

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 201992587 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2020.05.08

(22) Дата подачи заявки
2017.05.26

(51) Int. Cl. *A61K 38/00* (2006.01)
A61K 38/04 (2006.01)
A61K 38/08 (2006.01)
A61K 38/10 (2006.01)
A61P 31/12 (2006.01)
A61P 31/18 (2006.01)
A61P 31/22 (2006.01)
A61P 31/16 (2006.01)

(54) ПЕПТИДЫ И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ В КАЧЕСТВЕ ПРОТИВОВИРУСНЫХ АГЕНТОВ

(86) PCT/MY2017/050021

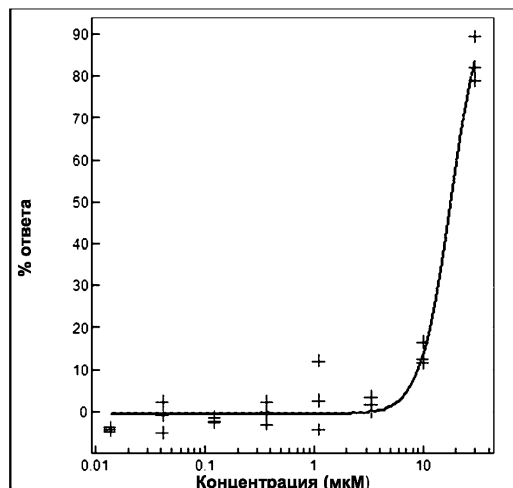
(87) WO 2018/217075 2018.11.29

(71) Заявитель:
ВИРАМАТИКС СДН БХД (МУ)

(72) Изобретатель:
Мохамед Ибрахим Мохамед Раджик
(МУ)

(74) Представитель:
Нилова М.И. (RU)

(57) В настоящем описании раскрыты пептиды, обладающие противовирусными свойствами. Указанные пептиды содержат правовращающие (D) или смесь правовращающих/левоповращающих (L)-аминокислот, обладают противовирусными свойствами против множества типов оболочечных вирусов и вирусов, содержащих слой матричного белка, и являются подходящими для применения в виде фармацевтических композиций для лечения или предотвращения инфекций, вызванных оболочечными вирусами и вирусами, содержащими слой матричного белка.



201992587 A1

201992587 A1

ПЕПТИДЫ И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ В КАЧЕСТВЕ ПРОТИВОВИРУСНЫХ АГЕНТОВ

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ

- 5 Настоящее изобретение относится к терапевтическим пептидам, которые обладают широким спектром противовирусной активности в отношении множества различных оболочечных вирусов и вирусов, содержащих слой матричного белка.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

- 10 Вирусная инфекция, вызванная оболочечными вирусами и вирусами, содержащими слой матричного белка, остается серьезной проблемой для человечества. Несмотря на то, что вирусы гриппа привлекают внимание многих исследователей, противовирусные средства, направленные на другие оболочечные вирусы и вирусы, содержащие слой матричного белка, включая, но не
15 ограничиваясь перечисленными, вирус простого герпеса, цитомегаловирус, респираторно-синцитиальный вирус и вирусы иммунодефицита человека, остаются актуальной неудовлетворенной медицинской потребностью.

- Респираторно-синцитиальные вирусы (РСВ) принадлежат к семейству *Paramyxoviridae*, которое включает оболочечные вирусы с геномом, представленным
20 РНК с отрицательной полярностью, одноцепочечной РНК, а также вирусы, не являющиеся РНК-содержащими.¹ Несмотря на то, что РСВ являются одним из важных педиатрических патогенов, они могут поражать людей всех возрастов, особенно пожилых людей и людей с ослабленным иммунитетом. РСВ инфицируют только людей и являются высококонтагиозными. В настоящее время не имеется
25 одобренных терапевтических средств, доступных для применения в терапии.² Согласно оценкам, ~34 миллиона детей в возрасте до 5 лет во всем мире ежегодно подвергаются заражению, что приводит к ~4 миллионам случаев госпитализации и 100000–200000 случаев смерти. Как правило, РСВ вызывают инфекции верхних дыхательных путей, однако у 20–30% инфицированных детей наблюдаются
30 симптомы инфекций нижних дыхательных путей, таких как бронхолит и/или пневмония.² Симптомы инфекции РСВ включают слабость, возбудимость, кашель, сухие хрипы, влажные хрипы, учащенное дыхание и снижение аппетита. Такие факторы, как заболевания сердца, хроническое заболевание легких у недоношенных,

иммунодефицит и иммуносупрессия, могут усиливать и усугублять симптомы заболевания. Имеющиеся в настоящее время методы терапии инфекции РСВ в основном назначаются для профилактического применения у пациентов с высоким или очень высоким риском.³ Существует потребность в более универсальной 5 терапии, а также терапии в постинфекционный период.

Цитомегаловирус (ЦМВ) принадлежит к семейству *Herpesviridae*, которое включает вирусы, геном которых представлен линейной двухцепочечной ДНК. Геном указанного вируса заключен в нуклеокапсидный белок, который, в свою очередь, окружен тегументом (матриксным слоем) и липидным бислоем.^{4,5} ЦМВ 10 инфицирует людей всех возрастов, и имеются сообщения, что к 40 годам большинство людей были инфицированы ЦМВ в какой-либо момент их жизни. Как правило, при инфекции ЦМВ не наблюдается каких-либо симптомов, однако люди с ослабленной иммунной системой, а также дети с врожденной инфекцией более 15 предрасположены к серьезным осложнениям.^{6,7} Симптомы инфекции ЦМВ значительно различаются, от бессимптомного течения до лихорадки и слабости, а также тяжелых симптомов, которые могут привести к поражению внутренних органов, глаз и головного мозга. Несмотря на то, что существуют некоторые противовирусные лекарственные средства, такие как валганцикловир, ганцикловир, цидофовир, фоскарнет или их комбинация для лечения ретинита, эти лекарственные 20 средства могут иметь серьезные побочные эффекты и не могут излечить от инфекции. Существует потребность в более универсальной терапии, а также терапии с менее многочисленными или менее серьезными побочными эффектами.⁸⁻¹⁰

Вирусы простого герпеса (ВПГ-1 и ВПГ-2) принадлежат к семейству *Herpesviridae*, которое включает вирусы с линейной двухцепочечной ДНК в 25 качестве генома. Геном вирусов простого герпеса заключен в нуклеокапсидный белок икосаэдрической формы, который, в свою очередь, окружен тегументом (матриксным слоем) и липидным бислоем.^{5,11} Эти вирусы обычно вызывают инфекции кожи, глаз, губ и половых органов. Симптомы включают появление болезненных волдырей или язв на месте инфекции, ощущение покалывания вокруг 30 рта, в области половых органов и ягодиц, увеличение лимфатических узлов, лихорадку и боли в теле. Вирусы простого герпеса также могут приводить к менингиту и энцефалиту у людей с ослабленным иммунитетом и неонатальному герпесу у новорожденных.¹¹ Согласно последним оценкам ВОЗ, во всем мире ~3,5

миллиарда человек инфицированы ВПГ-1^{12,13} и ~ 0,5 миллиарда человек инфицированы ВПГ-2.¹⁴ Имеющиеся в настоящее время противовирусные лекарственные средства против вирусов простого герпеса, такие как ацикловир, фамцикловир и валацикловир, применяются при лечении инфекций ВПГ, но, как правило, эффективны только для уменьшения симптомов заболевания; они не могут излечить от инфекции.^{15,16}

Вирус иммунодефицита человека (ВИЧ) принадлежит к семейству *Retroviridae*, которое включает вирусы с двумя одноцепочечными РНК в качестве генома. Геном указанного вируса заключен в нуклеокапсидный белок, который, в свою очередь, окружен липидным бислоем, связанным с матриксным белком.¹⁷ ВИЧ поражает иммунную систему человека и вызывает синдром приобретенного иммунодефицита (СПИД). Вследствие ослабления иммунной системы люди, имеющие СПИД, более подвержены множеству инфекций, которые могут быть опасны для жизни. В настоящее время существуют средства для лечения ВИЧ-инфекции, но ни одно из них не способно излечить от инфекции.^{18,19}

Несмотря на высокую распространенность вирусных инфекций, все еще имеется очень мало одобренных лекарственных средств для лечения и/или профилактики инфекций, вызываемых оболочечными вирусами, таких как инфекции, раскрытые в настоящем документе. Кроме того, современные методы лечения все еще характеризуются недостаточной эффективностью и высокой токсичностью, а также их применение осложняют более высокая стоимость лечения и появление штаммов, устойчивых к лекарственным средствам.

Фармацевтические компании сталкиваются с возрастающими трудностями при расширении ассортимента разрабатываемых препаратов, в частности, вследствие наличия мишеней, не поддающихся действию лекарственных средств (undruggable targets), таких как белок-белковые взаимодействия.²⁰ Несмотря на то, что белок-белковые взаимодействия являются частью взаимодействия хозяина и патогена, они также играют важную роль во многих клеточных функциях здоровых клеток. Модулирование белок-белковых взаимодействий было признано перспективным способом облегчения многих заболеваний, в том числе подавления проникновения или репликации патогена.²¹ Однако сообщалось, что малые молекулы часто являются неэффективными для подавления таких взаимодействий.²² Несмотря на то, что моноклональные антитела являются высокоспецифичными и

эффективными для ингибирования или модулирования этих взаимодействий, они часто не обладают достаточной способностью к проникновению в ткани или клетки.²³ Без ограничения какой-либо теорией, в настоящем документе предполагается, что макроциклические пептиды, обладающие способностью к проникновению в клетку, могли бы служить наилучшим решением. Макроциклические пептиды также могут являться лучшим выбором, если учесть, что многие вирусы обладают высокой изменчивостью, и, следовательно, лекарственное средство, нацеленное на белок-белковые взаимодействия, должно быть достаточно легко адаптируемым, чтобы противостоять такой изменчивости. Кроме того, пептиды обладают многими преимуществами по сравнению с малыми молекулами, включая высокую специфичность, селективность, превосходную эффективность, а также они, как правило, хорошо переносятся.^{24,25} Аналогично, пептиды могут быть предпочтительнее других макромолекул, таких как антитела, вследствие меньшей сложности их получения и лучшей доступности мишени.²⁴ Без ограничения какой-либо теорией, в настоящем документе предполагается, что пептиды могут обладать большими преимуществами и преодолевать больше ограничений, чем малые молекулы или крупные макромолекулы.²⁴⁻³⁰

Были обнаружены новые пептидные терапевтические агенты (пептидные терапевтические агенты против вирусов гриппа, Flu Peptide Therapeutics, FPT), обладающие широким спектром активности против вирусов гриппа.^{31,32} Был изучен механизм действия FPT против вирусов гриппа. Без ограничения какой-либо теорией, в настоящем документе предполагается, что FPT оказывают свое действие путем связывания и нарушения целостности матриксных белков (M1) вирусов гриппа. Впоследствии было обнаружено, что матриксные белки вируса гриппа имеют достаточное структурное сходство с белками ВИЧ, ВПГ, РСВ и ЦМВ, поэтому FPT также активны против этих вирусов, а также против других оболочечных вирусов и вирусов, содержащих слой матриксного белка.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Неожиданно было обнаружено, что пептиды, содержащие последовательность twftfin, обладают активностью против множества различных оболочечных вирусов и вирусов, содержащих слой матриксного белка. Также было неожиданно обнаружено, что пептиды, содержащие вариации последовательности

twftfin, где одна или две другие аминокислоты независимо введены, удалены или заменены на другую D-аминокислоту, или на глицин, или на любую L-аминокислоту, также обладают высокой активностью против множества различных оболочечных вирусов и вирусов, содержащих слой матричного белка. Пептиды, описанные в настоящем документе, как правило, проявляют противовирусную активность, которая многократно превышает активность пептидов, содержащих последовательность, состоящую только из L-аминокислот, и демонстрируют активность широкого спектра против множества различных оболочечных вирусов и вирусов, содержащих слой матричного белка.

