



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) **ЗАЯВКА НА ИЗОБРЕТЕНИЕ**

(21)(22) Заявка: 2020131433, 29.03.2019

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
29.03.2018 FI 20185304

(43) Дата публикации заявки: 04.05.2022 Бюл. № 13

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на
национальной фазе: 29.10.2020(86) Заявка РСТ:
FI 2019/050258 (29.03.2019)(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2019/185994 (03.10.2019)Адрес для переписки:
190900, г. Санкт-Петербург, ВОХ 1125, Нилова
Мария Иннокентьевна

(71) Заявитель(и):

ХЕЛЬСИНГИН ИЛИОПИСТО (FI)

(72) Автор(ы):

**СААРМА, Март (FI),
АЙРАВААРА, Микко (FI),
ВОУТИЛАЙНЕН, Мерья (FI),
Ю, Ли Ин (FI),
ЛИНДАЛЬ, Мария (FI)**(54) **С-КОНЦЕВЫЕ ФРАГМЕНТЫ CDNF, ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ КОМПОЗИЦИИ, СОДЕРЖАЩИЕ
УКАЗАННЫЕ ФРАГМЕНТЫ, И ПРИМЕНЕНИЯ УКАЗАННЫХ ФРАГМЕНТОВ И КОМПОЗИЦИЙ**

(57) Формула изобретения

1. С-концевой фрагмент церебрального дофаминового нейротрофического фактора (CDNF), содержащий или состоящий из по меньшей мере последовательных остатков аминокислот в положениях 38-70 или 25-57 последовательности SEQ ID NO:1:

**МРАМКICEKL KKLDSQICEL KYEKTLDLAS VDLRKMVAE LKQILHSWGE
ECRACAEKTD YVNLIQELAP KYAATHPKTE L,**

или последовательности, которая имеет по меньшей мере 80% гомологии или идентичности последовательности с последовательностью в положениях 38-70 или 25-57 SEQ ID NO:1, причем указанный фрагмент представляет собой пептид, проникающий через мембрану клеток, и оказывает защитный эффект в отношении нейронов, для применения в качестве лекарственного средства.

2. Фрагмент для применения по п. 1 при лечении дегенеративного заболевания или нарушения.

3. Фрагмент для применения по п. 2, отличающийся тем, что указанное дегенеративное заболевание представляет собой нейродегенеративное заболевание.

4. Фрагмент для применения по п. 3, отличающийся тем, что указанное нейродегенеративное заболевание представляет собой заболевание центральной нервной системы (ЦНС), выбранное из группы, состоящей из: болезни Альцгеймера, болезни Паркинсона, множественной системной атрофии, бокового амиотрофического склероза, лобно-височной лобарной дегенерации, деменции с тельцами Леви, легкого когнитивного

нарушения, болезни Хантингтона, травматического повреждения головного мозга, наркотической зависимости и инсульта.

5. Фрагмент для применения по п. 4, отличающийся тем, что указанное заболевание ЦНС представляет собой болезнь Паркинсона.

6. Фрагмент для применения по п. 2 при лечении диабета типа I или типа II.

7. Фрагмент для применения по п. 3 при лечении бокового амиотрофического склероза.

8. Фрагмент для применения по п. 2 при лечении поражений сетчатки, таких как пигментный ретинит.

9. Фрагмент для применения по любому из пп. 1-8, отличающийся тем, что указанный фрагмент вводят путем внутривенного введения, интраперитонеального, подкожного, интратекального, интрацеребровентрикулярного, интраназального, трансдермального, интрацеребрального, внутримышечного, внутриглазного или внутриартериального введения, или указанный фрагмент вводят с помощью вирусного вектора экспрессии.

10. Фрагмент для применения по п. 9, отличающийся тем, что указанное внутривенное введение представляет собой периферическое введение.

