



УКРАЇНА

(19) **UA**

(11) **101304**

(13) **C2**

(51) МПК

A61K 38/26 (2006.01)

A61P 3/10 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД

| | | | |
|--|--|---|--|
| (21) Номер заявки: | а 2009 02200 | (72) Винахідник(и): | Буш Марк А. (US), Меттьюз Джессіка Е. (US), Уолкер Сьюзен Е. (US) |
| (22) Дата подання заявки: | 12.09.2007 | (73) Власник(и): | СМІТКЛАЙН БІЧАМ КОРПОРЕЙШН, One Fanklin Plaza, P.O. Box 7929, Philadelphia, PA 19101, United States of America (US) |
| (24) Дата, з якої є чинними права на винахід: | 25.03.2013 | (74) Представник: | Міхашина Людмила Михайлівна, реєстр. №14 |
| (31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: | 60/825,472, 60/868,391 | (56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою: | US 6 277 819 B1, 21.08.2001 US 5 545 618 A, 13.08.1996 US 6 329 336 B1, 11.12.2001 US 2005/054570 A1, 10.03.2005 |
| (32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: | 13.09.2006, 04.12.2006 | | |
| (33) Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку: | US, US | | |
| (41) Публікація відомостей про заявку: | 27.07.2009, Бюл.№ 14 | | |
| (46) Публікація відомостей про видачу патенту: | 25.03.2013, Бюл.№ 6 | | |
| (86) Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ | PCT/US2007/078226, 12.09.2007 | | |

(54) СПОСОБИ ВВЕДЕННЯ ГІПОГЛІКЕМІЧНИХ ЗАСОБІВ ПОДОВЖЕНОЇ ДІЇ

(57) Реферат:

Даний винахід належить до способів і фармацевтичних композицій, пов'язаних з введенням гіпоглікемічних засобів і агоністів GLP-1, причому середні значення максимальної концентрації в плазмі (C_{max}) і площі під кривою (AUC) для гіпоглікемічного засобу підвищені та/або тривало зберігаються.

UA 101304 C2

Галузь техніки

Даний винахід відноситься до способів і фармацевтичних композицій для введення гіпоглікемічних засобів з тривалою дією і схем лікуванням з використанням сполук, що мають активність GLP-1, та/або агоністів GLP-1.

5 Передумови створення винаходу

Гіпоглікемічні засоби можна використовувати при лікуванні цукрового діабету як типу I, так і типу II для зниження концентрації глюкози в крові. Для лікування цукрового діабету як можливі терапевтичні засоби малися на увазі інсулінотропні пептиди. Інсулінотропні пептиди включають, але без обмеження, гормони інкретини, наприклад шлунковий інгібуючий пептид (GIP) і глюкагоноподібний пептид-1 (GLP-1), а також їхні фрагменти, варіанти та/або кон'югати. Інсулінотропні пептиди також включають, наприклад, екзендин 3 і екзендин 4. GLP-1 є гормоном інкретин довжиною 36 амінокислот, секретований L-клітинами в кишечнику у відповідь на ковтання їжі. Показано, що GLP-1 стимулює секрецію інсуліну фізіологічним і глюкозозалежним чином, знижує секрецію глюкагону, інгібує спорожнення порожнини шлунку, знижує апетит і стимулює проліферацію β -клітин. У експериментах, що не є клінічними, GLP-1 активує продовжувану компетенцію бета-клітин шляхом стимуляції транскрипції генів, важливих для глюкозозалежної секреції інсуліну, й активування неогенезу бета-клітин (Meier et al. Biodrugs. 2003; 17(2): 93-102).

У здорового індивідуума GLP-1 грає важливу роль, регулюючи рівні глюкози в крові після їжі шляхом стимуляції глюкозозалежної секреції інсуліну підшлунковою залозою, що приводить до збільшення абсорбції глюкози на периферії. GLP-1 також пригнічує секрецію глюкагону, що приводить до зниження продукції глюкози печінкою. Крім того, GLP-1 затримує спорожнення порожнини шлунку й уповільнює скорочення тонкої кишки, затримуючи абсорбцію їжі.

У людей з цукровим діабетом типу II (T2DM) нормальне підвищення GLP-1 після їжі відсутнє або знижене (Vilsboll T. et al., Diabetes 2001. 50: 609-613). Отже, одним з обґрунтувань для введення екзогенного GLP-1, гормону інкретину, або міметика GLP-1 є збільшення, заміщення або доповнення ендогенного GLP-1 для збільшення пов'язаної з їжею секреції інсуліну, зниження секреції глюкагону та/або уповільнення скорочення шлунково-кишкового тракту. GLP-1, що зустрічається в природі, має дуже короткий період напіввиведення (<5 хвилин). Отже, в даний час нездійснене екзогенне введення GLP-1, що зустрічається в природі, як терапевтичне лікування цукрового діабету. Комерційно доступні міметики інкретинів, такі як екзенатид (Byetta®), покращують контроль глікемії шляхом зниження концентрацій глюкози натщесерце і після їжі при підшкірному введенні (5 мкг або 10 мкг BID) пацієнтам з T2DM.

Таким чином, існує незадоволена потреба у способах введення гіпоглікемічних засобів, для яких середні значення площі під кривою (AUC) для гіпоглікемічних засобів є такими, що тривало зберігаються, або інакше є покращуваними, тим самим вимагаючи менш частих ін'єкцій при збереженні терапевтичної користі.

Короткий опис креслень

Фіг. 1. Фармакокінетичні профілі SEQ ID NO: 1 у суб'єктів з цукровим діабетом типу II. Середній (95 %) графік залежності концентрації у плазмі (нМ, ELISA) від часу (в годинах).

Фіг. 2. Концентрація SEQ ID NO: 1 - коробчаті діаграми дій (AUC(0- ∞)) за місцем ін'єкції (живіт, нога й рука) і дозою у суб'єктів з цукровим діабетом типу II.

Фіг. 3. SEQ ID NO: 1.

Короткий виклад суті винаходу

В одному варіанті здійснення даного винаходу забезпечуються способи збільшення активності GLP-1 у людини, що потребує цього, які включають введення вказаній людині композиції, що містить щонайменше один поліпептид, що має активність GLP-1, причому вказаний поліпептид забезпечує максимальну концентрацію в плазмі вказаного поліпептиду, що складає щонайменше приблизно 0,6 нМ, і значення площі під кривою для вказаного поліпептиду, яке складає щонайменше приблизно 3,5 нМ x день, протягом періоду, що становить один тиждень.

В іншому варіанті здійснення даного винаходу забезпечуються способи збільшення активності GLP-1 у людини, що потребує цього, які включають введення вказаній людині композиції, що містить щонайменше один агоніст GLP-1, причому вказаний щонайменше один агоніст GLP-1 забезпечує максимальну концентрацію в плазмі вказаного щонайменше одного агоністу GLP-1, що складає щонайменше приблизно 21,2 нМ, і значення площі під кривою для вказаного щонайменше одного агоністу GLP-1, яке складає щонайменше приблизно 149 нМ x день, протягом періоду, що становить один тиждень.

Визначення

Як тут використовується, термін "агоніст GLP-1" означає будь-яку сполуку або композицію, здатну стимулювати та/або що має щонайменше одну активність GLP-1, що включає, але без обмеження, гормон інкретин і його фрагмент, варіант та/або кон'югат і міметик інкретину та/або його фрагмент, варіант та/або кон'югат.

5 Як тут використовується, термін "гормон інкретин" означає будь-який гормон, який збільшує секрецію інсуліну або інакше підвищує рівень інсуліну. Одним з прикладів гормону інкретину є GLP-1. GLP-1 є інкретином, секретованим L-клітинами кишечника у відповідь на ковтання їжі. У здорового індивідуума GLP-1 грає важливу роль, регулюючи рівні глюкози у крові після їжі шляхом стимуляції глюкозозалежної секреції інсуліну підшлунковою залозою, що приводить до збільшення абсорбції глюкози на периферії. GLP-1 також пригнічує секрецію глюкагону, що призводить до зниження продукції глюкози печінкою. Крім того, GLP-1 уповільнює час спорожнювання порожнини шлунку й уповільнює скорочення тонкої кишки, затримуючи абсорбцію їжі. GLP-1 активує продовжувану компетенцію бета-клітин шляхом стимуляції транскрипції генів, причетних до глюкозозалежної секреції інсуліну, й активування неогенезу бета-клітин (Meier et al. *Biodrugs*. 2003; 17(2): 93-102).

15 Як тут використовується, термін "активність GLP-1" означає одну або декілька активностей GLP-1, що зустрічається в природі, людини, що включають, але без обмеження, зниження глюкози в крові та/або плазмі, стимуляцію глюкозозалежної секреції інсуліну або інше підвищення рівня інсуліну, пригнічення секреції глюкагону, зниження фруктозаміну, збільшення доставки й метаболізму глюкози в головному мозку, затримання спорожнення порожнини шлунку й активування компетенції й неогенезу бета-клітин. Будь-яка з цих активностей та інша активність, пов'язана з активністю GLP-1, може бути викликана безпосередньо або опосередковано композицією, що має активність GLP-1, або агоністом GLP-1. Як приклад, композиція, що має активність GLP-1, може безпосередньо або опосередковано стимулювати глюкозозалежну продукцію інсуліну, тоді як стимуляція продукції інсуліну може безпосередньо знижувати рівні глюкози в плазмі у ссавця.

20 Як тут використовується, "міметик інкретину" є сполукою, здатною збільшувати секрецію інсуліну або інакше підвищувати рівень інсуліну. Міметик інкретину може бути здатний стимулювати секрецію інсуліну, збільшувати неогенез бета-клітин, інгібувати апоптоз бета-клітин, інгібувати секрецію глюкагону, затримувати спорожнення порожнини шлунку й викликати насичення у ссавця. Міметик інкретину може включати, але без обмеження, будь-який поліпептид, що має активність GLP-1, що включає, але без обмеження, екзендин 3 і екзендин 4, в тому числі будь-які їхні фрагменти та/або варіанти, та/або кон'югати.

25 Як тут використовується, термін "гіпоглікемічний засіб" означає будь-яку сполуку або композицію, що містить сполуку, здатну знижувати глюкозу в крові. Гіпоглікемічний засіб може включати, але без обмеження, будь-який агоніст GLP-1, у тому числі гормони інкретини або міметики інкретинів, GLP-1 і його фрагмент, варіант та/або кон'югат. Інші гіпоглікемічні засоби включають, але без обмеження, лікарські засоби, які збільшують секрецію інсуліну (наприклад, сульфонілсечовини (SU) і меглітиніди), інгібують руйнування GLP-1 (наприклад, інгібітори DPP-IV), збільшують коефіцієнт використання глюкози (наприклад, глітазони, тіазолідиндіони (TZD) та/або агоністи рPAR), знижують продукцію глюкози печінкою (наприклад, метформін) або затримують абсорбцію глюкози (наприклад, інгібітори (α -глюкозидази). Приклади сульфонілсечовин включають, але без обмеження, ацетогексамін, хлорпропамід, толазамід, гліпізид, гліклазид, глібенкламід (глібурид), гліквідон і глімепірид. Приклади глітазонів включають, але без обмеження, росиглітазон і піоглітазон.