10 В одном из иллюстративных вариантов реализации изобретения в настоящем документе описаны пептиды, также называемые в настоящем документе FTP, которые содержат правовращающие аминокислоты или смесь правовращающих/левовращающих аминокислот. В другом варианте реализации в настоящем документе описаны пептиды, обладающие противовирусными свойствами в отношении оболочечных вирусов или вирусов, содержащих слой матричного белка. В другом варианте реализации в настоящем документе описаны пептиды, обладающие противовирусными свойствами в отношении множества оболочечных вирусов и вирусов, содержащих слой матричного белка. В другом иллюстративном варианте реализации описано применение одного или более из любых пептидов, описанных в настоящем документе, для получения лекарственных средств для лечения или предотвращения инфекций, вызванных оболочечными вирусами и вирусами, содержащими слой матричного белка. В другом иллюстративном варианте реализации описаны фармацевтические композиции, лекарственные формы и единичные дозы, содержащие один или более из любых пептидов, описанных в настоящем документе, для применения для лечения или предотвращения инфекций, вызванных оболочечными вирусами и вирусами, содержащими слой матричного белка. В другом иллюстративном варианте реализации в настоящем документе описаны способы лечения или предотвращения инфекций, вызванных оболочечными вирусами и вирусами, содержащими слой матричного белка, где эти способы включают введение одного или более из любых пептидов, описанных в настоящем документе, или фармацевтических композиций, лекарственных форм, единичных доз и лекарственных средств, содержащих эти пептиды.

В другом варианте реализации оболочечный вирус или вирус, содержащий слой матричного белка, представляет собой ретровирус, лентивирус, парамиксовирус, флавивирус, вирус гепатита С, вирус клещевого энцефалита, вирус желтой лихорадки, вирус лихорадки денге, филовирус, тогавирус, буньявирус, герпесвирус, гепаднавирус, парамиксовирус или коронавирусы. В другом варианте реализации оболочечный вирус или вирус, содержащий слой матричного белка, представляет собой вирус простого герпеса, цитомегаловирус, респираторно-синцитиальный вирус или вирус иммунодефицита человека. В другом варианте реализации вирус представляет собой ВИЧ, вирус Эбола, вирус Марбург, вирус краснухи, хантавирус, аренавирус, цитомегаловирус, вирус гепатита В или торовирус.

В другом варианте реализации инфекция представляет собой СПИД, герпес или ТОРС (тяжелый острый респираторный синдром).

В другом варианте реализации в настоящем документе описаны пептиды, содержащие последовательность tkrsfX/xn (формула I). В другом варианте реализации в настоящем документе описаны пептиды, содержащие последовательность tX/xsrfin (формула II). В другом варианте реализации в настоящем документе описаны пептиды, содержащие последовательность twX/xrfin (формула V). В другом варианте реализации в настоящем документе описаны пептиды, содержащие последовательность twfX/xfin (формула VI). В другом варианте реализации в настоящем документе описаны пептиды, содержащие последовательность X/xwftfin (формула VII). В другом варианте реализации в настоящем документе описаны пептиды, содержащие последовательность wwftfiX/x (формула VIII). В другом варианте реализации в настоящем документе описаны пептиды, содержащие последовательность wwftX/xia (формула IX). В другом варианте реализации в настоящем документе описаны пептиды, содержащие последовательность X/xwftfiX/x (формула X). В каждом из указанных выше X/x представляет собой глицин, или любую D-аминокислоту, или любую L-аминокислоту.

В другом варианте реализации любой из пептидов, описанных в настоящем документе, также содержит N-концевой и/или C-концевой остаток цистеина. В случае, если и N-конец, и C-конец содержат остаток цистеина, пептид может быть

циклизован. Следует понимать, что в каждом случае остаток цистеина независимо выбран из D-цистеина и L-цистеина.

В другом варианте реализации любой из пептидов, описанных в настоящем документе, также содержит одну или более меток растворимости (solubility tags). В качестве иллюстрации метка растворимости содержится на N-конце и/или на C-конце. Следует понимать, что пептиды, описанные в настоящем документе, которые содержат N-концевой и/или C-концевой остаток цистеина, включая его циклические производные, могут также содержать одну или более меток растворимости. Также следует понимать, что в каждом случае каждая метка растворимости выбрана независимо.

Дополнительные подробные сведения в отношении FPT раскрыты в международной заявке РСТ с серийным номером РСТ/IB2016/057146, полное содержание которой включено в настоящее описание посредством ссылки.

В другом варианте реализации описаны аналоги и производные пептидов, описанных в настоящем документе. Следует понимать, что аналоги и производные, описанные в настоящем документе, не включают пептиды, раскрытые в международной публикации РСТ № WO 2009/151313. В другом варианте реализации в настоящем документе описаны пептиды, которые не включают любые последовательности, раскрытые в международной публикации РСТ № WO 2009/151313.

В контексте настоящего описания термин «выделенный пептид», как правило, относится к пептиду, который находится *ex-vivo* и/или в нерасфасованной форме. Следует понимать, что выделенные пептиды могут находиться в смеси с другими соединениями и/или в растворе или суспензии.

Последовательности пептидов, описанных в настоящем документе, как правило, представлены с помощью общепринятого однобуквенного кода для каждой аминокислоты. Коды в виде заглавных букв соответствуют левовращающей форме аминокислоты, а коды в виде строчных букв соответствуют правовращающей форме аминокислоты. Например, однобуквенный код «A» обозначает L-аланин, тогда как однобуквенный код «a» обозначает D-аланин; «R» обозначает L-аргинин, тогда как «r» обозначает D-аргинин; и так далее.

В другом варианте реализации в настоящем документе описан выделенный пептид, содержащий последовательность A1-A2-A3-A4-A5-A6-A7, где A1

представляет собой t или w, A2 представляет собой k или w, A3 представляет собой s или f, A4 представляет собой r или t, A5 представляет собой h, i, n или w, A6 представляет собой i или d, и A7 представляет собой n или a, и где любой один или два из A1, A2, A3, A4, A5, A6 или A7 необязательно заменены на другую D-аминокислоту, глицин или любую L-аминокислоту. В одном из вариантов в настоящем документе описаны пептиды, где один или два из A1, A2, A3, A4, A5, A6 или A7 заменены на соответствующую L-аминокислоту.

В другом варианте реализации в настоящем документе описан выделенный пептид, содержащий последовательность A1-A2-A3-A4-A5-A6-A7, где A1 представляет собой t или w, A2 представляет собой k или w, A3 представляет собой s или f, A4 представляет собой r или t, A5 представляет собой h, i, n или w, A6 представляет собой i или d, и A7 представляет собой n или a, и где любой из A1, A2, A3, A4, A5, A6 или A7 необязательно заменен на другую D-аминокислоту, глицин или любую L-аминокислоту. В одном из вариантов в настоящем документе описаны пептиды, где один из A1, A2, A3, A4, A5, A6 или A7 заменен на соответствующую L-аминокислоту.

В другом варианте реализации в настоящем документе описаны выделенные противовирусные пептиды, содержащие последовательность, выбранную из twtffin, X/xwftfin, tX/xftfin, twX/xtfi, twfX/xfin, twftX/xin, twftfX/xn, twftfiX/x и X/xwftfiX/x.

В другом варианте реализации в настоящем документе описаны выделенные противовирусные пептиды, содержащие последовательность, выбранную из twtffin, X/xwftfin, tX/xftfin, twX/xtfi, twfX/xfin, twftX/xin, twftfX/xn, twftfiX/x и X/xwftfiX/x, где в каждой последовательности одна дополнительная аминокислота введена, удалена или заменена на другую D-аминокислоту, или на глицин, или на любую L-аминокислоту.

В другом варианте реализации в настоящем документе описаны выделенные противовирусные пептиды, содержащие последовательность, выбранную из PSP IV A17, PSP V A19 и PSP VI A1.

В другом варианте реализации в настоящем документе описан пептид, содержащий последовательность, представленную в любой из таблиц 1-8. Следует понимать, что функциональные варианты пептидов в этих таблицах, сохраняющие биологическую активность, также входят в объем изобретения, описанного в настоящем документе.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ЧЕРТЕЖЕЙ

Фигура 1: Действие H-RRKKcwwftfiac-OH (PSP VI A1) против РСВ А2 *in vitro*. Способность пептида подавлять репликацию РСВ А2 определяли с помощью анализа ЦПД (цитопатического действия) на клетках Нер-2. Эксперименты проводили в трех повторностях и выполняли в присутствии ДМСО или возрастающей концентрации исследуемого соединения.

Фигура 2: Действие H-RRKKcwwftfiac-OH (PSP IV A17) против РСВ А2 *in vitro*. Способность пептида подавлять репликацию РСВ А2 определяли с помощью анализа ЦПД на клетках Нер-2. Эксперименты проводили в трех повторностях и выполняли в присутствии ДМСО или возрастающей концентрации исследуемого соединения.

Фигура 3: Действие PSP VI A1 против ВПГ-2 *in vitro*. Способность пептида подавлять репликацию ВПГ определяли с помощью анализа ЦПД на клетках Vero. Эксперименты проводили в трех повторностях и выполняли в присутствии ДМСО или возрастающей концентрации исследуемого соединения.

Фигура 4: Действие PSP IV A17 против ВПГ-2 *in vitro*. Способность пептида подавлять репликацию ВПГ определяли с помощью анализа ЦПД на клетках Vero. Эксперименты проводили в трех повторностях и выполняли в присутствии ДМСО или возрастающей концентрации исследуемого соединения.

Фигура 5: Действие PSP VI A1 против ЦМВ *in vitro*. Способность пептида подавлять репликацию ЦМВ определяли с помощью анализа ЦПД на клетках HFFF-2. Эксперименты проводили в трех повторностях и выполняли в присутствии ДМСО или возрастающей концентрации исследуемого соединения.

Фигура 6: Действие PSP IV A17 против ЦМВ *in vitro*. Способность пептида подавлять репликацию ЦМВ определяли с помощью анализа ЦПД на клетках HFFF-2. Эксперименты проводили в трех повторностях и выполняли в присутствии ДМСО или возрастающей концентрации исследуемого соединения.

Фигура 7: Действие PSP VI A1 против ВИЧ-1 92UG029 *in vitro*. Способность пептида подавлять репликацию ВИЧ определяли путем определения обратной транскриптазы на МКПК. Эксперименты проводили в присутствии ДМСО или возрастающей концентрации пептида. Результаты представлены в виде среднего значения при трехкратном определении.

Фигура 8: Действие H-cwwftfinc-OH (PSP V A19-C) против ВИЧ-1 92UG029 *in vitro*. Способность пептида подавлять репликацию ВИЧ определяли путем определения обратной транскриптазы на МКПК. Эксперименты проводили в присутствии ДМСО или возрастающей концентрации пептида. Результаты представлены в виде среднего значения при трехкратном определении.

Фигура 9: Действие H-RRKKtwftfin-OH (PSP IV A17-LS) против ВИЧ-1 92UG029 *in vitro*. Способность пептида подавлять репликацию ВИЧ определяли путем определения обратной транскриптазы на МКПК. Эксперименты проводили в присутствии ДМСО или возрастающей концентрации пептида. Результаты представлены в виде среднего значения при трехкратном определении.

Фигура 10: Цитотоксическое действие противовирусных пептидов на гепатоциты человека. Цитотоксическое действие противовирусных пептидов H-RRKKctwdrfinc-OH (PSP III B3), H-RRKKctwfrfinc-OH (PSP III B5), H-RRKKctwsrfinc-OH (PSP III B16), H-RRKKctwwrfinc-OH (PSP III B19), H-RRKKctwyrfinc-OH (PSP III B20) и H-RRKKctwfffinc-OH (PSP IV A5). Токсическое действие исследовали при двух различных концентрациях на клетках печени человека НераRG™, клетках с подтвержденным фенотипом дифференцированных гепатоцитов в условиях культуры клеток. Данные представлены в виде среднего значения \pm стандартное отклонение при трехкратном определении. Этот эксперимент проводили, как описано в примере 3.