11. Фрагмент для применения по любому из предшествующих пунктов, который предпочтительно имеет длину до 33-81 аминокислоты, отличающийся тем, что указанный фрагмент содержит по меньшей мере последовательные остатки аминокислот в положениях 38-70 или 25-57 последовательности SEQ ID NO:1, или последовательности, которая имеет по меньшей мере 80% гомологии или идентичности последовательности с последовательностью в положениях 38-70 или 25-57 в SEQ ID NO:1, и при этом, если она присутствует, последовательность, фланкирующая указанные последовательные остатки аминокислот, предпочтительно имеет по меньшей мере 80% гомологии или идентичности последовательности с последовательностью в соответствующих положениях в SEQ ID NO:1.

12. Фрагмент для применения по п. 11, отличающийся тем, что указанный фрагмент содержит или состоит из по меньшей мере последовательных остатков аминокислот в положениях 37-70, 36-70, 35-70, 34-70, 33-70, 32-70 или 31-70 последовательности SEQ ID NO:1, или последовательности, которая имеет по меньшей мере 80% гомологии или идентичности последовательности с последовательностью в положениях 37-70, 36-70, 35-70, 34-70, 33-70, 32-70 или 31-70 в SEQ ID NO:1, и при этом, если она присутствует, последовательность, фланкирующая указанные последовательные остатки аминокислот, предпочтительно имеет по меньшей мере 80% гомологии или идентичности последовательности с последовательностью в соответствующих положениях в SEQ ID NO:1.

13. Фрагмент для применения по п. 11, отличающийся тем, что указанный фрагмент содержит или состоит из по меньшей мере последовательных остатков аминокислот в положениях 25-57, 25-58, 25-59, 25-60, 25-61, 25-62, 25-63, 25-64, 25-65, 25-66, 25-67, 25-68, 25-69 или 25-70 последовательности SEQ ID NO:1, или последовательности, которая имеет по меньшей мере 80% гомологии или идентичности последовательности с последовательностью в положениях 25-57, 25-58, 25-59, 25-60, 25-61, 25-62, 25-63, 25-64, 25-65, 25-66, 25-67, 25-68, 25-69 или 25-70 в SEQ ID NO:1, и при этом, если она присутствует, последовательность, фланкирующая указанные последовательные остатки аминокислот, предпочтительно имеет по меньшей мере 80% гомологии или идентичности последовательности с последовательностью в соответствующих положениях в SEQ ID NO:1.

14. Фрагмент для применения по п. 12 или 13, отличающийся тем, что указанный фрагмент содержит или состоит из по меньшей мере последовательных остатков аминокислот в положениях 31-73 (пептид 6; SEQ ID NO:15), 25-73 (пептид 4; SEQ ID NO:

13), 21-73 (пептид 3; SEQ ID NO:12), 21-70 (пептид 7; SEQ ID NO:16), 31-81 (пептид 5; SEQ ID NO:14), 25-81 (пептид 2; SEQ ID NO:11), 25-57 (пептид 15, SEQ ID NO:24) или 37-73 (пептид 8, SEQ ID NO:17) последовательности SEQ ID NO:1, или последовательности, которая имеет по меньшей мере 80% гомологии или идентичности последовательности с последовательностью в положениях 31-73, 25-73, 21-73, 21-70, 31-81, 25-81, 25-57 или 37-73 в SEQ ID NO:1, и при этом, если она присутствует, последовательность, фланкирующая указанные последовательные остатки аминокислот, предпочтительно имеет по меньшей мере 80% гомологии или идентичности последовательности с последовательностью в соответствующих положениях в SEQ ID NO:1.

15. Фрагмент для применения по п. 14, отличающийся тем, что указанный фрагмент содержит или состоит из по меньшей мере последовательных остатков аминокислот в положениях 31-73 или 25-57 последовательности SEQ ID NO:1, или последовательности, которая имеет по меньшей мере 80% гомологии или идентичности последовательности с последовательностью в положениях 31-73 или 25-57 в SEQ ID NO:1, и при этом, если она присутствует, последовательность, фланкирующая указанные последовательные остатки аминокислот, предпочтительно имеет по меньшей мере 80% гомологии или идентичности последовательности с последовательностью в соответствующих положениях в SEQ ID NO:1.