30 "Полінуклеотид(и)», як правило, стосуються будь-якого полірибонуклеотиду або полідезоксирибонуклеотиду, який може бути немодифікованою РНК або ДНК або модифікованою РНК або ДНК. "Полінуклеотид(и)» включають, без обмеження, одно- і дволанцюгову ДНК, ДНК, яка є сумішшю одно- і дволанцюгових ділянок або одно-, дво- і триланцюгових ділянок, одно- і дволанцюгову РНК і РНК, яка є сумішшю одно- і дволанцюгових ділянок, гібридні молекули, що включають ДНК і РНК, які можуть бути одноланцюговими або типовіше дволанцюговими, або триланцюговими ділянками, або сумішшю одно- і дволанцюгових ділянок. Крім того, "полінуклеотид", як тут використовується, слід розуміти як триланцюгову ділянку, що включає РНК або ДНК або як РНК, так і ДНК. Ланцюги в таких ділянках можуть бути з однієї і тієї ж молекули або з різних молекул. Ділянки можуть включати не більше за одну або декілька молекул, але типовіше вони включають у себе лише ділянку деяких з молекул. Однією з молекул трьохспіральної ділянки часто є олігонуклеотид. Використовуваний тут термін "полінуклеотид(и)» також включає описану вище ДНК або РНК, які включають одну або декілька модифікованих основ. Таким чином, ДНК або РНК з основами, модифікованими для стабільності або за інших причин, є "полінуклеотидом(ами)», як цей термін

тут передбачений. Більш того, ДНК або РНК, що включають незвичайні основи, такі як інозин, або модифіковані основи, такі як тритильовані основи, для зазначення якраз двох прикладів, є полінуклеотидами, як цей термін тут використовується. Зрозуміло, що було здійснено велику безліч модифікацій ДНК і РНК, які служать безлічі корисних цілей, відомих кваліфікованим у даній галузі техніки фахівцям. Терміном "полінуклеотид(и)", як він тут використовується, охоплюються такі хімічні, ферментативно або метаболічно модифіковані форми полінуклеотидів, а також хімічні форми ДНК і РНК, характерні для вірусів і клітин, що включають, наприклад, прості й складні клітини. Терміном "полінуклеотид(и)" також охоплюються короткі полінуклеотиди, що часто згадуються як олігонуклеотид(и).

"Поліпептид" стосується будь-якого пептиду або білку, що містить дві або більше амінокислот, з'єднаних одна з одною пептидними зв'язками або модифікованими пептидними зв'язками, тобто пептидних ізостерів. "Поліпептид" стосується як коротких ланцюгів, що зазвичай згадуються як пептиди, олігопептиди або олігомери, так і довгих ланцюгів, що зазвичай згадуються як білки. Поліпептиди можуть містити амінокислоти, відмінні від 20 кодованих генами амінокислот. "Поліпептиди" включають амінокислотні послідовності, модифіковані або за допомогою природних процесів, таких як посттрансляційний процесинг, або за допомогою методів хімічних модифікацій, які добре відомі в даній галузі техніки. Такі модифікації сповна описані в текстах, які служать як основа для обговорення, й детальніших монограмах, а також у великій науковій літературі. Модифікації можуть зустрічатися де завгодно в поліпептиді, в тому числі пептидному остові, бічних ланцюгах амінокислот або аміно- або карбоксильних кінцях. Зрозуміло, що один і той тип модифікації може бути наявним в однакових або варіюючих ступенях у декількох сайтах даного поліпептиду. Також даний поліпептид може містити безліч типів модифікацій. Поліпептиди можуть бути розгалуженими в результаті убиквітування, й вони можуть бути циклічними, з розгалуженням або без нього. Циклічні, розгалужені й розгалужені циклічні поліпептиди можуть бути наслідком посттрансляційних природних процесів або можуть бути отримані синтетичними способами. Модифікації включають ацетилювання, ацилювання, ADP-рибозилування, амінування, ковалентне приєднання флавіну, ковалентне приєднання складової у вигляді гема, ковалентне приєднання нуклеотиду або похідної нуклеотиду, ковалентне приєднання ліпиду або ліпідної похідної, ковалентне приєднання фосфотидилінозиту, утворення поперечних зв'язків, циклізацію, утворення дисульфідних зв'язків, деметилування, утворення ковалентних поперечних зв'язків, утворення цистеїну, утворення піроглутамату, формілування, гамма-карбоксилування, глікозилування, утворення GPI-прив'язки, гідроксилування, йодування, метилування, міристилювання, окислення, протеолітичний процесинг, фосфорилювання, преніліювання, рацемізацію, котрансляційне включення селену, сульфатування, опосередковане транспортною РНК додавання амінокислот до білків, таке як аргініліювання й убиквітування. Див., наприклад, PROTEINS – STRUCTURE AND MOLECULAR PROPERTIES, 2nd Ed., T. E. Creighton, W. H. Freeman and Company, New York, 1993 і Wold, F., Posttranslational Protein Modifications: Perspectives and Prospects, pgs. 1-12 in POSTTRANSLATIONAL COVALENT MODIFICATIONS OF PROTEINS, B. C. Johnson, Ed., Academic Press, New York, 1983; Seifter et al., "Analysis for protein modifications and nonprotein cofactors", Meth. Enzymol. (1990) 182: 626-646 і Rattan et al., "Protein Synthesis: Posttranslational Modifications and Aging", Ann NY Acad. Sci. (1992) 663: 48-62.

"Варіант", як цей термін тут використовується, є полінуклеотидом або поліпептидом, який відрізняється від вихідного полінуклеотиду або поліпептиду, відповідно, але зберігає істотні властивості. Типовий варіант полінуклеотиду відрізняється за нуклеотидною послідовністю від іншого, вихідного полінуклеотиду. Зміни нуклеотидної послідовності варіанту можуть змінювати або можуть не змінювати амінокислотну послідовність поліпептиду, що кодується вихідним полінуклеотидом. Зміни нуклеотидів можуть приводити до замінів, додавань, делецій амінокислот, злиттів і укорочень поліпептиду, кодовою вихідною послідовністю, як обговорюється нижче. Типовий варіант поліпептиду відрізняється за амінокислотною послідовністю від іншого, вихідного поліпептиду. Як правило, відмінності обмежені, так що послідовності вихідного поліпептиду й варіанту вельми схожі загалом й ідентичні в багатьох ділянках. Варіант і вихідний поліпептид можуть відрізнитися за амінокислотною послідовністю однією або декількома замінами, додаваннями, делеціями в будь-якій комбінації. Заміщений або введений залишок амінокислоти може бути або може не бути залишком, кодованим генетичним кодом. Варіант полінуклеотиду або поліпептиду може бути таким, що зустрічається в природі, таким як алельний варіант, або він може бути варіантом, для якого не відомо, щоб він зустрічався в природі. Варіанти полінуклеотидів і поліпептидів, що не зустрічаються в природі, можуть бути отримані за допомогою мутаційних методів або за допомогою прямого синтезу. Варіанти можуть також включати, але без обмеження, поліпептиди або їхні фрагменти, що

мають хімічну модифікацію однієї або декількох бічних груп їхніх амінокислот. Хімічна модифікація включає, але без обмеження, додавання хімічних складових, створення нових зв'язків і видалення хімічних складових. Модифікації при бічних групах амінокислот включають, але без обмеження, ацилювання ε -аміногруп лізину, N-алкілювання аргініну, гістидину або лізину, алкілювання карбоксильних груп глютамінової або аспарагінової кислоти й деамідування глютаміну або аспарагіну. Модифікації кінцевої аміногрупи включають, але без обмеження, видалення аміногрупи, N-модифікації групою нижчого алкілу, двома групами нижчих алкілів і ацильною групою. Модифікації кінцевої карбоксильної групи включають, але без обмеження, що приводять до утворення амідів, нижчого алкіламідів, діалкіламідів й нижчого алкілового ефіру модифікації. Крім того, одна або декілька бічних груп або кінцевих груп можуть бути захищені захисними групами, відомими хімікам з середнім рівнем компетентності, що займаються білками.

Як тут використовується, "фрагмент", коли використовується з посиланням на поліпептид, є поліпептид, що має амінокислотну послідовність, яка є тією самою, що і частина, але не вся амінокислотна послідовність повного поліпептиду, що зустрічається в природі. Фрагменти можуть "вільно стояти" або бути включені в більший поліпептид, в якому вони утворюють частину або ділянку у вигляді однієї безперервної ділянки в одному більшому поліпептиді. Як приклад, фрагмент GLP-1, що зустрічається в природі, включатиме від 7 до 36 амінокислот, від амінокислот 1-36, що зустрічаються в природі. Крім того, фрагменти поліпептиду можуть також бути варіантами часткової послідовності, що зустрічається в природі. Наприклад, фрагмент GLP-1, що включає амінокислоти 7-30 GLP-1, що зустрічається в природі, може також бути варіантом, що має заміни амінокислот в межах його часткової послідовності.

Як тут використовується, термін "кон'югат" або "кон'югований" відноситься до двох молекул, які сполучені одна з одною. Наприклад, перший поліпептид може бути ковалентно або нековалентно сполучен з другим поліпептидом. Перший поліпептид може бути ковалентно сполучен за допомогою хімічного лінкера або може бути генетично пов'язаний з другим поліпептидом, причому перший і другий поліпептид ділять загальний поліпептидний остов.

Як тут використовується, термін "послідовно орієнтовані" стосується двох або більш поліпептидів, які граничать один з одним як частина тієї самої молекули. Вони можуть бути зв'язані або ковалентно, або нековалентно. Два або більше за послідовно орієнтованих поліпептидів можуть утворювати частину одного і того ж поліпептидного остову. Послідовно орієнтовані поліпептиди можуть мати пряму або зворотну орієнтацію та/або можуть бути відокремлені іншими амінокислотними послідовностями.

Як тут використовується, термін "знижувати" або "зниження" глюкози в крові або плазмі стосується зменшення кількості глюкози в крові, вимірюваного в крові пацієнта після введення гіпоглікемічного засобу. Зниження глюкози в крові або плазмі можна визначити й оцінити для кожного індивідуума або у вигляді середньої зміни для групи суб'єктів. Крім того, середні зміни глюкози в крові або плазмі можна визначити й оцінити для групи підданих лікуванню суб'єктів у вигляді середньої зміни від базової лінії та/або у вигляді середньої зміни в порівнянні з середньою зміною глюкози в крові або плазмі в групі суб'єктів, яким вводили плацебо.

Як тут використовується, термін "збільшення активності GLP-1" стосується збільшення будь-якої і всіх з активностей, пов'язаних з GLP-1, що зустрічається в природі. Як приклад, збільшення активності GLP-1 можна визначити після введення щонайменше одного поліпептиду, що має активність GLP-1, суб'єктові й порівняти з активністю GLP-1 у того ж суб'єкта до введення поліпептиду, що має активність GLP-1, або порівняно з другим суб'єктом, якому вводиться плацебо.

Як тут використовуються, "хвороби, пов'язані з підвищеною глюкозою в крові" стосуються, але без обмеження, цукрового діабету типу I і типу II, непереносимості глюкози, гіперглікемії й хвороби Альцгеймера.

Як тут використовується, термін "спільне введення" стосується введення двох або більше сполук тому самому пацієнтові. Спільне введення таких сполук може бути одночасним або в приблизно в той самий час (наприклад, в межах тієї самої години), або воно може бути в межах декількох годин або днів одне від одного. Наприклад, перша сполука може вводитися один раз на тиждень, тоді як друга сполука спільно вводиться щодня.

Як тут використовується, "максимальна концентрація в плазмі" або " C_{\max} " означає найвищу вимірювану концентрацію речовини (наприклад, поліпептиду, що має активність GLP-1, або агоністу GLP-1) у плазмі ссавця після введення речовини ссавцеві.