Фигура 11: Цитотоксическое действие противовирусных пептидов на гепатоциты человека. Цитотоксическое действие противовирусных пептидов PSP IV A17, H-RRKKcwwftfinc-OH (PSP V A19), H-RRKKcmwftfinc-OH (PSP V A11), PSP VI A1 и H-RRKKcwwftfisc-OH (PSP VI A16). Токсическое действие исследовали при двух различных концентрациях на клетках печени человека НераRG™, клетках с подтвержденным фенотипом дифференцированных гепатоцитов в условиях культуры клеток. Данные представлены в виде среднего значения \pm стандартное отклонение при трехкратном определении. Этот эксперимент проводили, как описано в примере 3.

Фигура 12: Цитотоксическое действие противовирусных пептидов PSP V A19 на клетки MDCK и A549. Цитотоксическое действие противовирусного пептида PSP V A19. Токсическое действие указанного пептида исследовали при множестве различных концентраций на клетках MDCK и A549, как описано в примере 4, и

сравнивали с необработанным контролем. Данные представлены в виде среднего значения \pm стандартное отклонение при трехкратном определении.

5 Фигура 13: Цитотоксическое действие противовирусных пептидов PSP VI A1 на клетки MDCK и A549. Цитотоксическое действие противовирусного пептида PSP VI A1. Токсическое действие указанного пептида исследовали при множестве различных концентраций на клетках MDCK и A549, как описано в примере 4, и сравнивали с необработанным контролем. Данные представлены в виде среднего значения \pm стандартное отклонение при трехкратном определении.

10 Фигура 14: Гемолитическая активность различных противовирусных пептидов в концентрации 30 мкМ. Гемолитическую активность тритона X-100 или различных противовирусных пептидов PSP III B5, PSP IV A17, PSP V A19 и PSP VI A1 исследовали при концентрации 30 мкМ, как описано в примере 5, и сравнивали с необработанным контролем.

15 ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Настоящее изобретение будет дополнительно описано с помощью следующих иллюстративных вариантов реализации. В следующих частях настоящего описания различные иллюстративные аспекты настоящего изобретения определены более подробно. Каждый определенный таким образом аспект может 20 быть объединен с любым другим аспектом или аспектами, если явно не указано иное. В частности, любой признак, обозначенный как предпочтительный или полезный, может быть объединен с любым другим признаком или признаками, обозначенными как предпочтительные или полезные. Однако следует понимать, что настоящее изобретение не ограничено таким признаком или признаками, 25 обозначенными как предпочтительные или полезные, и любой признак или признаки, обозначенные как предпочтительные или полезные, не являются обязательными.

При практическом осуществлении настоящего изобретения, если не указано иное, будут использованы общепринятые методики химии, биохимии, молекулярной 30 биологии, технологии рекомбинантных ДНК, клеточной биологии, иммунологии и биоинформатики, которые находятся в пределах уровня знаний специалиста в данной области техники. Такие методики подробно описаны в литературе.

Во всем объеме настоящего описания для обозначения аминокислот используется стандартный однобуквенный код в соответствии с рекомендациями IUPAC/IUB. В последовательностях, перечисленных в настоящем документе, крайняя слева аминокислота в конце любой последовательности представляет собой аминный конец (необязательно обозначенный Н-), тогда как крайняя справа аминокислота представляет собой карбоксильный конец (необязательно обозначенный –ОН). За исключением глицина, который является ахиральным, левовращающая форма аминокислот в настоящем документе обозначена заглавными буквами, а правовращающая форма аминокислот обозначена строчными буквами.

5
10
15
20
25
30

Следует понимать, что, если не указано иное, указания на L-аминокислоты включают глицин.

Настоящее изобретение относится к пептидам с противовирусной активностью. Помимо этого, настоящее изобретение относится к пептидам с противовирусной активностью в отношении более чем одного оболочечного вируса или вируса, содержащего слой матричного белка. Помимо этого, настоящее изобретение относится к пептидам с противовирусной активностью в отношении более чем одного подтипа оболочечного вируса или вируса, содержащего слой матричного белка. Помимо этого, настоящее изобретение относится к фармацевтическим композициям, содержащим пептиды, описанные в настоящем документе, и способам применения пептидов, описанных в настоящем документе, для предотвращения и/или лечения вирусных инфекций.

Иллюстративные варианты реализации настоящего изобретения описаны в следующих пунктах:

Выделенный пептид, представленный последовательностью или содержащий последовательность twftfin.

Выделенный пептид, представленный последовательностью или содержащий последовательность аналога или производного twftfin.

Выделенный пептид, представленный последовательностью или содержащий последовательность A1-A2-A3-A4-A5-A6-A7, где A1 представляет собой t или w, A2 представляет собой k или w, A3 представляет собой s или f, A4 представляет собой g или t, A5 представляет собой f, h, i, n или w, A6 представляет собой i или d, и A7 представляет собой n или a, и где любой или любые два из A1, A2, A3, A4, A5, A6 или A7 необязательно заменены на другую D-аминокислоту или L-аминокислоту.

Выделенный пептид, представленный последовательностью или содержащий последовательность A1-A2-A3-A4-A5-A6-A7, где A1 представляет собой t или w, A2 представляет собой k или w, A3 представляет собой s или f, A4 представляет собой r или t, A5 представляет собой h, i, n или w, A6 представляет собой i или d, и A7 представляет собой p или a, и где любой или любые два из A1, A2, A3, A4, A5, A6 или A7 необязательно заменены на другую D-аминокислоту или L-аминокислоту.

Пептид по предшествующему пункту, где один или два из A1, A2, A3, A4, A5, A6 или A7 заменены на соответствующую L-аминокислоту.

Выделенный пептид, представленный последовательностью или содержащий последовательность A1-A2-A3-A4-A5-A6-A7, где A1 представляет собой t или w, A2 представляет собой k или w, A3 представляет собой s или f, A4 представляет собой r или t, A5 представляет собой i или w, A6 представляет собой i или d, и A7 представляет собой p или a, и где любой или любые два из A1, A2, A3, A4, A5, A6 или A7 необязательно заменены на другую D-аминокислоту или L-аминокислоту.

Пептид по предшествующему пункту, где один или два из A1, A2, A3, A4, A5, A6 или A7 заменены на соответствующую L-аминокислоту.

Пептид по любому из предшествующих пунктов, где любой из A1, A2, A3, A4, A5, A6 или A7 необязательно заменен на другую D-аминокислоту или L-аминокислоту.

Пептид по предшествующему пункту, где один из A1, A2, A3, A4, A5, A6 или A7 заменен на соответствующую L-аминокислоту.

Пептид по любому из предшествующих пунктов, где A1 представляет собой t.

Пептид по любому из предшествующих пунктов, где A1-A2 представляет собой tk или tw.

Пептид по любому из предшествующих пунктов, где A2-A3 представляет собой ks или wf.

Пептид по любому из предшествующих пунктов, где A1-A2-A3 представляет собой tks или twf.

Пептид по любому из предшествующих пунктов, где A3-A4 представляет собой sr или ft.

Пептид по любому из предшествующих пунктов, где A2-A3-A4 представляет собой ksr или wft.

Пептид по любому из предшествующих пунктов, где A_4 представляет собой g или t .

Пептид по любому из предшествующих пунктов, где A_5 представляет собой f, h, i, n или w .

5 Пептид по любому из предшествующих пунктов, где A_5 представляет собой h, i, n или w .

Пептид по любому из предшествующих пунктов, где A_5 представляет собой i или w .

10 Пептид по любому из предшествующих пунктов, где A_5 представляет собой f .

Пептид по любому из предшествующих пунктов, где A_1-A_2 представляет собой ww .

Пептид по любому из предшествующих пунктов, где A_6-A_7 представляет собой ia .

15 Пептид по любому из предшествующих пунктов, где A_4 представляет собой g или t , и A_6 представляет собой i .

Пептид по любому из предшествующих пунктов, где A_6-A_7 представляет собой in .

20 Пептид по любому из предшествующих пунктов, где A_7 представляет собой n .

Пептид по любому из предшествующих пунктов, содержащий $tkstrfX/xn$, где X/x представляет собой i, l или y .

Пептид по любому из предшествующих пунктов, содержащий $twfX/xfin$, где X/x представляет собой i, l, m, r, s, t, v или w .

25 Пептид по любому из предшествующих пунктов, содержащий $twX/xrfin$, где X/x представляет собой $a, c, e, f, G, h, i, k, l, m, n, p, q, r, s, t, v, w$ или y .

Пептид по любому из предшествующих пунктов, содержащий $tX/xsrfin$, где X/x представляет собой p, r, s или w .

30 Пептид по любому из предшествующих пунктов, содержащий $X/xwftfin$, где X/x представляет собой m или w .

Пептид по любому из предшествующих пунктов, содержащий $wwftX/xia$, где X/x представляет собой h, i, n или w .

Пептид по любому из предшествующих пунктов, содержащий $wwftX/xia$, где X/x представляет собой i или w .

5 Пептид по любому из предшествующих пунктов, содержащий последовательность, выбранную из $tkstrfX/xn$, $tX/xsrfin$, $twX/xrfin$, $twfX/xfin$, $X/xwftfin$, $wwftfiX/x$, $wwftX/xia$ и $tkstrfdn$ или их производного, где X/x представляет собой глицин, или любую D-аминокислоту, или любую L-аминокислоту.

10 Пептид по любому из предшествующих пунктов, содержащий последовательность, выбранную из $twftfin$, $X/xwftfin$, $tX/xftfin$, $twX/xtfin$, $twfX/xfin$, $twftX/xin$, $twftfX/xn$, $twftfiX/x$ и $X/xwftfiX/x$, где X/x представляет собой глицин, или любую D-аминокислоту, или любую L-аминокислоту.

15 Пептид по любому из предшествующих пунктов, содержащий последовательность, выбранную из $twftfin$, $X/xwftfin$, $tX/xftfin$, $twX/xtfin$, $twfX/xfin$, $twftX/xin$, $twftfX/xn$, $twftfiX/x$ и $X/xwftfiX/x$, где X/x представляет собой глицин, или любую D-аминокислоту, или любую L-аминокислоту, и где в каждой последовательности одна дополнительная аминокислота введена, удалена или заменена на другую D-аминокислоту, или на глицин, или на любую L-аминокислоту.

Пептид по любому из предшествующих пунктов, содержащий последовательность, выбранную из PSP IV A17, PSP V A19 и PSP VI A1.

20 Пептид по любому из предшествующих пунктов, содержащий последовательность $tkstrfX/xn$ (формула I).

Пептид по любому из предшествующих пунктов, содержащий последовательность $tX/xsrfin$ (формула II).

Пептид по любому из предшествующих пунктов, содержащий последовательность $twX/xrfin$ (формула V).

25 Пептид по любому из предшествующих пунктов, содержащий последовательность $twfX/xfin$ (формула VI).

Пептид по любому из предшествующих пунктов, содержащий последовательность $X/xwftfin$ (формула VII).

30 Пептид по любому из предшествующих пунктов, содержащий последовательность $wwftfiX/x$ (формула VIII).

Пептид по любому из предшествующих пунктов, содержащий последовательность $wwftX/xia$ (формула IX).

Пептид по любому из предшествующих пунктов, содержащий последовательность $X/xwftfiX/x$ (формула X).

Пептид по любому из предшествующих пунктов, дополнительно содержащий N-концевой и/или C-концевой остаток цистеина.

5 Пептид по предшествующему пункту в циклической форме.

Пептид по любому из предшествующих пунктов, дополнительно содержащий одну или более меток растворимости, каждая из которых выбрана независимо.

