gGlu-2xAdo
HOOC-$(CH_2)_{14}$-CO-gGlu-2xAdo
HOOC-$(CH_2)_{14}$-CO-gGlu-
HOOC-$(CH_2)_{14}$-CO-gGlu-2xAdo
HOOC-$(CH_2)_{12}$-CO-gGlu-2xAdo
4-HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_{10}$-CO-gGlu-2xAdo
4-HOOC-(C6H4)-O-(CH2)10-CO-gGlu-3xAdo
4-HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_{10}$-CO-gGlu
4-HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_{10}$-CO-2xgClu
4-HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_{10}$-CO-gGlu-3xGly
4-HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_{10}$-CO-2xgGlu-2xAdo
4-HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_{10}$-CO-gGlu-TtdSuc
4-HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_9$-CO
4-HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_{10}$-CO-gGlu-4xAdo
4-HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_{10}$-CO-NH-CH_2-(C_6H_{10})-CO-gGlu-2xAdo
4-HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_9$-CO-gGlu-2xAdo
3-HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_9$-CO-gGlu-2xAdo
3-HO-изоксазол-$(CH_2)_{12}$-CO-gGlu-2xAdo
HOS(O)2-(CH2)15-CO-gGlu-2xAdo-NH-CH_2-(C_6H_4)-CH_2
HOS$(O)_2$-$(CH_2)_{13}$-CO-gGlu-2xAdo
Тетразолил-$(CH_2)_{15}$-CO-NH-SO_2-$(CH_2)_3$-CO-Ado-Ado-NH-CH_2-(C_6H_4)-CH_2
Тетразолил-$(CH_2)_{12}$-CO-gGlu-2xAdo
Тетразолил-$(CH_2)_{15}$-CO-gGlu-2xAdo и
Me$S(O)_2$NH(CO)NH-$(CH_2)_{12}$-CO-gGlu-2xAdo.

В одном воплощении указанный заместитель представляет собой заместитель Формулой I, в которой Z_1 описан Хим. формулой 1: HOOC-$(CH_2)_n$-CO-*, в которой n равно 16; Z_2 представляет собой связь; Z_3 представляет собой γGlu; два из Z_4, Z_5, Z_6, Z_7, Z_8, Z_9 представляют собой Ado, а оставшиеся четыре представляют собой связи; Z_{10} описан Хим. формулой 14: *-NH-CH_2-(C_6H_4)-CH_2-*.

В одном воплощении указанный заместитель представляет собой заместитель Формулы I, в которой Z_1 описан Хим. формулой 1: HOOC-$(CH_2)_n$-CO-*, в которой n равно 16; Z_2 представляет собой связь; Z_3 представляет собой γGlu; два из Z_4, Z_5, Z_6, Z_7, Z_8, и Z_9 представляют собой Ado, а оставшиеся четыре представляют собой связи; Z_{10} представляет собой связь.

В одном воплощении указанный заместитель представляет собой заместитель Формулы I, в которой Z_1 описан Хим. формулой 1: HOOC-$(CH_2)_n$-CO-*, в которой n равно 14 или 16; Z_2 представляет собой связь; Z_3 представляет собой γGlu; и все из Z_4, Z_5, Z_6, Z_7, Z_8 и Z_9 представляют собой связи; Z_{10} представляет собой связь.

В одном воплощении указанный заместитель представляет собой заместитель Формулы I, в которой Z_1 описан Хим. формулой 1: HOOC-$(CH_2)_n$-CO-*, в которой n равно 16 или 18; Z_2 описан Хим. формулой 8 (Trx); Z_3 представляет собой γGlu; два из Z_4, Z_5, Z_6, Z_7, Z_8 и Z_9 представляют собой Ado, а оставшиеся четыре представляют собой связи; Z_{10} представляет собой связь.

В одном воплощении указанный заместитель представляет собой заместитель Формулы I, в которой Z_1 описан Хим. формулой 2: тетразолил-$(CH_2)_n$-CO-*, в которой n равно 15; Z_2 описан Хим. формулой 7 (сульфонимид); Z_3 представляет собой связь; два из Z_4, Z_5, Z_6, Z_7, Z_8 и Z_9 представляют собой Ado, а оставшиеся четыре представляют собой связи; Z_{10} описан Хим. формулой 14: *-NH-CH_2-(C_6H_4)-CH_2-*.

В одном воплощении указанный заместитель представляет собой заместитель Формулы I, в которой Z_1 описан Хим. формулой 2: тетразолил-$(CH_2)_n$-CO-*, в которой n равно 15; Z_2 представляет собой связь; Z_3 представляет собой γGlu; два из Z_4, Z_5, Z_6, Z_7, Z_8 и Z_9 представляют собой Ado, а оставшиеся четыре представляют собой связи; Z_{10} представляет собой связь.

В одном воплощении указанный заместитель представляет собой заместитель Формулы I, в которой Z_1 описан Хим. формулой 2: тетразолил-$(CH_2)_n$-CO-*, в которой n равно 12; Z_2 представляет собой связь; Z_3 представляет собой γGlu; два из Z_4, Z_5, Z_6, Z_7, Z_8 и Z_9 представляют собой Ado, а оставшиеся четыре представляют собой связи; Z_{10} представляет собой связь.

В одном воплощении указанный заместитель представляет собой заместитель Формулы I, в которой Z_1 описан Хим. формулой 3: HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_m$-CO-*, в которой m равно 10; Z_2 представляет собой связь; Z_3 представляет собой связь; и все из Z_4, Z_5, Z_6, Z_7, Z_9 и Z_9 представляют собой связи; Z_{10} представляет собой связь.

В одном воплощении указанный заместитель представляет собой заместитель Формулы I, в которой Z_1 описан Хим. формулой 3: HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_m$-CO-*, в которой m равно 10; Z_2 представляет собой связь; Z_3 представляет собой γGlu; и все из Z_4, Z_5, Z_6, Z_7, Z_8 и Z_9 представляют собой связи; Z_{10} представляет собой связь.

В одном воплощении указанный заместитель представляет собой заместитель Формулы I, в которой Z_1 описан Хим. формулой 3: HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_m$-CO-*, в которой m равно 10; Z_2 представляет собой связь; Z_3 представляет собой γGlu; и один из Z_4, Z_5, Z_6, Z_7, Z_8 и Z_9 представляет собой γGlu, а оставшиеся пять представляют собой связи; Z_{10} представляет собой связь.

В одном воплощении указанный заместитель представляет собой заместитель Формулы I, в которой Z_1 описан Хим. формулой 3: HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_m$-CO-*, в которой m равно 10; Z_2 представляет собой связь; Z_3 представляет собой γGlu; и один из Z_4, Z_5, Z_6, Z_7, Z_8 и Z_9 представляет собой γGlu и два представляют собой Ado, а оставшиеся три представляют собой связи; Z_{10} представляет собой связь.

В одном воплощении указанный заместитель представляет собой заместитель Формулы I, в которой Z_1 описан Хим. формулой 3: HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_m$-CO-*, в которой m равно 10; Z_2 представляет собой связь; Z_3 представляет собой γGlu; и три

из Z_4, Z_5, Z_6, Z_7, Z_8 и Z_9 представляют собой Gly, а оставшиеся три представляют собой связи; Z_{10} представляет собой связь.

В одном воплощении указанный заместитель представляет собой заместитель Формулы I, в которой Z_1 описан Хим. формулой 3: HOOC-(C_6H_4)-O-(CH_2)$_m$-CO-*, в которой m равно 10; Z_2 представляет собой связь; Z_3 представляет собой γGlu; и два из Z_4, Z_5, Z_6, Z_7, Z_8 и Z_9 представляют собой Ado, а оставшиеся четыре представляют собой связи; Z_{10} представляет собой связь.

В одном воплощении указанный заместитель представляет собой заместитель Формулы I, в которой Z_1 описан Хим. формулой 3: HOOC-(C_6H_4)-O-(CH_2)$_m$-CO-*, в которой m равно 10; Z_2 представляет собой связь; Z_3 представляет собой γGlu; и три из Z_4, Z_5, Z_6, Z_7, Z_8 и Z_9 представляют собой Ado, а оставшиеся три представляют собой связи; Z_{10} представляет собой связь.

В одном воплощении указанный заместитель представляет собой заместитель Формулы I, в которой Z_1 описан Хим. формулой 3: HOOC-(C_6H_4)-O-(CH_2)$_m$-CO-*, в которой m равно 10; Z_2 представляет собой связь; Z_3 представляет собой γGlu; и четыре из Z_4, Z_5, Z_6, Z_7, Z_8 и Z_9 представляют собой Ado, а оставшиеся два представляют собой связи; Z_{10} представляет собой связь.

В одном воплощении указанный заместитель представляет собой заместитель Формулы I, в которой Z_1 описан Хим. формулой 3: HOOC-(C_6H_4)-O-(CH_2)$_m$-CO-*, в которой m равно 10; Z_2 представляет собой связь; Z_3 представляет собой γGlu; и один из Z_4, Z_5, Z_6, Z_7, Z_8 и Z_9 представляет собой TtdSuc, а оставшиеся пять представляют собой связи; Z_{10} представляет собой связь.

В одном воплощении указанный заместитель представляет собой заместитель Формулы I, в которой Z_1 описан Хим. формулой 3: HOOC-(C_6H_4)-O-(CH_2)$_m$-CO-*, в которой m равно 10; Z_2 описан Хим. формулой 8 (Trx); Z_3, представляет собой γGlu; и два из Z_4, Z_5, Z_6, Z_7, Z_8 и Z_9 представляют собой Ado, а оставшиеся четыре представляют собой связи; Z_{10} представляет собой связь.

В одном воплощении указанный заместитель представляет собой заместитель Формулы I, в которой Z_1 описан Хим. формулой 3: HOOC-(C_6H_4)-O-(CH_2)$_m$-CO-*, в которой m равно 9; Z_2 представляет собой связь; Z_3 представляет собой γGlu; и один из Z_4, Z_5, Z_6, Z_7, Z_8 и Z_9 представляет собой TtdSuc, а оставшиеся пять представляют собой связи; Z_{10} представляет собой связь.

В одном воплощении указанный заместитель представляет собой заместитель Формулы I, в которой Z_1 описан Хим. формулой 3: HOOC-(C_6H_4)-O-(CH_2)$_m$-CO-*, в которой m равно 10; Z_2 представляет собой связь; Z_3 представляет собой γGlu; два из Z_4, Z_5, Z_6, Z_7, Z_8 и Z_9 представляют собой Ado, оставшиеся четыре представляют собой связи; Z_{10} представляет собой связь.

В одном воплощении указанный заместитель представляет собой заместитель Формулы I, в которой Z_1 описан Хим. формулой 3: HOOC-(C_6H_4)-O-(C_6H_4)$_m$-CO-*, в которой m равно 10; Z_2 представляет собой связь; Z_3 представляет собой γGlu; два из Z_4, Z_5, Z_6, Z_7, Z_8 и Z_9 представляют собой Ado, оставшиеся четыре представляют собой

связи; Z_{10} представляет собой связь.

В одном воплощении указанный заместитель представляет собой заместитель Формулы I, в которой Z_1 описан Хим. формулой 4: HO-S(O)$_2$-(CH$_2$)$_n$-CO-*, в которой n равно 15; Z_2 представляет собой связь; Z_3 представляет собой γGlu; два из Z_4, Z_5, Z_6, Z_7, Z_8 и Z_9 представляют собой Ado, оставшиеся четыре представляют собой связи; Z_{10} представляет собой связь.

В одном воплощении указанный заместитель представляет собой заместитель Формулы I, в которой Z_1 описан Хим. формулой 4: HO-S(O)$_2$-(CH$_2$)$_n$-CO-*, в которой n равно 15; Z_2 представляет собой связь; Z_3 представляет собой γGlu; два из Z_4, Z_5, Z_6, Z_7, Z_8 и Z_9 представляют собой Ado, оставшиеся четыре представляют собой связи; Z_{10} описан Хим. формулой 14: *-NH-CH$_2$-(C$_6$H$_4$)-CH$_2$-*.

В одном воплощении указанный заместитель представляет собой заместитель Формулы I, в которой Z_1 описан Хим. формулой 5: MeS(O)$_2$NH(CO)NH-(CH$_2$)$_n$-CO-*, в которой n равно 12; Z_2 представляет собой связь; Z_3 представляет собой γGlu; два из Z_4, Z_5, Z_6, Z_7, Z_8 и Z_9 представляют собой Ado, оставшиеся четыре представляют собой связи; Z_{10} представляет собой связь.

В одном воплощении указанный заместитель представляет собой заместитель Формулы I, в которой Z_1 описан Хим. формулой 6: 3-OH-изоксазол-(CH$_2$)$_{12}$-CO-*, в которой n равно 12; Z_2 представляет собой связь; Z_3 представляет собой γGlu; два из Z_4, Z_5, Z_6, Z_7, Z_8 и Z_9 представляют собой Ado, оставшиеся четыре представляют собой связи; Z_{10} представляет собой связь.

Конкретные комбинации заместителей

В одном воплощении соединение по настоящему изобретению включает или содержит два заместителя Формулы I, в которой Z_1 описан Хим. формулой 1: HOOC-(CH$_2$)$_n$-CO-*, в которой n равно 16; Z_2 представляет собой связь; Z_3 представляет собой γGlu; два из Z_4, Z_5, Z_6, Z_7, Z_8, Z_9 представляют собой Ado, а оставшиеся четыре представляют собой связи; Z_{10} представляет собой связь.

В одном воплощении соединение по настоящему изобретению включает или содержит два заместителя Формулы I, в которой Z_1 описан Хим. формулой 1: HOOC-(CH$_2$)$_n$-CO-*, в которой n равно 14; Z_2 представляет собой связь; Z_3 представляет собой γGlu; два из Z_4, Z_5, Z_6, Z_7, Z_8, Z_9 представляют собой Ado, а оставшиеся четыре представляют собой связи; Z_{10} представляет собой связь.

В одном воплощении соединение по настоящему изобретению включает или содержит два заместителя Формулы I, в которой Z_1 описан Хим. формулой 1: HOOC-(CH$_2$)$_n$-CO-*, в которой n равно 14; Z_2 представляет собой связь; Z_3 представляет собой γGlu; все четыре из Z_4, Z_5, Z_6, Z_7, Z_8, Z_9 представляют собой связи; Z_{10} представляет собой связь.

В одном воплощении соединение по настоящему изобретению включает или содержит два заместителя Формулы I, в которой Z_1 описан Хим. формулой 3: HOOC-(C$_6$H$_4$)-O-(CH$_2$)$_m$-CO-*, в которой m равно 10; Z_2 представляет собой связь; Z_3 представляет собой γGlu; два из Z_4, Z_5, Z_6, Z_7, Z_8 и Z_9 представляют собой Ado, оставшиеся четыре представляют собой связи; Z_{10} представляет собой связь.

В одном воплощении соединение по настоящему изобретению включает или содержит два заместителя, один представляет собой Формулу I, в которой Z_1 описан Хим. формулой 1: HOOC-$(CH_2)_n$-CO-*, в которой n равно 16; Z_2 представляет собой связь; Z_3 представляет собой γGlu; два из Z_4, Z_5, Z_6, Z_7, Z_8, Z_9 представляют собой Ado, а оставшиеся четыре представляют собой связи; Z_{10} описан Хим. формулой 14: *-NH-CH_2-(C_6H_4)-CH_2-*; при этом другой заместитель представляет собой заместитель Формулы I, в которой Z_1 описан Хим. формулой 1: HOOC-$(CH_2)_n$-CO-*, в которой n равно 16; Z_2 представляет собой связь; Z_3 представляет собой γGlu; два из Z_4, Z_5, Z_6, Z_7, Z_8, Z_9 представляют собой Ado, а оставшиеся четыре представляют собой связи; Z_{10} представляет собой связь.

В одном воплощении соединение по настоящему изобретению включает или содержит два заместителя, при этом один представляет собой заместитель Формулы I, в которой Z_1 описан Хим. формулой 1: HOOC-$(CH_2)_n$-CO-*, в которой n равно 16; Z_2 представляет собой связь; Z_3 представляет собой γGlu; два из Z_4, Z_5, Z_6, Z_7, Z_8, Z_9 представляют собой Ado, а оставшиеся четыре представляют собой связи; Z_{10} описан Хим. формулой 14: *-NH-CH_2-(C_6H_4)-CH_2-*; при этом другой заместитель представляет собой заместитель Формулы I, в которой Z_1 описан Хим. формулой 3: HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_m$-CO-*, в которой m равно 10; Z_2 представляет собой связь; Z_3 представляет собой γGlu; два из Z_4, Z_5, Z_6, Z_7, Z_8 и Z_9 представляют собой Ado, оставшиеся четыре представляют собой связи; Z_{10} представляет собой связь.

В одном воплощении соединение по настоящему изобретению включает или содержит два заместителя, при этом один представляет собой заместитель Формулы I, в которой Z_1 описан Хим. формулой 1: HOOC-$(CH_2)_n$-CO-*, в которой n равно 16; Z_2 представляет собой связь; Z_3 представляет собой γGlu; два из Z_4, Z_5, Z_6, Z_7, Z_8, Z_9 представляют собой Ado, а оставшиеся четыре представляют собой связи; Z_{10} представляет собой связь; при этом другой заместитель представляет собой заместитель Формулы I, в которой описан Хим. формулой 3: HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_m$-CO-*, в которой m равно 10; Z_2 представляет собой связь; Z_3 представляет собой γGlu; два из Z_4, Z_5, Z_6, Z_7, Z_8 и Z_9 представляют собой Ado, оставшиеся четыре представляют собой связи; Z_{10} представляет собой связь.

В одном воплощении соединение по настоящему изобретению включает или содержит два заместителя, при этом один представляет собой заместитель Формулы I, в которой Z_1 описан Хим. формулой 1: HOOC-$(CH_2)_n$-CO-*, в которой n равно 16; Z_2 представляет собой связь; Z_3 представляет собой γGlu; два из Z_4, Z_5, Z_6, Z_7, Z_8, Z_9 представляют собой Ado, а оставшиеся четыре представляют собой связи; Z_{10} представляет собой связь; а другой заместитель представляет собой заместитель Формулы I, в которой Z_1 описан Хим. формулой 4: $HOS(O)_2$-$(CH_2)_n$-CO-*, в которой m равно 15; Z_2 представляет собой связь; Z_3 представляет собой γGlu; два из Z_4, Z_5, Z_6, Z_7, Z_8 и Z_9 представляют собой Ado, оставшиеся четыре представляют собой связи; Z_{10} описан Хим. формулой 14: *-NH-CH_2-(C_6H_4)-CH_2-*.

В одном воплощении соединение по настоящему изобретению включает или содержит два заместителя, при этом один представляет собой заместитель Формулы I, в которой

Z_1 описан Хим. формулой 3: HOOC-(C_6H_4)-O-(CH_2)$_m$-CO-*, в которой m равно 10; Z_2 представляет собой связь; Z_3 представляет собой γGlu; два из Z_4, Z_5, Z_6, Z_7, Z_8 и Z_9 представляют собой Ado, оставшиеся четыре представляют собой связи; Z_{10} представляет собой связь; при этом другой заместитель представляет собой заместитель Формулы I, в которой описан Хим. формулой 4: HOS(O)$_2$-(CH_2)$_n$-CO-*, в которой m равно 15; Z_2 представляет собой связь; Z_3 представляет собой γGlu; два из Z_4, Z_5, Z_6, Z_7, Z_8 и Z_9 представляют собой Ado, оставшиеся четыре представляют собой связи; Z_{10} описан Хим. формулой 14: *-NH-CH_2-(C_6H_4)-CH_2-*.

Пептид и место присоединения

Производное ЭФР(А) или соединение по настоящему изобретению включает пептидный аналог ЭФР(А) домена ЭФР(А) Р-ЛНП, определенного последовательностью SEQ ID NO.: 1. Такая пептидная последовательность была подробно описана выше в настоящем документе, и указанное пептидное производное или соединение по настоящему изобретению может быть описано и определено идентичным образом. Производное ЭФР(А) или соединение дополнительно содержит по меньшей мере один заместитель, описанный настоящем документе выше, который связан с пептидной последовательностью.

В соединении по настоящему изобретению указанный заместитель ковалентно присоединен к пептиду, то есть к одному аминокислотному остатку пептидной последовательности.

В одном воплощении производное ЭФР(А) по настоящему изобретению, включает заместитель, который не присоединен по любому одному из следующих положений: 295, 296, 298, 301, 302 и 307. Еще в одном воплощении указанный заместитель не присоединен по любому одному из следующих положений: 295, 296, 298, 301, 302, 307 и 310. В других подобных воплощениях он также не присоединен по любому одному из следующих положений: 299 и 320.

В конкретном воплощении заместитель присоединен через любое положение от 292 до 333, за исключением любого из положений 297, 304, 308, 317, 319 и 331.

В конкретном воплощении заместитель присоединен через любое положение от 292 до 333, за исключением любого из положений 297, 298, 301, 302, 304, 307, 308, 317, 319 и 331.

В конкретном воплощении заместитель присоединен через любое положение от 292 до 333, за исключением любого из положений 295, 296, 297, 298, 301, 302, 304, 307, 308, 317, 319 и 331. В конкретном воплощении заместитель присоединен через любое положение от 292 до 333, за исключением любого из положений 295, 296, 297, 298, 301, 302, 304, 307, 308, 310, 317, 319, 320 и 331. В конкретном воплощении заместитель присоединен через любое положение от 292 до 333, за исключением любого из положений 295, 296, 297, 298, 301, 302, 304, 307, 308, 309, 310, 317, 319, 320 и 331.

В одном воплощении заместитель(и) присоединен(ы) по любому одному или двум из положений 292, 293, 294, 299, 300, 303, 305, 306, 309, 311, 312, 313, 314, 315, 316, 318, 320, 321, 322, 323, 324, 325, 326, 327, 328, 329, 330, 332 и 333 пептидного аналога ЭФР (А).

В одном воплощении заместитель(и) присоединен(ы) по любому одному или двум из положений 292, 293, 294, 300, 303, 305, 306, 309, 311, 312, 313, 314, 315, 316, 318, 321, 322, 323, 324, 325, 326, 327, 328, 329, 330, 332 и 333 пептидного аналога ЭФР(А).

В одном воплощении заместитель(и) присоединен(ы) по любому одному или двум из положений 292, 293, 294, 300, 303, 305, 306, 311, 312, 313, 314, 315, 316, 318, 321, 322,

323, 324, 325, 326, 327, 328, 329, 330, 332 и 333 пептидного аналога ЭФР(А).

В одном воплощении заместитель присоединен к N-концевой аминокислоте пептидной последовательности. В конкретном воплощении N-концевая аминокислота представляет собой Gly. В конкретном воплощении N-концевая аминокислота представляет собой 293Gly. В конкретном воплощении N-концевая аминокислота представляет собой 293Lys. В конкретном воплощении N-концевая аминокислота представляет собой 292Lys. Она может также представлять собой Lys или Gly или другой аминокислотный остаток в N-концевом положении, которое может представлять собой положение 293, или в любом положением далее в направлении от N-конца, например 294Thr, 294Gly или 294Lys или 295Asn. В конкретном воплощении указанный заместитель присоединен к альфа-азоту N-концевого аминокислотного остатка пептидного аналога. В другом воплощении, если N-концевой аминокислотный остаток представляет собой Lys, указанный заместитель может быть ковалентно связан с альфа-азотом или с эпсилон-аминогруппой остатка лизина.

В конкретном воплощении заместитель присоединен к е-аминогруппе остатка Lys, присутствующего в пептиде.

В другом воплощении заместитель присоединен к Lys в С-концевом положении, которое может представлять собой положение 332, 333 или любое положение далее по направлению к С-концу.

В воплощениях, где пептиды по настоящему изобретению включают элонгацию, как на N-конце, так и на С-конце, такой(ие) заместитель(и) могут быть присоединены по аминокислотному остатку указанной(ых) элонгации(ий). В присутствии N-концевой элонгации заместитель может быть присоединен к N-концевой аминокислоте указанной элонгации или к Lys, присутствующему внутри последовательности элонгации. В присутствии С-концевой элонгации заместитель может быть присоединен к остатку Lys в С-концевом положении или к Lys, присутствующему внутри последовательности элонгации.

Еще в одном воплощении указанный заместитель присоединен к аминокислоте, присутствующей в пептидной последовательности. В конкретном воплощении заместитель связан с остатком лизина, присутствующим в пептиде. В конкретном воплощении заместитель связан с эпсилон-аминогруппой остатка лизина, присутствующего в пептиде. Остаток лизина, с которым связан заместитель, может быть расположен в любом положении ЭФР(А) Р-ЛНП(293-332) аналога, включая N-концевое положение или С-концевое положение пептида, любое положение внутри или на N-концевом остатке N-концевой элонгации, если она присутствует, любое положение внутри или на С-концевом остатке С-концевой элонгации, если она присутствует.

Как описано в настоящем документе выше, пептидный аналог ЭФР(А) может содержать один или более остатков Lys; и эти остатки полезны для присоединения заместителей.

В конкретном воплощении лизин(ы), с которым(и) указанный(ые) заместитель(и) связан(ы), выбран(ы) из группы, состоящей из: 292Lys, 293Lys, 294Lys, 299Lys, 300Lys, 303Lys, 305Lys, 306Lys, 309Lys, 311Lys, 312Lys, 313Lys, 314Lys, 315Lys, 316Lys, 318Lys, 320Lys, 321Lys, 322Lys, 323Lys, 324Lys, 325Lys, 326Lys, 327Lys, 328Lys, 329Lys, 330Lys, 332Lys и 333Lys.

В конкретном воплощении лизин(ы), с которым(и) связан(ы) указанный(ые) заместитель(и), выбран(ы) из 293Lys, 294Lys, 295Lys, 296Lys, 298Lys, 299Lys, 301 Lys, 302Lys, 303Lys, 305Lys, 306Lys, 307Lys, 309Lys, 310Lys, 311Lys, 312Lys, 313Lys, 314Lys, 315Lys, 316Lys, 318Lys, 320Lys, 321Lys, 322Lys, 323Lys, 324Lys, 325Lys, 326Lys, 327Lys,

328Lys, 329Lys, 330Lys, 332Lys и 333Lys.

В конкретном воплощении лизин(ы), с которым(и) связан(ы) указанный(ые) заместитель(и), выбран(ы) из 293Lys, 294Lys, 300Lys, 303Lys, 306Lys, 309Lys, 311Lys, 312Lys, 313Lys, 314Lys, 315Lys, 316Lys, 318Lys, 321Lys, 322Lys, 323Lys, 324Lys, 325Lys, 326Lys, 328Lys, 329Lys, 330Lys, 332Lys и 333Lys.

В другом воплощении лизин(ы), с которым(и) связан(ы) указанный(ые) заместитель (и), выбран(ы) из 293Lys, 294Lys, 298Lys, 299Lys, 303Lys, 305Lys, 306Lys, 309Lys, 311Lys, 312Lys, 313Lys, 314Lys, 315Lys, 316Lys, 318Lys, 320Lys, 321Lys, 322Lys, 323Lys, 324Lys, 325Lys, 326Lys, 327Lys, 328Lys, 329Lys, 330Lys, 332Lys и 333Lys.

В другом воплощении лизин(ы), с которым(и) связан(ы) указанный(ые) заместитель (и), выбран(ы) из: 292Lys, 293Lys, 294Lys, 299Lys, 300Lys, 303Lys, 305Lys, 306Lys, 309Lys, 311Lys, 313Lys, 314Lys, 315Lys, 316Lys, 318Lys, 320Lys, 321 Lys, 322Lys, 323Lys, 324Lys, 325Lys, 326Lys, 327Lys, 328Lys, 329Lys, 330Lys, 332Lys и 333Lys.

В другом воплощении лизин(ы), с которым(и) связан(ы) указанный(ые) заместитель (и), выбран(ы) из: 292Lys, 293Lys, 294Lys, 300Lys, 303Lys, 305Lys, 306Lys, 309Lys, 311Lys, 313Lys, 314Lys, 316Lys, 318Lys, 321 Lys, 322Lys, 323Lys, 324Lys, 325Lys, 326Lys, 327Lys, 328Lys, 329Lys, 330Lys, 332Lys и 333Lys.

В другом воплощении лизин(ы), с которым(и) связан(ы) указанный(ые) заместитель (и), выбран(ы) из: 293Lys, 294Lys, 300Lys, 303Lys, 305Lys, 306Lys, 309Lys, 311Lys, 313Lys, 314Lys, 316Lys, 318Lys, 321Lys, 322Lys, 323Lys, 324Lys, 325Lys, 326Lys, 327Lys, 328Lys, 329Lys, 330Lys, 332Lys и 333Lys.

В другом воплощении лизин(ы), с которым(и) связан(ы) указанный(ые) заместитель (и), выбран(ы) из: 293Lys, 294Lys, 300Lys, 303Lys, 305Lys, 306Lys, 311Lys, 313Lys, 314Lys, 316Lys, 318Lys, 321Lys, 322Lys, 323Lys, 324Lys, 325Lys, 326Lys, 327Lys, 328Lys, 329Lys, 330Lys, 332Lys и 333Lys.

В тех воплощениях, где указанный заместитель присоединен к C-концевой элонгации, лизин, с которым связан заместитель, может быть выбран из любого из положений от 333Lys до 242Lys и/или из любого из положений от 333Lys до 383Lys.

В тех воплощениях, где соединения по настоящему изобретению содержат два заместителя, такие заместители могут быть присоединены независимо друг от друга, как определено выше, что означает: любой из них может быть присоединен к N-концевой аминокислоте пептида, к C-концевой аминокислоте пептида или к аминокислоте внутри аминокислотной последовательности пептида.

В тех воплощениях, где Lys присутствует в N-концевом положении, два заместителя могут быть оба связаны с N-концевым остатком Lys пептида. Один может быть связан с N-концевой альфа-аминогруппой указанного Lys, а другой может быть связан с эпсилон-азотом указанного Lys. Если присутствуют два заместителя, один может быть связан с N-концевой аминокислотой пептида, а другой заместитель связан с аминокислотой, такой как Lys, внутри пептида.

Иначе, один заместитель может быть связан с Lys в C-концевом положении пептида, а другой заместитель связан с аминокислотой, такой как Lys, в пептиде. Иначе, один заместитель может быть связан с аминокислотным остатком, таким как Lys, внутри пептида, включающего элонгацию, а другой заместитель связан с другим аминокислотным остатком, таким как Lys, внутри пептида, включающего элонгацию.

В одном воплощении соединения по настоящему изобретению содержат один заместитель, и указанный заместитель связан с пептидом по N-концу; или указанный заместитель связан с пептидом по положению 292Lys; или указанный заместитель присоединен к пептиду по положению 293Lys, или указанный заместитель присоединен

к пептиду по положению 299Lys; или указанный заместитель присоединен к пептиду по положению 300Lys; или указанный заместитель присоединен к пептиду по положению 309Lys; или указанный заместитель присоединен к пептиду по положению 311Lys; или указанный заместитель присоединен к пептиду по положению 312Lys; или указанный заместитель присоединен к пептиду по положению 313Lys; или указанный заместитель присоединен к пептиду по положению 314Lys; или указанный заместитель присоединен к пептиду по положению 315Lys; или указанный заместитель присоединен к пептиду по положению 316Lys; или указанный заместитель присоединен к пептиду по положению 318Lys; или указанный заместитель присоединен к пептиду по положению 320Lys; или указанный заместитель присоединен к пептиду по положению 321 Lys; или указанный заместитель присоединен к пептиду по положению 322Lys; или указанный заместитель присоединен к пептиду по положению 323Lys; или указанный заместитель присоединен к пептиду по положению 324Lys; или указанный заместитель присоединен к пептиду по положению 325Lys; или указанный заместитель присоединен к пептиду по положению 326Lys; или указанный заместитель присоединен к пептиду по положению 328Lys; или указанный заместитель присоединен к пептиду по положению 329Lys; или указанный заместитель присоединен к пептиду по положению 330Lys; или указанный заместитель присоединен к пептиду по положению 332Lys; или указанный заместитель присоединен к пептиду по положению 333Lys.

В одном воплощении, если производное по настоящему изобретению содержит два заместителя, указанные заместители могут быть присоединены к пептиду через N-конец и через любое из выше упомянутых положений Lys, например 293Lys, 309Lys, 313Lys, 324Lys, 328Lys, 330Lys, 332Lys и 333Lys.

В дополнительных воплощениях, если производное включает два заместителя, они могут быть связан с двумя различными остатками Lys, такими как любой из следующих пар остатков Lys

i.	293K и 294K	xiv.	313K и 321K
ii.	293K и 312K	xv.	313K и 324K
iii.	293K и 333K	xvi.	313K и 328K
iv.	309K и 313K	xvii.	313K и 332K
v.	309K и 324K	xviii.	313K и 333K
vi.	309K и 328K	xix.	314K и 333K
vii.	309K и 332K	xx.	321K и 332K
viii.	309K и 333K	xxi.	321K и 333K
ix.	311K и 313K	xxii.	324K и 333K
x.	312K и 333K	xxiii.	324K и 328K
xi.	312K и 313K	xxiv.	328K и 333K
xii.	312K и 314K	xxv.	330K и 333K и
xiii.	313K и 314K	xxvi.	332K и 333K.

В одном воплощении такие два заместителя присоединены через 333Lys и Lys, выбранный из 293Lys, 309Lys, 312Lys, 313Lys, 314Lys, 321Lys, 324Lys, 328Lys, 330Lys и 332Lys.

В одном воплощении такие два заместителя присоединены через 333Lys и Lys, выбранный из 312Lys, 313Lys, 314Lys, 321Lys, 324Lys, 328Lys и 330Lys.

В одном воплощении такие два заместителя присоединен через 333Lys и Lys,

выбранный из 313Lys, 324Lys и 328Lys.

Как описано выше, указанный пептид может содержать одну или более аминокислотных замен, которые могут комбинироваться с конкретными аминокислотными остатками в конкретных положениях, описанных в настоящем документе. Такие конкретные аминокислотные остатки могут быть аминокислотными остатками дикого типа, которые следует сохранить, например остатки цистеина, который может в ряде предпочтительных воплощений, например в комбинации с другими признаками, описанными в настоящем документе, присутствовать в пептидном аналоге. В таких воплощениях указанный пептидный аналог включает три дисульфидных мостика в положениях 297Cys-308Cys, 304Cys-317Cys и 319Cys-331Cys. В другом примере таких воплощений указанный пептидный аналог пептидного производного включает три дисульфидных мостика в положениях 297Cys-308Cys, 304Cys-317Cys и 319Cys-331Cys и по меньшей мере один заместитель, при этом указанный(е) заместитель(и) не присоединен(ы) по положениям, выбранным из 295, 296, 298, 301, 302 и 307 указанного пептидного аналога. Опытному специалисту будет понятно, что комбинации информации по пептидной последовательности можно комбинировать с информацией по положению и идентичности указанного заместителя, чтобы определить различные конкретные воплощения настоящего изобретения.

В одном воплощении указанный пептидный аналог не включает Lys в положениях, отличных от тех, по которым связан заместитель.

В одном воплощении соединения по настоящему изобретению содержат один заместитель, присоединенный либо по N-концевому положению, либо к Lys в любом положении, и указанный пептидный аналог не включает Lys во всех других положениях. В одном воплощении соединения по настоящему изобретению содержат один заместитель, присоединенный к Lys в любом положении, отличном от положения 312, и указанный пептидный аналог включает Arg в положении 312Arg.

В одном воплощении соединения по настоящему изобретению содержат два заместителя, и указанный пептидный аналог не включает Lys в положениях, отличных от тех положений, к которым указанные заместители присоединены.

В одном воплощении производное ЭФР(А) по настоящему изобретению выбрано из группы, состоящей из производного ЭФР(А), состоящего из следующего: Примеры 1-47, 51-102 и 106-159.

В дополнительных воплощениях производное ЭФР(А) по настоящему изобретению индивидуально выбрано из группы, состоящей из производного ЭФР(А), состоящего из следующего: Примеры 1-47, 51-102 и 106-159.

В одном воплощении производное ЭФР(А) по настоящему изобретению выбрано из группы, состоящей из производного ЭФР(А), состоящего из следующего: Примеры 1-44, 46-47, 51-55, 57, 60-64, 66-69, 71-102 и 106-159.

В одном воплощении производное ЭФР(А) по настоящему изобретению выбрано из группы, состоящей из производного ЭФР(А), состоящего из следующего: Примеры 31, 95, 128, 133, 143, 144, 150, 151, 152 и 153.

Фармацевтическая композиция

Настоящее изобретение также относится к фармацевтическим композициям, включающим соединение по настоящему изобретению, включающему, например, пептидный аналог по настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемую соль, амид или сложный эфир, и фармацевтически приемлемый эксципиент. Такие композиции можно приготовить способом, известным в данной области техники.

Термин "эксципиент" в широком смысле относится к любому компоненту, отличному

от активного(ых) терапевтического(их) ингредиента(ов). Такой эксципиент может представлять собой инертное вещество, неактивное вещество, и/или не активное в медицинском отношении вещество. Такой эксципиент может служить в различных целях, например в качестве носителя, основы, разбавителя, вещества, облегчающего таблетирование, и/или для улучшения введения и/или абсорбции действующего вещества. Неограничивающими примерами эксципиентов являются: растворители, разбавители, буферы, консерванты, агенты, регулирующие тоничность, хелатирующие агенты и стабилизаторы. Приведение в лекарственную форму фармацевтически активных ингредиентов с различными эксципиентами известно в данной области техники (см., например: Remington: The Science and Practice of Pharmacy (например 19-е издание (1995) и любое более позднее издание)).

Композиция по настоящему изобретению может быть в жидкой лекарственной форме, т.е. водной лекарственной формы, включающей воду. Жидкая лекарственная форма может представлять собой раствор или суспензию. Иначе, она может представлять собой твердую лекарственную форму, например лиофилизированную или высушенную сухим распылением композицию.

Фармацевтическая композиция по настоящему изобретению может дополнительно включать второй активный ингредиент, такой как терапевтический агент, который может облегчать введение в случае комбинированного лечения.

Композиция по настоящему изобретению может представлять сбой композицию для перорального введения, путь введения - пероральный. Соединения по настоящему изобретению и, в частности, соединения пролонгированного действия, т.е. производные соединения, подходят для перорального введения. Пептиды и соединения по настоящему изобретению могут быть включены в пероральную лекарственную форму, т.е. композицию, подходящую для перорального введения, и способны обеспечивать подходящий уровень биодоступности. Можно применять технологии изготовления пероральных лекарственных форм, известные в данной области техники. Они включают применение солей N-(8-(2-гидроксибензоил)амино)каприловой кислоты, в частности N-(8-(2-гидроксибензоил)амино)каприлата натрия (SNAC, от англ. sodium N-(8-(2-hydroxybenzoyl)amino)caprylate), описаного в WO 96/30036 и WO 2008/028859, и лекарственные формы по технологии усиления проницаемости в желудочно-кишечном тракте (GIPET, от англ. Gastrointestinal Permeation Enhancement Technology), включающие капринат натрия, такие как описанные в EP 1154761 и US 8053429.

Чтобы предложить соединения для пероральных композиций, авторы настоящего изобретения доказали, что пептидные производные ЭФР(А) по настоящему изобретению абсорбируются в желудочно-кишечном тракте у крыс (Таблица 10).

Как альтернатива, композиция по настоящему изобретению может представлять собой композицию для парентерального введения, например, осуществляемого подкожной, внутримышечной, интраперитонеальной или внутривенной инъекцией. Понятно, что соединения, предназначенные для подкожного введения, не обязаны демонстрировать абсорбцию в желудочно-кишечном тракте, но при этом могут быть желательны другие характеристики, такие как высокая стабильность в жидкой лекарственной форме.

Комбинированное лечение

Лечение пептидным аналогом ЭФР(А) или его производным по настоящему изобретению можно также комбинировать с одним или несколькими дополнительными фармакологически активными веществами, например, выбранными из противодиабетических средств, средств против ожирения, агентов, регулирующих

аппетит, антигипертензивных средств, средств для лечения и/или профилактики осложнений, возникающих при или связанных с диабетом, и средств для лечения и/или профилактики осложнений и расстройств, возникающих при или связанных с ожирением.

Примерами этих фармакологически активных веществ являются: агонисты рецептора GLP-1 (глюкагоноподобного пептида-1, от англ. Glucagon-like peptide-1), инсулин, ингибиторы DPP-IV (дипептидилпептидазы-IV, от англ. dipeptidiyl peptidase-IV), агонисты амилина и агонисты рецептора лептина. Конкретными примерами таких активных веществ являются агонисты рецептора GLP-1 лираглутид и семаглутид и инсулин деглудек.

Показания к фармацевтическому применению

В одном аспекте настоящее изобретение относится к применению пептидного аналога ЭФР(А) или производного ЭФР(А), описанного в настоящем документе, для применения в изготовлении лекарственного средства.

Настоящее изобретение также относится к соединению по настоящему изобретению, например пептидному аналогу или производному по настоящему изобретению, или его фармацевтической композиции для применения в качестве медицинского средства или для изготовления лекарственного средства.

В одном воплощении соединение по настоящему изобретению или его композицию можно применять для (i) улучшения липидных параметров, таких как профилактика и/или лечение дислипидемии, снижение общего сывороточного содержания липидов; снижение ХС-ЛНП, повышение ЛВП (липопротеины высокой плотности); снижение уровня мелких, плотных ЛНП; снижение уровня ЛОНП (липопротеинов очень низкой плотности); снижение уровня триглицеридов; снижение уровня холестерина; снижение уровня в плазме липопротеина(а) (Лп(а)); ингибирование генерации аполипопротеина А (апо(А)); (ii) профилактика и/или лечение сердечно-сосудистых заболеваний, таких как кардиальный синдром X, атеросклероз, инфаркт миокарда, коронарная болезнь сердца, реперфузионное повреждение, инсульт, церебральная ишемия, ранняя болезнь сердца или раннее сердечно-сосудистое заболевание, гипертрофия левого желудочка, заболевание коронарной артерии, гипертония, эссенциальная гипертония, гипертонический криз, кардиомиопатия, сердечная недостаточность, непереносимость физической нагрузки, острая и/или хроническая сердечная недостаточность, аритмия, сердечная аритмия, синкопе, стенокардия, реокклюзия сердечного шунта и/или стента, перемежающаяся хромота (облитерирующий атеросклероз), диастолическая дисфункция и/или систолическая дисфункция; и/или снижение кровяного давления, например снижение систолического кровяного давления; лечение сердечно-сосудистого заболевания.

Настоящее изобретение также относится к способу для (i) улучшения липидных показателей, например: профилактика и/или лечение дислипидемии, снижение общих сывороточных липидов; повышение ХС-ЛВП; снижение ХС-ЛНП, снижение ХС маленьких, плотных ЛНП; снижение ХС-ЛОНП; снижение триглицеридов; снижение холестерина; снижение уровня липопротеина(а) (Лп(а)) в плазме крови; ингибирование генерации аполипопротеина А (апо(А)); (ii) для профилактики и/или лечения сердечно-сосудистого заболеваний, таких как кардиальный синдром X, атеросклероз, инфаркт миокарда, коронарная болезнь сердца, реперфузионное повреждение, инсульт, церебральная ишемия, ранняя болезнь сердца или раннее сердечно-сосудистое заболевание, гипертрофия левого желудочка, заболевание коронарной артерии, гипертония, эссенциальная гипертония, гипертонический криз, кардиомиопатия, сердечная недостаточность, непереносимость физической нагрузки, острая и/или

хроническая сердечная недостаточность, аритмия, сердечная аритмия, синкопе, стенокардия, реокклюзия сердечного шунта и/или стента, перемежающаяся хромота (облитерирующий атеросклероз), диастолическая дисфункция, и/или систолическая дисфункция; и/или снижение кровяного давления, например снижение систолического кровяного давления; лечение сердечно-сосудистого заболевания; при котором вводят фармацевтически активное количество соединения по настоящему изобретению, например пептидного аналога или производного по настоящему изобретению.

Несмотря на то, что в настоящем документе были наглядно представлены и описаны конкретные признаки настоящего изобретения, среднему специалисту в данной области техники очевидно множество модификаций, замен, изменений и эквивалентов. Поэтому следует понимать, что прилагаемые примеры воплощений предназначены для охвата всех таких модификаций и изменений, попадающих в пределы истинной сущности настоящего изобретения.

ВОПЛОЩЕНИЯ

1. Пептидный аналог ЭФР(А) домена ЭФР(А) Р-ЛНП, определенного последовательностью SEQ ID NO.: 1, включающий 301Leu.

2. Пептидный аналог ЭФР(А) по воплощению 1, включающий остатки Cys дикого типа 297Cys, 304Cys, 308Cys, 317Cys, 319Cys и 331Cys.

3. Пептидный аналог ЭФР(А) по любому из предшествующих воплощений, включающий один или несколько аминокислотных остатков (дикого типа) 295Asn, 296Glu, 298Leu, 302Gly и 310Asp.

4. Пептидный аналог ЭФР(А) по любому из предшествующих воплощений, включающий остаток Asn(N) в положении 295.

5. Пептидный аналог ЭФР(А) по любому из предшествующих воплощений, включающий остаток Glu(E) в положении 296.

6. Пептидный аналог ЭФР(А) по любому из предшествующих воплощений, включающий остаток Leu(L) в положении 298.

7. Пептидный аналог ЭФР(А) по любому из предшествующих воплощений, включающий остаток Gly(G) в положении 302.

8. Пептидный аналог ЭФР(А) по любому из предшествующих воплощений, включающий остаток Asp(D) в положении 310.

9. Пептидный аналог ЭФР(А) по любому из предшествующих воплощений, включающий остатки дикого типа в положениях 295 (Asn/N) и 310 (Asp/D).

10. Пептидный аналог ЭФР(А) по любому из предшествующих воплощений, включающий 1-15 аминокислотных(ую) замен(у) относительно последовательности SEQ ID NO.: 1.

11. Пептидный аналог ЭФР(А) по любому из предшествующих воплощений, включающий одну или более аминокислотных(ую) замен(у) в положении(ях), выбранных из группы положений: 293, 294, 296, 299, 300, 303, 305, 306, 309, 311, 312, 313, 314, 315, 316, 318, 320, 321, 322, 323, 324, 325, 326, 328, 329, 330, 332.

12. Пептидный аналог ЭФР(А) по любому из предшествующих воплощений, включающий одну или несколько аминокислотных(ую) замен(у) в положении(ях), выбранных из группы положений: 294, 299, 300, 303, 309, 312, 313, 314, 316, 318, 321, 322, 323, 324, 325, 326, 328, 329, 330, 332.

13. Пептидный аналог ЭФР(А) по любому из предшествующих воплощений, включающий одну или несколько дополнительную(ых) аминокислотных(ую) замен(у) в положении(ях), выбранных из группы положений: 309, 312, 313, 321, 324, 328, 332.

14. Пептидный аналог ЭФР(А) по любому из предшествующих воплощений,

включающий аминокислотный остаток Gly(G) или Asn(N) в положении 293.

15. Пептидный аналог ЭФР(А) по любому из предшествующих воплощений, включающий аминокислотный остаток Thr(T) или Gly(G) в положении 294.

16. Пептидный аналог ЭФР(А) по любому из предшествующих воплощений, включающий аминокислотный остаток Asp(D), Gly(G), Pro(P), Arg(R), Lys(K), Ser(S), Thr(T), Asn(N), Gln(Q), Ala(A), Ile(I), Leu(L), Met(M), Phe(F), Tyr(Y) или Trp(W) в положении 299.

17. Пептидный аналог ЭФР(А) по любому из предшествующих воплощений, включающий аминокислотный остаток Asp(D), Gly(G), Pro(P), Arg(R), Lys(K), Ser(S), Thr(T), Asn(N), Gln(Q), Ala(A), Ile(I), Leu(L), Met(M), Phe(F), Tyr(Y) или Trp(W) в положении 299.

18. Пептидный аналог ЭФР(А) по любому из предшествующих воплощений, включающий аминокислотный остаток Asp(D), Ser(S), Arg(R), Leu(L), Ala(A), Lys(K) или Tyr(Y) в положении 299.

19. Пептидный аналог ЭФР(А) по любому из предшествующих воплощений, включающий аминокислотный остаток Asp(D) или Ala(A) в положении 299.

20. Пептидный аналог ЭФР(А) по любому из предшествующих воплощений, включающий аминокислотный остаток His(H) или Asn(N) в положении 300.

21. Пептидный аналог ЭФР(А) по любому из предшествующих воплощений, включающий аминокислотный остаток Val(V), Ser(S), Thr(T) или Ile(I) в положении 307.

22. Пептидный аналог ЭФР(А) по любому из предшествующих воплощений, включающий аминокислотный остаток Val(V) или Ile(I) в положении 307.

23. Пептидный аналог ЭФР(А) по любому из предшествующих воплощений, включающий Ser(S), Thr(T) или Ile(I) в положении 307.

24. Пептидный аналог ЭФР(А) по любому из предшествующих воплощений, включающий Ile(I) в положении 307.

25. Пептидный аналог ЭФР(А) по любому из предшествующих воплощений, включающий аминокислотный остаток Asn(N), Glu(E), His(H), Arg(R), Ser(S) или Lys(K) в положении 309.

26. Пептидный аналог ЭФР(А) по любому из предшествующих воплощений, включающий аминокислотный остаток Asn(N), Arg(R), Ser(S) или Lys(K) в положении 309.

27. Пептидный аналог ЭФР(А) по любому из предшествующих воплощений, включающий аминокислотный остаток Asn(N), Arg(R) или Ser(S) в положении 309.

28. Пептидный аналог ЭФР(А) по любому из предшествующих воплощений, включающий аминокислотный остаток Asn(N) или Arg(R) в положении 309.

29. Пептидный аналог ЭФР(А) по любому из предшествующих воплощений, включающий аминокислотный остаток Lys(K) или Arg(R) в положении 309.

30. Пептидный аналог ЭФР(А) по любому из предшествующих воплощений, включающий аминокислотный остаток Arg(R) в положении 309.

31. Пептидный аналог ЭФР(А) по любому из предшествующих воплощений, включающий аминокислотный остаток Lys(K), Glu(E), Asp(D), Gln(Q) или Arg(R) в положении 312.

32. Пептидный аналог ЭФР(А) по любому из предшествующих воплощений, включающий аминокислотную замену Lys(K) в положении 312.

33. Пептидный аналог ЭФР(А) по воплощению 0, в котором 312Lys замещен аминокислотой, выбранной из группы, состоящей из: 312Gly, 312Pro, 312Asp, 312Glu, 312Arg, 312His, 312Ser, 312Thr, 312Asn, 312Gln, 312Ala, 312Val, 312Ile, 312Leu, 312Met,

312Phe и 312Tyr.

34. Пептидный аналог ЭФР(А) по воплощению 0, в котором 312Lys замещен аминокислотой, выбранной из группы, состоящей из: 312Asp, 312Glu, 312Thr, 312Asn, 312Ile, 312Phe и 312Tyr.

35. Пептидный аналог ЭФР(А) по воплощению 0, в котором 312Lys замещен аминокислотой, выбранной из группы, состоящей из: 312Asp, 312Glu, 312Thr, 312Asn, 312Ile и 312Phe.

36. Пептидный аналог ЭФР(А) по воплощению 0, в котором 312Lys замещен аминокислотой, выбранной из группы, состоящей из: 312Glu, 312Asp, 312Gln и 312Arg.

37. Пептидный аналог ЭФР(А) по любому из предшествующих воплощений, включающий аминокислотный остаток Asp(D), Lys(K) или Glu(E) в положении 321.

38. Пептидный аналог ЭФР(А) по любому из предшествующих воплощений, включающий аминокислотный остаток Asp(D) или Glu(E) в положении 321.

39. Пептидный аналог ЭФР(А) по любому из предшествующих воплощений, включающий аминокислотный остаток Glu(E) в положении 321.

40. Пептидный аналог ЭФР(А) по любому из предшествующих воплощений, включающий аминокислотный остаток Gln(Q) или Gly(G) в положении 324.

41. Пептидный аналог ЭФР(А) по любому из предшествующих воплощений, включающий аминокислотный остаток Arg(R) или His(H) в положении 329.

42. Пептидный аналог ЭФР(А) по любому из предшествующих воплощений, при этом указанный пептид не содержит замену 299Asp(D) на Glu(E), Val(V) или His(H).

43. Пептидный аналог ЭФР(А) по любому из предшествующих воплощений, не содержащий замену 300Asn(N) на Pro(P).

44. Пептидный аналог ЭФР(А) по любому из предыдущих воплощений, включающий по меньшей мере один аминокислотный остаток Lys.

45. Пептидный аналог ЭФР(А) по любому из предыдущих воплощений, включающий замену Lys.

46. Пептидный аналог ЭФР(А) по любому из предыдущих воплощений, включающий замену Lys и Lys дикого типа в положении 312.

47. Пептидный аналог ЭФР(А) по любому из предыдущих воплощений, включающий замену Lys и не включающий аминокислотный остаток Lys в положении 312.

48. Пептидный аналог ЭФР(А) по любому из предыдущих воплощений, включающий замену Lys и Glu(E), Asp(D), Gln(Q) или Arg(R) в положении 312.

49. Пептидный аналог ЭФР(А) по любому из предыдущих воплощений, включающий замену Lys и Glu(E) в положении 312.

50. Пептидный аналог ЭФР(А) по любому из предыдущих воплощений, включающий одну или несколько замен(у) Lys.

51. Пептидный аналог ЭФР(А) по любому из предыдущих воплощений, имеющий по меньшей мере две аминокислотные замены, включающие и/или, состоящий из следующего:

i. 301Leu и 309Arg

ii. 301Leu, 309Arg, 312Glu

iii. 301Leu, 307Ile и 309Arg

iv. 301Leu, 307Ile, 309Arg и 312Glu

v. 301Leu, 309Arg и 321Glu

vi. 301Leu, 309Arg, 321Glu и 312Glu

vii. 301Leu, 307Ile, 309Arg и 299Ala

viii. 301Leu, 307Ile, 309Arg, 299Ala и 312Glu

ix. 301Leu и 309Arg и по меньшей мере одна замена Lys
x. 301Leu, 309Arg, 312Glu и по меньшей мере одна замена Lys
xi. 301Leu, 307Ile и 309Arg и по меньшей мере одна замена Lys
xii. 301Leu, 307Ile, 309Arg и 312Glu и по меньшей мере одна замена Lys
xiii. 301Leu, 309Arg и 321Glu и по меньшей мере одна замена Lys
xiv. 301Leu, 309Arg, 321Glu и 312Glu и по меньшей мере одна замена Lys
xv. 301Leu, 307Ile, 309Arg и 299A1a и по меньшей мере одна замена Lys или
xvi. 301Leu, 307Ile, 309Arg, 299A1a и 312Glu и по меньшей мере одна замена Lys.

52. Пептидный аналог ЭФР(А) по любому из предыдущих воплощений 0-0, содержащий по меньшей мере две аминокислотные замены, включающие и/или состоящие из следующего:
xvii. 301Leu и 309Lys
xviii. 301Leu, 309Lys и 312Glu
xix. 301Leu и 309Lys и по меньшей мере одна дополнительная замена Lys или
xx. 301Leu, 309Lys и 312Glu и по меньшей мере одна дополнительная замена Lys.

53. Пептидный аналог ЭФР(А) по любому из предыдущих воплощений 0-0, содержащий по меньшей мере две аминокислотные замены, включающие и/или, состоящие из следующего:
xxi. 301Leu и 307Ile,
xxii. 301Leu, 307Ile и 312Glu
xxiii. 301Leu и 307Ile и по меньшей мере одна дополнительная замена Lys или
xxiv. 301Leu, 3307Ile и 312Glu и по меньшей мере одна дополнительная замена Lys.

54. Пептидный аналог ЭФР(А) по любому из предыдущих воплощений, включающий N-концевую и/или C-концевую элонгацию.

55. Пептидный аналог ЭФР(А) по любому из предыдущих воплощений, включающий N-концевую элонгацию из 1-10 аминокислотных остатков.

56. Пептидный аналог ЭФР(А) по любому из предыдущих воплощений, включающий N-концевую элонгацию, включающую аминокислотный остаток в положении 292, например 292 Ala(A) или 292 (K).

57. Пептидный аналог ЭФР(А) по любому из предыдущих воплощений, включающий C-концевую элонгацию из 1-10 аминокислотных остатков.

58. Пептидный аналог ЭФР(А) по любому из предыдущих воплощений, включающий C-концевую элонгацию, включающую аминокислотный остаток в положении 333, например 333 Ala(A) или 333 (K).

59. Пептидный аналог ЭФР(А) по любому из предыдущих воплощений, включающий по меньшей мере один остаток Lys, выбранный из группы, состоящей из: 292Lys, 293Lys, 294Lys, 296Lys, 299Lys, 300Lys, 303Lys, 305Lys, 306Lys, 309Lys, 311Lys, 312Lys, 313Lys, 314Lys, 315Lys, 316Lys, 318Lys, 320Lys, 321 Lys, 322Lys, 323Lys, 324Lys, 325Lys, 326Lys, 327Lys, 328Lys, 329Lys, 330Lys, 332Lys и 333Lys.

60. Пептидный аналог ЭФР(А) по любому из предыдущих воплощений, включающий по меньшей мере один остаток Lys, выбранный из группы, состоящей из: 292Lys, 293Lys, 294Lys, 299Lys, 300Lys, 303Lys, 305Lys, 306Lys, 309Lys, 311Lys, 312Lys, 313Lys, 314Lys, 315Lys, 316Lys, 318Lys, 320Lys, 321 Lys, 322Lys, 323Lys, 324Lys, 325Lys, 326Lys, 327Lys, 328Lys, 329Lys, 330Lys, 332Lys и 333Lys.

61. Пептидный аналог ЭФР(А) по любому из предыдущих воплощений, включающий по меньшей мере один остаток Lys, выбранный из группы, состоящей из: 292Lys, 293Lys, 294Lys, 300Lys, 303Lys, 305Lys, 306Lys, 309Lys, 311Lys, 312Lys, 313Lys, 314Lys, 316Lys, 318Lys, 321Lys, 322Lys, 323Lys, 324Lys, 325Lys, 326Lys, 327Lys, 328Lys, 329Lys, 330Lys,

332Lys и 333Lys.

62. Пептидный аналог ЭФР(А) по любому из предыдущих воплощений, включающий по меньшей мере один остаток Lys, выбранный из группы, состоящей из: 292Lys, 293Lys, 294Lys, 300Lys, 303Lys, 305Lys, 306Lys, 311Lys, 312Lys, 313Lys, 314Lys, 316Lys, 318Lys, 322Lys, 323Lys, 324Lys, 325Lys, 326Lys, 327Lys, 328Lys, 329Lys, 330Lys, 332Lys и 333Lys.

63. Пептидный аналог ЭФР(А) по любому из предыдущих воплощений, включающий по меньшей мере один остаток Lys, выбранный из группы, состоящей из: 292Lys, 293Lys, 294Lys, 300Lys, 303Lys, 305Lys, 306Lys, 311Lys, 313Lys, 314Lys, 316Lys, 318Lys, 322Lys, 323Lys, 324Lys, 325Lys, 326Lys, 327Lys, 328Lys, 329Lys, 330Lys, 332Lys и 333Lys.

64. Пептидный аналог ЭФР(А) по любому из предыдущих воплощений, включающий по меньшей мере один остаток Lys, выбранный из группы, состоящей из: 313Lys, 324Lys, 328Lys и 333Lys.

65. Пептидный аналог ЭФР(А) по любому из предыдущих воплощений, включающий два остатка Lys, выбранных из любой из групп, определенных в воплощениях 0-0.

66. Пептидный аналог ЭФР(А) по любому из предыдущих воплощений, включающий два остатка Lys, выбранные из пар, состоящих из следующего:

i.	293K и 294K	xiv.	313K и 321K
ii.	293K и 312K	xv.	313K и 324K
iii.	293K и 333K	xvi.	313K и 328K
iv.	309K и 313K	xvii.	313K и 332K
v.	309K и 324K	xviii.	313K и 333K
vi.	309K и 328K	xix.	314K и 333K
vii.	309K и 332K	xx.	321K и 332K
viii.	309K и 333K	xxi.	321K и 333K
ix.	311K и 313K	xxii.	324K и 333K
x.	312K и 333K	xxiii.	324K и 328K
xi.	312K и 313K	xxiv.	328K и 333K
xii.	312K и 314K	xxv.	330K и 333K и
xiii.	313K и 314K	xxvi.	332K и 333K.

67. Пептидный аналог ЭФР(А) по любому из предыдущих воплощений, включающий N-концевое или C-концевое укорочение.

68. Пептидный аналог ЭФР(А) по любому из предыдущих воплощений, включающий N-концевое укорочение из 1-10 аминокислотных остатков.

69. Пептидный аналог ЭФР(А) по любому из предыдущих воплощений, включающий N-концевое укорочение, с удалением по меньшей мере или конкретно аминокислоты 293Gly.

70. Пептидный аналог ЭФР(А) по любому из предыдущих воплощений, включающий C-концевое укорочение из 1-2 аминокислотных остатков.

71. Пептидный аналог ЭФР(А) по любому из предыдущих воплощений, включающий C-концевое укорочение с удалением по меньшей мере или конкретно аминокислоты 332Glu.

72. Пептидный аналог ЭФР(А) по любому из предыдущих воплощений, последовательность которого определена любой последовательностью из SEQ ID NO.: 2-106.

73. Пептидный аналог ЭФР(А) по любому из предыдущих воплощений, последовательность которого определена любой последовательностью SEQ ID NO.: 2-47 и 49-106.

74. Пептидный аналог ЭФР(А) по любому из предыдущих воплощений, последовательность которого определена любой последовательностью SEQ ID NO.: 2-44, 46, 47 и 49-106.

75. Пептидный аналог ЭФР(А) по любому из предыдущих воплощений, последовательность которого определена любой последовательностью SEQ ID NO.: 2-44, 46, 47, 49-53, 55, 58-106.

76. Пептидный аналог ЭФР(А) по любому из предыдущих воплощений, последовательность которого определена любой последовательностью SEQ ID NO.: 2-4, 6-44, 46, 47, 49-53, 55, 58-106.

77. Пептидный аналог ЭФР(А) по любому из предыдущих воплощений, последовательность которого определена любой последовательностью SEQ ID NO.: 2-4, 6-19, 21-44, 46, 47, 49-53, 55, 58-106.

78. Производное ЭФР(А), включающее пептидный аналог ЭФР(А) и заместитель.

79. Производное ЭФР(А) по воплощению 0, включающее по меньшей мере один заместитель.

80. Производное ЭФР(А) по воплощению 0 или 0, в котором указанный заместитель представляет собой заместитель, увеличивающий период полувыведения.

81. Производное ЭФР(А) по воплощению 0 или 0, в котором пептидный аналог ЭФР (А) определен, как в любом из выше описанных воплощений 1-0.

82. Производное ЭФР(А) по любому из воплощений 0-0, в котором один или два заместитель(я) присоединен(ы) к атому азота пептидного аналога ЭФР(А).

83. Производное ЭФР(А) по любому из воплощений 0-0, в котором один или два заместитель(я) присоединен(ы) к аминогруппе пептида ЭФР(А).

84. Производное ЭФР(А) по любому из воплощений 0-0, в котором один или несколько заместитель(ей) присоединен(ы) к N-концевой аминокислоте пептида ЭФР (А) или к остатку Lys пептида ЭФР(А).

85. Производное ЭФР(А) по любому из воплощений 0-0, в котором один или два заместитель(я) присоединен(ы) к N-концевой аминокислоте пептида ЭФР(А).

86. Производное ЭФР(А) по любому из воплощений 0-0, в котором один или два заместитель(я) присоединен(ы) по альфа-азоту N-концевого аминокислотного остатка пептида ЭФР(А).

87. Производное ЭФР(А) по любому из воплощений 0-0, в котором один или два заместитель(я) присоединен(ы) к остатку Lys в пептиде ЭФР(А).

88. Производное ЭФР(А) по любому из воплощений 0-0, в котором один или два заместитель(я) присоединен(ы) к эпсилон-азоту остатка Lys в пептиде ЭФР(А).

89. Производное ЭФР(А) по любому из воплощений 0-0, в котором указанное производное ЭФР(А) включает два заместителя.

90. Производное ЭФР(А) по воплощению 0, в котором указанные два заместителя идентичны.

91. Производное ЭФР(А) по воплощению 0, в котором указанные два заместителя присоединены к атомам азота пептидного аналога ЭФР(А).

92. Производное ЭФР(А) по воплощению 0, в котором указанные два заместителя присоединены к аминогруппам пептидного аналога ЭФР(А).

93. Производное ЭФР(А) по воплощению 0, в котором указанные два заместителя присоединены к N-концевой аминокислоте пептида ЭФР(А) и к остатку Lys пептидного

аналога ЭФР(А).

94. Производное ЭФР(А) по воплощению 0, в котором один заместитель присоединен к альфа-азоту N-концевого аминокислотного остатка пептидного аналога ЭФР(А) и один заместитель присоединен к остатку Lys пептидного аналога ЭФР(А).