Як тут використовується, "площа під кривою" або "AUC" є площею під кривою на графіку залежності концентрації речовини в плазмі від часу. AUC може бути мірою інтегралу миттєвих концентрацій, взятого в інтервалі часу, й має одиниці маса \times час/об'єм, які можна також

виразити у вигляді молярна концентрація \times час, наприклад, нМ \times день. AUC зазвичай розраховують за допомогою методу трапецій (наприклад, лінійного, лінійного log). AUC зазвичай установлюють для інтервалу часу від нуля до безкінечності, і вказуються інші інтервали часу (наприклад, AUC (t_1 , t_2), де t_1 і t_2 є часом початку й кінця для інтервалу). Таким чином, "AUC_{0-24год}", як тут використовується, стосується AUC протягом 24-годинного періоду, а "AUC_{0-4год}" стосується AUC протягом 4-годинного періоду.

Як тут використовується, "середньозважена AUC" є AUC, поділеною на інтервал часу, взятий для розрахунку AUC. Наприклад, середньозважена AUC_{0-24год} представлятиме AUC_{0-24год}, поділену на 24 години.

Як тут використовується, "довірчий інтервал" або "CI" є інтервалом, у якому вимірювання або випробування відповідає встановленій вірогідності p , де p стосується 90 % або 95 % CI і розраховується для або середнього арифметичного, середнього геометричного, або щонайменше середнього найменших квадратів. Як тут використовується, середнє геометричне є середнє зворотно перетворених через піднесення до ступеня значень у вигляді натуральних логарифмів, а середнє найменших квадратів може також бути або може не бути середнім геометричним, але походити з моделі дисперсійного аналізу (ANOVA), в якій використовуються певні ефекти.

Як тут використовується, "коефіцієнт варіації (CV)" є мірою дисперсії, і він визначається як відношення стандартного відхилення як середньому значенню. Його повідомляють у вигляді відсотка (%) шляхом множення вищезгаданого розрахунку на 100 % (%CV).

Як тут використовується, "T_{max}" стосується часу, визначуваного для досягнення максимальної концентрації речовини в плазмі ссавця після введення цієї речовини ссавцеві.

Як тут використовується, "період напіввиведення з сироватки або плазми" стосується часу, потрібного для піддання метаболізму або видалення з сироватки або плазми ссавця за допомогою нормальних біологічних процесів половини кількості речовини, введеної ссавцеві.

Детальний опис винаходу

В одному аспекті даного винаходу забезпечуються способи збільшення активності GLP-1 у людини, які включають введення вказаній людині композиції, що містить щонайменше один поліпептид, який має активність GLP-1, причому вказаний поліпептид забезпечує максимальну концентрацію в плазмі вказаного поліпептиду, що складає щонайменше приблизно 0,6 нМ, і значення площі під кривою для вказаного поліпептиду, яке складає щонайменше приблизно 3,5 нМ \times день, протягом періоду, що становить один тиждень. Як зрозуміло в даній галузі техніки, різні способи можна використовувати для збору, визначення й оцінки фармакокінетичних даних, таких як концентрація активного компонента в крові, плазмі та/або іншій тканині. Як також зрозуміло в даній галузі техніки, різні способи можна використовувати для збору, визначення й оцінки різних фармакодинамічних даних, таких як, але без обмеження, рівні глюкози, інсуліну, С-пептиду, глюкагонів та інших біомаркерів у крові та/або плазмі, та/або іншій тканині. Відповідно до даного винаходу щонайменше одним поліпептидом, що має активність GLP-1, може бути агоніст GLP-1. Агоністи GLP-1 можна вибрати з групи, що складається з гормону інкретину та/або його фрагменту, варіанту та/або кон'югату й міметиків інкретину та/або його фрагменту, варіанту та/або кон'югату. У групу гормонів інкретинів включені GLP-1 людини і його фрагменти, варіанти та/або кон'югати.

Варіант здійснення даного винаходу включає поліпептид, який може бути, але без обмеження, GLP-1 або його фрагментом, варіантом та/або кон'югатом. Фрагменти та/або варіанти, та/або кон'югати GLP-1 даного винаходу зазвичай мають щонайменше одну активність GLP-1. GLP-1 або його фрагмент, варіант та/або кон'югат можуть включати сироватковий альбумін людини. Сироватковий альбумін людини може бути кон'югований з GLP-1 або його фрагментом та/або варіантом. Гормон інкретин (такий як GLP-1) та/або міметик інкретину (такий як екзендин 3 і екзендин 4) та/або їхні фрагменти й варіанти можуть бути кон'юговані з сироватковим альбуміном людини завдяки хімічному лінкеру до ін'єкції або можуть бути хімічно зв'язані з сироватковим альбуміном людини *in vivo*, що зустрічається в природі (див., наприклад, патент США № 6593295 і патент США № 6329336, повністю включені сюди за допомогою посилання). У альтернативному випадку сироватковий альбумін людини можна генетично злити з GLP-1 та/або його фрагментом та/або варіантом або іншим агоністом GLP-1, таким як екзендин 3 або екзендин 4 та/або їхні фрагменти та/або варіанти. Приклади GLP-1 і його фрагментів та/або варіантів, генетично злитих з сироватковим альбуміном людини, надані в наступних РСТ-заявках: WO 2003/060071, WO 2003/59934, WO 2005/003296, WO 2005/077042 (повністю включених сюди за допомогою посилання).

Поліпептиди, що мають активність GLP-1, можуть включати щонайменше один фрагмент та/або варіант GLP-1 людини. Два, фрагменти GLP-1 людини, що зустрічаються в природі, представлені в SEQ ID NO: 2.

```

7   8   9   10  11  12  13  14  15  16  17
His-Ala-Glu-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Val-Ser-
18  19  20  21  22  23  24  25  26  27  28
Ser-Tyr-Leu-Glu-Gly-Gln-Ala-Ala-Lys-Glu-Phe-
29  30  31  32  33  34  35  36  37
Ile-Ala-Trp-Leu-Val-Lys-Gly-Arg-Xaa (SEQ ID NO.: 2)

```

- 5 де Хаа в положенні 37 є Gly (надалі "GLP-1(7-37), що позначається") або $-NH_2$ (надалі "GLP-1(7-36)»). Фрагменти GLP-1 можуть включати, але без обмеження, молекули GLP-1, що включають амінокислоти 7-36 GLP-1 людини (GLP-1(7-36)), або що альтернативно складаються з цих амінокислот. Варіанти GLP-1 або їхні фрагменти можуть включати, але без обмеження, одну, дві, три, чотири, п'ять або більше амінокислотних заміни у GLP-1 дикого типу або у
- 10 фрагментах GLP-1, що зустрічаються в природі, показаних у SEQ ID NO: 2. Варіанти GLP-1 або фрагменти GLP-1 можуть включати, але без обмеження, заміни залишку аланіну, аналогічного аланіну 8 GLP-1 дикого типу, при цьому такий аланін мутує у гліцин (надалі "A8G") (див., наприклад, мутанти, розкриті в патенті США № 5545618, повністю включеному сюди за допомогою посилання).
- 15 У деяких аспектах щонайменше один фрагмент і варіант GLP-1 включає GLP-1(7-36)(A8G)) і генетично злитий з сироватковим альбуміном людини. В подальшому варіанті здійснення поліпептиди даного винаходу включають одну, дві, три, чотири, п'ять або більше послідовно орієнтованих молекул GLP-1 і його фрагментів та/або варіантів, злитих з N- або C-кінцем сироваткового альбуміну людини або його варіанту. В інших варіантах здійснення є такі
- 20 поліпептиди A8G, злиті з N- або C-кінцем альбуміну або його варіанту. Приклад двох послідовно орієнтованих фрагментів та/або варіантів GLP-1(7-36)(A8G)), злитих з N-кінцем сироваткового альбуміну людини, включає SEQ ID NO: 1, яка представлена на фіг. 3. У іншому аспекті щонайменше один фрагмент і варіант GLP-1 включає щонайменше два GLP-1(7-36)(A8G)), послідовно і генетично злитих з сироватковим альбуміном людини. Щонайменше два GLP-1(7-
- 25 36)(A8G)) можуть генетично злитися з N-кінцем сироваткового альбуміну людини. Щонайменше один поліпептид, що має активність GLP-1, може включати SEQ ID NO: 1.
- Варіанти GLP-1(7-37) можна позначити, наприклад, у вигляді Glu^{22} -GLP(7-37)OH, що позначає варіант GLP-1, у якому гліцин, що виявляється в нормі в положенні 22 GLP-1(7-37)OH, замінений глютаміновою кислотою; Val^8 - Glu^{22} -GLP(7-37)OH позначає сполуку GLP-1, у якій
- 30 аланін, що виявляється в нормі в положенні 8, і гліцин, що виявляється в нормі в положенні 22 GLP-1(7-37)OH, заміни валіном і глютаміновою кислотою, відповідно. Приклади варіантів GLP-1 включають, але без обмеження:

| | | |
|--|---|---|
| Val ⁸ -GLP-1(7-37)OH | Gly ⁸ -GLP-1(7-37)OH | Glu ²² -GLP-1(7-37)O- H |
| Asp ²² -GLP-1(7-37)OH | Arg ²² -GLP-1(7-37)OH | Lys ²² -GLP-1(7-37)OH |
| Cys ²² -GLP-1(7-37)OH | Val ⁸ -Glu ²² -GLP-1(7-37)OH | Val ⁸ -Asp ²² -GLP-1(7-37)OH |
| Val ⁸ -Arg ²² -GLP-1(7-37)OH | Val ⁸ -Lys ²² -GLP-1(7-37)OH | Val ⁸ -Cys ²² -GLP-1(7-37)OH |
| Gly ⁸ -Glu ²² -GLP-1(7-37)OH | Gly ⁸ -Asp ²² -GLP-1(7-37)OH | Gly ⁸ -Arg ²² -GLP-1(7-37)OH |
| Gly ⁸ -Lys ²² -GLP-1(7-37)OH | Gly ⁸ -Cys ²² -GLP-1(7-37)OH | Glu ²² -GLP-1(7-36)OH |
| Asp ²² -GLP-1(7-36)OH | Arg ²² -GLP-1(7-36)OH | Lys ²² -GLP-1(7-36)OH |
| Cys ²² -GLP-1(7-36)OH | Val ⁸ -Glu ²² -GLP-1(7-36)OH | Val ⁸ -Asp ²² -GLP-1(7-36)OH |
| Val ⁸ -Arg ²² -GLP-1(7-36)OH | Val ⁸ -Lys ²² -GLP-1(7-36)OH | Val ⁸ -Cys ²² -GLP-1(7-36)OH |
| Gly ⁸ -Glu ²² -GLP-1(7-36)OH | Gly ⁸ -Asp ²² -GLP-1(7-36)OH | Gly ⁸ -Arg ²² -GLP-1(7-36)OH |
| Gly ⁸ -Lys ²² -GLP-1(7-36)OH | Gly ⁸ -Cys ²² -GLP-1(7-36)OH | Lys ²³ -GLP-1(7-37)OH |
| Val ⁸ -Lys ²³ -GLP-1(7-37)OH | Gly ⁸ -Lys ²³ -GLP-1(7-37)OH | His ²⁴ -GLP-1(7-37)OH |
| Val ⁸ -His ²⁴ -GLP-1(7-37)OH | Gly ⁸ -His ²⁴ -GLP-1(7-37)OH | Lys ²⁴ -GLP-1(7-37)OH |
| Val ⁸ -Lys ²⁴ -GLP-1(7-37)OH | Gly ⁸ -Lys ²³ -GLP-1(7-37)OH | Glu ³⁰ -GLP-1(7-37)OH |
| Val ⁸ -Glu ³⁰ -GLP-1(7-37)OH | Gly ⁸ -Glu ³⁰ -GLP-1(7-37)OH | Asp ³⁰ -GLP-1(7-37)OH |
| Val ⁸ -Asp ³⁰ -GLP-1(7-37)OH | Gly ⁸ -Asp ³⁰ -GLP-1(7-37)OH | Gln ³⁰ -GLP-1(7-37)OH |
| Val ⁸ -Gln ³⁰ -GLP-1(7-37)OH | Gly ⁸ -Gln ³⁰ -GLP-1(7-37)OH | Tyr ³⁰ -GLP-1(7-37)OH |
| Val ⁸ -Tyr ³⁰ -GLP-1(7-37)OH | Gly ⁸ -Tyr ³⁰ -GLP-1(7-37)OH | Ser ³⁰ -GLP-1(7-37)OH |
| Val ⁸ -Ser ³⁰ -GLP-1(7-37)OH | Gly ⁸ -Ser ³⁰ -GLP-1(7-37)OH | His ³⁰ -GLP-1(7-37)OH |
| Val ⁸ -His ³⁰ -GLP-1(7-37)OH | Gly ⁸ -His ³⁰ -GLP-1(7-37)OH | Glu ³⁴ -GLP-1(7-37)OH |
| Val ⁸ -Glu ³⁴ -GLP-1(7-37)OH | Gly ⁸ -Glu ³⁴ -GLP-1(7-37)OH | Ala ³⁴ -GLP-1(7-37)OH |
| Val ⁸ -Ala ³⁴ -GLP-1(7-37)OH | Gly ⁸ -Ala ³⁴ -GLP-1(7-37)OH | Gly ³⁴ -GLP-1(7-37)OH |
| Val ⁸ -Gly ³⁴ -GLP-1(7-37)OH | Gly ⁸ -Gly ³⁴ -GLP-1(7-37)OH | Ala ³⁵ -GLP-1(7-37)OH |
| Val ⁸ -Ala ³⁵ -GLP-1(7-37)OH | Gly ⁸ -Ala ³⁵ -GLP-1(7-37)OH | Lys ³⁵ -GLP-1(7-37)OH |
| Val ⁸ -Lys ³⁵ -GLP-1(7-37)OH | Gly ⁸ -Lys ³⁵ -GLP-1(7-37)OH | His ³⁵ -GLP-1(7-37)OH |
| Val ⁸ -His ³⁵ -GLP-1(7-37)OH | Gly ⁸ -His ³⁵ -GLP-1(7-37)OH | Pro ³⁵ -GLP-1(7-37)OH |
| Val ⁸ -Pro ³⁵ -GLP-1(7-37)OH | Gly ⁸ -Pro ³⁵ -GLP-1(7-37)OH | Glu ³⁵ -GLP-1(7-37)OH |
| Gly ⁸ -Glu ³⁵ -GLP-1(7-37)OH | Val ⁸ -Ala ²⁷ -GLP-1(7-37)OH | Val ⁸ -His ³⁷ -GLP-1(7-37)OH |
| Val ⁸ -Glu ²² -Lys ²³ -GLP-1(7-37)OH | Val ⁸ -Glu ²² -Glu ²³ -GLP-1(7-37)OH | Val ⁸ -Glu ²² -Ala ²⁷ -GLP-1(7-37)OH |
| Val ⁸ -Gly ³⁴ -Lys ³⁵ -GLP-1(7-37)OH | Val ⁸ -His ³⁷ -GLP-1(7-37)OH | Gly ⁸ -His ³⁷ -GLP-1(7-37)OH |
| Val ⁸ -Glu ²² -Ala ²⁷ -GLP-1(7-37)OH | Gly ⁸ -Glu ²² -Ala ²⁷ -GLP-1(7-37)OH | Val ⁸ -Lys ²² -Glu ²³ -GLP-1(7-37)OH |
| Gly ⁸ -Lys ²² -Glu ²³ -GLP-1(7-37)OH. | Val ⁸ -Glu ³⁵ -GLP-1(7-37)OH | |

Варіанти GLP-1 можуть також включати, але без обмеження, GLP-1 або фрагменти GLP-1, що мають хімічну модифікацію однієї або декількох бічних груп їхніх амінокислот. Хімічна модифікація включає, але без обмеження, додавання хімічних складових, створення нових зв'язків і видалення хімічних складових. Модифікації бічних груп амінокислот включають, але без обмеження, ацилювання ε-аміногруп лізину, N-алкілювання аргініну, гістидину або лізину, алкілювання карбоксильних груп глютамінової або аспарагінової кислоти й деамідування глютаміну або аспарагіну. Модифікації кінцевої аміногрупи включають, але без обмеження, видалення аміногрупи, N-модифікації групою нижчого алкілу, двома групами нижчих алкілів і ацильною групою. Модифікації кінцевої карбоксильної групи включають, але без обмеження, модифікації, що приводять до утворення амідів, нижчого алкіламідів, діалкіламідів й нижчого алкілового ефіру. Крім того, одна або декілька бічних груп або кінцевих груп можуть бути захищені захисними групами, відомими хімікам з середнім рівнем компетентності, які займається білками.

Фрагменти або варіанти GLP-1 можуть також включати поліпептиди, в яких одна або декілька амінокислот додані до N-кінця та/або C-кінця GLP-1(7-37)OH вказаного фрагменту або варіанту. Амінокислоти в GLP-1, до N-кінця або C-кінця якого додані амінокислоти, позначають тим самим числом, що й відповідну амінокислоту в GLP-1(7-37)OH. Наприклад, N-кінцева амінокислота сполуки GLP-1, одержаної додаванням двох амінокислот до N-кінця GLP-1(7-37)OH, знаходиться в положенні 5; а C-кінцева амінокислота сполуки GLP-1, одержаної додаванням однієї амінокислоти до C-кінця GLP-1(7-37)OH, знаходиться в положенні 38. Таким чином, положення 12 займає фенілаланін, а положення 22 займає гліцин в обох цих сполуках GLP-1, як і в GLP-1(7-37)OH. Амінокислоти 1-6 GLP-1 з амінокислотами, доданими до N-кінця, можуть бути однаковими з амінокислотою у відповідному положенні GLP-1(1-37)OH або бути консервативною заміною амінокислоти у відповідному положенні GLP-1(1-37)OH. Амінокислоти 38-45 GLP-1 з амінокислотами, доданими до C-кінця, можуть бути однаковими з амінокислотою у відповідному положенні глюкагону або екзендину 4 або бути консервативною заміною амінокислоти у відповідному положенні глюкагону або екзендину 4.

У іншому аспекті даного винаходу композиція, що містить щонайменше один поліпептид, який має активність GLP-1, вводять людині від одного разу на день до одного разу на місяць і можуть вводити один раз на день, один раз кожні два дні, один раз кожні три дні, один раз кожні сім днів, один раз кожні чотирнадцять днів, один раз кожні чотири тижні та/або один раз на місяць. У іншому аспекті людині вводять першу дозу і другу дозу композиції, що містить щонайменше один поліпептид, що має активність GLP-1. Вказані перша і друга дози можуть бути однаковими або можуть бути різними. Кожна доза щонайменше одного поліпептиду, що має активність GLP-1, може включати від приблизно 0,25 мкг до приблизно 1000мг вказаного щонайменше одного поліпептиду, що має активність GLP-1. Дози можуть включати, але без обмеження, 0,25 мкг, 0,25 мг, 1 мг, 3 мг, 6 мг, 16 мг, 24 мг, 48 мг, 60 мг, 80 мг, 104 мг, 200 мг, 400 мг, 800 мг аж до приблизно 1000 мг вказаного щонайменше одного поліпептиду, що має активність GLP-1.

У іншому аспекті даного винаходу композиція, що містить щонайменше один поліпептид, який має активність GLP-1, забезпечує максимальну концентрацію в плазмі, що складає від щонайменше приблизно 0,6 нМ до приблизно 319 нМ, поліпептиду, що має активність GLP-1, і значення площі під кривою, що становить від щонайменше приблизно 3,5 до приблизно 1936 нМ х день, протягом періоду, що становить один тиждень, для поліпептиду, що має активність GLP-1. В деяких випадках період напіввиведення з сироватки поліпептиду, що має активність GLP-1, складає від приблизно 4 до приблизно 7 днів. У іншому аспекті значення T_{max} поліпептиду, що має активність GLP-1, складає від приблизно 1 дня до приблизно 5 днів. У деяких випадках композиція, що містить щонайменше один поліпептид, що має активність GLP-1, забезпечує максимальну концентрацію в плазмі, що складає від щонайменше приблизно 8 нМ до приблизно 54 нМ, вказаного щонайменше одного поліпептиду, що має активність GLP-1, і значення AUC (тиждень 1), що становить від щонайменше приблизно 29 нМ х день до приблизно 245 нМ х день, протягом періоду, що становить один тиждень, для вказаного щонайменше одного поліпептиду, що має активність GLP-1. У іншому аспекті композиція, що містить вказаний щонайменше один поліпептид, що має активність GLP-1, забезпечує максимальну концентрацію в плазмі, що складає від щонайменше приблизно 8 нМ до приблизно 54 нМ, вказаного щонайменше одного поліпептиду, що має активність GLP-1, і значення AUC (0- ∞) після одноразової дози, що становить від щонайменше приблизно 99 нМ х день до приблизно 637 нМ х день, після одноразової дози вказаного щонайменше одного поліпептиду, що має активність GLP-1.

Будь-яка людина, якій вводиться композиція, що містить щонайменше один поліпептид, що має активність GLP-1, відповідно до даного винаходу може мати гіперглікемію, непереносимість глюкози й цукровий діабет, який може бути T2DM. Також забезпечуються способи, в яких вказаний щонайменше один поліпептид, що має активність GLP-1, знижує глюкозу в плазмі у вказаної людини, причому середньозважене значення $AUC_{0-24\text{год}}$ для глюкози в плазмі значно зменшене протягом періоду часу, що становить приблизно один тиждень, у порівнянні з плацебо після введення вказаної композиції, що містить вказаний щонайменше один поліпептид, що має активність GLP-1, в групі популяції людей з T2DM. Середньозважена $AUC_{0-24\text{год}}$ для глюкози в плазмі, яку можна визначити у вигляді зміни від базової лінії, в порівнянні із зміною у суб'єктів, яким вводили плацебо, може бути зменшена на від приблизно 20 мг/дл з 95 % довірчим інтервалом (-32,4,-7,8) до щонайменше приблизно 49 мг/дл з 95 % довірчим інтервалом (-76,6,-21,4) або більше протягом курсу, що становить щонайменше один тиждень після введення щонайменше однієї дози вказаної композиції, що містить щонайменше один поліпептид, який має активність GLP-1, у групі популяції людей з T2DM. Зниження глюкози в

плазмі може залежати від дози. Крім того, вказаний щонайменше один поліпептид, що має активність GLP-1, знижує глюкозу в плазмі у вказаній людині, причому глюкоза в плазмі натщесерце може бути значно знижена протягом періоду часу, що становить приблизно один тиждень після введення вказаної композиції, що містить щонайменше один поліпептид, що має активність GLP-1, в групі популяції людей з T2DM. Середнє значення глюкози в плазмі натщесерце може бути зменшене в групі популяції людей з T2DM на від приблизно 7 мг/дл з 95 % довірчим інтервалом (-25,9, +11,2) до приблизно 50,7 мг/дл з 95 % довірчим інтервалом (-75,4,-26,0) або більше при визначенні у вигляді зміни від базової лінії в порівнянні з плацебо. Середнє значення глюкози в плазмі натщесерце може бути зменшене на від приблизно 4 мг/дл з 95 % довірчим інтервалом (-16,5, +8,2) до приблизно 35 мг/дл з 95 % довірчим інтервалом (-54,1,-15,6) або більше при визначенні у вигляді зміни від базової лінії. Крім того, глюкоза в плазмі після їжі (середня $AUC_{0-4\text{год.}}$) може бути знижена на від приблизно 6 мг/дл з 95 % довірчим інтервалом (-27,2, +14,9) до приблизно 53 мг/дл з 95 % довірчим інтервалом (-64,7,-40,8) або більш в порівнянні з базовою лінією протягом курсу, що становить щонайменше один тиждень після введення щонайменше однієї дози вказаної композиції, що містить щонайменше один поліпептид, що має активність GLP-1, в групі популяції людей з T2DM. Також забезпечуються способи, в яких вказаний поліпептид, що має активність GLP-1, знижує фруктозамін у плазмі у вказаній людині, оскільки зміна від базової лінії в порівнянні з плацебо у вказаній людині зменшена на щонайменше приблизно 34мг/дл протягом курсу, що становить щонайменше два тижні після введення щонайменше однієї дози вказаної композиції, що містить вказаний щонайменше один поліпептид, що має активність GLP-1. Поліпептиди даного винаходу, що мають активність GLP-1, можна вводити підшкірно в ногу, руку або живіт вказаної людини.