Пептид по предшествующему пункту, где метка растворимости находится на N-конце и/или на C-конце.

10 Пептид по любому из предшествующих пунктов, где метка растворимости выбрана из RRKK и gkk.

Пептид по любому из предшествующих или последующих пунктов, причем указанный пептид обладает противовирусной активностью в отношении ретровируса, лентивируса, парамиксовируса, флавивируса, вируса гепатита С, 15 вируса клещевого энцефалита, вируса желтой лихорадки, вируса лихорадки денге, филовируса, тогавируса, буньявируса, герпесвируса, гепаднавируса, парамиксовируса или коронавируса.

Пептид по любому из предшествующих или последующих пунктов, причем указанный пептид обладает противовирусной активностью в отношении вируса 20 простого герпеса, цитомегаловируса, респираторно-синцитиального вируса или вируса иммунодефицита человека.

Пептид по любому из предшествующих или последующих пунктов, причем указанный пептид обладает противовирусной активностью в отношении ВИЧ, вируса Эбола, вируса Марбург, вируса краснухи, хантавируса, аренавируса, 25 цитомегаловируса, вируса гепатита В или торовируса.

Пептид по любому из предшествующих или последующих пунктов, причем инфекция представляет собой СПИД, герпес или ТОРС.

Пептид по любому из предшествующих или последующих пунктов, причем указанный пептид обладает противовирусной активностью в отношении вируса 30 простого герпеса, цитомегаловируса, респираторно-синцитиального вируса и/или вируса иммунодефицита человека.

Пептид по любому из предшествующих или последующих пунктов, имеющий IC_{50} менее 100 мкМ в отношении вируса.

Пептид по любому из предшествующих пунктов, где X/x выбран из любой протеиногенной аминокислоты.

Пептид по любому из предшествующих пунктов, где X/x выбран из D-изомера любой протеиногенной аминокислоты.

- 5 Пептид по любому из предшествующих пунктов, выбранный из ctkrsfX/xnc, rrkkctX/xsrfinc, RRKKctwX/xrfinc, RRKKctwfX/xfinc, RRKKcX/xwftfinc, RRKKcwwftfiX/xc, RRKKcwwftX/xiac и ctkrsfdnc.

Пептид по любому из предшествующих пунктов, где X выбран из a, c, d, e, f, h, i, k, l, m, n, p, q, r, s, t, v, w, y или G.

- 10 Пептид по любому из предшествующих пунктов, где указанный пептид содержит последовательность RRKKctwX/xrfinc или выбран из RRKKctwafinc, RRKKctwercfinc, RRKKctwdrfinc, RRKKctwerfinc, RRKKctwfrfinc, RRKKctwGrfinc, RRKKctwhrfinc, RRKKctwirfinc, RRKKctwkrfinc, RRKKctwlrfinс, RRKKctwmrfinc, RRKKctwnrfinc, RRKKctwprfinc, RRKKctwqrfinc, RRKKctwrrfinc, RRKKctwsrfinc, 15 RRKKctwtrfinc, RRKKctwvrfinc, RRKKctwwrfinc или RRKKctwyrfinc.

- Пептид по любому из предшествующих пунктов, где указанный пептид содержит последовательность RRKKctwfX/xfinc или выбран из RRKKctwfafinc, RRKKctwfcfinc, RRKKctwfdfinc, RRKKctwfefinc, RRKKctwfffinc, RRKKctwfGfinc, RRKKctwfhfinc, RRKKctwffinc, RRKKctwfkfinc, RRKKctwflfinc, RRKKctwfmfinc, 20 RRKKctwfnfinc, RRKKctwfpfinc, RRKKctwfqfinc, RRKKctwfrfinc, RRKKctwfsfinc, RRKKctwftfinc, RRKKctwfvfinc, RRKKctwfwfinc и RRKKctwfyfinc.

- Пептид по любому из предшествующих пунктов, где указанный пептид содержит последовательность RRKKcX/xwftfinc или выбран из RRKKcawftfinc, RRKKccwftfinc, RRKKcdwftfinc, RRKKcewftfinc, RRKKcfwftfinc, RRKKcGwftfinc, 25 RRKKchwftfinc, RRKKciwftfinc, RRKKckwftfinc, RRKKclwftfinc, RRKKcmwftfinc, RRKKcnwftfinc, RRKKcpwftfinc, RRKKcqwftfinc, RRKKcrwftfinc, RRKKcswftfinc, RRKKctwftfinc, RRKKcwwftfinc, RRKKcwwftfinc и RRKKcywftfinc.

- Пептид по любому из предшествующих пунктов, где указанный пептид содержит последовательность RRKKcwwftfiX/xc или выбран из RRKKcwwftfiac, 30 RRKKcwwftficc, RRKKcwwftfidc, RRKKcwwftfiеc, RRKKcwwftfifc, RRKKcwwftfiGc, RRKKcwwftfihc, RRKKcwwftfiic, RRKKcwwftfikc, RRKKcwwftfilc, RRKKcwwftfimc, RRKKcwwftfipc, RRKKcwwftfiqc, RRKKcwwftfirс, RRKKcwwftfisc, RRKKcwwftfite, RRKKcwwftfivc, RRKKcwwftfiwc, RRKKcwwftfiyc.

Пептид по любому из предшествующих пунктов, где указанный пептид выбран из ctkrsfanc, ctkrsfenc, ctkrsfdnc, ctkrsfenc, ctkrsffnc, ctkrsfGnc, ctkrsfhnc, ctkrsfinc, ctkrsfknc, ctkrsflnc, ctkrsfmnc, ctkrsfnnc, ctkrsfpnc, ctkrsfqnc, ctkrsfrnc, ctkrsfsnc, ctkrsftnc, ctkrsfvnc, ctkrsfwnc и ctkrsfync.

5 Пептид по любому из предшествующих пунктов, где указанный пептид выбран из rkkctasrfinc, rkkctcsrfinc, rkkctdsrfinc, rkkctesrfinc, rkkctfsrfinc, rkkctGsrfinс, rkkcthsrfinc, rkkctisrfinc, rkkctksrfinc, rkkctlsrfinc, rkkctmsrfinc, rkkctnsrfinc, rkkctpsrfinc, rkkctqsrfinс, rkkctrsrfinc, rkkctssrfinc, rkkcttsrfinc, rkkctvsrfinc, rkkctwsrfinc и rkkctysrfinc.

10 Пептид по любому из предшествующих пунктов, где указанный пептид выбран из RRKKcwwftaiac, RRKKcwwftciac, RRKKcwwftdiac, RRKKcwwfteiac, RRKKcwwftGiac, RRKKcwwfthiac, RRKKcwwftiiac, RRKKcwwftkiac, RRKKcwwftliac, RRKKcwwftmiac, RRKKcwwftniac, RRKKcwwftpiac, RRKKcwwftqiac, RRKKcwwftriac, RRKKcwwftsiac, RRKKcwwftviac, RRKKcwwftwiac и RRKKcwwftyiac.

Пептид по любому из предшествующих пунктов, где указанный пептид содержит twfrfin, twfffin, twftfin, wwftfin и wwftfia.

Пептид по любому из предшествующих пунктов, где указанный пептид содержит ctwfrfinc, ctwfffinc, ctwftfinc, cwwftfinc и cwwftfiac.

20 Пептид по любому из предшествующих пунктов, где указанный пептид выбран из RRKKctwfrfinc, RRKKctwfffinc, RRKKctwftfinc, RRKKcwwftfinc и RRKKcwwftfiac.

Пептид по любому из предшествующих пунктов для применения для получения лекарственного средства.

25 Пептид по любому из предшествующих пунктов для применения в качестве лекарственного средства.

Фармацевтическая композиция, содержащая пептид по любому из предшествующих пунктов.

30 Пептид по любому из предшествующих пунктов или его фармацевтическая композиция, подходящая для применения для лечения вирусной инфекции.

Применение пептида по любому из предшествующих пунктов или его фармацевтической композиции для получения лекарственного средства для лечения вирусной инфекции.

Способ лечения вирусной инфекции у хозяина-животного, включающий введение терапевтически эффективного количества пептида по любому из предшествующих пунктов или его фармацевтической композиции хозяину-животному.

5 Способ по любому из предшествующих пунктов, где указанный пептид или фармацевтическую композицию вводят назальным, внутрилегочным, внутрибронхиальным, пероральным или парентеральным путем.

Способ по любому из предшествующих пунктов, где указанный пептид или фармацевтическую композицию вводят профилактически.

10 Способ выявления пептида, обладающего противовирусной активностью, включающий получение производного пептида по любому из предшествующих пунктов и скрининг на противовирусную активность.

Набор, содержащий пептид по любому из предшествующих пунктов или его фармацевтическую композицию и инструкции по применению пептида или фармацевтической композиции для лечения вирусной инфекции.

15

Вектор, содержащий нуклеиновую кислоту, кодирующую пептид по любому из предшествующих пунктов.

Плаزمид, содержащая нуклеиновую кислоту, кодирующую пептид по любому из предшествующих пунктов.

20 Клетка-хозяин, экспрессирующая пептид по любому из предшествующих пунктов.

Комбинация, содержащая пептид по любому из предшествующих пунктов и второй агент, выбранный из нуклеиновой кислоты, пептида, белка, контрастного вещества, антитела, токсина и малой молекулы.

25 Рекомбинантная библиотека, содержащая пептид по любому из предшествующих пунктов.

Без ограничения какой-либо теорией, в настоящем документе также предполагается, что пептиды, раскрытые в настоящем документе, содержат мотивы, обеспечивающие прохождение через мембрану, которые разрушают липидные оболочки вирусов, чтобы получить доступ к нижележащим матриксным белкам, что может играть решающую роль в их противовирусной активности. Следовательно, ожидается, что пептиды согласно настоящему изобретению связывают и подавляют любые вирусы, содержащие липидную оболочку, включая, но не ограничиваясь

30

перечисленными, Togaviridae, включая вирус краснухи; Retroviridae, включая лентивирусы, такие как ВИЧ; Bunyaviridae, такие как хантавирусы и аренавирусы; Herpesviridae, такие как вирусы герпеса и цитомегаловирусы; Hepadnaviridae, такие как вирусы гепатита В; Paramyxoviridae, такие как парамиксовирусы; Flaviviridae, такие как флавивирус, вирус гепатита С, вирус клещевого энцефалита, вирус желтой лихорадки и вирус лихорадки денге; Filoviridae, такие как вирус Эбола и вирус Марбург; и Coronaviridae, такие как коронавирусы, включая вирус ТОРС и торовирусы.

Производные twtftfn включают пептиды, в которых одна или более аминокислот удалены или заменены на другую аминокислоту, как показано в таблице 1. Производные также включают пептиды, имеющие по меньшей мере 80%, 85%, 90% или 95% идентичности последовательностей. Производные предпочтительно содержат, по существу состоят или состоят из 7 аминокислот. В другом варианте реализации производное содержит пептид-«ядро» (core) из 7 аминокислот и, кроме того, содержит дополнительные аминокислоты для улучшения различных свойств, растворимости или обеспечения возможности циклизации, как описано в настоящем документе. Пептид-«ядро» является активным пептидом, то есть пептидом, который обеспечивает противовирусную активность. Производные являются функциональными, то есть они биологически активны и демонстрируют противовирусные свойства, предпочтительно в отношении более чем одного вируса.

Термин «пептид» в контексте настоящего описания относится к полимеру, который содержит аминокислотные остатки. В иллюстративных вариантах реализации пептид содержит от 2 до примерно 100 остатков или от 2 до примерно 50 остатков. В других вариантах реализации пептид содержит примерно от 7 до 20 остатков, например, от 7 до 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18 или 19 остатков. В некоторых вариантах реализации все аминокислотные остатки, составляющие пептид, представляют собой аминокислотные остатки в «D-форме», однако, следует отметить, что в различных вариантах реализации в пептид могут быть включены «L»-аминокислоты. Таким образом, в некоторых вариантах реализации пептиды согласно настоящему изобретению представляют собой смесь аминокислот в D-форме и L-форме. Например, пептид может содержать «ядро» из 7 D-аминокислот, где одна или более аминокислот могут быть в L-форме.