95. Производное ЭФР(А) по воплощению 0, в котором указанные два заместителя присоединены к N-концевой аминокислоте пептидного аналога ЭФР(А).

96. Производное ЭФР(А) по воплощению 0, в котором указанные два заместителя присоединены к остаткам Lys пептидного аналога ЭФР(А).

97. Производное ЭФР(А) по воплощению 0, в котором указанные два заместителя присоединены к эпсилон-атомам азота остатков Lys в пептидном аналоге ЭФР(А).

98. Производное ЭФР(А) по любому воплощению 0-0, в котором один или несколько заместитель(ей) присоединен(ы) к остатку(ам) Lys в пептидном аналоге ЭФР(А), выбранным из группы, состоящей из: 292Lys, 293Lys, 294Lys, 296Lys, 299Lys, 300Lys, 303Lys, 305Lys, 306Lys, 309Lys, 311Lys, 312Lys, 313Lys, 314Lys, 315Lys, 316Lys, 318Lys, 320Lys, 321Lys, 322Lys, 323Lys, 324Lys, 325Lys, 326Lys, 327Lys, 328Lys, 329Lys, 330Lys, 332Lys и 333Lys.

99. Производное ЭФР(А) по любому воплощению 0-0, в котором один или несколько заместитель(ей) присоединен(ы) к остатку(ам) Lys в пептидном аналоге ЭФР(А), выбранным из группы, состоящей из: 292Lys, 293Lys, 294Lys, 299Lys, 300Lys, 303Lys, 305Lys, 306Lys, 309Lys, 311Lys, 312Lys, 313Lys, 314Lys, 315Lys, 316Lys, 318Lys, 320Lys, 321Lys, 322Lys, 323Lys, 324Lys, 325Lys, 326Lys, 327Lys, 328Lys, 329Lys, 330Lys, 332Lys и 333Lys.

100. Производное ЭФР(А) по любому воплощению 0-0, в котором один или несколько заместитель(ей) присоединен(ы) к остатку(ам) Lys в пептидном аналоге ЭФР(А), выбранным из группы, состоящей из: 292Lys, 293Lys, 294Lys, 300Lys, 303Lys, 305Lys, 306Lys, 309Lys, 311Lys, 312Lys, 313Lys, 314Lys, 316Lys, 318Lys, 321Lys, 322Lys, 323Lys, 324Lys, 325Lys, 326Lys, 327Lys, 328Lys, 329Lys, 330Lys, 332Lys и 333Lys.

101. Производное ЭФР(А) по любому воплощению 0-0, в котором заместитель присоединен к 312K в пептидном аналоге ЭФР(А).

102. Производное ЭФР(А) по любому воплощению 0-0, в которой заместитель присоединен к замещенному остатку Lys в пептидном аналоге ЭФР(А).

103. Производное ЭФР(А) по воплощению 0, в котором указанное производное включает два заместителя, при этом один присоединен к замещенному остатку Lys, и один присоединен к 312K в пептидном аналоге ЭФР(А).

104. Производное ЭФР(А) по любому воплощению 0 и 0, в котором указанное производное включает два заместителя, и оба присоединены к замещенным остаткам Lys в пептидном аналоге ЭФР(А).

105. Производное ЭФР(А) по любому из воплощений 0-0, в котором один или два заместителя присоединен(ы) к замещенному остатку Lys в пептидном аналоге ЭФР(А), выбранному из группы, состоящей из: 292Lys, 293Lys, 294Lys, 296Lys, 299Lys, 300Lys, 303Lys, 305Lys, 306Lys, 309Lys, 311Lys, 313Lys, 314Lys, 315Lys, 316Lys, 318Lys, 320Lys, 321Lys, 322Lys, 323Lys, 324Lys, 325Lys, 326Lys, 327Lys, 328Lys, 329Lys, 330Lys, 332Lys и 333Lys.

106. Производное ЭФР(А) по любому воплощению 0-0, в котором один или два заместителя присоединен(ы) к замещенному остатку Lys в пептидном аналоге ЭФР(А), выбранному из группы, состоящей из: 292Lys, 293Lys, 294Lys, 299Lys, 300Lys, 303Lys, 305Lys, 306Lys, 309Lys, 311Lys, 313Lys, 314Lys, 315Lys, 316Lys, 318Lys, 320Lys, 321Lys, 322Lys, 323Lys, 324Lys, 325Lys, 326Lys, 327Lys, 328Lys, 329Lys, 330Lys, 332Lys и 333Lys.

107. Производное ЭФР(А) по любому воплощению 0-0, в котором один или два заместителя присоединен(ы) к замещенному остатку Lys в пептидном аналоге ЭФР(А), выбранному из группы, состоящей из: 292Lys, 293Lys, 294Lys, 300Lys, 303Lys, 305Lys, 306Lys, 309Lys, 311Lys, 313Lys, 314Lys, 316Lys, 318Lys, 321 Lys, 322Lys, 323Lys, 324Lys, 325Lys, 326Lys, 327Lys, 328Lys, 329Lys, 330Lys, 332Lys и 333Lys.

108. Производное ЭФР(А) по любому воплощению 0-0, в котором один или два заместителя присоединен(ы) к замещенному остатку Lys в пептидном аналоге ЭФР(А), выбранному из группы, состоящей из: 313Lys, 324Lys, 328Lys и 333Lys.

109. Производное ЭФР(А) по любому воплощению 0-0, в котором заместитель не присоединен к пептидному аналогу ЭФР(А) через аминокислотный остаток в любом из положений 295, 298, 301, 302, 307 и 310.

110. Производное ЭФР(А) по любому воплощению 0-0, в котором заместитель не присоединен к пептидному аналогу ЭФР(А) через аминокислотный остаток в любом из положений 295, 296, 298, 301, 302, 307, 310.

111. Производное ЭФР(А) по любому из воплощений 0-0, в котором указанный заместитель не представляет собой Fc-домен.

112. Производное ЭФР(А) по любому из воплощений 0-0, в котором указанный заместитель не слит с пептидом ЭФР(А).

113. Производное ЭФР(А) по любому воплощению 0-0, в котором указанный заместитель включает по меньшей мере одну группу жирной кислоты.

114. Производное ЭФР(А) по воплощению 0, в котором указанная группа жирной кислоты представляет собой химическую группу, включающую по меньшей мере одну функциональную группу (ФГ) с pKa<7 и углеродной цепью, содержащей по меньшей мере 8 последовательно соединенных $-CH_2-$ групп.

115. Производное ЭФР(А) по воплощению 0, в котором указанная группа жирной кислоты включает функциональную группу, выбранную из карбоновой кислоты, сульфоновой кислоты, фрагмента тетразола, метилсульфонил-карбамоиламинового фрагмента или фрагмента 3-гидрокси-изоксазола.

116. Производное ЭФР(А) по воплощению 0, в котором указанный заместитель включает карбоновую кислоту, сульфоновую кислоту, фрагмент тетразола, метилсульфонилкарбамоиламиновый фрагмент или фрагмент гидроксиизоксазол-3-гидроксиизоксазола, включая 8-20 последовательно соединенных $-CH_2-$ групп.

117. Производное ЭФР(А) по воплощению 0, в котором указанный заместитель имеет Формулу I:

$$Z_1\text{-}Z_2\text{-}Z_3\text{-}Z_4\text{-}Z_5\text{-}Z_6\text{-}Z_7\text{-}Z_8\text{-}Z_9\text{-}Z_{10}\text{-} \quad [I]$$

в которой

Z_1 выбран из следующего:

Хим. формула 1: $HOOC\text{-}(CH_2)_n\text{-}CO\text{-}*$,

Хим. формула 2: тетразолил-$(CH_2)_n$-CO-*,

Хим. формула 3: $HOOC\text{-}(C_6H_4)\text{-}O\text{-}(CH_2)_m\text{-}CO\text{-}*$,

Хим. формула 4: $HOS(O)_2\text{-}(CH_2)_n\text{-}CO\text{-}*$,

Хим. формула 5: $MeS(O)_2NH(CO)NH\text{-}(CH_2)_n\text{-}CO\text{-}*$ и

Хим. формула 6: 3-HO-изоксазол-$(CH_2)_n$-CO-*,

в которой

n представляет собой целое число в интервале 8-20,

m представляет собой целое число в интервале 8-11,

-COOH группа в Хим. формуле 3 может быть присоединена по положению 2, 3 или 4 фенильного кольца,

символ * указывает на место присоединения к азоту в Z_2 или, если Z_2 представляет собой связь, к азоту на соседнем Z-элементе;

Z_2 выбран из следующего:

Хим. формула 7: *-NH-SO_2-$(CH_2)_3$-CO-*,

Хим. формула 8: *-NH-CH_2-(C_6H_{10})-CO-* и

связь;

Z_3 выбран из следующего:

γGlu, Glu и связь;

Z_4, Z_5, Z_6, Z_7, Z_8, Z_9, независимо друг от друга выбраны из следующего:

Glu, γGlu, Gly, Ser, Ala, Thr, Ado, Aeep, Aeeep, TtdSuc и связь;

Z_{10} выбран из следующего:

Хим. формула 7: *-NH-CH_2-(C_6H_4)-CH_2-* и связь.

118. Производное ЭФР(А) по воплощению 0, в котором

γGlu описан Хим. формулой 9: *NH-CH(COOH)-$(CH_2)_2$-CO-*,

TtdSuc описан Хим. формулой 10:

NH-$CH_2CH_2CH_2OCH_2CH_2OCH_2CH_2OCH_2CH_2CH_2NHCO$,

Ado описан Хим. формулой 11: *NH-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-CH_2-CO-*,

Aeep описан Хим. формулой 12 *NH-$CH_2CH_2OCH_2CH_2OCH_2CH_2CO$*, и

Aeeep описан Хим. формулой 13 *NH-$CH_2CH_2OCH_2CH_2OCH_2CH_2OCH_2CH_2CO$*.

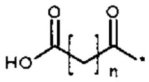
119. Производное ЭФР(А) по воплощению 0, в котором указанный заместитель задан Формулой I:

Z_1-Z_2-Z_3-Z_4-Z_5-Z_6-Z_7-Z_8-Z_9-Z_{10}- [I]

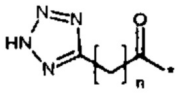
в которой

Z_1, выбран из следующего:

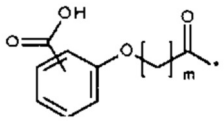
Хим. формула 1b:



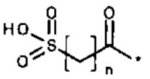
Хим. формула 2b:



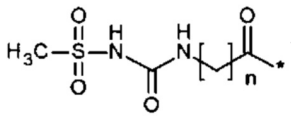
Хим. формула 3b:



Хим. формула 4b:

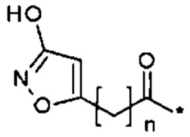


Хим. формула 5b



, и

Хим. формула 6b



где

n в Хим. формуле 1b, 2b, 4b, 5b или 6b представляет собой целое число в интервале 8-20,

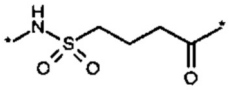
m в Хим. формуле 3b представляет собой целое число в интервале 8-11, группа -COOH в Хим. формуле 3b может присоединена по положению 2, 3 или 4 фенильного кольца,

символ * указывает на место присоединения к атому азота в Z_2 или, если

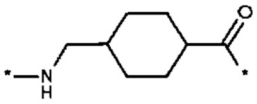
Z_2 представляет собой связь, к атому азота на соседнем Z-элементе;

Z_2 выбран из следующего:

Хим. формула 7b:



Хим. формула 8b:



и

связь;

Z_3 выбран из следующего:

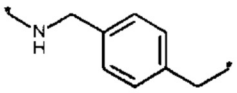
γGlu, Glu, и связь;

Z_4, Z_5, Z_6, Z_7, Z_8, Z_9 выбраны, независимо друг от друга, из следующего:

Glu, γGlu, Gly, Ser, Ala, Thr, Ado, TtdSuc и связь;

Z_{10} выбран из следующего:

Хим. формула 14b



и связь;

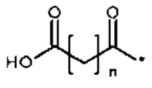
при условии что

если Z_{10} описан Хим. формулой 14b, то заместитель присоединен к альфа-азоту N-концевой аминогруппы указанного пептида; и

если Z_{10} представляет собой связь, то заместитель присоединен по эпсилон-положению остатка Lys, присутствующего в указанном пептиде, или к альфа-азоту N-концевого аминокислотного остатка указанного пептида.

120. Производное ЭФР(А) по воплощению 0, в котором представляет собой формулу

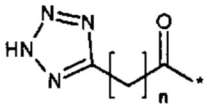
Хим. формула 1b:



в которой n представляет собой целое число в интервале 8-20.

121. Соединение по любому из воплощений 0, в котором Z_1 представляет собой формулу

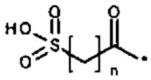
Хим. формула 2b:



в которой n представляет собой целое число в интервале 8-20.

122. Производное ЭФР(А) по воплощению 0, в котором Z_1 представляет собой формулу

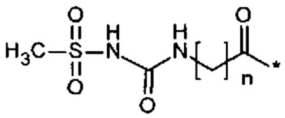
Хим. формула 4b:



и в которой n представляет собой целое число в интервале 8-20.

123. Производное ЭФР(А) по воплощению 0, в котором Z_1 представляет собой формулу

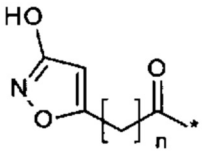
Хим. формула 5b:



в которой n представляет собой целое число в интервале 8-20.

124. Производное ЭФР(А) по воплощению 0, в котором Z_1 представляет собой формулу

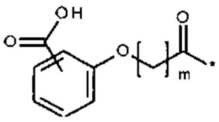
Хим. формула 6b:



в которой n представляет собой целое число в интервале 8-20.

125. Производное ЭФР(А) по воплощению 0, в котором Z_1 представляет собой формулу

Хим. формула 3b:



в которой m представляет собой целое число в интервале 8-11.

126. Производное ЭФР(А) по воплощению 0, в котором m равно 8, 9, 10 или 11.

127. Производное ЭФР(А) по воплощению 0, в котором m равно 10 или 11.

128. Производное ЭФР(А) по любому из воплощений 0-0, в котором n находится в интервале 10-18, 10-14, 15-18, 8-15 или 16-20.

129. Производное ЭФР(А) по любому из воплощений 0-0, в котором n равно 8, 9, 10, 11 или 12.

130. Производное ЭФР(А) по любому из воплощений 0-0, в котором n равно 13, 14, 15 или 16.

131. Производное ЭФР(А) по любому из воплощений 0-0, в котором n равно 14, 15, 16, 17 или 18.

132. Производное ЭФР(А) по любому из воплощений 0-0, в котором n равно 17, 18, 19 или 20.

133. Производное ЭФР(А) по любому из воплощений 0 и 0, в котором Z_2 описан Хим. формулой 7 или Хим. формулой 7b, и Z_3 выбран из γGlu, Glu и связи.

134. Производное ЭФР(А) по любому из воплощений 0 и 0, в котором Z_2 описан Хим. формулой 8 или Хим. формулой 8b, и Z_3 выбран из γGlu и Glu.

135. Производное ЭФР(А) по любому из воплощений 0 и 0, в котором указанное производное имеет один или два заместителя, выбранные из группы, состоящей из следующего:

HOOC-$(CH_2)_{18}$-CO-gGlu-2xAdo

HOOC-$(CH_2)_{18}$-CO-NH-CH_2-(C_6H_{10})-CO-gGlu-2xAdo

HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo

HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo-NH-CH_2-(C_6H_4)-CH_2

HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu

HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-NH-CHr(C_6H_{10})-CO-gGlu-2xAdo

HOOC-$(CH_2)_{14}$-CO-gGlu-2xAdo

HOOC-$(CH_2)_{14}$-CO-gGlu-

HOOC-$(CH_2)_{14}$-CO-gGlu-2xAdo-

HOOC-$(CH_2)_{12}$-CO-gGlu-2xAdo

4-HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_{10}$-CO-gGlu-2xAdo

4-HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_{10}$-CO-gGlu-3xAdo

4-HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_{10}$-CO-gGlu

4-HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_{10}$-CO-2xgGlu

4-HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_{10}$-CO-gGlu-3xGly

4-HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_{10}$-CO-2xgGlu-2xAdo

4-HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_{10}$-CO-gGlu-TtdSuc

4-HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_9$-CO

4-HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_{10}$-CO-gGlu-4xAdo

4-HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_{10}$-CO-NH-CH_2-(C_6H_{10})-CO-gGlu-2xAdo

4-HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_9$-CO-gGlu-2xAdo

3-HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_9$-CO-gGlu-2xAdo

3-HO-Изоксазол-$(CH_2)_{12}$-CO-gGlu-2xAdo

HOS(O)2-(CH_2)15-CO-gClu-2xAdo-NH-CH_2-(C_6H_4)-CH_2

HOS(O)2-$(CH_2)_{13}$-CO-gGlu-2xAdo

Тетразолил-$(CH_2)_{15}$-CO-NH-SO_2-$(CH_2)_3$-CO-Ado-Ado-NH-CH_2-(C_6H_4)-CH_2

Тетразолил-$(CH_2)_{12}$-CO-gGlu-2xAdo

Тетразолил-$(CH_2)_{15}$-CO-gGlu-2xAdo и

$MeS(O)_2NH(CO)NH$-$(CH_2)_{12}$-CO-gGlu-2xAdo.

136. Производное ЭФР(А) по воплощению 0, выбранное из группы, состоящей из производных ЭФР(А), состоящей из следующего: Примеры соединений 1-47, 51-102 и 106-159.

137. Производное ЭФР(А) по воплощению 0, выбранное из группы производных ЭФР(А), состоящей из следующего: Примеры соединений 1-44, 46-47, 51-55, 57, 60-64, 66-69, 71-102 и 106-159.

138. Производное ЭФР(А) по воплощению 0, выбранное из группы производных ЭФР(А), состоящей из следующего: Примеры соединений 31, 95, 128, 133, 143, 144, 150, 151, 152 и 153.

139. Производное ЭФР(А) по воплощению 0, индивидуально выбранное из группы производных ЭФР(А), состоящий из следующего: Примеры 1-47, 51-102 и 106-159.

140. Пептидный аналог ЭФР(А) или производное ЭФР(А) по любому из предыдущих воплощений, при этом указанный пептид или производное представляет собой ингибитор ПКСК9.

141. Пептидный аналог ЭФР(А) или производное ЭФР(А) по воплощению 0, который (ое) как ингибитор ПКСК9 способен(но) ингибировать связывание ПКСК9 с человеческим рецептором липопротеинов низкой плотности (Р-ЛНП).

142. Пептидный аналог ЭФР(А) или производное ЭФР(А) по воплощению 0, который (ое) как ингибитор ПКСК9 снижает связывание ПКСК9 с человеческим рецептором липопротеинов низкой плотности (Р-ЛНП).

143. Пептидный аналог ЭФР(А) или производное ЭФР(А) по воплощению 0, который (ое) как ингибитор ПКСК9 имеет кажущуюся аффинность связывания (Ki) ниже 10 нМ, например ниже 8 нМ, 6 нМ, 5 нМ, 4 нМ, 3 нМ или например ниже 2 нМ, измеренную в конкурентном ИФА.

144. Пептидный аналог ЭФР(А) или производное ЭФР(А) по воплощению 0, который (ое) как ингибитор ПКСК9 имеет кажущуюся аффинность связывания (Ki) ниже 10 нМ, например ниже 8 нМ, 6 нМ, 5 мкМ, 4 нМ, 3 нМ или например ниже 2 нМ, измеренную в конкурентном иммуноферментном анализе, описанном в D1.1.

145. Производное ЭФР(А) по любому из выше описанных воплощений, которое имеет период полувыведения более 6 часов, например 8 часов или например 10 часов, у мышей. Производное ЭФР(А) по любому из выше описанных воплощений, которое имеет период полувыведения более 50 часов, например 100 часов или например 150 часов, у собак.

146. Пептидный аналог ЭФР(А) или производное ЭФР(А) по любому из предыдущих воплощений 1-0 для применения в качестве медицинского средства.

147. Пептидный аналог ЭФР(А) или производное ЭФР(А) по любому из предыдущих воплощений 1-0 для применения в способе лечения.

148. Пептидный аналог ЭФР(А) или производное ЭФР(А) по любому из предыдущих воплощений 1-0 для применения в способе профилактики или лечения сердечно-сосудистого заболевания.

149. Пептидный аналог ЭФР(А) или производное ЭФР(А) по любому из предыдущих воплощений 1-0 для применения в способе для улучшения липидных показателей.

150. Пептидный аналог ЭФР(А) или производное ЭФР(А) по любому из предыдущих

воплощений 1-0 для применения в способе лечения для

i. улучшения липидных показателей, например: профилактика и/или лечение дислипидемии, снижение общих сывороточных липидов, повышение ХС-ЛВП, снижение ХС-ЛНП, снижение маленьких плотных ХС-ЛНП, снижение ХС-ЛОНП, снижение триглицеридов, снижение холестерина, снижение уровня в плазме крови липопротеина (а) (Лп(а)) или ингибирование генерации аполипопротеина А (апо(А));

ii. профилактики и/или лечения сердечно-сосудистых заболеваний, таких как кардиальный синдром Х, атеросклероз, инфаркт миокарда, коронарная болезнь сердца, реперфузионное повреждение, инсульт, церебральная ишемия, ранняя болезнь сердца или раннее сердечно-сосудистое заболевание, гипертрофия левого желудочка, заболевание коронарной артерии, гипертония, эссенциальная гипертония, гипертонический криз, кардиомиопатия, сердечная недостаточность, непереносимость физической нагрузки, острая и/или хроническая сердечная недостаточность, аритмия, сердечная аритмия, синкопе, стенокардия, реокклюзия сердечного шунта и/или стента, перемежающаяся хромота (облитерирующий атеросклероз), диастолическая дисфункция, и/или систолическая дисфункция; и/или снижение кровяного давления, например снижение систолического кровяного давления; лечение сердечно-сосудистого заболевания.

151. Применение пептидного аналога ЭФР(А) или производного ЭФР(А) по любому из предыдущих воплощений 1-0 для

i. улучшения липидных показателей, например: профилактика и/или лечение дислипидемии, снижение общих сывороточных липидов, повышение ЛВП, снижение ХС-ЛНП, снижение ХС мелких плотных ЛНП, снижение ХС-ЛОНП, ХС не-ЛВП, снижение триглицеридов, снижение холестерина, снижение уровня липопротеина(а) (Лп(а)) в плазме крови, ингибирование генерации аполипопротеина А (апо(А));

ii. профилактика и/или лечение сердечно-сосудистых заболеваний, таких как кардиальный синдром Х, атеросклероз, инфаркт миокарда, коронарная болезнь сердца, реперфузионное повреждение, инсульт, церебральная ишемия, ранняя болезнь сердца или раннее сердечно-сосудистое заболевание, гипертрофия левого желудочка, заболевание коронарной артерии, гипертония, эссенциальная гипертония, гипертонический криз, кардиомиопатия, сердечная недостаточность, непереносимость физической нагрузки, острая и/или хроническая сердечная недостаточность, аритмия, сердечная аритмия, синкопе, стенокардия, реокклюзия сердечного шунта и/или стента, перемежающаяся хромота (облитерирующий атеросклероз), диастолическая дисфункция, и/или систолическая дисфункция; и/или снижение кровяного давления, например снижение систолического кровяного давления; лечение сердечно-сосудистого заболевания.

152. Фармацевтическая композиция, включающая пептидный аналог ЭФР(А) или производное ЭФР(А) по любому из предыдущих воплощений, и фармацевтически приемлемый эксципиент.

153. Фармацевтическая композиция по воплощению 0 для подкожного введения.

154. Фармацевтическая композиция по воплощению 0 для перорального введения.

155. Способ для улучшения липидных показателей, включающий стадию введения фармацевтически активного количество пептидного аналога ЭФР(А) или производного ЭФР(А) по любому из предыдущих воплощений 1-0.

156. Способ для улучшения липидных показателей, включающий стадию введения фармацевтически активного количества пептидного аналога ЭФР(А) или производного ЭФР(А) по любому из предыдущих воплощений 1-0, при котором указанное улучшение

липидных показателей, представляет собой, например, следующее: профилактика и/или лечение дислипидемии, снижение общих сывороточных липидов; повышение ЛВП; снижение ХС-ЛНП; снижение мелких, плотных ХС-ЛНП; снижение ХС-ЛОНП; ХС не-ЛВП; снижение триглицеридов; снижение холестерина; снижение уровня липопротеина(а) (Лп(а)) в плазме крови; ингибирование генерации аполипопротеина А (апо(А)).

157. Способ для профилактики и/или лечения сердечно-сосудистого заболевания, включающий стадию введения фармацевтически активного количества пептидного аналога ЭФР(А) или производного ЭФР(А) по любому из предыдущих воплощений 1-0.

158. Способ для профилактики и/или лечения сердечно-сосудистого заболевания, включающий стадию введения фармацевтически активного количества пептидного аналога ЭФР(А) или производного ЭФР(А) по любому из предыдущих воплощений 1-0, при котором указанное сердечно-сосудистое заболевание представляет собой, например, следующее: кардиальный синдром X, атеросклероз, инфаркт миокарда, коронарная болезнь сердца, реперфузионное повреждение, инсульт, церебральная ишемия, ранняя болезнь сердца или раннее сердечно-сосудистое заболевание, гипертрофия левого желудочка, заболевание коронарной артерии, гипертония, эссенциальная гипертония, гипертонический криз, кардиомиопатия, сердечная недостаточность, непереносимость физической нагрузки, острая и/или хроническая сердечная недостаточность, аритмия, сердечная аритмия, синкопе, стенокардия, реокклюзия сердечного шунта и/или стента, перемежающаяся хромота (облитерирующий атеросклероз), диастолическая дисфункция и/или систолическая дисфункция; и/или снижение кровяного давления, например снижение систолического кровяного давления.

159. Способ для получения пептидного аналога ЭФР(А) или производного ЭФР(А) по любому из предыдущих воплощений 1-0, при котором указанный пептид ЭФР(А) получают рекомбинантным путем и, возможно, с присоединенным заместителем.

ПРИМЕРЫ

Экспериментальная часть начинается с перечня аббревиатур, за которым следует раздел, включающий общие способы для синтеза и характеристики аналогов и производных по настоящему изобретению. Затем следует ряд примеров, которые относятся к получению конкретных соединений ЭФР(А) по настоящему изобретению, включая аналоги и производные, и в конце включены несколько примеров, относящихся к активности и свойствам этих соединений (раздел, озаглавленный «Фармакологические способы»).

Эти примеры служат в целях наглядного представления изобретения.

Перечень аббревиатур

AcOH: уксусная кислота

Ado: 8-амино-3,6-диоксаоктановая кислота (от англ. 8-amino-3,6-dioxaoctanoic acid)

Aeep: 9-амино-4,7-диоксанонановая кислота (от англ. 9-amino-4,7-dioxanonanoic acid)

Aeeep: 12-амино-4,7,10-триокса-додекановая кислота

Alloc: аллилоксикарбонил (от англ. alllyloxycarbonyl)

АФИ: активный фармацевтически ингредиент

ППК: площадь под кривой

ГК: глюкоза в крови

Boe: трет-бутилоксикарбонил (от англ. t-butyloxycarbonyl)

БСА: бычий сывороточный альбумин

Clt: 2-хлортритил (от англ. 2-chlorotrityl)

коллидин: 2,4,6-триметилпиридин
DCC: N,N'-дициклогексилкарбодиимид
DCM: дихлорметан (от англ. dichloromethane)
Dde: 1-(4,4-диметил-2,6-диоксоциклогексилиден)этил (от англ. 1-(4,4-dimethyl-2,6-dioxocyclohexylidene)ethyl)
DIC: диизопропилкарбодиимид (от англ. diisopropylcarbodiimide)
DIPEA: диизопропилэтиламин (от англ. diisopropylethylamine)
DMAP: 4-диметиламинопиридин (от англ. 4-dimethylaminopyridine)
ДМФ: диметилформамид
ЭФР: эпидермальный фактор роста
ЭФР(А): подобный эпидермальному фактору роста домен А
F (Табл. 5): биодоступность
Fmoc: 9-флюоренилметилоксикарбонил (от англ. 9-fluorenyl-methyloxycarbonyl)
HATU: 1-((диметиламино)(диметилимино)метил)-1H-[1,2,3]триазоло[4,5-b]пиридин-3-оксид гексафторфосфат (от англ. 1-((dimethylamino)(dimethylamino) methyl)-1H-[1,2,3] triazolo[4,5-b]pyridine-3-oxide hexafluorophosphate
ЛВП: липопротеин высокой плотности
ГЭПЭС: 4-(2-гидроксиэтил)-1-пиперазинэтансульфоновая кислота
HFIP 1,1,1,3,3,3-гексафтор-2-пропанол, или гексафторизопропанол (от англ. hexafluoroisopropanol)
HOAt: 1-гидрокси-7-азабензотриазол
HOBt: 1-гидроксибензотриазол
hPCKS9: Пропротеинконвертаза 9-го субтилизин-кексинового типа человека
ВЭЖХ: высокоэффективная жидкостная хроматография
ЧСА: человеческий сывороточный альбумин
IC_{50}: полумаксимальная ингибирующая концентрация
Inp: изонипекотовая кислота (от англ. isonipecotic acid)
в/в внутривенно
ivDde: 1-(4,4-диметил-2,6-диоксоциклогексилиден)-3-метилбутил (от англ. 1-(4,4-dimethyl-2,6-dioxocyclohexylidene)-3-methylbutyl)
ЖХ-МС: Жидкостная хроматография - масс-спектрометрия
Р-ЛНП или РЛНП рецептор ЛНП
ЛНП: липопротеин низкой плотности
ХС-ЛНП: холестерин ЛНП
MeOH: метанол
Mmt: 4-метокситритил (от англ. 4-methoxytrityl)
Mtt: 4-метилтритил (от англ. 4-methyltrityl)
СВУ: Среднее время удержания
МСК: Метилсульфонилкарбамоиламино
NMP: N-метилпирролидон (от англ. N-methylpirrolydone)
OBz: бензоиловый эфир
Ado: 8-амино-3,6-диоксаоктановая кислота (от англ. 8-amino-3,6-dioxaoctanoic acid)
OSu: О-сукцинимидиловые эфиры (гидроксисукцинимидные эфиры)
OtBu: трет-бутиловый эфир
Oxyma Pure®: этиловый эфир циано-гидроксиимино-уксусной кислоты
Pbf: 2,2,4,6,7-пентаметилдигидробензофуран-5-сульфонил (от англ. 2,2,4,6,7-pentamethyldihyclrobenzofuran-5-sulfonyl)
ФСБ: фосфатно-солевой буфер

ФД: фармакодинамический
ФК: фармакокинетический
КК: контроль качества
ОФ: обращенная фаза
ОФ-ВЭЖХ: обращено-фазная высокоэффективная жидкостная хроматография
КТ: комнатная температура
ВУ: время удерживания
п/к: подкожно
ст.откл.: стандартное отклонение
ст.ош.сред.: стандартная ошибка среднего
THF: тетрагидрофуран (от англ. tetrahydrofurane)
ТФПС: твердофазный пептидный синтез
tBu: трет-бутил
TFA: трифторуксусная кислота (от англ. trifluoroacetic acid)
TIS или TIPS: триизопропилсилан (от англ. triisopropylsilane)
Tmax: время до достижения Cmax
ТРИС: трис(гидроксиметил)аминометан или 2-амино-2-гидроксиметил-пропан-1,3-диол
Trt: трифенилметил (тритил) - от англ. triphenylmethyl
Trx: транексамовая кислота (от англ. tranexamic acid)
СВЭЖХ: сверхвысокоэффективная жидкостная хроматография
ТБС: солевой раствор, забуференный ТРИС

Химические способы

Этот раздел подразделен на три части: раздел А относится к общим способам получения соединений по настоящему изобретению, раздел В относится к получению некоторых конкретных соединений по настоящему изобретению, и раздел С относится к способам детекции и характеристики соединений по настоящему изобретению и результатам для некоторых из конкретных примеров соединений.

А. Способы получения

Соединения по настоящему изобретению можно получить способами, описанными ниже.

Получение пептида, т.е. пептида ЭФР(А) по SEQ ID NO.: 1 или его аналогов: Общие способы твердофазного пептидного синтеза (ТФПС)

Подходящие для применения Fmoc-защищенные аминокислоты могут представлять собой те, которые стандартно рекомендуют: Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Arg(Pbf)-OH, Fmoc-Asn(Trt)-OH, Fmoc-Asp(OtBu)-OH, Fmoc-Cys(Trt)-OH, Fmoc-Gln(Trt)-OH, Fmoc-Glu(OtBu)-OH, Fmoc-Gly-OH, Fmoc-His(Trt)-OH, Fmoc-lle-OH, Fmoc-Leu-OH, Fmoc-Lys(BOC)-OH, Fmoc-Met-OH, Fmoc-Phe-OH, Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Ser(tBu)-OH, Fmoc-Thr(tBu)-OH, Fmoc-Trp(BOC)-OH, Fmoc-Tyr(tBu)-OH, Fmoc-Val-OH и Fmoc-Lys(Mtt)-OH или Fmoc-Lys(Alloc)-OH, поставляемые, например, следующими компаниями: Anaspec, Bachem, Iris Biotech или NovabioChem. ТФПС можно проводить, используя основанные на Fmoc химические процессы, на твердофазном пептидном синтезаторе Prelude производства Protein Technologies (Tucson, AZ 85714 U.S.A.). Подходящая смола для получения С-концевых карбоновых кислот представляет собой смолу Ванга, предварительно нагруженную аминокислотой, например Fmoc-Clu(tBu)-смола Ванга (низкой нагрузки, 0,35 ммоль/г). В случаях, когда заместитель присоединен к С-концевому лизину, подходящая смола представляет собой предварительно нагруженную Fmoc-Lys(Mtt)-смолу Ванга. Подходящей смолой для получения С-концевых пептидных амидов является смола Н-

Rink Amide-ChemMatrix (загрузка, например, 0,52 нмоль/г) или полистироловая смола Rink Amide AM (Novabiochem, загрузка, например, 0,62 ммоль/г) или т.п. Снятие Fmoc-защиты проводят с помощью 20% пиперидина в NMP. Пептидное сочетание проводят с помощью либо смеси DIC/HOAt/коллидин, либо DIC/OxymaPure, в присутствии или отсутствии коллидина, с предварительной активацией или без предварительной активации, или с помощью DEPBt ((3-(диэтоксифосфорилокси)-1,2,3-бензотриазин-4 (3H)-он), от англ. (3-(diethoxyphosphoryloxy)-1,2,3-benzotriazin-4(3H)-one))/DIPEA для подавления эпимеризации, например, гистидина, в ходе сочетания. В смолу вносят растворы аминокислота/HOAt или аминокислота/OxymaPure (0,3 M/0,3 M в NMP при 3-10-кратном молярном избытке), после чего вносят такой же молярный эквивалент DIC (3 M в NMP), а затем коллидин (3 M в NMP). Например, можно применять следующие количества раствора 0,3 M аминокислота/HOAt на сочетание для реакций в следующих масштабах, масштаб/мл: 0,05 ммоль/1,5 мл; 0,10 ммоль/3,0 мл; 0,25 ммоль/7,5 мл.

Если применяют Fmoc-Lys(Mtt)-OH, Mtt-группу можно удалить промыванием смолы с помощью HFIP/DCM (75:25) (2×2 мин), промыванием дихлорметаном и суспендированием смолы в HFIP/DCM (75:25)(2×20 мин) и с последующим промыванием, после чего заместитель можно вводить по эпсилон-положению лизина.

Если применяют Fmoc-Lys(Alloc)-OH, Alloc-группу можно удалить обработкой смолы с помощью $Pd(PPh_3)_4$ (0,02 экв.) в присутствии одного или более акцепторов в комбинации, например, с морфолином (6,0 экв.) и/или диметил-борановым комплексом (18,0 экв.) (30 мин). Смола затем промывают с помощью MeOH, NMP или DMF (диметилформамид, от англ. dimethylformamide) и изопропилового спирта, соответственно, после чего можно вводить заместитель по эпсилон-положению лизина.

Присоединение заместителя (ацилирование)

Заместитель можно водить постадийно на пептидном синтезаторе Prelude, как описано выше, с помощью подходящим образом защищенных строительных блоков, таких как стандартные аминокислоты, описанные выше, Fmoc-8-амино-3,6-диоксаоктановая кислота или Fmoc-Glu-OtBu. Введение заместителя можно осуществить с помощью строительного блока, такого как, но без ограничения, моно-трет-бутиловый эфир октадекандиовой кислоты. После каждой стадии сочетания не прореагировавший промежуточный пептид можно блокировать ангидридом уксусной кислоты и коллидином в избытке (>10 экв.).

Введение заместителя по эпсилон-азоту лизина осуществляют за счет лизина, защищенного с помощью Mtt (Fmoc-Lys(Mtt)-OH), Alloc (Fmoc-Lys(Alloc)-OH) или группы ivDde (Fmoc-Lys(ivDde)-OH). Введение фрагментов γGlu в указанный заместитель можно проводить сочетанием с аминокислотой Fmoc-Glu-OtBu.

Введение каждого фрагмента в указанный заместитель можно проводить с увеличенным временем сочетания (1×6 часов), с последующим блокированием уксусным ангидридом или, как вариант, смесью уксусная кислота/DIC/HOAt/коллидин.

Отщепление от смолы

После синтеза смолу промывают дихлорметаном, и пептид отщепляют от смолы 2-3-часовой обработкой смесью TFA/TIPS/вода (95/2,5/2,5) или TFA/EDT/вода (EDT - 1,2-этандитиол, от англ. 1,2-ethanediol) (90/5/5) с последующим осаждением с помощью Et_2O (диэтиловый эфир). Осадок промывают с помощью Et_2O.

Оксидативный фолдинг

Осадок, полученный на вышеописанной стадии, растворяют в диметилсульфоксиде (ДМСО) и вносят в раствор, состоящий из следующего:

50 мМ ТРИС
5 мМ $CaCl_2$
3 мМ Цистеин
0,3 мМ Цистин
в воде MQ, pH 8-8,8

Реакционную смесь выдерживают в течение ночи при комнатной температуре или до тех пор, пока анализ ЖХ-МС не показывает завершение реакции.

Очистка и количественная оценка

Неочищенный пептид (производное) подкисляют с помощью TFA до pH 2-3 и очищают обращенно-фазной препаративной ВЭЖХ (Waters Deltaprep 4000 или Gilson) на колонке, содержащей C8- или C18-силикагель. Элюирование проводят возрастающим градиентом MeCN в воде, содержащей 0,1% TFA. Соответствующие фракции тестируют с помощью аналитической ВЭЖХ или СВЭЖХ. Смешивают фракции, содержащие чистое целевое пептидное производное. Можно вводить дополнительную стадию очистки другим градиентом, например, содержащим 0.05M NH_4HCO_3. Получаемый раствор анализируют (ВЭЖХ, ЖХ-МС) и продукт (т.е. производное) количественно определяют с помощью хемилюминесцентного азот-специфичного ВЭЖХ-детектора (Antek 8060 HPLC-CLND) или измерением УФ-абсорбции при 280 нм. Этот продукт разливают в стеклянные флаконы. Флаконы закрывают предфильтрами из стеклянного волокна Millipore. В результате лиофильной сушки получают трифторацетат пептида в виде белого твердого вещества.

Присоединение заместителя (восстановительное алкилирование)

Очищенный пептидный аналог можно подвергать восстановительному алкилированию с применением подходящего альбумин-связывающего заместителя, дериватизированного альдегидной функциональной группой.

Указанный пептидный аналог растворяют в лимонной кислоте pH=5,5 и подходящий альдегид растворяют в воде, которая может содержать циклодекстрин для повышения растворимости. Добавляют восстанавливающий агент, такой как боран-пиридиновый комплекс, растворенный в MeOH, и эту смесь осторожно встряхивают в течение ночи. Может потребоваться последующее внесение избытка альдегида и восстанавливающего агента в целях оптимального выхода. Эту смесь очищают способом, описанным выше.

B. Синтез соединений по настоящему изобретению

Соединения по настоящему изобретению были получены способом, существенно не отличающимся от нижеописанных общих способов.

Способ A

Синтез пептидных аналогов P-ЛНП(293-332) (без заместителя)

Применяемые Fmoc-защищенные аминокислоты представляли собой стандартно рекомендуемые: Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Arg(Pbf)-OH, Fmoc-Asn(Trt)-OH, Fmoc-Asp(OtBu)-OH, Fmoc-Cys(Trt)-OH, Fmoc-Gln(Trt)-OH, Fmoc-Glu(OtBu)-OH, Fmoc-Gly-OH, Fmoc-His (Trt)-OH, Fmoc-Ile-OH, Fmoc-Leu-OH, Fmoc-Lys(BOC)-OH, BOC-Lys(Fmoc)-OH Fmoc-Phe-OH, Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Ser(tBu)-OH, Fmoc-Thr(tBu)-OH, Fmoc-Trp(BOC)-OH, Fmoc-Tyr (tBu)-OH, Fmoc-Val-OH и Fmoc-Lys(Mtt)-OH, поставляемые, например, компаниями: Anaspec, Bachem, Iris Biotech или NovabioChem. Проводили ТФПС, применяя химические реакции, основанные на Fmoc, на твердофазном пептидном Prelude производства Protein Technologies (Tucson, AZ 85714 U.S.A.). Применяли смолу Ванга, предварительно загруженную аминокислотами, такую как Fmoc-Clu(tBu)-смола Ванга (низкой загрузки; 0,35 ммоль/г) и т.п. Снятие Fmoc-защитных групп осуществляли с помощью 20% пиперидина в NMP. Пептидное сочетание проводили с помощью смеси DIC/OxymaPure

с коллидином. К смоле добавляли растворы аминокислота/OxymaPure (0,3 M/0,3 M в DMF при 3-10 кратном молярном избытке), после чего вносили такой же молярный эквивалент DIC (3 M в NMP), а затем коллидин (3 M в NMP).

Отщепление от смолы

После синтеза смолу промывали дихлорметаном, и пептид отщепляли от смолы 2-3-часовой обработкой смесью TFA/TIPS/DTT(дитиотреитол, от англ. dithiotreitol)/вода (92,5/2,5/2,5/2,5) с последующим осаждением диэтиловым эфиром. Этот осадок затем промывали диэтиловым эфиром.

Оксидативный фолдинг

Осадок, полученный на описанной выше стадии, растворяли в ДМСО и добавляли к раствору, состоящему из следующего:

50 мМ ТРИС

5 мМ $CaCl_2$

3 мМ Цистеин

0,3 мМ Цистин

в воде MQ, pH 8,0-8,8

Реакционную смесь выдерживали в течение ночи при комнатной температуре или до тех пор, пока анализ ЖХ-МС не показывал завершение реакции.

Очистка и количественное определение

Неочищенный пептид подкисляли с помощью TFA до pH 2-3 и очищали обращенно-фазной препаративной ВЭЖХ (Waters Deltaprep 4000 или Gilson) на колонке, включающей C8- или C18-силикагель. Элюирование проводили возрастающим градиентом MeCN в воде, содержащей 0,1% TFA. Соответствующие фракции анализировали с помощью СВЭЖХ. Фракции, содержащие чистый целевой пептид, объединяли. Полученный раствор анализировали (СВЭЖХ, ЖХ-МС) и пептидное производное количественно определяли с помощью хемилюминесцентного азот-специфичного ВЭЖХ детектора (Antek 8060 ВЭЖХ-CLND) или измерением УФ-абсорбции при 280 нм. Этот продукт разливали в стеклянные флаконы. Флаконы закрывали предфильтрами из стеклянного волокна Millipore. В результате лиофильной сушки получали трифторацетатную соль пептида в виде белого твердого вещества.

Способ B

Синтез аналогов производных ЭФР(A) P-ЛНП(293-332) (с заместителем) (на смоле)

Синтез связанного со смолой пептида ЭФР(A) проводили, как описано выше.

Введение заместителя по эпсилон-азоту лизина на N-конце последовательности осуществляли с применением Boc-Lys(Fmoc)-OH. Введение этого заместителя в альфа-положение N-концевой аминокислоты осуществляли с помощью стандартной Fmoc-защищенной аминокислоты, т.е. Fmoc-Gly-OH.

Для введения заместителя по эпсилон-азоту лизина в других положениях применяли Fmoc-Lys(Mtt)-OH. Mtt-группу удаляли обработкой с помощью HFIP/DCM (75:25) (2×2 мин), с последующей промывкой дихлорметаном. Эту смола далее ресуспендировали в HFIP/DCM (75:25)(2×20 мин или 2×30 мин) и затем промывали дихлорметаном, после чего указанный заместитель вводили по эпсилон-положению лизина.

Фрагменты заместителя вводили постадийно на пептидном синтезаторе Prelude, как описано в Способе A, с применением подходящим образом защищенных строительных блоков, таких как стандартные Fmoc-защищенные аминокислоты, описанные в Способе A, Fmoc-8-амино-3,6-диоксаоктановая кислота или Fmoc-Glu-OtBu. Введение группы жирной кислоты проводили с использованием подходящего строительного блока, такого как, без ограничения, моно-трет-бутиловый эфир октадекандиовой кислоты. В

некоторых случаях время реакции сочетания увеличивали или повторяли стадию сочетания для каждого строительного блока.

Отщепление, окислительный фолдинг, очистку и количественную оценку проводили, как описано в Способе А.

Способ С

Присоединение заместителя в растворе (путем восстановительного алкилирования)

Очищенный пептид, полученный способом А, подвергали восстановительному алкилированию с помощью подходящего заместителя, дериватизированного альдегидной функциональной группой.

Лиофилизированный порошок пептида растворяли в буфере лимонной кислоты (40 мМ, pH 5,55; концентрация пептида: 4 мг/мл). К раствору пептида добавляли раствор, содержащий выбранный заместитель (10 экв., 10 мг/мл) в 40% (вес/объем) водном циклодекстрине, и осторожно перемешивали переворачиванием реакционного флакона. К этому раствору добавляли боран-пиридиновый комплекс (100 экв., 80 мг/мл раствор в MeOH) небольшими аликвотами, с последующим осторожным переворачиванием реакционного флакона. Реакционный раствор осторожно встряхивали при комнатной температуре в течение ночи. Ход реакции отслеживали с помощью ЖХ-МС. На следующее утро реакционный раствор подкисляли до pH 2-3 с помощью TFA и очищали в ходе процедуры, описанной выше в Способе А.

Способ D

Присоединение заместителя (N-концевое ацилирование свернутого пептида в растворе)

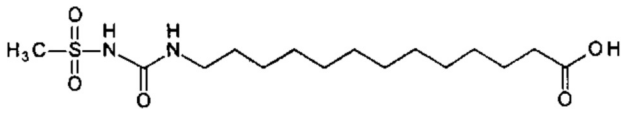
Лиофилизированный порошок пептида растворяли в буфере K_2HPO_4 (20 мМ, pH 8,15) до конечной концентрации 5 мг/мл. Добавляли раствор 18-[[(1S)-1-карбокси-4-[2-[2-[2-[2-[2-[2-(2,5-диоксопирролидин-1-ил)окси-2-оксо-этокси]-этокси]этиламино]-2-оксо-этокси]этокси]этиламино]-4-оксо-бутил]амино]-18-оксо-октадекановой кислоты в ДМСО (4 экв.; 4 мг/мл) четырьмя аликвотами. По окончании внесения каждую аликвоту раствора пептида осторожно перемешивали переворачиванием реакционного флакона. Затем измеряли значение pH реакционного раствора и доводили до pH 8,0-8,3 внесением небольших порций N,N-диизопропилэтиламина, после чего этот раствор оставляли выстаиваться при комнатной температуре. Ход реакции отслеживали по ЖХ-МС. Через три часа этот раствор подкисляли до pH 5,9 с помощью TFA и очищали в ходе процедуры, описанной выше.

B.1. Синтез протракторов и элементов линкера

На предмет синтеза моно-трет-бутилового эфира октадекандиовой кислоты см.: заявка на патент WO 2010102886. Соответствующие моно-трет-бутиловые эфиры C14-, C16- и C20- двухосновных кислот можно получить соответствующим образом. На предмет синтеза 14-сульфо-гексадекановой кислоты или 16-сульфо-гексадекановой кислоты см.: WO 2015071355. На предмет синтеза 16-(1H-тетразол-5-ил)гексадекановой кислоты и 13-(1H-тетразол-5-ил)гексадекановой кислоты см.: WO 2006005667.

13-(Метилсульфонилкарбамоиламино)тридекановая кислота

Хим. Формула 6-OH, в которой n=12:



Эту молекулу получали в ходе модифицированной процедуры, предложенной Люкхурстом и соавт.(Luckhurst et al. Tetrahedron Letters Volume 48, Issue 50, 2007, Pages 8878-8882 http://dx.doi.org/10.1016/j.tetlet, 2007, 10, 046).

Затем добавляли триэтиламин (4,46 мл; 32,0 ммоль) и этилхлорформиат (3,05 мл;

32,0 ммоль) к раствору 14-(трет-бутокси)-14-оксотетрадекановой кислоты (1; C14(OtBu)-OH; 6,29 г; 20,0 ммоль) в ацетоне (176 мл) при 0°C. Выдерживали 30 мин при 0°C, после чего добавляли раствор азида натрия (2,60 г; 40,0 ммоль) в воде (12 мл), и эту смесь перемешивали в течение 2 ч при 0°C. Смесь концентрировали в вакууме (при 30°C) и вливали в воду со льдом (300 мл). Полученную смесь экстрагировали этилацетатом (3×250 мл); органические экстракты объединяли и промывали водой (200 мл), 10% водным раствором гидрокарбоната натрия (200 мл) и водой (200 мл); высушивали над безводным сульфатом магния и выпаривали досуха с получением смеси трет-бутил-14-азидо-14-оксотетрадеканоата и трет-бутил-14-изоцианато-14-оксотетрадеканоата в виде бледно-желтого масла.

Метансульфонамид (1,52 г; 16,0 ммоль), карбонат калия (6,63 г; 48,0 ммоль) добавляли к раствору смеси трет-бутил-14-азидо-14-оксотетрадеканоата и трет-бутил-14-изоцианато-14-оксотетрадеканоата (5,43 г; 16,0 ммоль) в сухом толуоле (50 мл). Реакционную смесь нагревали при 85°C в течение ночи. Добавляли воду (100 мл), а затем 1 М водную хлороводородную кислоту (pH доводили до pH=4). Эту смесь экстрагировали диэтиловым эфиром (4×150 мл), высушивали над безводным сульфатом магния и выпаривали в вакууме с получением трет-бутил-13-(3-(метилсульфонил)уреидо)тридеканоата.

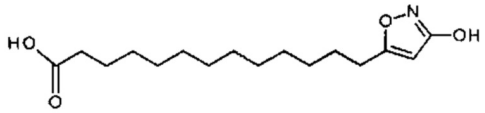
Спектр 1H ЯМР (ядерно-магнитный резонанс) (300 МГц, ДМСО, dH): 10,01 (s, 1H); 6,42 (t, J=4,7 Гц, 1H); 3,20 (s, 3H); 3,02 (q, J=6,7 Гц, 2H); 2,16 (t, J=7,3 Гц, 2H); 1,52-1,33 (m, 13H); 1,30-1,11 (m, 16H).

Трифторуксусную кислоту (21,0 мл) и воду (2,50 мл) добавляли по каплям к раствору трет-бутил-13-(3-(метилсульфонил)уреидо)тридеканоата (3; 6,30 г; 15,5 ммоль) в дихлорметане (30 мл). Реакционную смесь перемешивали в течение 3 часов при комнатной температуре. Растворитель выпаривали при пониженном давлении с получением 13-(3-(метилсульфонил)уреидо)тридекановой кислоты.

Спектр 1H ЯМР (300 МГц, ДМСО, dH): 10,02 (s, 1H); 6,43 (t, J=4,5 Гц, 1H); 3,20 (s, 3H); 3,02 (q, J=6,6 Гц, 2H); 2,18 (t, J=7,3 Гц, 2H); 1,56-1,33 (m, 4H); 1,24 (s, 16H).

13-(3-Гидроксиизоксазол-5-ил)тридекановая кислота

Хим. формула 5-OH, где n=12:



Эту молекулу получали по модифицированной процедуре (Sørensen et al. J. Org. Chem., 2000, 65 (4), pp 1003-1007. DOI: 10,1021/jo991409d).

14-(трет-Бутокси)-14-оксотетрадекановую кислоту (1; 30,0 г; 95,4 ммоль), N,N'-дициклогексилкарбодиимид (43,3 г; 209 ммоль) и 4-диметиламинопиридин (25,6 г; 20,9 ммоль) растворяли в безводном дихлорметане (700 мл) и к этому раствору добавляли 2,2-диметил-1,3-диоксан-4,6-дион (2, 20,6 г; 143 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 16 часов. Затем выпаривали легколетучие вещества, полученную смесь разбавляли диэтиловым эфиром (500 мл) и белый осадок отфильтровывали. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении, разбавляли диэтиловым эфиром (300 мл) и экстрагировали 1 М водной хлороводородной кислотой (3×100 мл) и солевым раствором (1×100 мл). Органическую часть высушивали сульфатом натрия и выпаривали при пониженном давлении с получением трет-бутил-14-(2,2-диметил-4,6-диоксо-1,3-диоксан-5-ил)-14-оксотетрадеканоата в виде желтого масла. Неочищенный продукт использовали на следующей стадии без дополнительной очистки.

Спектр 1H ЯМР (300 МГц, CDCl3, dH): 3,07 (t, J=7,5 Гц, 2H); 2,20 (t, J=7,5 Гц, 2H); 1,74 (s, 6H); 1,71-1,51 (m, 4H); 1,45 (s, 9H); 1,36-1,23 (m, 16H).

Неочищенный продукт, полученный выше, растворяли в этаноле (300 мл) и полученный раствор перемешивали при 80°C в течение 3 часов и затем в течение ночи при комнатной температуре. Растворитель удаляли при пониженном давлении и остаток очищали флэш-хроматографией на колонке (Silicagel 60, 0,040-0,063 мм; элюент: циклогексан/этилацетат 9:1) с получением 1-этил-16-метил 3-оксогексадекандиоата в виде бесцветного масла.

Спектр 1H ЯМР (300 МГц, CDCl3, dH): 4,21 (q, J=7,2 Гц, 2H); 3,44 (s, 2H); 2,54 (t, J=7,5 Гц, 2H); 2,21 (t, J=7,5 Гц, 2H); 1,67-1,51 (m, 4H); 1,45 (s, 9H); 1,38-1,21 (m, 19H).

Гидроксид натрия (1,09 г; 27,3 ммоль) растворяли в метаноле (40,0 мл) и воде (10,0 мл) при -30°C в атмосфере аргона. Вышеуказанный сложный эфир (4; 10,0 г; 26,0 ммоль) растворяли в метаноле (40 мл) и диметоксиэтане (50 мл) и добавляли по каплям к реакционной смеси при -30°C. Через 20 мин добавляли по каплям раствор гидроксиламина гидрохлорида (3,61 г; 52,0 ммоль) и гидроксида натрия (2,18 г; 54,6 ммоль) в диметоксиэтане (10 мл) и воде (10,0 мл), и реакционную смесь перемешивали в течение 3 часов при -30°C. Эту смесь затем гасили ацетоном (5 мл) и через 5 мин сразу вливали в концентрированную хлороводородную кислоту (70 мл), и нагревали до 80°C в течение 70 мин. Все легколетучие вещества затем удаляли при пониженном давлении, твердое вещество растворяли в дихлорметане (400 мл) и экстрагировали дистиллированной водой (100 мл) и солевым раствором (70 мл). Органическую часть высушивали над сульфатом натрия. Неочищенный продукт очищали флэш-хроматографией на колонке (Silicagel 60; 0,040-0,063 мм; элюент: циклогексан/этилацетат 3:1) с получением метил-13-(3-гидроксиизоксазол-5-ил)-тридеканоата в виде белого твердого вещества.

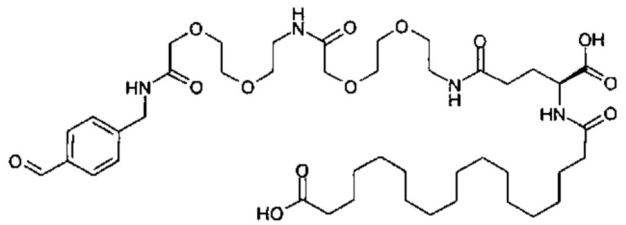
Спектр 1H ЯМР (300 МГц, CDCl3, dH): 5,66 (s, 1H); 3,67 (s, 3H); 2,63 (t, J=7,6 Гц, 2H); 2,31 (t, J=7,6 Гц, 1H); 1,72-1,55 (m, 4H); 1,40-1,19 (m, 16H).

Метил-13-(3-гидроксиизоксазол-5-ил)тридеканоат (5, 6,20 г; 19,9 ммоль) растворяли в метаноле (60,0 мл) и воде (20,0 мл), добавляли гидроксид лития моногидрат (4,04 г; 96,3 ммоль) и реакционную смесь перемешивали в течение 16 часов при комнатной температуре. Легколетучие вещества затем удаляли при пониженном давлении и добавляли воду (50,0 мл), а затем 1 М водную хлороводородную кислоту (50,0 мл). Осадок отфильтровывали и промывали водой (2×100 мл) и затем высушивали при пониженном давлении с получением 13-(3-гидроксиизоксазол-5-ил)тридекановой кислоты в виде бежевого твердого вещества.

Спектр 1H ЯМР (300 МГц, ДМСО-d6, dH): 5,74 (s, 1H); 2,57 (t, J=7,5 Гц, 2H); 2,18 (t, J=7,5 Гц, 2H); 1,63-1,41 (m, 4H); 1,34-1,14 (m, 16H).

B.2 Синтез промежуточных предшественников заместителей для восстановительного алкилирования

18-[[(1S)-1-карбокси-4-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[(4-формилфенил)метиламино]-2-оксо-этокси]этокси]этиламино]-2-оксо-этокси]этокси]этиламино]-4-оксо-бутил]амино]-18-оксо-октадекановая кислота



2-Хлортритиловую смолу 100-200 меш (42,6 г; 42,6 ммоль) оставляли набухать в сухом дихлорметане (205 мл) на 20 мин. К смоле добавляли раствор {2-[2-(9H-флюорен-9-илметоксикарбониламино)-этокси]-этокси}-уксусной кислоты (13,7 г; 35,5 ммоль) и N,N-диизопропилэтиламина (23,5 мл; 135 ммоль) в сухом дихлорметане (30 мл) и эту смесь встряхивали в течение 3 ч. Смолу фильтровали и обрабатывали раствором N,N-диизопропилэтиламина (12,4 мл; 70,9 ммоль) в смеси метанол/дихлорметан (4:1, 250 мл; 2×5 мин). Затем смолу промывали N,N-диметилформамидом (2×150 мл), дихлорметаном (3×150 мл) и N,N-диметилформамидом (3×150 мл). Fmoc-группу удаляли обработкой 20% пиперидином в диметилформамиде (1×5 мин, 1×30 мин, 2×150 мл). Смолу промывали N,N-диметилформамидом (3×150 мл), 2-пропанолом (2×150 мл) и дихлорметаном (200 мл; 2×150 мл). К смоле добавляли раствор {2-[2-(9H-флюорен-9-илметоксикарбониламино)-этокси]-этокси}-уксусной кислоты (20,5 г; 53,2 ммоль), O-(6-хлор-бензотриазол-1-ил)-N,N,N',N'-тетраметилурония тетрафторбората (TCTU; 18,9 г; 53,2 ммоль) и N,N-диизопропилэтиламина (16,7 мл; 95,7 ммоль) в N,N-диметилформамиде (100 мл) и дихлорметане (50 мл), и смесь встряхивали в течение 1 ч. Смолу фильтровали и промывали N,N-диметилформамидом (2×150 мл), дихлорметаном (3×150 мл) и N,N-диметилформамидом (155 мл). Fmoc-группу удаляли обработкой 20% пиперидином в диметилформамиде (1×5 мин, 1×30 мин, 2×150 мл). Смолу промывали N,N-диметилформамидом (3×150 мл), 2-пропанолом (2×150 мл) и дихлорметаном (200 мл; 2×150 мл). К смоле добавляли раствор Fmoc-Glu-OtBu (22,6 г; 53,2 ммоль), O-(6-хлор-бензотриазол-1-ил)-N,N,N',N'-тетраметилурония тетрафторбората (TCTU, 18,9 г; 53,2 ммоль) и N,N-диизопропилэтиламина (16,7 мл; 95,7 ммоль) в N,N-диметилформамиде (155 мл) и смесь встряхивали в течение 1 ч. Смолу фильтровали и промывали N,N-диметилформамидом (2×150 мл), дихлорметаном (2×150 мл) и N,N-диметилформамидом (150 мл). Fmoc-группу удаляли обработкой 20% пиперидином в диметилформамиде (1×5 мин, 1×30 мин, 2×150 мл). Смолу промывали N,N-диметилформамидом (3×150 мл), 2-пропанолом (2×150 мл) и дихлорметаном (200 мл; 2×150 мл). К смоле добавляли раствор моно-трет-бутилового эфира октадекандиовой кислоты (19,7 г; 53,2 ммоль), O-(6-хлор-бензотриазол-1-ил)-N,N,N',N'-тетраметилурония тетрафторбората (TCTU, 18,9 г; 53,2 ммоль) и N,N-диизопропилэтиламина (16,7 мл; 95,7 ммоль) в смеси N,N-диметилформамид/дихлорметан (1:4, 200 мл). Смолу встряхивали в течение 2 ч, фильтровали и промывали N,N-диметилформамидом (3×150 мл), дихлорметаном (2×150 мл), метанолом (2×150 мл) и дихлорметаном (300 мл; 6×150 мл). Этот продукт отщепляли от смолы обработкой 2,2,2-трифторэтанолом (200 мл) в течение 19 ч. Смолу отфильтровывали и промывали дихлорметаном (2×150 мл), смесью 2-пропанол/дихлорметан (1:1, 2×150 мл), 2-пропанолом (150 мл) и дихлорметаном (2×150 мл). Растворы объединяли; растворитель выпаривали и неочищенный продукт очищали флэш-хроматографией на колонке (Silicagel 60, 0,040-0,060 мм; элюент: дихлорметан/метанол 1:0-9:1). Чистый продукт высушивали в вакууме и получали в виде желтого масла.

Выход трет-бутилового эфира 17-{(S)-1-трет-бутоксикарбонил-3-[2-(2-{[2-(2-карбоксиметокси-этокси)-этилкарбамоил]-метокси}-этокси)-этилкарбамоил]-пропилкарбамоил}-гептадекановой кислоты: 25,85 г (86%).

Параметр удерживания RF (SiO_2, хлороформ/метанол 85:15): 0,25.

Спектр 1H ЯМР (300 МГц, CDCl3, dH): 7,38 (bs, 1H); 7,08 (bs, 1H); 6,61 (d, J=7,5 Гц, 1H); 4,43 (m, 1H); 4,15 (s, 2H); 4,01 (s, 2H); 3,78-3,39 (m, 16H); 2,31 (t, J=6,9 Гц, 2H); 2,27-2,09 (m, 5 H); 2,01-1,84 (m, 1H); 1,69-1,50 (m, 4H); 1,46 (s, 9H); 1,43 (s, 9H); 1,24 (bs, 24H).

ЖХ-МС m/z: 846,6 (M+H)+.

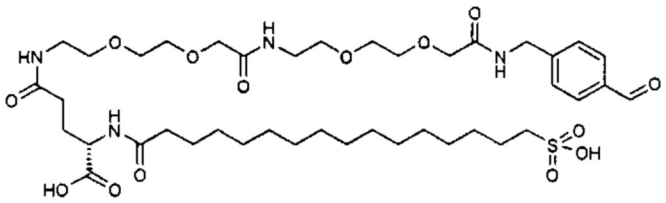
Трет-бутиловый эфир (4-формил-бензил)-карбаминовой кислоты (Boc-аминометилбензальдегид; 1,54 г; 6,60 ммоль) растворяли в дихлорметане (50 мл) и добавляли раствор хлороводородной кислоты в диоксане (3,8 М; 20 мл; 76 ммоль). Эту смесь перемешивали в течение 16 ч и осаждали твердое вещество из раствора. Все растворители удаляли выпариванием. Добавляли трет-бутиловый эфир 17-{(S)-1-трет-бутоксикарбонил-3-[2-(2-{[2-(2-карбокси-метокси-этокси)-этилкарбамоил]-метокси}-этокси)-этилкарбамоил]-пропил-карбамоил}-гептадекановой кислоты (5,08 г; 6,00 ммоль), этил-(N',N'-диметиламино)пропилкарбодиимид гидрохлорид (EDC, 1,73 г; 9,00 ммоль), N,N-диметиламинопиридин (DMAP, 0,037 г; 0,30 ммоль) и дихлорметан (50 мл). Эту смесь перемешивали и добавляли диизопропилэтиламин (2 мл; 11,6 ммоль) тремя порциями. Реакционную смесь перемешивали в течение 2 ч и растворители выпаривали. Остаток растворяли в дихлорметане (10 мл) и добавляли по каплям раствор хлороводородной кислоты до тех пор, пока pH не становился ниже 5. Этот раствор хроматографировали на колонке (Silicagel 60, 0,040-0,060 мм; элюент: дихлорметан/метанол 95:5) с получением указанного заместителя в виде желтого масла.