Тут також забезпечуються вживання щонайменше одного поліпептиду, що має активність GLP-1, для виробництва лікарського засобу для лікування захворювань, пов'язаних з підвищеною глюкозою в крові, що включають, але без обмеження, цукровий діабет типу II, причому вказаний поліпептид готують для введення так, щоб він забезпечував максимальну концентрацію в плазмі вказаного поліпептиду, що складає щонайменше приблизно 0,6 нМ, і значення площі під кривою для вказаного поліпептиду, яке складає щонайменше приблизно 3,5 нМ х день, протягом періоду, що становить один тиждень.

У іншому варіанті здійснення даного винаходу забезпечуються способи збільшення активності GLP-1 у людини, які включають введення вказаній людині композиції, що містить щонайменше один агоніст GLP-1, причому вказаний щонайменше один агоніст GLP-1 забезпечує максимальну концентрацію в плазмі вказаного щонайменше одного агоністу GLP-1, що складає від щонайменше приблизно 21,2 пМ до приблизно 51,6 пМ або більше, і значення площі під кривою для вказаного щонайменше одного агоністу GLP-1, яке складає від щонайменше приблизно 149 пМ х день до приблизно 361 пМ х день, протягом періоду, що становить один тиждень. В одному аспекті агоніст GLP-1 забезпечує максимальну концентрацію в плазмі вказаного щонайменше одного агоністу GLP-1, що складає щонайменше приблизно 1,4 нМ, і значення площі під кривою для вказаного щонайменше одного агоністу GLP-1, яке складає щонайменше приблизно 8 нМ х день, протягом періоду, що становить один тиждень. Агоніст GLP-1 вибирають з групи, що складається з гормону інкретину та/або його фрагменту, варіанту та/або кон'югату і міметики інкретину та/або його фрагменту, варіанту та/або кон'югату. В іншому аспекті період напіввиведення з сироватки щонайменше одного агоністу GLP-1 складає від приблизно 4 до приблизно 7 днів. Значення T_{max} вказаного щонайменше одного агоністу GLP-1 складає від приблизно 1 дня до приблизно 5 днів.

В одному аспекті даного винаходу людина, що піддається лікуванню щонайменше одним агоністом GLP-1, може мати гіперглікемію й цукровий діабет. Людина може мати T2DM.

У іншому варіанті здійснення даного винаходу забезпечуються способи, в яких вказана композиція, що містить вказаний агоніст GLP-1, знижує глюкозу в плазмі у вказаній людині, причому середньозважене значення $AUC_{0-24\text{год.}}$ для глюкози в плазмі у вказаній людині клінічно й статистично значно зменшено протягом періоду часу, що становить приблизно один тиждень після введення вказаної композиції, що містить вказаний щонайменше один агоніст GLP-1. Середньозважене значення $AUC_{0-24\text{год.}}$ для глюкози в плазмі, яке можна визначити у вигляді зміни від базової лінії, в порівнянні з плацебо у вказаній людині може бути зменшено на щонайменше приблизно 5 мг/дл, 10 мг/дл, 15 мг/дл та/або 20 мг/дл протягом курсу, що становить щонайменше один тиждень після введення щонайменше однієї дози вказаної композиції, що містить вказаний щонайменше один агоніст GLP-1. У інших аспектах вказана композиція, що містить вказаний агоніст GLP-1, знижує глюкозу в плазмі у вказаній людині, причому глюкоза в плазмі натщесерце у вказаній людині клінічно й статистично значно

знижена протягом періоду часу, що становить приблизно один тиждень після введення вказаної композиції, що містить вказаний щонайменше один агоніст GLP-1. У іншому аспекті забезпечуються способи, в яких вказана композиція, що містить вказаний агоніст GLP-1, знижує глюкозу в плазмі у вказаної людини, причому глюкоза в плазмі після їжі знижується після введення щонайменше однієї дози вказаної композиції, що містить вказаний щонайменше один агоніст GLP-1.

У іншому аспекті даного винаходу композицію, що містить агоніст GLP-1, вводять один раз кожні сім днів. У альтернативному випадку композицію, що містить агоніст GLP-1, можна вводити один раз на день, один раз кожні два дні, один раз кожні три дні, один раз кожні два тижні, один раз кожні чотири тижні та/або один раз на місяць. Агоніст GLP-1 можна вводити декількома шляхами, відомими в даній галузі техніки, що включають, але без обмеження, підшкірну ін'єкцію, внутрішньом'язову ін'єкцію, внутрішньовенну ін'єкцію, в слизову оболонку, перорально та/або за допомогою інгаляції. В іншому аспекті даного винаходу композиція, що містить агоніст GLP-1, додатково містить одну або декілька сполук, вибраних з групи, що складається з ліганду рецептору, що активується при проліферації пероксисом, (PPAR), тіазолідіндіону (наприклад, глітазонів), метформіну, інсуліну й сульфонілсечовини. В іншому аспекті забезпечуються способи, що включають стадію спільного введення щонайменше одного агоністу GLP-1 з однією або кількома сполуками, вибраними з групи, що складається з ліганду рецептору, що активується при проліферації пероксисом, (PPAR), тіазолідіндіону, інгібіторів DPP-IV, метформіну, інсуліну й сульфонілсечовини. Композиція, що містить щонайменше один агоніст GLP-1, може містити одну або декілька з цих сполук, окрім, щонайменше, одного поліпептиду, що має активність GLP-1. Крім того, забезпечуються способи зниження рівнів глюкози в крові у людини, що потребує цього, які включають введення вказаної людині композиції, що містить щонайменше один агоніст GLP-1, причому вказана людина дотримується дієти для контролю глюкози.

Даним винаходом також забезпечується вживання щонайменше одного агоністу GLP-1 для виробництва лікарського засобу для лікування захворювань, пов'язаних з підвищеною глюкозою в крові, що включають, але без обмеження, цукровий діабет типу II, причому вказаний щонайменше один агоніст GLP-1 готують до введення так, щоб він забезпечував максимальну концентрацію в плазмі вказаного щонайменше одного агоністу GLP-1, що складає щонайменше приблизно 21,2 пМ, і значення площі під кривою для вказаного щонайменше одного агоністу GLP-1, яке складає щонайменше приблизно 149 пМ x день, протягом періоду, що становить один тиждень.

Даним винаходом забезпечуються способи лікування захворювань, пов'язаних з підвищеною глюкозою в крові, що включають, але без обмеження, цукровий діабет типу II, використовуючи GLP-1 і описані тут поліпептиди, що мають активність GLP-1. Також забезпечується вживання агоністу GLP-1 і поліпептидів, що мають активність GLP-1, для виробництва лікарського засобу, який готують до введення в кожному зі способів лікування, описаних тут. Також тут пропонуються фармацевтичні композиції, здатні збільшувати активність GLP-1 у людини, та містять поліпептид, що має активність GLP-1, та/або агоніст GLP-1 та приготівані для способів і застосувань, описаних тут.

Кваліфікованому фахівцеві відомі різні способи визначення й розрахунку фармакокінетичних (наприклад, але без обмеження, C_{max}, AUC, T_{max}, періоду напіввиведення з сироватки) і фармакодинамічних (наприклад, але без обмеження, рівнів глюкози в сироватці, плазмі й крові) параметрів, описаних тут. Крім того, кваліфікованому фахівцеві відомі різні способи здійснення статистичних порівнянь (наприклад, але без обмеження, порівнянь зміни від базової лінії після обробки та/або порівнянь серед груп обробок) і аналізу фармакокінетичних і фармакодинамічних параметрів, описаних тут. Крім того, кваліфікований фахівець знає і здатний використовувати різні інші способи збору й аналізу фармакокінетичних, фармакодинамічних та інших клінічних даних.

ПРИКЛАДИ

Наступні приклади ілюструють різні не обмежуючі аспекти цього винаходу. Для наступних прикладів, якщо не вказане інше, SEQ ID NO: 1 готували в концентрації 25мг/мл з ліофілізованої форми, що містить 2,8 % маніту, 4,2 % трегалози дигідрату, 0,01 % полісорбату 80, 20 мМ фосфатного буферу при pH 7,2. Композиції, що містять SEQ ID NO: 1, розводили водою для ін'єкції, як тільки необхідно для відповідного введення дози.

Приклад 1

Представлено одиночно сліпе, контрольоване плацебо дослідження зростаючої дози фармацевтичної композиції, що містить SEQ ID NO: 1, (0,25 мг -104мг), що вводиться підшкірно в живіт здорових суб'єктів.

Для дослідження було зареєстровано тридцять дев'ять здорових суб'єктів, що є чоловіками і жінками. П'ять груп здорових суб'єктів отримували двічі один раз на тиждень наступні збільшувані дози фармацевтичної композиції, що містить SEQ ID NO: 1, що ін'єктується підшкірно в живіт: група 1 (0,25 мг + 1 мг); група 2 (3 мг + 6 мг); група 3 (16 мг + 24 мг); група 4 (48 мг + 60 мг) і група 5 (80 мг + 104 мг). У групах 1-4 при рандомізації шість суб'єктів отримували активний компонент, і при рандомізації два суб'єкти отримували плацебо. У групі 5 при рандомізації п'ять суб'єктів отримували активний компонент, і при рандомізації два суб'єкти отримували плацебо. Таким чином, 29 суб'єктів отримували активне лікування, і 10 суб'єктів отримували плацебо. Дія фармацевтичної композиції, що містить SEQ ID NO: 1, збільшувалася пропорційним щодо більшої дози чином протягом діапазону доз, що перевірявся. Період напіввиведення SEQ ID NO: 1 складав приблизно 7 днів для всіх доз, при цьому T_{max} знаходилося в діапазоні від 2 до 4 днів.

Фармакокінетичні параметри у здорових суб'єктів, які отримували активний компонент, підсумовані в Таблиці 1. Фармакокінетичні дані для суб'єктів, які отримували плацебо, не підсумовувалися. AUC(тиждень 1) представляє площу під кривою залежності концентрації від часу, розраховану від часу введення першої дози протягом одного тижня після введення першої дози. AUC(тиждень 2) представляє площу під кривою залежності концентрації від часу, розраховану від часу введення другої дози протягом одного тижня після введення другої дози. C_{max}(тиждень 1) представляє максимальну вимірювану концентрацію від часу введення першої дози протягом одного тижня після введення першої дози. C_{max}(тиждень 2) представляє максимальну вимірювану концентрацію від часу введення другої дози протягом одного тижня після введення другої дози.