Пептиды также включают полимеры аминокислот, в которых один или более аминокислотных остатков представляют собой искусственный химический аналог соответствующей встречающейся в природе аминокислоты или аналог D-аминокислоты, так же как встречающиеся в природе полимеры аминокислот.

5 Помимо этого, термин применим к аминокислотам, соединенным пептидной связью или другими «модифицированными связями» (например, если пептидная связь заменена на α -сложный эфир, β -сложный эфир, тиоамид, фосфонамид, карбамат, гидроксилат и тому подобное).

10 В некоторых вариантах реализации пептиды согласно настоящему изобретению содержат активный пептид-«ядро», содержащий 7 остатков. Дополнительно указанный пептид может содержать дополнительные остатки, включая, но не ограничиваясь перечисленными, один или более остатков, которые могут позволить пептиду образовывать циклический пептид и/или один или более остатков, которые увеличивают растворимость пептида, как описано в настоящем
15 документе.

Пептиды, описанные в настоящем документе, могут являться встречающимися в природе или не встречающимися в природе. Они могут быть а) получены путем химического синтеза, б) получены путем технологии рекомбинантных ДНК, с) получены путем биохимической или ферментативной
20 фрагментации более крупных молекул, d) получены с помощью комбинации любых из перечисленных выше способов от а до d, e) получены любыми другими способами получения пептидов. В другом варианте реализации пептид не является встречающимся в природе. В другом варианте реализации пептид содержит модификацию, которая не встречается в природе. Примеры таких модификаций
25 описаны в настоящем документе.

Таблица 1: Иллюстративные семейства производных twftfin; N- и C-концы указаны для ясности.

№ серии	Группа	Последовательность ядра	Последовательность иллюстративного пептида
1	PSP IV A	twftfin	H-ctwftfinc-OH6)
2	P1-RI-CD	tkrfdn	H-ctksrfdnc-OH)

3	PSP	tksrX/xn формула I	H-ctksrX/xnc-OH
4	PSP II A	tX/xsrfin формула II	H-rrkkctX/xsrfinc-OH
5	PSP III B	twX/xrfin формула V	H-RRKKctwX/xrfinc-OH
6	PSP IV A	twfX/xfin формула VI	H-RRKKctwfX/xfinc-OH
7	PSP V A	X/xwftfin формула VII	H-RRKKcX/xwftfinc-OH
8	PSP VI A	wwftfiX/x формула VIII	H-RRKKcwwftfiX/xc-OH
9	PSP VII A	wwftX/xia формула IX	H-RRKKcwwftX/xiac-OH
10	PSP X A	X/xwftfiX/x формула X	H-RRKKcX/xwftfiX/xc-OH

В другом варианте реализации описан противовирусный пептид, содержащий, по существу состоящий или состоящий из последовательности, выбранной из tksrX/xn, tX/xsrfin, twX/xrfin, twfX/xfin, X/xwftfin, wwftfiX/x, wwftX/xia и tksrfdn. В другом варианте реализации описан противовирусный пептид, содержащий, по существу состоящий или состоящий из последовательности, выбранной из tksrX/xn, tX/xsrfin, twX/xrfin, twfX/xfin, X/xwftfin, wwftfiX/x и wwftX/xia.

В другом варианте реализации описан противовирусный пептид, содержащий, по существу состоящий или состоящий из последовательности, выбранной из twftfin, X/xwftfin, tX/xftfin, twX/xtfin, twfX/xfin, twftX/xin, twftX/xn, twftfiX/x и X/xwftfiX/x, где X/x представляет собой глицин, или любую D-аминокислоту, или любую L-аминокислоту.

В другом варианте реализации описан противовирусный пептид, содержащий, по существу состоящий или состоящий из последовательности, выбранной из twftfin, X/xwftfin, tX/xftfin, twX/xtfin, twfX/xfin, twftX/xin, twftX/xn, twftfiX/x и X/xwftfiX/x, где X/x представляет собой глицин, или любую D-аминокислоту, или любую L-аминокислоту, и где в каждой последовательности одна дополнительная аминокислота введена, удалена или заменена на другую D-аминокислоту, или на глицин, или на любую L-аминокислоту.

В другом варианте реализации описан противовирусный пептид, содержащий, по существу состоящий или состоящий из последовательности, выбранной из ctksrX/xnc, ctX/xsrfinc, ctwX/xrfinc, ctwfX/xfinc, cX/xwftfinc, cwwftfiX/xc, cwwftX/xiac и ctksrfdnc. В другом варианте реализации описан

противовирусный пептид, содержащий, по существу состоящий или состоящий из последовательности, выбранной из ctkrsfX/xnc, ctX/xsrfinc, ctwX/xrfinc, ctwfX/xfinc, cX/xwftfinc, cwwftfiX/xc и cwwftX/xiac.

В другом варианте реализации описан противовирусный пептид, содержащий, по существу состоящий или состоящий из последовательности, выбранной из RRKKctksrfX/xnc, RRKKctX/xsrfinc, RRKKctwX/xrfinc, RRKKctwfX/xfinc, RRKKcX/xwftfinc, RRKKcwwftfiX/xc, RRKKcwwftX/xiac и RRKKctksrfdnc. В другом варианте реализации описан противовирусный пептид, содержащий, по существу состоящий или состоящий из последовательности, выбранной из RRKKctksrfX/xnc, RRKKctX/xsrfinc, RRKKctwX/xrfinc, RRKKctwfX/xfinc, RRKKcX/xwftfinc, RRKKcwwftfiX/xc и RRKKcwwftX/xiac.

В другом варианте реализации описан противовирусный пептид, содержащий, по существу состоящий или состоящий из последовательности, выбранной из rkkctksrfX/xnc, rkkctX/xsrfinc, rkkctwX/xrfinc, rkkctwfX/xfinc, rkkcX/xwftfinc, rkkcwwftfiX/xc, rkkcwwftX/xiac и rkkctksrfdnc. В другом варианте реализации описан противовирусный пептид, содержащий, по существу состоящий или состоящий из последовательности, выбранной из rkkctksrfX/xnc, rkkctX/xsrfinc, rkkctwX/xrfinc, rkkctwfX/xfinc, rkkcX/xwftfinc, rkkcwwftfiX/xc и rkkcwwftX/xiac.

Следует понимать, что в любом из указанных выше вариантов реализации D-цистеин может представлять собой L-цистеин.

В последовательностях, описанных в настоящем документе, обозначение аминокислоты «X/x» представляет положение, в котором производится замена, которое может включать любую L-аминокислоту или D-аминокислоту или любой аналог аминокислоты. Буква «X/x» обозначает любую протеиногенную аминокислоту, то есть любую из 20 встречающихся в природе аминокислот. За исключением G, который является ахиральным, X обозначает аминокислоту в L-форме, а x обозначает аминокислоту в D-форме. В другом варианте реализации X/x представляет собой x, который представляет собой аминокислоту в D-форме, или X, который представляет собой аминокислоту в L-форме. В другом варианте реализации X выбран из следующих аминокислот в D-форме: a, c, d, e, f, h, i, k, l, m, n, p, q, r, s, t, v, w или y. В другом варианте реализации X выбран из следующих аминокислот в L-форме: A, C, D, E, F, H, I, K, L, M, N, P, Q, R, S, T, V, W или Y. В другом варианте реализации X представляет собой глицин.

В другом варианте реализации пептид имеет IC₅₀ менее 100 мкМ, или менее 50 мкМ, или менее 10 мкМ, или менее 5 мкМ, или менее 1 мкМ, или менее 0,1 мкМ. В другом варианте реализации пептид демонстрирует подавление по меньшей мере на 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95% или более по меньшей мере
5 одного вируса и/или по меньшей мере одного подтипа вируса, предпочтительно по меньшей мере двух вирусов и/или по меньшей мере двух подтипов вируса. Предпочтительно, подавление составляет по меньшей мере 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95% или более, или по меньшей мере 75%, 80%, 90%, 95% или более.

В другом варианте реализации пептид обладает противовирусной
10 активностью в отношении предпочтительно 2, 3, 4 или более вирусов и/или подтипов вируса при определении с применением, например, от 0,01 мкМ до 100 мкМ пептида в анализе подавления бляшкообразования на клетках MDCK. В другом варианте реализации пептид демонстрирует подавление по меньшей мере на 75%, 80%, 90% или 95% по меньшей мере двух подтипов вируса.

В другом варианте реализации пептид согласно настоящему изобретению
15 содержит одну или более меток растворимости. В одном из иллюстративных вариантов реализации метка растворимости представляет собой короткий пептид, состоящий из заряженных аминокислот, который при ковалентном присоединении к N-концу или C-концу гидрофобного пептида будет увеличивать растворимость
20 присоединенного пептида. Например, метка растворимости может содержать одну или более аминокислот, выбранных из D, E, H, K, N, Q, R, S, T, гидроксипролина и пироглутаминовой кислоты, поскольку они обладают гидрофильными свойствами. Они могут быть либо в левовращающей, либо в правовращающей форме. Добавление любой из этих аминокислот в любой комбинации или в виде повторов
25 либо к N-концу, либо к C-концу, особенно E/D/R/K, может быть применено для увеличения растворимости пептида. Растворимость также может быть увеличена путем добавления дипептида EE, трипептида SGS и/или с помощью гипергликозилирования и пегилирования или других способов повышения растворимости, известных в данной области техники.

30 Например, метка растворимости может содержать или состоять из метки растворимости RRKK (как в левовращающей форме RRKK, так и в правовращающей форме rkkk), присоединенного N- и/или C-концу пептида.

Пептид согласно настоящему изобретению может находиться в линейной или в циклической форме. В другом варианте реализации пептид согласно настоящему изобретению находится в циклической форме. Пептиды могут быть циклизованы, например, путем образования дисульфидной связи между остатками цистеина (или, в более общем случае, между двумя из по меньшей мере двух остатков цистеина, присутствующих в полипептиде (например, на концевых участках)). Следует понимать, что каждый остаток цистеина независимо представляет собой D-цистеин или L-цистеин. Например, можно добавить по меньшей мере два остатка цистеина, один или оба из которых необязательно находятся на С-конце или N-конце пептида.

10 Таким образом, противовирусные пептиды, а также их производные могут циклизоваться посредством дисульфидной связи с участием их концевых остатков цистеина. Как показано в настоящем документе, линейные варианты пептидов (то есть без какой-либо циклизации) проявляют противовирусные свойства. Также следует понимать, что в случае, если пептид содержит три или более остатков

15 цистеина, один или более остатков могут быть модифицированы для предотвращения участия этих остатков в образовании дисульфидной связи. Это может быть легко достигнуто путем защиты тиольной группы цистеина с помощью ацетамидометила с получением аналога цистеина ацетамидометилцистеина (Cys(Acm)). В контексте пептидов согласно настоящему изобретению это может

20 быть выполнено в отношении внутренних остатков цистеина. Модификация может быть выполнена во время синтеза (то есть для синтеза используют модифицированный остаток) или после синтеза.

Стратегии получения циклических полипептидов из линейных предшественников были описаны и могут быть использованы с предложенными

25 пептидами. Например, подходы включают химическое сшивание, методы химического внутримолекулярного лигирования и методы ферментативного внутримолекулярного лигирования, которые обеспечивают возможность эффективной циклизации линейных синтетических пептидов в водных средах.

В другом варианте реализации в настоящем документе описаны пептиды в

30 циклической форме и содержащие метку растворимости, например, RRKK (как в левовращающей, так и в правовращающей форме).