16. Фрагмент для применения по любому из предшествующих пунктов, который имеет длину до 43-81, предпочтительно 43-61 аминокислоты.

17. Фрагмент для применения по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что концы указанного фрагмента содержат дополнительные модификации, защищающие указанный фрагмент от ферментативного расщепления.

18. Фрагмент для применения по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что указанный С-концевой фрагмент CDNF состоит из по меньшей мере 50 последовательных остатков аминокислот последовательности SEQ ID NO:1:

MPAMKICEKL KKLDSQICEL KYEKTLDLAS VDLRKMRVAE LKQILHSWGE
ECRACAECTD YVNLIQELAP KYAATHPKTE L

или последовательности, которая имеет по меньшей мере 90% гомологии или идентичности последовательности с последовательностью SEQ ID NO:1.

19. Фрагмент для применения по п. 18, отличающийся тем, что указанная последовательность, которая имеет по меньшей мере 90% гомологии или идентичности последовательности с последовательностью SEQ ID NO:1, содержит последовательность CXXC в положениях 52-55 SEQ ID NO:1, где X представляет собой любую аминокислоту.

20. Фрагмент для применения по п. 19, отличающийся тем, что указанная последовательность, которая имеет по меньшей мере 90% гомологии или идентичности последовательности с последовательностью SEQ ID NO:1, состоит из по меньшей мере 50 последовательных остатков аминокислот последовательности SEQ ID NO:3:

MPAMKICEKL KKLDSQICEL KYEKTLDLAS VDLRKMRVAE LKQILHSWGE
ECXXCAECTD YVNLIQELAP KYAATHPKTE L,

где X представляет собой любую аминокислоту.

21. Фрагмент для применения по п. 19, отличающийся тем, что указанная последовательность, которая имеет по меньшей мере 90% гомологии или идентичности последовательности с последовательностью SEQ ID NO:1, содержит последовательность CKGC в положениях 52-55 SEQ ID NO:1.

22. Фрагмент для применения по любому из пп. 17-21, отличающийся тем, что указанный фрагмент содержит С-концевую аминокислоту L в положении 81 SEQ ID NO:1.

23. Фрагмент для применения по любому из пп. 17, 18 или 20, отличающийся тем, что в указанном фрагменте отсутствует сигнал удерживания в ЭР (эндоплазматическом

ретикулуме) КТЕЛ, соответствующий положениям 78-81 SEQ ID NO:1.

24. Фрагмент для применения по любому из пп. 17-23, отличающийся тем, что указанный фрагмент содержит амидирование С-конца и ацетилирование N-конца в качестве дополнительной модификации.

25. Фрагмент для применения по любому из предшествующих пунктов, дополнительно конъюгированный с обнаруживаемой химической или биохимической группой.

26. Фрагмент для применения по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что указанный фрагмент представляет собой проникающий в клетки пептид и способен проникать сквозь гематоэнцефалический барьер человека.

27. Фрагмент для применения по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что указанный фрагмент устойчив к расщеплению протеазой.

28. Фрагмент для применения по п. 27, отличающийся тем, что указанный фрагмент содержит удлинение, делецию, вставку, замену или модификацию так, что указанные удлинение, делеция, вставка, замена или модификация устраняют по меньшей мере один сайт расщепления протеазой.

29. Фрагмент для применения по п. 27 или 28, отличающийся тем, что указанная протеаза выбрана из группы, состоящей из цистеиновой протеазы, металлопротеазы и сериновой протеазы.

30. Фрагмент для применения по пп. 27-29, отличающийся тем, что указанная цистеиновая протеаза представляет собой катепсин К.

31. Фрагмент для применения по пп. 27-29, отличающийся тем, что указанная металлопротеаза представляет собой ММП-9.

32. Фрагмент для применения по пп. 27-29, отличающийся тем, что указанная металлопротеаза представляет собой ММП-3.