Выход: 3,15 г (54%).

Спектр 1H ЯМР (300 МГц, CDCl3, dH): 9,99 (s, 1H); 7,85 (d, J=7,9 Гц, 2H); 7,54-7,43 (m, 3H); 7,06 (t, J=5,5 Гц, 1H); 6,86 (t, J=5,6 Гц, 1H); 6,48 (d, J=7,7 Гц, 1H); 4,58 (d, J=6,2 Гц, 2H); 4,45-4,36 (m, 1H); 4,09 (s, 2H); 3,94 (s, 2H); 3,73-3,37 (m, 16H); 2,32-2,05 (m, 7 H); 1,99-1,80 (m, 1H); 1,69-1,51 (m, 4H); 1,45 (s, 9H); 1,44 (s, 9H); 1,33-1,20 (m, 24H).

ЖХ-МС m/z: 963,5 (M+H)+.

(2S)-5-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[(4-формилфенил)метиламино]-2-оксо-этокси]этокси]этиламино]-2-оксо-этокси]этокси]этиламино]-5-оксо-2-(16-сульфогексадеканоиламино)пентановая кислота



2-Хлортритиловую смолу 100-200 меш 1,8 ммоль/г (1; 8,40 г; 14,3 ммоль) оставляли набухать в сухом дихлорметане (150 мл) на 30 мин. К смоле добавляли раствор Fmoc-Ado-OH (2,82 г; 9,50 ммоль) и N,N-диизопропилэтиламина (6,30 мл; 36,1 ммоль) в сухом дихлорметане (~150 мл) и эту смесь встряхивали в течение 24 часов. Смолу фильтровали и обрабатывали раствором N,N-диизопропилэтиламина (3,30 мл; 19,0 ммоль) в смеси метанол/дихлорметан (4:1, 2×150 мл; 2×5 мин). Затем смолу промывали N,N-диметилформамидом (3×150 мл), дихлорметаном (3×150 мл) и N,N-диметилформамидом (3×150 мл). Fmoc-группу удаляли обработкой 20% пиперидином в N,N-диметилформамиде (1×5 мин, 1×30 мин, 2×150 мл). Смолу промывали N,N-диметилформамидом (3×150 мл), 2-пропанолом (3×150 мл) и дихлорметаном (3×150 мл). К смоле добавляли раствор {2-[2-(9H-флюорен-9-илметоксикарбониламино)-этокси]-этокси}-уксусной кислоты (Fmoc-Ado-OH, 4,80 г; 16,2 ммоль), O-(6-хлор-бензотриазол-1-ил)-N,N,N',N'-тетраметилурония тетра-фторбората (TCTU, 5,74 г; 16,2 ммоль) и N,N-диизопропилэтиламина (4,47 мл; 25,7 ммоль) в N,N-диметилформамиде (150 мл) и эту смесь встряхивали в течение 2 часов. Смолу фильтровали и промывали N,N-диметилформамидом (3×150 мл), дихлорметаном (3×150 мл) и N,N-диметилформамидом (3×150 мл). Fmoc-группу удаляли обработкой 20% пиперидином в N,N-диметилформамиде (1×5 мин, 1×30 мин, 2×150 мл). Смолу промывали N,N-диметилформамидом (3×150 мл), 2-пропанолом (3×150 мл) и дихлорметаном (3×150

мл). Добавляли к смоле раствор 1-трет-бутилового эфира (S)-2-(9H-флюорен-9-илметоксикарбониламино)-пентандиовой кислоты (Fmoc-Glu-OtBu, 6,87 г; 16,2 ммоль), O-(6-хлор-бензотриазол-1-ил)-N,N,N',N'-тетраметилурония тетрафторбората (TCTU, 5,74 г; 16,2 ммоль) и N,N-диизопропилэтиламина (4,47 мл; 25,7 ммоль) в N,N-диметилформамиде (150 мл) и смесь встряхивали в течение 2 часов. Смолу фильтровали и промывали N,N-диметилформамидом (3×150 мл), дихлорметаном (3×150 мл) и N,N-диметилформамидом (3×150 мл). Fmoc-группу удаляли обработкой 20% пиперидином в N,N-диметилформамиде (1×5 мин, 1×30 мин, 2×150 мл). Смолу промывали N,N-диметилформамидом (3×150 мл), 2-пропанолом (3×150 мл) и дихлорметаном (3×150 мл). Добавляли к смоле раствор 16-((4-((трет-бутоксикарбонил)амино)-2,2-диметилбутокси)сульфонил)гексадекановой кислоты (6,62 г; 12,4 ммоль), O-(6-хлор-бензотриазол-1-ил)-N,N,N',N'-тетраметилурония тетрафторбората (TCTU, 4,39 г; 12,4 ммоль) и N,N-диизопропилэтиламина (4,47 мл; 25,7 ммоль) в смеси N,N-диметилформамид/дихлорметан (1/1, 150 мл) и смесь встряхивали в течение 2 часов. Смолу фильтровали и промывали N,N-диметилформамидом (3×150 мл), метанолом (5×150 мл) и дихлорметаном (10×150 мл). Этот продукт отщепляли от смолы обработкой 2,2,2-трифторэтанолом (150 мл) в течение 24 часов. Смолу отфильтровывали и промывали дихлорметаном (3×150 мл). Растворы объединяли, растворители выпаривали и неочищенный продукт (7,80 г) очищали флэш-хроматографией на колонке (Silicagel 60; 0,040-0,060 мм; элюент: от смеси дихлорметан/метанол 100:2 до смеси дихлорметан/метанол 100:10) с получением промежуточного соединения в виде белого твердого вещества.

Выход: 4,00 г (42%).

RF (SiO_2, дихлорметан/метанол 8:1): 0,50.

Спектр 1H ЯМР (300 МГц, CDCl3, dH): 7,79-7,65 (m, 1H); 7,36-7,20 (m, 1H); 6,86 (d, J= 7,5 Гц, 1H); 4,49-4,63 (m, 1H); 4,44-4,29 (m, 1H); 4,07-3,93 (m, 4H); 3,90 (s, 2H); 3,77-3,35 (m, 16H); 3,25-3,02 (m, 4H); 2,44-1,75 (m, 8 H); 1,72-1,38 (m, 22H); 1,38-1,18 (m, 22H); 1,00 (гл, 6H).

ЖХ-МС m/z: 1012,3 (M+H)+.

Промежуточное соединение, полученное выше (3,77 г; 3,73 ммоль), N,N-диизопропилэтиламин (1,75 мл; 10,1 ммоль), [1,2,3]триазоло[4,5-b]пиридин-1-ол (HOAt, 0,51 г; 3,73 ммоль), N-(3-диметиламинопропил)-N'-этилкарбодиимид гидрохлорид (EDC·HCl, 1,43 г; 7,46 ммоль) растворяли в дихлорметане (120 мл). Добавляли 4-формил-бензил-аммония хлорид (5, 0,77 г; 4,48 ммоль). Эту смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 24 часов. По истечении этого времени реакционную смесь выпаривали, растворяли в этилацетате (300 мл) и промывали 0,5 М водным раствором хлороводородной кислоты (200 мл). Органическую фазу отделяли, промывали водой (200 мл) и высушивали над сульфатом магния. Этилацетат выпаривали и неочищенную смесь очищали флэш-хроматографией на колонке (Silicagel 60, 0,040-0,060 мм; элюент: от дихлорметана до смеси дихлорметан/метанол 100:5) с получением защищенного альдегида в виде белого твердого вещества.

Выход: 3,00 г (71%).

RF (SiO_2, дихлорметан/метанол 10:1): 0,70.

Спектр 1H ЯМР (300 МГц, CDCl3, dH): 9,99 (s, 1H); 7,85 (d, J=8,1 Гц, 2H); 7,64-7,38 (m, 3H); 7,14-6,97 (m, 1H); 6,91-6,76 (m, 1H); 6,54-6,43 (m, 1H); 4,58 (d, J=6,2 Гц, 2H); 4,47-4,32 (m, 1H); 4,09 (s, 2H); 3,88 (s, 2H); 3,81-3,30 (m, 16H); 3,22-3,02 (m, 4H); 2,38-2,08 (m, 4H); 1,96-1,71 (m, 5 H); 1,71-1,16 (m, 41H); 0,99 (m, 6H).

ЖХ-МС m/z: 1129,5 (M+H)+.

Защищенный альдегид, полученный выше (3,00 г; 2,66 ммоль), перемешивали со смесью трифторуксусной кислоты (15 мл) и воды (1 мл) в течение 3 часов. По истечении этого времени смесь выпаривали несколько раз с дихлорметаном и толуолом при пониженном давлении. Остаток вливали в смесь воду/ацетонитрил (1/1, 15 мл). Доводили pH до 8,0 насыщенным водным раствором трехзамещенного фосфата натрия, и полученный раствор перемешивали в течение 20 мин при 50°C. Доводили pH до 6,0 насыщенным водным раствором гидросульфата калия. Остаток обессоливали обращенно-фазной хроматографией (DeltaPak, C18, 15 мм 50 мм × 500 мм, ацетонитрил/вода 5-15%/15 мин, 5-55%/180 мин + 0,05% TFA). Растворители удаляли лиофильной сушкой с получением указанного заместителя в виде белого порошка.

Выход: 0,66 г (28%).

H ЯМР спектр (300 МГц, D2O, dH): 9,81 (s, 1H); 7,79 (d, J=7,7 Гц, 2H); 7,41 (d, J=7,9 Гц, 2H); 4,44 (s, 2H); 4,32-4,19 (m, 1H); 4,05 (s, 2H); 3,90 (s, 2H); 3,74-3,43 (m, 12H); 3,38-3,18 (m, 4H); 2,83-2,60 (m, 2H); 2,37-1,76 (m, 6H); 1,76-1,37 (m, 4H); 1,34-0,91 (m, 22H).

ЖХ-МС m/z: 873,8 (M+H)+.

N-((1-(4-Формилфенил)-3,12,21-триоксо-5,8,14,17-тетраокса-2,11,20-триазатетракозан-24-ил)сульфонил)-16-(1H-тетразол-5-ил)гексадеканамид

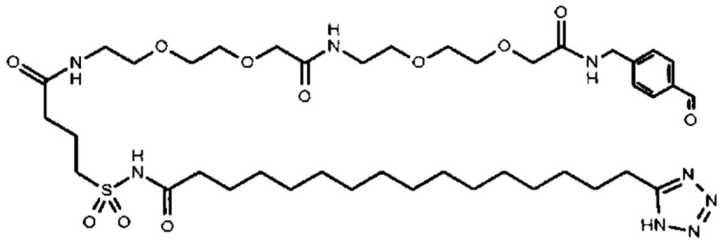
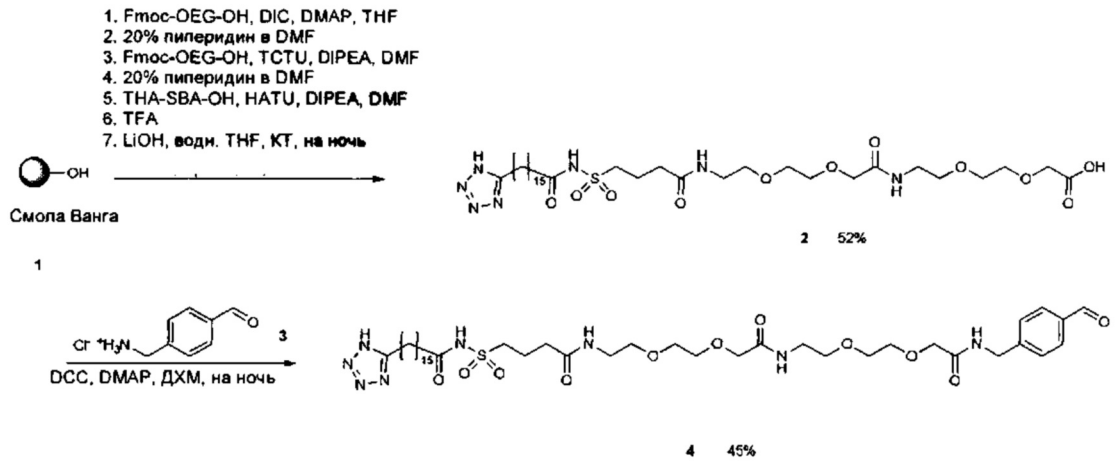


Схема реакции:



Смолу Ванга 0,68 ммоль/г (20,5 г; 13,9 ммоль) оставляли набухать в тетрагидрофуране (200 мл) в течение 20 мин. К смоле добавляли раствор {2-[2-(9H-флюорен-9-илметоксикарбониламино)-этокси]-этокси}-уксусной кислоты (Fmoc-Ado-OH, 16,1 г; 41,8 ммоль) и 4-диметиламинопиридина (DMAP, 0,17 г; 1,39 ммоль) и N,N'-диизопропилкарбодиимида (DIC, 6,47 мл; 41,8 ммоль) в тетрагидрофуране (200 мл) и эту смесь встряхивали в течение 18 часов. Затем смолу фильтровали и промывали N,N-диметилформамидом (2×180 мл), дихлорметаном (2×180 мл) и N,N-диметилформамидом (2×180 мл). Смолу обрабатывали раствором уксусного ангидрида (13,2 мл; 139 ммоль) и пиридином (11,3 мл; 139 ммоль) в N,N-диметилформамиде (180 мл). Затем смола фильтровали и промывали N,N-диметилформамидом (2×180 мл), дихлорметаном (2×180 мл) и N,N-диметилформамидом (2×180 мл). Fmoc-группу удаляли обработкой 20%

пиперидином в N,N-диметилформамиде (1×5 мин, 1×30 мин, 2×180 мл). Смолу фильтровали и промывали N,N-диметилформамидом (2×180 мл), дихлорметаном (2×180 мл) и N,N-диметилформамидом (2×180 мл). Раствор {2-[2-(9H-флюорен-9-илметоксикарбониламино)-этокси]-этокси}-уксусной кислоты (Fmoc-Ado-OH, 10,8 г; 27,9 ммоль), 5-хлор-1-((диметиламино)(диметилимино)метил)-1H-бензо[d][1,2,3]триазол-3-оксида тетрафторбората (TCTU, 9,91 г; 27,9 ммоль) и N,N-диизопропилэтиламина (7,28 мл; 41,8 ммоль) в N,N-диметилформамиде (180 мл) добавляли к смоле и смесь встряхивали в течение 2 часов. Затем смолу фильтровали и промывали N,N-диметилформамидом (2×180 мл), дихлорметаном (2×180 мл) и N,N-диметилформамидом (2×180 мл). Fmoc-группу удаляли обработкой 20% пиперидином в N,N-диметилформамиде (1×5 мин, 1×30 мин, 2×180 мл). Смолу фильтровали и промывали N,N диметилформамидом (2×180 мл), дихлорметаном (2×180 мл) и N,N-диметилформамидом (2×180 мл). К смоле добавляли раствор 4-(N-(16-(1H-тетразол-5-ил)гексадеканоил)сульфамоил)бутановой кислоты (THA-SBA-OH, 8,91 г; 18,8 ммоль), 1-((диметиламино)(диметилимино)метил)-1H-[1,2,3]триазоло-[4,5-b]пиридин-3-оксида гексафторфосфата (HATU, 7,16 г; 18,8 ммоль) и N,N-диизопропилэтиламина (5,71 мл; 32,8 ммоль) в смеси N,N-диметилформамида (90 мл) и дихлорметана (90 мл) и смесь встряхивали в течение 18 часов.

Смолу фильтровали и промывали N,N-диметилформамидом (2×180 мл), дихлорметаном (2×180 мл), 2-пропанолом (2×180 мл) и дихлорметаном (10×180 мл). Этот продукт отщепляли от смолы обработкой смесью трифторуксусной кислоты (150 мл) и воды (7,5 мл) в течение 1 ч. Смолу фильтровали и промывали дихлорметаном (2×150 мл). Растворитель удаляли при пониженном давлении и остаток обрабатывали диэтиловым эфиром (100 мл). К раствору промежуточного соединения (7,90 г; 10,3 ммоль) в тетрагидрофуране (100 мл) добавляли гидроксид лития моногидрат (1,74 г; 41,4 ммоль) в воде (100 мл). Этот раствор перемешивали в течение 18 часов. Раствор подкисляли 10% водным раствором гидросульфата калия до pH=3, а затем насыщали хлоридом натрия. Органическую фазу удаляли, водную фазу экстрагировали этилацетатом (1×300 мл). Объединенные органические фазы высушивали над безводным сульфатом натрия. Растворитель удаляли при пониженном давлении с получением промежуточного продукта в виде белого порошка.

Выход: 5,50 г (52%).

Спектр 1H ЯМР (300 МГц, AcOD-d4, dH): 4,22 (s, 2H); 4,12 (s, 2H); 3,83-3,61 (m, 12H); 3,59-3,43 (m, 6H); 3,02 (t, J=7,4 Гц, 2 H); 2,49 (t, J=7,3 Гц, 2 H); 2,41 (t, J=7,5 Гц, 2 H); 2,22-2,09 (m, 2H); 1,89-1,75 (m, 2H); 1,74-1,60 (m, 2H); 1,47-1,26 (m, 22H).

Раствор полученного выше соединения (2,90 г; 3,80 ммоль), 4-аминометилбензальдегида гидрохлорида (0,78 г; 4,56 ммоль), N,N'-дициклогексилкарбодиимида (DCC, 0,78 г; 3,80 ммоль) и 4-диметиламинопиридина (DMAP, 1,02 г; 8,35 ммоль) в сухом дихлорметане (100 мл) перемешивали в течение 18 ч. Осадок отфильтровывали и раствор промывали 10% водным раствором гидросульфата калия (2×100 мл). Растворитель удаляли при пониженном давлении и остаток кристаллизовали из тетрагидрофурана (30 мл). Очистка флэш-хроматографией на колонке (Silicagel 60, 0,040-0,063 мм; элюент: дихлорметан/метанол, 20:1-5:1) давала конечный продукт в виде бледно-желтого порошка.

Выход: 1,51 г (45%).

Спектр 1H ЯМР (300 МГц, AcOD-d4, dH): 9,96 (s, 1H); 7,91 (d, J=7,9 Гц, 2 H); 7,92 (d, J=7,9 Гц, 2 H); 4,63 (s, 2H); 4,21 (s, 2H); 4,08 (s, 2H); 3,81-3,57 (m, 12H); 3,54-3,41 (m, 6H); 3,02 (t, J=7,4 Гц, 2 H); 2,47 (t, J=7,3 Гц, 2 H); 2,38 (t, J=7,4 Гц, 2 H); 2,19-2,07 (m, 2H); 1,86-

1,72 (m, 2H); 1,70-1,57 (m, 2H); 1,43-1,23 (m, 22H).

Чистота по ЖХ-МС: 100%.

ЖХ-МС ВУ (Kinetex 4,6 мм × 50 мм, ацетонитрил/вода от 20:50 до 100:0 + 0,1% FA): 3,58 мин.

ЖХ-МС m/z: 882,0 (M+H)+.

Всего было получено 29 заместителей, которые перечислены ниже с указанием конкретных элементов Z_1-Z_{10} для каждого индивидуального заместителя.

	Z_1 (протрактор)	Z_2	Z_3	Z_3-Z_9	Z_{10}
1.	HOOC-$(CH_2)_{18}$-CO-		-gGlu-	-Ado-Ado-	
2.	HOOC-$(CH_2)_{18}$-CO-	-NH-CH_2-(C_6H_{10})-CO-	-gGlu-	-Ado-Ado-	
3.	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-		-gGlu-	-Ado-Ado-	
4.	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-		-gGlu-	-Ado-Ado-	-NH-CH_2-(C_6H_4)-CH_2-
5.	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-		-gGlu-		
6.	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-	-NH-CH_2-(C_6H_{10})-CO-	-gGlu-	-Ado-Ado-	
7.	HOOC-$(CH_2)_{14}$-CO-		-gGlu-	-Ado-Ado-	
8.	HOOC-$(CH_2)_{14}$-CO-		-gGlu-		
9.	HOOC-$(CH_2)_{14}$-CO-		-gGlu-	-Ado-Ado-	
10.	HOOC-$(CH_2)_{12}$-CO-		-gGlu-	-Ado-Ado-	
11.	4-HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_{10}$-CO-		-gGlu-	-Ado-Ado-	
12.	4-HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_{10}$-CO-		-gGlu-	-Ado-Ado-Ado-	
13.	4-HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_{10}$-CO-		-gGlu-		
14.	4-HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_{10}$-CO-		2xgGlu-		
15.	4-HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_{10}$-CO-		-gGlu-	-Gly-Gly-Gly-	
16.	4-HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_{10}$-CO-		2xgGlu-	-Ado-Ado-	
17.	4-HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_{10}$-CO-		-gGlu-	-TtdSuc-	
18.	4-HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_{10}$-CO-				

19.	4-HOOC-(C_6H_4)-O-(CH_2)$_{10}$-CO-		-gGlu-	-Ado-Ado-Ado-Ado-	
20.	4-HOOC-(C_6H_4)-O-(CH_2)$_{10}$-CO-	-NH-CH_2-(C_6H_{10})-CO-	-gGlu-	-Ado-Ado-	
21.	4-HOOC-(C_6H_4)-O-(CH_2)$_9$-CO-		-gGlu-	-Ado-Ado-	
22.	3-HOOC-(C_6H_4)-O-(CH_2)$_9$-CO-		-gGlu-	-Ado-Ado-	
23.	3-HO-изоксазол-(CH_2)$_{12}$-CO-		-gGlu-	-Ado-Ado-	
24.	HOS(O)$_2$-(CH_2)$_{15}$-CO-		-gGlu-	-Ado-Ado-	-NH-CH_2-(C_6H_4)-CH_2.
25.	HOS(O)$_2$-(CH_2)$_{13}$-CO-		-gGlu-	-Ado-Ado-	
26.	Тетразолил-(CH_2)$_{15}$-CO-	-NH-SO_2-(CH_2)$_3$-CO -		-Ado-Ado-	-NH-CH_2-(C_6H_4)-CH_2-
27.	Тетразолил-(CH_2)$_{12}$-CO-		-gGlu-	-Ado-Ado-	
28.	Тетразолил-(CH_2)$_{15}$-CO-		-gGlu-	-Ado-Ado-	
29.	MeS(O)$_2$NH(CO)NH-(CH_2)$_{12}$-CO		-gGlu-	-Ado-Ado-	

Способы детекции и характеристики

Способы с применением ЖХ-МС

ЖХ-МС-01 (см. Табл. 1)

Таблица 1: ЖХ-система: Waters Acquity UPLC. Линейный градиент: 5%-95% B.

Система	ЖХ-система: Waters Acquity UPLC Колонка: Waters Acquity UPLC BEH, C-18; 1,7мкм, 2,1мм x 50мм Детектор: Waters (Micromass) LCT Premier XE
Настройки детектора	Способ ионизации: ЭС (электро-спрэй) Диапазон сканирования: 500 – 2000 а.е.м. Рабочий режим: режим W положительный/отрицательный: режим определения положительных ионов Напряжение на конусе: 50 V Время сканирования 1 Задержка между сканированиями: 0,0
Условия	Линейный градиент: 5%–95% B Градиентное прогона время: 4,0 мин Общее время прогона: 7,0 мин Скорость потока: 0,4 мл/мин Температура колонки: 40°C

Элюенты	Растворитель A: 99,90% MQ-вода, 0,1% муравьиная кислота Растворитель B: 99,90% ацетонитрил, 0,1% муравьиная кислота Растворитель C: Нет сведений
Специфи-кация и валидация результатов	Масса изм. представляет собой массу, измеренную для соединения M/z изм. представляет собой измеренный молекулярный ион ((M+z)/z) для соединения Масса расч. представляет собой молекулярную массу желаемого соединения M/z расч. представляет собой молекулярный вес (M+z)/z желаемого соединения Чистота: полный ионный ток (ПИТ) площади под кривой (ППК) пика аналита, в процентах от общего ППК за исключением пика растворителя, в отчете программного обеспечения системы. Идентичность: масса каждого массового пика аналита, выраженная в виде m/z от самого высокого к самому низкому. Диапазон сканирования представляет собой использованный диапазон, в котором сканировали по данному способу. Способ детекции представляет собой, например, линейный рефлектор

ЖХ-МС-027 (см. Табл. 2)

Таблица 2: Agilent 1290 infinity, серии UPLC, LC/MCD TOF, 6 мин, 5%–95% B, 100-3200 а.е.м., C18

Система	Система: Agilent 1290 infinity, серии UPLC Колонка: Eclipse C18+ 2,1x50 мм 1,8u Детектор: Agilent Technologies LC/MSD TOF 6230 (G6230A)
Настройки детектора	Способ ионизации: источник Agilent Jet Stream Диапазон сканирования: мин. m/z=100, макс. m/z=3200 Режим линейного рефлектора Режим определения положительных ионов
Условия	Линейный градиент: 5%–95% B Время прогона градиента: 6 мин 0-4,5 мин 5-95% B, 4,5-5 95% B, 5-5,5 95-5% B 5,5-6 5% B Скорость потока: 0,40 мл/ мин фиксированная Температура колонки: 40°C

Элюенты	Растворитель A: 99,90% H_2O, 0,02% TFA Растворитель B: 99,90% CH_3CN, 0,02% TFA Растворитель C: Нет сведений
Спецификация и валидация результатов	Измеренная масса представляет собой либо m/z ((m+z)/z) соединения для соединения с m<4000, либо массу (среднее) как результат деконвуляции в программе Masshunter Workstation, версия B.05.00 Build 5.0.519.13 SP1 (Agilent). Масса расч. представляет собой среднюю молекулярную массу желаемого соединения Расч. m/z представляет собой молекулярную массу (m+z)/z желаемого соединения

ЖХ-МС-029 (см. Табл. 3):

Таблица 3: Система Waters Acquity UPLC, 6 мин (3,5 мин), 5-(15-35)-100-100-5% B

Система	Система: система Waters Acquity СВЭЖХ Колонка: ACQUITY UPLC BEH C18; 1,7 мкм; колонка 2,1 мм x 50 мм Детекторы: Детектор Waters Acquity TUV
Настройки детектора	214 нм или 254 нм
Условия	Ступенчатый градиент: Прогон градиента 0,0 - 0,5 мин 5 - 15%B 0,5 - 4,0 мин 15 -35%B 4,0 - 4,5 мин 35 - 100%B 4,5 - 5,0 мин 100 - 100%B 5,0 - 5,5 мин 100 - 5%B 5,5 - 6,0 мин 5 - 5%B Общее время прогона: 6,0 мин Скорость потока: 0,45 мл/ мин фиксированная Температура колонки: 40°C
Элюенты	Растворитель A: 99,95% Вода, 0,05% Трифторуксусная кислота Растворитель B: 99,95% Ацетонитрил, 0,05% Трифторуксусная кислота

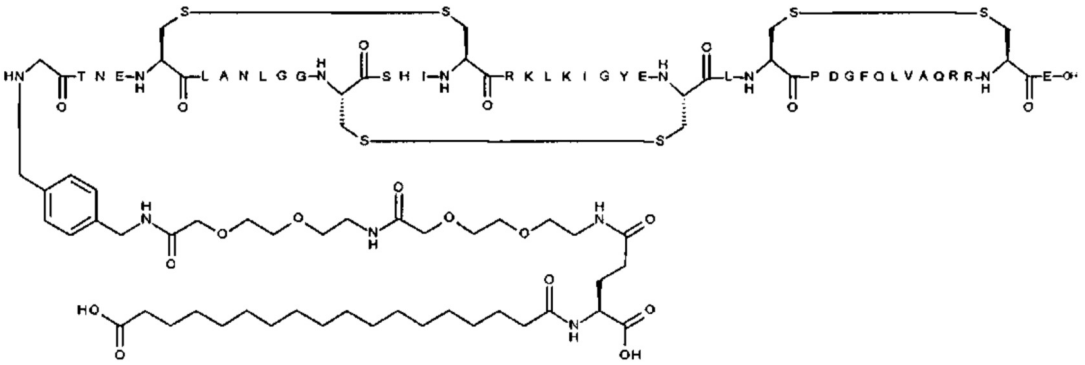
Спецификация и валидация результатов	Чистоту определяли как пик ППК по отношению к общему ППК за исключением пика растворителя (в процентах) в виде отчета программного обеспечения системы для каждой длины волны в УФ. Время удерживания между 2,8 и 4,2 мин, фоновое разделение требуемого пика аналита. Значение ППК пика между 0,5 и 1,5. Внесенные результаты получены при 214 нм

С. ПРИМЕРЫ СОЕДИНЕНИЙ

С.1. Получение примеров соединений

Пример 1

N{293}-[4-[[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксигептадеканоиламино)-бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]метил]фенил]метил-[Ala299,Leu301,Ile307,Arg309,Lys310]-P-ЛНП-(293-332)-пептид



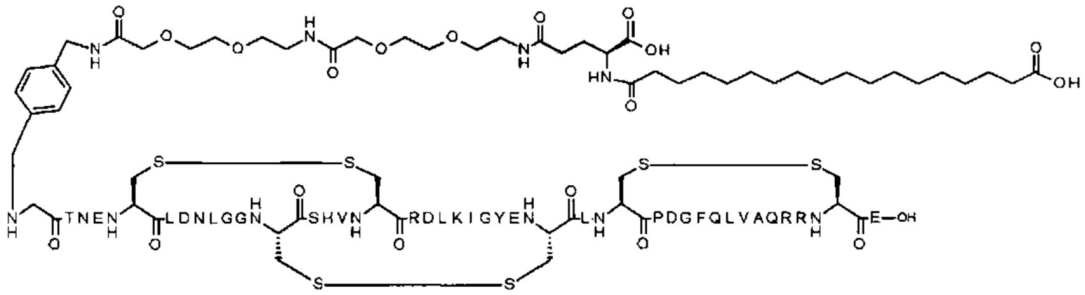
Данный пептид представляет собой SEQ ID NO: 2.

Соединение получали общим способом A и C

ЖХ-МС-029: m/3 измер. = 1743,9; m/4 измер. = 1308,1; m/5 измер. = 1046,7; Масса расч. = 5229,1; Масса изм. = 5229,6

Пример 2

N{293}-[4-[[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксигептадеканоиламино)-бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]метил]фенил]метил-[Leu301, Arg309]-P-ЛНП-(293-332)-пептид



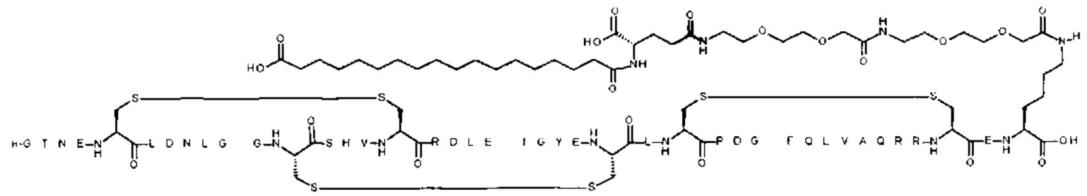
Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 3.

Соединение получали общим способом A и C

ЖХ-МС-029: m/3 измер. = 1749,5; m/4 измер. = 1312,4; m/5 измер. = 1050,1; Масса расч. = 5246,0; Масса изм. = 5246,4

Пример 3

N{Альфа}([Leu301, Arg309, Glu312]-P-ЛНП-(293-332)-peptidyl)-N{Эпсилон}[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксигептадеканоиламино)бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]Lys



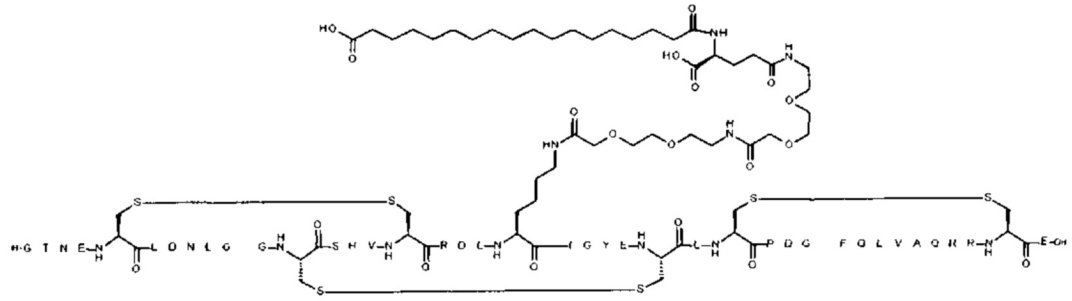
Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 4.

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-01: m/4 измер. = 1314,6; m/5 измер. = 1052,1; Масса расч. = 5255,9

Пример 4

N{Эпсилон-312}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксигептадеканоиламино)бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]-[Leu301, Arg309]-P-ЛНП-(293-332)-пептид



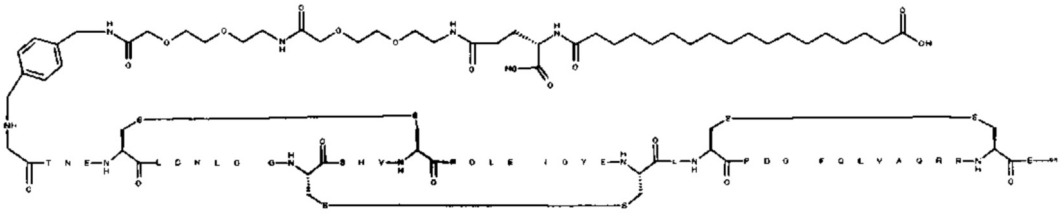
Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 3.

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-01: m/4 измер. = 1282,3; m/5 измер. = 1026,3; Масса расч. = 5126,8

Пример 5

N{293}-[4-[[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксигептадеканоиламино)-бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]метил]фенил]метил-[Leu301, Arg309, Glu312]-P-ЛНП-(293-332)-пептид



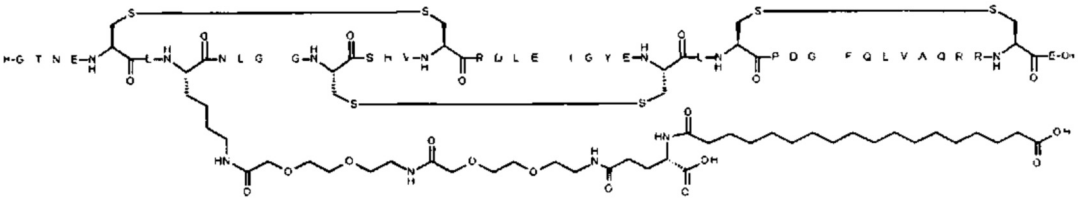
Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 6.

Соединение получали общим способом A и C

ЖХ-МС-029: Масса расч. = 5246,92; Масса изм. = 5247,37

Пример 6

N{Эпсилон-299}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксигептадеканоиламино)бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]-[Lys299, Leu301, Arg309, Glu312]-P-ЛНП-(293-332)-пептид



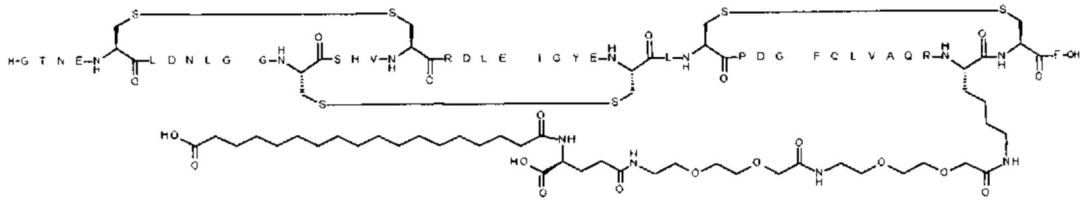
Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 7.

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-01: m/3 измер. = 1714,2; m/4 измер. = 1286,1; Масса расч. = 5140,85

Пример 7

N{Эпсилон-330}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксигептадеканоиламино)бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]-[Leu301, Arg309, Glu312, Lys330]-P-ЛНП-(293-332)-пептид



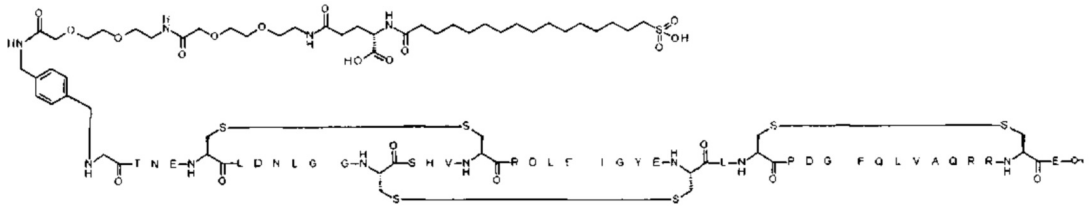
Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 8.

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-01: m/3 измер. = 1700,8; m/4 измер. = 1275,8; m/5 измер. = 1020,9, Масса расч. 5099,7; Масса изм. = 5099,75

Пример 8

N{293}-[4-[[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-(16-сульфогексадеканоиламино)-бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]метил]фенил]метил-[Leu301, Arg309, Glu312]-P-ЛНП-(293-332)-пептид



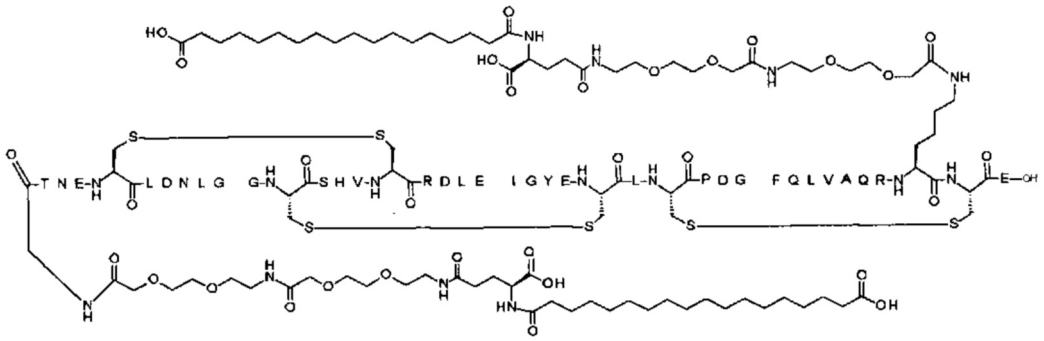
23: Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 6.

Соединение получали общим способом A и C

ЖХ-МС-029: m/3 измер. = 1757,1; m/4 измер. = 1318,04; Масса расч. = 5268,95; Масса изм. = 5269,39

Пример 9

N{293}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксигептадеканоиламино)-бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил],N{эпсилон-330}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксигептадеканоиламино)-бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]-[Leu301, Arg309, Glu312, Lys330]-P-ЛНП-(293-332)-пептид



24: Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 8.

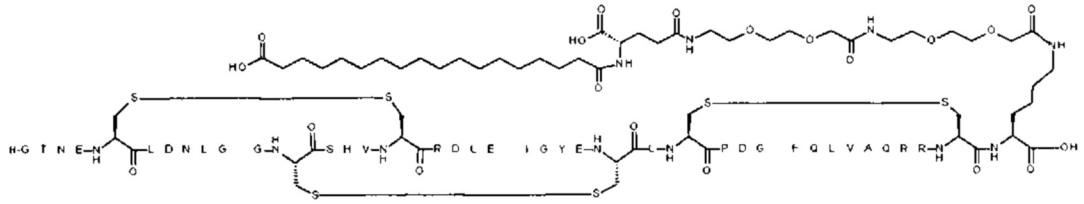
Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-029: m/3 измер. = 1939,2; m/4 измер. = 1454,2; Масса расч. = 5815,6; Масса изм. = 5816,1

Пример 10

N{Эпсилон-332}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-(17-

карбоксигептадеканоиламино)бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]-[Leu301, Arg309, Glu312, Lys332]-P-ЛНП-(293-332)-пептид



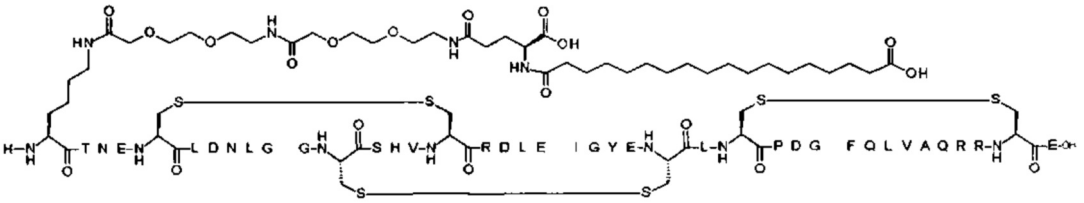
Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 11.

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-01: m/4 измер. = 1282,6; m/5 измер. = 1026,3; Масса расч. = 5126,8

Пример 11

N{Эпсилон-293}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксигептадеканоиламино)бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]-[Lys293, Leu301, Arg309, Glu312]-P-ЛНП-(293-332)-пептид



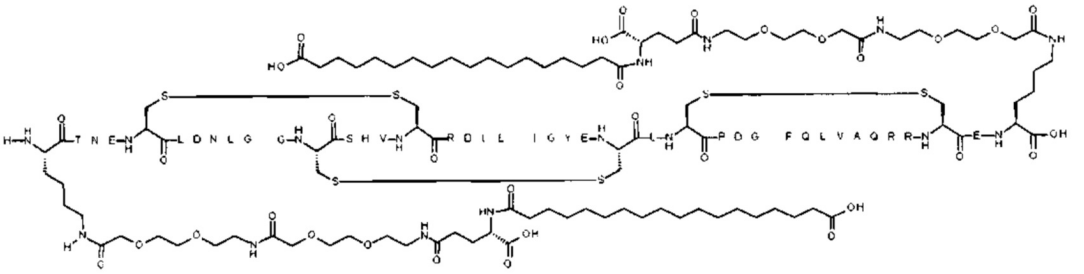
Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 12.

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-01: m/4 измер. = 1300,6; m/5 измер. = 1040,5; Масса расч. = 5198,9

Пример 12

N{Альфа}(N{Эпсилон-293}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксигептадеканоиламино)бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]-[Lys293, Leu301, Arg309, Glu312]-P-ЛНП-(293-332)-пептидил)-N{эпсилон}[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксигептадеканоиламино)бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]Lys



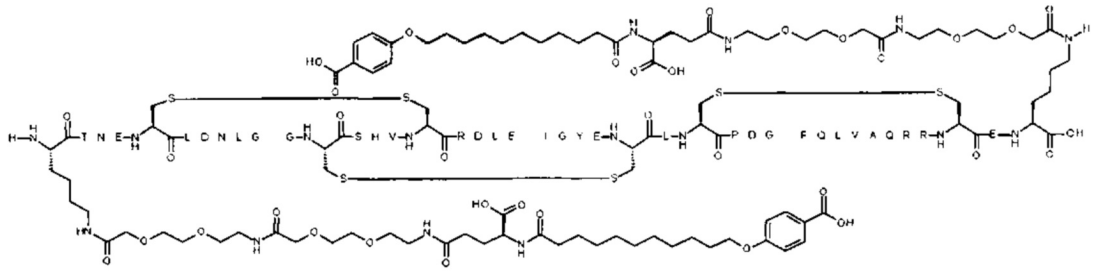
Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 13.

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-029: Измер. m/2 = 3022,4; m/3 измер. = 2015,3; m/4 измер. = 1511,8; m/5 измер. = 1209,6; Масса изм. = 6043,6; Масса расч. = 6042,9

Пример 13

N{Альфа}(N{Эпсилон-293}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбоксифенокси)ундеканоиламино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]-[Lys293, Leu301, Arg309, Glu312]-P-ЛНП-(293-332)-пептидил)-N{эпсилон}[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбоксифенокси)ундеканоиламино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]Lys



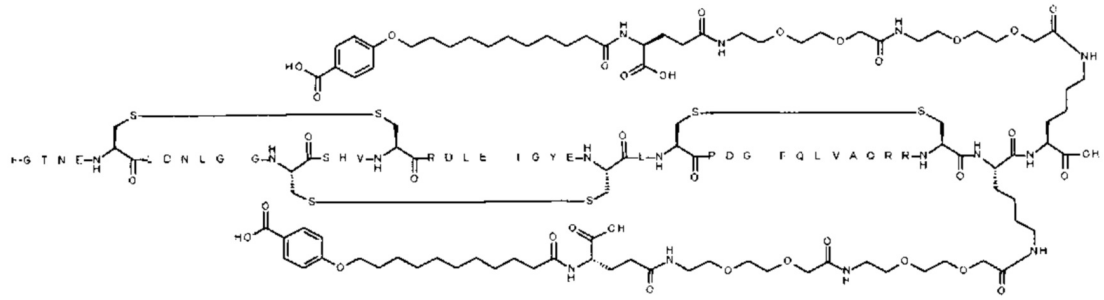
Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 13.

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-029: Измер. m/2 = 3030,4; m/3 измер. = 2020,7; m/4 измер. = 1515,7; m/5 измер. = 1212,8; Масса изм. = 6059,7; Масса расч. = 6058,8

Пример 14

M{Альфа}(N{эпсилон-332}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбоксифенокси)ундеканоиламино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]-[Leu301, Arg309, Glu312, Lys332]-P-ЛНП-(293-332)-пептидил)-N{эпсилон}[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбоксифенокси)ундеканоиламино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]Lys



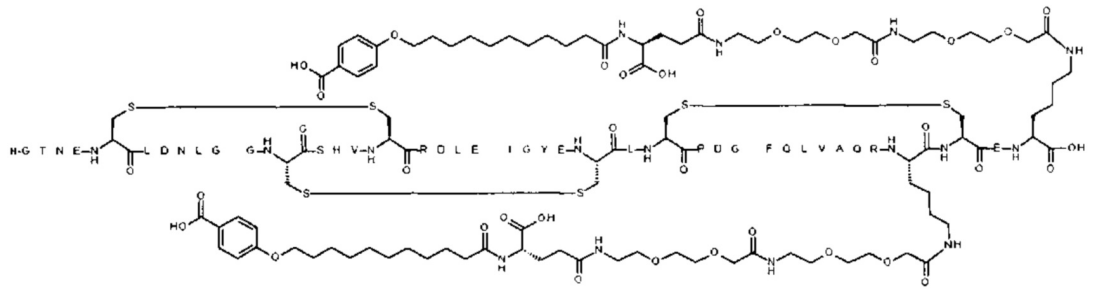
Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 15.

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-01: m/4 измер. = 1497,4; m/5 измер. = 1198,3; Масса расч. = 5986,7

Пример 15

N{Альфа}(N{эпсилон-330}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбоксифенокси)ундеканоиламино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]-[Leu301, Arg309, Glu312, Lus330]-P-ЛНП-(293-332)-пептидил)-N{эпсилон}[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбоксифенокси)ундеканоиламино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]Lys



Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 16.

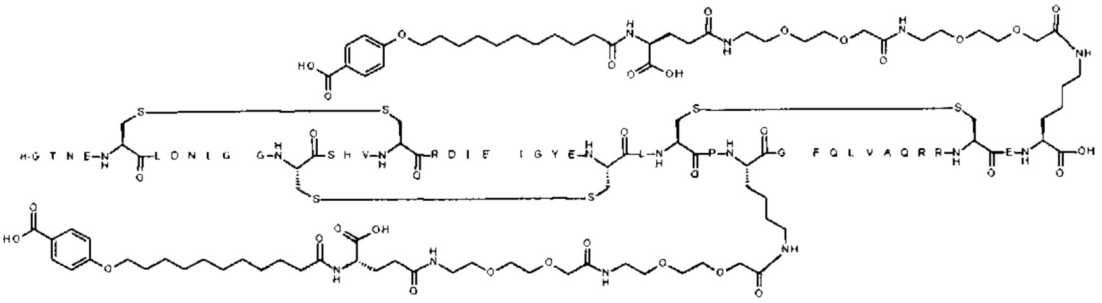
Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-01: m/3 измер. = 1987,7; m/4 измер. = 1491,0; m/5 измер. = 1193,0; Масса расч. = 5959,7

Пример 16

M{Альфа}(N{эпсилон-321}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбокси-

фенокси)ундеканоиламино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]-[Leu301, Arg309, Glu312, Lus321]-P-ЛНП-(293-332)-пептидил)-N{эпсилон}[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбоксифенокси)ундеканоиламино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]Lys



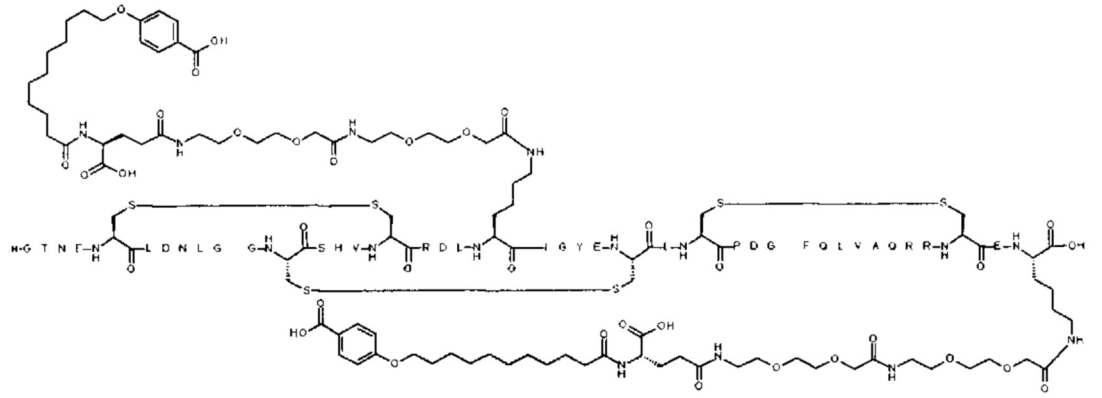
Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 17.

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-01: m/4 измер. = 1500,9; m/5 измер. = 1201,2; Масса расч. = 6000,8

Пример 17

N{Альфа}(M{эпсилон-312}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбоксифенокси)ундеканоиламино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]-[Leu301, Arg309]-P-ЛНП-(293-332)-пептидил)-N{эпсилон}[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбоксифенокси)ундеканоиламино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]Lys



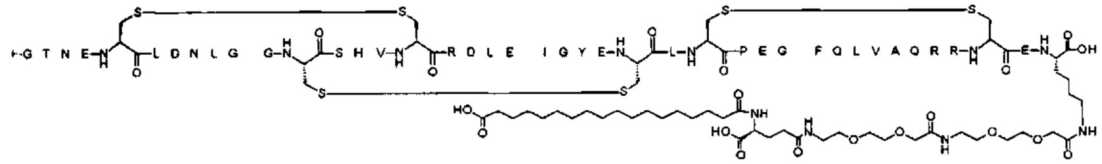
Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 18.

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-01: m/4 измер. = 1498,2; m/5 измер. = 1198,7; Масса расч. = 5986,7

Пример 18

N{Альфа}([Leu301, Arg309, Glu312, Glu321]-P-ЛНП-(293-332)-пептидил)-M{эпсилон}[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксигептадеканоиламино)бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]Lys



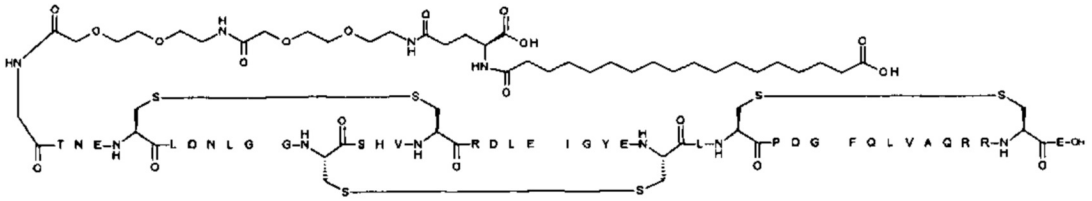
Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 19.

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС027: Измер. m/2 = 2635,7; m/3 измер. = 1757,5; m/4 измер. = 1318,4; m/5 измер. = 1054,9; Масса расч. = 5270,0; Масса изм. = 5270,5

Пример 19

N{293}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксигептадеканоиламино) бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]-[Leu301, Arg309, Glu312]-P-ЛНП-(293-332)-пептид



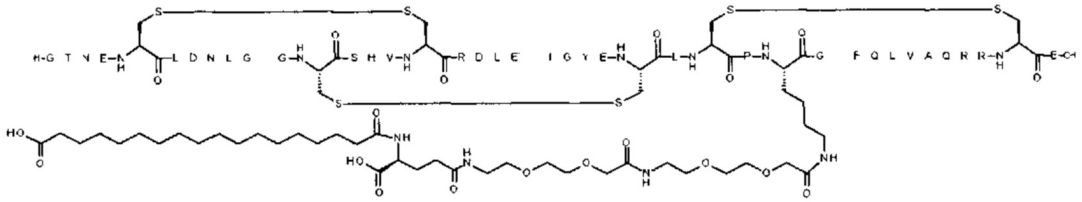
Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 6.

Соединение получали общим способом A и D

ЖХ-МС-01: Измер. m/1 = 5127,8; m/3 измер. = 1710,0; m/4 измер. = 1282,3; m/5 измер. = 1026,5; Масса расч. = 5127,8

Пример 20

N{эпсилон-321}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксигептадеканоиламино)бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси] этокси]ацетил]-[Leu301, Arg309, Glu312, Lys321]-P-ЛНП-(293-332)-пептид



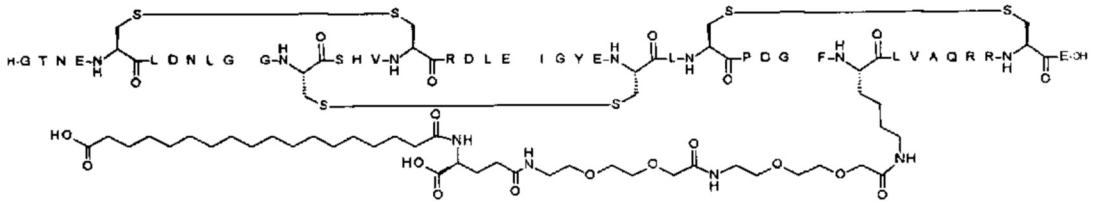
Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 21.

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-01: m/4 измер. = 1286,1; m/5 измер. = 1029,1; Масса расч. = 5140,9

Пример 21

N{эпсилон-324}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксигептадеканоиламино)бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси] этокси]ацетил]-[Leu301, Arg309, Glu312, Lys324]-P-ЛНП-(293-332)-пептид



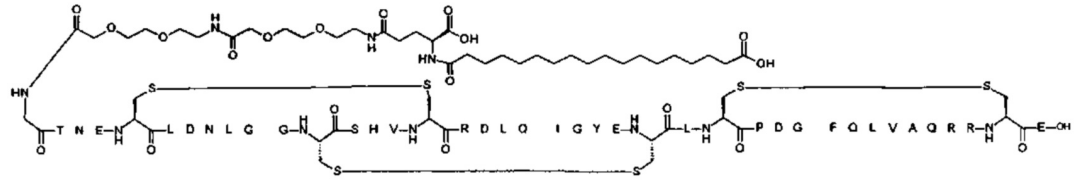
Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 22.

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-01: m/4 измер. = 1282,9; m/5 измер. = 1026,5; Масса расч. = 5127,8

Пример 22

N{293}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксигептадеканоиламино) бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]-[Leu301, Arg309, Gln312]-P-ЛНП-(293-332)-пептид



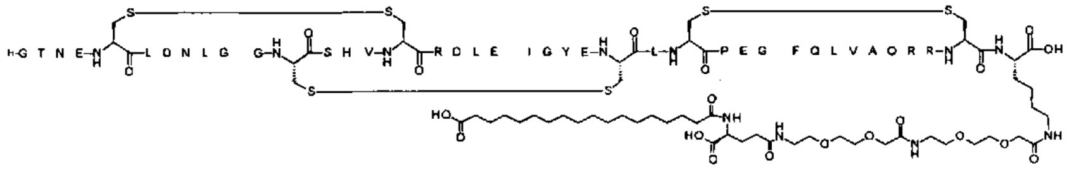
Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 23.

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-029: m/3 измер. = 1709,8; m/4 измер. = 1282,6; Масса расч. = 5126,8; Масса изм. = 5127,3

Пример 23

N{эпсилон-332}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксигептадеканоиламино)бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]-[Leu301, Arg309, Glu312, Glu321, Lys332]-P-ЛНП-(293-332)-пептид



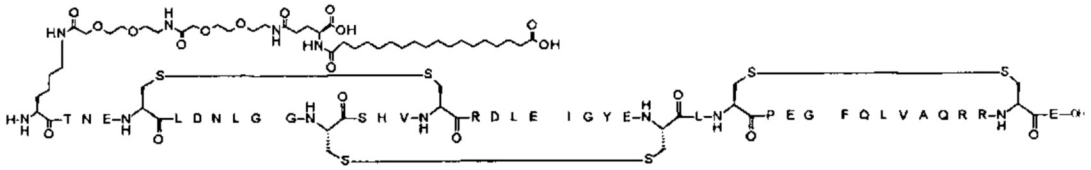
Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 24.

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-029: Измер. m/2 = 2571,2; m/3 измер. = 1714,5; m/4 измер. = 1286,1; Измер. m/z = 5141,4; Масса расч. = 5140,9

Пример 24

N{эпсилон-293}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксигептадеканоиламино)бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]-[Lys293, Leu301, Arg309, Glu312, Glu321]-P-ЛНП-(293-332)-пептид



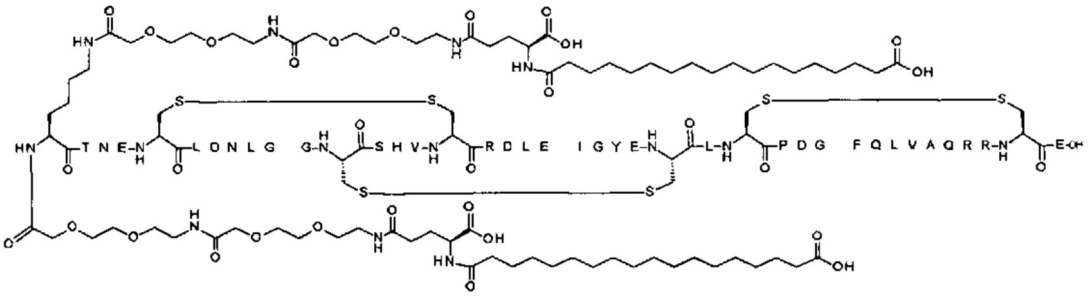
Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 25.

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-029: Измер. m/2 = 2607,2; m/3 измер. = 1738,5; m/4 измер. = 1304,1; Масса изм. = 5213,5; Масса расч. = 5212,9

Пример 25

M{Альфа-293}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксигептадеканоиламино)бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил],-N{эпсилон-293}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксигептадеканоиламино)бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]-[Lys293, Leu301, Arg309, Glu312]-P-ЛНП-(293-332)-пептид



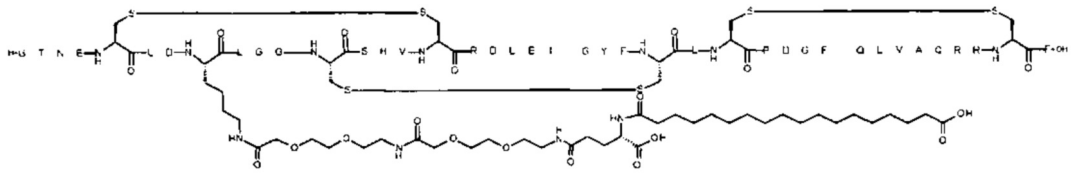
Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 26.

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-029: m/4 измер. = 1479,7; Масса расч. = 5914,8 Да; Масса изм. = 5914,3

Пример 26

N{эпсилон-300}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксигептадеканоиламино)бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]-[Lys300, Leu301, Arg309, Glu312]-P-ЛНП-(293-332)-пептид



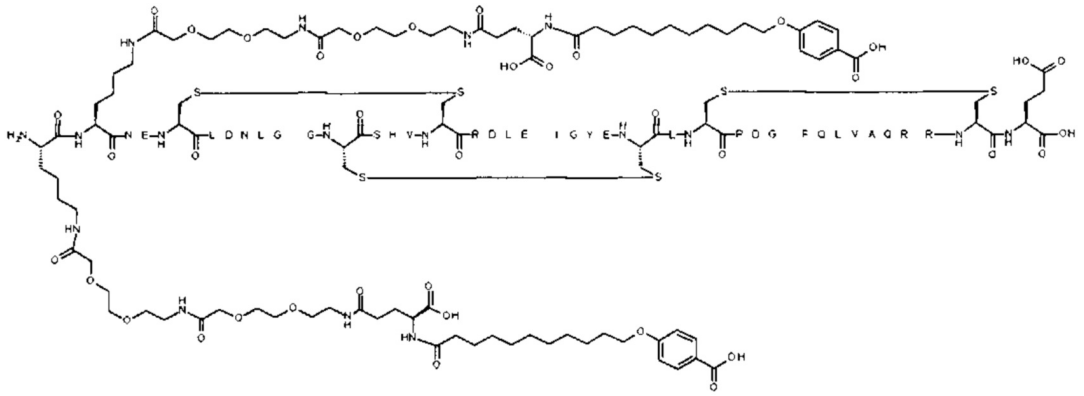
Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 27.

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-01: m/4 измер. = 1286,9; m/5 измер. = 1029,7; Масса расч. = 5141,8

Пример 27

N{эпсилон-293}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбоксифенокси) ундеканоиламино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил] ,N{эпсилон-294}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбоксифенокси) ундеканоиламино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил] -[Lys293, Lys294, Leu301, Arg309, Glu312]-P-ЛНП-(293-332)-пептид



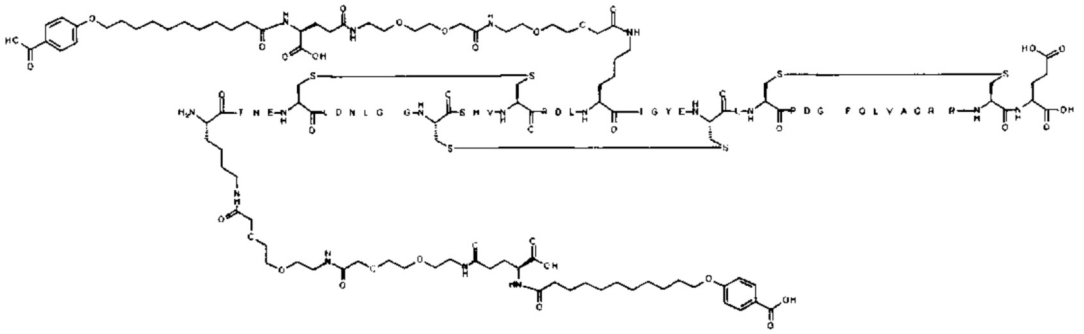
Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 28.

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-01: Измер. m/1 = 5957,6; m/4 измер. = 1490,4; m/5 измер. = 1192,3; Расч. m/1 = 5957,7

Пример 28

N{эпсилон-293}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбоксифенокси) ундеканоиламино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил] ,N{эпсилон-312}2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбоксифенокси) ундеканоиламино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил] -[Lys293, Leu301, Arg309]-P-ЛНП-(293-332)-пептид



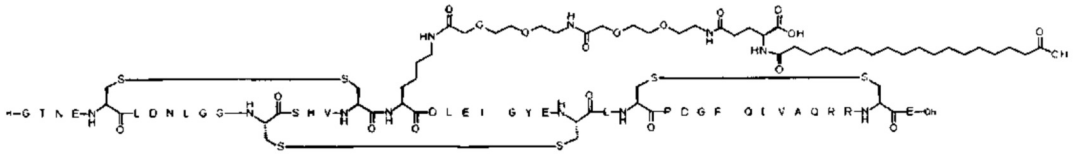
Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 29.

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-01: Измер. m/1 = 5929,4; m/4 измер. = 1483,3; m/5 измер. = 1186,8; расч. m/1= 5929,7

Пример 29

N{эпсилон-309}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксигептадеканоиламино)бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]-[Leu301, Lys309, Glu312]-P-ЛНП-(293-332)-пептид



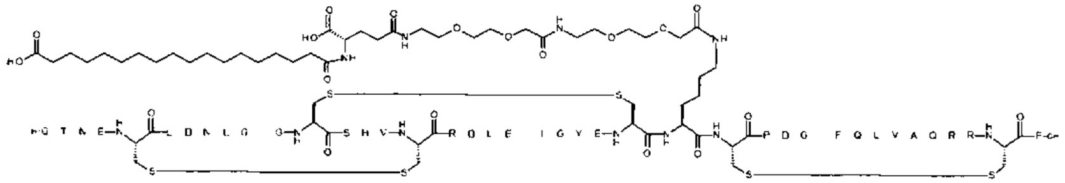
Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 30.