В другом варианте реализации пептид выбран из ctksrX/xnc, rkkctX/xsrfinc, RRKKctwX/xrfinc, RRKKctwfX/xrfinc, RRKKcX/wffinc или RRKKcwwftfiX/xc, RRKKcwwftX/xiac или ctksrfdnc.

В другом варианте реализации пептид согласно настоящему изобретению
 5 содержит общую последовательность twX/xrfin (формула V), где X/x представляет собой a, c, d, e, f, l, m, n, p, q, r, s, t, v, w или y. Пептид может содержать остаток цистеина на N- и C-конце для циклизации и/или метку растворимости. В другом варианте реализации пептид выбран из RRKKctwarfinc, RRKKctwcrfinc,
 RRKKctwdrfinc, RRKKctwcrfinc, RRKKctwfrfinc, RRKKctwGrfinc, RRKKctwhrfinc,
 10 RRKKctwirfinc, RRKKctwkrfinc, RRKKctwlrfinc, RRKKctwmrfinc, RRKKctwnrfinc, RRKKctwprfinc, RRKKctwqrfinc, RRKKctwrrfinc, RRKKctwsrfinc, RRKKctwtrfinc, RRKKctwvrfinc, RRKKctwwrfinc или RRKKctwyrfinc. Также в пределах объема настоящего изобретения находятся пептиды, представленные выше, причем метка растворимости находится в D-форме (rkk). Также в пределах объема настоящего
 15 изобретения находятся функциональные производные этих пептидов, которые не подвергались циклизации.

Таблица 2: Иллюстративные пептиды.

FPT ID	Последовательность
PSP III B1	H-RRKKctwarfinc-OH
PSP III B2	H-RRKKctwcrfinc-OH
PSP III B3	H-RRKKctwdrfinc-OH
PSP III B4	H-RRKKctwcrfinc-OH
PSP III B5	H-RRKKctwfrfinc-OH
PSP III B6	H-RRKKctwGrfinc-OH
PSP III B7	H-RRKKctwhrfinc-OH
PSP III B8	H-RRKKctwirfinc-OH
PSP III B9	H-RRKKctwkrfinc-OH
PSP III B10	H-RRKKctwlrfinc-OH
PSP III B11	H-RRKKctwmrfinc-OH
PSP III B12	H-RRKKctwnrfinc-OH
PSP III B13	H-RRKKctwprfinc-OH
PSP III B14	H-RRKKctwqrfinc-OH

PSP III B15	H-RRKKctwrrfinc-OH
PSP III B16	H-RRKKctwsrfinc-OH
PSP III B17	H-RRKKctwtrfinc-OH
PSP III B18	H-RRKKctwvrfinc-OH
PSP III B19	H-RRKKctwwrfinc-OH
PSP III B20	H-RRKKctwyrfinc-OH

В другом варианте реализации пептид согласно настоящему изобретению содержит общую последовательность twfX/xfin (формула VI), где X/x представляет собой a, c, d, e, f, G, h, i, k, l, m, n, p, q, r, s, t, v, w или y. Пептид может содержать остаток цистеина на N- и C-конце для циклизации и/или метку растворимости. В другом варианте реализации пептид выбран из RRKKctwfafinc, RRKKctwfcfinc, RRKKctwdfinc, RRKKctwfefinc, RRKKctwfffinc, RRKKctwfGfinc, RRKKctwfhfinc, RRKKctwfifinc, RRKKctwfkfinc, RRKKctwflfinc, RRKKctwfmfinc, RRKKctwfnfinc, RRKKctwfpfinc, RRKKctwfqfinc, RRKKctwfrfinc, RRKKctwfsfinc, RRKKctwftfinc, RRKKctwfvfinc, RRKKctwfwfinc и RRKKctwfyfinc. Также в пределах объема настоящего изобретения находятся пептиды, представленные выше, причем метка растворимости находится в D-форме (rrkk). Также в пределах объема настоящего изобретения находятся функциональные производные этих пептидов, которые не подвергались циклизации.

15

Таблица 3: Иллюстративные пептиды.

FPT ID	Последовательность
PSP IV A1	H-RRKKctwfafinc-OH
PSP IV A2	H-RRKKctwfcfinc-OH
PSP IV A3	H-RRKKctwdfinc-OH
PSP IV A4	H-RRKKctwfefinc-OH
PSP IV A5	H-RRKKctwfffinc-OH
PSP IV A6	H-RRKKctwfGfinc-OH
PSP IV A7	H-RRKKctwfhfinc-OH
PSP IV A8	H-RRKKctwfifinc-OH
PSP IV A9	H-RRKKctwfkfinc-OH
PSP IV A10	H-RRKKctwflfinc-OH

PSP IV A11	H-RRKKctwfmfinc-OH
PSP IV A12	H-RRKKctwfnfinc-OH
PSP IV A13	H-RRKKctwfpfinc-OH
PSP IV A14	H-RRKKctwfqfinc-OH
PSP IV A15	H-RRKKctwfrfinc-OH
PSP IV A16	H-RRKKctwfsfinc-OH
PSP IV A17-L	H-twftfin-OH
PSP IV A17-LS	H-RRKKtwftfin-OH
PSP IV A17-C	H-ctwftfinc-OH
PSP IV A17	H-RRKKctwftfinc-OH
PSP IV A18	H-RRKKctwfvfinc-OH
PSP IV A19	H-RRKKctwfwfinc-OH
PSP IV A20	H-RRKKctwfyfinc-OH

В другом варианте реализации пептид согласно настоящему изобретению содержит общую последовательность X/xwftfin (формула VII), где X/x представляет собой a, c, d, e, f, G, h, i, k, l, m, n, p, q, r, s, t, v, w или y. Пептид может содержать остаток цистеина на N- и C-конце для циклизации и/или метку растворимости. В другом варианте реализации пептид выбран из RRKKcawftfinc, RRKKccwftfinc, RRKKcdwftfinc, RRKKcewftfinc, RRKKcfwftfinc, RRKKcGwftfinc, RRKKchwftfinc, RRKKciwftfinc, RRKKckwftfinc, RRKKclwftfinc, RRKKcmwftfinc, RRKKcnwftfinc, RRKKcpwftfinc, RRKKcqwfinc, RRKKcrwftfinc, RRKKcswftfinc, RRKKctwftfinc, RRKKcvwftfinc, RRKKcwftfinc и RRKKcywftfinc. Также в пределах объема настоящего изобретения находятся пептиды, представленные выше, причем метка растворимости находится в D-форме (rrkk). Также в пределах объема настоящего изобретения находятся функциональные производные этих пептидов, которые не подвергались циклизации.

15

Таблица 4: Иллюстративные пептиды.

FPT ID	Последовательность
PSP V A1	H-RRKKcawftfinc-OH
PSP V A2	H-RRKKccwftfinc-OH
PSP V A3	H-RRKKcdwftfinc-OH

PSP V A4	H-RRKKcewftfinc-OH
PSP V A5	H-RRKKcfwftfinc-OH
PSP V A6	H-RRKKcGwftfinc-OH
PSP V A7	H-RRKKchwftfinc-OH
PSP V A8	H-RRKKciwftfinc-OH
PSP V A9	H-RRKKckwftfinc-OH
PSP V A10	H-RRKKclwftfinc-OH
PSP V A11	H-RRKKcmwftfinc-OH
PSP V A12	H-RRKKcnwftfinc-OH
PSP V A13	H-RRKKcpwftfinc-OH
PSP V A14	H-RRKKcqwtfinc-OH
PSP V A15	H-RRKKcrwtfinc-OH
PSP V A16	H-RRKKcswftfinc-OH
PSP V A17	H-RRKKctwftfinc-OH
PSP V A18	H-RRKKcvwftfinc-OH
PSP V A19-C	H-cwwftfinc-OH
PSP V A19	H-RRKKcwwftfinc-OH
PSP V A20	H-RRKKcywftfinc-OH

В другом варианте реализации пептид согласно настоящему изобретению содержит общую последовательность $wwftfiX/x$ (формула VIII), где X/x представляет собой a, c, d, e, f, G, h, i, k, l, m, p, q, r, s, t, v, w или y. Пептид может содержать остаток цистеина на N- и C-конце для циклизации и/или метку растворимости. В другом варианте реализации пептид выбран из RRKKcwwftfiac, RRKKcwwftficc, RRKKcwwftfidc, RRKKcwwftfiec, RRKKcwwftfifc, RRKKcwwftfiGc, RRKKcwwftfihc, RRKKcwwftfiic, RRKKcwwftfikc, RRKKcwwftfilc, RRKKcwwftfimc, RRKKcwwftfipc, RRKKcwwftfiqc, RRKKcwwftfir, RRKKcwwftfisc, RRKKcwwftfitc, RRKKcwwftfiyc, RRKKcwwftfiwc, RRKKcwwftfiyc. Также в пределах объема настоящего изобретения находятся пептиды, представленные выше, причем метка растворимости находится в D-форме (rrkk). Также в пределах объема настоящего изобретения находятся функциональные производные этих пептидов, которые не подвергались циклизации.

Таблица 5: Иллюстративные пептиды.

FPT ID	Последовательность
PSP VI A1	H-RRKKcwwftfiac-OH
PSP VI A2	H-RRKKcwwftficc-OH
PSP VI A3	H-RRKKcwwftfidc-OH
PSP VI A4	H-RRKKcwwftfiac-OH
PSP VI A5	H-RRKKcwwftfifc-OH
PSP VI A6	H-RRKKcwwftfiGc-OH
PSP VI A7	H-RRKKcwwftfihc-OH
PSP VI A8	H-RRKKcwwftfiic-OH
PSP VI A9	H-RRKKcwwftfike-OH
PSP VI A10	H-RRKKcwwftfilc-OH
PSP VI A11	H-RRKKcwwftfimc-OH
PSP VI A13	H-RRKKcwwftfipc-OH
PSP VI A14	H-RRKKcwwftfiqc-OH
PSP VI A15	H-RRKKcwwftfirc-OH
PSP VI A16	H-RRKKcwwftfisc-OH
PSP VI A17	H-RRKKcwwftfitc-OH
PSP VI A18	H-RRKKcwwftfivc-OH
PSP VI A19	H-RRKKcwwftfiwc-OH
PSP VI A20	H-RRKKcwwftfiyc-OH

В другом варианте реализации пептид согласно настоящему изобретению содержит общую последовательность tksrfX/xn (формула I), где X/x представляет собой a, c, d, e, f, G, h, i, k, l, m, n, p, q, r, s, t, v, w или y. Пептид может содержать остаток цистеина на N- и C-конце для циклизации и/или метку растворимости. В другом варианте реализации пептид выбран из ctkrsfanc, ctkrsfenc, ctkrsfdnc, ctkrsfenc, ctkrsffnc, ctkrsfGnc, ctkrsfhnc, ctkrsfinc, ctkrsfknc, ctkrsflnc, ctkrsfmnc, ctkrsfnnc, ctkrsfpnc, ctkrsfqnc, ctkrsfnc, ctkrsfscnc, ctkrsftnc, ctkrsfvnc, ctkrsfwnc и ctkrsfync. Также в пределах объема настоящего изобретения находятся пептиды, представленные выше, причем метка растворимости находится в L-форме (RRKK)

или D-форме (rrkk). Также в пределах объема настоящего изобретения находятся функциональные производные этих пептидов, которые не подвергались циклизации.

Таблица 6: Иллюстративные пептиды.