Таблиця 1

Зведення фармакокінетичних параметрів у здорових суб'єктів

| Доза (мг) (тиждень 1 + тиждень 2) | N | AUC (тиждень 1) (нМ × день) | AUC (тиждень 2) (нМ × день) | C _{max} (тиждень 1) (нМ) | C _{max} (тиждень 2) (нМ) |
|---|---|-----------------------------------|-----------------------------------|---|---|
| Група 1 0,25+1 | 6 | NC | 3,5 (64,7) | NC | 0,64 (46,2) |
| Група 2 3+6 | 6 | 10,7(31,6) | 39,1 (19,2) | 1,9(37,4) | 6,6 (22,2) |
| Група 3 16+24 | 6 | 75,9 (29,2) | 181 (38,2) | 13,3 (26,6) | 30,0(44,1) |
| Група 4 48+60 | 6 | 296 (50,2) | 714(17,8) | 54,1 (52,3) | 123 (17,6) |
| Група 5 80+104 | 5 | 668(33,5) | 1936 (22,4) | 122 (29,2) | 319(22,7) |

Дані, представлені у вигляді середнього геометричного (% CV)

NC – не розраховано – концентрації нижче межі кількісного аналізу

Приклад 2

Представлено одиночно сліпе, контрольоване плацебо дослідження багаторазових доз у суб'єктів з T2DM. Для дослідження було зареєстровано п'ятдесят чотири суб'єкти, що є чоловіками й жінками. Суб'єкти або знаходилися на дієті для здійснення контролю, або приймали метформін, сульфонілсечовину або комбінацію метформіну й сульфонілсечовину. Суб'єкти, що приймали метформін та/або сульфонілсечовину до початку дослідження, припиняли лікування для вимивання цих засобів за 2 тижні до введення першої дози. Суб'єкти отримували при рандомізації або плацебо, або фармацевтичну композицію, що містить SEQ ID NO: 1, за допомогою підшкірної ін'єкції в живіт один раз на тиждень протягом двох тижнів таким чином: група 1 (9 мг + 9 мг; 4 плацебо, 14 активних лікувань); група 2 (16 мг + 16 мг; 5 плацебо; 12 активних лікувань); група 3 (32 мг + 32 мг; 5 плацебо, 14 активних лікувань). Сорок суб'єктів при рандомізації отримували активний компонент, і чотирнадцять суб'єктів при рандомізації отримували плацебо.

П'ятдесят три суб'єкти завершили дослідження. Один суб'єкт, який у результаті рандомізації повинен був отримувати активне лікування в групі 2, був виведений з дослідження до введення другої дози (16 мг). Другий суб'єкт, який у результаті рандомізації повинен був отримувати активне лікування в групі 2, отримав лише першу дозу (16 мг). Цей другий суб'єкт не був

включений у фармакокінетичні аналізи. Три суб'єкти піддавалися введенню помилкової дози (два суб'єкти для введення плацебо й один суб'єкт, який у результаті рандомізації повинен був отримувати активне лікування в групі 3 (32 мг)). Піддані введенню помилкової дози суб'єкти не включалися в жодні фармакокінетичні аналізи.

- 5 Для всіх доз період напіввиведення SEQ ID NO: 1 складав приблизно 4-6 днів. T_{max} знаходилося в діапазоні від приблизно 1 до приблизно 5 днів після введення дози без чіткої залежності від дози. Фармакокінетичні параметри у суб'єктів, які отримували активний компонент, підсумовувані на фіг. 1 і Таблиці 2. Суб'єкти, які в результаті рандомізації отримували плацебо, не включені у фіг. 1 або Таблицю 2.

10

Таблиця 2

Зведення фармакокінетичних параметрів у суб'єктів з T2DM, які отримували активний компонент

| Доза (мг) Концентрація при ін'єкції | N | AUC (тиждень 1) (нМ × день) | AUC (тиждень 2) (нМ × день) | C _{max} (тиждень 1) (нМ) | C _{max} (тиждень 2) (нМ) |
|---|----|-----------------------------------|-----------------------------------|---|---|
| 9 мг + 9 мг | 14 | 51 (45) | 86 (43) | 11,3(51,4) | 14,5 (43,4) |
| 16 мг + 16 мг | 12 | 42 (90) ¹ | 84 (40) ² | 11,4(59,7) ¹ | 16,0 (29,3) ² |
| 32 мг+ 32 мг | 13 | 58 (78) | 122 (55) | 12,0 (76,2) | 21,1 (52,7) |

Дані, представлені у вигляді середнього геометричного (% CV)

1. n=11

2. n=10

Приклад 3

- У даному прикладі представлені фармакодинамічні профілі суб'єктів, описаних у Прикладі 2. Суб'єкти отримували підшкірні ін'єкції доз плацебо або фармацевтичної композиції, що містить SEQ ID NO: 1, що вводяться один раз на тиждень протягом двох тижнів таким чином: група 1 (9 мг + 9 мг; 14 плацебо, 4 активних лікувань); група 2 (16 мг + 16 мг; 5 плацебо; 12 активних лікувань); група 3 (32 мг + 32 мг; 5 плацебо, 14 активних лікувань). Дози вводилися суб'єктам у день 1 і день 8. Оцінювалися ефекти SEQ ID NO: 1 на глюкозу і фруктозамін у суб'єктів з T2DM. Суб'єкти з T2DM або знаходилися на дієті для здійснення контролю, або приймали метформін, сульфонілсечовину або комбінацію метформіну й сульфонілсечовини й припиняли лікування для вимивання цих засобів за 2 тижні до введення першої дози. Профілі глюкози натщесерце й протягом 24 годин оцінювалися на базовій лінії і протягом 24 годин після введення першої і другої дози. Фруктозамін оцінювали на базовій лінії і при візиті в день 13, день 21 і для кінцевого контролю (в день 56 або день 63) після введення дози.

- 25 У фармакодинамічні аналізи були включені всі суб'єкти, що отримали правильне рандомізоване лікування. Один суб'єкт у групі 2 правильно отримав дозу в день 1, але був виведений з дослідження до введення другої дози. Цей суб'єкт був включений у фармакокінетичні аналізи для здобуття даних, зібраних до дня 1, і був виключений з фармакодинамічних зведень після введення дози в день 8. Два суб'єкти, які в результаті рандомізації повинні були отримувати плацебо, але помилково піддалися середньому введенню дози, були виключені з усіх фармакодинамічних аналізів. Один суб'єкт, який у результаті рандомізації повинен був отримувати активний компонент в дозі 32 мг, був підданий введенню помилкової дози і виключений з усіх фармакодинамічних аналізів.

- 35 При всіх рівнях доз спостерігалися клінічно й статистично значимі зниження середньозважених значень глюкози протягом 24 годин і концентрацій глюкози в плазмі натщесерце (FPG). Пов'язані з глюкозою дані продемонстровані в Таблиці 3.

Таблиця 3

Зниження глюкози натщесерце і протягом 24 годин у суб'єктів з T2DM, які отримували активний компонент, в порівнянні з плацебо

| | Доза SEQ ID NO: 1 (мг) | | | | | |
|----------------------------------|----------------------------|----------------------------|------------------------|---------------------------|-------------------------|------------------------|
| | Група 1 (N=14) | | Група 2 (N=12) | | Група 3 (N=14) | |
| | 9 | 9+9 | 16 | 16+16 | 32 | 32+32 |
| FPG (95 % CI) | -7,36 (-25,9, +11,2) | -23,8 (-47,9,- 0,28) | -22,9 (-40,7,-5,0) | -32,5 (-57,3,- 7,7) | -26,7 (-46,32,-7,06) | -50,7 (-75,4,-26,0) |
| AUC ₀₋₂₄ (95 % CI) | -25,2 (-43,0, 6,4) | -31,0 (-55,6,-6,4) | -28,0 (-45,7,-10,3) | -34,8 (-60,6,- 8,9) | -34,8 (-54,1,-15,5) | -56,4 (-82,2,-30,5) |

Значення глюкози в мг/дл; Зміна від базової лінії в порівнянні з плацебо

- Для всіх рівнів доз спостерігалися значні зниження фруктозаміну в день 13 і день 21 після введення дози. Знижень не чекали при візиті для кінцевого контролю (в день 56 або день 63) унаслідок оціненого періоду напіввиведення SEQ ID NO: 1. Порівняння фруктозаміну у суб'єктів з T2DM, які отримували активний компонент, в порівнянні з отримуючими плацебо суб'єктами підсумовувані в Таблиці 4.

Таблиця 4

Зведення про фруктозамін у суб'єктів з T2DM, які отримували активний компонент, в порівнянні з отримуючими плацебо суб'єктами

| Параметр | Дози (мг) | | |
|-------------------|---|---|---|
| | 9 мг | 16 мг | 32 мг |
| | Отримуване методами найменших квадратів відмінність (95 % CI) | Отримуване методами найменших квадратів відмінність (95 % CI) | Отримуване методами найменших квадратів відмінність (95 % CI) |
| День 13 | -34,3 (-61,6,-7,18) | -35,5 (-66,0,-5,05) | -37,0 (-66,1,-7,83) |
| День 21 | -26,7 (-57,3, 3,93) | -26,9 (-61,2, 7,43) | -49,6 (-82,3,-16,8) |
| Кінцевий контроль | 35,62 (9,68, 59,6) | 5,70 (-22,3, 33,7) | 12,47 (-14,2, 39,2) |

Значення фруктозаміну в мкмоль/л; Зміна від базової лінії в порівнянні з плацебо

10 Приклад 4

- Запропоновано рандомізоване дослідження одноразової дози з доступним маркуванням на здорових добровольцях і суб'єктах з T2DM. Для цього дослідження було зареєстровано шістдесят два суб'єкти, що є чоловіками і жінками. Суб'єкти з T2DM знаходилися або на дієті для здійснення контролю, на метформіні, або на тіазолідиндіоні й продовжували піддаватися своїм колишнім лікуванням протягом дослідження. Суб'єкти з T2DM отримували фармацевтичну композицію, що містить SEQ ID NO: 1, за допомогою підшкірної ін'єкції у вигляді одноразових доз, що становлять 16 мг (у живіт (N=8); руку (N=7) або ногу (N=7)) або 64 мг (у живіт (N=8); руку (N=8) або ногу (N=8)). Здорові добровольці отримували або 16 мг (N=8), або 64мг (N=8) активного компонента за допомогою підшкірної ін'єкції в живіт. Таким чином, 16 здорових, нормальних добровольців отримували активний компонент, і 46 суб'єктів з T2DM отримували активний компонент.

- У суб'єктів з T2DM дії були порівнянними по всіх місцях ін'єкцій і збільшувалися помірно пропорційним по відношенню до більшої дози чином. Дії були порівнянними між здоровими суб'єктами і суб'єктами з T2DM. Профілі концентрацій і коробчаті діаграми AUC представлені на фіг. 1 і 2, відповідно. Фармакокінетичні параметри підсумовані в Таблиці 5. AUC (тиждень 1) представляє площу під кривою залежності концентрації від часу, розраховану від часу введення дози протягом одного тижня після введення дози. AUC(0-∞) представляє площу під кривою залежності концентрації від часу, розраховану від часу введення дози, екстрапольованого до

безкінечності на основі швидкості елімінації SEQ ID NO: 1. Для шести суб'єктів, одержуючих рівень дози в 16 мг, наявні дані не дозволили здійснити оцінку швидкості елімінації SEQ ID NO: 1. Тому екстраполяція до безкінечності була неможлива, і для цих суб'єктів AUC(0-∞) не розраховували.