33. Фрагмент для применения по пп. 27-29, отличающийся тем, что указанная сериновая протеаза представляет собой химотрипсин А или эластазу-2.

34. Фрагмент для применения по пп. 27-33, отличающийся тем, что любая аминокислота в области, соответствующей остаткам 1-8, 16-23, 26-33, 32-39, 37-44, 38-45, 43-50, 46-53, 57-64, 59-66, 60-67 или 68-75 SEQ ID NO:1, заменена, удалена или модифицирована.

35. Фрагмент для применения по пп. 27-34, отличающийся тем, что любая аминокислота в положении, соответствующем 46, 49, 35, 63, 4, 71, 19, 40, 41, 62 или 29 SEQ ID NO:1, замещена или модифицирована.

36. Фармацевтическая композиция, содержащая С-концевой фрагмент CDNF по любому из пп. 1 и 11-35 и по меньшей мере один из следующих компонентов: физиологически приемлемый носитель, буфер, вспомогательное вещество, консервант и стабилизатор.

37. Фармацевтическая композиция по п. 36 для внутривенного введения, предпочтительно периферического введения, интраперитонеального, подкожного, интратекального, интрацеребровентрикулярного, интраназального, трансдермального, интрацеребрального, внутримышечного, внутриглазного или внутриартериального введения, или указанную композицию вводят с помощью вирусного вектора экспрессии.

38. Фармацевтическая композиция по п. 36 или 37 для применения в качестве лекарственного средства.

39. Фармацевтическая композиция для применения по п. 38 при лечении дегенеративного заболевания или нарушения.

40. Фармацевтическая композиция для применения по п. 39, отличающаяся тем, что указанное дегенеративное заболевание или нарушение представляет собой заболевание центральной нервной системы (ЦНС), выбранное из группы, состоящей из: болезни

Альцгеймера, болезни Паркинсона, множественной системной атрофии, бокового амиотрофического склероза, лобно-височной лобарной дегенерации, деменции с тельцами Леви, легкого когнитивного нарушения, болезни Хантингтона, травматического повреждения головного мозга, наркотической зависимости и инсульта.

41. Фармацевтическая композиция для применения по п. 40, отличающаяся тем, что указанное заболевание ЦНС представляет собой болезнь Паркинсона.

42. Фармацевтическая композиция для применения по п. 40, отличающаяся тем, что указанное заболевание ЦНС представляет собой боковой амиотрофический склероз.

43. Фармацевтическая композиция по п. 40 для применения при лечении диабета типа I или типа II.

44. Фармацевтическая композиция по п. 40 для применения при лечении поражений сетчатки, таких как пигментный ретинит.

45. С-концевой фрагмент CDNF, содержащий или состоящий из по меньшей мере последовательных остатков аминокислот в положениях 38-70 или 25-57 последовательности SEQ ID NO:1:

MPAMKICEKL KKLDSQICEL KYEKTLDLAS VDLRKMRVAE LKQILHSWGE
ECRACAECTD YVNLIQELAP KYAATHPKTE L

или последовательности, которая имеет по меньшей мере 80% гомологии или идентичности последовательности с последовательностью в положениях 38-70 или 25-57 в SEQ ID NO:1, причем указанный фрагмент представляет собой пептид, проникающий через мембрану клеток, и оказывает защитный эффект в отношении нейронов.

46. Фрагмент по п. 45 длиной до 57, 53, 51, 50, 49, 43, 37 или 33 аминокислот, отличающийся тем, что указанный фрагмент содержит по меньшей мере последовательные остатки аминокислот в положениях 31-70 или 25-57 последовательности SEQ ID NO:1, или последовательности, которая имеет по меньшей мере 80% гомологии или идентичности последовательности с последовательностью в положениях 31-70 или 25-57 в SEQ ID NO:1, и при этом последовательность, фланкирующая указанные последовательные остатки аминокислот, имеет по меньшей мере 80% гомологии или идентичности последовательности с последовательностью в соответствующих положениях в SEQ ID NO:1.