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-01: m/3 измер. = 1700,8; m/4 измер. = 1275,8; m/5 измер. = 1020,9; Масса расч. = 5099,8 (1A)

Пример 30

N{эпсилон-318}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксигептадеканоиламино)бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]-[Leu301, Arg309, Glu312, Lys318]-P-ЛНП-(293-332)-пептид

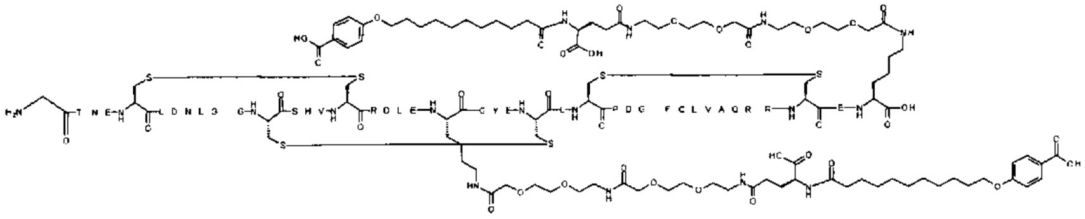


Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 31.

ЖХ-МС-01: m/4 измер. = 1286,5; m/5 измер. = 1029,5; Масса расч. = 5142,8

Пример 31

N{эпсилон}(N{эпсилон-313}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбоксифенокси)ундеканоиламино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]-[Leu301, Arg309, Glu312, Lys313]-P-ЛНП-(293-332)-пептидил)-N{эпсилон}[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбоксифенокси)ундеканоиламино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]Lys



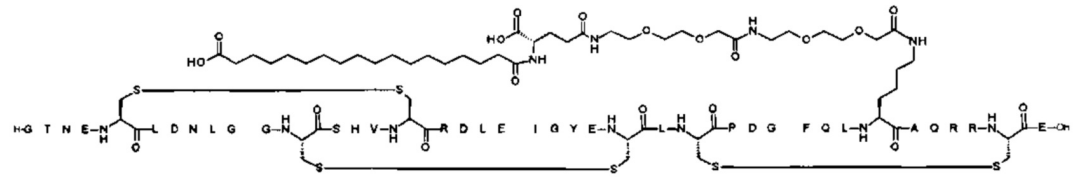
Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 32.

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-01: Измер. m/1 = 6002,8; m/4 измер. = 1501,6; m/5 измер. = 1201,5; расч. m/1 = 6002,7

Пример 32

N{эпсилон-326}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксигептадеканоиламино)бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]-[Leu301, Arg309, Glu312, Lys326]-P-ЛНП-(293-332)-пептид



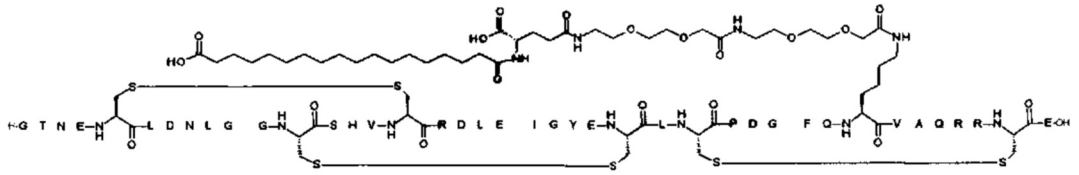
Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 33.

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-01: m/3 измер. = 1719,8; m/4 измер. = 1290,1; m/5 измер. = 1032,3; Масса расч. = 5156,8

Пример 33

N{эпсилон-325}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксигептадеканоиламино)бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]-[Leu301, Arg309, Glu312, Lys325]-P-ЛНП-(293-332)-пептид



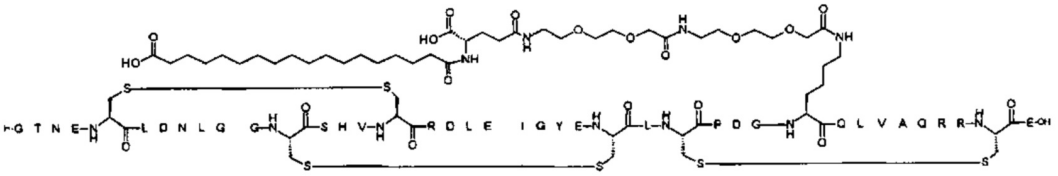
Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 34.

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-01: m/3 измер. = 1715,1; m/4 измер. = 1286,6; m/5 измер. = 1029,5; Масса расч. = 5142,8

Пример 34

N{эпсилон-323}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксигептадеканоиламино)бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]-[Leu301, Arg309, Glu312, Lys323]-P-ЛНП-(293-332)-пептид



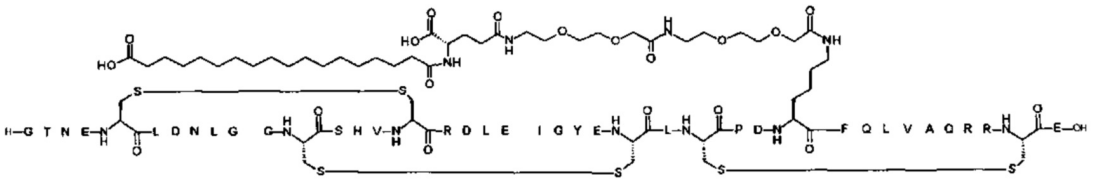
Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 35.

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-01: Измер. m/1 = 5108,8; m/3 измер. = 1703,8; m/4 измер. = 1278,1; m/5 измер. = 1022,5

Пример 35

N{эпсилон-322}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксигептадеканоиламино)бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]-[Leu301, Arg309, Glu312, Lys322]-P-ЛНП-(293-332)-пептид



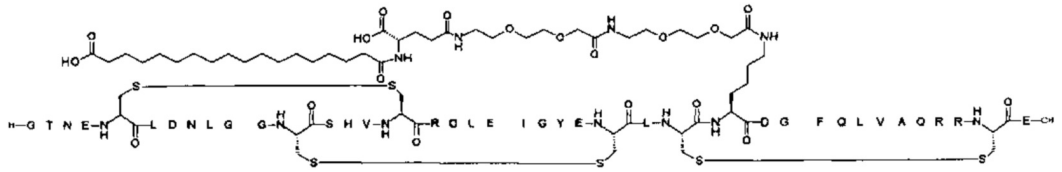
Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 36.

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-01: Измер. m/1 = 5198,9; m/3 измер. = 1733,8; m/4 измер. = 1300,6; m/5 измер. = 1040,7

Пример 36

N{эпсилон-320}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксигептадеканоиламино)бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]-[Leu301, Arg309, Glu312, Lys320]-P-ЛНП-(293-332)-пептид



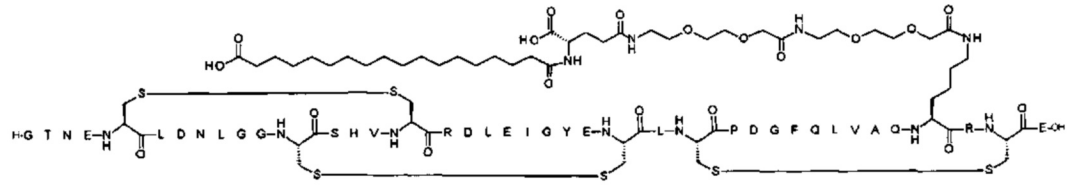
Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 37.

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-01: m/3 измер. = 1720,4; m/4 измер. = 1290,3; m/5 измер. = 1032,5; Масса расч. = 5158,8

Пример 37

N{эпсилон-329}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксигептадеканоиламино)бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]-[Leu301, Arg309, Glu312, Lys329]-P-ЛНП-(293-332)-пептид



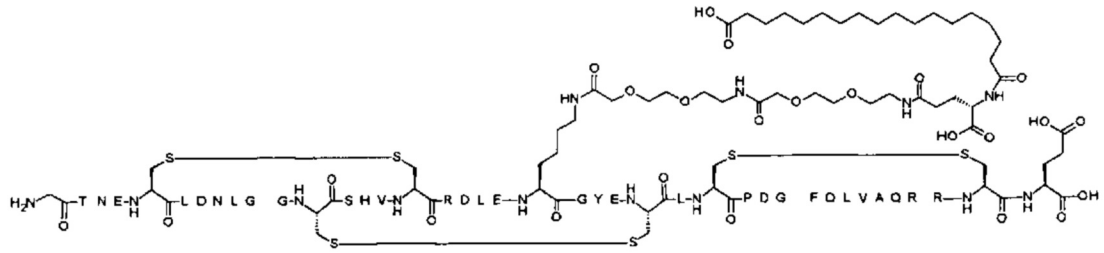
Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 38.

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-029: Измер. m/2 = 2550,7; m/3 измер. = 1700,8; m/4 измер. = 1275,9; Масса расч. = 5099,8; Масса изм. = 5100,5

Пример 38

N{эпсилон-313}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксигептадеканоиламино)бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]-[Leu301, Arg309, Glu312, Lys313]-P-ЛНР-(293-332)-пептид



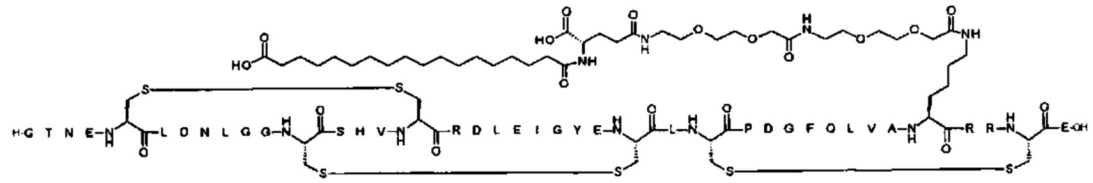
Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 39.

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-01: Измер. m/1 = 5143,0; m/4 измер. = 1286,0; m/5 измер. = 1029,0; расч. m/1 = 5142,8

Пример 39

N{эпсилон-328}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксигептадеканоиламино)бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]-[Leu301, Arg309, Glu312, Lys328]-P-ЛНП-(293-332)-пептид



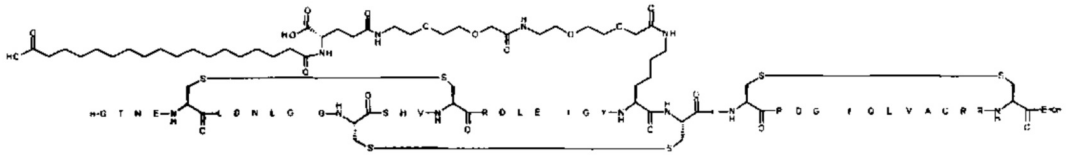
Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 40.

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-029: Измер. m/2 = 2564,7; m/3 измер. = 1710,2; m/4 измер. = 1282,9; Измер. 5127,8; Масса расч. = 5128,5

Пример 40

N{эпсилон-316}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксигептадеканоиламино)бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]-[Leu301, Arg309, Glu312, Lys316]-P-ЛНП-(293-332)-пептид



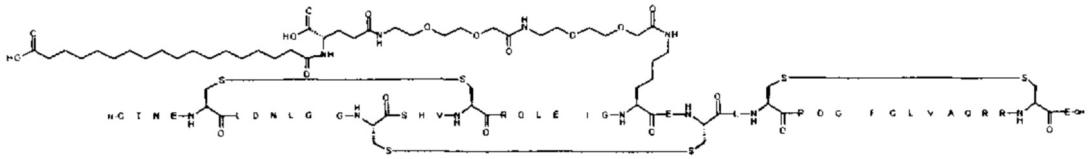
Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 41.

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-01: m/3 измер. = 1709,7; m/4 измер. = 1282,3; m/5 измер. = 1026,1; Масса расч. = 5126,8

Пример 41

N{эпсилон-315}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксигептадеканоиламино)бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]-[Leu301, Arg309, Glu312, Lys315]-P-ЛНП-(293-332)-пептид



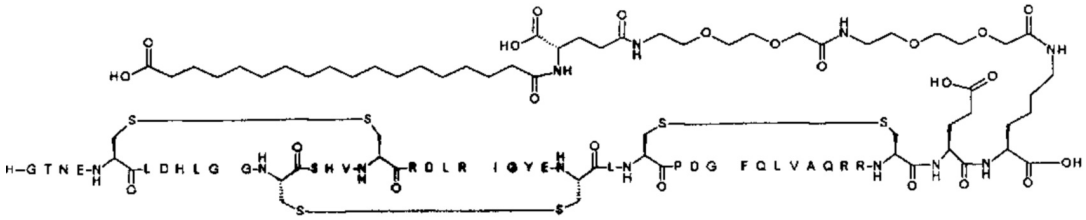
Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 42.

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-01: m/3 измер. = 1698,3; m/4 измер. = 1273,8; m/5 измер. = 1019,3; расч. m/1 = 5092,8

Пример 42

N{Альфа}([His300, Leu301, Arg309, Arg312]-P-ЛНП-(293-332)-пептидил)-N{эпсилон}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксигептадеканоиламино)бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]Lys



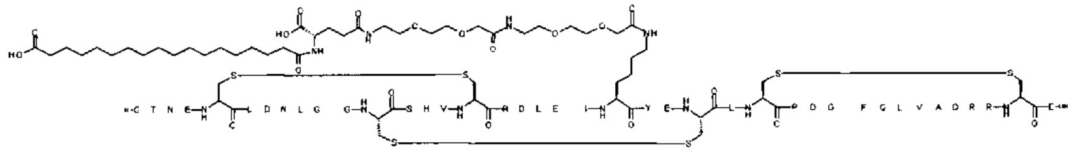
Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 43.

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-01: Измер. m/1 = 5306,3; m/3 измер. = 1768,7; m/4 измер. = 1327,1; m/5 измер. = 1061,7

Пример 43

N{эпсилон-314}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксигептадеканоиламино)бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]-[Leu301, Arg309, Glu312, Lys314]-P-ЛНП-(293-332)-пептид



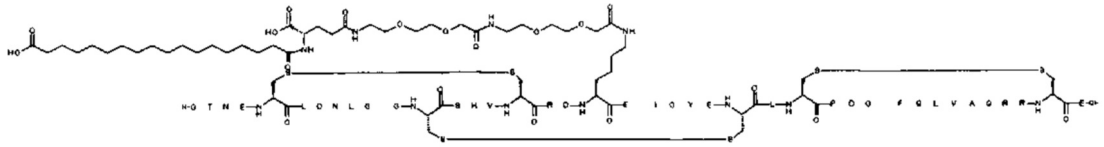
Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 44.

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-01: m/4 измер. = 1300,2; m/5 измер. = 1040,2; Масса расч. = 5198,9

Пример 44

N{эпсилон-311}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксигептадеканоиламино)бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]-[Leu301, Arg309, Lys311, Glu312]-P-ЛНП-(293-332)-пептид



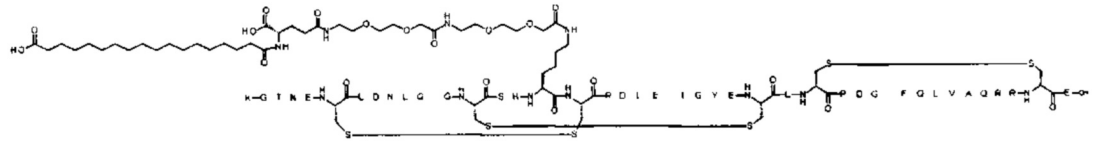
Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 45.

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-01: m/3 измер. = 1714,9; m/4 измер. = 1286,2; m/5 измер. = 1029,2; Масса расч. = 5142,8

Пример 45

N{эпсилон-307}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксигептадеканоиламино)бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]-[Leu301, Lys307, Arg309, Glu312]-P-ЛНП-(293-332)-пептид



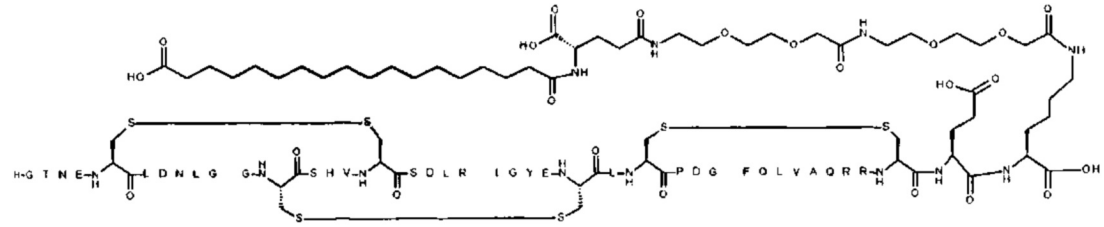
Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 46.

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-01: m/3 измер. = 1919,8; m/4 измер. = 1290,1; m/5 измер. = 1032,3; Масса расч. = 5156,8

Пример 46

N{Альфа}([Leu301, Ser309, Arg312]-P-ЛНП-(293-332)-пептидил)-M{эпсилон}[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксигептадеканоиламино)бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]Lys



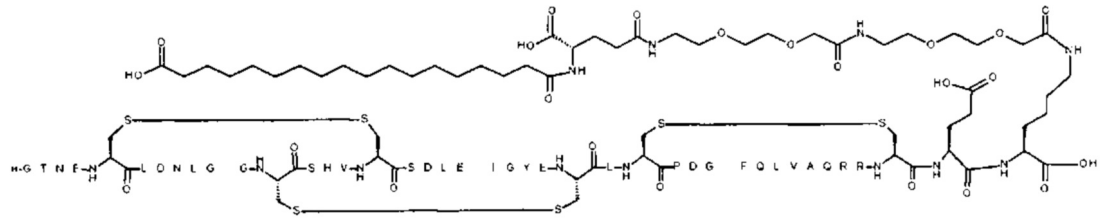
Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 47.

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-01: m/3 измер. = 1738,8; m/4 измер. = 1304,1; m/5 измер. = 1043,5; Масса изм. = 5214,3

Пример 47

N{Альфа}([Leu301, Ser309, Glu312]-P-ЛНП-(293-332)-пептидил)-N{эпсилон}[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксигептадеканоиламино)бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]Lys



Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 48.

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-01: Измер. m/1 = 5187,2; m/3 измер. = 1729,7; m/4 измер. = 1297,2; m/5 измер. = 1038,4; расч. m/1 = 5186,8

Пример 48

Ala299, Leu301, Ile307, Arg309, Lys310]-P-ЛНП-(293-332)-пептид

Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 2.

Соединение получали общим способом A

ЖХ-МС-01: m/3 измер. = 1465,3; m/4 измер. = 1099,3; m/5 измер. = 879,6; расч. = 4391,0

Пример 49

[Leu301, Arg309]-P-ЛНП-(293-332)-пептид

Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 3.

Соединение получали общим способом A.

ЖХ-МС-01: m/3 измер. = 1470,3; m/4 измер. = 1103,0; m/5 измер. = 882,6; расч. = 4407,9

Пример 50

[Leu301, Arg309, Glu312]-P-ЛНП-(293-332)-пептид

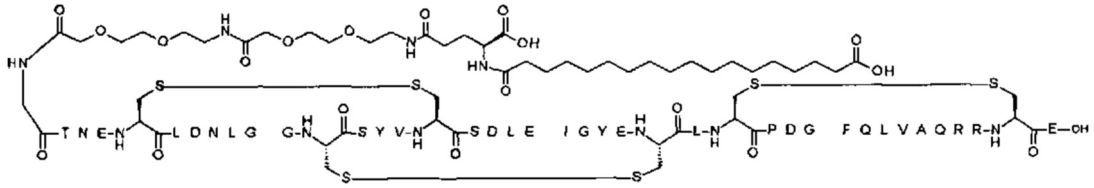
Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 6.

Соединение получали общим способом A.

ЖХ-МС-01: m/3 измер. = 1471,3; m/4 измер. = 1103,7; m/5 измер. = 883,2; расч. = 4411,9

Пример 51

N{293}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксигептадеканоиламино) бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]-[Leu301, Tyr306, Ser309, Glu312]-P-ЛНП-(293-332)-пептид



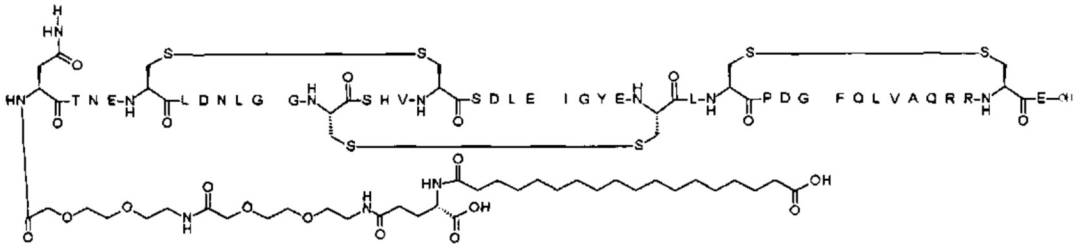
Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 49.

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-029: m/3 измер. = 1695,8; Масса расч. = 5085,1

Пример 52

N{Альфа-293}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксигептадеканоиламино) бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]-[Asn293, Leu301, Ser309, Glu312]-P-ЛНП-(293-332)-пептид



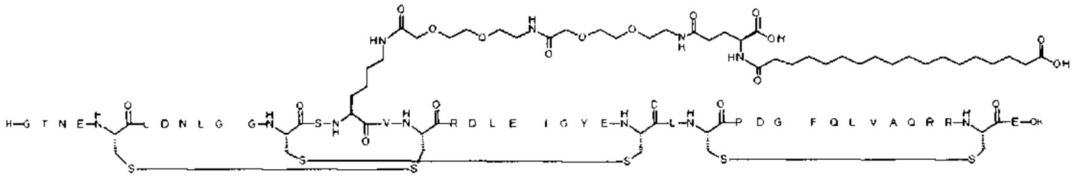
Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 50.

ЖХ-МС29: m/3 измер. = 1706,1, Масса расч.=5115,7

Соединение получали общим способом B

Пример 53

N{эпсилон-306}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксигептадеканоиламино)бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси] этокси]ацетил]-[Leu301, Lys306, Arg309, Glu312]-P-ЛНП-(293-332)-пептид



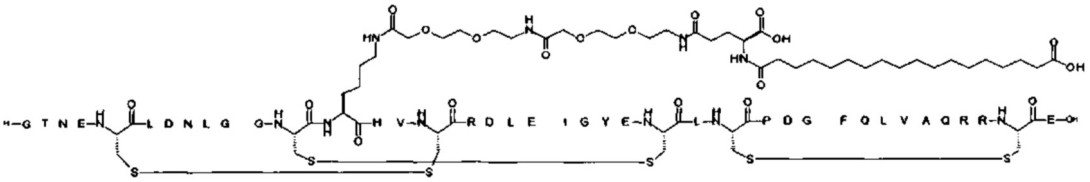
Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 51.

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-01: m/3 измер. = 1707,0; m/4 измер. = 1280,3; m/5 измер. = 1024,4; Масса расч. = 5118,8

Пример 54

N{эпсилон-305}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксигептадеканоиламино)бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси] этокси]ацетил]-[Leu301, Lys305, Arg309, Glu312]-P-ЛНП-(293-332)-пептид



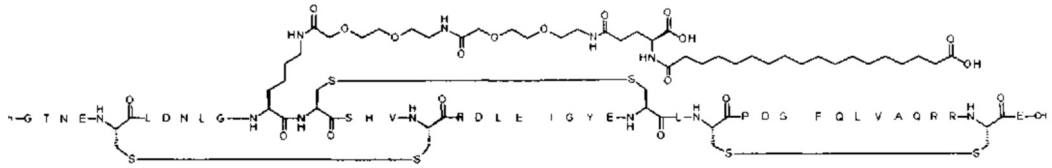
Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 52.

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-01: m/3 измер. = 1723,8; m/4 измер. = 1292,8; m/5 измер. = 1034,4; Масса расч. = 5168,8

Пример 55

N{эпсилон-303}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксигептадеканоиламино)бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси] этокси]ацетил]-[Leu301, Lys303, Arg309, Glu312]-P-ЛНП-(293-332)-пептид



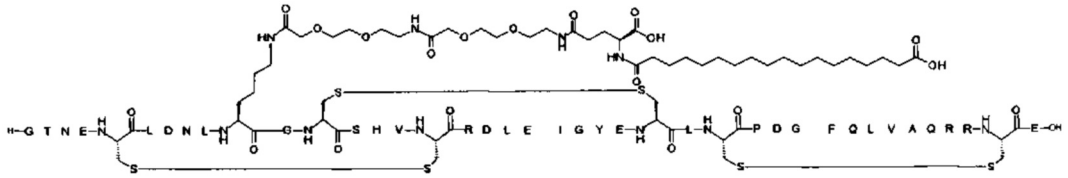
Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 53.

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-01: m/3 измер. = 1733,7; m/4 измер. = 1300,3; m/5 измер. = 1040,5; Масса расч. = 5198,9

Пример 56

N{эпсилон-302}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксигептадеканоиламино)бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]-[Leu301, Lys302, Arg309, Glu312]-P-ЛНП-(293-332)-пептид



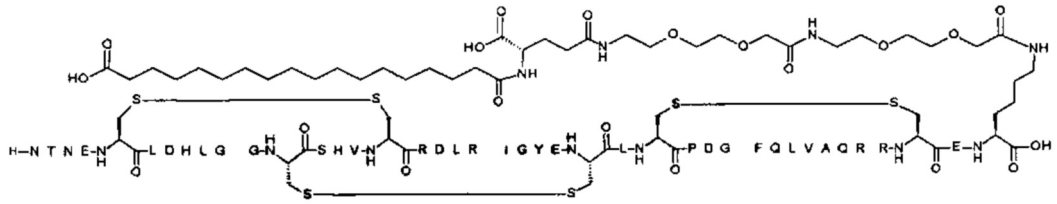
Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 54.

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-01: m/3 измер. = 1733,7; m/4 измер. = 1300,3; m/5 измер. = 1040,5; Масса расч. = 5198,9

Пример 57

N{Альфа}([Asn293, His300, Leu301, Arg309, Arg312]-P-ЛНП-(293-332)-пептидил)-N{эпсилон}[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксигептадеканоиламино)бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]Lys;



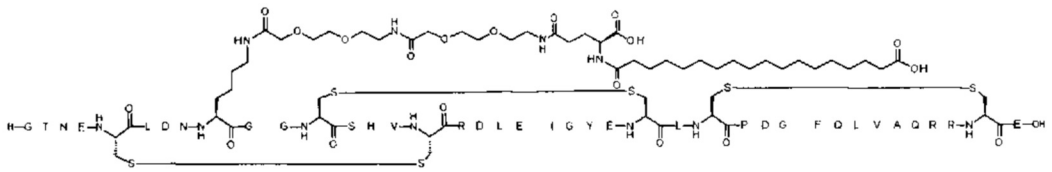
Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 55.

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-01: m/4 измер. = 1341,5; m/5 измер. = 1073,3; Масса расч. = 5363

Пример 58

N{эпсилон-301}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(45)-4-карбокси-4-(17-карбоксигептадеканоил-амино)бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]-[Lys301,Arg309,Glu312]-P-ЛНП-(293-332)-пептид



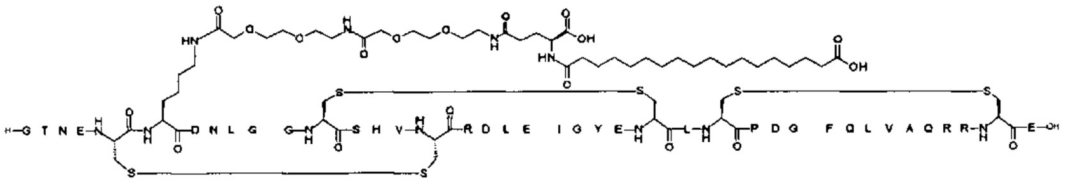
Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 56.

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-01: m/3 измер. = 1715,2; m/4 измер. = 1286,6; m/5 измер. = 1029,5; Масса расч. = 5142,8

Пример 59

N{эпсилон-298}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксигептадеканоиламино)бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]-[Lys298,Leu301,Arg309,Glu312]-P-ЛНП-(293-332)-пептид



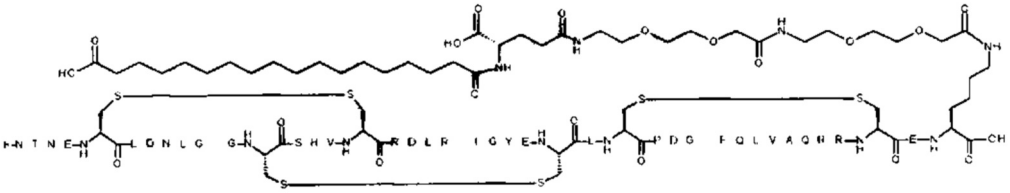
Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 57.

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-01: m/3 измер. = 1715,1; m/4 измер. = 1286,3; m/5 измер. = 1029,3; расч. m/z= 5142,8

Пример 60

N{Альфа}([Asn293,Leu301,Arg309,Arg312]-P-ЛНП-(293-332)-пептидил)-N{эпсилон}[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксигептадеканоил-амино)бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]Lys



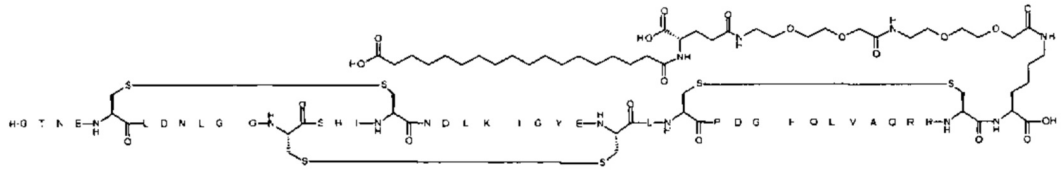
Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 58.

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-01: m/3 измер. = 1780,7; m/4 измер. = 1335,5; m/5 измер. = 1068,4; Масса расч. = 5340,1

Пример 61

N{эпсилон-332}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксигептадеканоил-амино)бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]-[Leu301,Ile307,Lys332]-P-ЛНП-(293-332)-пептид



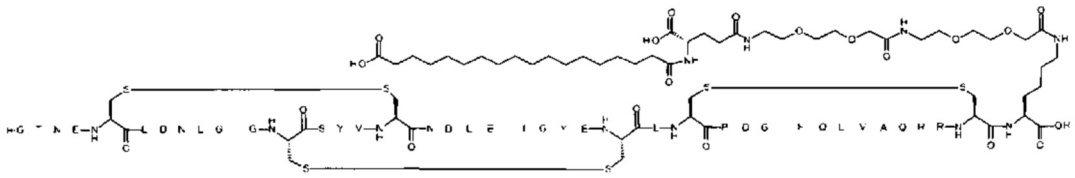
Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 59.

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-01: m/3 измер. = 1700,0; m/4 измер. = 1275,1; m/5 измер. = 1020,3; Масса расч. = 5097,8

Пример 62

N{эпсилон-332}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(48)-4-карбокси-4-(17-карбоксигептадеканоил-амино)бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]-[Leu301,Tyr306,Glu312,Lys332]-P-ЛНП-(293-332)-пептид;



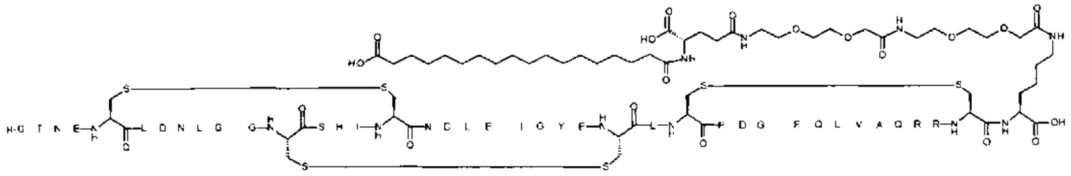
Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 60.

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-01: m/3 измер. = 1704,3; m/4 измер. = 1278,5; m/5 измер. = 1030,4; расч. m/z= 5110,8

Пример 63

N{эпсилон-332}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксигептадеканоил-амино)бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]-[Leu301,Ile307,Glu312,Lys332]-P-ЛНП-(293-332)-пептид



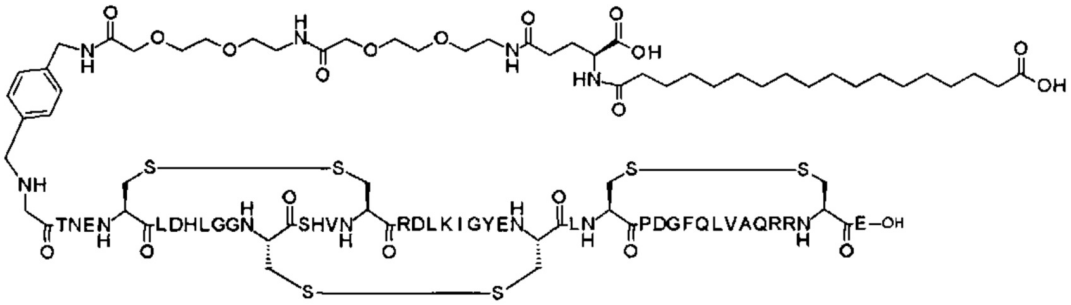
Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 61.

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-01: m/3 измер. = 1700,3; m/4 измер. = 1275,2; m/5 измер. = Масса расч. = 5098,8

Пример 64

N{293}-[4-[[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксигептадеканоиламино)-бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]метил]-фенил]метил-[His300,Leu301,Arg309]-P-ЛНП-(293-332)-пептид



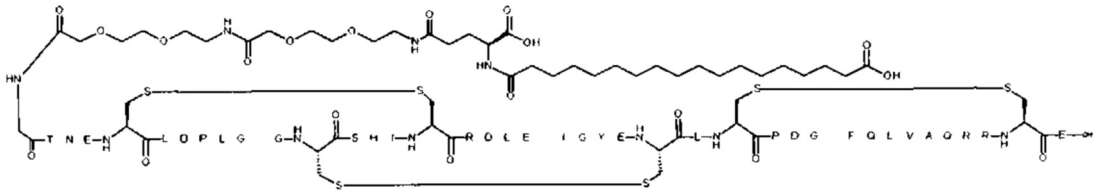
Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 62.

Соединение получали общим способом A + C

ЖХ-МС-01: m/3 измер. = 1757,1; m/4 измер. = 1318,1; m/5 измер. = 1054,2; Масса расч. = 5269,0

Пример 65

N{293}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксигептадеканоиламино)-бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]-[Pro300,Leu301,Ile307,Arg309,Glu312]-P-ЛНП-(293-332)-пептид



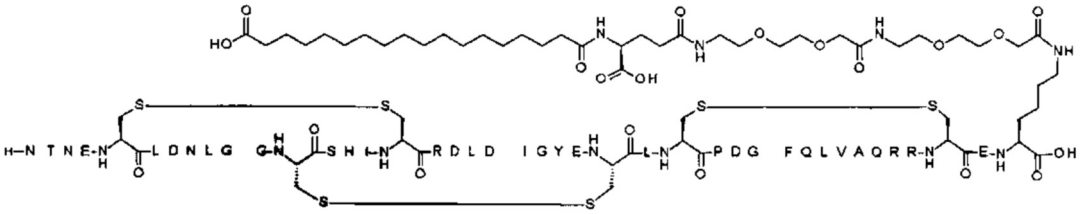
Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 5.

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-029: m/3 измер. = 1709,1; Масса расч. = 5124,8

Пример 66

N{Альфа}([Asn293,Leu301,Ile307,Arg309,Asp312]-P-ЛНП-(293-332)-пептидил)-N{эпсилон}[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксигептадеканоил-амино)бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]Lys



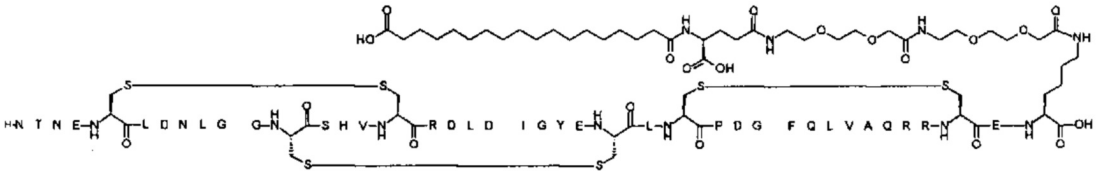
Этот пептид представляет собой SEQ ID NO.: 9.

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-029: m/4 измер. = 1329,1; Масса расч. = 5313,0

Пример 67

N{Альфа}([Asn293,Leu301,Arg309,Asp312]-P-ЛНП-(293-332)-пептидил)-N{эпсилон}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксигептадеканоиламино)бутаноил]-амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]Lys



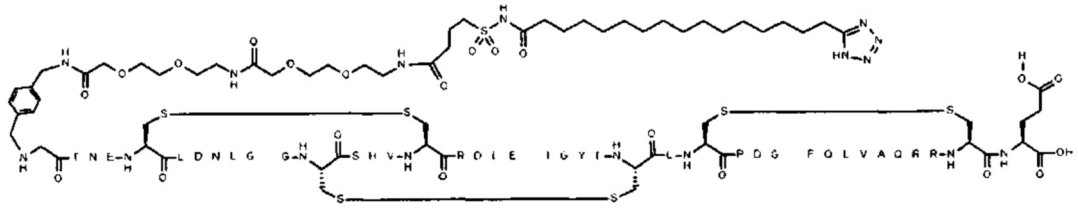
Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 10.

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-029: m/4 измер. = 1325,6; Масса расч. = 5299,0

Пример 68

N{293}-[4-[[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[4-[16-(1H-тетразол-5-ил)гексадеканоилсульфамоил]-бутаноиламино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]метил]-фенил]метил-[Leu301,Arg309,Glu312]-P-ЛНП-(293-332)-пептид



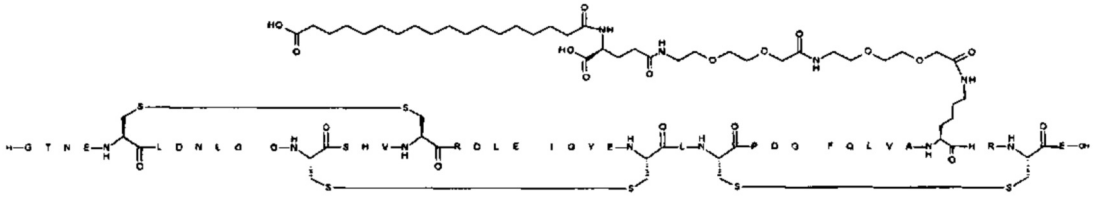
Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 6.

Соединение получали общим способом C

ЖХ-МС-029: m/4 измер. = 1320,1; Масса расч. = 5276,98

Пример 69

N{эпсилон-328}-[2-[2-[2-[[2-{2-{2-[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксигептадеканоил-амино)бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]-[Leu301,Arg309,Glu312,Lys328,His329]-P-ЛНП-(293-332)-пептид



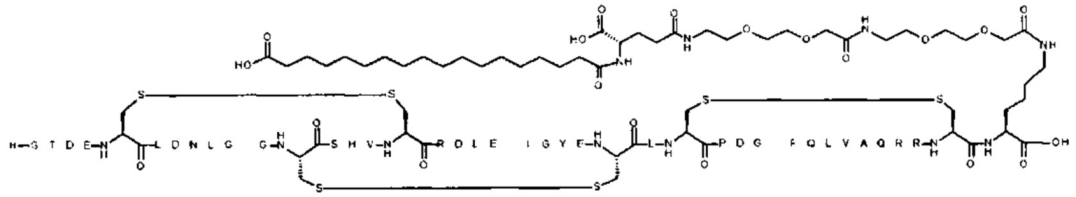
Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 6.

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-029: m/4 измер. = 1278,09; Масса расч. = 5108,8 Да

Пример 70

N{эпсилон-332}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксигептадеканоил-амино)бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]-[Asp295,Leu301,Arg309,Glu312,Lys332]-P-ЛНП-(293-332)-пептид



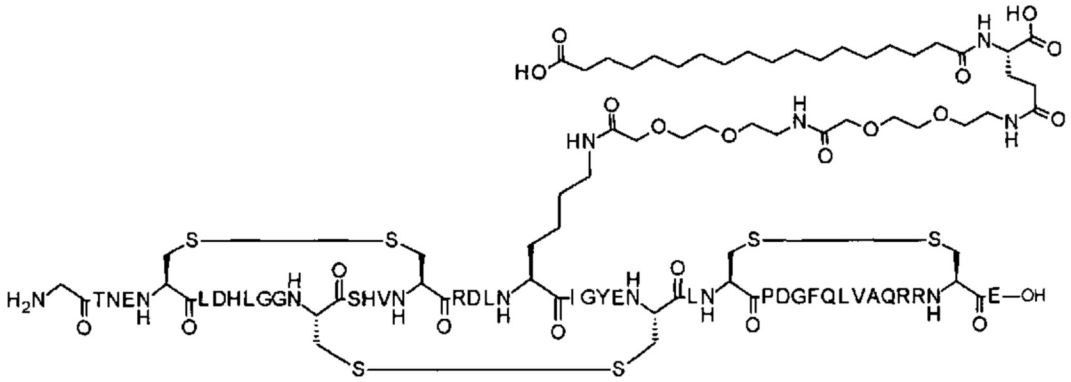
Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 20.

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-029: m/4 измер. = 1282,84; Масса расч. = 5127,8 Да

Пример 71

N{эпсилон-312}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксигептадеканоил-амино)бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]-[His300,Leu301,Arg309]-P-ЛНП-(293-332)-пептид



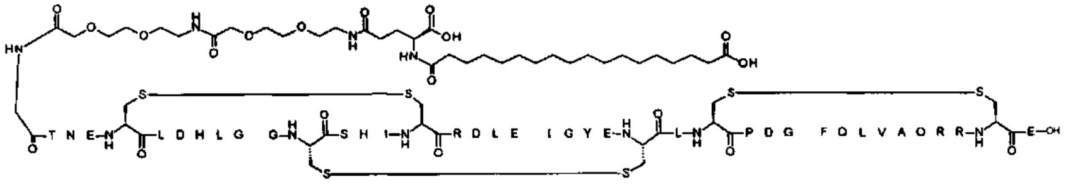
Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 62.

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-01: m/3 измер. = 1717,5 m/4 измер. = 1288,2 m/5 измер. = 1030,4; Масса расч. = 5149,9

Пример 72

N{293}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(43)-4-карбокси-4-(17-карбоксигептадеканоиламино)-бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]-[His300,Leu301,Ile307,Arg309,Glu312]-P-ЛНП-(293-332)-пептид



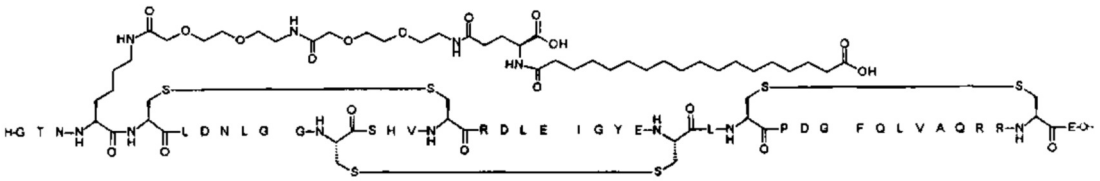
Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 26.

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-029: m/4 измер. = 1292,1; Масса расч. = 5164,8 Да

Пример 73

N{эпсилон-296}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксигептадеканоил-амино)бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]-[Lys296,Leu301,Arg309,Glu312]-P-ЛНП-(293-332)-пептид



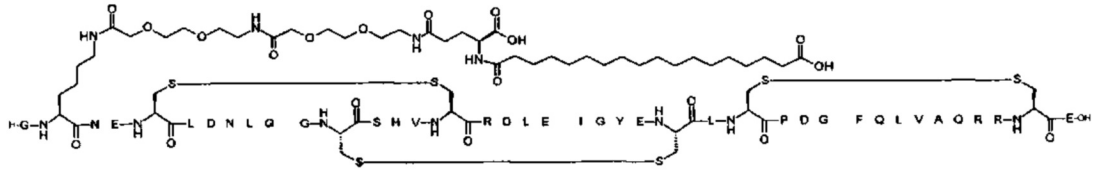
Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 63.

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-01: m/3 измер. = 1709,9; m/4 измер. = 1282,6; Масса расч. 5126,8

Пример 74

N{эпсилон-294}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксигептадеканоил-амино)бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]-[Lys294,Leu301,Arg309,Glu312]-P-ЛНП-(293-332)-пептид



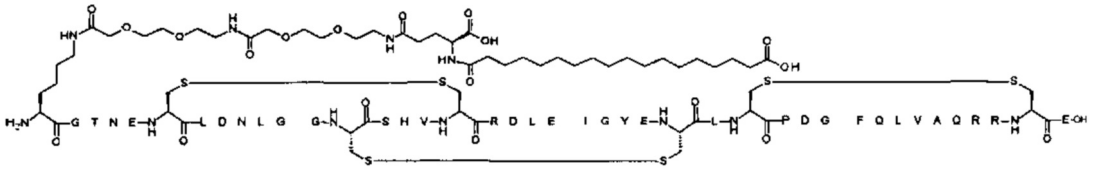
Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 64.

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-01: m/4 измер. = 1289,7; m/5 измер. = 1031,7; Масса расч. = 5154,8

Пример 75

N{эпсилон}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксигептадеканоил-амино) бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]Lys-[Leu301,Arg309,Glu312]-P-ЛНП-(293-332)-пептид



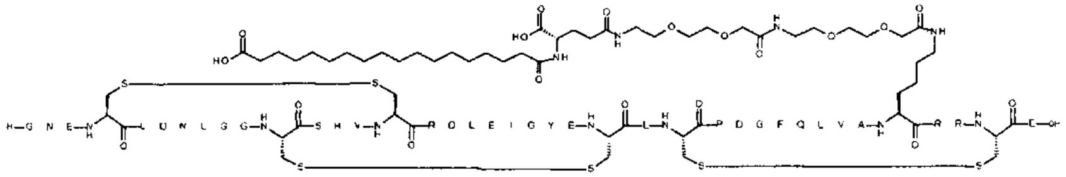
Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 65.

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-01: m/3 измер. = 1752,9; m/4 измер. = 1315,0; Масса расч. = 5255,9

Пример 76

N{эпсилон-328}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксигептадеканоил-амино)бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]-[Gly294,Leu301,Arg309,Glu312,Lys328],des-Gly293-P-ЛНП-(294-332)-пептид



Этот пептид представляет собой SEQ ID NO.: 66.

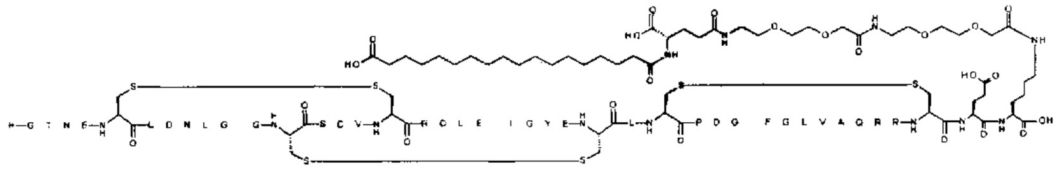
Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-01: m/3 измер. = 1676,6 m/4 измер. = 1257,7 m/5 измер. = 1006) Масса расч. = 5026,7

Пример 77

N{Альфа}([Leu301,Asp306,Arg309,Glu312,Gly324]-P-ЛНП-(293-332)-пептидил)-N{эпсилон}[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксигептадеканоиламино)-

бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]Lys



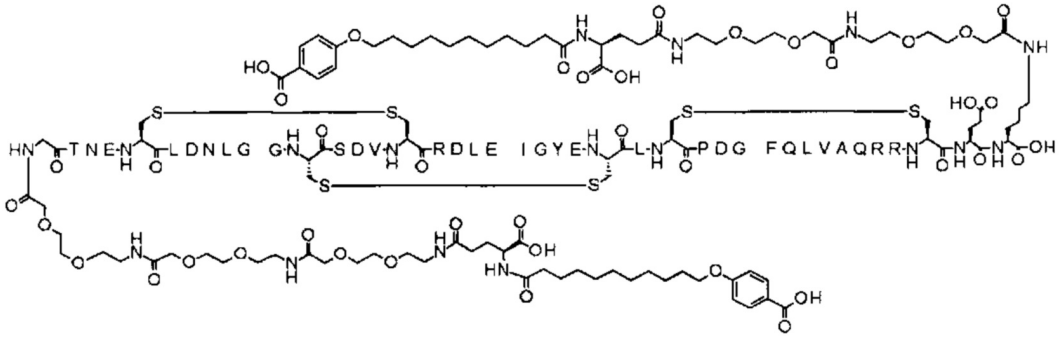
Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 67.

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-029: m/3 измер. = 1721,8; Масса расч. = 5162,8 Да

Пример 78

N{Альфа}(N{293}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбокси-фенокси)ундеканоиламино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]-этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]-[Leu301,Asp306,Arg309,Glu312]-P-ЛНП-(293-332)-пептидил)-N{эпсилон}[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбоксифенокси) ундеканоиламино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]Lys



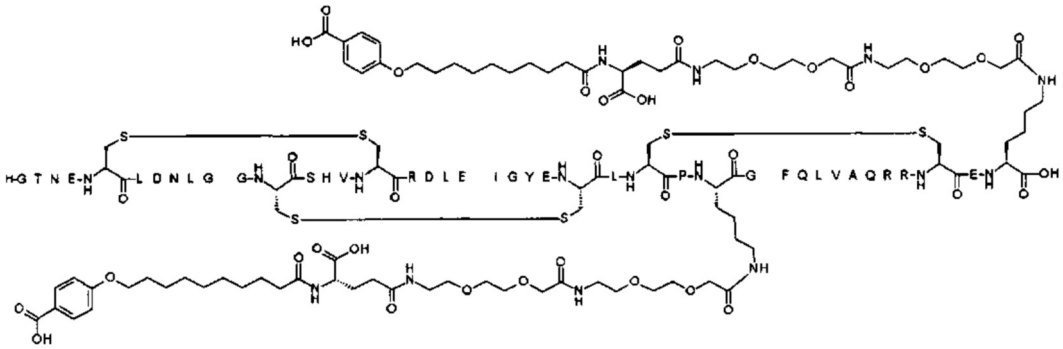
Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 68.

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-029: m/3 измер. = 1528,7; Масса расч. = 6110,8 Да

Пример 79

N{Альфа}(N{эпсилон-321}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[10-(4-карбокси-фенокси)деканоиламино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]-этокси]ацетил]-[Leu301,Arg309,Glu312,Lys321]-P-ЛНП-(293-332)-пептидил)-N{эпсилон}[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[10-(4-карбоксифенокси)деканоил-амино]бутаноил] амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]Lys



Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 17.

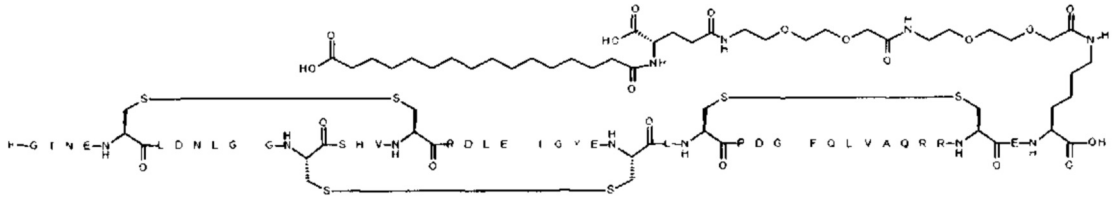
Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-01: m/4 измер. = 1493,9; m/5 измер. = 1195,5; Масса расч. = 5972,7

Пример 80

N{Альфа}([Leu301,Arg309,Glu312]-P-ЛНП-(293-332)-пептидил)-N{эпсилон}[2-[2-[2-

[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-(15-карбоксипентадеканоиламино)бутаноил]-амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]Lys



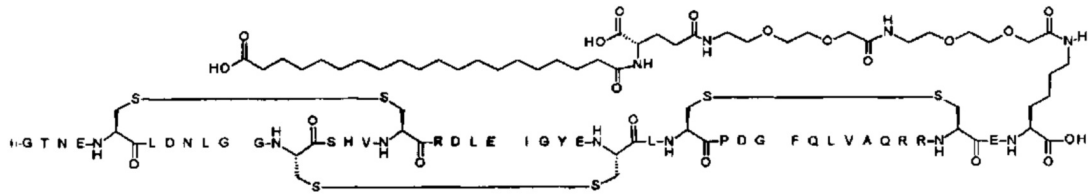
Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 4.

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-01: m/3 измер. = 1743,6; m/4 измер. = 1307,9; m/5 измер. = 1046,4 Масса расч. = 5227,9

Пример 81

N{Альфа}([Leu301,Arg309,Glu312]-P-ЛНП-(293-332)-пептидил)-N{эпсилон}[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-(19-карбоксинонадеканоиламино)бутаноил]-амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]Lys



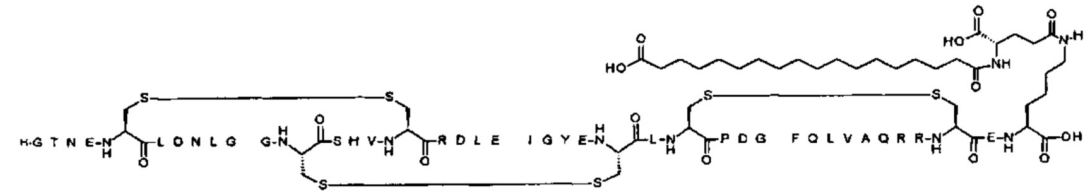
Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 4.

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-01: m/3 измер. = 1762,3; m/4 измер. = 1321,7; m/5 измер. = 1057,8; Масса расч. = 5284,0

Пример 82

N{Альфа}([Leu301,Arg309,Glu312]-P-ЛНП-(293-332)-пептидил)-N{эпсилон}[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксигептадеканоиламино)бутаноил]Lys



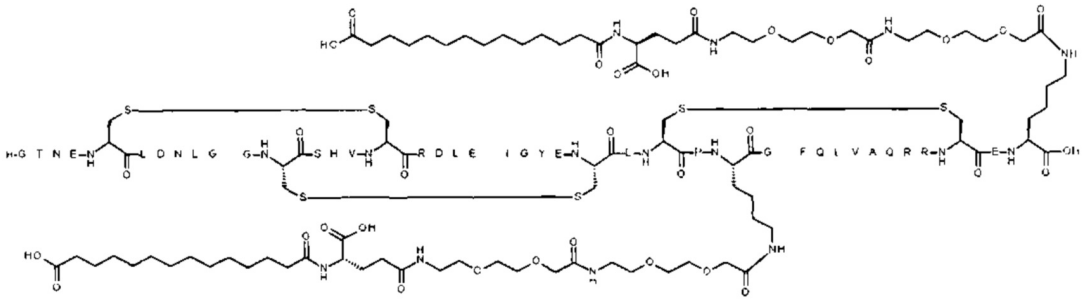
Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 4.

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-01: m/3 измер. = 1656,2; m/4 измер. = 1242,4; m/5 измер. = 994,0; Масса расч. = 4965,6

Пример 83

N{Альфа}(N{эпсилон-321}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-(13-карбокситридеканоиламино)бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]-ацетил]-[Leu301,Arg309,Glu312,Lys321]-P-ЛНП-(293-332)-пептидил)-N{эпсилон}[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-(13-карбокситридеканоиламино)бутаноил]амино]-этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]Lys



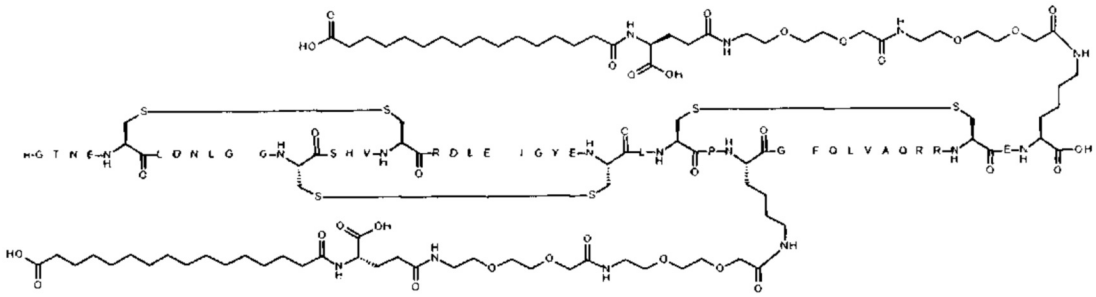
Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 17.

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-01: m/3 измер. = 1958,5; m/4 измер. = 1468,9; m/5 измер. = 1175,3; Масса расч. = 5872,7

Пример 84

N{Альфа}(N{эпсилон-321}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-(15-карбоксипентадеканоиламино)бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]-ацетил]-[Leu301,Arg309,Glu312,Lys321]-P-ЛНП-(293-332)-пептидил)-N{эпсилон}[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-(15-карбоксипентадеканоиламино)бутаноил]-амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]Lys



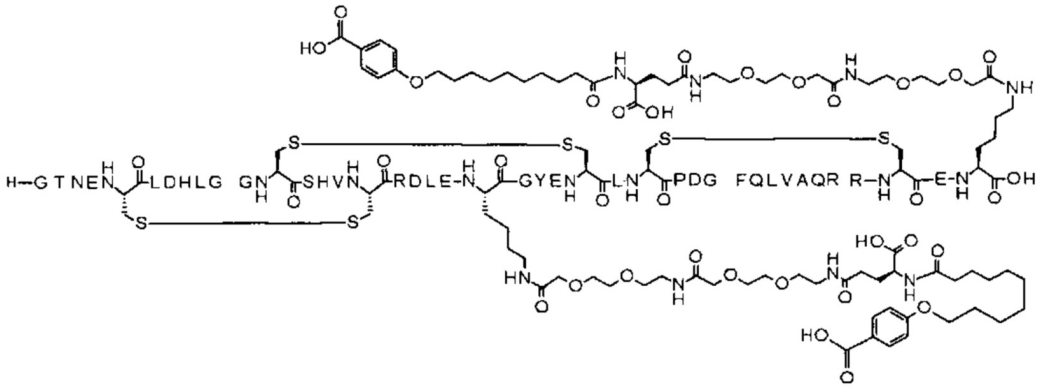
Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 17

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-01: m/4 измер. = 1483,1; m/5 измер. = 1186,6; Масса расч. = 5928,8

Пример 85

N{Альфа}(N{эпсилон-313}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[10-(4-карбоксифенокси)деканоиламино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]-этокси]ацетил]-[His300,Leu301,Arg309,Glu312,Lys313]-P-ЛНП-(293-332)-пептидил)-N{эпсилон}[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[10-(4-карбоксифенокси)деканоил-амино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]Lys



Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 69.

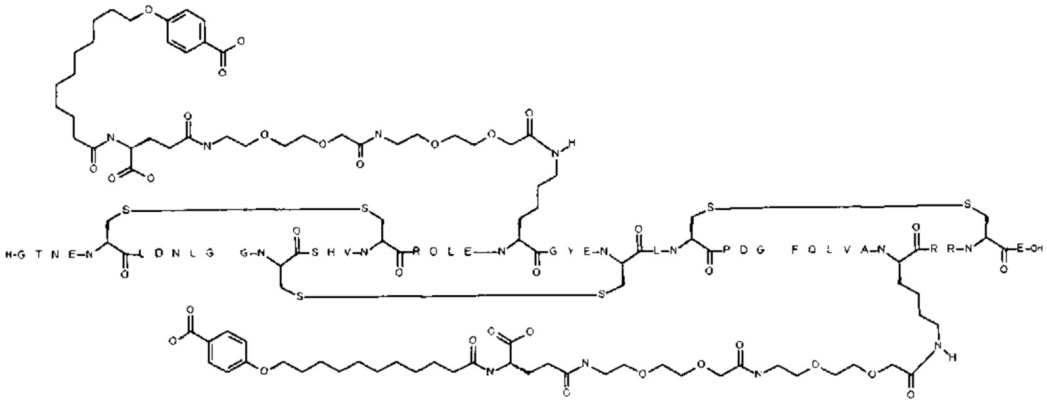
Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-01: m/4 измер. = 1500,1 m/5 измер. = 1200,3 Измер. m/z=1000. Масса расч. =

5997,7

Пример 86

N{эпсилон-313}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбоксифенокси)-ундеканоиламино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]-ацетил],N{эпсилон-328}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбокси-фенокси) ундеканоиламино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]-этокси]ацетил]-[Leu301,Arg309,Glu312,Lys313,Lys328]-P-ЛНП-(293-332)-пептид



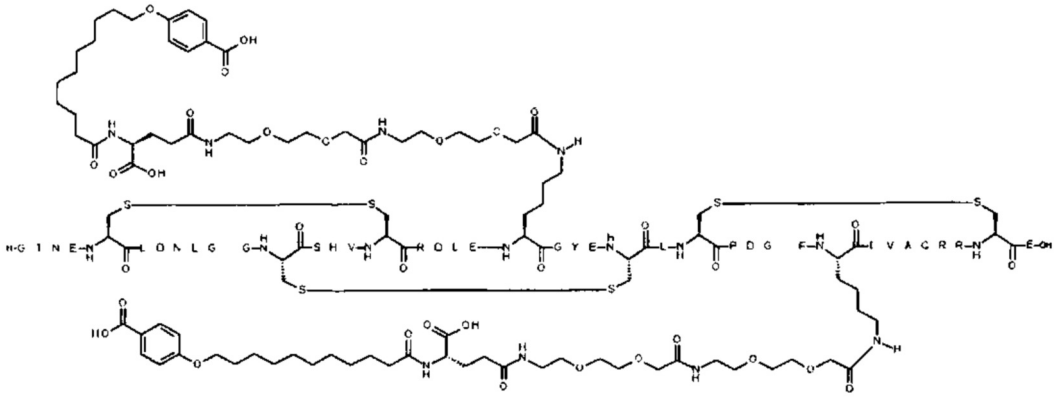
Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 70.

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-01: m/4 измер. = 1469,3; m/5 измер. = 1175,8; Масса расч. = 5874,6

Пример 87

N{эпсилон-313}-[2-{2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбоксифенокси)-ундеканоиламино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]-ацетил],N{эпсилон-324}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбокси-фенокси) ундеканоиламино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]-этокси]ацетил]-[Leu301,Arg309,Glu312,Lys313,Lys324]-P-ЛНП-(293-332)-пептид



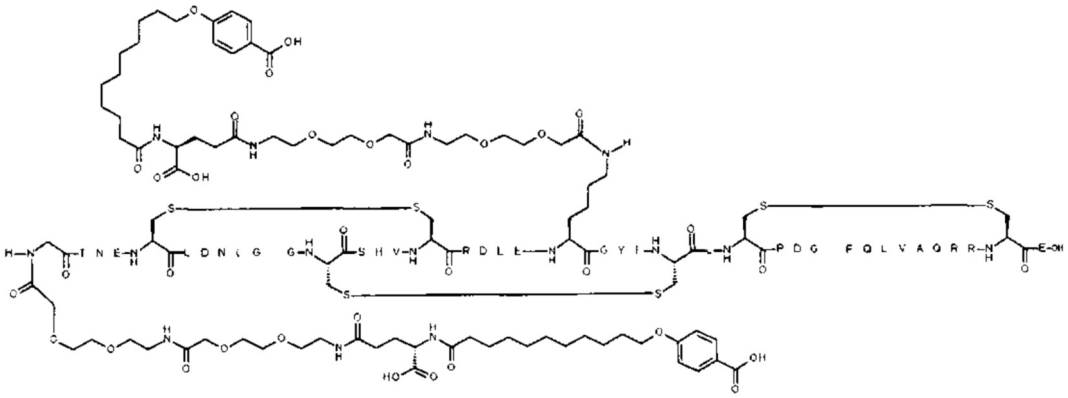
Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 71.

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-01: m/4 измер. = 1469,1; m/5 измер. = 1175,5; Масса расч. = 5874,6

Пример 88

N{293}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбоксифенокси)ундеканоил-амино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил],-N{эпсилон-313}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(45)-4-карбокси-4-[11-(4-карбоксифенокси)-ундеканоиламино] бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]-ацетил]-[Leu301,Arg309,Glu312,Lys313]-P-ЛНП-(293-332)-пептид



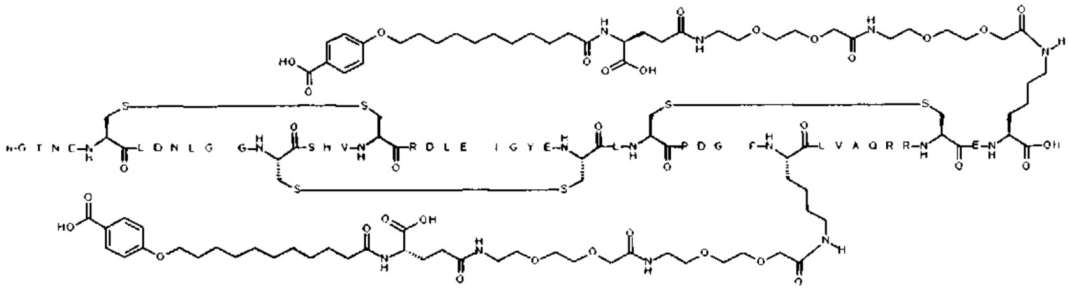
Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 39.