5

Таблиця 5

Зведення фармакокінетичних параметрів у здорових суб'єктів і у суб'єктів з T2DM

| Доза (мг) | Популяція | Місце ін'єкції | N | AUC (тиждень 1) (нМ х день) | AUC(0-∞) (нМ х день) | Cmax (нМ) |
|-----------|-----------|----------------|---|-----------------------------|------------------------|-----------|
| 16 мг | Здорова | Живіт | 8 | 62,5 (16) | 133 ¹ (24) | 15 (37) |
| | T2DM | Живіт | 8 | 29,9 (101) | 99,6 ¹ (37) | 8,4 (136) |
| | | Рука | 7 | 35,3 (99) | 118 ¹ (36) | 8,8 (70) |
| | | Нога | 7 | 57,8 (39) | 117 ¹ (29) | 14 (56) |
| 64 мг | Здорова | Живіт | 8 | 245 (23) | 590 (23) | 53 (22) |
| | T2DM | Живіт | 8 | 218 (53) | 562 (39) | 49 (40) |
| | | Рука | 8 | 238 (22) | 637 (26) | 54 (23) |
| | | Нога | 8 | 213 (69) | 555 (49) | 50 (54) |

Дані, представлені у вигляді середнього геометричного (% CV)

¹ n=6

Приклад 5

В даному прикладі надані фармакодинамічні профілі суб'єктів, описаних у Прикладі 4. Фармакодинамічні профілі одноразової дози фармацевтичної композиції, що містить SEQ ID NO:1, піддавалися вивченню в цьому дослідженні і включали ефекти SEQ ID NO:1 на глюкозу, інсулін, глюкагон і С-пептид у суб'єктів з T2DM. Суб'єкти з T2DM знаходилися або на дієті для здійснення контролю, на метформіні, або на тіазолідиндіоні й продовжували піддаватися своїм колишнім лікуванням протягом дослідження. Суб'єкти отримували одноразову дозу фармацевтичної композиції, що містить SEQ ID NO: 1, таким чином: одноразові дози, що становлять 16 мг або 64 мг, вводили за допомогою підшкірної ін'єкції(й) в живіт 16 здорових, нормальних добровольців або вводили в руку, ногу або живіт 46 суб'єктів з T2DM, як описано в Прикладі 4. Глюкозу натщесерце оцінювали через 48 годин після введення дози до сніданку. Профілі глюкози після їжі (протягом 4 годин) оцінювали через 48 годин після введення дози протягом 4-годинного періоду після сніданку.

Для кожної введеної дози зниження глюкози були одноманітними по місцях ін'єкцій. Клінічно й статистично значимі зниження глюкози після їжі (середньозваженого значення глюкози протягом 4 годин) і глюкози в плазмі натщесерце (FPG) спостерігали при дозі 64 мг. Пов'язані з глюкозою дані продемонстровані в Таблиці 6.

Таблиця 6

Зниження глюкози натщесерце і після їжі (протягом 4 годин) у суб'єктів з T2DM в порівнянні з базовою лінією

| | 16 мг Живіт | 16 мг Рука | 16 мг Нога | 64 мг Живіт | 64 мг Рука | 64 мг Нога |
|------------------------------|------------------------|---------------------------|---------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| | N=8 | N=7 | N=7 | N=8 | N=8 | N=8 |
| FPG (95 % CI) | -21,1 (-41,5,-0,75) | -13,1 (-26,1,-0,1 5) | -4,1 (-16,5, +8,2) | -34,9 (-54,1,-15, 6) | -21,5 (-26,7,- 16,3) | -29,3 (-43,0,- 15,5) |
| AUC ₀₋₄ (95 % CI) | -16,1 (-44,5+12,2) | -6,0 (-27,2, +14,9) | -10,8 (-27,2, +5,6) | -52,5 (-82,0,-23,0) | -41,3 (-70,9,- 11,7) | -52,8 (-64,7,- 40,8) |

Значення глюкози в мг/дл; Зміна від базової лінії в порівнянні з плацебо

25

Будь-яка заявка на патент, пріоритет щодо якої заявлено в даній заявці, також повністю включена сюди за допомогою посилання чином, описаним вище для деяких публікацій і посилань.

ПЕРЕЛІК ПОСЛІДОВНОСТЕЙ

<110> SmithKline Beecham Corporation

<120> Способи введення гіпоглікемічних засобів подовженої дії

<130> PU62137

<140> Невідомий

<141> 2007-09-12

<150> 60/825,472

<151> 2006-09-13

<160> 2

<170> FastSEQ для версії 4,0 Windows

<210> 1

<211> 645

<212> Білок

<213> Homo Sapiens

<400> 1

```

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Gly
 1          5          10          15
Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly Arg His Gly
 20          25          30
Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Gly Gln Ala
 35          40          45
Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly Arg Asp Ala His Lys
 50          55          60
Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu Glu Asn Phe Lys
 65          70          75          80
Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln Gln Cys Pro Phe
 85          90          95
Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr
100          105          110
Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys Ser Leu His Thr
115          120          125
Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu Arg Glu Thr Tyr
130          135          140
Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu
145          150          155          160
Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val
165          170          175
Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His Asp Asn Glu Glu
180          185          190
Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg Arg His Pro Tyr
195          200          205
Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg Tyr Lys Ala Ala
210          215          220
Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala Cys Leu Leu Pro
225          230          235          240
Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser Ser Ala Lys Gln
245          250          255
Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys

```

```

                260                265                270
Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro Lys Ala Glu Phe
                275                280                285
Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys Val His Thr Glu
                290                295                300
Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp Arg Ala Asp Leu
305                310                315                320
Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser Ser Lys Leu Lys
                325                330                335
Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His Cys Ile Ala Glu
                340                345                350
Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser Leu Ala Ala Asp
                355                360                365
Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp
                370                375                380
Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp
385                390                395                400
Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr Tyr Glu Thr Thr
                405                410                415
Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys
                420                425                430
Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile
                435                440                445
Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln
                450                455                460
Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro Gln Val Ser Thr
465                470                475                480
Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys
                485                490                495
Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr
                500                505                510
Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His Glu Lys Thr Pro
                515                520                525
Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg
                530                535                540
Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys
545                550                555                560
Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp He Cys Thr Leu
                565                570                575
Ser Glu Lys Glu Arg Gln He Lys Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu
                580                585                590
Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys Ala Val Met
                595                600                605
Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys
610                615                620
Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln
625                630                635                640
Ala Ala Leu Gly Leu
                645

```

<210> 2
 <211> 31
 <212> Білок
 <213> Homo Sapiens

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> 31
 <223> Хаа = будь-яка амінокислота

<400> 2

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| His | Ala | Glu | Gly | Thr | Phe | Thr | Ser | Asp | Val | Ser | Ser | Tyr | Leu | Glu | Gly |
| 1 | | | | 5 | | | | | 10 | | | | 15 | | |
| Gln | Ala | Ala | Lys | Glu | Phe | Ile | Ala | Trp | Leu | Val | Lys | Gly | Arg | Xaa | |
| | | | 20 | | | | | 25 | | | | | 30 | | |

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

1. Спосіб збільшення активності GLP-1 у людини, який включає підшкірне введення зазначеній людині композиції, що містить поліпептид, який включає амінокислотну послідовність SEQ ID NO:1, що забезпечує максимальну концентрацію в плазмі зазначеного поліпептиду, що складає щонайменше приблизно 0,6 нМ, і значення площі під кривою для зазначеного поліпептиду, що складає щонайменше приблизно 3,5 нМ х день, протягом періоду, що становить один тиждень, причому зазначену композицію вводять людині з часовим проміжком, який вибирають з таких: один раз на кожен тиждень, один раз на кожні чотирнадцять днів, один раз на кожні чотири тижні та один раз на місяць.
2. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що композицію, що містить поліпептид, який включає амінокислотну послідовність SEQ ID NO:1, вводять зазначеній людині раз на тиждень.
3. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що зазначена композиція, що містить поліпептид, який включає амінокислотну послідовність SEQ ID NO:1, містить від приблизно 0,25 мг до приблизно 104 мг зазначеного поліпептиду.
4. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що додатково забезпечують максимальну концентрацію в плазмі, яка складає від щонайменше приблизно 0,6 нМ до приблизно 319 нМ, зазначеного поліпептиду, який включає амінокислотну послідовність SEQ ID NO:1, та значення площі під кривою зазначеного поліпептиду, що становить від щонайменше приблизно 3,5 нМ х день до приблизно 1936 нМ х день, протягом періоду, що становить один тиждень.
5. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що додатково забезпечують максимальну концентрацію в плазмі, що складає від щонайменше приблизно 8 нМ до приблизно 54 нМ, зазначеного поліпептиду, який включає амінокислотну послідовність SEQ ID NO:1, та значення AUC (тиждень 1) зазначеного поліпептиду, що становить від щонайменше приблизно 29 нМ х день до приблизно 245 нМ х день, протягом періоду, що становить один тиждень, причому зазначена композиція включає від приблизно 16 мг до приблизно 64 мг зазначеного поліпептиду.
6. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що додатково забезпечують період напіввиведення з сироватки зазначеного поліпептиду, який включає амінокислотну послідовність SEQ ID NO:1, що складає від приблизно 4 днів до приблизно 7 днів.
7. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що додатково забезпечують значення T_{max} зазначеного поліпептиду, який включає амінокислотну послідовність SEQ ID NO:1, що складає від приблизно 1 дня до приблизно 5 днів.
8. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що зазначена людина страждає на гіперглікемію.
9. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що зазначена людина страждає на цукровий діабет.
10. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що зазначена людина страждає на цукровий діабет типу II.
11. Спосіб за п. 10, який **відрізняється** тим, що додатково включає введення зазначеної композиції, яка містить поліпептид, що включає амінокислотну послідовність SEQ ID NO:1, підшкірно в ногу, руку або живіт зазначеної людини.
12. Спосіб лікування цукрового діабету типу II у людини, що включає введення зазначеній людині фармацевтичної композиції, що містить поліпептид, який включає амінокислотну послідовність SEQ ID NO:1, та забезпечує максимальну концентрацію в плазмі, яка складає від щонайменше приблизно 8 нМ до приблизно 54 нМ, зазначеного поліпептиду, та значення AUC (0-∞) зазначеного поліпептиду після одноразової дози, що становить від щонайменше приблизно 99 нМ х день до приблизно 637 нМ х день, який **відрізняється** тим, що зазначену композицію вводять зазначеній людині з часовим інтервалом, який вибирають з таких: один раз на кожен тиждень, один раз на кожні чотирнадцять днів, один раз на кожні чотири тижні та один раз на місяць, та тим, що зазначена композиція містить від приблизно 16 мг до приблизно 64 мг зазначеного поліпептиду.
13. Спосіб за п. 12, який **відрізняється** тим, що зазначена композиція, що містить поліпептид, який включає амінокислотну послідовність SEQ ID NO:1, додатково містить маніт, трегалози дигідрат, полісорбат 80 та фосфатний буфер.

14. Спосіб за п. 12, який **відрізняється** тим, що додатково включає формулювання поліпептиду, що включає амінокислотну послідовність SEQ ID NO:1, як 25 мг/мл.

15. Спосіб за п. 12, який **відрізняється** тим, що додатково включає підшкірне введення зазначеного поліпептиду, що включає амінокислотну послідовність SEQ ID NO:1, за дози від приблизно 24 мг до приблизно 60 мг.

16. Фармацевтична композиція, спроможна збільшувати активність GLP-1 у людини, яка містить поліпептид, що включає амінокислотну послідовність SEQ ID NO:1, де згадана композиція забезпечує максимальну концентрацію в плазмі зазначеного поліпептиду, що складає щонайменше приблизно 0,6 нМ, і значення площі під кривою для зазначеного поліпептиду, що складає щонайменше приблизно 3,5 нМ х день, протягом періоду, що становить один тиждень, за умови введення людині з часовим проміжком, який вибирають з таких: один раз на кожен тиждень, один раз на кожні чотирнадцять днів, один раз на кожні чотири тижні та один раз на місяць.