47. Фрагмент по п. 46, отличающийся тем, что указанный фрагмент содержит или состоит из по меньшей мере последовательных остатков аминокислот в положениях 37-70, 36-70, 35-70, 34-70, 33-70, 32-70 или 31-70 последовательности SEQ ID NO:1, или последовательности, которая имеет по меньшей мере 80% гомологии или идентичности последовательности с последовательностью в положениях 37-70, 36-70, 35-70, 34-70, 33-70, 32-70 или 31-70 в SEQ ID NO:1.

48. Фрагмент по п. 46, отличающийся тем, что указанный фрагмент содержит или состоит из по меньшей мере последовательных остатков аминокислот в положениях 25-57, 25-58, 25-59, 25-60, 25-61, 25-62, 25-63, 25-64, 25-65, 25-66, 25-67, 25-68, 25-69 или 25-70 последовательности SEQ ID NO:1, или последовательности, которая имеет по меньшей мере 80% гомологии или идентичности последовательности с последовательностью в положениях 25-57, 25-58, 25-59, 25-60, 25-61, 25-62, 25-63, 25-64, 25-65, 25-66, 25-67, 25-68, 25-69 или 25-70 в SEQ ID NO:1, и при этом, если она присутствует, последовательность, фланкирующая указанные последовательные остатки аминокислот, предпочтительно имеет по меньшей мере 80% гомологии или идентичности последовательности с последовательностью в соответствующих положениях в SEQ ID NO:1.

49. Фрагмент по п. 47 или 48, отличающийся тем, что указанный фрагмент содержит или состоит из по меньшей мере последовательных остатков аминокислот в положениях 31-73 (пептид 6), 25-73 (пептид 4), 21-73 (пептид 3), 21-70 (пептид 7), 31-81 (пептид 5),

25-81 (пептид 2), 25-57 (пептид 15) или 37-73 (пептид 8) последовательности SEQ ID NO: 1, или последовательности, которая имеет по меньшей мере 80% гомологии или идентичности последовательности с последовательностью в положениях 31-73, 25-73, 21-73, 21-70, 31-81, 25-81, 25-57 или 37-73 в SEQ ID NO:1.

50. Фрагмент по п. 49, отличающийся тем, что указанный фрагмент содержит или состоит из по меньшей мере последовательных остатков аминокислот в положениях 31-73 последовательности SEQ ID NO:1, или последовательности, которая имеет по меньшей мере 80% гомологии или идентичности последовательности с последовательностью в положениях 31-73 в SEQ ID NO:1.

51. Фрагмент по любому из пп. 45-50 длиной до 57, 53, 51, 50, 49, 43, 37 или 33 аминокислот.

52. С-концевой фрагмент мезэнцефального астроцитарного нейротрофического фактора (MANF), предпочтительно длиной 36-78 аминокислот, содержащий или состоящий из по меньшей мере последовательных остатков аминокислот в положениях 33-68 или 19-52 последовательности SEQ ID NO:2:

ICEKLVKKDS QICELKYDKQ IDLSTVDLKK LRVKELKKIL DDWGETCKGC
AEKSDYIRKI NELMPKYAPK AASARTDL

или последовательности, которая имеет по меньшей мере 80% гомологии или идентичности последовательности с последовательностью в положениях 33-68 или 19-52 в SEQ ID NO:2, и при этом последовательность, фланкирующая указанные последовательные остатки аминокислот, предпочтительно имеет по меньшей мере 80% гомологии или идентичности последовательности с последовательностью в соответствующих положениях в SEQ ID NO:2, причем указанный фрагмент представляет собой пептид, проникающий через мембрану клеток, и оказывает защитный эффект в отношении нейронов.

53. Фрагмент по п. 52, который имеет длину 36-59 аминокислот.

54. Фрагмент по п. 52 или 53 для применения в качестве лекарственного средства.