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-01: m/4 измер. = 1469,3; m/5 измер. = 1175,7; Масса расч. = 5874,5

Пример 89

N{Альфа}(N{эпсилон-324}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбокси-фенокси)ундеканоиламино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]-этокси]ацетил]-[Leu301,Arg309,Glu312,Lys324]-P-ЛНП-(293-332)-пептидил)-N-{эпсилон}[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбоксифенокси)ундеканоил-амино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]Lys



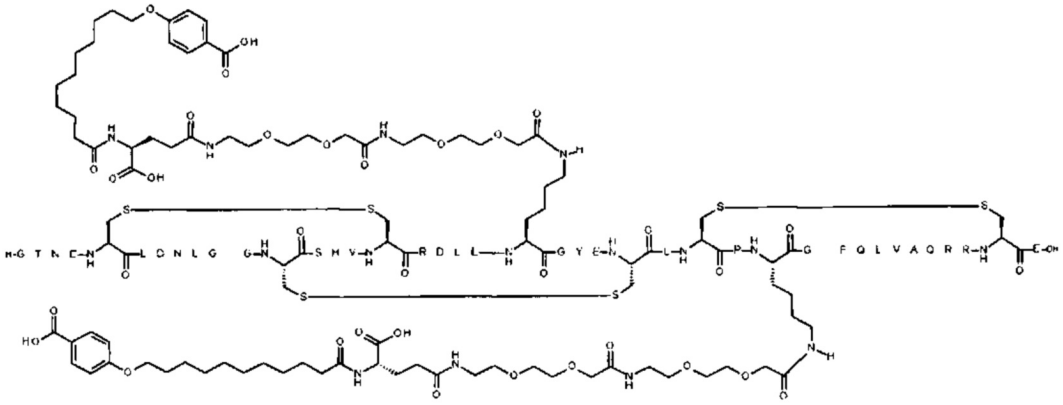
Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 72.

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-01: m/4 измер. = 1497,6; m/5 измер. = 1198,3; Масса расч. = 5987,7

Пример 90

N{эпсилон-313}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбоксифенокси)-ундеканоиламино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]-ацетил],N{эпсилон-321}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбокси-фенокси)ундеканоиламино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]-этокси]ацетил]-[Leu301,Arg309,Glu312,Lys313,Lys321]-P-ЛНП-(293-332)-пептид



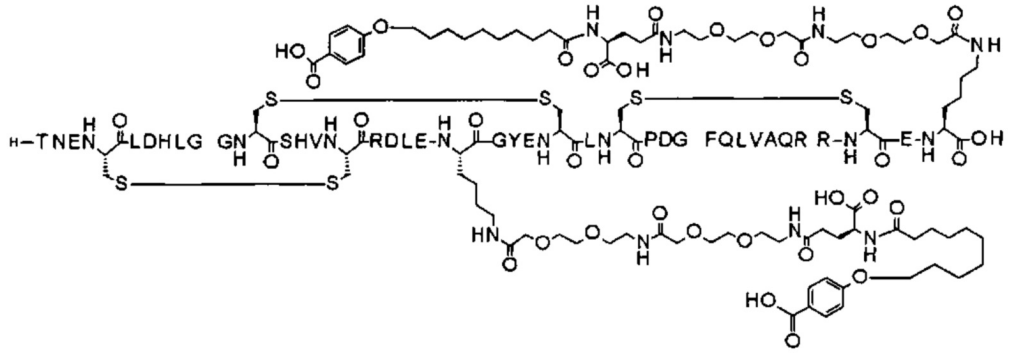
Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 73.

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-01: m/4 измер. = 1472,6; m/5 измер. = 1178,3; Масса расч. = 5887,6

Пример 91

N{Альфа}(N{эпсилон-313}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[10-(4-карбокси-фенокси)деканоиламино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]-этокси]ацетил]-[His300,Leu301,Arg309,Glu312,Lys313],des-Gly293-P-ЛНП-(294-332)-пептидил)-N{эпсилон}[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[10-(4-карбокси-фенокси)деканоиламино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]-этокси]ацетил]Lys



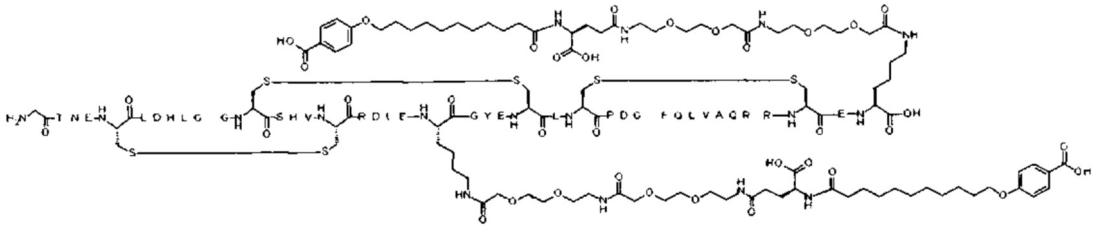
Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 74.

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС: m/3 измер. = 1981, m/4=1486: Рассч. масса = 5940,6

Пример 92

N{Альфа}(N{эпсилон-313}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбокси-фенокси)ундеканоиламино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]-этокси]ацетил]-[His300,Leu301,Arg309,Glu312,Lys313]-P-ЛНП-(293-332)-пептидил)-N{эпсилон}[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбоксифенокси)-ундеканоиламино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]-ацетил]Lys



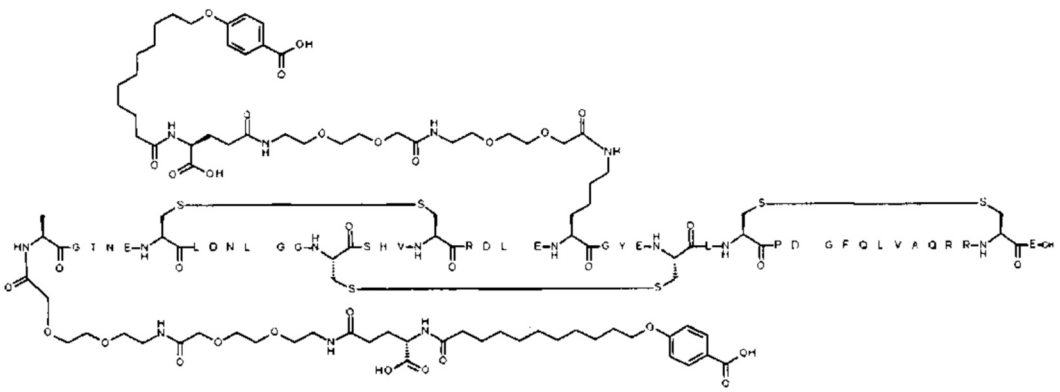
Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 39.

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-01: m/4 измер. = 1507,3 m/5 измер. = 1205,9 Масса расч. = 6025,7

Пример 93

N{292}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбоксифенокси)ундеканоил-амино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил],N-{эпсилон-313}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбоксифенокси)-ундеканоиламино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]-ацетил]-Ala[Leu301,Arg309,Glu312,Lys313]-P-ЛНП-(293-332)-пептид



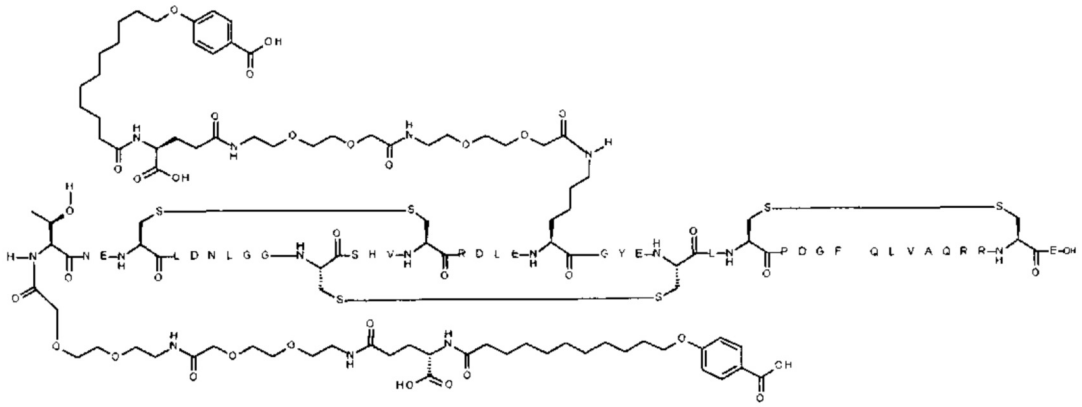
Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 75.

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-01: m/4 измер. = 1487,1; m/5 измер. = 1190,0; Масса расч. = 5945,6

Пример 94

N{294}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбоксифенокси)ундеканоил-амино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил],N-{эпсилон-313}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбоксифенокси)-ундеканоиламино] бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]-ацетил]-[Leu301,Arg309,Glu312,Lys313],des-Gly293-P-ЛНП-(294-332)-пептид



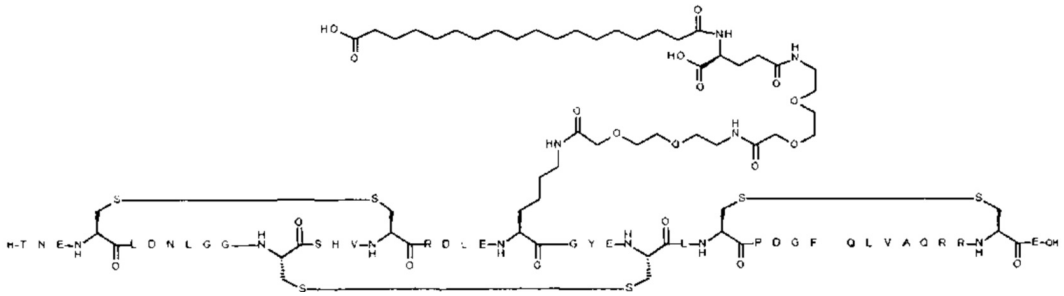
Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 76.

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-01: m/4 измер. = 1455,1; Масса расч. = 5817,5

Пример 95

N{эпсилон-313}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксигептадеканоил-амино)бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]-[Leu301,Arg309,Glu312,Lys313],des-Gly293-P-ЛНП-(294-332)-пептид



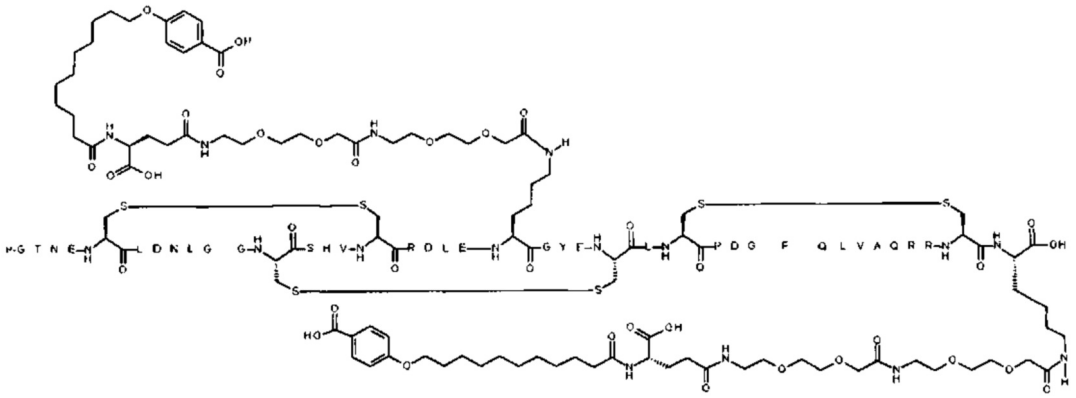
Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 76.

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-01: m/4 измер. = 1272,4; m/5 измер. = 1017,9; Масса расч. = 5085,7

Пример 96

N{эпсилон-313}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбоксифенокси)-ундеканоиламино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]-ацетил],N{эпсилон-332}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбокси-фенокси) ундеканоиламино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]-этокси]ацетил]-[Leu301,Arg309,Glu312,Lys313,Lys332]-P-ЛНП-(293-332)-пептид



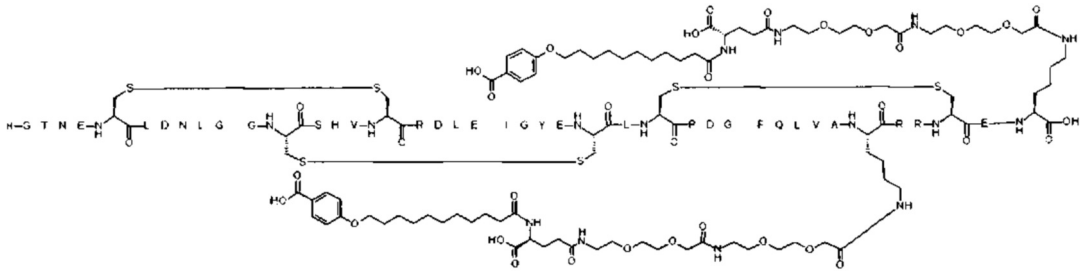
Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 77.

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-01: m/4 измер. = 1469,1; m/5 измер. = 1175,5; Масса расч. = 5873,6

Пример 97

N{Альфа}(N{эпсилон-328}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбокси-фенокси)ундеканоиламино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]-этокси]ацетил]-[Leu301,Arg309,Glu312,Lys328]-P-ЛНП-(293-332)-пептидил)-N-{эпсилон}[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбоксифенокси)ундеканоил-амино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]Lys



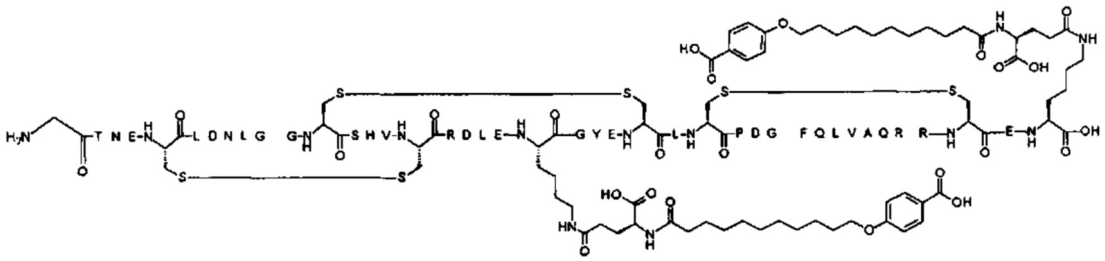
Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 78.

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС28: m/3 измер. = 1996,9; m/4 измер. = 1497,9; Масса расч. = 5987,7

Пример 98

N{Альфа}(N{эпсилон-313}-[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбоксифенокси)ундеканоил-амино]бутаноил]-[Leu301,Arg309,Glu312,Lys313]-P-ЛНП-(293-332)-пептидил)-N{эпсилон}[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбоксифенокси)ундеканоиламино]-бутаноил]Lys



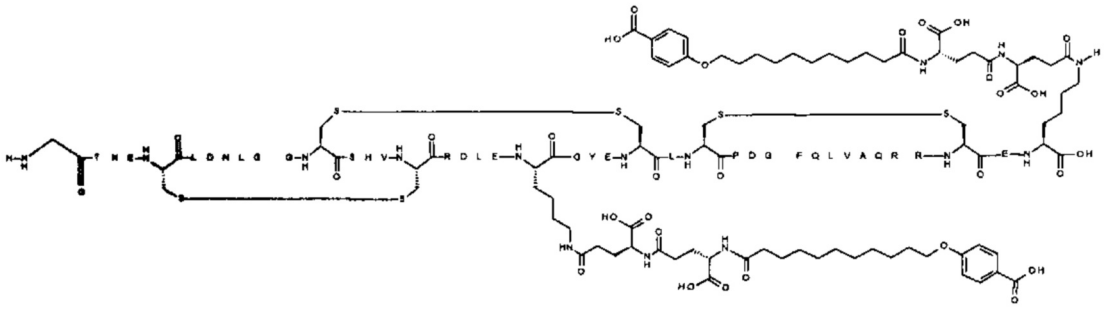
Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 32.

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-01: m/3 измер. = 1808,1; m/4 измер. = 1356,4; m/5 измер. = 1085,3; Масса расч. = 5422,1

Пример 99

N{Альфа}(N{эпсилон-313}-[(4S)-4-карбокси-4-[[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбоксифенокси)ундеканоиламино]бутаноил]амино]бутаноил]-[Leu301,Arg309,Glu312,Lys313]-P-ЛНП-(293-332)-пептидил)-N{эпсилон}[(4S)-4-карбокси-4-[[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбоксифенокси)ундеканоиламино]бутаноил]амино]-бутаноил]Lys



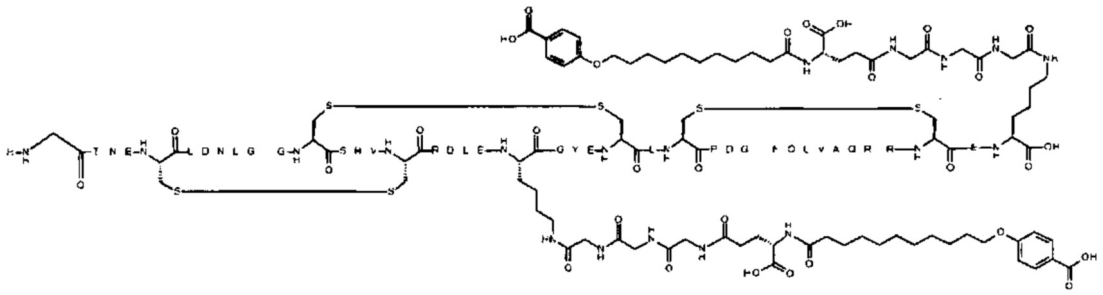
Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 32.

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-01: m/3 измер. = 1894,2; m/4 измер. = 1420,9; m/5 измер. = 1136,9; Масса расч. = 5680,3

Пример 100

N{Альфа}(N{эпсилон-313}-[2-[[2-[[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбоксифенокси)-ундеканоиламино]бутаноил]амино]ацетил]амино]ацетил]амино]ацетил]-[Leu301,Arg309,Glu312,Lys313]-P-ЛНП-(293-332)-пептидил)-N{эпсилон}[2-[[2-[[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбоксифенокси)ундеканоиламино]бутаноил]-амино]ацетил]амино]ацетил]амино]ацетил]Lys



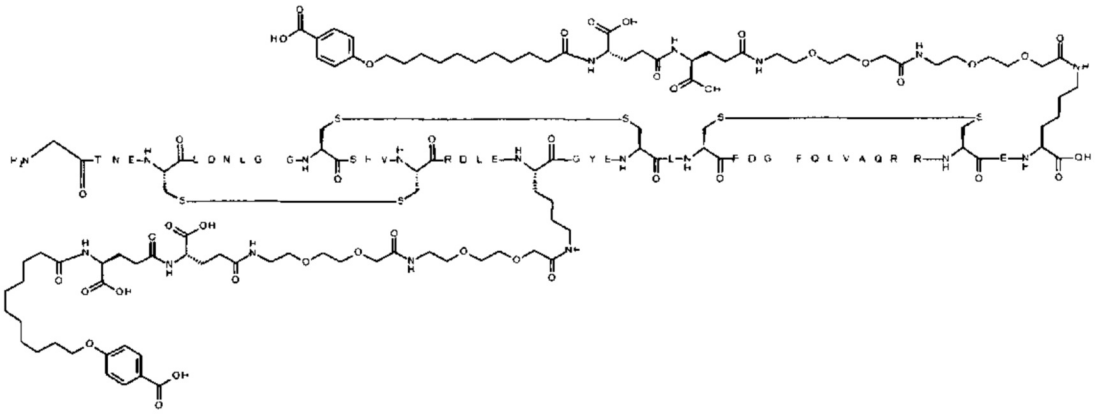
Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 32.

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-01: m/3 измер. = 1922,2; m/4 измер. = 1441,9; m/5 измер. = 1153,7; Масса расч. = 5764,4

Пример 101

N{Альфа}(N{эпсилон-313}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбоксифенокси)ундеканоиламино]бутаноил]амино]бутаноил]амино]-этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]-[Leu301,Arg309,Glu312,Lys313]-P-ЛНП-(293-332)-пептидил)-N{эпсилон}[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбоксифенокси)ундеканоиламино]бутаноил]амино]бутаноил]-амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]Lys



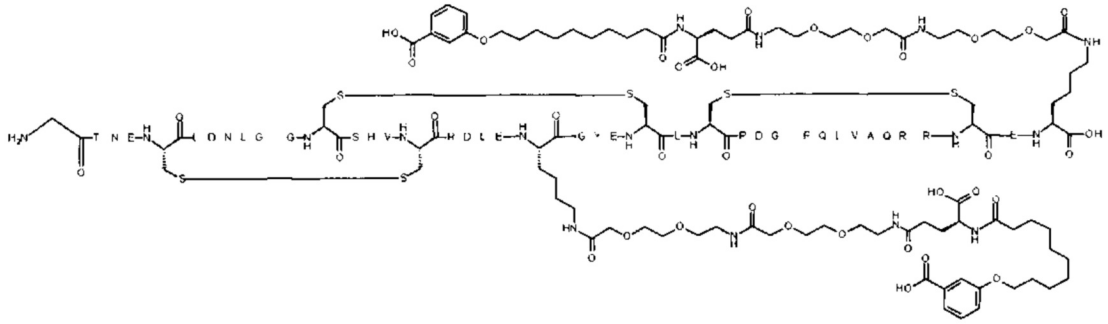
Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 32.

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-01: m/4 измер. = 1566,2; m/5 измер. = 1252,9; Масса расч. = 6260,9

Пример 102

N{Альфа}(N{эпсилон-313}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[10-(3-карбоксифенокси)деканоиламино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]-этокси]ацетил]-[Leu301,Arg309,Glu312,Lys313]-P-ЛНП-(293-332)-пептидил)-N-{эпсилон}[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[10-(3-карбоксифенокси)деканоил-амино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]Lys



Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 32.

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-01: m/4 измер. = 1494,6; m/5=1195,9 Масса расч. = 5974,6

Пример 103

Ala299,Leu301,Ile307,Arg309-P-ЛНП-(293-332)-пептид

Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 79.

Соединение получали общим способом A.

ЖХ-МС-01: Измер. m/2 = 2191,4; m/3 измер. = 1461,0; расч. = 4381,0

Пример 104

Leu301,Arg309,Lys310-P-ЛНП-(293-332)-пептид

Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 80.

Соединение получали общим способом A

ЖХ-МС-01: m/3 измер. = 1475,3; m/4 измер. = 1107,0; расч. = 4424,0

Пример 105

Leu301-P-ЛНП-(293-332)-пептид

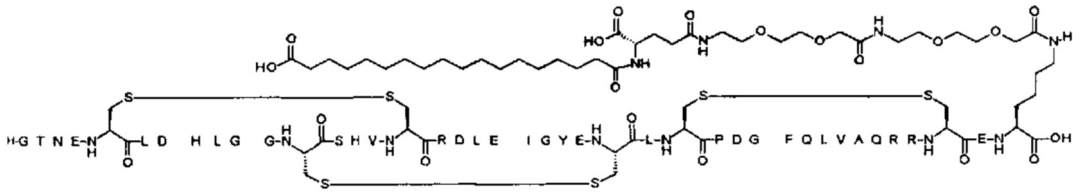
Этот пептид представляет собой SEQ ID NO: 81.

Соединение получали общим способом A

ЖХ-МС-01: m/3 измер. = 1456,3; m/4 измер. = 1217,0; расч. = 4368,9

Пример 106

N{Альфа}([His300,Leu301,Arg309,Glu312]-P-ЛНП-(293-332)-пептидил)-N{эпсилон}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксигептадеканоиламино)бутаноил]-амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]Lys



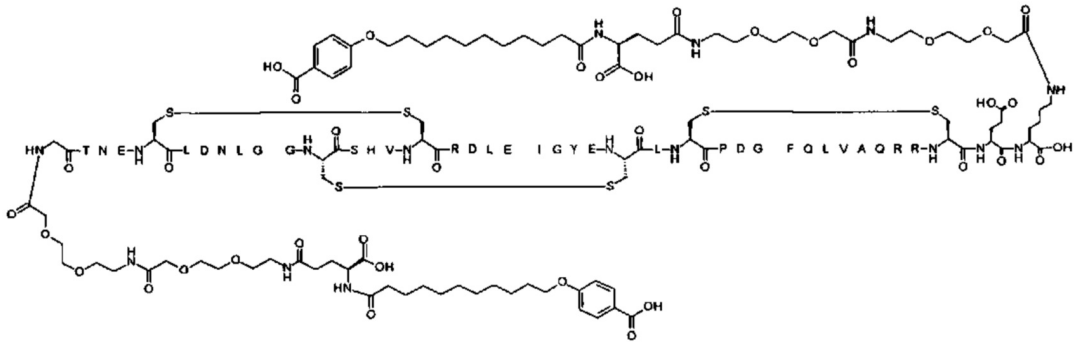
Основная цепь этого пептида представляет собой SEQ ID NO: 82.

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС027: m/3 измер. = 1760,5; m/4 измер. = 1320,6; m/5 измер. = 1056,7; Масса расч. = 5279,0

Пример 107

N{Альфа}(N{293}-[2-[2-t2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбоксифенокси)-ундеканоиламино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]-ацетил]-[Leu301,Arg309,Glu312]-P-ЛНП-(293-332)-пептидил)-N{эпсилон}[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбоксифенокси)ундеканоиламино]бутаноил]-амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]Lys



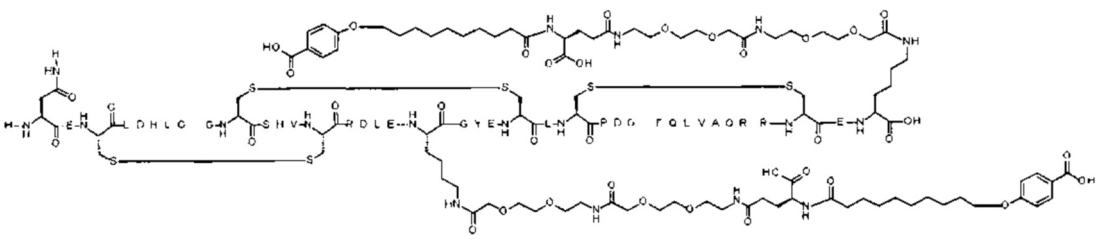
Основная цепь этого пептида представляет собой SEQ ID NO: 4

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС29: m/3 измер. = 1996,9; m/4 измер. = 1497,9; m/5 измер. = 1198,6; Масса расч. = 5987,7

Пример 108

N{Альфа}(N{эпсилон-313}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[10-(4-карбокси-фенокси)деканоиламино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]-этокси]ацетил]-[His300,Leu301,Arg309,Glu312,Lys313]-P-ЛНП-(295-332)-пептидил)-N{эпсилон}[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[10-(4-карбоксифенокси)деканоил-амино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]Lys



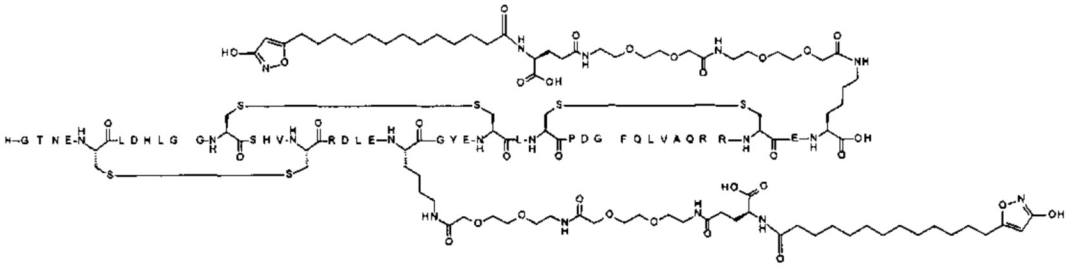
Основная цепь этого пептида представляет собой SEQ ID NO: 83

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-01: m/4 измер. = 1460,8; m/5 измер. = 1168,7; Масса расч. = 5839,5

Пример 109

N{Альфа}(N{эпсилон-313}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[13-(3-гидрокси-1,2-оксазол-5-ил)тридеканоиламино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]-этокси]этокси]ацетил]-[His300,Leu301,Arg309,Glu312,Lys313]-P-ЛНП-(293-332)-пептидил)-N{эпсилон}[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[13-(3-гидрокси-1,2-оксазол-5-ил)тридеканоиламино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]-этокси]этокси]ацетил]Lys



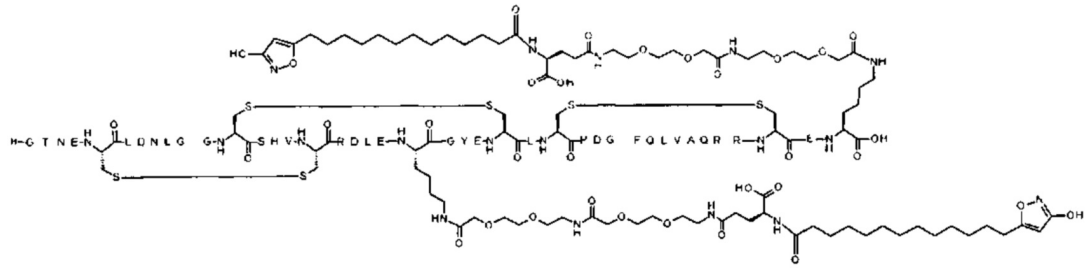
Основная цепь этого пептида представляет собой SEQ ID NO: 69

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-01: m/4 измер. = 1495,0; m/5 измер. = 1196,0; Масса расч. = 5975,7

Пример 110

N{Альфа}(N{эпсилон-313}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[13-(3-гидрокси-1,2-оксазол-5-ил)тридеканоиламино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]-этокси]этокси]ацетил]-[Leu301,Arg309,Glu312,Lys313]-P-ЛНП-(293-332)-пептидил)-N{эпсилон}[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[13-(3-гидрокси-1,2-оксазол-5-ил)-тридеканоиламино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]-ацетил]Lys



Основная цепь этого пептида представляет собой SEQ ID NO: 32

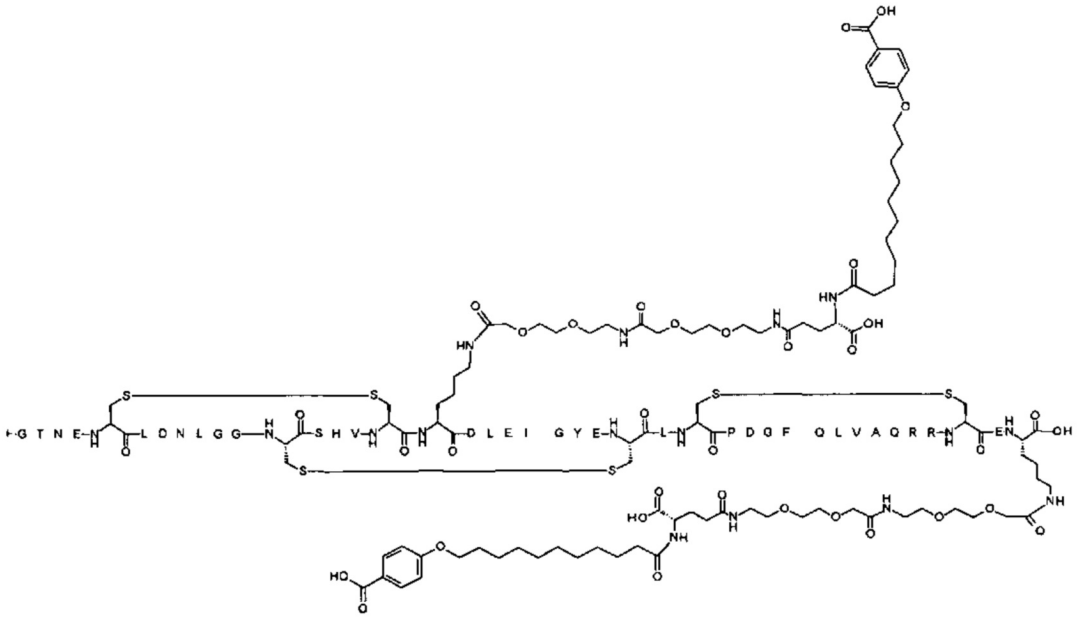
Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-01: m/4 измер. = 1489,0; m/5 измер. = 1191,0; Масса расч. = 5952,7

Пример 111

N{Альфа}(N{эпсилон-309}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбоксифенокси)ундеканоиламино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]-этокси]ацетил]-[Leu301,Lys309,Glu312]-P-ЛНП-(293-332)-пептидил)-N{эпсилон}[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбоксифенокси)ундеканоиламино]-бутаноил]амино]

этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]Lys



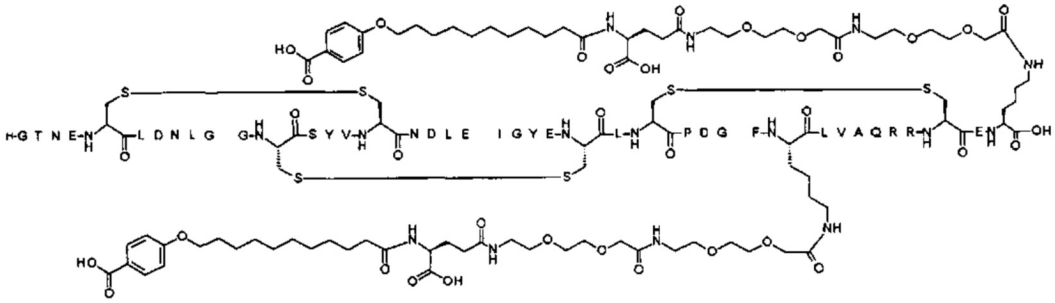
Основная цепь этого пептида представляет собой SEQ ID NO: 84

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС29: m/3 измер. = 1987,6; m/4 измер. = 1490,9; m/5 измер. = 1193,0; Масса расч. = 5959,7

Пример 112

N{Альфа}(N{эпсилон-324}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбокси-фенокси)ундеканоиламино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]-этокси]ацетил]-[Leu301,Tyr306,Glu312,Lys324]-P-ЛНП-(293-332)-пептидил)-N-{эпсилон}[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбоксифенокси)ундеканоил-амино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]Lys



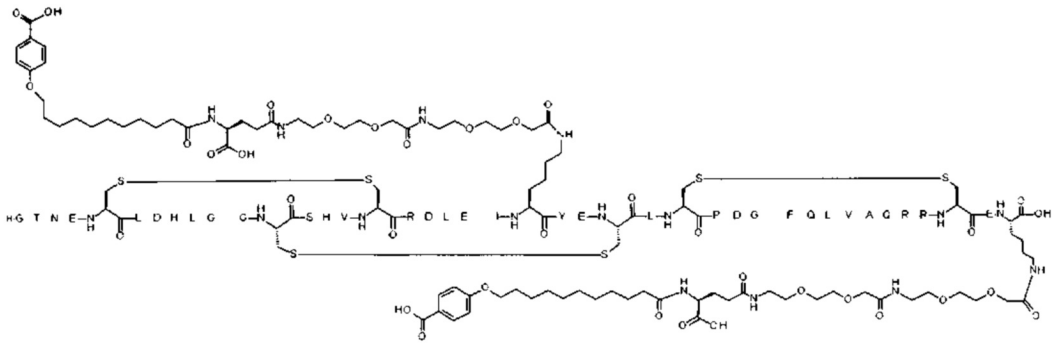
Основная цепь этого пептида представляет собой SEQ ID NO: 85

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС29: m/3 измер. = 1991,6; m/4 измер. = 1493,9; m/5 измер. = 1195,1; Масса расч. = 5971,7

Пример 113

N{Альфа}(N{эпсилон-314}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбокси-фенокси)ундеканоиламино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]-этокси]ацетил]-[His300,Leu301,Arg309,Glu312,Lys314]-P-ЛНП-(293-332)-пептидил)-N{эпсилон){2-{2-(2-{12-{2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбоксифенокси)ундека-ноиламино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]Lys



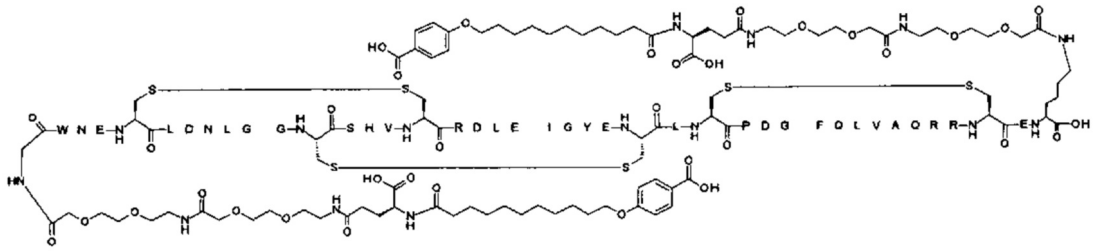
Основная цепь этого пептида представляет собой SEQ ID NO: 86

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС29: m/3 измер. = 2028,3; m/4 измер. = 1521,5; Масса расч. = 6081,8

Пример 114

N{Альфа}(N{293}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбоксифенокси)-ундеканоиламино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]-ацетил]-[Trp294,Leu301,Arg309,Glu312]-P-ЛНП-(293-332)-пептидил)-N{эпсилон}[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбоксифенокси)ундеканоиламино]-бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]Lys



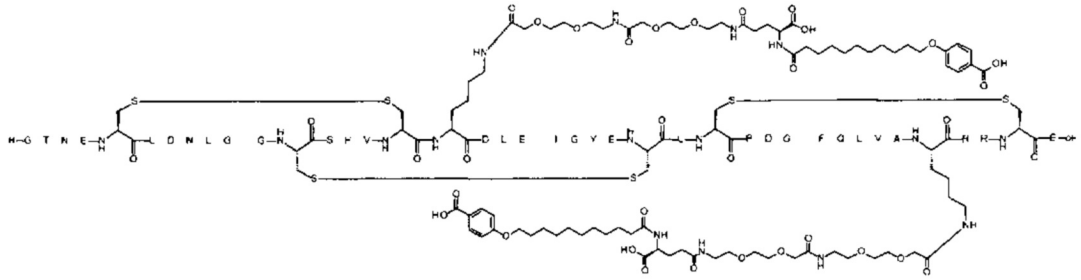
Основная цепь этого пептида представляет собой SEQ ID NO: 87

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС29: m/3 измер. = 2025,3; m/4 измер. = 1519,2; m/5 измер. = 1215,6; Масса расч. = 6072,8

Пример 115

N{эпсилон-309}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбоксифенокси)-ундеканоиламино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]-ацетил],N{эпсилон-328}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбокси-фенокси) ундеканоиламино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]-этокси]ацетил]-[Leu301,Lys309,Glu312,Lys328]-P-ЛНП-(293-332)-пептид



Основная цепь этого пептида представляет собой SEQ ID NO: 88

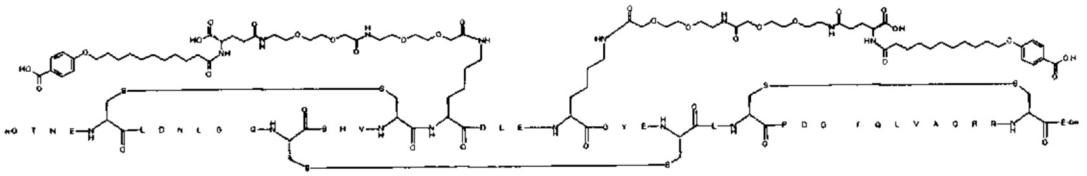
Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-27: Измер. m/2=2916,7; m/3 измер. = 1944,9; m/4 измер. = 1458,9; Масса расч. = 5831,5

Пример 116

N{эпсилон-309}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбоксифенокси)-

ундеканоиламино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]-ацетил],N{эпсилон-313}-[2-[2-[2-[[2-(2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбокси-фенокси) ундеканоиламино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]-этокси]ацетил]-[Leu301,Lys309,Glu312,Lys313]-P-ЛНП-(293-332)-пептид



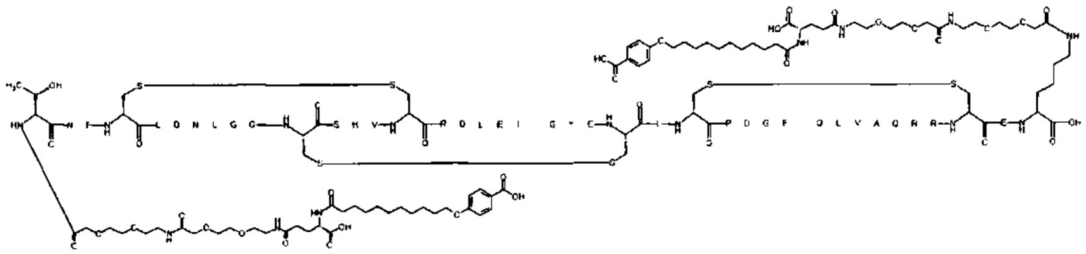
Основная цепь этого пептида представляет собой SEQ ID NO: 89

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС29: Измер. m/2 = 2924,1; m/3 измер. = 1949,6 m/4 измер. = 1462,4; Масса расч. = 5846,5

Пример 117

N{Альфа}(N{294}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбоксифенокси)-ундеканоиламино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]-ацетил]-[Leu301,Arg309,Glu312],des-Gly293-P-ЛНП-(294-332)-пептидил)-N-{эпсилон}[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбоксифенокси)ундеканоил-амино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]Lys



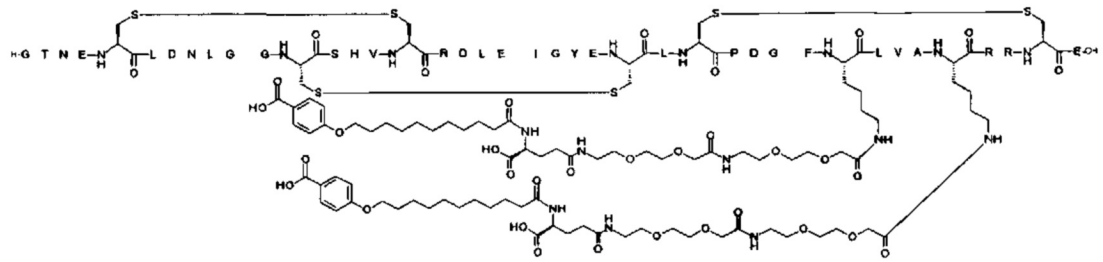
Основная цепь этого пептида представляет собой SEQ ID NO: 90

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС29: m/3 измер. = 1977,6; m/4 измер. = 1483,5; m/5 измер. = 1187,2; Масса расч. = 5930,6

Пример 118

N{эпсилон-324}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбоксифенокси)-ундеканоиламино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]-ацетил],N{эпсилон-328}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбокси-фенокси) ундеканоиламино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]-этокси]ацетил]-[Leu301,Arg309,Glu312,Lys324,Lys328]-P-ЛНП-(293-332)-пептид



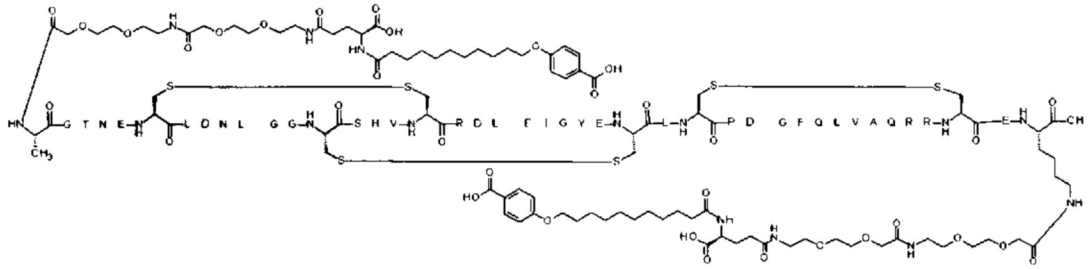
Основная цепь этого пептида представляет собой SEQ ID NO: 91

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-27: Измер. m/2 = 2930,4; m/3 измер. = 1953,9; m/4 измер. = 1465,7; Масса расч. = 5859,6

Пример 119

N{Альфа}(N{292H2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбоксифенокси)-ундеканоиламино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]-ацетил]-Ala[Leu301,Arg309,Glu312]-P-ЛНП-(293-332)-пептидил)-N{эпсилон}[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбоксифенокси)ундеканоиламино]бутаноил]-амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]Lys



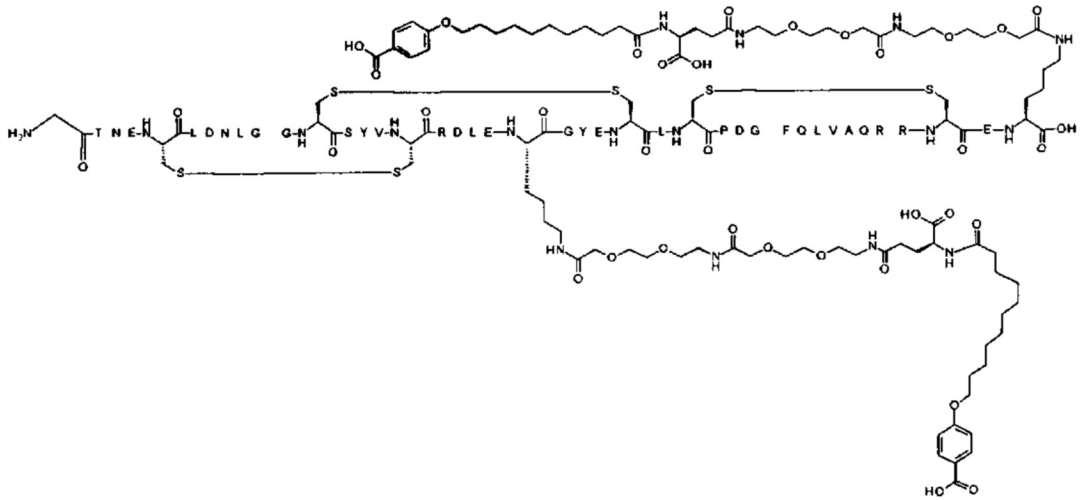
Основная цепь этого пептида представляет собой SEQ ID NO: 92

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС29: m/3 измер. = 2020,6; m/4 измер. = 1515,7; m/5 измер. = 1212,8; Масса расч. = 6058,8

Пример 120

N{Альфа}(N{эпсилон-313}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбокси-фенокси)ундеканоиламино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]-этокси]ацетил]-[Leu301,Tyr306,Arg309,Glu312,Lys313]-P-ЛНП-(293-332)-пептидил)-N{эпсилон}[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбоксифенокси)ундека-ноиламино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]Lys



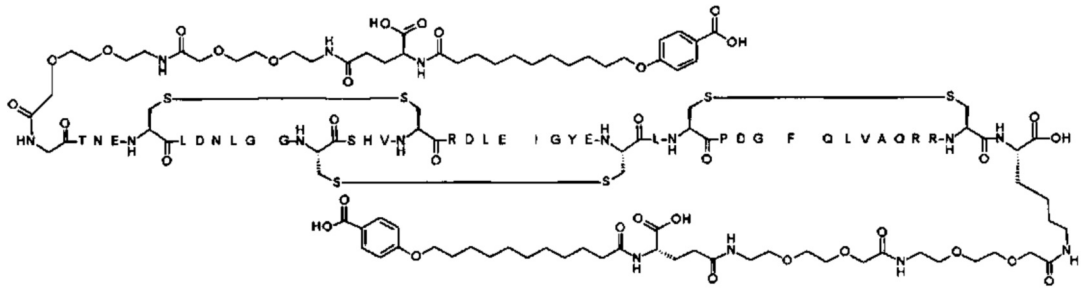
Основная цепь этого пептида представляет собой SEQ ID NO: 93

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС29: m/3 измер. = 2010,2; m/4 измер. = 1508,2; m/5 измер. = 1206,8; Масса расч. = 6028,7

Пример 121

N{293}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбоксифенокси)ундеканоил-амино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил],N-{эпсилон-332}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбоксифенокси)-ундеканоиламино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]-ацетил]-[Leu301,Arg309,Glu312,Lys332]-P-ЛНП-(293-332)-пептид



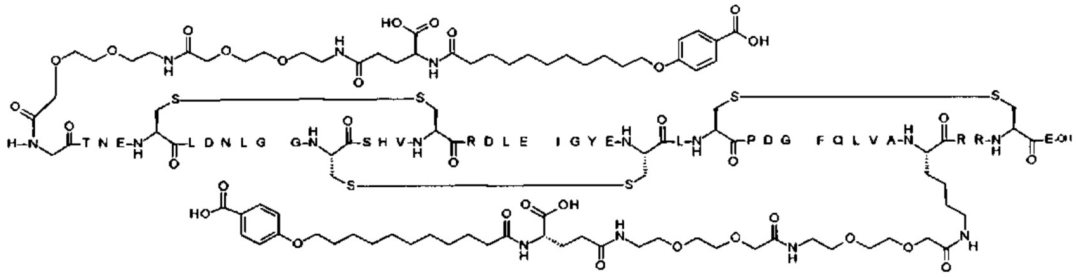
Основная цепь этого пептида представляет собой SEQ ID NO: 11

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-27: Измер. m/2 = 2930,3; m/3 измер. = 1953,7; m/4 измер. = 1465,8; Масса расч. = 5858,6

Пример 122

N{293}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-{11-(4-карбоксифенокси)ундеканоил-амино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил],N-{эпсилон-328}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбоксифенокси)-ундеканоиламино] бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]-ацетил]-[Leu301,Arg309,Glu312,Lys328]-P-ЛНП-(293-332)-пептид



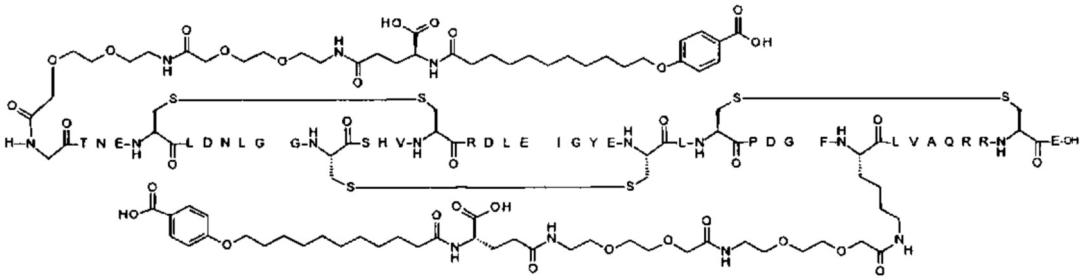
Основная цепь этого пептида представляет собой SEQ ID NO: 40

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-27: Измер. m/2 = 2930,1; m/3 измер. = 1953,9; m/4 измер. = 1465,7; Масса расч. = 5859,6

Пример 123

N{293}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбоксифенокси)ундеканоил-амино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил],N-{эпсилон-324}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(48)-4-карбокси-4-[11-(4-карбоксифенокси)-ундеканоиламино] бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]-ацетил]-[Leu301,Arg309,Glu312,Lys324]-P-ЛНП-(293-332)-пептид



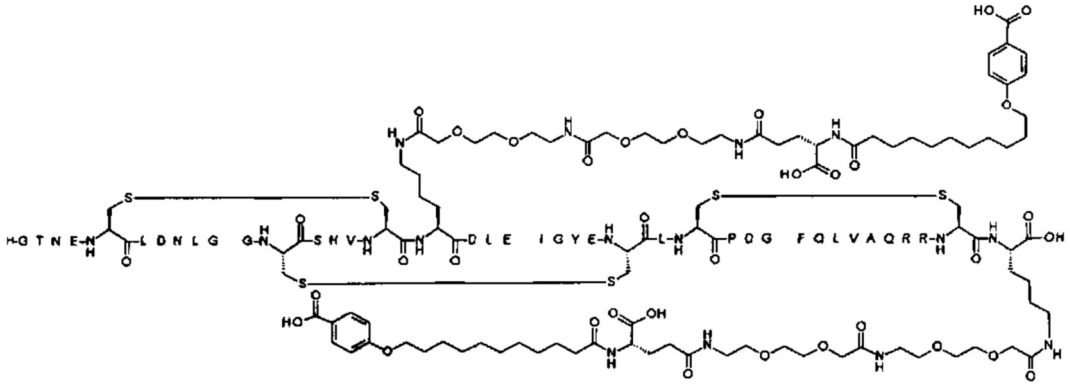
Основная цепь этого пептида представляет собой SEQ ID NO: 22

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС29: Измер. m/2 = 2930,9; m/3 измер. = 1954,3; m/4 измер. = 1465,9; Масса расч. = 5859,6

Пример 124

N{эпсилон-309}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбоксифенокси)-ундеканоиламино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]-ацетил],N{эпсилон-332}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбокси-фенокси) ундеканоиламино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]-этокси]ацетил]-[Leu301,Lys309,Glu312,Lys332]-P-ЛНП-(293-332)-пептид



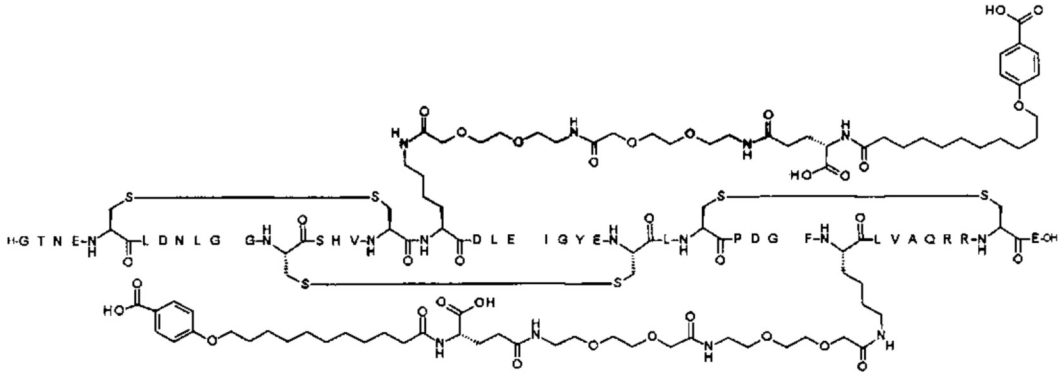
Основная цепь этого пептида представляет собой SEQ ID NO: 94

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС29: Измер. m/2 = 2916,1; m/3 измер. = 1944,2; m/4 измер. = 1458,4; Масса расч. = 5830,6

Пример 125

N{эпсилон-309}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбоксифенокси)-ундеканоиламино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]-ацетил],N{эпсилон-324}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбокси-фенокси) ундеканоиламино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]-этокси]ацетил]-[Leu301,Lys309,Glu312,Lys324]-P-ЛНП-(293-332)-пептид



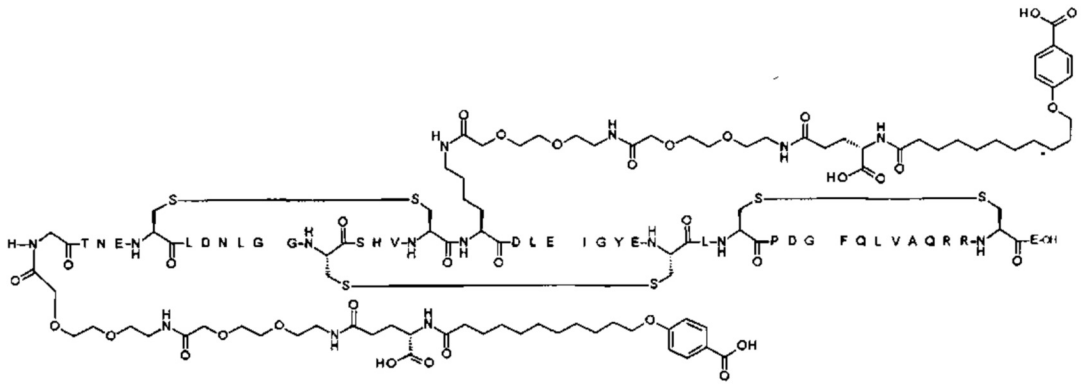
Основная цепь этого пептида представляет собой SEQ ID NO: 106

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС29: Измер. m/2 = 2916,6; m/3 измер. = 1944,5; m/4 измер. = 1458,9; Масса расч. = 5831,5

Пример 126

N{293}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбоксифенокси)ундеканоил-амино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил],N-{эпсилон-309}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(43)-4-карбокси-4-[11-(4-карбоксифенокси)-ундеканоиламино] бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]-ацетил]-[Leu301,Lys309,Glu312]-P-ЛНП-(293-332)-пептид



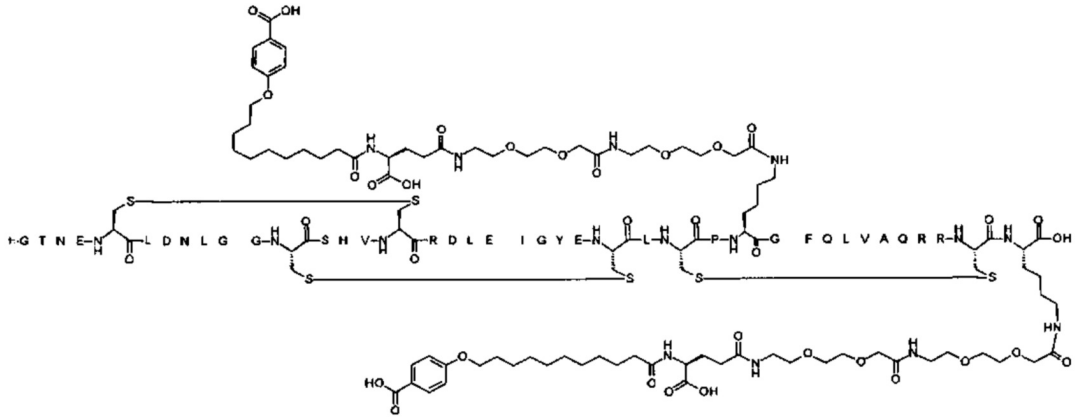
Основная цепь этого пептида представляет собой SEQ ID NO: 30

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС29: Измер. m/2 = 2916,7; m/3 измер. = 1944,6; m/4 измер. = 1458,7; Масса расч. = 5831,5

Пример 127

N{эпсилон-321}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбоксифенокси)-ундеканоиламино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]-ацетил],N{эпсилон-332}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(48)-4-карбокси-4-[11-(4-карбокси-фенокси) ундеканоиламино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]-этокси]ацетил]-[Leu301,Arg309,Glu312,Lys321,Lys332]-P-ЛНП-(293-332)-пептид



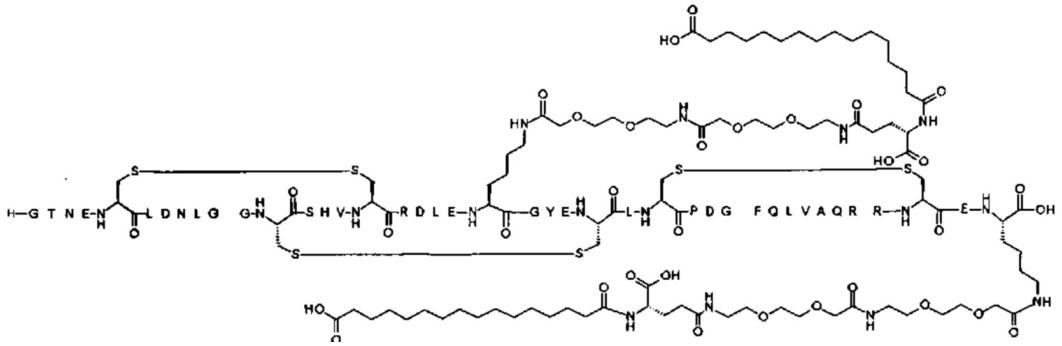
Основная цепь этого пептида представляет собой SEQ ID NO: 95

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС29: m/3 измер. = 1958,3; m/4 измер. = 1469,0; Масса расч. = 5871,6

Пример 128

N{Альфа}(N{эпсилон-313}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-(15-карбоксипентадеканоиламино)бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]-ацетил]-[Leu301,Arg309,Glu312,Lys313]-P-ЛНП-(293-332)-пептидил)-N{эпсилон}[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-(15-карбоксипентадеканоиламино)бутаноил]-амино]этокси] этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]Lys



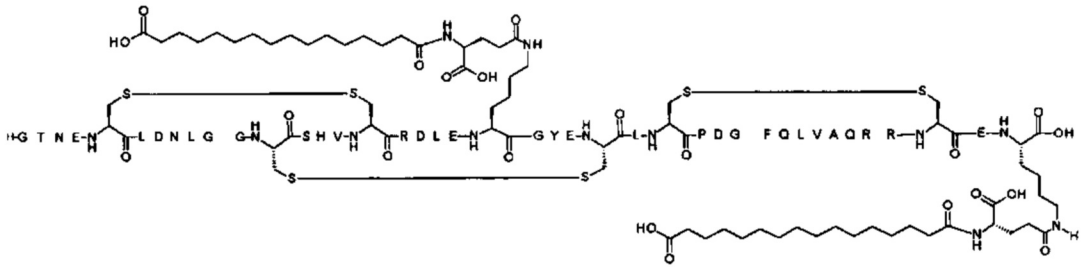
Основная цепь этого пептида представляет собой SEQ ID NO: 32

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС29: Измер. m/2 = 2966,28; m/3 измер. = 1978,0; m/4 измер. = 1483,5; Масса расч. = 5930,7

Пример 129

N{Альфа}(N{эпсилон-313}-[(4S)-4-карбокси-4-(15-карбоксипентадеканоиламино)-бутаноил]-[Leu301,Arg309,Glu312,Lys313]-P-ЛНП-(293-332)-пептидил)-N-{эпсилон}[(4S)-4-карбокси-4-(15-карбоксипентадеканоиламино)бутаноил]Lys



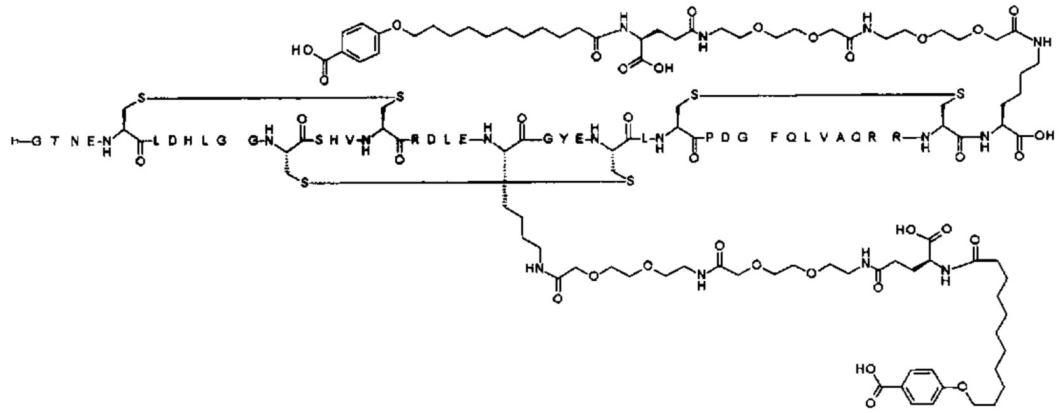
Основная цепь этого пептида представляет собой SEQ ID NO: 32

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС29: Измер. m/2 = 2676,0; m/3 измер. = 1784,2; m/4 измер. = 1338,4; Масса расч. = 5330,1

Пример 130

N{эпсилон-313}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбоксифенокси)-ундеканоиламино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]-ацетил],N{эпсилон-332}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбокси-фенокси) ундеканоиламино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]-этокси]ацетил]-[His300,Leu301,Arg309,Glu312,Lys313,Lys332]-P-ЛНП-(293-332)-пептид



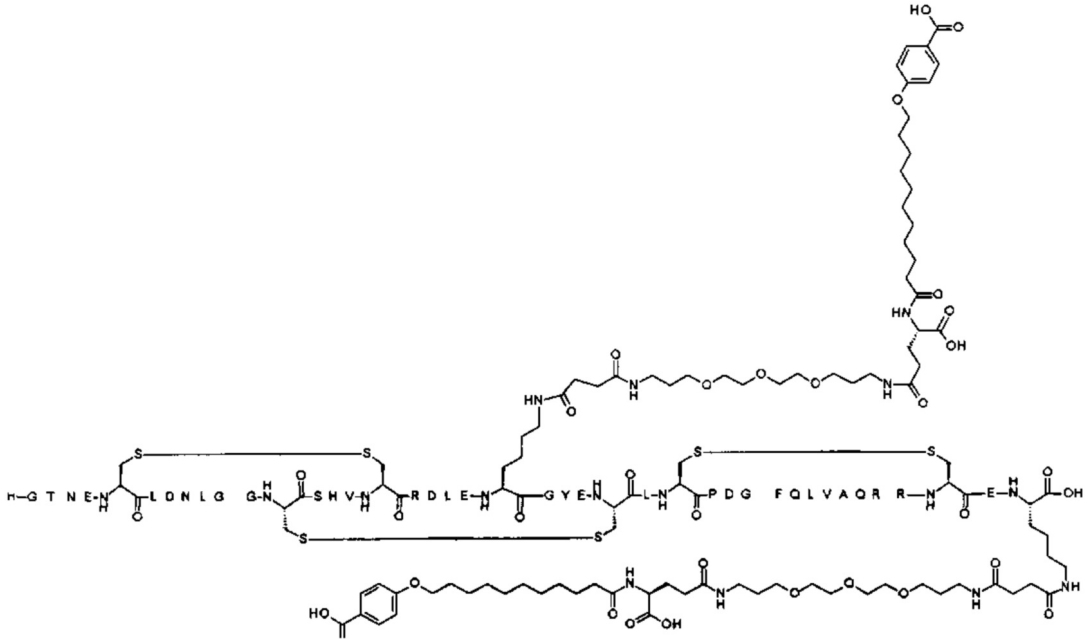
Основная цепь этого пептида представляет собой SEQ ID NO: 96