FPT ID	Последовательность
PSP 1	H-ctksrfanc-OH
PSP 2	H-ctksrfenc-OH
PSP 3	H-ctksrfdnc-OH
(P1-RI-CD)	
PSP 4	H-ctksrfenc-OH
PSP 5	H-ctksrffnc-OH
PSP 6	H-ctksrfGnc-OH
PSP 7	H-ctksrfhnc-OH
PSP 8	H-ctksrfinc-OH
PSP 9	H-ctksrfknc-OH
PSP 10	H-ctksrflnc-OH
PSP 11	H-ctksrfmnc-OH
PSP 12	H-ctksrfnnc-OH
PSP 13	H-ctksrfpnc-OH
PSP 14	H-ctksrfqnc-OH
PSP 15	H-ctksrfrenc-OH
PSP 16	H-ctksrfsnc-OH
PSP 17	H-ctksrftnc-OH
PSP 18	H-ctksrfvnc-OH
PSP 19	H-ctksrfwnc-OH
PSP 20	H-ctksrfync-OH

5 В другом варианте реализации пептид согласно настоящему изобретению содержит общую последовательность tX/xsrfin (формула II), где X/x представляет собой a, c, d, e, f, G, h, i, k, l, m, n, p, q, r, s, t, v, w или y. Пептид может содержать остаток цистеина на N- и C-конце для циклизации и/или метку растворимости. В другом варианте реализации пептид выбран из rrkkctasrfinc, rrkkctcsrfinc,
 10 rrkkctdsrfinc, rrkkctesrfinc, rrkkctfsrfinc, rrkkctGsrfinс, rrkkcthsrfinc, rrkkctisrfinc,

rrkkctksrfinc, rrkkctlsrfinc, rrkkctmsrfinc, rrkkctnsrfinc, rrkkctpsrfinc, rrkkctqsrfinс, rrkkctrsrfinc, rrkkctssrfinc, rrkkcttsrfinc, rrkkctvsrfinc, rrkkctwsrfinc и rrkkctysrfinc. Также в пределах объема настоящего изобретения находятся пептиды, представленные выше, причем метка растворимости находится в L-форме (RRKK).

- 5 Также в пределах объема настоящего изобретения находятся функциональные производные этих пептидов, которые не подвергались циклизации.

Таблица 7: Иллюстративные пептиды.

FPT ID	Последовательность
PSP II A1	H-rrkkctasrfinc-OH
PSP II A2	H-rrkkctcsrfinc-OH
PSP II A3	H-rrkkctdsrfinc-OH
PSP II A4	H-rrkkctesrfinc-OH
PSP II A5	H-rrkkctfsrfinc-OH
PSP II A6	H-rrkkctGsrfinс-OH
PSP II A7	H-rrkkcthsrfinc-OH
PSP II A8	H-rrkkctisrfinc-OH
PSP II A9	H-rrkkctksrfinc-OH
PSP II A10	H-rrkkctlsrfinc-OH
PSP II A11	H-rrkkctmsrfinc-OH
PSP II A12	H-rrkkctnsrfinc-OH
PSP II A13	H-rrkkctpsrfinc-OH
PSP II A14	H-rrkkctqsrfinс-OH
PSP II A15	H-rrkkctrsrfinc-OH
PSP II A16	H-rrkkctssrfinc-OH
PSP II A17	H-rrkkcttsrfinc-OH
PSP II A18	H-rrkkctvsrfinc-OH
PSP II A19	H-rrkkctwsrfinc-OH
PSP II A20	H-rrkkctysrfinc-OH
RRKK-PSP II A19	H-RRKKctwsrfinc-OH

- В другом варианте реализации пептид согласно настоящему изобретению
 10 содержит общую последовательность $wwftX/xia$ (формула IX), где X/x представляет

собой a, c, d, e, G, h, i, k, l, m, n, p, q, r, s, v, w или y. Пептид может содержать остаток цистеина на N- и C-конце для циклизации и/или метку растворимости. В другом варианте реализации пептид выбран из RRKKcwwftaiac, RRKKcwwftciac, RRKKcwwftdiac, RRKKcwwfteiac, RRKKcwwftGiac, RRKKcwwfthiac, 5 RRKKcwwftiiac, RRKKcwwftkiac, RRKKcwwftliac, RRKKcwwftmiac, RRKKcwwftniac, RRKKcwwftpiac, RRKKcwwftqiac, RRKKcwwftriac, RRKKcwwftsiac, RRKKcwwftviac, RRKKcwwftwiac и RRKKcwwftyiac. Также в пределах объема настоящего изобретения находятся пептиды, представленные выше, причем метка растворимости находится в D-форме (rrkk). Также в пределах 10 объема настоящего изобретения находятся функциональные производные этих пептидов, которые не подвергались циклизации.

Таблица 8: Иллюстративные пептиды.

Пептид ID	Последовательность
PSP VII A1	H-RRKKcwwftaiac-OH
PSP VII A2	H-RRKKcwwftciac-OH
PSP VII A3	H-RRKKcwwftdiac-OH
PSP VII A4	H-RRKKcwwfteiac-OH
PSP VII A5	H-RRKKcwwftGiac-OH
PSP VII A7	H-RRKKcwwfthiac-OH
PSP VII A8	H-RRKKcwwftiiac-OH
PSP VII A9	H-RRKKcwwftkiac-OH
PSP VII A10	H-RRKKcwwftliac-OH
PSP VII A11	H-RRKKcwwftmiac-OH
PSP VII A 12	H-RRKKcwwftniac-OH
PSP VII A 13	H-RRKKcwwftpiac-OH
PSP VII A 14	H-RRKKcwwftqiac-OH
PSP VII A 15	H-RRKKcwwftriac-OH
PSP VII A 16	H-RRKKcwwftsiac-OH
PSP VII A 17	H-RRKKcwwfttiac-OH
PSP VII A 18	H-RRKKcwwftviac-OH
PSP VII A 19	H-RRKKcwwftwiac-OH

В другом варианте реализации пептиды, описанные в настоящем документе, обладают противовирусной активностью в отношении по меньшей мере одного, предпочтительно более чем одного вируса, который инфицирует людей. В другом варианте реализации пептиды, описанные в настоящем документе, обладают противовирусной активностью в отношении более чем одного подтипа вируса, предпочтительно подтипов, которые инфицируют людей. Например, инфекция, вызванная различными подтипами ВИЧ, РСВ, ВПГ и ЦМВ, включая, но не ограничиваясь перечисленными, РСВ А2, ВПГ-2, ЦМВ AD 169, ВИЧ-1 92UG029 и тому подобное, может подлежать лечению с применением пептидов, описанных в настоящем документе. В другом варианте реализации вирус не является вирусом гриппа или ортомиксовирусом.

Предложенные пептиды и их биологически активные варианты могут быть модифицированы различными способами. Например, к аминоконцу, карбоксиконцу или и тому, и другому могут быть добавлены агенты, включая дополнительные аминокислотные остатки, другие заместители и защитные группы. Например, как описано выше, пептиды могут быть модифицированы таким образом, что они будут содержать остатки цистеина или другие серосодержащие остатки или агенты, которые могут участвовать в образовании дисульфидной связи.

Пептиды согласно настоящему изобретению также могут содержать одну или более модифицированных аминокислот в любом положении (положениях) и/или на N-конце и/или C-конце для повышения растворимости, стабильности, реакционной способности или улучшения других свойств. Эти модификации включают добавление химических групп, таких как, но не ограничиваясь перечисленными, ацетил, карбобензоильная, дансильная, *m*-бутилоксикарбонильная группа, 9-флуоренилметилоксикарбонильная группа или гидрофильные группы, к аминному концу, и/или *m*-бутилоксикарбонильная группа, или амидогруппа, или *пара*-нитробензильная сложноэфирная группа, или гидрофильная группа, к карбоксильному концу. Они также могут содержать модифицированные амидные связи, такие как N-метилирование.

В другом варианте реализации любой из пептидов, описанных в настоящем документе, содержит один или более заместителей. Например, пептид может

содержать заместитель на аминном конце, карбоксильном конце и/или в боковой цепи реакционноспособного аминокислотного остатка. Заместитель может представлять собой ацильную группу или замещенную или незамещенную аминогруппу (например, заместитель на N-конце может представлять собой ацильную группу, а C-конец может быть амидирован замещенной или незамещенной аминогруппой (например, аминогруппой, имеющей один, два или три заместителя, которые могут быть одинаковыми или различными)). Аминогруппа может представлять собой низшую алкильную (например, алкил, имеющий 1-4 атомов углерода), алкенильную, алкинильную или галогеналкильную группу.

Ацильная группа может представлять собой низшую ацильную группу (например, ацильная группа, содержащая до четырех атомов углерода), в частности, ацетильную группу. Заместитель может представлять собой небелковый полимер, например, полимер простого эфира, полиэтиленгликоль (ПЭГ), полипропиленгликоль или полиоксиалкилен, полиалкиленгликоль (например, полипропиленгликоль (ППГ), полибутиленгликоль (ПБГ) или ППГ-ПЭГ блок/неупорядоченный полимер).

Небелковые полимеры могут различаться по размеру и форме. Например, любой из небелковых полимеров, перечисленных выше (например, ПЭГ) может быть линейным, разветвленным или гребенчатым. Что касается размера, молекулярная масса может различаться. Например, ПЭГ может иметь молекулярную массу, например, примерно 300 Да, примерно 1000 Да, примерно 2000 Да, примерно 3000 Да, примерно 4000 Да, примерно 5000 Да, примерно 6000 Да, примерно 7000 Да, примерно 8000 Да, примерно 9000 Да, примерно 10000 Да, примерно 11000 Да, примерно 12000 Да, примерно 13000 Да, примерно 14000 Да, примерно 15000 Да, примерно 20000 Да, примерно 30000 Да, примерно 40000 Да или примерно 50000 Да. Например, ПЭГ может иметь любую молекулярную массу в диапазоне от 300 Да до 2000 Да, от 300 Да до 3000 Да, от 1000 Да до 2000 Да и от 1000 до 3000 Да. Небелковый полимер (например, ПЭГ) может быть связан с пептидом с помощью любого количества соединений с функциональными группами (например, карбоксилированный-мПЭГ, *n*-нитрофенил-ПЭГ, альдегид-ПЭГ, amino-ПЭГ, тиол-ПЭГ, малеимид-ПЭГ, аминокси-ПЭГ, гидразин-ПЭГ, тозил-ПЭГ, иодацетамид-ПЭГ, сукцинимидилсукцинат-ПЭГ, сукцинимидилглутарат-ПЭГ, сукцинимидилкарбоксипентил-ПЭГ, *n*-нитрофенилкарбонат-ПЭГ или этантиол-

ПЭГ). Небелковый полимер (например, ПЭГ) может быть связан с пептидом через любое количество химических групп, включая, но не ограничиваясь перечисленными, аминоконцевые аминокислоты, карбоксиконцевые аминокислоты, свободные амины и свободные сульфгидрильные группы.

5 Небелковый полимер (например, ПЭГ) может быть функционализирован (например, монофункциональный активированный линейный ПЭГ, гомобифункциональный активированный линейный ПЭГ, гетеробифункциональный активированный линейный ПЭГ, многоцепочечный активированный ПЭГ (например, 2-цепочечный, 4-цепочечный, 8-цепочечный и так далее), разветвленный
10 активированный ПЭГ и гребенчатый активированный ПЭГ).

Противовирусные пептиды согласно настоящему изобретению также могут содержать реакционноспособную метку при их концевых аминокислотах с целью обнаружения, выделения, очистки и так далее. Эти метки могут включать (но не ограничиваются перечисленными) биотин, гистидин, GST и так далее. Подходящие
15 метки известны в данной области техники.

Пептиды согласно настоящему изобретению также могут быть связаны с липидами (фосфолипидами) или полиэтиленгликолем для повышения/изменения растворимости, протеолитической стабильности или других свойств и/или активности. Таким образом, пептиды согласно настоящему изобретению включают
20 такие липопептиды.

В контексте настоящего описания противовирусные пептиды согласно настоящему изобретению могут включать миметическое или пептидомиметическое производное, которое представляет собой соединение, способное имитировать структуру «ядра» пептида. Подобным образом, следует понимать, что
25 противовирусные пептиды могут содержать одну или более аминокислотных замен, как то изостеры или биоизостеры.