55. Фрагмент для применения по п. 54 при лечении дегенеративного заболевания или нарушения, причем указанный фрагмент предпочтительно вводят путем внутривенного, более предпочтительно периферического введения, интраперитонеального, подкожного, интраназального, трансдермального, внутримышечного, внутриглазного или внутриартериального введения.

56. С-концевой фрагмент MANF для применения по п. 55, состоящий из по меньшей мере 50 последовательных остатков аминокислот последовательности SEQ ID NO:2:

ICEKLVKKDS QICELKYDKQ IDLSTVDLKK LRVKELKKIL DDWGETCKGC
AEKSDYIRKI NELMPKYAPK AASARTDL

или последовательности, которая имеет по меньшей мере 90% гомологии или идентичности последовательности с последовательностью SEQ ID NO:2.

57. Фрагмент для применения по п. 56, отличающийся тем, что указанный фрагмент имеет последовательность SEQ ID NO:5:

KYDKQ IDLSTVDLKK LRVKELKKIL DDWGETCKGC AEKSDYIRKI NELMPKYAPK
AASARTDL

или последовательность, которая имеет по меньшей мере 90% гомологии или идентичности последовательности с последовательностью SEQ ID NO:5.

58. Фрагмент для применения по п. 56 или 57, отличающийся тем, что указанный фрагмент содержит С-концевую аминокислоту L в положении 78 SEQ ID NO:2.

59. Фрагмент для применения по п. 56 или 57, отличающийся тем, что в указанном фрагменте отсутствует сигнал удерживания в ЭР RTDL, соответствующий положениям 75-78 SEQ ID NO:2.

60. Фрагмент для применения по любому из пп. 52-59, отличающийся тем, что

указанный фрагмент содержит дополнительные модификации, защищающие указанный фрагмент от ферментативного расщепления, предпочтительно выбранные из группы, состоящей из амидирования С-конца и ацетилирования N-конца.

61. Фрагмент для применения по любому из пп. 52-60, отличающийся тем, что указанный фрагмент устойчив к расщеплению протеазой.

62. Фрагмент для применения по п. 61, отличающийся тем, что указанный фрагмент содержит удлинение, делецию, вставку, замену или модификацию так, что указанные удлинение, делеция, вставка, замена или модификация устраняют по меньшей мере один сайт расщепления протеазой.

63. Фрагмент для применения по п. 61 или 62, отличающийся тем, что указанная протеаза выбрана из группы, состоящей из металлопротеазы и сериновой протеазы.

64. Фрагмент для применения по п. 63, отличающийся тем, что указанная металлопротеаза представляет собой ММП-9 или ММП-2.

65. Фрагмент для применения по п. 63, отличающийся тем, что указанная сериновая протеаза представляет собой химоотрипсин А или эластазу-2.

66. Фрагмент для применения по пп. 52-65, отличающийся тем, что любая аминокислота в области, соответствующей остаткам 11-18, 18-25, 21-28, 24-31, 33-40, 52-59, 54-61, 59-66 или 63-70 SEQ ID NO:2, заменена, удалена или модифицирована.

67. Фрагмент для применения по пп. 52-66, отличающийся тем, что аминокислота в положении, соответствующем 62, 27, 14, 66, 36, 21, 55, 57 или 24 SEQ ID NO:2, заменена или модифицирована.

68. Фрагмент для применения по любому из пп. 52-67, дополнительно конъюгированный с обнаруживаемой химической или биохимической группой.

69. Фрагмент для применения по любому из пп. 52-68, отличающийся тем, что указанный фрагмент представляет собой проникающий в клетки пептид и способен проникать сквозь гематоэнцефалический барьер человека.

70. Фрагмент для применения по любому из пп. 52-69, отличающийся тем, что указанное дегенеративное заболевание представляет собой заболевание центральной нервной системы (ЦНС), выбранное из группы, состоящей из: болезни Альцгеймера, болезни Паркинсона, множественной системной атрофии, бокового амиотрофического склероза, лобно-височной лобарной дегенерации, деменции с тельцами Леви, легкого когнитивного нарушения, болезни Хантингтона, травматического повреждения головного мозга, наркотической зависимости и инсульта.