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС29: m/3 измер. = 1966,7; m/4 измер. = 1475,0; Масса расч. = 5896,6

Пример 131

N{Альфа}(N{эпсилон-313}-[4-[3-[2-[2-[3-[[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбокси-фенокси) ундеканоиламино]бутаноил]амино]пропокси]этокси]этокси]пропиламино]-4-оксобутаноил]-[Leu301,Arg309,Glu312,Lys313]-P-ЛНП-(293-332)-пептидил)-N{эпсилон}[4-[3-[2-[2-[3-[[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбоксифенокси)ундеканоил-амино]бутаноил] амино]пропокси]этокси]этокси]пропиламино]-4-оксобутаноил]Lys



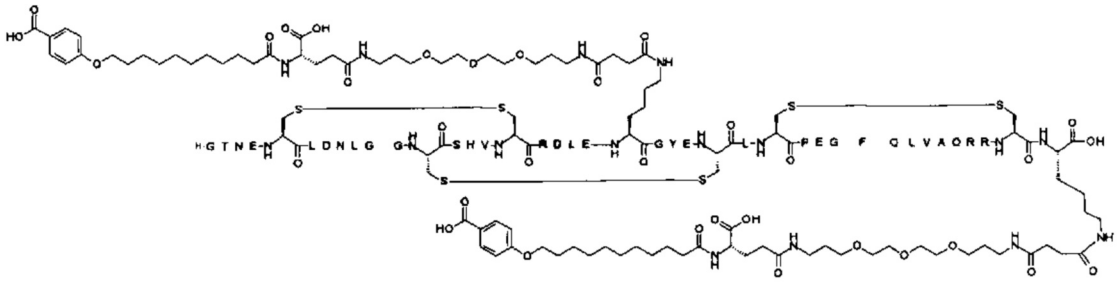
Основная цепь этого пептида представляет собой SEQ ID NO: 32

Соединение получалм общим способом B

ЖХ-МС29: m/3 измер. = 2009,9; m/4 измер. = 1507,7; Масса расч. = 6026,8

Пример 132

N{эпсилон-313}-[4-[3-[2-[2-[3-[[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбоксифенокси)ундека-ноиламино]бутаноил]амино]пропокси]этокси]этокси]пропиламино]-4-оксобутаноил] ,N{эпсилон-332}-[4-[3-[2-[2-[3-[[(43)-4-карбокси-4-[11-(4-карбоксифенокси)-ундеканоиламино]бутаноил]амино]пропокси]этокси]этокси]пропиламино]-4-оксо-бутаноил]-[Leu301,Arg309,Glu312,Lys313,Glu321,Lys332]-P-ЛНП-(293-332)-пептид



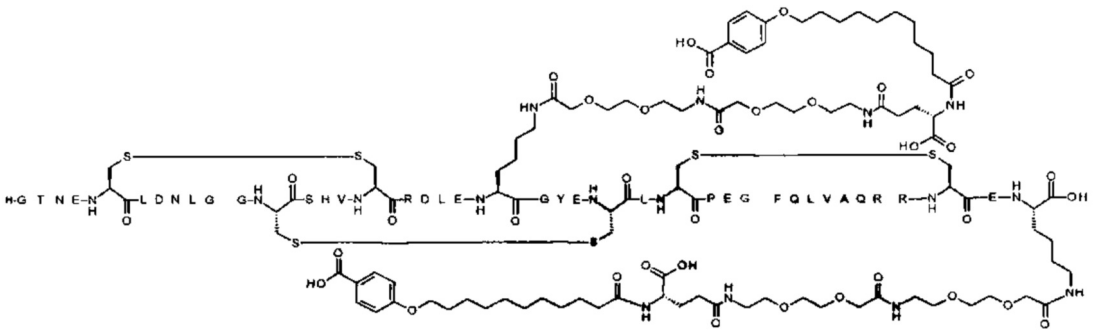
Основная цепь этого пептида представляет собой SEQ ID NO: 97

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС29: m/3 измер. = 1971,3; m/4 измер. = 1478,9; Масса расч. = 5911,7

Пример 133

N{Альфа}(N{эпсилон-313}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбокси-фенокси)ундеканоиламино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]-этокси] ацетил]-[Leu301,Arg309,Glu312,Lys313,Glu321]-P-ЛНП-(293-332)-пептидил)-N{эпсилон}[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбоксифенокси)-ундеканоиламино] бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]-ацетил]Lys



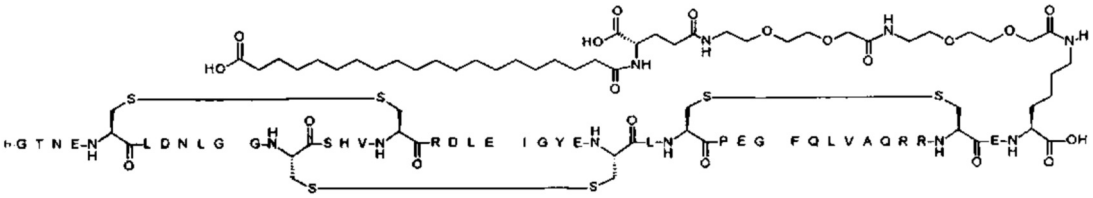
Основная цепь этого пептида представляет собой SEQ ID NO: 98

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-01: m/4 измер. = 1505,0; m/5 измер. = 1204,3; Масса расч. = 6016,7

Пример 134

N{Альфа}([Leu301,Arg309,Glu312,Glu321]-P-ЛНП-(293-332)-пептидил)-N{эпсилон}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(48)-4-карбокси-4-(19-карбоксинонадеканоиламино)бутаноил]-амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]Lys



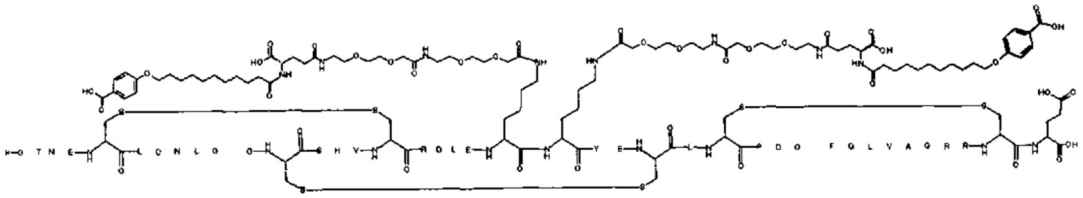
Основная цепь этого пептида представляет собой SEQ ID NO: 19

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-01: m/4 измер. = 1766,7; m/5 измер. = 1325,3; Масса расч. = 5258,0

Пример 135

N{эпсилон-313}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбоксифенокси)-ундеканоиламино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]-ацетил],N{эпсилон-314}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбокси-фенокси) ундеканоиламино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]-этокси]ацетил]-[Leu301,Arg309,Glu312,Lys313,Lys314]-P-ЛНП-(293-332)-пептид



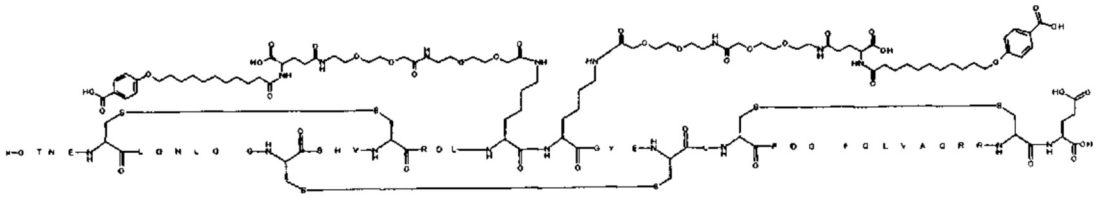
Основная цепь этого пептида представляет собой SEQ ID NO: 99

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-01: m/4 измер. = 1487,3; m/5 измер. = 1190,0; Масса расч. = 5945,6

Пример 136

N{эпсилон-312}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбоксифенокси)-ундеканоиламино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]-ацетил],N{эпсилон-313}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбокси-фенокси) ундеканоиламино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]-этокси]ацетил]-[Leu301,Arg309,Lys313]-P-ЛНП-(293-332)-пептид



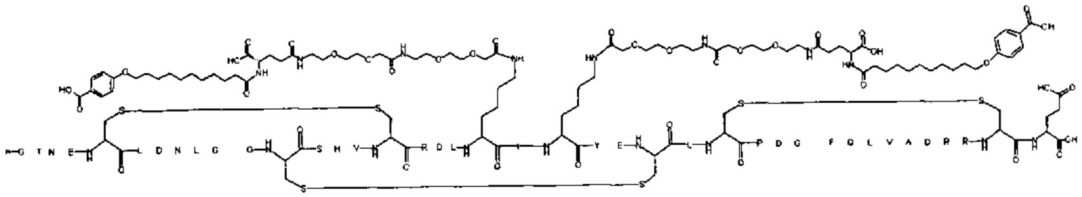
Основная цепь этого пептида представляет собой SEQ ID NO: 100

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-01: m/4 измер. = 1469,3; m/5 измер. = 1175,5; Масса расч. = 5873,6

Пример 137

N{эпсилон-312}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбоксифенокси)-ундеканоиламино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]-ацетил],N{эпсилон-314}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[2-[[(43)-4-карбокси-4-[11-(4-карбокси-фенокси) ундеканоиламино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]-этокси]ацетил]-[Leu301,Arg309,Lys314]-P-ЛНП-(293-332)-пептид



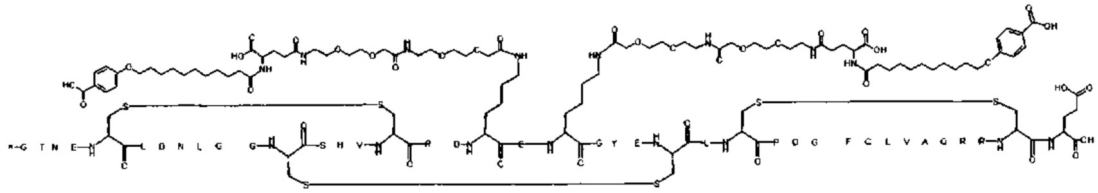
Основная цепь этого пептида представляет собой SEQ ID NO: 101

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-01: m/4 измер. = 1483,3; m/5 измер. = 1186,8; Масса расч. = 5929,7

Пример 138

N{эпсилон-311}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбоксифенокси)-ундеканоиламино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]-ацетил],N{эпсилон-313}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[2-[[(48)-4-карбокси-4-[11-(4-карбокси-фенокси) ундеканоиламино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]-этокси]ацетил]-[Leu301,Arg309,Lys311,Glu312,Lys313]-P-ЛНП-(293-332)-пептид



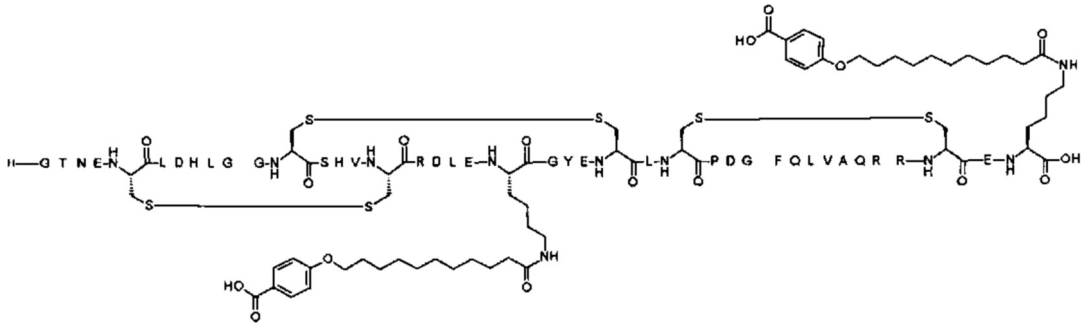
Основная цепь этого пептида представляет собой SEQ ID NO: 102

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-01: m/4 измер. = 1473,0; m/5 измер. = 1178,6; Масса расч. = 5889,5

Пример 139

N{Альфа}(N{эпсилон-313}-11-(4-карбоксифенокси)ундеканоил-[His300,Leu301,Arg309,Glu312,Lys313]-P-ЛНП-(293-332)-пептидил)-N{эпсилон}11-(4-карбоксифенокси)ундеканоил)Lys



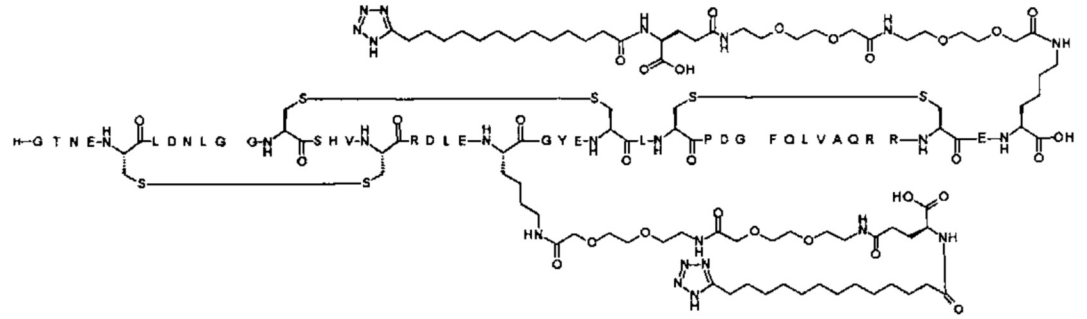
Основная цепь этого пептида представляет собой SEQ ID NO: 69

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-01: m/4 измер. = 1297,4; m/5 измер. = 1038,2; Масса расч. = 5186,9

Пример 140

N{Альфа}(N{эпсилон-313}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[13-(1H-тетразол-5-ил)тридеканоиламино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]-[Leu301,Arg309,Glu312,Lys313]-P-ЛНП-(293-332)-пептидил)-N{эпсилон}[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[13-(1H-тетразол-5-ил)тридеканоиламино]-бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]Lys



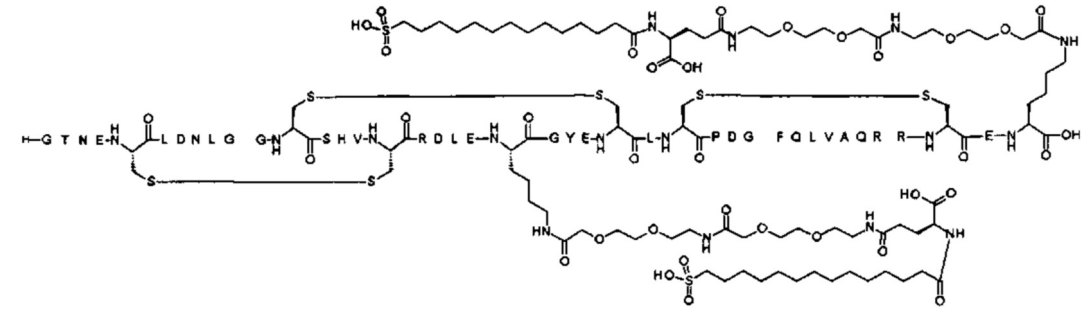
Основная цепь этого пептида представляет собой SEQ ID NO: 32

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-01: m/4 измер. = 1481,6; m/5 измер. = 1185,3; Масса расч. = 5922,7

Пример 141

N{Альфа}(N{эпсилон-313}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-(14-сульфотетрадеканоиламино)бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]-ацетил]-[Leu301,Arg309,Glu312,Lys313]-P-ЛНП-(293-332)-пептидил)-N{эпсилон}[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-(14-сульфотетрадеканоиламино)бутаноил]-амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]Lys



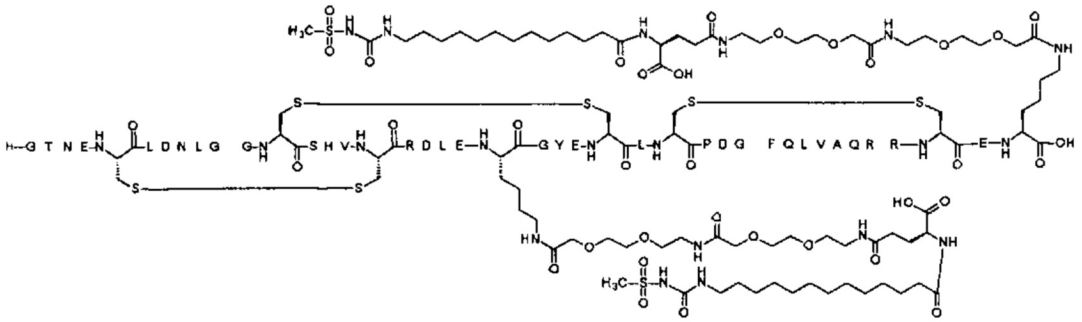
Основная цепь этого пептида представляет собой SEQ ID NO: 32

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС027: m/3 измер. = 1992,6; m/4 измер. = 1494,7; m/5 измер. = 1196,0; Масса расч. = 5974,8

Пример 142

N{Альфа}(N{эпсилон-313}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[13-(метилсульфонилкарбамоиламино)тридеканоиламино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]-амино]этокси]этокси]ацетил]-[Leu301,Arg309,Glu312,Lys313]-P-ЛНП-(293-332)-пептидил)-N{эпсилон}[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[13-(метилсульфонил-карбамоиламино)тридеканоиламино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]Lys



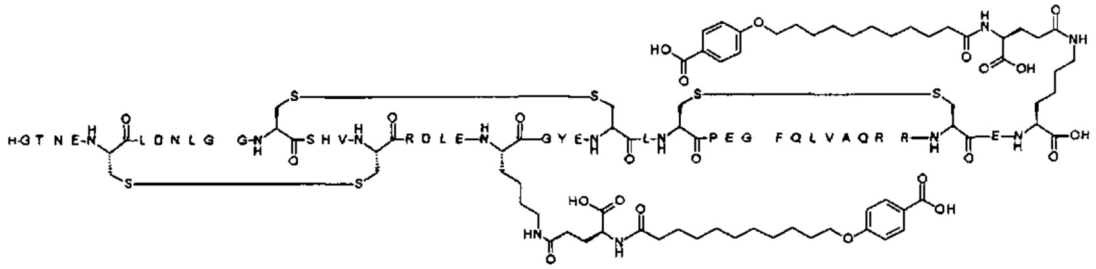
Основная цепь этого пептида представляет собой SEQ ID NO: 32

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС027: m/3 измер. = 2020,7; m/4 измер. = 1515,8; m/5 измер. = 1212,8; Масса расч. = 6058,8

Пример 143

N{Альфа}(N{эпсилон-313}-[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбоксифенокси)ундеканоил-амино]бутаноил]-[Leu301,Arg309,Glu312,Lys313,Glu321]-P-ЛНП-(293-332)-пептидил)-N{эпсилон}[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбоксифенокси)ундеканоил-амино]бутаноил]Lys



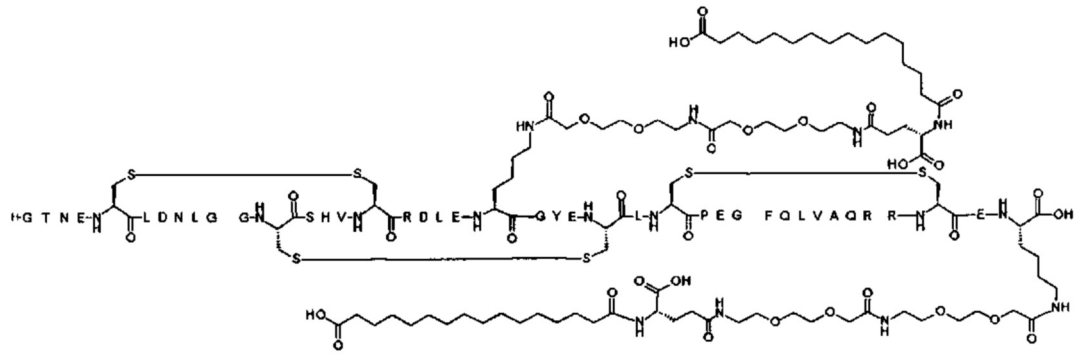
Основная цепь этого пептида представляет собой SEQ ID NO: 98

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС29: Измер. m/2=2719,0; m/3 измер. = 1812,8; m/4 измер. = 1359,8; Масса расч. = 5436,1

Пример 144

N{Альфа}(N{эпсилон-313}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-(15-карбоксипентадеканоиламино)бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]-ацетил]-[Leu301,Arg309,Glu312,Lys313,Glu321]-P-ЛНП-(293-332)-пептидил)-N{эпсилон}[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(45)-4-карбокси-4-(15-карбоксипентадеканоил-амино)бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]Lys



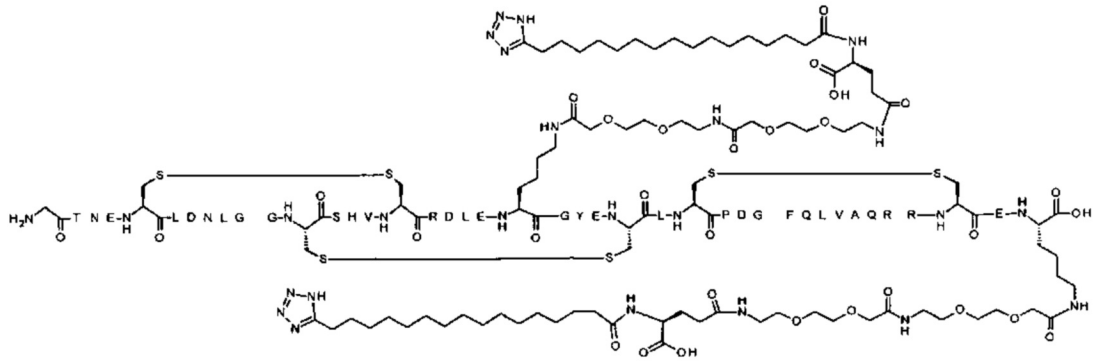
Основная цепь этого пептида представляет собой SEQ ID NO: 98

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС29: m/3 измер. = 1982,2; m/4 измер. = 1486,9; m/5 измер. = 1189,7; Масса расч. = 5944,7

Пример 145

N{Альфа}(N{эпсилон-313}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[16-(1H-тетразол-5-ил)гексадеканоиламино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]-этокси]ацетил]-[Leu301,Arg309,Glu312,Lys313]-P-ЛНП-(293-332)-пептидил)-N-{эпсилон}[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(48)-4-карбокси-4-[16-(1H-тетразол-5-ил)гексадека-ноиламино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]Lys



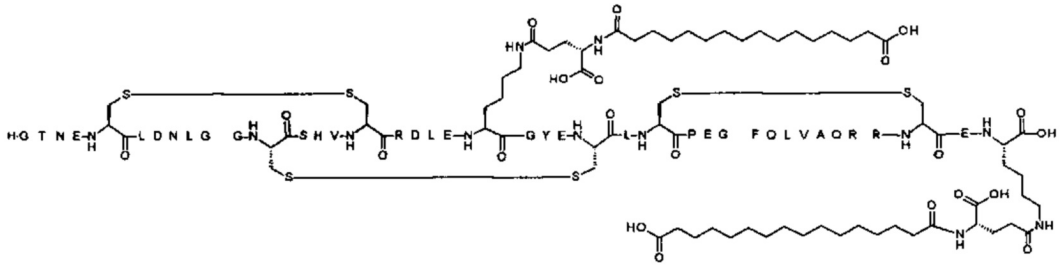
Основная цепь этого пептида представляет собой SEQ ID NO: 32

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС29: m/3 измер. = 2003,3; m/4 измер. = 1502,7; m/5 измер. = 1202,2; Масса расч. = 6006,8

Пример 146

N{Альфа}(N{эпсилон-313}-[(4S)-4-карбокси-4-(15-карбоксипентадеканоиламино)-бутаноил]-[Leu301,Arg309,Glu312,Lys313,Glu321]-P-ЛНП-(293-332)-пептидил)-N{эпсилон}[(4S)-4-карбокси-4-(15-карбоксипентадеканоиламино)бутаноил]Lys



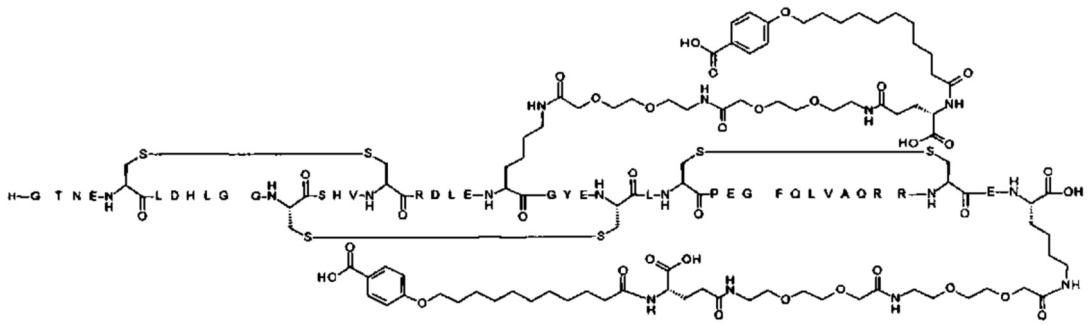
Основная цепь этого пептида представляет собой SEQ ID NO: 98

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС29: m/3 измер. = 1788,8; m/4 измер. = 1341,9; m/5 измер. = 1073,7; Масса расч. = 5364,1

Пример 147

N{Альфа}(N{эпсилон-313H2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбокси-фенокси)ундеканоиламино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]-этокси]ацетил]-[His300,Leu301,Arg309,Glu312,Lys313,Glu321]-P-ЛНП-(293-332)-пептидил)-N{эпсилон}[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбоксифенокси)-ундеканоиламино]бутаноил)амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]-ацетил]Lys



Основная цепь этого пептида представляет собой SEQ ID NO: 103

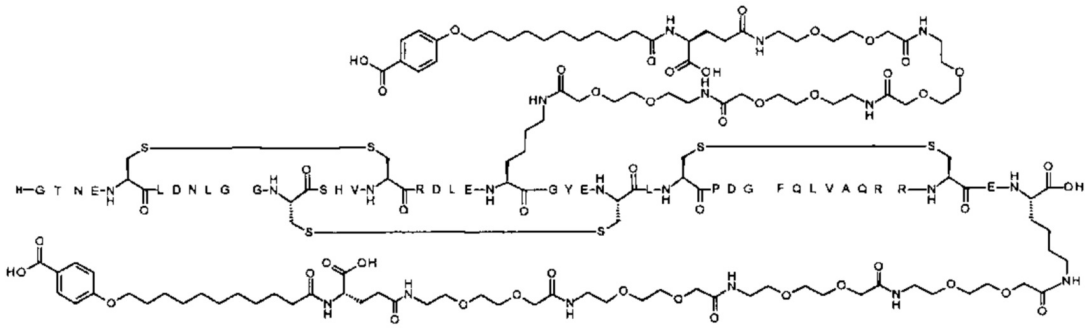
Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС29: Измер. m/2=3020,8; m/3 измер. = 2014,3; m/4 измер. = 1510,9; Масса расч. = 6039,8

Пример 148

N{Альфа}(N{эпсилон-313}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбоксифенокси)ундеканоиламино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]-амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]-

ацетил]-[Leu301,Arg309,Glu112,Lys313]-P-ЛНП-(293-332)-пептидил)-N{эпсилон}[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбоксифенокси)-ундеканоиламино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]-ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]Lys



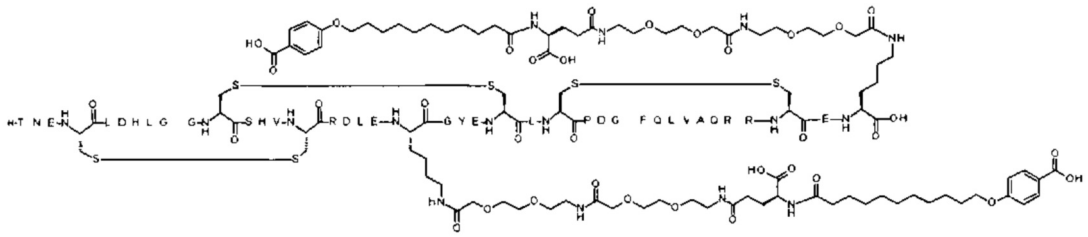
Основная цепь этого пептида представляет собой SEQ ID NO: 32

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС027: m/3 измер. = 2195,5; m/4 измер. = 1646,9; m/5 измер. = 1317,7; Масса расч. = 6583,3

Пример 149

N{Альфа}(N{эпсилон-313}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбокси-фенокси)ундеканоиламино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]-этокси]ацетил]-[His300,Leu301,Arg309,Glu312,Lys313],des-Gly293-P-ЛНП-(294-332)-пептидил)-N{эпсилон}[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[11-(4-карбокси-фенокси)ундеканоиламино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]-этокси]ацетил]Lys



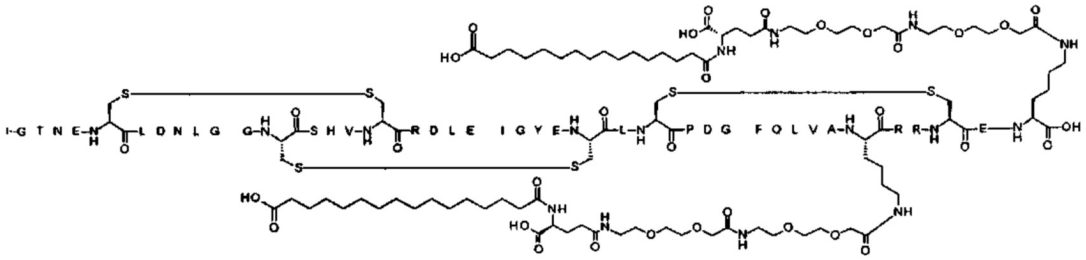
Основная цепь этого пептида представляет собой SEQ ID NO: 74

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС027: m/3 измер. = 1990,6; m/4 измер. = 1493,2; m/5 измер. = 1191,1; Масса расч. = 5968,7

Пример 150

N{Альфа}(N{эпсилон-328}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-(15-карбоксипентадеканоиламино)бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]-ацетил]-[Leu301,Arg309,Glu312,Lys328]-P-ЛНП-(293-332)-пептидил)-N{эпсилон}[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-(15-карбоксипентадеканоиламино)бутаноил]-амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]Lys

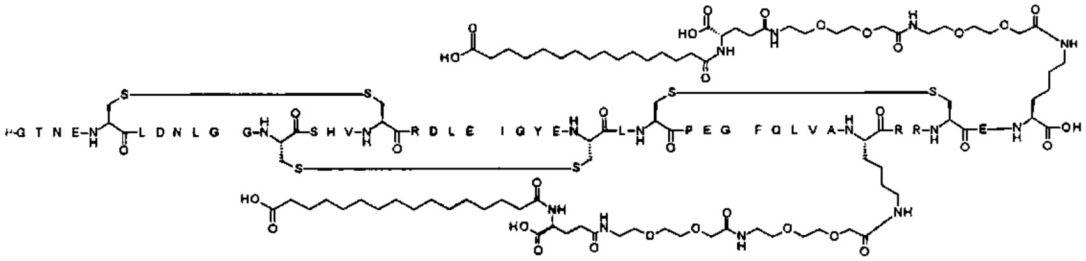


Основная цепь этого пептида представляет собой SEQ ID NO: 78 Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-27: Измер. m/2 = 2958,7; m/3 измер. = 1973,0; m/4 измер. = 1480,0; Масса расч. = 5915,7

Пример 151

N{Альфа}(N{эпсилон-328}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-(15-карбоксипентадеканоиламино)бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]-ацетил]-[Leu301,Arg309,Glu312,Glu321,Lys328]-P-ЛНП-(293-332)-пептидил)-N-{эпсилон}[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-(15-карбоксипентадеканоиламино)-бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]Lys



Основная цепь этого пептида представляет собой SEQ ID NO: 104

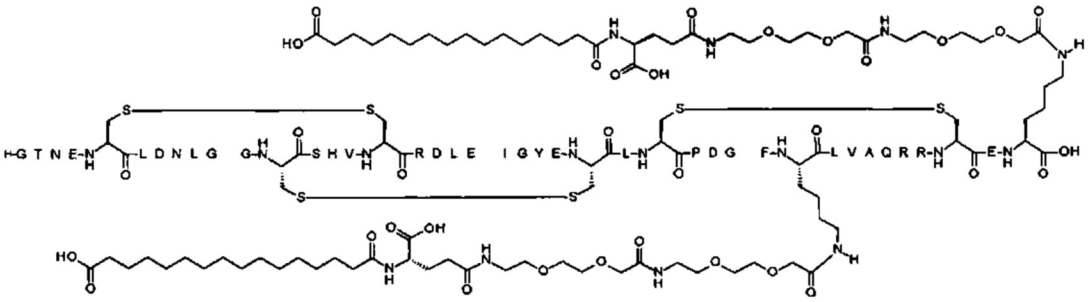
Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-01: m/4 измер. = 1483,2; m/5 измер. = 1186,8; Масса расч. = 5930,0

Пример 152

N{Альфа}(N{эпсилон-324}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-(15-карбоксипентадеканоиламино)бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]-ацетил]-[Leu301,Arg309,Glu312,Lys324]-P-ЛНП-(293-332)-пептидил)-N{эпсилон}[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-(15-карбоксипентадеканоиламино)бутаноил]-амино]этокси]

этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]Lys



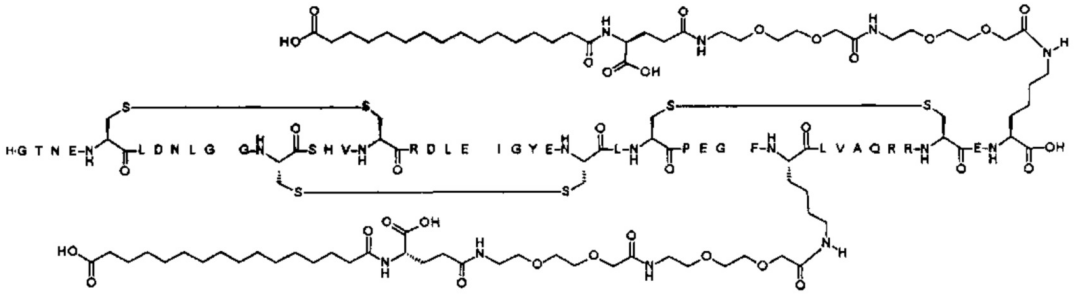
Основная цепь этого пептида представляет собой SEQ ID NO: 72

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС34: m/4 измер. = 1974,6; m/5 измер. = 1183,9; Масса расч. = 5915,7

Пример 153

N{Альфа}(N{эпсилон-324}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-(15-карбоксипентадеканоиламино)бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]-ацетил [Leu301,Arg309,Glu312,Glu321,Lys324]-P-ЛНП-(293-332)-пептидил)-N-{эпсилон}[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-(15-карбоксипентадеканоиламино)-бутаноил]амино]этокси] этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]Lys



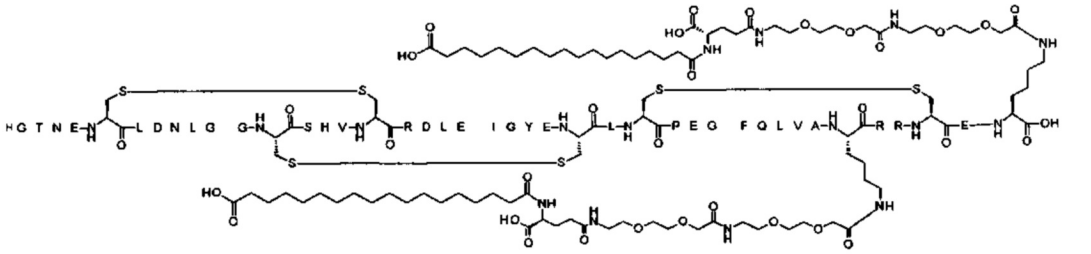
Основная цепь этого пептида представляет собой SEQ ID NO: 105

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-01: m/4 измер. = 1483,3 m/5 измер. = 1186,8 Масса расч. = 5929,8

Пример 154

N{Альфа}(N{эпсилон-328}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксигептадеканоиламино)бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]-ацетил]-[Leu301,Arg309,Glu312,Glu321,Lys328]-P-ЛНП-(293-332)-пептидил)-N-{эпсилон}[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-(17-карбоксигептадеканоил-амино)бутаноил]амино]этокси] этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]Lys



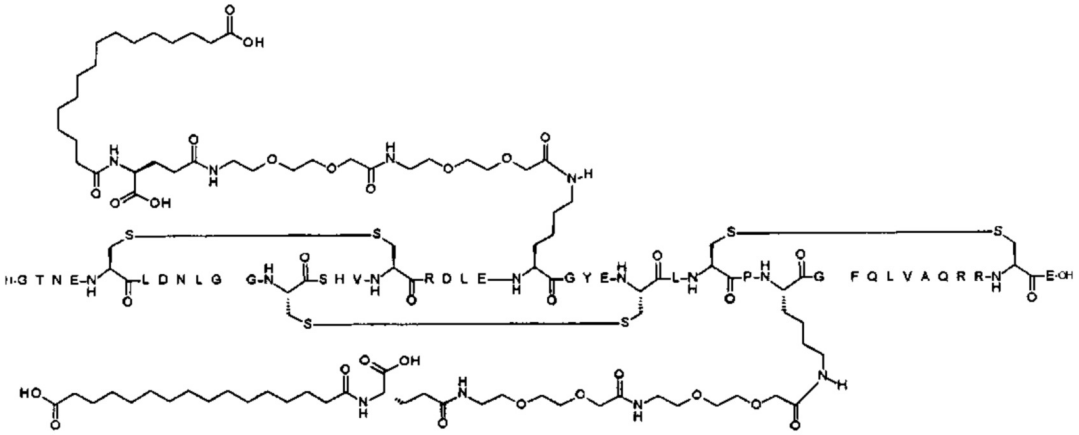
Основная цепь этого пептида представляет собой SEQ ID NO: 104

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-01: m/4 измер. = 1497,3; m/5 измер. = 1198,2; Масса расч. = 5985,9

Пример 155

N{эпсилон-313}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-(15-карбоксипентадеканоил-амино)бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил],N-{эпсилон-321}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-(15-карбоксипентадеканоил-амино)бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]-[Leu301,Arg309,Glu312,Lys313,Lys321]-P-ЛНП-(293-332)-пептид



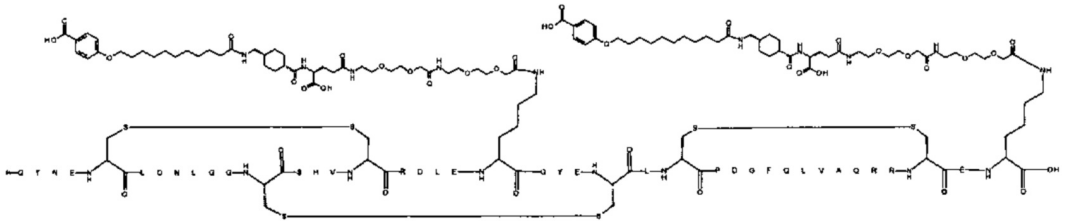
Основная цепь этого пептида представляет собой SEQ ID NO: 72

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-01: m/4 измер. = 1454,7; m/5 измер. = 1164,0 Масса расч. = 5815,6

Пример 156

N{Альфа}(N{эпсилон-313}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[[4-[[11-(4-карбоксифенокси)ундеканоиламино]метил]циклогексанкарбонил]амино]бутаноил]амино]-этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]-[Leu301,Arg309,Glu312,Lys313]-P-ЛНП-(293-332)-пептидил)-N{эпсилон}[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[[4-[[11-(4-карбоксифенокси)ундеканоиламино]метил]циклогексанкарбонил]амино]-бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]Lys



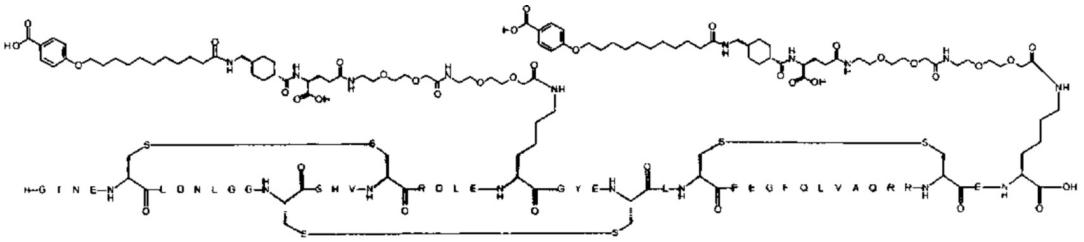
Основная цепь этого пептида представляет собой SEQ ID NO: 32

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-27: m/3 измер. = 2094,6; m/4 измер. = 1571,2; Масса расч. = 6281,1

Пример 157

N{Альфа}(N{эпсилон-313}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[[4-[[11-(4-карбоксифенокси)ундеканоиламино]метил]циклогексанкарбонил]амино]бутаноил]амино]-этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]-[Leu301,Arg309,Glu312,Lys313,Glu321]-P-ЛНП-(293-332)-пептидил)-N{эпсилон}[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[[4-[[11-(4-карбоксифенокси)ундеканоиламино]метил]циклогексанкарбонил]-амино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]этокси]ацетил]Lys



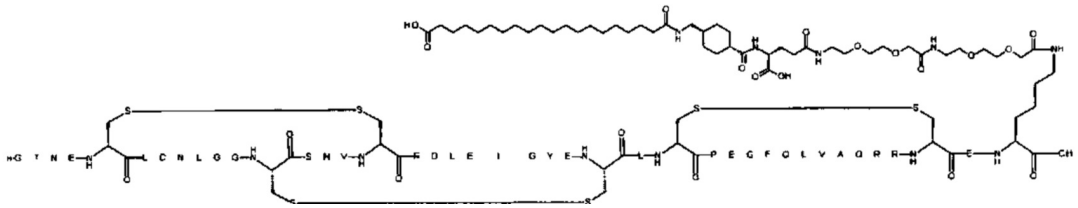
Основная цепь этого пептида представляет собой SEQ ID NO: 98

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-27: m/3 измер. = 2099,3; m/4 измер. = 1574,7; Масса расч. = 6295,1

Пример 158

N{Альфа}([Leu301,Arg309,Glu312,Glu321]-P-ЛНП-(293-332)-пептидил)-N{эпсилон}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[[4-[(19-карбоксинонадеканоиламино)метил]-циклогексанкарбонил]амино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]-этокси]ацетил]Lys



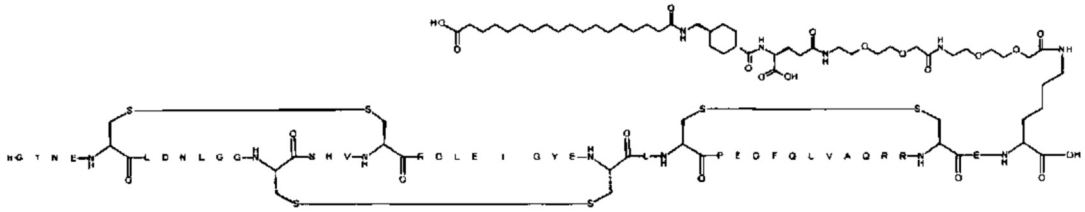
Основная цепь этого пептида представляет собой SEQ ID NO: 19

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-27: m/3 измер. = 1813,2; m/4 измер. = 1360,2; m/5 измер. = 1088,3; Масса расч. = 5437,2

Пример 159

N{Альфа}([Leu301,Arg309,Glu312,Glu321]-P-ЛНП-(293-332)-пептидил)-N{эпсилон}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-карбокси-4-[[4-[(17-карбоксигептадеканоиламино)метил]-циклогексанкарбонил]амино]бутаноил]амино]этокси]этокси]ацетил]амино]этокси]-этокси]ацетил]Lys



Основная цепь этого пептида представляет собой SEQ ID NO: 19

Соединение получали общим способом B

ЖХ-МС-27: m/3 измер. = 1803,9; m/4 измер. = 1353,1; m/5 измер. = 1082,7; Масса расч. = 5409,2

Таблица 4. Сводная таблица по Примерам соединений 1-159

Пример №	Модиф. последовательности	Заместитель	Место присоединения
1	299A, 301L, 307I, 309R, 310K	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo-NH-CH_2-(C_6H_4)-CH_2-	N-конец
2	301L, 309R	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo-NH-CH_2-(C_6H_4)-CH_2-	N-конец
3	301L, 309R, 312E, 333K	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	333K
4	301L, 309R	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	312K
5	301L, 309R, 312E	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo-NH-CH_2-(C_6H_4)-CH_2-	N-конец
6	299K, 301L, 309R, 312E	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	299K
7	301L, 309R, 312E, 330K	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	330K
8	301L, 309R, 312E	HOS(O)2-(CH2)15-CO-gGlu-2xAdo-NH-CH_2-(C_6H_4)-CH_2-	N-конец
9	301L, 309R, 312E, 330K	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	N-конец, 330K
10	301L, 309R, 312E, 332K	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	332K
11	293K, 301L, 309R, 312E	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	293K
12	293K, 301L, 309R, 312E, 333K	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	293K, 333K
13	293K, 301L, 309R,	4-HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_{10}$-CO-gGlu-	293K, 333K

Пример №	Модиф. последовательности	Заместитель	Место присоединения
	312E, 333K	2xAdo	
14	301L, 309R, 312E, 332K, 333K	4-HOOC-(C_6H_4)-O-(CH_2)$_{10}$-CO-gGlu-2xAdo	332K, 333K
15	301L, 309R, 312E, 330K, 333K	4-HOOC-(C_6H_4)-O-(CH_2)$_{10}$-CO-gGlu-2xAdo	330K, 333K
16	301L, 309R, 312E, 321K, 333K	4-HOOC-(C_6H_4)-O-(CH_2)$_{10}$-CO-gGlu-2xAdo	321K, 333K
17	301L, 309R, 333K	4-HOOC-(C_6H_4)-O-(CH_2)$_{10}$-CO-gGlu-2xAdo	312K, 333K
18	301L, 309R, 312E, 321E, 333K	HOOC-(CH_2)$_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	333K
19	301L, 309R, 312E	HOOC-(CH_2)$_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	N-конец
20	301L, 309R, 312E, 321K	HOOC-(CH_2)$_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	321K
21	301L, 309R, 312E, 324K	HOOC-(CH_2)$_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	324K
22	301L, 309R, 312Q	HOOC-(CH_2)$_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	N-конец
23	301L, 309R, 312E, 321E, 332K	HOOC-(CH_2)$_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	332K
24	293K, 301L, 309R, 312E, 321E	HOOC-(CH_2)$_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	293K
25	293K, 301L, 309R, 312E	HOOC-(CH_2)$_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	N-конец, 293K
26	300K, 301L, 309R, 312E	HOOC-(CH_2)$_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	300K
27	293K, 294K, 301L, 309R, 312E	4-HOOC-(C_6H_4)-O-(CH_2)$_{10}$-CO-gGlu-2xAdo	293K, 294K
28	293K, 301L, 309R	4-HOOC-(C_6H_4)-O-(CH_2)$_{10}$-CO-gGlu-2xAdo	293K, 312K
29	301L, 309K, 312E	HOOC-(CH_2)$_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	309K
30	301L, 309R, 312E, 318K	HOOC-(CH_2)$_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	318K
31	301L, 309R, 312E, 313K, 333K	4-HOOC-(C_6H_4)-O-(CH_2)$_{10}$-CO-gGlu-2xAdo	313K, 333K
32	301L, 309R, 312E, 326K	HOOC-(CH_2)$_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	326K
33	301L, 309R, 312E, 325K	HOOC-(CH_2)$_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	325K
34	301L, 309R, 312E, 323K	HOOC-(CH_2)$_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	323K
35	301L, 309R, 312E, 322K	HOOC-(CH_2)$_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	322K
36	301L, 309R, 312E, 320K	HOOC-(CH_2)$_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	320K
37	301L, 309R, 312E, 329K	HOOC-(CH_2)$_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	329K
38	301L, 309R, 312E, 313K	HOOC-(CH_2)$_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	313K
39	301L, 309R, 312E,	HOOC-(CH_2)$_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	328K

Пример №	Модиф. последовательности	Заместитель	Место присоединения
	328K		
40	301L, 309R, 312E, 316K	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	316K
41	301L, 309R, 312E, 315K	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	315K
42	300H, 301L, 309R, 312R, 333K	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	333K
43	301L, 309R, 312E, 314K	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	314K
44	301L, 309R, 311K, 312E	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	311K
45	301L, 307K, 309R, 312E	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	307K
46	301L, 309S, 312R, 333K	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	333K
47	301L, 309S, 312E, 333K	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	333K
48	299A, 301L, 307I, 309R, 310K		
49	301L, 309R		
50	301L, 309R, 312E		
51	301L, 306Y, 309S, 312E	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	N-конец
52	293N, 301L, 309S, 312E	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	N-конец
53	301L, 306K, 309R, 312E	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	306K
54	301L, 305K, 309R, 312E	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	305K
55	301L, 303K, 309R, 312E	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	303K
56	301L, 302K, 309R, 312E	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	302K
57	293N, 300H, 301L, 309R, 312R, 333K	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	333K
58	301K, 309R, 312E	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	301K
59	298K, 301L, 309R, 312E	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	298K
60	293N, 301L, 309R, 312R, 333K	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	333K
61	301L, 307I, 332K	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	332K
62	301L, 306Y, 312E, 332K	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	332K
63	301L, 307I, 312E, 332K	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	332K
64	300H, 301L, 309R	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo-NH-CH2-(C6H4)-CH2-	N-конец
65	300P, 301L, 307I, 309R, 312E	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	N-конец

Пример №	Модиф. последовательности	Заместитель	Место присоединения
66	293N, 301L, 307I, 309R, 312D, 333K	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	333K
67	293N, 301L, 309R, 312D, 333K	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	333K
68	301L, 309R, 312E	Тетразолил-$(CH_2)_{15}$-CO-NH-SO_2-$(CH_2)_3$-CO-Ado-Ado-NH-CH_2-(C_6H_4)-CH_2-	N-конец
69	301L, 309R, 312E, 328K, 329H	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	328K
70	295D, 301L, 309R, 312E, 332K	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	332K
71	300H, 301L, 309R	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	312K
72	300H, 301L, 307I, 309R, 312E	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	N-конец
73	296K, 301L, 309R, 312E	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	296K
74	294K, 301L, 309R, 312E	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	294K
75	292K, 301L, 309R, 312E	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	292K
76	des293, 294G, 301L, 309R, 312E, 328K	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	328K
77	301L, 306D, 309R, 312E, 324G, 333K	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	333K
78	301L, 306D, 309R, 312E, 333K	4-HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_{10}$-CO-gGlu-3xAdo и 4-HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_{10}$-CO-gGlu-2xAdo	N-конец, 333K
79	301L, 309R, 312E, 321K, 333K	4-HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_9$-CO-gGlu-2xAdo	321K, 333K
80	301L, 309R, 312E, 333K	HOOC-$(CH_2)_{14}$-CO-gGlu-2xAdo	333K
81	301L, 309R, 312E, 333K	HOOC-$(CH_2)_{18}$-CO-gGlu-2xAdo	333K
82	301L, 309R, 312E, 333K	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu	333K
83	301L, 309R, 312E, 321K, 333K	HOOC-$(CH_2)_{12}$-CO-gGlu-2xAdo	321K, 333K
84	301L, 309R, 312E, 321K, 333K	HOOC-$(CH_2)_{14}$-CO-gGlu-2xAdo	321K, 333K
85	300H, 301L, 309R, 312E, 313K, 333K	4-HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_9$-CO-gGlu-2xAdo	313K, 333K
86	301L, 309R, 312E, 313K, 328K	4-HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_{10}$-CO-gGlu-2xAdo	313K, 328K
87	301L, 309R, 312E, 313K, 324K	4-HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_{10}$-CO-gGlu-2xAdo	313K, 324K
88	301L, 309R, 312E, 313K	4-HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_{10}$-CO-gGlu-2xAdo	N-конец, 313K
89	301L, 309R, 312E,	4-HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_{10}$-CO-gGlu-	324K, 333K

Пример №	Модиф. последовательности	Заместитель	Место присоединения
	324K, 333K	2xAdo	
90	301L, 309R, 312E, 313K, 321K	4-HOOC-(C_6H_4)-O-(CH_2)$_{10}$-CO-gGlu-2xAdo	313K, 321K
91	des293, 300H, 301L, 309R, 312E, 313K, 333K	4-HOOC-(C_6H_4)-O-(CH_2)$_9$-CO-gGlu-2xAdo	313K, 333K
92	300H, 301L, 309R, 312E, 313K, 333K	4-HOOC-(C_6H_4)-O-(CH_2)$_{10}$-CO-gGlu-2xAdo	313K, 333K
93	292A, 301L, 309R, 312E, 313K	4-HOOC-(C_6H_4)-O-(CH_2)$_{10}$-CO-gGlu-2xAdo	N-конец, 313K
94	des293, 301L, 309R, 312E, 313K	4-HOOC-(C_6H_4)-O-(CH_2)$_{10}$-CO-gGlu-2xAdo	N-конец, 313K
95	des293, 301L, 309R, 312E, 313K	HOOC-(CH_2)$_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	313K
96	301L, 309R, 312E, 313K, 332K	4-HOOC-(C_6H_4)-O-(CH_2)$_{10}$-CO-gGlu-2xAdo	313K, 332K
97	301L, 309R, 312E, 328K, 333K	4-HOOC-(C_6H_4)-O-(CH_2)$_{10}$-CO-gGlu-2xAdo	328K, 333K
98	301L, 309R, 312E, 313K, 333K	4-HOOC-(C_6H_4)-O-(CH_2)$_{10}$-CO-gGlu	313K, 333K
99	301L, 309R, 312E, 313K, 333K	4-HOOC-(C_6H_4)-O-(CH_2)$_{10}$-CO-2xgGlu	313K, 333K
100	301L, 309R, 312E, 313K, 333K	4-HOOC-(C_6H_4)-O-(CH_2)$_{10}$-CO-gGlu-3xGly	313K, 333K
101	301L, 309R, 312E, 313K, 333K	4-HOOC-(C_6H_4)-O-(CH_2)$_{10}$-CO-2xgGlu-2xAdo	313K, 333K
102	301L, 309R, 312E, 313K, 333K	3-HOOC-(C_6H_4)-O-(CH_2)$_9$-CO-gGlu-2xAdo	313K, 333K
103	299A, 301L, 307I, 309R		
104	301L, 309R, 310K		
105	301L		
106	300H, 301L, 309R, 312E, 333K	HOOC-(CH_2)$_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	333K
107	301L, 309R, 312E, 333K	4-HOOC-(C_6H_4)-O-(CH_2)$_{10}$-CO-gGlu-2xAdo	N-конец, 333K
108	des293-294, 300H, 301L, 309R, 312E, 313K, 333K	4-HOOC-(C_6H_4)-O-(CH_2)$_9$-CO-gGlu-2xAdo	313K, 333K
109	300H, 301L, 309R, 312E, 313K, 333K	3-HO-изоксазол-(CH_2)$_{12}$-CO-gGlu-2xAdo	313K, 333K
110	301L, 309R, 312E, 313K, 333K	3-HO-изоксазол-(CH_2)$_{12}$-CO-gGlu-2xAdo	313K, 333K
111	301L, 309K, 312E, 333K	4-HOOC-(C_6H_4)-O-(CH_2)$_{10}$-CO-gGlu-2xAdo	309K, 333K
112	301L, 306Y, 312E, 324K, 333K	4-HOOC-(C_6H_4)-O-(CH_2)$_{10}$-CO-gGlu-2xAdo	324K, 333K
113	300H, 301L, 309R, 312E, 314K, 333K	4-HOOC-(C_6H_4)-O-(CH_2)$_{10}$-CO-gGlu-2xAdo	314K, 333K

Пример №	Модиф. последовательности	Заместитель	Место присоединения
114	294W, 301L, 309R, 312E, 333K	4-HOOC-(C_6H_4)-O-(CH_2)$_{10}$-CO-gGlu-2xAdo	N-конец, 333K
115	301L, 309K, 312E, 328K	4-HOOC-(C_6H_4)-O-(CH_2)$_{10}$-CO-gGlu-2xAdo	309K, 328K
116	301L, 309K, 312E, 313K	4-HOOC-(C_6H_4)-O-(CH_2)$_{10}$-CO-gGlu-2xAdo	309K, 313K
117	des293, 301L, 309R, 312E, 333K	4-HOOC-(C_6H_4)-O-(CH_2)$_{10}$-CO-gGlu-2xAdo	N-конец, 333K
118	301L, 309R, 312E, 324K, 328K	4-HOOC-(C_6H_4)-O-(CH_2)$_{10}$-CO-gGlu-2xAdo	324K, 328K
119	292A, 301L, 309R, 312E, 333K	4-HOOC-(C_6H_4)-O-(CH_2)$_{10}$-CO-gGlu-2xAdo	N-конец, 333K
120	301L, 306Y, 309R, 312E, 313K, 333K	4-HOOC-(C_6H_4)-O-(CH_2)$_{10}$-CO-gGlu-2xAdo	313K, 333K
121	301L, 309R, 312E, 332K	4-HOOC-(C_6H_4)-O-(CH_2)$_{10}$-CO-gGlu-2xAdo	N-конец, 332K
122	301L, 309R, 312E, 328K	4-HOOC-(C_6H_4)-O-(CH_2)$_{10}$-CO-gGlu-2xAdo	N-конец, 328K
123	301L, 309R, 312E, 324K	4-HOOC-(C_6H_4)-O-(CH_2)$_{10}$-CO-gGlu-2xAdo	N-конец, 324K
124	301L, 309K, 312E, 332K	4-HOOC-(C_6H_4)-O-(CH_2)$_{10}$-CO-gGlu-2xAdo	309K, 332K
125	301L, 309K, 312E, 324K	4-HOOC-(C_6H_4)-O-(CH_2)$_{10}$-CO-gGlu-2xAdo	309K, 324K
126	301L, 309K, 312E	4-HOOC-(C_6H_4)-O-(CH_2)$_{10}$-CO-gGlu-2xAdo	N-конец, 309K
127	301L, 309R, 312E, 321K, 332K	4-HOOC-(C_6H_4)-O-(CH_2)$_{10}$-CO-gGlu-2xAdo	321K, 332K
128	301L, 309R, 312E, 313K, 333K	HOOC-(CH_2)$_{14}$-CO-gGlu-2xAdo	313K, 333K
129	301L, 309R, 312E, 313K, 333K	HOOC-(CH2)14-CO-gGlu	313K, 333K
130	300H, 301L, 309R, 312E, 313K, 332K	4-HOOC-(C_6H_4)-O-(CH_2)$_{10}$-CO-gGlu-2xAdo	313K, 332K
131	301L, 309R, 312E, 313K, 333K	4-HOOC-(C_6H_4)-O-(CH_2)$_{10}$-CO-gGlu-TtdSuc	313K, 333K
132	301L, 309R, 312E, 313K, 321E, 332K	4-HOOC-(C_6H_4)-O-(CH_2)$_{10}$-CO-gGlu-TtdSuc	313K, 332K
133	301L, 309R, 312E, 313K, 321E, 333K	4-HOOC-(C_6H_4)-O-(CH_2)$_{10}$-CO-gGlu-2xAdo	313K, 333K
134	301L, 309R, 312E, 321E, 333K	HOOC-(CH_2)$_{18}$-CO-gGlu-2xAdo	333K
135	301L, 309R, 312E, 313K, 314K	4-HOOC-(C_6H_4)-O-(CH_2)$_{10}$-CO-gGlu-2xAdo	313K, 314K
136	301L, 309R, 313K	4-HOOC-(C_6H_4)-O-(CH_2)$_{10}$-CO-gGlu-2xAdo	312K, 313K
137	301L, 309R, 314K	4-HOOC-(C_6H_4)-O-(CH_2)$_{10}$-CO-gGlu-2xAdo	312K, 314K
138	301L, 309R, 311K, 312E, 313K	4-HOOC-(C_6H_4)-O-(CH_2)$_{10}$-CO-gGlu-2xAdo	311K, 313K

Пример №	Модиф. последовательности	Заместитель	Место присоединения
139	300H, 301L, 309R, 312E, 313K, 333K	4-HOOC-(C_6H_4)-O-(CH_2)$_9$-CO	313K, 333K
140	301L, 309R, 312E, 313K, 333K	Тетразолил-(CH_2)$_{12}$-CO-gGlu-2xAdo	313K, 333K
141	301L, 309R, 312E, 313K, 333K	HOS(O)$_2$-(CH_2)$_{13}$-CO-gGlu-2xAdo	313K, 333K
142	301L, 309R, 312E, 313K, 333K	MeS(O)$_2$NH(CO)NH-(CH_2)$_{12}$-CO-gGlu-2xAdo	313K, 333K
143	301L, 309R, 312E, 313K, 321E, 333K	4-HOOC-(C_6H_4)-O-(CH_2)$_{10}$-CO-gGlu	313K, 333K
144	301L, 309R, 312E, 313K, 321E, 333K	HOOC-(CH_2)$_{14}$-CO-gGlu-2xAdo	313K, 333K
145	301L, 309R, 312E, 313K, 333K	Тетразолил-(CH_2)$_{15}$-CO-gGlu-2xAdo	313K, 333K
146	301L, 309R, 312E, 313K, 321E, 333K	HOOC-(CH_2)$_{14}$-CO-gGlu	313K, 333K
147	300H, 301L, 309R, 312E, 313K, 321E, 333K	4-HOOC-(C_6H_4)-O-(CH_2)$_{10}$-CO-gGlu-2xAdo	313K, 333K
148	301L, 309R, 312E, 313K, 333K	4-HOOC-(C_6H_4)-O-(CH_2)$_{10}$-CO-gGlu-4xAdo	313K, 333K
149	des293, 300H, 301L, 309R, 312E, 313K, 333K	4-HOOC-(C_6H_4)-O-(CH_2)$_{10}$-CO-gGlu-2xAdo	313K, 333K
150	301L, 309R, 312E, 328K, 333K	HOOC-(CH_2)$_{14}$-CO-gGlu-2xAdo	328K, 333K
151	301L, 309R, 312E, 321E, 328K, 333K	HOOC-(CH_2)$_{14}$-CO-gGlu-2xAdo	328K, 333K
152	301L, 309R, 312E, 324K, 333K	HOOC-(CH_2)$_{14}$-CO-gGlu-2xAdo	324K, 333K
153	301L, 309R, 312E, 321E, 324K, 333K	HOOC-(CH_2)$_{14}$-CO-gGlu-2xAdo	324K, 333K
154	301L, 309R, 312E, 321E, 328K, 333K	HOOC-(CH_2)$_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	328K, 333K
155	301L, 309R, 312E, 313K, 321K	HOOC-(CH_2)$_{14}$-CO-gGlu-2xAdo	313K, 321K
156	301L, 309R, 312E, 313K, 333K	4-HOOC-(C_6H_4)-O-(CH_2)$_{10}$-CO-Trx-gGlu-2xAdo	313K, 333K
157	301L, 309R, 312E, 313K, 321E, 333K	4-HOOC-(C_6H_4)-O-(CH_2)$_{10}$-CO-Trx-gGlu-2xAdo	313K, 333K
158	301L, 309R, 312E, 321E, 333K	HOOC-(CH_2)$_{18}$-CO-Trx-gGlu-2xAdo	333K
159	301L, 309R, 312E, 321E, 333K	HOOC-(CH_2)$_{16}$-CO-Trx-gGlu-2xAdo	333K

D. Общие способы характеристики

D.1.1 Конкурентный ИФА связывания ПКСК9-Р-ЛНП

Цель данного исследования - измерить кажущуюся аффинность связывания соединений ЭФР(А) с пропротеинконвертазой 9-го субтилизин-кексинового типа (ПКСК9).

Благодаря их способности ингибировать взаимодействие ПКСК9 с Р-ЛНП, соединения по настоящему изобретению можно также обозначать как ингибиторы ПКСК9.