17. Фармацевтична композиція за п. 16, яка **відрізняється** тим, що її вводять зазначеній людині раз на тиждень.

18. Фармацевтична композиція за п. 16, яка **відрізняється** тим, що зазначена композиція, яка містить поліпептид, який включає амінокислотну послідовність SEQ ID NO:1, включає від приблизно 0,25 мг до приблизно 104 мг зазначеного поліпептиду.

19. Фармацевтична композиція за п. 16, яка **відрізняється** тим, що забезпечує максимальну концентрацію в плазмі, яка складає від щонайменше приблизно 0,6 нМ до приблизно 319 нМ, зазначеного поліпептиду, який включає амінокислотну послідовність SEQ ID NO:1, та значення площі під кривою зазначеного поліпептиду, що становить від щонайменше приблизно 3,5 нМ х день до приблизно 1936 нМ х день, протягом періоду, що становить один тиждень.

20. Фармацевтична композиція за п. 16, яка **відрізняється** тим, що забезпечує максимальну концентрацію в плазмі, що складає від щонайменше приблизно 8 нМ до приблизно 54 нМ, зазначеного поліпептиду, який включає амінокислотну послідовність SEQ ID NO:1, та значення AUC (тиждень 1) зазначеного поліпептиду, що становить від щонайменше приблизно 29 нМ х день до приблизно 245 нМ х день, протягом періоду, що становить один тиждень, та тим, що зазначена фармацевтична композиція включає від приблизно 16 мг до приблизно 64 мг зазначеного поліпептиду.

21. Фармацевтична композиція за п. 16, яка **відрізняється** тим, що забезпечує період напіввиведення з сироватки зазначеного поліпептиду, який включає амінокислотну послідовність SEQ ID NO:1, що складає від приблизно 4 днів до приблизно 7 днів.

22. Фармацевтична композиція за п. 16, яка **відрізняється** тим, що забезпечує значення T_{max} зазначеного поліпептиду, який включає амінокислотну послідовність SEQ ID NO:1, що складає від приблизно 1 дня до приблизно 5 днів.

23. Фармацевтична композиція за п. 16, яка **відрізняється** тим, що додатково містить маніт, трегалози дигідрат, полісорбат 80, фосфатний буфер та воду для впорскування.

24. Фармацевтична композиція за п. 16, яка **відрізняється** тим, що поліпептид, який включає амінокислотну послідовність SEQ ID NO:1, наявний у концентрації в розчині за 25 мг/мл.

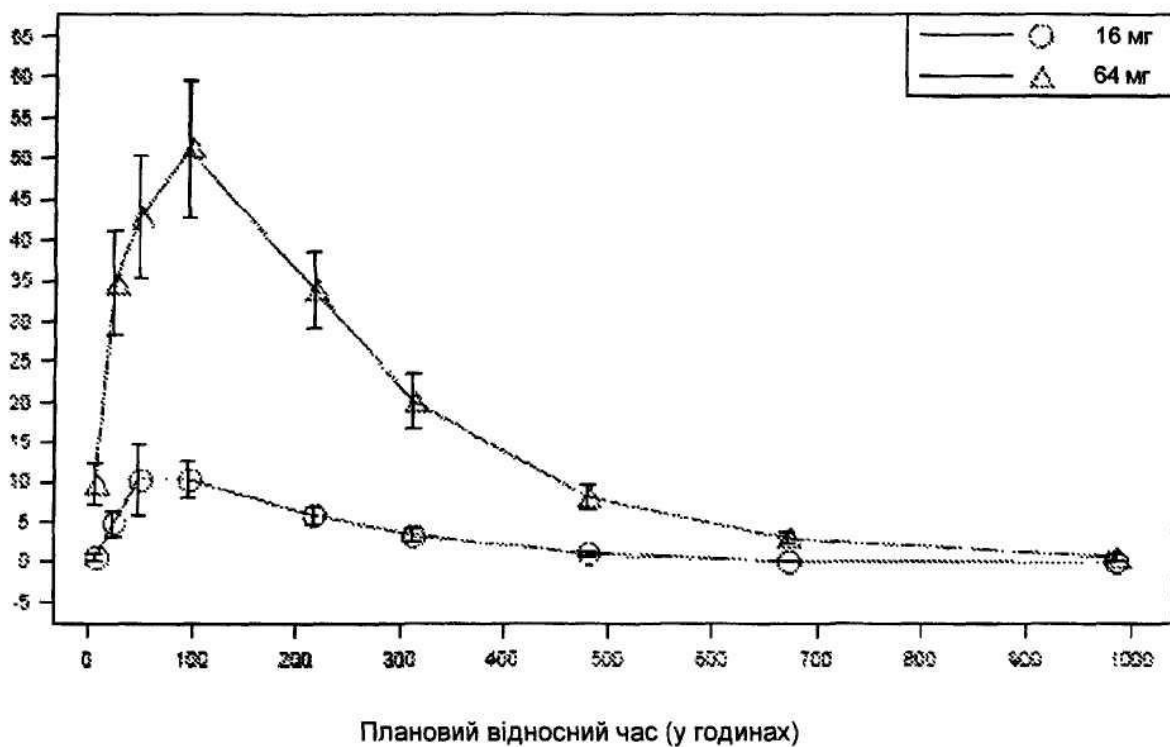
25. Фармацевтична композиція за п. 16, яка **відрізняється** тим, що зазначений поліпептид, який включає амінокислотну послідовність SEQ ID NO:1, наявний у кількості від приблизно 0,25 мг до приблизно 104 мг.

26. Фармацевтична композиція за п. 25, яка складається з поліпептиду, який включає амінокислотну послідовність SEQ ID NO:1, за концентрації 25 мг/мл з ліофілізованої форми, що містить 2,8 % маніту, 4,2 % трегалози дигідрату, 0,01 % полісорбату 80, 20 мМ фосфатного буферу при pH 7,2.

27. Фармацевтична композиція для лікування цукрового діабету типу II у людини, що включає від приблизно 24 мг до приблизно 60 мг поліпептиду, який включає амінокислотну послідовність SEQ ID NO:1, 2,8 % маніту, 4,2 % трегалози дигідрату, 0,01 % полісорбату 80, 20 мМ фосфатного буферу при pH 7,2 та воду для впорскування, яка **відрізняється** тим, що зазначена фармацевтична композиція забезпечує максимальну концентрацію в плазмі, яка складає від щонайменше приблизно 8 нМ до приблизно 54 нМ зазначеного поліпептиду, та значення AUC (0-∞) зазначеного поліпептиду після одноразової дози, що становить від щонайменше приблизно 99 нМ х день до приблизно 637 нМ х день, коли зазначену композицію вводять зазначеній людині з часовим проміжком, який вибирають з таких: один раз на кожен тиждень, один раз на кожні чотирнадцять днів, один раз на кожні чотири тижні та один раз на місяць.

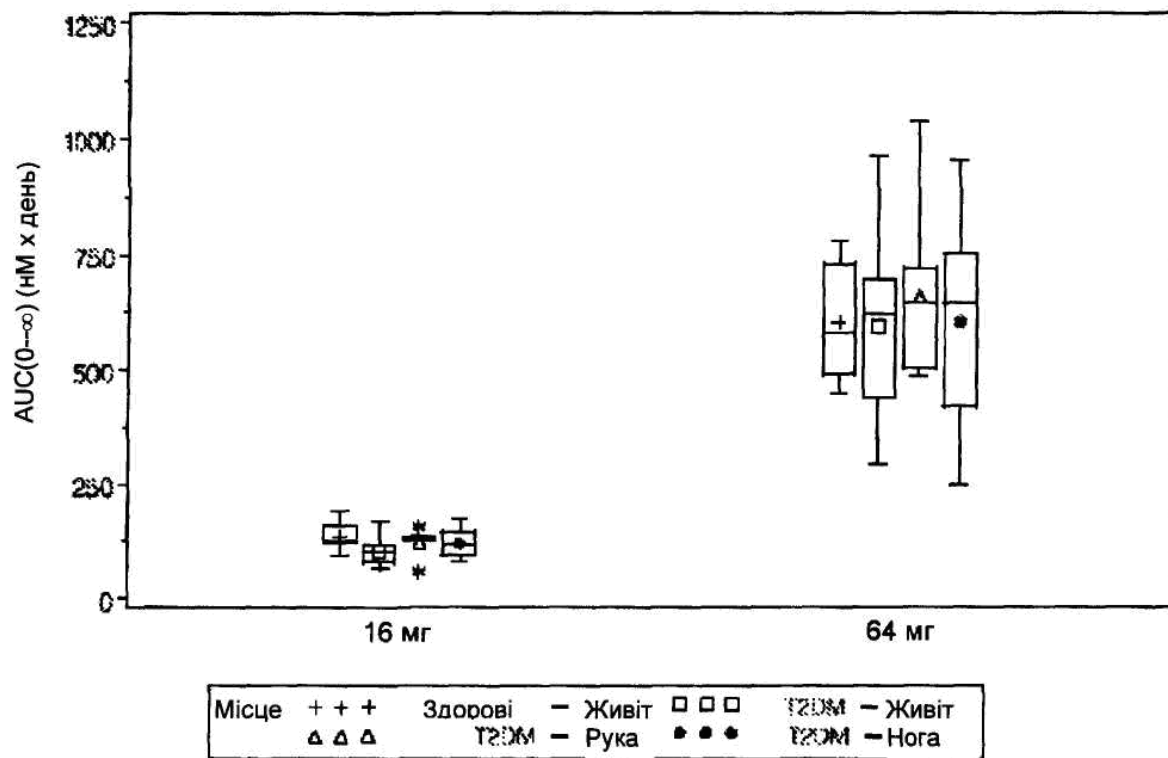
28. Фармацевтична композиція за п. 27, яка **відрізняється** тим, що її призначено для підшкірного введення.

29. Фармацевтична композиція за п. 28, яка **відрізняється** тим, що її вводять зазначеній людині один раз на тиждень.
30. Фармацевтична композиція за п. 29, яка містить приблизно 32 мг зазначеного поліпептиду.



Фармакокінетичний профіль SEQ ID NO.: 1 у суб'єктів з цукровим діабетом типу II. Середній (95%) графік залежності концентрації в плазмі (нМ, ELISA) від часу (в годинах)

ФІГ. 1



Вплив SEQ ID NO.: 1 - коробчаті діаграми дій (AUC(0-∞))
за місцем ін'єкції (живіт, нога та рука) в дозі у суб'єктів
з цукровим діабетом типу II

ФІГ. 2

SEQ ID NO.: 1

```

HGEFTFTSDVSSYLEGQAAKEFIAWLVKGRHGEFTFTSDVSSYLEGQAAKEFIAWLVKGR 60
DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQOC PFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAE 120
NCDKSLHTL FGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECF LQHKDDNPNLPRLVRPE 180
VDVMCTAFHDNEETFLKKYLYE IARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTCECCQAADKAACLL 240
PKLDEL RDEGKASSAKQRLK CASLQKGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLT 300
KVHTECCHGDLLECADDRADLAKY ICENQDSISSKLEKCEKPLLEKSHCIAEVENDEMP 360
ADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVLLLR LAKTYETTLEK 420
CCAAADPHCEYAKVFDEFKPLVEEPQNL IKONCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVS 480
TPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLC VLHEKTPVSDRVTKCCTE 540
SLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKA 600
TKEQLKAVMDDFAAFVEKCKKADDKETCFAEEGKKLV AASQAALGL 674

```

ФІГ. 3

Комп'ютерна верстка Г. Паяльніков

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601