71. Фармацевтическая композиция, содержащая С-концевой фрагмент MANF по любому из пп. 52-69 и по меньшей мере один из следующих компонентов: физиологически приемлемый носитель, буфер, вспомогательное вещество, консервант и стабилизатор, для применения при лечении заболевания центральной нервной системы (ЦНС), причем указанный фрагмент вводят путем внутривенного, предпочтительно периферического введения, интраперитонеального, подкожного, интраназального, трансдермального, внутримышечного, внутриглазного или внутриартериального введения.

72. С-концевой фрагмент MANF, предпочтительно длиной 36-78 аминокислот, содержащий или состоящий из по меньшей мере последовательных остатков аминокислот в положениях 33-68 или 19-52 последовательности SEQ ID NO:2:

ICEKLVKKDS QICELKYDKQ IDLSTVDLKK LRVKELKKIL DDWGETCKGC
AEKSDYIRKI NELMPKYAPK AASARTDL

или последовательности, которая имеет по меньшей мере 80% гомологии или идентичности последовательности с последовательностью в положениях 33-68 или 19-52 в SEQ ID NO:2, и при этом последовательность, фланкирующая указанные последовательные остатки аминокислот, предпочтительно имеет по меньшей мере 80%

RU 2020131433 A

RU 2020131433 A

гомологии или идентичности последовательности с последовательностью в соответствующих положениях в SEQ ID NO:2, причем указанный фрагмент представляет собой пептид, проникающий через мембрану клеток, для применения при лечении диабета типа I или типа II либо заболевания сетчатки.

73. Фрагмент для применения по п. 72, который имеет длину 36-59 аминокислот.

74. Фрагмент для применения по п. 73, состоящий из по меньшей мере 50 последовательных остатков аминокислот последовательности SEQ ID NO:2:
ICEKLKKKDS QICELKYDKQ IDLSTVDLKK LRVKELKKIL DDWGETCKGC
AEKSDYIRKI NELMPKYAPK AASARTDL

или последовательности, которая имеет по меньшей мере 90% гомологии или идентичности последовательности с последовательностью SEQ ID NO:2.

75. Фрагмент для применения по п. 74, отличающийся тем, что указанный фрагмент имеет последовательность SEQ ID NO:5:

KYDKQ IDLSTVDLKK LRVKELKKIL DDWGETCKGC AEKSDYIRKI NELMPKYAPK
AASARTDL

или последовательность, которая имеет по меньшей мере 90% гомологии или идентичности последовательности с последовательностью SEQ ID NO:5.

76. Фрагмент для применения по любому из пп. 72-75, отличающийся тем, что указанный фрагмент содержит дополнительные модификации, защищающие указанный фрагмент от ферментативного расщепления, предпочтительно выбранные из группы, состоящей из амидирования С-конца и ацетилирования N-конца.

77. Фрагмент для применения по п. 76, отличающийся тем, что указанный фрагмент устойчив к расщеплению протеазой.

78. Фрагмент для применения по п. 77, отличающийся тем, что указанный фрагмент содержит удлинение, делецию, вставку, замену или модификацию так, что указанные удлинение, делеция, вставка, замена или модификация устраняют по меньшей мере один сайт расщепления протеазой.

79. Фрагмент для применения по п. 77 или 78, отличающийся тем, что указанная протеаза выбрана из группы, состоящей из металлопротеазы и сериновой протеазы.

80. Фрагмент для применения по п. 79, отличающийся тем, что указанная металлопротеаза представляет собой ММП-9 или ММП-2.

81. Фрагмент для применения по п. 79, отличающийся тем, что указанная сериновая протеаза представляет собой химотрипсин А или эластазу-2.