За сутки до эксперимента рекомбинантный человеческий рецептор липопротеинов

низкой плотности (рчР-ЛНП; полученный в клетках NSO; R&D systems #2148-LD) растворяли в концентрации 1 мкг/мл в 50 мМ карбонате натрия (pH 9,6) и затем по 100 мкл этого раствора добавляли в каждую лунку планшетов для анализа (Maxisorp 96, NUNC #439454) и оставляли для покрытия лунок на ночь при 4°C. В день экспериментов готовили в дупликатах 8 точек концентраций для построения кривой соединений ЭФР (А), содержащих биотинилированную ПКСК9 (0,5 мкг/мл, BioSite/BPSBioscience кат. №71304). Получали смеси соединения ЭФР(А) и биотинилированной ПКСК9 и инкубировали в течение 1 ч при комнатной температуре в буфере для анализа, содержащем 25 мМ ГЭПЭС, pH 7,2 (15630-056, 100 мл, 1М), 150 мМ NaCl (Emsure 1.06404.1000), 1% ЧСА (Sigma A1887-25G), 0,05% Tween 20 (Calbiochem 655205), 2 мМ $CaCl_2$ (Sigma 223506-500G). Планшеты для анализа с нанесенным покрытием затем промывали 4×200 мкл буфером для анализа, и затем на планшет вносили по 100 мкл смеси соединений ЭФР(А) и биотинилированной ПКСК9 и инкубировали 2 ч при комнатной температуре. Планшеты промывали 4×200 мкл буфером для анализа и затем инкубировали со стрептавидин-ПХ (пероксидаза хрена) (25 нг/мл; VWR #14-30-00) в течение 1 ч при комнатной температуре. Реакцию проявляли внесением 50 мкл реактива TMB-on (KEM-EN-TEC) и инкубацией 10 мин в темноте. Затем реакцию останавливали добавлением к смеси 50 мкл 4 М H_3PO_4, которую вносили электронным мультидозатором. Затем планшеты считывали на приборе Spectramax при 450 и 620 нм в пределах 1 ч. Для вычета фона применяли считывание при 620 нм. Рассчитывали значения IC50 в программе Graphpad Prism с помощью нелинейной регрессии log (ингибитора) против угла наклона отклика (четырехпараметрическая), и преобразовывали их в величины Ki по следующей формуле: Ki=IC50/(1+(биотин-ПКСК9)/(kd(биотин-ПКСК9))), где Kd (биотин-ПКСК9) составляет 1,096727714 мкг/мл, а [Биотин-ПКСК9]=0,5 (мкг/мл).

Результаты показаны ниже в Табл. 5.1-5.5. Более высокие значения Ki соответствуют более низким кажущимся аффинностям связывания с ПКСК9, и наоборот. Следует заметить, что для нескольких соединений показана Ki, которая существенно выше, чем значение, измеренное для ЭФР66, например значение выше 500 нМ, что говорит о том, что наблюдаемое связывание не является специфическим. Как аминокислотная замена пептида, так и/или одно или более введение производных боковой цепи может способствовать потере связывания с Р-ЛНП. В целом, большое число исследованных соединений ЭФР(А) показало способность ингибировать ПКСК9 в связывании с чР-ЛНП.

Пептиды - ингибиторы ПКСК9

Сначала исследовали группу пептидов, включающих различные аминокислотные замены, как описано в разделе D1.1, и эти результаты представлены в Табл. 5.1.

Таблица 5.1. Кажущаяся аффинность связывания (Ki) для пептидов ПКСК9

Пример №	Пептидный вариант	Ki (нМ)
Дикого типа	-	-
48	299A, 301L, 307I, 309R, 310K	9,4
103	299A, 301L, 307I, 309R	0,9
104	301L, 309R, 310K	7,3
49	301L, 309R	1,2
105	301L	2,8
50	301L, 309R, 312E	1,1

ЭФР66, идентифицированный как наиболее активный пептидный вариант в WO 2012177741, содержит 5 мутаций. Как показано выше, авторы настоящего изобретения обнаружили, что некоторые из этих мутаций не имеют большого значения для величины EC50, определяемой в анализе, описанном в D1.1. В частности, авторы настоящего изобретения обнаружили, что соединения, включающие остаток Asp(D) дикого типа в положении 310, имели более высокие активности, чем соединения с 310K. Оказалось также, что ключевой аминокислотой заменой является 301L, предпочтительно в комбинации с 309R. В конечном итоге 307I и 299A вносили лишь умеренный вклад в аффинность пептидов.

N-концевое присоединение заместителя

В следующем эксперименте исследовали, влияет ли присоединение к пептидам группы, увеличивающей период полувыведения, например заместителя, на величину EC50, определяемую в ходе анализа, описанного в D.1.1. Как описано в настоящем документе, заместитель можно присоединить с помощью различных технологий, и авторы настоящего изобретения изначально решили применять присоединение через атом азота посредством N-концевой аминокислоты пептида. Как описано в разделе B, этого достигали путем ацилирования (в растворе или на смоле) и алкилирования.

Как видно из Табл. 5.2, все исследованные соединения имеют значение Ki ниже 3,0, что говорит в пользу того, что допустимы различные протракторы и элементов линкера. Это было неожиданным, поскольку на активности обычно отрицательно сказывается присоединение боковой цепи, что прежде наблюдалось для GLP-1-подобных пептидов.

Таблица 5.2. Кажущаяся Ki для замещенных по N-концу пептидов ПКСК9

Пр. №	Пептидный вариант	Присоединение	Ki (нМ)
1.	299A, 301L, 307I, 309R, 310K	Алкилирование	н/о
2	301L, 309R	Алкилирование	1,7
64	300H, 301L, 309R	Алкилирование	0,7
5	301L, 309R, 312E	Алкилирование	1,3
8	301L, 309R, 312E	Алкилирование	1,2
19	301L, 309R, 312E	Ацилирование	1,7
68	301L, 309R, 312E	Алкилирование	0,8
22	301L, 309R, 312Q	Ацилирование	2,6
51	301L, 306Y, 309S, 312E	Ацилирование	1,6
52	293N, 301L, 309S, 312E	Ацилирование	2,1
65	300P, 301L, 307I, 309R, 312E	Ацилирование	>1000
72	300H, 301L, 307I, 309R, 312E	Ацилирование	2,8

Присоединение заместителя по Lys

Для оценки альтернативных положений для присоединения заместителя к пептиду-ингибитору ПКСК9, была получена серия соединений. Применяли основную пептидную цепь, включающую три аминокислотные замены: N301L, N309R и K312E, за исключением Пр. 58, 29 и 4, в комбинации с заменой Lys в различных положениях. Все исследованные соединения включали 6 аминокислот цистеина в положениях 297, 304, 308, 317, 319, 331, которые обычно участвуют в образовании цистеиновых дисульфидных мостиков. Остаток 312E включен для гарантии сайт-специфической замены, за исключением Примера 4, где проводили присоединение к 312K дикого типа. Также исследовали удлинение пептида за счет одного Lys (Пр. 75 и 3). Для всех соединений применяли такой же заместитель, как описано выше, включающий протрактор C18-двухосновной кислоты и линкер gGlu-2xAdo, и присоединяли его путем ацилирования. Результаты представлены в Табл. 5.3.

Таблица 5.3. Кажущаяся Ki для производных ПКСК, полученных за счет заместителя, присоединенного через остаток Lys

Пр. №	Пептидный вариант	Сайт присоединения	Ki (нМ)
75	292K, 301L, 309R, 312E	292K	1,5
11	293K, 301L, 309R, 312E	293K	2,4
74	294K, 301L, 309R, 312E	294K	1,4
73	296K, 301L, 309R, 312E	296K	8,9
59	298K, 301L, 309R, 312E	298K	610,7
6	299K, 301L, 309R, 312E	299K	3,3
26	300K, 301L, 309R, 312E	300K	1,3
58	301K, 309R, 312E	301K	1000,0
56	301L, 302K, 309R, 312E	302K	1032,0
55	301L, 303K, 309R, 312E	303K	1,7
54	301L, 305K, 309R, 312E	305K	2,1
53	301L, 306K, 309R, 312E	306K	1,7
45	301L, 307K, 309R, 312E	307K	1000,0
29	301L, 309K, 312E	309K	0,8
44	301L, 309R, 311K, 312E	311K	1,0
4	301L, 309R	312K	1,2

Пр. №	Пептидный вариант	Сайт присоединения	Ki (нМ)
38	301L, 309R, 312E, 313K	313K	0,8
43	301L, 309R, 312E, 314K	314K	0,9
41	301L, 309R, 312E, 315K	315K	3,0
40	301L, 309R, 312E, 316K	316K	1,6
30	301L, 309R, 312E, 318K	318K	2,0
36	301L, 309R, 312E, 320K	320K	5,5
20	301L, 309R, 312E, 321K	321K	2,0
35	301L, 309R, 312E, 322K	322K	1,5
34	301L, 309R, 312E, 323K	323K	1,7
21	301L, 309R, 312E, 324K	324K	0,9
33	301L, 309R, 312E, 325K	325K	1,4
32	301L, 309R, 312E, 326K	326K	1,4
39	301L, 309R, 312E, 328K	328K	0,9
37	301L, 309R, 312E, 329K	329K	1,0
7	301L, 309R, 312E, 330K	330K	1,4
10	301L, 309R, 312E, 332K	332K	1,1
3	301L, 309R, 312E, 333K	333K	0,8

Анализ показал, что большинство пептидов-ингибиторов ПКСК9 сохраняют функциональность. Исключение составляют замена и дериватизация Lys в любом из положений 298, 301, 302 и 307, которые давали нефункциональные пептиды. Также наблюдалось, что введение и замена Lys в положениях 296, 299, 315 и 320K снижало кажущуюся аффинность.

Таким образом, эти данные также подтверждают результаты из Табл. 5.1, свидетельствующие о том, что аминокислотная замена Asn(N) 301 на Leu(L) существенна для связывания.

Не наблюдалось данных по введению и замене Lys в положении 295 и 310. Как описано выше, ранее было обнаружено, что сохранение Asp в положении 310 предпочтительнее, чем замена 310K. Как будет видно далее, также обнаружено, что при введении Asp(D) в положение 295 связывание исчезает (Пр. 70).

В итоге было сделано заключение, что соединения, которые не включают заместитель, присоединенный по любому положению из 295, 298, 302, 307 и 310, или любому положению из 295, 296, 298, 299, 302, 307, 310, 315 и 320 пептида ПКСК9, в общем случае функциональны. Кроме того, сделано заключение, что замена аминокислоты в любом положении из 295, 298, 302 и 310 в общем случае не перспективно. Как видно из Табл. 5.1 и 5.2, мутация V307I кажется ничуть не менее приемлемой или даже более привлекательной в сочетании с 301Leu.

Также было сделано заключение, что пептиды с заменой аминокислоты в одном из положений 295, 296, 298, 302, 310 с вероятностью имеют более низкую функциональность, тогда как замены в положениях 299, 315 и 320, похоже, лишь слегка снижают функциональность. Это, с одной стороны, также дает основание предполагать, что

возможна широкая свобода действий в отношении оставшихся аминокислотных остатков, поскольку замена Lys и присоединение боковой цепи будут влиять на пептиды таким же образом, как и большинство других аминокислотных замен.

Ингибиторы ПКСК9 с двумя заместителями

Был получен ряд соединений с двумя заместителями. Двойную замену можно получить путем ацилирования, алкилирования или их комбинации по N-концевому остатку или Lys(K). И снова, N-концевой может быть аминокислота 293G или вариант аминокислотного остатка, такой как 292A, 293G, 293K и 294T (в случаях, где 293G удален). Эти соединения были получены с различными заместителями, но такие два заместителя на каждом индивидуальном соединении идентичны. Используемая основная цепь в этом исследовании снова включала аминокислотную замену N301L в комбинации с N309R и различные N-концневые замены и/или замены Lys, необходимы для достижения конкретного ацилирования/алкилирования.

Таблица 5.4. Кажущаяся Ki для дважды-замещенных ингибиторов ПКСК9

Пример №	Вариант 301L, 309R, +	Сайты присоединения	Ki (нМ)
9	312E, 330K	N-конец, 330K	2,7
12	293K, 312E, 333K	293K, 333K	2,7
13	293K, 312E, 333K	293K, 333K	2,1
14	312E, 332K, 333K	332K, 333K	1,2
15	312E, 330K, 333K	330K, 333K	1,5
16	312E, 321K, 333K	321K, 333K	1,1
17	333K	312K, 333K	1,8
25	293K, 312E	N-конец, 293K	2,0
27	293K, 294K, 312E	293K, 294K	0,9

Пример №	Вариант 301L, 309R, +	Сайты присоединения	Ki (нМ)
28	293K	293K, 312K	0,8
31	312E, 313K, 333K	313K, 333K	0,5
78	306D, 312E, 333K	N-конец, 333K	2,3
79	312E, 321K, 333K	321K, 333K	1,5
83	312E, 321K, 333K	321K, 333K	1,5
84	312E, 321K, 333K	321K, 333K	1,8
85	300H, 312E, 313K, 333K	313K, 333K	0,9
86	312E, 313K, 328K	313K, 328K	1,1
87	312E, 313K, 324K	313K, 324K	1,0
88	312E, 313K	N-конец, 313K	1,2
89	312E, 324K, 333K	324K, 333K	1,0
90	312E, 313K, 321K	313K, 321K	1,6
91	des293, 300H, 312E, 313K, 333K	313K, 333K	0,9
92	300H, 312E, 313K, 333K	313K, 333K	1,0
93	292A, 312E, 313K	N-конец (292A), 313K	1,2
94	des293, 312E, 313K	N-конец (294T), 313K	0,9
96	312E, 313K, 332K	313K, 332K	1,2
97	312E, 328K, 333K	328K, 333K	1,2
98	312E, 313K, 333K	313K, 333K	0,9
99	312E, 313K, 333K	313K, 333K	1,3
100	312E, 313K, 333K	313K, 333K	1,4
101	312E, 313K, 333K	313K, 333K	0,6
102	312E, 313K, 333K	313K, 333K	0,8
107	312E, 333K	N-конец, 333K	2,6
108	des293-294, 300H, 312E, 313K, 333K	313K, 333K	3,8
109	300H, 312E, 313K, 333K	313K, 333K	1,0
110	312E, 313K, 333K	313K, 333K	1,7
113	300H, 312E, 314K, 333K	314K, 333K	1,6
114	294W, 312E, 333K	N-конец, 333K	3,1
117	des293, 312E, 333K	N-конец, 333K	2,5
118	312E, 324K, 328K	324K, 328K	1,2
119	292A, 312E, 333K	N-конец, 333K	2,1
120	306Y, 312E, 313K, 333K	313K, 333K	1,6
121	312E, 332K	N-конец, 332K	2,1

Пример №	Вариант 301L, 309R, +	Сайты присоединения	Ki (нМ)
122	312E, 328K	N-конец, 328K	2,2
123	312E, 324K	N-конец, 324K	2,0
127	312E, 321K, 332K	321K, 332K	2,4
128	312E, 313K, 333K	313K, 333K	1,0
129	312E, 313K, 333K	313K, 333K	2,6
130	300H, 312E, 313K, 332K	313K, 332K	1,8
131	312E, 313K, 333K	313K, 333K	2,6
132	312E, 313K, 321E, 332K	313K, 332K	1,9
133	301L, 309R, 312E, 313K, 321E, 333K	313K, 333K	1,6
134	312E, 321E, 333K	333K	1,9
135	312E, 313K, 314K	313K, 314K	3,6
136	313K	312K, 313K	2,8
137	314K	312K, 314K	4,7
138	311K, 312E, 313K	311K, 313K	2,5
139	300H, 312E, 313K, 333K	313K, 333K	3,3
140	312E, 313K, 333K	313K, 333K	1,7
141	312E, 313K, 333K	313K, 333K	2,2
142	312E, 313K, 333K	313K, 333K	1,7
143	312E, 313K, 321E, 333K	313K, 333K	1,9
144	312E, 313K, 321E, 333K	313K, 333K	2,09
145	312E, 313K, 333K	313K, 333K	2,6
146	312E, 313K, 321E, 333K	313K, 333K	3,0
147	300H, 312E, 313K, 321E, 333K	313K, 333K	1,5
148	312E, 313K, 333K	313K, 333K	2,5
149	des293, 300H, 312E, 313K, 333K	313K, 333K	1,9
150	312E, 328K, 333K	328K, 333K	2,3
151	312E, 321E, 328K, 333K	328K, 333K	1,8
152	312E, 324K, 333K	324K, 333K	1,9
153	312E, 321E, 324K, 333K	324K, 333K	2,0
154	312E, 321E, 328K, 333K	328K, 333K	1,8
155	312E, 313K, 321K	313K, 321K	1,4
156	312E, 313K, 333K	313K, 333K	1,2
157	312E, 313K, 321E, 333K	313K, 333K	1,3
Пример №	Вариант 301L +	Сайты присоединения	Ki (нМ)
111	309K, 312E, 333K	309K, 333K	1,6

Пример №	Вариант 301L, 309R, +	Сайты присоединения	Ki (нМ)
112	306Y, 312E, 324K, 333K	324K, 333K	1,5
115	309K, 312E, 328K	309K, 328K	1,0
116	309K, 312E, 313K	309K, 313K	1,1
124	309K, 312E, 332K	309K, 332K	1,2
125	309K, 312E, 324K	309K, 324K	1,4
126	309K, 312E	N-конец, 309K	2,8

И снова авторы настоящего изобретения сделали заключение, что такие заместители вполне допустимы в различных положениях и комбинациях.

Дополнительные производные ингибитора ПКСК9

Для дальнейшего изучения роли различных аминокислотных замен в пептидах ПКСК9, были получены и исследованы дополнительные соединения, показанные в Табл. 5.5. Все соединения включают один заместитель, который присоединен через остаток Lys, введенный аминокислотной заменой или удлинением за счет 333K. Основная цепь всех пептидов включает аминокислотную замену N301L и, возможно, одну или более из замен N309R и I312E. Все такие заместители включает жирную двухосновную кислоту, включающую 16-20 атомов углерода, и линкер, представляющий собой либо один только gGlu, либо фрагмент, удлиненный за счет Ado-Ado и/или фрагмента транексамовой кислоты (Trx).

Таблица 5.5. Кажущаяся Ki для дополнительных производных ПКСК9

Пример №	Вариант 301L, 309R, 312E +	Сайты присоединения	Ki (нМ)
18	321E, 333K	333K	1,5
23	321E, 332K	332K	0,9
24	293K, 321E	293K	1,8
69	328K, 329H	328K	1,3
70	295D, 332K	332K	1325
76	des293, 294G, 328K	328K	1,3
77	306D, 324G, 333K	333K	2,2
80	333K	333K	1,9

81	333K	333K	1,4
82	333K	333K	1,9
106	300H, 333K	333K	1,0
134	321E, 333K	333K	1,9
158	321E, 333K	333K	2,3
159	321E, 333K	333K	1,9
Пример №	Вариант 301L, 309R, +	Сайт присоединения	Ki
22	312Q	N-конец	2,6
42	300H, 312R, 333K	333K	0,7
57	293N, 300H, 312R, 333K	333K	0,5
60	293N, 312R, 333K	333K	1,0
66	293N, 307I, 312D, 333K	333K	2,1
67	293N, 312D, 333K	333K	2,0
71	300H	312K	0,9
Пример №	Вариант 301L, 312E, +	Сайт присоединения	Ki
47	309S, 333K	333K	2,7
62	306Y, 332K	332K	0,6
63	307I, 332K	332K	1,4
Пример №	Вариант 301L, +	Сайт присоединения	Ki
46	309S, 312R, 333K	333K	1,3
61	307I, 332K	332K	0,7

Результаты в Табл. 5.5 выше показывают, что внутренний лизин дикого типа в положении 312 может быть замещен на Glu(E), а также Gln(Q), Arg(R) или Asp(D). На основании этой вариации предусматривается, что допускается широкий ряд аминокислотных остатков в положении 312 без влияния на ингибиторную функцию пептида.

Было доказано также, что допустимы и несколько других аминокислотных замен, включающих G293N, T294G, D299A, N300H, H306Y, H306D, N309S, Q324G и R329H, тогда как упомянутые выше N295D и N300P не представляют собой перспективные аминокислотные замены.

D.1.2. Анализ захвата ЛНП в клетках HepG2

Ниже описан альтернативный анализ для определения ингибирующей активности пептидов ПКСК9 и их производных, при котором измеряют захват ЛНП в клетках HepG2.

Принцип анализа: захват ЛНП, в первую очередь, опосредован эндогенно

экспрессируемыми человеческими рецепторами ЛНП (чР-ЛНП), и поэтому способность к захвату ЛНП косвенно представляет собой меру экспрессии Р-ЛНП. Можно дозозависимо снижать количество чР-ЛНП путем инкубации с эндогенным ПКСК9. Таким образом, инкубация ПКСК9 будет снижать способность клеток захватывать молекулы ЛНП. Такое подавление захвата ЛНП можно затем антагонизировать путем добавления соединений, нейтрализующих или ингибирующих связывание ПКСК9/Р-ЛНП. Следовательно, ингибиторы ПКСК9 можно характеризовать по их способности повышать захват ЛНП в присутствии ПКСК9 и, например, противодействию ПКСКЭ-опосредованному снижению активности чР-ЛНП.

Этот анализ проводят на клетках HepG2 (Sigma Aldrich ECACC: № в базе Ace 85011430 (от англ. Animal Cell Culture - Культура животных клеток)), выращенных в 10% липопротеин-дефицитной фетальной сыворотке коровы (ФСК) (Sigma Aldrich #S5394), и измеряли способность клеток захватывать частицы ЛНП, флюоресцентно-меченные с помощью BODIPY (борон-дипиррометилен, от англ. boron-dipyrromethene) (Life technologies Europe BV #L3483).

Протокол анализа: 96-луночные планшеты (Perkin Elmer, ViewPlate-96 Black #60005182) покрывали поли-D-лизином (10 мг/л, Sigma Aldrich #P6407, растворенным в ФСБ (Gibco #14190-094) в течение 1 ч при 37°C в инкубаторе. Затем планшеты промывали 2×100 мкл ФСБ (Gibco #14190-094). Получали тестовые композиции для 8 точек концентраций соединений ЭФР(А) для построения кривой, каждая из которых содержала ПКСК9 (10 мкг/мл), разведенную в среде для анализа (DMEM, Gibco #31966-021), 10% липопротеин-дефицитная фетальная сыворотока коровы (Sigma Aldrich #S5394) и 1% пенициллин/стрептомицин (Cambrex #DE17-602E)), и вносили на планшеты в объеме 50 мкл/лунку.

Через 30-60 мин добавляли 50 ООО HepG2 клеток (Sigma-Aldrich: ECACC: номер в Американской коллекции типовых культур ATCC №85011430, лот: 13B023), разбавленный в среде для анализа в объеме 50 мкл/лунку, и планшеты инкубировали 20 часов (при 37°C, 5% CO_2) в CO_2-проницаемых пластиковых пакетах (Antalis Team, пакет из полиэтилена низкой плотности 120/35×300×0,025 мм #281604). Затем планшеты опорожняли и сразу после этого добавляли в каждую лунку по 50 мкл флюоресцентно-меченые ЛНП (FL-LDL, Life technologies Europe BV #L3483) в концентрации 10 мкг/мл в среде для анализа, и планшеты инкубировали 2 часа (при 37°C, 5% CO_2) в CO_2-проницаемом пластиковом пакете с черным покрытием на крышке для защиты от света. Планшеты опорожняли и промывали 2×100 мкл ФСБ (Gibco #14190-094). Затем добавляли по 100 мкл ФСБ (Gibco #14190-094) и считывали планшеты в течение последующих 15 мин (считывание со стороны дна лунок) со следующими фильтрами: возбуждение (515 нм) / испускание (520 нм) на приборе SpecktraMax M4 (Molecular Probes, Invitrogen Detection Technologies).

Наконец, рассчитывали значения EC50 в программе GraphPad Prism, аппроксимация кривой по нелинейной регрессии, сигмоидальная кривая доза-отклик (изменяемый наклон).

Результаты представлены ниже в Табл. 6. Более низкие значения EC50 соответствуют более высокой способности обращать ПКСК9-опосредованное подавление захвата ЛНП, и наоборот, высокое значение EC50 указывает на соединение с низкой способностью ингибировать ПКСК9-опосредованное подавление захвата ЛНП.

Как можно видеть, большинство соединений демонстрируют значения EC50 в анализе захвата ЛНП, составляющие 100-500 нМ, что указывает на высокую способность соединений обращать ПКСК9-опосредованное подавление захвата ЛНП.

Таблица 6. Данные по захвату ЛНП в клетках HepG2 (EC_{50})

Пример №	захват ЛНП EC_{50} (нМ)	Пример №	захват ЛНП EC_{50} (нМ)	Пример №	Захват ЛНП EC_{50} (нМ)
	н/о		н/о		572
	255		н/о		465
	168		438		316
	302		н/о		539
	220		н/о		1383
	413		261		739
	304		347		247

Пример №	захват ЛНП EC_{50} (нМ)	Пример №	захват ЛНП EC_{50} (нМ)	Пример №	Захват ЛНП EC_{50} (нМ)
	130		411		330
	н/о		197		316
	199		590		191
	401		10000		327
	н/о		248		300
	280		384		201
	161		124		241
	211		311		351
	144		н/о		264
	199		217		334
	172		222		489
	206		н/о		245
	198		123		351
	174		239		892
	357		272		259
	143		2044		218
	160		546		195
	н/о		н/о		220
	358		248		180
	н/о		617		1505
	н/о		203		455
	163		165		2070
	182		337		480
	170		157		546
	224		248		226
	245		185		210
	232		298		126
	252		139		299
	н/о		380		484
	188		114		329
	149		147		718
	156		267		246
	231		375		204
	н/о		257		233
	324		261		н/о
	499		138		н/о
	237		203		н/о
	н/о		167		н/о
	н/о		174		148
	1102		129		391
	1278		112		167
	398		н/о		н/о
	164		н/о		303
	н/о		н/о		178

Пример №	захват ЛНП EC_{50} (нМ)	Пример №	захват ЛНП EC_{50} (нМ)	Пример №	Захват ЛНП EC_{50} (нМ)
	н/о		195		
	н/о		486		
	526		2555		

D.2. Исследование фармакокинетики (ФК) у мышей

Цель данного исследования - измерить ФК-профиль ингибиторов ПКСК9, идентифицированных выше.

Способ:

Использовали самок мышей C57bI/J компании Taconic (Рю, Дания).

Дозирование соединений: соединения дозировали либо подкожно (п/к, 500 нмоль/кг), либо внутривенно (в/в, 250 нмоль/кг) в объеме 5 мкл на грамм массы тела.

Забор образцов крови: образцы крови выборочно забирали в моменты времени 2 мин; 15 мин; 30 мин; 60 мин; 2 часов, 4 часов, 6 часов, 8 часов, 18 часов, 24 часов, 30 часов и 48 часов. Кровь (200 мкл) забирали из подъязычной вены и переносили пробирки с EDTA-покрытием (Microvette® VetMed 200 K3E, Sarstedt #09,1293,100). Выделяли плазму и использовали ее для количественной оценки анти-ПКСК9-пептидов.

Количественное определение: образцы плазмы использовали для количественного определения ингибиторов ПКСК9 с помощью ЖХ-МС.

Отбор образцов и анализ

Плазму дозировали пипеткой в пробирки Micronic на сухом льду и хранили при -20°C до анализа концентрации в плазме соответствующих ингибиторов ПКСК9 с помощью ЖХ-МС. В образцах плазмы (включая образцы стандартной кривой и КК, применяемые для количественного определения неизвестных образцов, приготовленные из контрольной плазмы с введенными в нее ингибиторами ПКСК9 в диапазоне концентраций 0,5-1000 нМ) осаждали белок тремя объемами 100% метанола или ацетонитрила с 1% муравьиной кислотой (в зависимости от анти-ПКСК9 пептида) и центрифугировали (16000×g; 4°C, 20 мин). Супернатанты вводили в хроматографическую систему (TurboFlow Transcend 1250 & 10 valve VIM, Thermo Fisher Scientific), состоящую из колонки для первичной очистки Turboflow Cyclone 0,5×50 мм (Thermo Fischer Scientific) и элюирующей колонки Aeris Peptide 3,6 мкм XB - C18 2,1×50 мм (Phenomenex), выдерживаемых при 60°C. Анти-ПКСК9-пептид элюировали хроматографическим градиентом с помощью подвижных фаз, состоящих из смесей воды и ацетонитрила с 0,1% или 1% муравьиной кислотой (в зависимости от аналога или производного ЭФР (A)). Анти-ПКСК9-пептид детектировали и количественно определяли после инфузии в реальном времени ЖХ-потока в ионную ловушку LTQ OrbiTrap или масс-спектрометр Q Exactive (Thermo Fischer Scientific), оборудованный электроспрэй-интерфейсом, работающим в режиме определения положительных ионов, ESI+.

Расчет ФК-характеристик

Профили концентрация-время в плазме анализировали путем некомпартментного фармакокинетического анализа программе Phoenix WinNonlin 6.4. Проводили обсчет данных как для в/в, так и п/к введния, с помощью Линейной интерполяции линейного метода трапеций, со взвешиванием 1/Y^Y. Биодоступность рассчитывали путем деления величины ППК/дозу для п/к-профиля на величину ППК/Доза для в/в-профиля.

Результаты

Результаты представлены в Табл. 7. В Табл. 7 Tmax указывает на время до достижения максимальной концентрации в плазме исследованного аналога или производного ЭФР

(А). ТЛЛ представляет собой период полувыведения аналога или производного ЭФР (А). СВУ представляет собой среднее время удерживания. F (п/к) представляет собой биодоступность аналога или производного ЭФР(А) после подкожной инъекции. Более высокие значения T½ соответствуют более длительному периоду полувыведения исследованного соединения.

Результаты показывают, что ингибиторы ПКСК9 по настоящему изобретению, в частности аналоги Р-ЛНП(293-332), содержащие в качестве заместителя жирную кислоту, демонстрируют пролонгированный период полувыведения.

Таблица 7. Фармакокинетические характеристики аналогов и производных Р-ЛНП(293-332) у мышей

	Заместитель	T_{max} (ч)	в/в T½ (ч)	п/к T½ (ч)	СВУ (ч)	F (п/к) (%)
Пример 1	Есть (N-конец)	2	16	12	15	99
Пример 48	Нет	0,3	0,2	0,4	0,2	76
Пример 2	Есть (N-конец)	2	14	14	19	100
Пример 3	Есть (через 333K)	4	14	14	19	87
Пример 5	Есть (N-конец)	4	13	17	17	94
Пример 6	Есть (через 299K)	6	11	11	16	100
Пример 13	Есть (через 293K и 333K)	2	6	7,5	11	96
Пример 19	Есть (N-конец)	2	13	14	18	100
Пример 4	Есть (через 312K)	8	14,3	12,8	20,3	54

D.3. Модель провокации с помощью человеческой ПКСК9 (чПКСК9) Цель настоящего исследования - показать изменение в уровне экспрессии рецептора ЛНП в печени мышей в ответ на ингибирующее воздействие анти-ПКСК9-пептида на чПКСК9, вводимую внутривенной инъекцией.

Способ

Здоровым самцам мышей BaIBC или NMRI (Charles River, Германия) делали инъекцию анти-ПКСК9 пептидом, п/к или в/в, и через 15-120 мин после этого делали инъекцию чПКСК9 (Sino Biologicals, Китай) внутривенно в хвостовую вену в дозе 0,4 мг/кг. Через 60 мин после инъекции чПКСК9 животных подвергали анестезии в изофлуране и эвтаназии смещением шейных позвонков. Затем печень быстро удаляли и быстро замораживали в жидком азоте. Образцы печени хранили при -80°С до анализа.

Вестерн-блоттинг Р-ЛНП

Образцы ткани печени (100 мг) гомогенизировали в 500 мкл лизирующего буфера (Life Technology, FNN0011), содержащего смесь ингибиторов фосфатазы: PhosStop (Roche, 04 906 837 001); и смесь ингибиторов протеазы: complete (Roche, 04 693 159 001). Вносили 1 стальную гранулу, после чего ткань гомогенизировали 2,5 мин при 30 Гц. После центрифугирования 5 мин при 5000×g определяли общее содержание белка с помощью набора для определения белка BCA (Pierce, 23225). Эквивалентные количества белка (60 мкг) в буфере для образцов (Life Technology, NP0007) кипятили в течение 10 мин и откручивали 2 мин при 14000 об/мин, после чего вносили в ТРИС-ацетатный гель

Criterion XT 3-8% (BioRad#345-0131) и проводили электрофорез в полиакриламидном геле в присутствии додецилсульфата натрия (ДСН-ПААГ). Белки переносили на нитроцеллюлозную мембрану (iBIot 2 NC Regular stacks, novex #IB23001) согласно инструкции производителя (Life Technology). Эквивалентность переноса белка подтверждали окрашиванием мембран с помощью Ponceau S (Sigma, P7170), и мембраны дополнительно блокировали в блокирующем буфере (ТБС, 2% Tween). Белки Р-ЛНП детектировали с помощью первых кроличьих антител против Р-ЛНП (Cayman Chemical Company #10012422), а белки бета-актина детектировали с помощью первых кроличьих антител против бета-актина (abeam #ab6276). Затем оба белка визуализировали вторыми козьими антителами против кроличьих антител, конъюгированными с пероксидазой хрена (Biorad #170-6516), с помощью реактива WesthernBright Quantum Chemiluminscent (Advansta #K-12042-D10) и получали изображение на камере CCD (LAS3000, FujiFilm). Количественный анализ хемилюминесцентных сигналов от пятен Вестерн-блоттинга осуществляли в программе MultiGauge (Fujifilm).

Результаты

На Фиг. 1 показаны уровни экспрессии печеночного Р-ЛНП, измеренные Вестерн-блоттингом, представленные в виде диаграммы рассеяния для индивидуальных животных, n=3-6. "Носитель-носитель" представляет собой группу здоровых контрольных животных (базовый уровень), "носитель-чПКСК9" представляет собой группу, которым делали инъекцию только чПКСК9.

Результаты показывают, что чПКСК9 снижает уровень экспрессии Р-ЛНП, и этот эффект ингибируется исследуемыми ингибиторами ПКСК9.

В Табл. 8 данные представлены в виде изменения в процентах по отношению к промежутку между базовым уровнем у контрольных здоровых животных (принят за 100%) и уровнем после подавления за счет только чПКСК9 (принят за 0%).

Все 6 исследованных примеров соединений способны ингибировать действие чПКСК9 на уровень экспрессии Р-ЛНП, и наблюдаемый уровень ингибирования соответствует уровню ингибирования, который наблюдается для контрольной молкулы Alirocumab.

Таблица 8.

Группа/Пример	Проценты от фона (%)	Доза ингибитора (нмоль/кг)
Носитель-Носитель	100	0
Носитель-чПКСК9	0	0
Пример 2-чПКСК9	110	300
Пример 3-чПКСК9	113	300
Пример 5-чПКСК9	123	300
Пример 6-чПКСК9	96	300
Пример 13-чПКСК9	175	300
Пример 19-чПКСК9	190	300
Alirocumab-чПКСК9	157	22

Заключение

Несколько примеров соединений продемонстрировали эффективность в ингибировании подавления уровня экспрессии Р-ЛНП под действием чПКСК9.

D.4. Снижение холестерина ЛНП у хомячков

Цель данного исследования - оценить воздействие ингибиторов ПКСК9 на ХС-ЛНП у золотых сирийских хомячков, которых держали на стандартной пищевой диете.

Способ

В данном исследовании использовали самцов золотых сирийских хомячков (Janvier

Elevage, Сен-Иль, Франция), в возрасте 6 недель (91-100 г). После акклиматизации в течение 1 недели, хомячков после 4-часового голодания (голодание начиналось в ~08: 00) взвешивали, и делали забор крови (100 мкл/EDTA) ретро-орбитальным кровопусканием под изофлюрановой анестезией примерно в районе полудня для измерения общего холестерина, ЛНП-холестерина и ЛВП-холестерина. Хомячков случайным образом разбивали на 5 гомогенных групп (n=10/группу) в соответствии с их: 1) ЛНП-холестерином, 2) ЛВП-холестерином; и 3) общим холестерином. После рандомизации хомячкам делали подкожную инъекцию один раз в сутки в течение 5 дней. Массу тела измеряли ежедневно в течение периода лечения.

На 3 день лечения хомячков после 4-часового голодания взвешивали и делали забор крови (100 мкл/EDTA) ретро-орбитальным кровопусканием под изофлюрановой анестезией через ~1 ч после утреннего дозирования (примерно в полдень) для измерения общего холестерина, ЛНП-холестерина и ЛВП-холестерина.

На 5 день лечения хомячков после 4-часового голодания взвешивали и проводили забор крови (максимальный объем крови/EDTA) ретро-орбитальным кровопусканием под изофлюрановой анестезией через ~1 ч после утреннего дозирования (примерно в полдень).

Немедленно выделяли плазму. Для каждого индивидуума плазму объемом ~15 мкл сохраняли для измерения общего холестерина, ЛНП-холестерина и ЛВП-холестерина. Другой объем плазмы (~50 мкл) от каждого животного затем использовали для получения пула плазмы для каждой группы лечения (т.е. 1 пул ~500 мкл на группу, 5 пулов) для FPLC-профиля (жидкостная экспресс-хроматография белка, от англ. Fast protein liquid chromatography) общего холестерина. Затем хомячков умерщвляли под изофлюрановой анестезией смещением шейных позвонков и обескровливали. Доставали печень, взвешивали, и 2 образца печени (~50 мг и ~100 мг, массу не записывали) быстро замораживали в жидком азоте и затем хранили при -80°C.

Образцы ~50 мг использовали для оценки экспрессии белка печеночного ЛНП-рецептора и пан-кадгерина (контроль загрузки) с помощью Вестерн-блоттинга и денситометрии (в программе Image J). Данные представлены в виде среднего +/- ст.ош.средн. Применяли 1-факторный или 2-факторный дисперсионный анализ с помощью апостериорного теста Дуннетта (Dunnett) или Бонферрони (Bonferroni), соответственно, в ходе статистического анализа. Величину $p<0,05$ считали значимой.

Результаты

На Фиг. 2 показан ЛНП-холестерин в плазме крови в течение периода лечения у хомячков, которым делали подкожную инъекцию один раз в день в течение 5 дней с носителем или 10 нмоль/кг, 30 нмоль/кг, 100 нмоль/кг или 300 нмоль/кг соединения по Примеру 2 (**$p<0,01$ и ***$p<0,001$ против теста носителя, двухфакторного дисперсионного анализа, апостериорного анализа Дуннетта).

На Фиг. 3 показана экспрессия печеночного Р-ЛНП к контролю загрузки пан-кадгерина из образцов печени хомячков, которым делали подкожную инъекцию один раз в день в течение 5 дней с носителем или соединением по Примеру 2 10 нмоль/кг, Примеру 2 30 нмоль/кг, Примеру 2 100 нмоль/кг или Примеру 2 300 нмоль/кг) (*$p<0,05$, **$p<0,01$ и ***$p<0,001$ против носителя, однофакторного дисперсионного анализа, апостериорного анализа Дуннетта).

По сравнению с носителем, ниодно из типов лечения не влияло на массу тела и прибавку массы тела (данные не показаны). Все дозы снижали ЛНП-холестерин (см. Фиг. 2). Этот эффект не был значимым для самой низкой дозы соединения по Примеру 2, но более высокие дозы 100 и 300 нмоль/кг снижали уровень ЛНП-холестерин на

вплоть до 35% на 5 день. Эти тенденции дополнительно подтверждались в FPLC-анализе, который показал существенное снижение общего уровня холестерина во фракциях, соответствующих ЛНП и ЛВП, если хомячков лечили испытываемыми образцами по Примеру 2 (данные не показаны). Было также показано сопутствующее дозозависимое повышение уровня экспрессии Р-ЛНП в печени (см. Фиг. 2 и Фиг. 3).

Заключение

Дозозависимое исследование показывает, что возможно достичь существенного воздействия на холестерин ЛНП, по меньшей мере дозой 30 нмоль/кг через 3 и 5 дней дозирования золотистым сирийским хомячкам, содержащимся на нормальной диете. Воздействию на холестерин ЛНП соответствует значительно более высокий уровень экспрессии печеночного ЛНП-рецептора.

D.5. Исследование в/в фармакокинетики у собак

Для определения в/в ФК-профиля у собак, 3-4 собакам породы бигль (самцы, 10-16 кг) вводили дозу в/в (2 нмоль/кг, 0,1 мл/кг) одного или нескольких аналогов ПКСК9 в буфере состава: 70 мМ хлорид натрия; 50 мМ фосфат, 70 м.д. полисорбат 20; pH=7,4. Перед дозированием собаки голодали в течение ночи при свободном доступе к водопроводной воде. Аналоги дозировали через сафенную или подкожную вену предплечья однократной инъекцией с помощью иглы (20 G) или ступенчатым дозированием через установленный катетер Venflon. Образец крови объемом 0,8 мл собирали в каждую пробирку с EDTA-покрытием в моменты времени 0; 0,25; 0,5; 0,75; 1; 1,5; 2; 4; 6; 8; 10; 24; 48; 72; 120; 144; 168; 192; 216; 240; 288 часов после дозирования. Для первых 4 ч отбора образцов кровь собирали через установленный катетер Venflon, если собак удерживали на платформе. Остальные точки отбора образцов по истечении 4 часов собирали через яремную вену однократным уколом иглой (20 G). Немедленно после забора крови каждый образец осторожно переворачивали 3-4 раза и быстро переносили в холодильник до получения плазмы (10 мин, 4°C, 4000 об/мин). Образцы плазмы хранили при -20°C до проведения биоанализа. Максимальное отклонение для забора образца крови составляло 1 мин в день дозирования до 120 мин после дозирования, 5 мин для от 4- до 10-часовых точек моментов времени, и в пределах 1 ч оставшихся дней.

Анализ плазмы

Плазму для исследования комбинированного дозирования вносили пипеткой в пробирки Micronic на сухом льду и хранили при -20°C до проведения анализа концентрации в плазме соответствующих производных ПКСК9 с помощью жидкостной хроматографии - масс-спектрометрии (ЖХ-МС). В образцах плазмы (включающих стандартную кривую и образцы КК, используемые для количественного определения неизвестных образцов и приготовленные из контрольной плазмы, в которую вносили производные ПКСК9 в номинальном диапазоне концентрации 0,5-500 нМ) осаждали белок тремя объемами метанола (включая соединение по Примеры 4 в качестве внутреннего стандарта) и центрифугировали (16000 хд; 4°C, 30 мин). Супернатанты вводили в хроматографическую систему (TurboFlow Transcend, 1250 & 10 valve VIM, Thermo Fisher Scientific) которая состояла из колонки первичной очистки Turboflow Cyclone 0,5×50 мм (Thermo Fischer Scientific) и элюирующей колонки Aeris peptide 3,6 мкм XB - C18 2,1×50 мм (Phenomenex), выдерживаемой при 60°C. Производные ПКСК9 элюировали хроматографическим градиентом с помощью подвижных фаз, состоящий из смесей воды и ацетонитрил/метанол 50/50 об. % с 1 об. % муравьиной кислоты. Производные ПКСК9 детектировали и количественно определяли после инфузии в режиме реального времени ЖХ-потока в масс-спектрометр Q Exactive (Thermo Fischer

Scientific), оборудованный электроспрэй-интерфейсом, работающим в режиме определения положительных ионов, ESI+. В ходе биоанализа образцов плазмы для разных производных ПКСК9 наблюдалась изомеризация различной степени. Все эти изомеры имели идентичные моноизотопные массы, и проводили их совместное количественное определение.

Определяли ФК-параметры для каждого исследованного аналога (например $T_{1/2}$) с помощью некомпартментного анализа (НКА) в программе Phoenix WinNonlin, и проводили расчеты периода полувыведения исходя из уровня экспозиции от общего уровня всех изомеров с одинаковой молекулярной массой.

Таблица 9: Период полувыведения производных ЭФР(А) у собак после в/в дозирования

Пример №	Пептидный вариант	в/в ФК со-дозирования у собак $T_{1/2}$ (ч)
Пример 3	301L, 309R, 312E, 333K	122
Пример 31	301L, 309R, 312E, 313K, 333K	117
Пример 81	301L, 309R, 312E, 333K	209
Пример 91	des293, 300H, 301L, 309R, 312E, 313K, 333K	34
Пример 95	des293, 301L, 309R, 312E, 313K	116
Пример 128	301L, 309R, 312E, 313K, 333K	190
Пример 133	301L, 309R, 312E, 313K, 321E, 333K	115
Пример 143	301L, 309R, 312E, 313K, 321E, 333K	89
Пример 144	301L, 309R, 312E, 313K, 321E, 333K	193

D.6. Исследование эффективности перорального всасывания на крысах

В данном исследовании изучали абсорбцию в желудочно-кишечном тракте пептидов в комбинированном препарате, которые дозировали перорально здоровым крысам.

Животные.

Самцы крыс Спрэг-Доули компании Taconic, Denmark, масса животных 250 г при получении. Крыс акклиматизировали по меньшей мере в течение одной недели в Комплексе для животных, Novo Nordisk A/S, перед исследованием. Масса тела на начало исследования составляла приблизительно 280-300 г. Крысы голодали в течение 18 ч в клетке перед дозированием.

Пептиды в форме комбинированного препарата

Получение жидких лекарственных форм для перорального совместного дозирования аналогов ПКСК91 in vivo (крысы) проводили, как описано ниже.

Целевой пептид ЭФР(А) в концентрации 200 мкМ каждого аналога, включали в лекарственную форму при целевой концентрации 55 мг/мл деканоата натрия и воды. В совместную комбинированную лекарственную форму включали от пяти до шести различных пептидных аналогов.

Вкратце, готовили стоковый раствор (110 мг/мл) деканоата натрия с использованием ультрачистый воды, и pH этого раствора доводили до 8,0 с помощью HCl.

АФИ переносили в стеклянный флакон на 20 мл и добавляли 5 г ультрачистой воды (принимая плотность за 1 мг/мл), и АФИ оставляли для растворения при комнатной температуре на роликовой мешалке. Затем pH этого раствора доводили до 8,0 с помощью NaOH до стабилизации pH, после чего добавляли 6,5 г стокового раствора деканоата натрия (конечная концентрация 55 мг/мл), после чего доводили pH до 8,0. Этот раствор затем выдерживали при комнатной температуре на роликовой мешалке в течение ночи (в защищенном от света месте). На следующий день проводили окончательное доведение pH до 8,0 с помощью NaOH, если это требовалось.

Конечный вес лекарственной формы доводили до 13 г ультрачистой водой и затем фильтровали ее через фильтр 0,22 мкм. Содержание АФИ и деканоата натрия определяли в конечной лекарственной форме, чтобы убедиться в точности дозирования. Лекарственные формы хранили при 4°C до последующего применения.

Концентрацию каждого АФИ в жидкой лекарственной форме определяли по УФ-абсорбции при 215 нм. Протоколы ЖХ разрабатывали таким образом, чтобы гарантировать раздельное друг от друга элюирование каждого совместно дозируемого АФИ. Стандарты с известными концентрациями (определенные с помощью хемилюминесцентного азот-специфичного детектора (CLND)) для каждого АФИ смешивали вместе, и использовали суммарно пять концентраций стандарта для построения калибровочной кривой. Конечно определяемая концентрация представляла собой среднее от трех образцов, каждая от двух повторов эксперимента. Концентрацию каприната в жидкой лекарственной форме определяли таким же образом, с помощью калибровочной кривой, построенной по трем концентрациям стандартов.

Дозирование

Животным вводили дозу перорально принудительным откормом целевой дозой 1000 нмоль/кг на каждый пептид и в объеме 5 мл/кг в момент времени = 0

Забор образцов крови и отделение плазмы

Образцы крови отбирали в моменты времени: 15, 30, 60 и 120 мин после дозирования. Образцы крови (200 мкл) собирали в пробирки с EDTA-покрытием путем прокалывания язычной вены у бодрствующих крыс. Образцы центрифугировали в течение 5 мин при 8000 g при 4°C. Плазму (60-75 мкл) отделяли, вносили пипеткой в пробирки micronic (75 мкл) и немедленно замораживали при -20°C.

Анализ плазмы

Плазму для исследования комбинированного дозирования вносили в пробирки Micronic на сухом льду и хранили при -20°C до проведения анализа концентрации в плазме соответствующих производных ПКСК9 с помощью жидкостной хроматографии - масс-спектрометрии (ЖХ-МС). В образцах плазмы (включая образцы стандартной кривой и КК, используемые для количественного определения неизвестных образцов и приготовленные из контрольной плазмы, в которую вносили производные ПКСК9 в диапазоне номинальных концентраций 0,5-500 нМ) осаждали белок тремя объемами метанола или ацетонитрила с 1 об. % муравьиной кислоты (включая соединение по Примеру 4 в качестве внутреннего стандарта) и центрифугировали (16000×g; 4°C, 30 мин). Супернатанты вводили в хроматографическую систему (TurboFlow Transcend 1250 & 10 valve VIM, Thermo Fisher Scientific), которая состояла из колонки первичной очистки Turboflow Cyclone 0,5×50 мм (Thermo Fischer Scientific) и элюирующей колонки Aeris peptide 3,6 мкм XB - C18 2,1×50 мм (Phenomenex), выдерживаемых при 60°C. Производные ПКСК9 элюировали хроматографическим градиентом с помощью подвижных фаз, состоящих из смесей воды и ацетонитрила/метанола 50/50 об. % с 1 об. % муравьиной кислотой. Производные ПКСК9 детектировали и количественно определяли после

инфузии в режиме реального времени ЖХ-потока в масс-спекторметр Q Exactive или LTQ OrbiTrap Discovery (Thermo Fischer Scientific) с электроспрэй-интерфейсом, работающим в режиме определения положительных ионов, ESI+. В ходе биоанализа образцов плазмы для разных производных ПКСК9 наблюдалась изомеризация различной степени. Все эти изомеры имели идентичные моноизотопные массы, и проводили их совместное количественное определение.

Обсчет данных

Из концентраций в плазме, определенных в ходе ЖХ-МС, выводили максимальные концентрации в плазме (Cmax) для каждого пептида у каждой крысы и рассчитывали Cmax/дозу как среднее значение ± ст.откл. для n=6-8 крыс. Дозу, рассчитанную как объем инъекции, скорректированную на массу тела, умножали на фактическую концентрацию пептида, в единицах пмоль/кг.

В каждую группу комбинированной лекарственной формы был включен референсный пептид (Пример 3). В таблице ниже перечислены величины Cmax/дозу (кг/л) для 8 различных пептидов, вместе с величинами Cmax/дозу (кг/л) для референсного пептида (Пример 3). Расчет Cmax проводили исходя из общего уровня экспозиции всех изомеров с одинаковой молекулярной массой. Результаты показывают, что производные ЭФР (А) в общем случае хорошо абсорбируются.

Таблица 10. Концентрации в плазме, разделенные на дозу, у крыс после перорального комбинированного дозирования производных ЭФР(А)

Пример №	Cmax/дозу (кг/л)	Cmax/дозу для референсного соединения по Примеру 3 (кг/л)
Пример 31	0,108 ± 0,086	0,053 ± 0,050
Пример 81	0,024 ± 0,005	0,079 ± 0,013
Пример 91	0,116 ± 0,032	0,083 ± 0,023
Пример 95	0,106 ± 0,029	0,087 ± 0,023
Пример 128	0,130 ± 0,013	0,087 ± 0,019
Пример 133	0,071 ± 0,017	0,057 ± 0,015
Пример 143	0,151 ± 0,038	0,096 ± 0,029
Пример 144	0,100 ± 0,025	0,057 ± 0,015

Несмотря на то, что в настоящем документе были подробно раскрыты и описаны конкретные признаки настоящего изобретения, специалисту в данной области техники будут очевидны многие модификации, замены, изменения и эквиваленты. Поэтому следует понимать, что приложенная формула изобретения предназначена для охвата всех таких модификаций и изменений, попадающих в пределы истинной сущности настоящего изобретения.

ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

<110> Novo Nordisk A/S
<120> АНАЛОГИ ЭФР(А) С ЗАМЕСТИТЕЛЯМИ – ЖИРНЫМИ КИСЛОТАМИ
<130> 150089
<160> 106
<170> PatentIn version 3.5
<210> 1

<211> 40
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic sequence
<400> 1
Gly Thr Asn Glu Cys Leu Asp Asn Asn Gly Gly Cys Ser His Val Cys
1 5 10 15
Asn Asp Leu Lys Ile Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Asp Gly Phe Gln
20 25 30
Leu Val Ala Gln Arg Arg Cys Glu
35 40
<210> 2
<211> 40
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic sequence
<400> 2
Gly Thr Asn Glu Cys Leu Ala Asn Leu Gly Gly Cys Ser His Ile Cys
1 5 10 15
Arg Lys Leu Lys Ile Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Asp Gly Phe Gln
20 25 30
Leu Val Ala Gln Arg Arg Cys Glu
35 40
<210> 3
<211> 40
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic sequence
<400> 3
Gly Thr Asn Glu Cys Leu Asp Asn Leu Gly Gly Cys Ser His Val Cys
1 5 10 15
Arg Asp Leu Lys Ile Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Asp Gly Phe Gln
20 25 30
Leu Val Ala Gln Arg Arg Cys Glu
35 40
<210> 4
<211> 41
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic sequence
<400> 4
Gly Thr Asn Glu Cys Leu Asp Asn Leu Gly Gly Cys Ser His Val Cys
1 5 10 15
Arg Asp Leu Glu Ile Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Asp Gly Phe Gln

20 25 30
Leu Val Ala Gln Arg Arg Cys Glu Lys
35 40
<210> 5
<211> 40
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic
<400> 5
Gly Thr Asn Glu Cys Leu Asp Pro Leu Gly Gly Cys Ser His Ile Cys
1 5 10 15
Arg Asp Leu Glu Ile Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Asp Gly Phe Gln
20 25 30
Leu Val Ala Gln Arg Arg Cys Glu
35 40
<210> 6
<211> 40
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic sequence
<400> 6
Gly Thr Asn Glu Cys Leu Asp Asn Leu Gly Gly Cys Ser His Val Cys
1 5 10 15
Arg Asp Leu Glu Ile Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Asp Gly Phe Gln
20 25 30
Leu Val Ala Gln Arg Arg Cys Glu
35 40
<210> 7
<211> 40
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic sequence
<400> 7
Gly Thr Asn Glu Cys Leu Lys Asn Leu Gly Gly Cys Ser His Val Cys
1 5 10 15
Arg Asp Leu Glu Ile Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Asp Gly Phe Gln
20 25 30
Leu Val Ala Gln Arg Arg Cys Glu
35 40
<210> 8
<211> 40
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic sequence

<400> 8
Gly Thr Asn Glu Cys Leu Asp Asn Leu Gly Gly Cys Ser His Val Cys
1 5 10 15
Arg Asp Leu Glu Ile Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Asp Gly Phe Gln
20 25 30
Leu Val Ala Gln Arg Lys Cys Glu
35 40
<210> 9
<211> 41
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic
<400> 9
Asn Thr Asn Glu Cys Leu Asp Asn Leu Gly Gly Cys Ser His Ile Cys
1 5 10 15
Arg Asp Leu Asp Ile Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Asp Gly Phe Gln
20 25 30
Leu Val Ala Gln Arg Arg Cys Glu Lys
35 40
<210> 10
<211> 41
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic sequence
<400> 10
Asn Thr Asn Glu Cys Leu Asp Asn Leu Gly Gly Cys Ser His Val Cys
1 5 10 15
Arg Asp Leu Asp Ile Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Asp Gly Phe Gln
20 25 30
Leu Val Ala Gln Arg Arg Cys Glu Lys
35 40
<210> 11
<211> 40
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic sequence
<400> 11
Gly Thr Asn Glu Cys Leu Asp Asn Leu Gly Gly Cys Ser His Val Cys
1 5 10 15
Arg Asp Leu Glu Ile Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Asp Gly Phe Gln
20 25 30
Leu Val Ala Gln Arg Arg Cys Lys
35 40
<210> 12
<211> 40

<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic sequence
<400> 12
Lys Thr Asn Glu Cys Leu Asp Asn Leu Gly Gly Cys Ser His Val Cys
1 5 10 15
Arg Asp Leu Glu Ile Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Asp Gly Phe Gln
20 25 30
Leu Val Ala Gln Arg Arg Cys Glu
35 40
<210> 13
<211> 41
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic sequence
<400> 13
Lys Thr Asn Glu Cys Leu Asp Asn Leu Gly Gly Cys Ser His Val Cys
1 5 10 15
Arg Asp Leu Glu Ile Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Asp Gly Phe Gln
20 25 30
Leu Val Ala Gln Arg Arg Cys Glu Lys
35 40
<210> 14
<211> 40
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic sequence
<400> 14
Gly Thr Asn Glu Cys Leu Asp Asn Leu Gly Gly Cys Ser His Val Cys
1 5 10 15
Arg Asp Leu Glu Ile Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Asp Gly Phe Gln
20 25 30
Leu Val Ala Lys His Arg Cys Glu
35 40
<210> 15
<211> 41
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic sequence
<400> 15
Gly Thr Asn Glu Cys Leu Asp Asn Leu Gly Gly Cys Ser His Val Cys
1 5 10 15
Arg Asp Leu Glu Ile Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Asp Gly Phe Gln
20 25 30

Leu Val Ala Gln Arg Arg Cys Lys Lys
35 40
<210> 16
<211> 41
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic sequence
<400> 16
Gly Thr Asn Glu Cys Leu Asp Asn Leu Gly Gly Cys Ser His Val Cys
1 5 10 15
Arg Asp Leu Glu Ile Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Asp Gly Phe Gln
20 25 30
Leu Val Ala Gln Arg Lys Cys Glu Lys
35 40
<210> 17
<211> 41
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic sequence
<400> 17
Gly Thr Asn Glu Cys Leu Asp Asn Leu Gly Gly Cys Ser His Val Cys
1 5 10 15
Arg Asp Leu Glu Ile Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Lys Gly Phe Gln
20 25 30
Leu Val Ala Gln Arg Arg Cys Glu Lys
35 40
<210> 18
<211> 41
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic sequence
<400> 18
Gly Thr Asn Glu Cys Leu Asp Asn Leu Gly Gly Cys Ser His Val Cys
1 5 10 15
Arg Asp Leu Lys Ile Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Asp Gly Phe Gln
20 25 30
Leu Val Ala Gln Arg Arg Cys Glu Lys
35 40
<210> 19
<211> 41
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic sequence
<400> 19

Gly Thr Asn Glu Cys Leu Asp Asn Leu Gly Gly Cys Ser His Val Cys
1 5 10 15
Arg Asp Leu Glu Ile Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Glu Gly Phe Gln
20 25 30
Leu Val Ala Gln Arg Arg Cys Glu Lys
35 40
<210> 20
<211> 40
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic
<400> 20
Gly Thr Asp Glu Cys Leu Asp Asn Leu Gly Gly Cys Ser His Val Cys
1 5 10 15
Arg Asp Leu Glu Ile Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Asp Gly Phe Gln
20 25 30
Leu Val Ala Gln Arg Arg Cys Lys
35 40
<210> 21
<211> 40
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic sequence
<400> 21
Gly Thr Asn Glu Cys Leu Asp Asn Leu Gly Gly Cys Ser His Val Cys
1 5 10 15
Arg Asp Leu Glu Ile Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Lys Gly Phe Gln
20 25 30
Leu Val Ala Gln Arg Arg Cys Glu
35 40
<210> 22
<211> 40
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic sequence
<400> 22
Gly Thr Asn Glu Cys Leu Asp Asn Leu Gly Gly Cys Ser His Val Cys
1 5 10 15
Arg Asp Leu Glu Ile Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Asp Gly Phe Lys
20 25 30
Leu Val Ala Gln Arg Arg Cys Glu
35 40
<210> 23
<211> 40
<212> PRT

<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic sequence
<400> 23
Gly Thr Asn Glu Cys Leu Asp Asn Leu Gly Gly Cys Ser His Val Cys
1 5 10 15
Arg Asp Leu Gln Ile Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Asp Gly Phe Gln
20 25 30
Leu Val Ala Gln Arg Arg Cys Glu
35 40
<210> 24
<211> 40
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic sequence
<400> 24
Gly Thr Asn Glu Cys Leu Asp Asn Leu Gly Gly Cys Ser His Val Cys
1 5 10 15
Arg Asp Leu Glu Ile Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Glu Gly Phe Gln
20 25 30
Leu Val Ala Gln Arg Arg Cys Lys
35 40
<210> 25
<211> 40
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic sequence
<400> 25
Lys Thr Asn Glu Cys Leu Asp Asn Leu Gly Gly Cys Ser His Val Cys
1 5 10 15
Arg Asp Leu Glu Ile Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Glu Gly Phe Gln
20 25 30
Leu Val Ala Gln Arg Arg Cys Glu
35 40
<210> 26
<211> 40
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic sequence
<400> 26
Gly Thr Asn Glu Cys Leu Asp His Leu Gly Gly Cys Ser His Ile Cys
1 5 10 15
Arg Asp Leu Glu Ile Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Asp Gly Phe Gln
20 25 30
Leu Val Ala Gln Arg Arg Cys Glu

35 40
<210> 27
<211> 40
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic sequence
<400> 27
Gly Thr Asn Glu Cys Leu Asp Lys Leu Gly Gly Cys Ser His Val Cys
1 5 10 15
Arg Asp Leu Glu Ile Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Asp Gly Phe Gln
20 25 30
Leu Val Ala Gln Arg Arg Cys Glu
35 40
<210> 28
<211> 40
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic sequence
<400> 28
Lys Lys Asn Glu Cys Leu Asp Asn Leu Gly Gly Cys Ser His Val Cys
1 5 10 15
Arg Asp Leu Glu Ile Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Asp Gly Phe Gln
20 25 30
Leu Val Ala Gln Arg Arg Cys Glu
35 40
<210> 29
<211> 40
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic sequence
<400> 29
Lys Thr Asn Glu Cys Leu Asp Asn Leu Gly Gly Cys Ser His Val Cys
1 5 10 15
Arg Asp Leu Lys Ile Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Asp Gly Phe Gln
20 25 30
Leu Val Ala Gln Arg Arg Cys Glu
35 40
<210> 30
<211> 40
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic sequence
<400> 30
Gly Thr Asn Glu Cys Leu Asp Asn Leu Gly Gly Cys Ser His Val Cys

1 5 10 15
Lys Asp Leu Glu Ile Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Asp Gly Phe Gln
20 25 30
Leu Val Ala Gln Arg Arg Cys Glu
35 40
<210> 31
<211> 40
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic sequence
<400> 31
Gly Thr Asn Glu Cys Leu Asp Asn Leu Gly Gly Cys Ser His Val Cys
1 5 10 15
Arg Asp Leu Glu Ile Gly Tyr Glu Cys Lys Cys Pro Asp Gly Phe Gln
20 25 30
Leu Val Ala Gln Arg Arg Cys Glu
35 40
<210> 32
<211> 41
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic sequence
<400> 32
Gly Thr Asn Glu Cys Leu Asp Asn Leu Gly Gly Cys Ser His Val Cys
1 5 10 15
Arg Asp Leu Glu Lys Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Asp Gly Phe Gln
20 25 30
Leu Val Ala Gln Arg Arg Cys Glu Lys
35 40
<210> 33
<211> 40
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic sequence
<400> 33
Gly Thr Asn Glu Cys Leu Asp Asn Leu Gly Gly Cys Ser His Val Cys
1 5 10 15
Arg Asp Leu Glu Ile Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Asp Gly Phe Gln
20 25 30
Leu Lys Ala Gln Arg Arg Cys Glu
35 40
<210> 34
<211> 40
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic sequence
<400> 34
Gly Thr Asn Glu Cys Leu Asp Asn Leu Gly Gly Cys Ser His Val Cys
1 5 10 15
Arg Asp Leu Glu Ile Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Asp Gly Phe Gln
20 25 30
Lys Val Ala Gln Arg Arg Cys Glu
35 40
<210> 35
<211> 40
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic sequence
<400> 35
Gly Thr Asn Glu Cys Leu Asp Asn Leu Gly Gly Cys Ser His Val Cys
1 5 10 15
Arg Asp Leu Glu Ile Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Asp Gly Lys Gln
20 25 30
Leu Val Ala Gln Arg Arg Cys Glu
35 40
<210> 36
<211> 40
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic sequence
<400> 36
Gly Thr Asn Glu Cys Leu Asp Asn Leu Gly Gly Cys Ser His Val Cys
1 5 10 15
Arg Asp Leu Glu Ile Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Asp Lys Phe Gln
20 25 30
Leu Val Ala Gln Arg Arg Cys Glu
35 40
<210> 37
<211> 40
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic sequence
<400> 37
Gly Thr Asn Glu Cys Leu Asp Asn Leu Gly Gly Cys Ser His Val Cys
1 5 10 15
Arg Asp Leu Glu Ile Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Lys Asp Gly Phe Gln
20 25 30
Leu Val Ala Gln Arg Arg Cys Glu
35 40

<210> 38
<211> 40
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic sequence
<400> 38
Gly Thr Asn Glu Cys Leu Asp Asn Leu Gly Gly Cys Ser His Val Cys
1 5 10 15
Arg Asp Leu Glu Ile Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Asp Gly Phe Gln
20 25 30
Leu Val Ala Gln Lys Arg Cys Glu
35 40
<210> 39
<211> 40
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic sequence
<400> 39
Gly Thr Asn Glu Cys Leu Asp Asn Leu Gly Gly Cys Ser His Val Cys
1 5 10 15
Arg Asp Leu Glu Lys Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Asp Gly Phe Gln
20 25 30
Leu Val Ala Gln Arg Arg Cys Glu
35 40
<210> 40
<211> 40
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic sequence
<400> 40
Gly Thr Asn Glu Cys Leu Asp Asn Leu Gly Gly Cys Ser His Val Cys
1 5 10 15
Arg Asp Leu Glu Ile Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Asp Gly Phe Gln
20 25 30
Leu Val Ala Lys Arg Arg Cys Glu
35 40
<210> 41
<211> 40
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic sequence
<400> 41
Gly Thr Asn Glu Cys Leu Asp Asn Leu Gly Gly Cys Ser His Val Cys
1 5 10 15

Arg Asp Leu Glu Ile Gly Tyr Lys Cys Leu Cys Pro Asp Gly Phe Gln
20 25 30
Leu Val Ala Gln Arg Arg Cys Glu
35 40
<210> 42
<211> 40
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic sequence
<400> 42
Gly Thr Asn Glu Cys Leu Asp Asn Leu Gly Gly Cys Ser His Val Cys
1 5 10 15
Arg Asp Leu Glu Ile Gly Lys Glu Cys Leu Cys Pro Asp Gly Phe Gln
20 25 30
Leu Val Ala Gln Arg Arg Cys Glu
35 40
<210> 43
<211> 41
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic sequence
<400> 43
Gly Thr Asn Glu Cys Leu Asp His Leu Gly Gly Cys Ser His Val Cys
1 5 10 15
Arg Asp Leu Arg Ile Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Asp Gly Phe Gln
20 25 30
Leu Val Ala Gln Arg Arg Cys Glu Lys
35 40
<210> 44
<211> 40
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic sequence
<400> 44
Gly Thr Asn Glu Cys Leu Asp Asn Leu Gly Gly Cys Ser His Val Cys
1 5 10 15
Arg Asp Leu Glu Ile Lys Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Asp Gly Phe Gln
20 25 30
Leu Val Ala Gln Arg Arg Cys Glu
35 40
<210> 45
<211> 40
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>

<223> Synthetic sequence
<400> 45
Gly Thr Asn Glu Cys Leu Asp Asn Leu Gly Gly Cys Ser His Val Cys
1 5 10 15
Arg Asp Lys Glu Ile Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Asp Gly Phe Gln
20 25 30
Leu Val Ala Gln Arg Arg Cys Glu
35 40
<210> 46
<211> 40
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic sequence
<400> 46
Gly Thr Asn Glu Cys Leu Asp Asn Leu Gly Gly Cys Ser His Lys Cys
1 5 10 15
Arg Asp Leu Glu Ile Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Asp Gly Phe Gln
20 25 30
Leu Val Ala Gln Arg Arg Cys Glu
35 40
<210> 47
<211> 41
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic sequence
<400> 47
Gly Thr Asn Glu Cys Leu Asp Asn Leu Gly Gly Cys Ser His Val Cys
1 5 10 15
Ser Asp Leu Arg Ile Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Asp Gly Phe Gln
20 25 30
Leu Val Ala Gln Arg Arg Cys Glu Lys
35 40
<210> 48
<211> 41
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic sequence
<400> 48
Gly Thr Asn Glu Cys Leu Asp Asn Leu Gly Gly Cys Ser His Val Cys
1 5 10 15
Ser Asp Leu Glu Ile Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Asp Gly Phe Gln
20 25 30
Leu Val Ala Gln Arg Arg Cys Glu Lys
35 40
<210> 49

<211> 40
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic sequence
<400> 49
Gly Thr Asn Glu Cys Leu Asp Asn Leu Gly Gly Cys Ser Tyr Val Cys
1 5 10 15
Ser Asp Leu Glu Ile Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Asp Gly Phe Gln
20 25 30
Leu Val Ala Gln Arg Arg Cys Glu
35 40
<210> 50
<211> 40
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic sequence
<400> 50
Asn Thr Asn Glu Cys Leu Asp Asn Leu Gly Gly Cys Ser His Val Cys
1 5 10 15
Ser Asp Leu Glu Ile Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Asp Gly Phe Gln
20 25 30
Leu Val Ala Gln Arg Arg Cys Glu
35 40
<210> 51
<211> 40
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic sequence
<400> 51
Gly Thr Asn Glu Cys Leu Asp Asn Leu Gly Gly Cys Ser Lys Val Cys
1 5 10 15
Arg Asp Leu Glu Ile Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Asp Gly Phe Gln
20 25 30
Leu Val Ala Gln Arg Arg Cys Glu
35 40
<210> 52
<211> 40
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic sequence
<400> 52
Gly Thr Asn Glu Cys Leu Asp Asn Leu Gly Gly Cys Lys His Val Cys
1 5 10 15
Arg Asp Leu Glu Ile Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Asp Gly Phe Gln

20 25 30
Leu Val Ala Gln Arg Arg Cys Glu
35 40
<210> 53
<211> 40
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic sequence
<400> 53
Gly Thr Asn Glu Cys Leu Asp Asn Leu Gly Lys Cys Ser His Val Cys
1 5 10 15
Arg Asp Leu Glu Ile Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Asp Gly Phe Gln
20 25 30
Leu Val Ala Gln Arg Arg Cys Glu
35 40
<210> 54
<211> 40
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic sequence
<400> 54
Gly Thr Asn Glu Cys Leu Asp Asn Leu Lys Gly Cys Ser His Val Cys
1 5 10 15
Arg Asp Leu Glu Ile Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Asp Gly Phe Gln
20 25 30
Leu Val Ala Gln Arg Arg Cys Glu
35 40
<210> 55
<211> 41
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic sequence
<400> 55
Asn Thr Asn Glu Cys Leu Asp His Leu Gly Gly Cys Ser His Val Cys
1 5 10 15
Arg Asp Leu Arg Ile Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Asp Gly Phe Gln
20 25 30
Leu Val Ala Gln Arg Arg Cys Glu Lys
35 40
<210> 56
<211> 40
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic sequence

<400> 56
Gly Thr Asn Glu Cys Leu Asp Asn Lys Gly Gly Cys Ser His Val Cys
1 5 10 15
Arg Asp Leu Glu Ile Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Asp Gly Phe Gln
20 25 30
Leu Val Ala Gln Arg Arg Cys Glu
35 40
<210> 57
<211> 40
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic sequence
<400> 57
Gly Thr Asn Glu Cys Lys Asp Asn Leu Gly Gly Cys Ser His Val Cys
1 5 10 15
Arg Asp Leu Glu Ile Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Asp Gly Phe Gln
20 25 30
Leu Val Ala Gln Arg Arg Cys Glu
35 40
<210> 58
<211> 41
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic sequence
<400> 58
Asn Thr Asn Glu Cys Leu Asp Asn Leu Gly Gly Cys Ser His Val Cys
1 5 10 15
Arg Asp Leu Arg Ile Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Asp Gly Phe Gln
20 25 30
Leu Val Ala Gln Arg Arg Cys Glu Lys
35 40
<210> 59
<211> 40
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic sequence
<400> 59
Gly Thr Asn Glu Cys Leu Asp Asn Leu Gly Gly Cys Ser His Ile Cys
1 5 10 15
Asn Asp Leu Lys Ile Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Asp Gly Phe Gln
20 25 30
Leu Val Ala Gln Arg Arg Cys Lys
35 40
<210> 60
<211> 40

<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic sequence
<400> 60
Gly Thr Asn Glu Cys Leu Asp Asn Leu Gly Gly Cys Ser Tyr Val Cys
1 5 10 15
Asn Asp Leu Glu Ile Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Asp Gly Phe Gln
20 25 30
Leu Val Ala Gln Arg Arg Cys Lys
35 40
<210> 61
<211> 40
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic sequence
<400> 61
Gly Thr Asn Glu Cys Leu Asp Asn Leu Gly Gly Cys Ser His Ile Cys
1 5 10 15
Asn Asp Leu Glu Ile Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Asp Gly Phe Gln
20 25 30
Leu Val Ala Gln Arg Arg Cys Lys
35 40
<210> 62
<211> 40
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic sequence
<400> 62
Gly Thr Asn Glu Cys Leu Asp His Leu Gly Gly Cys Ser His Val Cys
1 5 10 15
Arg Asp Leu Lys Ile Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Asp Gly Phe Gln
20 25 30
Leu Val Ala Gln Arg Arg Cys Glu
35 40
<210> 63
<211> 40
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic sequence
<400> 63
Gly Thr Asn Lys Cys Leu Asp Asn Leu Gly Gly Cys Ser His Val Cys
1 5 10 15
Arg Asp Leu Glu Ile Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Asp Gly Phe Gln
20 25 30

Leu Val Ala Gln Arg Arg Cys Glu
35 40
<210> 64
<211> 40
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic sequence
<400> 64
Gly Lys Asn Glu Cys Leu Asp Asn Leu Gly Gly Cys Ser His Val Cys
1 5 10 15
Arg Asp Leu Glu Ile Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Asp Gly Phe Gln
20 25 30
Leu Val Ala Gln Arg Arg Cys Glu
35 40
<210> 65
<211> 41
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic sequence
<400> 65
Lys Gly Thr Asn Glu Cys Leu Asp Asn Leu Gly Gly Cys Ser His Val
1 5 10 15
Cys Arg Asp Leu Glu Ile Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Asp Gly Phe
20 25 30
Gln Leu Val Ala Gln Arg Arg Cys Glu
35 40
<210> 66
<211> 39
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic sequence
<400> 66
Gly Asn Glu Cys Leu Asp Asn Leu Gly Gly Cys Ser His Val Cys Arg
1 5 10 15
Asp Leu Glu Ile Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Asp Gly Phe Gln Leu
20 25 30
Val Ala Lys Arg Arg Cys Glu
35
<210> 67
<211> 41
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic sequence
<400> 67

Gly Thr Asn Glu Cys Leu Asp Asn Leu Gly Gly Cys Ser Asp Val Cys
1 5 10 15
Arg Asp Leu Glu Ile Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Asp Gly Phe Gly
20 25 30
Leu Val Ala Gln Arg Arg Cys Glu Lys
35 40
<210> 68
<211> 41
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic sequence
<400> 68
Gly Thr Asn Glu Cys Leu Asp Asn Leu Gly Gly Cys Ser Asp Val Cys
1 5 10 15
Arg Asp Leu Glu Ile Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Asp Gly Phe Gln
20 25 30
Leu Val Ala Gln Arg Arg Cys Glu Lys
35 40
<210> 69
<211> 41
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic sequence
<400> 69
Gly Thr Asn Glu Cys Leu Asp His Leu Gly Gly Cys Ser His Val Cys
1 5 10 15
Arg Asp Leu Glu Lys Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Asp Gly Phe Gln
20 25 30
Leu Val Ala Gln Arg Arg Cys Glu Lys
35 40
<210> 70
<211> 40
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic sequence
<400> 70
Gly Thr Asn Glu Cys Leu Asp Asn Leu Gly Gly Cys Ser His Val Cys
1 5 10 15
Arg Asp Leu Glu Lys Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Asp Gly Phe Gln
20 25 30
Leu Val Ala Lys Arg Arg Cys Glu
35 40
<210> 71
<211> 40
<212> PRT

<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic sequence
<400> 71
Gly Thr Asn Glu Cys Leu Asp Asn Leu Gly Gly Cys Ser His Val Cys
1 5 10 15
Arg Asp Leu Glu Lys Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Asp Gly Phe Lys
20 25 30
Leu Val Ala Gln Arg Arg Cys Glu
35 40
<210> 72
<211> 41
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic sequence
<400> 72
Gly Thr Asn Glu Cys Leu Asp Asn Leu Gly Gly Cys Ser His Val Cys
1 5 10 15
Arg Asp Leu Glu Ile Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Asp Gly Phe Lys
20 25 30
Leu Val Ala Gln Arg Arg Cys Glu Lys
35 40
<210> 73
<211> 40
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic sequence
<400> 73
Gly Thr Asn Glu Cys Leu Asp Asn Leu Gly Gly Cys Ser His Val Cys
1 5 10 15
Arg Asp Leu Glu Lys Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Lys Gly Phe Gln
20 25 30
Leu Val Ala Gln Arg Arg Cys Glu
35 40
<210> 74
<211> 40
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic sequence
<400> 74
Thr Asn Glu Cys Leu Asp His Leu Gly Gly Cys Ser His Val Cys Arg
1 5 10 15
Asp Leu Glu Lys Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Asp Gly Phe Gln Leu
20 25 30
Val Ala Gln Arg Arg Cys Glu Lys

35 40

<210> 75

<211> 41

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic sequence

<400> 75

Ala Gly Thr Asn Glu Cys Leu Asp Asn Leu Gly Gly Cys Ser His Val

1 5 10 15

Cys Arg Asp Leu Glu Lys Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Asp Gly Phe

20 25 30

Gln Leu Val Ala Gln Arg Arg Cys Glu

35 40

<210> 76

<211> 39

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic sequence

<400> 76

Thr Asn Glu Cys Leu Asp Asn Leu Gly Gly Cys Ser His Val Cys Arg

1 5 10 15

Asp Leu Glu Lys Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Asp Gly Phe Gln Leu

20 25 30

Val Ala Gln Arg Arg Cys Glu

35

<210> 77

<211> 40

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic sequence

<400> 77

Gly Thr Asn Glu Cys Leu Asp Asn Leu Gly Gly Cys Ser His Val Cys

1 5 10 15

Arg Asp Leu Glu Lys Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Asp Gly Phe Gln

20 25 30

Leu Val Ala Gln Arg Arg Cys Lys

35 40

<210> 78

<211> 41

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic sequence

<400> 78

Gly Thr Asn Glu Cys Leu Asp Asn Leu Gly Gly Cys Ser His Val Cys

1 5 10 15
Arg Asp Leu Glu Ile Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Asp Gly Phe Gln
20 25 30
Leu Val Ala Lys Arg Arg Cys Glu Lys
35 40
<210> 79
<211> 40
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic sequence
<400> 79
Gly Thr Asn Glu Cys Leu Ala Asn Leu Gly Gly Cys Ser His Ile Cys
1 5 10 15
Arg Asp Leu Lys Ile Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Asp Gly Phe Gln
20 25 30
Leu Val Ala Gln Arg Arg Cys Glu
35 40
<210> 80
<211> 40
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> GTNECLDNLG GCSHVCRKLK IGYECLCPDG FQLVAQRRCE
<400> 80
Gly Thr Asn Glu Cys Leu Asp Asn Leu Gly Gly Cys Ser His Val Cys
1 5 10 15
Arg Lys Leu Lys Ile Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Asp Gly Phe Gln
20 25 30
Leu Val Ala Gln Arg Arg Cys Glu
35 40
<210> 81
<211> 40
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic sequence
<400> 81
Gly Thr Asn Glu Cys Leu Asp Asn Leu Gly Gly Cys Ser His Val Cys
1 5 10 15
Asn Asp Leu Lys Ile Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Asp Gly Phe Gln
20 25 30
Leu Val Ala Gln Arg Arg Cys Glu
35 40
<210> 82
<211> 41
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> synthetic
<400> 82
Gly Thr Asn Glu Cys Leu Asp His Leu Gly Gly Cys Ser His Val Cys
1 5 10 15
Arg Asp Leu Glu Ile Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Asp Gly Phe Gln
20 25 30
Leu Val Ala Gln Arg Arg Cys Glu Lys
35 40
<210> 83
<211> 39
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> synthetic
<400> 83
Asn Glu Cys Leu Asp His Leu Gly Gly Cys Ser His Val Cys Arg Asp
1 5 10 15
Leu Glu Lys Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Asp Gly Phe Gln Leu Val
20 25 30
Ala Gln Arg Arg Cys Glu Lys
35
<210> 84
<211> 41
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> synthetic
<400> 84
Gly Thr Asn Glu Cys Leu Asp Asn Leu Gly Gly Cys Ser His Val Cys
1 5 10 15
Lys Asp Leu Glu Ile Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Asp Gly Phe Gln
20 25 30
Leu Val Ala Gln Arg Arg Cys Glu Lys
35 40
<210> 85
<211> 41
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> synthetic
<400> 85
Gly Thr Asn Glu Cys Leu Asp Asn Leu Gly Gly Cys Ser Tyr Val Cys
1 5 10 15
Asn Asp Leu Glu Ile Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Asp Gly Phe Lys
20 25 30
Leu Val Ala Gln Arg Arg Cys Glu Lys
35 40

<210> 86
<211> 41
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> synthetic
<400> 86
Gly Thr Asn Glu Cys Leu Asp His Leu Gly Gly Cys Ser His Val Cys
1 5 10 15
Arg Asp Leu Glu Ile Lys Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Asp Gly Phe Gln
20 25 30
Leu Val Ala Gln Arg Arg Cys Glu Lys
35 40
<210> 87
<211> 41
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> synthetic
<400> 87
Gly Trp Asn Glu Cys Leu Asp Asn Leu Gly Gly Cys Ser His Val Cys
1 5 10 15
Arg Asp Leu Glu Ile Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Asp Gly Phe Gln
20 25 30
Leu Val Ala Gln Arg Arg Cys Glu Lys
35 40
<210> 88
<211> 40
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> synthetic
<400> 88
Gly Thr Asn Glu Cys Leu Asp Asn Leu Gly Gly Cys Ser His Val Cys
1 5 10 15
Lys Asp Leu Glu Ile Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Asp Gly Phe Gln
20 25 30
Leu Val Ala Lys Arg Arg Cys Glu
35 40
<210> 89
<211> 40
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> synthetic
<400> 89
Gly Thr Asn Glu Cys Leu Asp Asn Leu Gly Gly Cys Ser His Val Cys
1 5 10 15

Lys Asp Leu Glu Lys Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Asp Gly Phe Gln
20 25 30
Leu Val Ala Gln Arg Arg Cys Glu
35 40
<210> 90
<211> 40
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> synthetic
<400> 90
Thr Asn Glu Cys Leu Asp Asn Leu Gly Gly Cys Ser His Val Cys Arg
1 5 10 15
Asp Leu Glu Ile Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Asp Gly Phe Gln Leu
20 25 30
Val Ala Gln Arg Arg Cys Glu Lys
35 40
<210> 91
<211> 40
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> synthetic
<400> 91
Gly Thr Asn Glu Cys Leu Asp Asn Leu Gly Gly Cys Ser His Val Cys
1 5 10 15
Arg Asp Leu Glu Ile Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Asp Gly Phe Lys
20 25 30
Leu Val Ala Lys Arg Arg Cys Glu
35 40
<210> 92
<211> 42
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> synthetic
<400> 92
Ala Gly Thr Asn Glu Cys Leu Asp Asn Leu Gly Gly Cys Ser His Val
1 5 10 15
Cys Arg Asp Leu Glu Ile Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Asp Gly Phe
20 25 30
Gln Leu Val Ala Gln Arg Arg Cys Glu Lys
35 40
<210> 93
<211> 41
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>

<223> synthetic
<400> 93
Gly Thr Asn Glu Cys Leu Asp Asn Leu Gly Gly Cys Ser Tyr Val Cys
1 5 10 15
Arg Asp Leu Glu Lys Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Asp Gly Phe Gln
20 25 30
Leu Val Ala Gln Arg Arg Cys Glu Lys
35 40
<210> 94
<211> 40
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> synthetic
<400> 94
Gly Thr Asn Glu Cys Leu Asp Asn Leu Gly Gly Cys Ser His Val Cys
1 5 10 15
Lys Asp Leu Glu Ile Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Asp Gly Phe Gln
20 25 30
Leu Val Ala Gln Arg Arg Cys Lys
35 40
<210> 95
<211> 40
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> synthetic
<400> 95
Gly Thr Asn Glu Cys Leu Asp Asn Leu Gly Gly Cys Ser His Val Cys
1 5 10 15
Arg Asp Leu Glu Ile Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Lys Gly Phe Gln
20 25 30
Leu Val Ala Gln Arg Arg Cys Lys
35 40
<210> 96
<211> 40
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> synthetic
<400> 96
Gly Thr Asn Glu Cys Leu Asp His Leu Gly Gly Cys Ser His Val Cys
1 5 10 15
Arg Asp Leu Glu Lys Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Asp Gly Phe Gln
20 25 30
Leu Val Ala Gln Arg Arg Cys Lys
35 40
<210> 97

<211> 40
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> synthetic
<400> 97
Gly Thr Asn Glu Cys Leu Asp Asn Leu Gly Gly Cys Ser His Val Cys
1 5 10 15
Arg Asp Leu Glu Lys Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Glu Gly Phe Gln
20 25 30
Leu Val Ala Gln Arg Arg Cys Lys
35 40
<210> 98
<211> 41
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> synthetic
<400> 98
Gly Thr Asn Glu Cys Leu Asp Asn Leu Gly Gly Cys Ser His Val Cys
1 5 10 15
Arg Asp Leu Glu Lys Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Glu Gly Phe Gln
20 25 30
Leu Val Ala Gln Arg Arg Cys Glu Lys
35 40
<210> 99
<211> 40
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> synthetic
<400> 99
Gly Thr Asn Glu Cys Leu Asp Asn Leu Gly Gly Cys Ser His Val Cys
1 5 10 15
Arg Asp Leu Glu Lys Lys Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Asp Gly Phe Gln
20 25 30
Leu Val Ala Gln Arg Arg Cys Glu
35 40
<210> 100
<211> 40
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> synthetic
<400> 100
Gly Thr Asn Glu Cys Leu Asp Asn Leu Gly Gly Cys Ser His Val Cys
1 5 10 15
Arg Asp Leu Lys Lys Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Asp Gly Phe Gln

20 25 30
Leu Val Ala Gln Arg Arg Cys Glu
35 40
<210> 101
<211> 40
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> synthetic
<400> 101
Gly Thr Asn Glu Cys Leu Asp Asn Leu Gly Gly Cys Ser His Val Cys
1 5 10 15
Arg Asp Leu Lys Ile Lys Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Asp Gly Phe Gln
20 25 30
Leu Val Ala Gln Arg Arg Cys Glu
35 40
<210> 102
<211> 40
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> synthetic
<400> 102
Gly Thr Asn Glu Cys Leu Asp Asn Leu Gly Gly Cys Ser His Val Cys
1 5 10 15
Arg Asp Lys Glu Lys Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Asp Gly Phe Gln
20 25 30
Leu Val Ala Gln Arg Arg Cys Glu
35 40
<210> 103
<211> 41
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> synthetic
<400> 103
Gly Thr Asn Glu Cys Leu Asp His Leu Gly Gly Cys Ser His Val Cys
1 5 10 15
Arg Asp Leu Glu Lys Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Glu Gly Phe Gln
20 25 30
Leu Val Ala Gln Arg Arg Cys Glu Lys
35 40
<210> 104
<211> 41
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> synthetic

<400> 104
Gly Thr Asn Glu Cys Leu Asp Asn Leu Gly Gly Cys Ser His Val Cys
1 5 10 15
Arg Asp Leu Glu Ile Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Glu Gly Phe Gln
20 25 30
Leu Val Ala Lys Arg Arg Cys Glu Lys
35 40
<210> 105
<211> 41
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> synthetic
<400> 105
Gly Thr Asn Glu Cys Leu Asp Asn Leu Gly Gly Cys Ser His Val Cys
1 5 10 15
Arg Asp Leu Glu Ile Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Glu Gly Phe Lys
20 25 30
Leu Val Ala Gln Arg Arg Cys Glu Lys
35 40
<210> 106
<211> 40
<212> PRT
<213> Artificial sequence
<220>
<223> Synthetic
<400> 106
Gly Thr Asn Glu Cys Leu Asp Asn Leu Gly Gly Cys Ser His Val Cys
1 5 10 15
Lys Asp Leu Glu Ile Gly Tyr Glu Cys Leu Cys Pro Asp Gly Phe Lys
20 25 30
Leu Val Ala Gln Arg Arg Cys Glu
35 40
40

(57) Формула изобретения

1. Производное подобного эпидермальному фактору роста домена А (ЭФР(А)), включающее:

1) пептидный аналог ЭФР(А) домена ЭФР(А) рецептора липопротеинов низкой плотности (Р-ЛНП), определенного последовательностью SEQ ID NO: 1, где SEQ ID NO: 1 соответствует аминокислотам 293-332 Р-ЛНП, включающий 301Leu, 310Asp и аминокислотную замену 312Lys и до шести дополнительных аминокислотных замен, и

2) заместитель, присоединенный к альфа-азоту N-концевой аминокислоты пептидного аналога ЭФР(А) или к эпсилон-азоту остатка Lys в пептидном аналоге ЭФР(А), где указанный заместитель имеет Формулу I:

Z_1-Z_2-Z_3-Z_4-Z_5-Z_6-Z_7-Z_8-Z_9-Z_{10}- [I],

в которой

Z_1 выбран из следующего:

Хим. формула 1: HOOC-$(CH_2)_n$-CO-,

Хим. формула 2: тетразолил-$(CH_2)_n$-CO-,

Хим. формула 3: HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_m$-CO-,

Хим. формула 4: $HOS(O)_2$-$(CH_2)_n$-CO-,

Хим. формула 5: $MeS(O)_2NH(CO)N$-$(CH_2)_n$-CO- и

Хим. формула 6: 3-HO-изоксазол-$(CH_2)_n$-CO-,

где

n представляет собой целое число в интервале 8-20,

m представляет собой целое число в интервале 8-11,

-COOH группа в Хим. формуле 3 может быть присоединена по положению 2, 3 или 4 фенильного кольца;

Z_2 выбран из следующего:

Хим. формула 7: -NH-SO_2-$(CH_2)_3$-CO-,

Хим. формула 8: -NH-CH_2-(C_6H_{10})-CO- и связь;

Z_3 выбран из:

yGlu, Glu и связи;

Z_4, Z_5, Z_6, Z_7, Z_8, Z_9 выбраны, независимо друг от друга, из:

Glu, yGlu, Gly, Ser, Ala, Thr, Ado, Aeep, Aeeep, TtdSuc и связи;

Z_{10} выбран из:

Хим. формулы 14: -NH-CH_2-(C_6H_4)-CH_2- и связи.

2. Производное ЭФР(А) по п. 1, которое включает один или два заместителя, выбранных из группы, состоящей из:

HOOC-$(CH_2)_{18}$-CO-gGlu-2xAdo-,

HOOC-$(CH_2)_{18}$-CO-NH-CH_2-(C_6H_{10})-CO-gGlu-2xAdo-,

HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo-,

HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo-NH-CH_2-(C_6H_4)-CH_2-,

HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-,

HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-NH-CH_2-(C_6H_{10})-CO-gGlu-2xAdo-,

HOOC-$(CH_2)_{14}$-CO-gGlu-2xAdo-,

HOOC-$(CH_2)_{14}$-CO-gGlu-,

HOOC-$(CH_2)_{14}$-CO-gGlu-2xAdo-,

HOOC-$(CH_2)_{12}$-CO-gGlu-2xAdo-,

4-HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_{10}$-CO-gGlu-2xAdo-,

4-HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_{10}$-CO-gGlu-3xAdo-,

4-HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_{10}$-CO-gGlu-,

4-HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_{10}$-CO-2xgGlu-,

4-HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_{10}$-CO-gGlu-3xGly-,

4-HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_{10}$-CO-2xgGlu-2xAdo-,

4-HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_{10}$-CO-gGlu-TtdSuc-,

4-HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_9$-CO-,

4-HOOC-(C_6H_4)-O-(CH_2)$_{10}$-CO-gGlu-4xAdo-,

4-HOOC-(C_6H_4)-O-(CH_2)$_{10}$-CO-NH-CH_2-(C_6H_{10})-CO-gGlu-2xAdo-,

4-HOOC-(C_6H_4)-O-(CH_2)$_9$-CO-gGlu-2xAdo-,

3-HOOC-(C_6H_4)-O-(CH_2)$_9$-CO-gGlu-2xAdo-,

3-HO-изоксазол-(CH_2)$_{12}$-CO-gGlu-2xAdo-,

HOS(O)$_2$-(CH_2)$_{15}$-CO-gGlu-2xAdo-NH-CH_2-(C_6H_4)-CH_2,

HOS(O)$_2$-(CH_2)$_{13}$-CO-gGlu-2xAdo-,

Тетразолил-(CH_2)$_{15}$-CO-NH-SO_2-(CH_2)$_3$-CO-Ado-Ado-NH-CH_2-(C_6H_4)-CH_2,

Тетразолил-(CH_2)$_{12}$-CO-gGlu-2xAdo-,

Тетразолил-(CH_2)$_{15}$-CO-gGlu-2xAdo- и

MeS(O)$_2$NH(CO)NH-(CH_2)$_{12}$-CO-gGlu-2xAdo-.

3. Производное ЭФР(А) по любому из пп. 1, 2, в котором указанный пептидный аналог ЭФР(А) включает один, два, три, четыре или все пять из следующих аминокислотных остатков (дикого типа): 295Asn, 296Glu, 298Leu, 302Gly и 310Asp.

4. Производное ЭФР(А) по п. 3, в котором указанный пептидный аналог ЭФР(А) включает остаток 296Glu дикого типа.

5. Производное ЭФР(А) по п. 3, в котором указанный пептидный аналог ЭФР(А) включает остаток 295Asn дикого типа.

6. Производное ЭФР(А) по любому из пп. 1-5, где 312Lys заменен на Glu, Asp, Gln или Arg.

7. Производное ЭФР(А) по любому из пп. 1-6, где указанный пептидный аналог ЭФР (А) включает 309Arg.

8. Производное ЭФР(А) по любому из пп. 1-7, где указанный пептидный аналог ЭФР (А) включает 321Glu.

9. Производное ЭФР(А) по любому из пп. 1-8, в котором по меньшей мере один заместитель присоединен к остатку Lys в пептидном аналоге ЭФР(А), выбранному из группы, состоящей из: 292Lys, 293Lys, 294Lys, 296Lys, 299Lys, 300Lys, 303Lys, 305Lys, 306Lys, 309Lys, 311Lys, 313Lys, 314Lys, 315Lys, 316Lys, 318Lys, 320Lys, 321Lys, 322Lys, 323Lys, 324Lys, 325Lys, 326Lys, 327Lys, 328Lys, 329Lys, 330Lys, 332Lys и 333Lys.

10. Производное ЭФР(А) по любому из пп. 1-9, где указанный пептидный аналог ЭФР(А) включает два остатка Lys, выбранных из пар, состоящих из:

i.	293K и 294K	xii.	313K и 328K
ii.	293K и 333K	xiii.	313K и 332K
iii.	309K и 313K	xiv.	313K и 333K
iv.	309K и 324K	xv.	314K и 333K
v.	309K и 328K	xvi.	321K и 332K
vi.	309K и 332K	xvii.	321K и 333K
vii.	309K и 333K	xviii.	324K и 333K
viii.	311K и 313K	xix.	324K и 328K
ix.	313K и 314K	xx.	328K и 333K
x.	313K и 321K	xxi.	330K и 333K и
xi.	313K и 324K	xxii.	332K и 333K.

11. Производное ЭФР(А) по п. 1, выбранное из группы производных ЭФР(А), состоящей из нижеследующих производных ЭФР(А), где для каждого производного ЭФР(А) аминокислотная последовательность пептидного аналога ЭФР(А) определена SEQ ID NO, структура заместителя и сайт(ы) присоединения являются следующими:

Пример соединения №	SEQ ID NO пептидного аналога ЭФР(А)	Заместитель	Место(-а) присоединения со ссылкой на Р-ЛНП 293-332 (SEQ ID NO: 1)
3	4	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	333K
5	6	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo-NH-CH_2-(C_6H_4)-CH_2-	N-конец
6	7	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	299K
7	8	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	330K
8	6	HOS(O)2-(CH2)15-CO-gGlu-2xAdo-NH-CH_2-(C_6H_4)-CH_2-	N-конец
9	8	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	N-конец, 330K
10	11	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	332K
11	12	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	N-конец
12	13	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	293K, 333K
13	13	4-HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_{10}$-CO-gGlu-2xAdo	293K, 333K
14	15	4-HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_{10}$-CO-gGlu-2xAdo	332K, 333K
15	16	4-HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_{10}$-CO-gGlu-2xAdo	330K, 333K
16	17	4-HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_{10}$-CO-gGlu-2xAdo	321K, 333K
18	19	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	333K
19	6	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	N-конец
20	21	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	321K
21	22	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	324K
22	23	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	N-конец
23	24	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	332K
24	25	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	293K
25	12	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	N-конец, 293K
26	27	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	300K
27	28	4-HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_{10}$-CO-gGlu-	293K, 294K

Пример соединения №	SEQ ID NO пептидного аналога ЭФР(А)	Заместитель	Место(-а) присоединения со ссылкой на Р-ЛНП 293-332 (SEQ ID NO: 1)
		2xAdo	
29	30	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	309K
30	31	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	318K
31	32	4-HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_{10}$-CO-gGlu-2xAdo	313K, 333K
32	33	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	326K
33	34	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	325K
34	35	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	323K
35	36	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	322K
36	37	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	320K
37	38	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	329K
38	39	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	313K
39	40	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	328K
40	41	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	316K
41	42	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	315K
42	43	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	333K
43	44	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	314K
44	45	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	311K
46	47	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	333K
47	48	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	333K
51	49	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	N-конец
52	50	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	N-конец
53	51	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	306K
54	52	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	305K
55	53	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	303K
57	55	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	333K
60	58	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	333K
62	60	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	333K
63	61	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	333K
66	9	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	333K
67	10	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	333K
68	6	Тетразолил-$(CH_2)_{15}$-CO-NH-SO_2-$(CH_2)_3$-CO-Ado-Ado-NH-CH_2-(C_6H_4)-CH_2-	N-конец
69	14	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	328K
72	26	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	N-конец
73	63	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	296K
74	64	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	294K
75	65	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	292K
76	66	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	328K

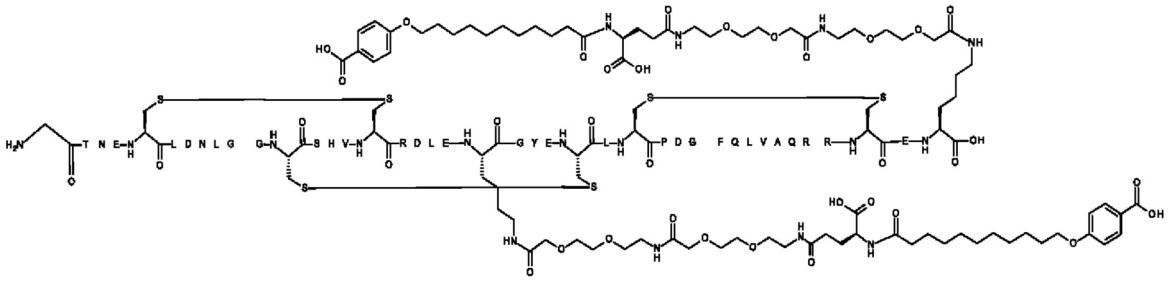
Пример соединения №	SEQ ID NO пептидного аналога ЭФР(А)	Заместитель	Место(-а) присоединения со ссылкой на Р-ЛНП 293-332 (SEQ ID NO: 1)
77	67	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	333K
78	68	4-HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_{10}$-CO-gGlu-3xAdo и 4-HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_{10}$-CO-gGlu-2xAdo	N-конец, 333K
79	17	4-HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_9$-CO-gGlu-2xAdo	321K, 333K
80	4	HOOC-$(CH_2)_{14}$-CO-gGlu-2xAdo	333K
81	4	HOOC-$(CH_2)_{18}$-CO-gGlu-2xAdo	333K
82	4	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu	333K
83	17	HOOC-$(CH_2)_{12}$-CO-gGlu-2xAdo	321K, 333K
84	17	HOOC-$(CH_2)_{14}$-CO-gGlu-2xAdo	321K, 333K
85	69	4-HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_9$-CO-gGlu-2xAdo	313K, 333K
86	70	4-HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_{10}$-CO-gGlu-2xAdo	313K, 328K
87	71	4-HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_{10}$-CO-gGlu-2xAdo	313K, 324K
88	39	4-HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_{10}$-CO-gGlu-2xAdo	N-конец, 313K
89	72	4-HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_{10}$-CO-gGlu-2xAdo	324K, 333K
90	73	4-HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_{10}$-CO-gGlu-2xAdo	313K, 321K
91	74	4-HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_9$-CO-gGlu-2xAdo	313K, 333K
92	69	4-HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_{10}$-CO-gGlu-2xAdo	313K, 333K
93	75	4-HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_{10}$-CO-gGlu-2xAdo	N-конец, 313K
94	76	4-HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_{10}$-CO-gGlu-2xAdo	N-конец, 313K
95	76	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	313K
96	77	4-HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_{10}$-CO-gGlu-2xAdo	313K, 332K
97	78	4-HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_{10}$-CO-gGlu-2xAdo	328K, 333K
98	32	4-HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_{10}$-CO-gGlu	313K, 333K
99	32	4-HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_{10}$-CO-2xgGlu	313K, 333K
100	32	4-HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_{10}$-CO-gGlu-3xGly	313K, 333K
101	32	4-HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_{10}$-CO-2xgGlu-2xAdo	313K, 333K
102	32	3-HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_9$-CO-gGlu-	313K, 333K

Пример соединения №	SEQ ID NO пептидного аналога ЭФР(А)	Заместитель	Место(-а) присоединения со ссылкой на Р-ЛНП 293-332 (SEQ ID NO: 1)
		2xAdo	
106	82	HOOC-$(CH_2)_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	333K
107	4	4-HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_{10}$-CO-gGlu-2xAdo	N-конец
108	83	4-HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_9$-CO-gGlu-2xAdo	313K, 333K
109	69	3-HO-изоксазол-$(CH_2)_{12}$-CO-gGlu-2xAdo	313K, 333K
110	32	3-HO-изоксазол-$(CH_2)_{12}$-CO-gGlu-2xAdo	313K, 333K
111	84	4-HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_{10}$-CO-gGlu-2xAdo	309K, 333K
112	85	4-HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_{10}$-CO-gGlu-2xAdo	324K, 333K
113	86	4-HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_{10}$-CO-gGlu-2xAdo	314K, 333K
114	87	4-HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_{10}$-CO-gGlu-2xAdo	N-конец, 333K
115	88	4-HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_{10}$-CO-gGlu-2xAdo	309K, 328K
116	89	4-HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_{10}$-CO-gGlu-2xAdo	309K, 313K
117	90	4-HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_{10}$-CO-gGlu-2xAdo	N-конец, 333K
118	91	4-HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_{10}$-CO-gGlu-2xAdo	324K, 328K
119	92	4-HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_{10}$-CO-gGlu-2xAdo	N-конец, 333K
120	93	4-HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_{10}$-CO-gGlu-2xAdo	313K, 333K
121	11	4-HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_{10}$-CO-gGlu-2xAdo	N-конец, 332K
122	40	4-HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_{10}$-CO-gGlu-2xAdo	N-конец, 328K
123	22	4-HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_{10}$-CO-gGlu-2xAdo	N-конец, 324K
124	94	4-HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_{10}$-CO-gGlu-2xAdo	309K, 332K
125	106	4-HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_{10}$-CO-gGlu-2xAdo	309K, 324K
126	30	4-HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_{10}$-CO-gGlu-2xAdo	N-конец, 309K
127	95	4-HOOC-(C_6H_4)-O-$(CH_2)_{10}$-CO-gGlu-2xAdo	321K, 332K
128	32	HOOC-$(CH_2)_{14}$-CO-gGlu-2xAdo	313K, 333K
129	32	HOOC-(CH2)14-CO-gGlu	313K, 333K

Пример соединения №	SEQ ID NO пептидного аналога ЭФР(А)	Заместитель	Место(-а) присоединения со ссылкой на Р-ЛНП 293-332 (SEQ ID NO: 1)
130	96	4-HOOC-(C_6H_4)-O-(CH_2)$_{10}$-CO-gGlu-2xAdo	313K, 332K
131	32	4-HOOC-(C_6H_4)-O-(CH_2)$_{10}$-CO-gGlu-TtdSuc	313K, 333K
132	97	4-HOOC-(C_6H_4)-O-(CH_2)$_{10}$-CO-gGlu-TtdSuc	313K, 332K
133	98	4-HOOC-(C_6H_4)-O-(CH_2)$_{10}$-CO-gGlu-2xAdo	313K, 333K
134	19	HOOC-(CH_2)$_{18}$-CO-gGlu-2xAdo	333K
135	99	4-HOOC-(C_6H_4)-O-(CH_2)$_{10}$-CO-gGlu-2xAdo	313K, 314K
138	102	4-HOOC-(C_6H_4)-O-(CH_2)$_{10}$-CO-gGlu-2xAdo	312K, 313K
139	69	4-HOOC-(C_6H_4)-O-(CH_2)$_9$-CO	312K, 314K
140	32	Тетразолил-(CH_2)$_{12}$-CO-gGlu-2xAdo	311K, 313K
141	32	HOS(O)$_2$-(CH_2)$_{13}$-CO-gGlu-2xAdo	313K, 333K
142	32	MeS(O)$_2$NH(CO)NH-(CH_2)$_{12}$-CO-gGlu-2xAdo	313K, 333K
143	98	4-HOOC-(C_6H_4)-O-(CH_2)$_{10}$-CO-gGlu	313K, 333K
144	98	HOOC-(CH_2)$_{14}$-CO-gGlu-2xAdo	313K, 333K
145	32	Тетразолил-(CH_2)$_{15}$-CO-gGlu-2xAdo	313K, 333K
146	98	HOOC-(CH_2)$_{14}$-CO-gGlu	313K, 333K
147	103	4-HOOC-(C_6H_4)-O-(CH_2)$_{10}$-CO-gGlu-2xAdo	313K, 333K
148	32	4-HOOC-(C_6H_4)-O-(CH_2)$_{10}$-CO-gGlu-4xAdo	313K, 333K
149	74	4-HOOC-(C_6H_4)-O-(CH_2)$_{10}$-CO-gGlu-2xAdo	313K, 333K
150	78	HOOC-(CH_2)$_{14}$-CO-gGlu-2xAdo	328K, 333K
151	104	HOOC-(CH_2)$_{14}$-CO-gGlu-2xAdo	328K, 333K
152	72	HOOC-(CH_2)$_{14}$-CO-gGlu-2xAdo	324K, 333K
153	105	HOOC-(CH_2)$_{14}$-CO-gGlu-2xAdo	324K, 333K
154	104	HOOC-(CH_2)$_{16}$-CO-gGlu-2xAdo	328K, 333K
155	73	HOOC-(CH_2)$_{14}$-CO-gGlu-2xAdo	313K, 321K
156	32	4-HOOC-(C_6H_4)-O-(CH_2)$_{10}$-CO-Trx-gGlu-2xAdo	313K, 333K
157	98	4-HOOC-(C_6H_4)-O-(CH_2)$_{10}$-CO-Trx-gGlu-2xAdo	313K, 333K
158	19	HOOC-(CH_2)$_{18}$-CO-Trx-gGlu-2xAdo	333K
159	19	HOOC-(CH_2)$_{16}$-CO-Trx-gGlu-2xAdo	333K

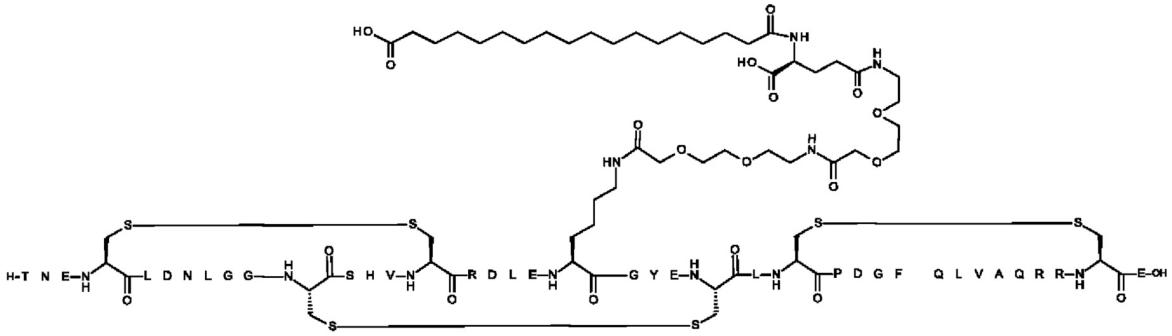
12. Производное ЭФР(А) по п. 1, выбранное из группы, состоящей из:

i.



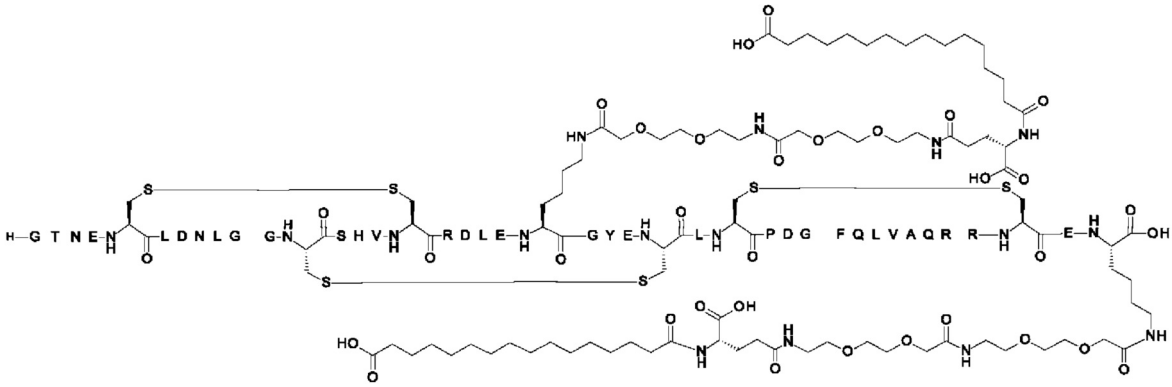
где аминокислотная последовательность производного ЭФР(А) (i) представляет собой SEQ ID NO: 32,

ii.



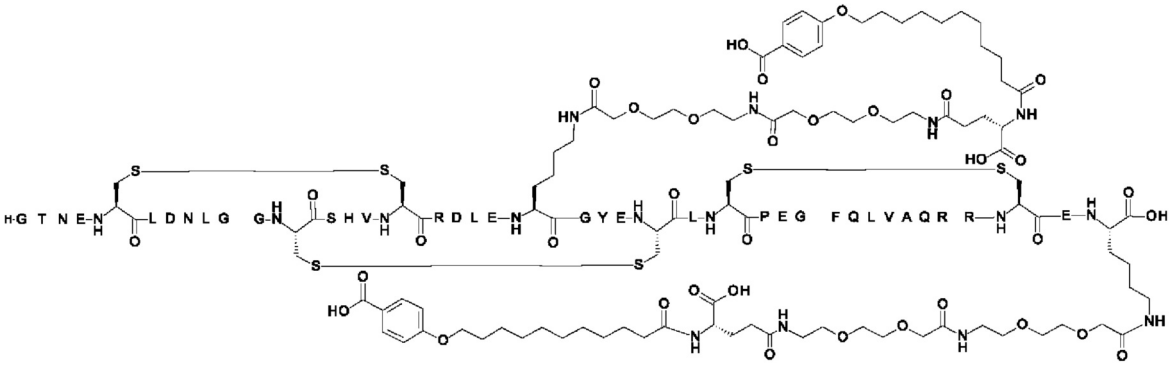
где аминокислотная последовательность производного ЭФР(А) (ii) представляет собой SEQ ID NO: 76,

iii.



где аминокислотная последовательность производного ЭФР(А) (iii) представляет собой SEQ ID NO: 32,

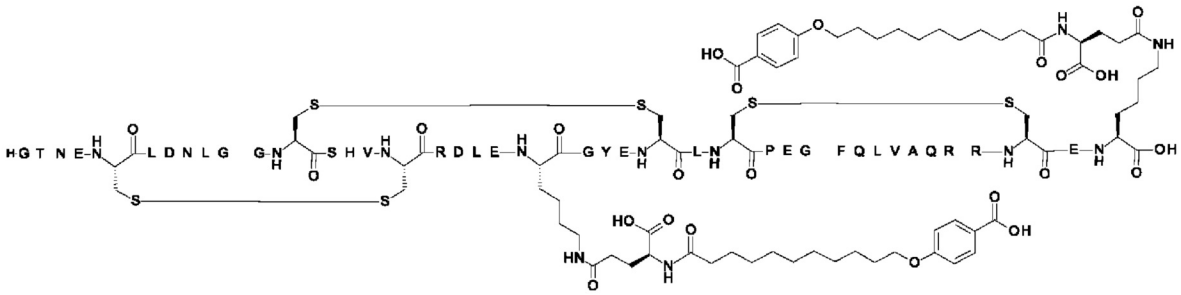
iv.



где аминокислотная последовательность производного ЭФР(А) (iv) представляет

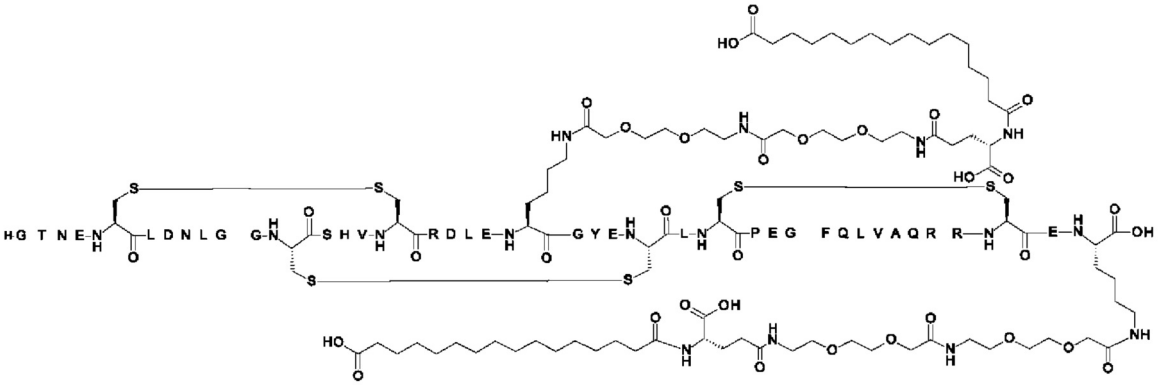
собой SEQ ID NO: 98,

v.



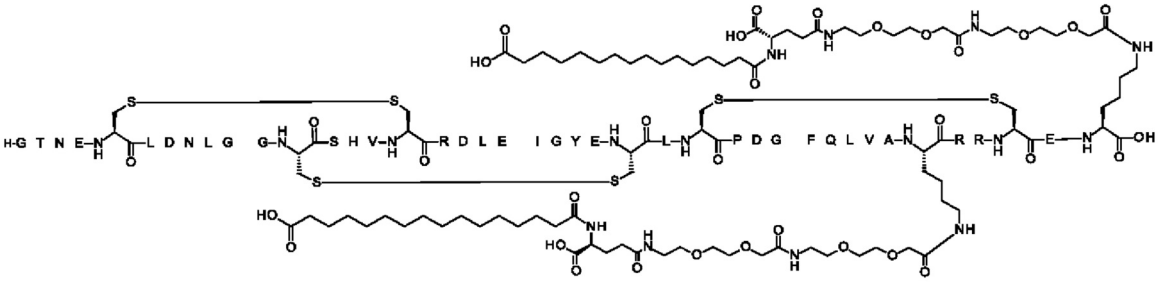
где аминокислотная последовательность производного ЭФР(А) (v) представляет собой SEQ ID NO: 98,

vi.



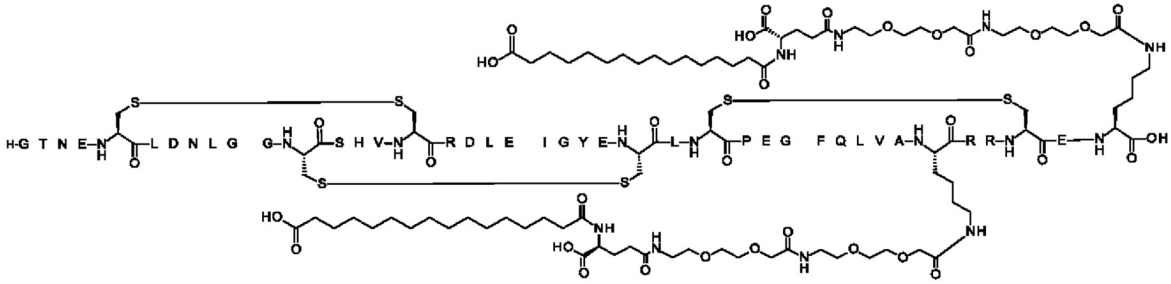
где аминокислотная последовательность производного ЭФР(А) (vi) представляет собой SEQ ID NO: 98,

vii.



где аминокислотная последовательность производного ЭФР(А) (vii) представляет собой SEQ ID NO: 78,

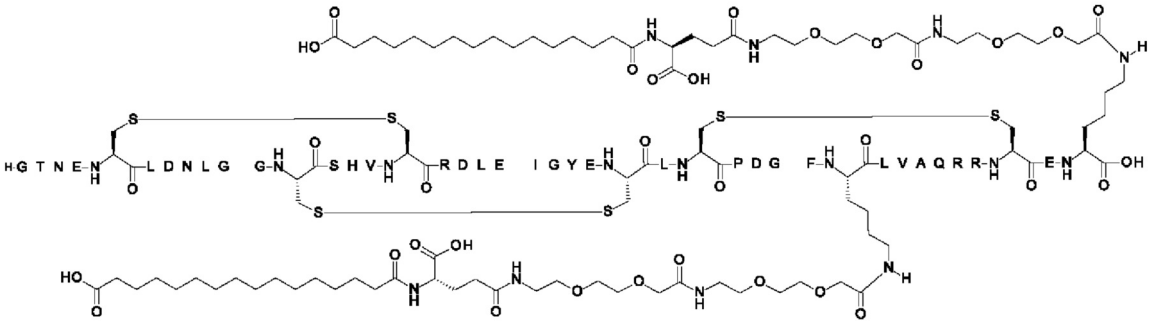
viii.



где аминокислотная последовательность производного ЭФР(А) (viii) представляет

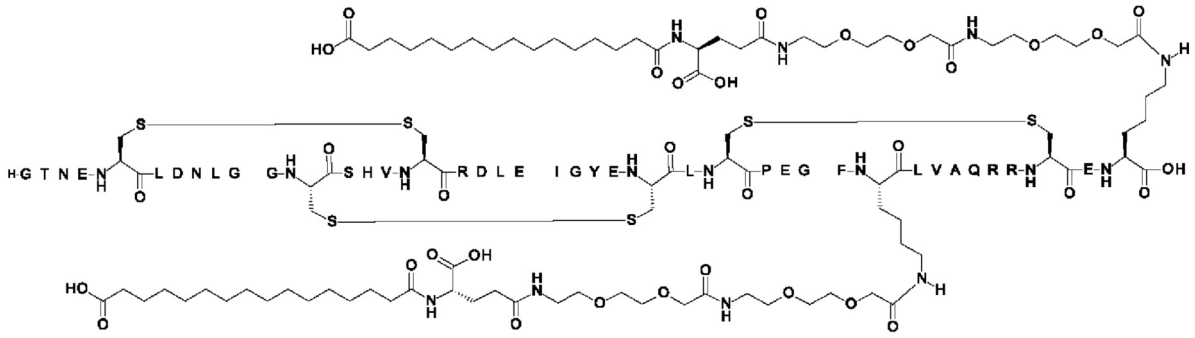
собой SEQ ID NO: 104,

ix.



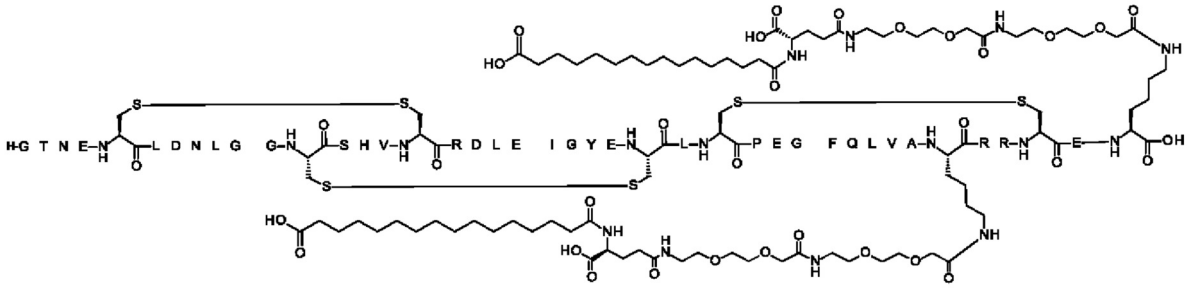
где аминокислотная последовательность производного ЭФР(А) (ix) представляет собой SEQ ID NO: 72, и

x.



где аминокислотная последовательность производного ЭФР(А) (x) представляет собой SEQ ID NO:105.

13. Производное ЭФР(А) структуры



где аминокислотная последовательность соединения представляет собой SEQ ID NO: 104.

14. Пептидный аналог ЭФР(А) домена ЭФР(А) Р-ЛНП, определенного последовательностью SEQ ID NO: 1, где SEQ ID NO: 1 соответствует аминокислотам 293-332 Р-ЛНП, где указанный пептидный аналог ЭФР(А) включает 301Leu, 310Asp и аминокислотную замену 312Lys и до шести дополнительных аминокислотных замен.

15. Пептидный аналог ЭФР(А) по п. 14, который включает Cys-остатки 297Cys, 304Cys, 308Cys, 317Cys, 319Cys и 331Cys.

16. Пептидный аналог ЭФР(А) по любому из пп. 14, 15, дополнительно включающий один, два, три, четыре или все пять из следующих аминокислотных остатков (дикого типа): 295Asn, 296Glu, 298Leu, 302Gly и 310Asp.

17. Пептидный аналог ЭФР(А) по любому из пп. 14-16, где 312Lys заменен на Glu,

Asp, Gln или Arg.

18. Пептидный аналог ЭФР(А) по любому из пп. 14-17, дополнительно содержащий 309Arg.

19. Пептидный аналог ЭФР(А) по любому из пп. 14-18, дополнительно содержащий 321Glu.

20. Пептидный аналог ЭФР(А) по любому из пп. 14-19, где указанный пептид включает по меньшей мере две аминокислотные замены, определенные как:

i. 301Leu и 309Arg,

ii. 301Leu, 309Arg, 312Glu,

iii. 301Leu, 307Ile и 309Arg,

iv. 301Leu, 307Ile, 309Arg и 312Glu,

v. 301Leu, 309Arg и 321Glu,

vi. 301Leu, 309Arg, 321Glu и 312Glu,

vii. 301Leu, 307Ile, 309Arg и 299Ala,

viii. 301Leu, 307Ile, 309Arg, 299Ala и 312Glu,

ix. 301Leu и 309Arg и по меньшей мере одна замена Lys,

x. 301Leu, 309Arg, 312Glu и по меньшей мере одна замена Lys,

xi. 301Leu, 307Ile и 309Arg и по меньшей мере одна замена Lys,

xii. 301Leu, 307Ile, 309Arg и 312Glu и по меньшей мере одна замена Lys,

xiii. 301Leu, 309Arg и 321Glu и по меньшей мере одна замена Lys,

xiv. 301Leu, 309Arg, 321Glu и 312Glu и по меньшей мере одна замена Lys,

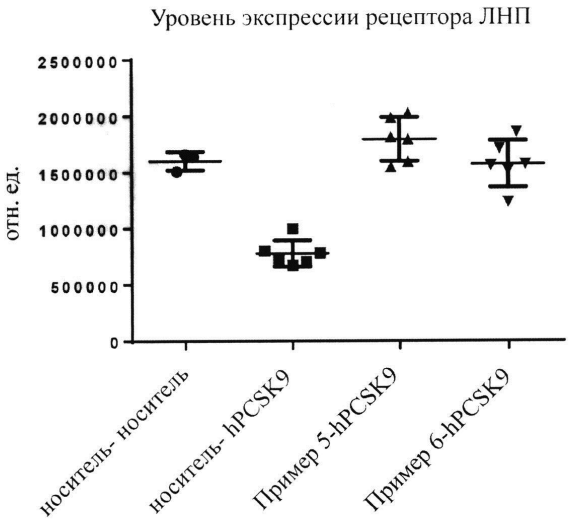
xv. 301Leu, 307Ile, 309Arg и 299Ala и по меньшей мере одна замена Lys или

xvi. 301Leu, 307Ile, 309Arg, 299Ala и 312Glu и по меньшей мере одна замена Lys.

21. Пептидный аналог ЭФР(А) по любому из пп. 14-20, ЭФР(А), дополнительно включающий по меньшей мере одну замену Lys, выбранную из группы, состоящей из: 292Lys, 293Lys, 294Lys, 296Lys, 299Lys, 300Lys, 303Lys, 305Lys, 306Lys, 309Lys, 311Lys, 313Lys, 314Lys, 315Lys, 316Lys, 318Lys, 320Lys, 321Lys, 322Lys, 323Lys, 324Lys, 325Lys, 326Lys, 327Lys, 328Lys, 329Lys, 330Lys, 332Lys и 333Lys.

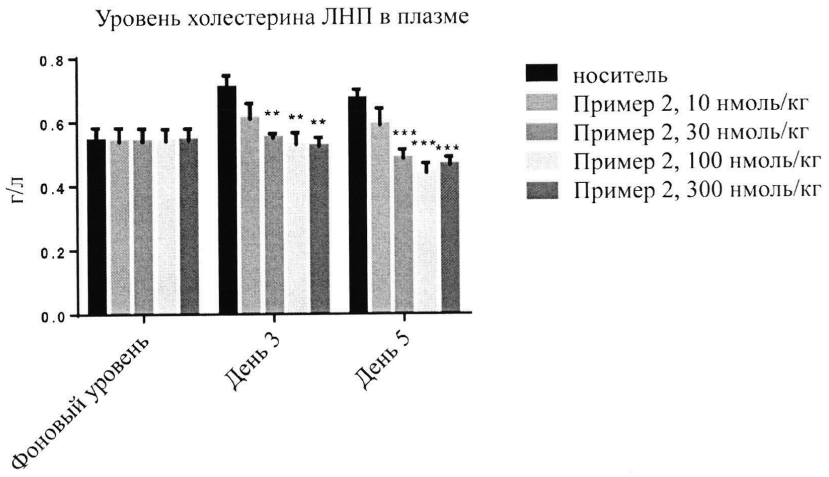
22. Пептидный аналог ЭФР(А) по п. 14, где последовательность указанного пептида выбрана из группы, состоящей из: SEQ ID NO: 4, 6-17, 19, 21-28, 30-45, 47-53, 55, 58, 60, 61, 63-78, 82-99, 102-106.

1


Уровень экспрессии рецептора ЛНП
отн. ед.
2500000
2000000
1500000
1000000
500000
0
носитель- носитель
носитель- hPCSK9
Пример 5-hPCSK9
Пример 6-hPCSK9

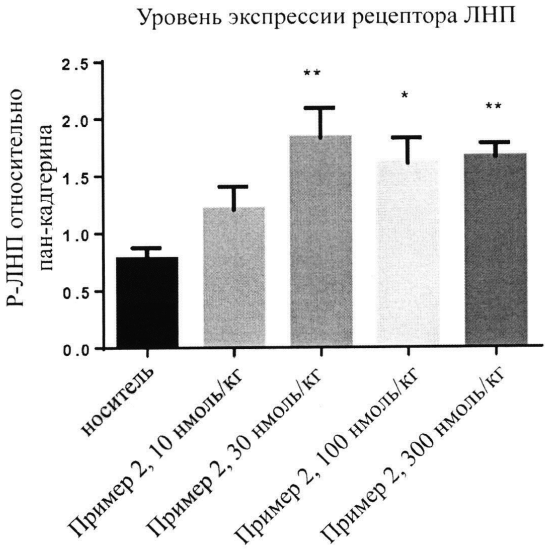
ФИГ. 1

2


Уровень холестерина ЛНП в плазме
г/л
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
**
**
**
***
***
***
Фоновый уровень
День 3
День 5
носитель
Пример 2, 10 нмоль/кг
Пример 2, 30 нмоль/кг
Пример 2, 100 нмоль/кг
Пример 2, 300 нмоль/кг

ФИГ. 2

3


Уровень экспрессии рецептора ЛНП
Р-ЛНП относительно пан-кадгерина
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
**
*
**
носитель
Пример 2, 10 нмоль/кг
Пример 2, 30 нмоль/кг
Пример 2, 100 нмоль/кг
Пример 2, 300 нмоль/кг

ФИГ. 3