82. Фрагмент для применения по пп. 72-81, отличающийся тем, что любая аминокислота в области, соответствующей остаткам 11-18, 18-25, 21-28, 24-31, 33-40, 52-59, 54-61, 59-66 или 63-70 SEQ ID NO:2, заменена, удалена или модифицирована.

83. Фрагмент для применения по пп. 72-82, отличающийся тем, что аминокислота в положении, соответствующем 62, 27, 14, 66, 36, 21, 55, 57 или 24 SEQ ID NO:2, заменена или модифицирована.

84. Фрагмент для применения по любому из пп. 72-83, отличающийся тем, что указанный фрагмент представляет собой проникающий в клетки пептид и способен проникать сквозь гематоэнцефалический барьер человека.

85. Фармацевтическая композиция, содержащая С-концевой фрагмент MANF по любому из пп. 72-84 и по меньшей мере один из следующих компонентов: физиологически приемлемый носитель, буфер, вспомогательное вещество, консервант и стабилизатор для применения при лечении диабета типа I или типа II либо заболевания сетчатки.

86. Фармацевтическая композиция для применения по п. 85 для периферического введения.

87. Фармацевтическая композиция для применения по п. 86, отличающаяся тем, что

указанную композицию вводят путем внутривенного, интраперитонеального, подкожного, интратекального, интрацеребровентрикулярного, интраназального, трансдермального, интрацеребрального, внутримышечного, внутриглазного или внутриартериального введения, или указанный фрагмент вводят с помощью вирусного вектора экспрессии.

88. Выделенный полинуклеотид, содержащий нуклеотидную последовательность, кодирующую указанный С-концевой фрагмент CDNF, состоящий из последовательных остатков аминокислот в положениях 31-73 (пептид 6), 25-73 (пептид 4), 21-73 (пептид 3), 21-70 (пептид 7), 31-81 (пептид 5) или 25-81 (пептид 2), 25-57 (пептид 15) или 37-73 (пептид 8) последовательности SEQ ID NO:1, или последовательности, которая имеет по меньшей мере 80% гомологии или идентичности последовательности с последовательностью в положениях 31-73, 25-73, 21-73, 21-70, 31-81, 25-81, 25-57 или 37-73 в SEQ ID NO:1.

89. Вектор экспрессии, кодирующий выделенный полинуклеотид по п. 88.

90. Клетка-хозяин, трансформированная вектором по п. 89.

91. Способ лечения дегенеративного заболевания или нарушения, включающий введение эффективного количества С-концевого фрагмента CDNF, содержащего или состоящего из по меньшей мере последовательных остатков аминокислот в положениях 38-70 или 25-57 последовательности SEQ ID NO:1:

MPAMKICEKL KKLDSQICEL KYEKTLDLAS VDLRKMRAE LKQILHSWGE
ECRACAEKTD YVNLIQELAP KYAATHPKTE L

или последовательности, которая имеет по меньшей мере 80% гомологии или идентичности последовательности с последовательностью в положениях 38-70 или 25-57 в SEQ ID NO:1.

92. Способ лечения дегенеративного заболевания, диабета типа I или типа II либо заболевания сетчатки, включающий введение эффективного количества С-концевого фрагмента MANF, предпочтительно длиной 36-78 аминокислот, содержащего или состоящего из по меньшей мере последовательных остатков аминокислот в положениях 33-68 или 19-52 последовательности SEQ ID NO:2:

ICEKLKKKDS QICELKYDKQ IDLSTVDLKK LRVKELKKIL DDWGETCKGC
AEKSDYIRKI NELMPKYAPK AASARTDL

или последовательности, которая имеет по меньшей мере 80% гомологии или идентичности последовательности с последовательностью в положениях 38-70 или 19-52 в SEQ ID NO:2, и при этом, если она присутствует, последовательность, фланкирующая указанные последовательные остатки аминокислот, предпочтительно имеет по меньшей мере 80% гомологии или идентичности последовательности с последовательностью в соответствующих положениях в SEQ ID NO:2.

RU 2020131433 A

RU 2020131433 A