В другом варианте реализации противовирусные пептиды согласно настоящему изобретению могут находиться в мультимерной форме. Мультимер может представлять собой димер, тример или тетрамер; предпочтительно димер.
30 Мономерные противовирусные пептиды, образующие мультимер, могут быть образованы одинаковыми или различными пептидами. В предпочтительных вариантах реализации пептиды, образующие мультимер, соединены ковалентно.

В другом варианте реализации противовирусные пептиды согласно настоящему изобретению могут быть представлены в различных физических формах. Физическая форма может быть кристаллической, аморфной или другой, которая хорошо известна в данной области техники.

5 Различные примеры, представленные в этой заявке на патент, демонстрируют, что FRT с замещенными аминокислотами сохраняют противовирусную активность, что показано в различных последовательностях, описанных в таблицах 1-8. Такие производные находятся в пределах объема настоящего изобретения. В другом варианте реализации аминокислоты
10 противовирусных пептидов согласно настоящему изобретению могут быть заменены путем консервативных замен. Консервативная замена относится к замене аминокислот на альтернативные аминокислоты, которые могут изменять первичную последовательность, но не функцию. Примеры консервативных аминокислотных замен включают: валин, изолейцин и лейцин; лизин и аргинин; аспарагин и
15 глутамин; серин и треонин; глицин и аланин; фенилаланин и тирозин; и аспарагиновую кислоту и глутаминовую кислоту. Аминокислота в данной группе может быть консервативно заменена на другую аминокислоту из той же группы.

В другом варианте реализации аминокислоты противовирусных пептидов согласно настоящему изобретению могут быть заменены на не встречающиеся в
20 природе или синтетические аминокислоты и их производные, включая, но не ограничиваясь перечисленными, β -аминокислоты ($\beta 3$ и $\beta 2$), гомо-аминокислоты, производные пролина и пировиноградной кислоты, производные 3-замещенного аланина, производные глицина, производные фенилаланина и тирозина, замещенные в кольце, N-метиламинокислоты и другие, хорошо известные в данной области
25 техники.

Пептиды согласно настоящему изобретению или их производные могут быть исследованы в отношении противовирусной активности с применением способов, описанных в следующих примерах.

Раскрытые пептиды и их производные могут быть синтезированы с помощью
30 любых общепринятых способов, применяемых в синтезе пептидов, таких как жидкофазный или твердофазный синтез, или любых других способов, хорошо известных в данной области техники.

Пептиды согласно настоящему изобретению проявляют противовирусную активность широкого спектра в отношении вирусов, включая различные типы и/или подтипы. Вирус может быть человеческого или животного происхождения, например, иметь происхождение от обезьяны. Предпочтительные вирусы имеют
5 человеческое происхождение или являются вирусами, инфицирующими человека.

Таким образом, в соответствии с другим аспектом настоящего изобретения, один или более пептидов согласно настоящему изобретению, описанных выше, могут быть включены в состав фармацевтической композиции. Эта композиция может содержать по меньшей мере один пептид согласно настоящему изобретению
10 совместно с одним или более фармацевтически приемлемыми носителями, включая вспомогательные вещества, такие как разбавители, носители и тому подобное, и добавки, такие как стабилизирующие агенты, консерванты, солюбилизующие агенты, буферы и тому подобное, что может быть желательно. Фармацевтически приемлемый носитель представляет собой соединение, совместно с которым пептид
15 согласно настоящему изобретению может быть введен и которое содержит один или более нетоксичных ингредиентов, которые не подавляют или не снижают эффективность активного противовирусного пептида, описанного в настоящем документе.

Фармацевтически приемлемый носитель или переносящая среда могут иметь
20 форму частиц, таким образом, композиции находятся, например, в форме таблеток или порошка. Носитель (носители) может быть жидким, при этом композиции представляют собой, например, сироп для перорального введения или жидкость для инъекций. Помимо этого, носитель (носители) может быть газообразным, чтобы обеспечить аэрозольную композицию, подходящую для применения, например, для
25 ингаляционного введения.

Такие фармацевтические носители могут представлять собой жидкости, такие как вода и масла, включая масла нефтяного, животного, растительного или синтетического происхождения, такие как арахисовое масло, соевое масло, минеральное масло, кунжутное масло и тому подобное. Носители могут
30 представлять собой солевой раствор, гуммиарабик, желатин, крахмальную пасту, тальк, кератин, коллоидный диоксид кремния, мочевины и тому подобное. Помимо этого, могут быть применены вспомогательные, стабилизирующие, загущающие, смазывающие и окрашивающие агенты. В другом варианте реализации при

введении животному пептид согласно настоящему изобретению или композиции и фармацевтически приемлемые носители являются стерильными. Вода является предпочтительным носителем в случае, когда пептиды согласно настоящему изобретению вводят внутривенно. Также в качестве жидких носителей могут быть
5 использованы солевые растворы и водные растворы декстрозы и глицерина, в частности, для инъекционных растворов. Подходящие фармацевтические носители также включают вспомогательные вещества, такие как крахмал, глюкоза, лактоза, сахароза, желатин, солод, рис, мука, мел, силикагель, стеарат натрия, глицерина моностеарат, тальк, хлорид натрия, сухое обезжиренное молоко, глицерин,
10 пропиленгликоль, вода, этанол и тому подобное. Предложенные композиции, если желательны, могут также содержать незначительные количества смачивающих или эмульгирующих агентов или pH-буферных агентов.

В другом варианте реализации конкретные неограничивающие примеры носителей и вспомогательных веществ включают, но не ограничиваются
15 перечисленными, воду, солевой раствор, декстрозу, глицерин, этанол или тому подобное или их комбинации. Вспомогательные вещества в составах могут содержать поливинилпирролидон, желатин, гидроксилцеллюлозу, арабийскую камедь, полиэтиленгликоль, маннитол, хлорид натрия или цитрат натрия.

В качестве твердой композиции для перорального введения композиция
20 может быть приготовлена в виде порошка, гранулы, прессованной таблетки, пилюли, капсулы, жевательной резинки, облатки или тому подобной формы. Такая твердая композиция, как правило, содержит один или более инертных разбавителей. Помимо этого, может присутствовать одно или более из следующего: связующие вещества, такие как карбоксиметилцеллюлоза, этилцеллюлоза,
25 микрокристаллическая целлюлоза или желатин; вспомогательные вещества, такие как крахмал, лактоза или декстрины, разрыхляющие агенты, такие как альгиновая кислота, альгинат натрия, кукурузный крахмал и тому подобное; смазывающие вещества, такие как стеарат магния; глиданты, такие как коллоидный диоксид кремния; подслащивающие агенты, такие как сахароза или сахарин;
30 ароматизирующий агент, такой как мята перечная, метилсалицилат или апельсиновый ароматизатор; и окрашивающий агент.

Формы составов для местного применения могут представлять собой любые кремы, мази, гели, лосьоны и тому подобное.

Композиция, предназначенная для перорального введения, предпочтительно находится в твердой или жидкой форме, причем полутвердые, полужидкие, суспензионные и гелевые формы включены в формы, рассматриваемые в настоящем документе, в качестве твердых или жидких форм.

5 Композиция может быть представлена в форме жидкости, например, эликсира, сиропа, раствора, эмульсии или суспензии. Жидкость может являться подходящей для перорального введения или для доставки путем инъекции. Если композиция предназначена для перорального введения, она может содержать один или более подслащивающих агентов, консервантов, красителей/окрашивающих
10 веществ и усилителей вкуса. В композицию для введения путем инъекции также может быть включено одно или более из поверхностно-активного вещества, консерванта, смачивающего агента, диспергирующего агента, суспендирующего агента, буфера, стабилизатора и изотонического агента. Вода, содержащая по меньшей мере один или более буферных компонентов, является предпочтительной
15 совместно со стабилизирующими агентами, консервантами и солюбилизующими агентами или без них. Если композиция находится в форме капсулы (например, желатиновой капсулы), она может содержать, помимо веществ указанного выше типа, жидкий носитель, такой как полиэтиленгликоль, циклодекстрин или жирное
20 масло.

20 Для большинства фармацевтических составов неактивные ингредиенты будут составлять большую часть препарата по массе или объему. Для фармацевтических составов также предполагается, что могут быть применены любые из множества составов и добавок с контролируемым высвобождением, замедленным высвобождением или постоянным высвобождением, следовательно, доза может
25 быть приготовлена таким образом, чтобы обеспечить доставку пептида согласно настоящему изобретению в течение некоторого периода времени.

 Следует понимать, что для пептидов, описанных в настоящем документе, может быть применен любой подходящий путь введения или способ доставки, включая, но не ограничиваясь перечисленными, пероральный, парентеральный,
30 депо, буккальный и тому подобное.

 В некоторых вариантах реализации пептид (пептиды) готовят с нековалентным носителем. Нековалентные носители хорошо известны специалистам в данной области техники.

В некоторых вариантах реализации пептид (пептиды) образуют комплекс с носителями, такими как липиды, или введены в липосомы, биоразлагаемые или небiorазлагаемые микрочастицы, микрокапсулы, микросферы и наночастицы. Способы получения липосом, микрочастиц, микрокапсул, микросфер и наночастиц, образующих комплекс с находящимися в них соединениями или инкапсулирующих эти соединения, хорошо известны специалистам в данной области техники.

В некоторых вариантах реализации противовирусный пептид (пептиды), описанный в настоящем документе, готовят в форме наноэмульсии. Наноэмульсии включают, но не ограничиваются перечисленными, наноэмульсии типа масло в воде (м/в) и наноэмульсии типа вода в масле (в/м). Наноэмульсии могут быть определены как эмульсии со средним диаметром капель в диапазоне от примерно 20 до примерно 1000 нм. Обычно средний размер капель составляет от примерно 20 нм или 50 нм до примерно 500 нм.

Иллюстративные наноэмульсии типа «масло-в-воде» (м/в) и/или типа «вода-в-масле» (в/м) включают, но не ограничиваются перечисленными:

1) Мицеллы из поверхностно-активных веществ — мицеллы, состоящие из низкомолекулярных поверхностно-активных веществ или детергентов (например, ДСН/ПБС/2-пропанол), которые подходят для преимущественно гидрофобных пептидов;

2) Полимерные мицеллы — мицеллы, состоящие из полимерных, сополимерных или блоксополимерных поверхностно-активных веществ (например, Pluronic L64/ПБС/2-пропанол), которые подходят для преимущественно гидрофобных пептидов;

3) Смешанные мицеллы: мицеллы, в которых содержится более одного поверхностно-активного компонента или в которых одна из жидких фаз (как правило, соединение спирта или жирной кислоты) участвует в образовании мицеллы (например, октановая кислота/ПБС/EtOH), такие мицеллы подходят для преимущественно гидрофобных пептидов;

4) Мицеллы, содержащие интегральный пептид ~ смешанные мицеллы, в которых пептид служит вспомогательным поверхностно-активным веществом, образующим неотъемлемую часть мицеллы (например, амфипатический пептид/ПБС/минеральное масло), такие мицеллы подходят для амфипатических пептидов; и

5) Эмульсии Пикеринга (твердофазные) ~ эмульсии, в которых пептиды связаны с внешней поверхностью твердой наночастицы (например, наночастицы полистирола/ПБС/отсутствие масляной фазы), такие мицеллы подходят для амфипатических пептидов.

5 В другом варианте реализации настоящее изобретение относится к пептиду или композиции согласно настоящему изобретению для применения в качестве лекарственного средства.

Введение пептидов и композиций согласно настоящему изобретению включает, без ограничения, пероральное, местное, парентеральное, подъязычное, ректальное, вагинальное, глазное, внутрилегочное (ингаляционное) и интраназальное введение. Парентеральное введение включает способы введения посредством подкожных инъекций, внутривенных, внутримышечных, интратеральных инъекций или инфузий. Предпочтительно композиции вводят парентерально, внутрилегочно или перорально. Фармацевтические композиции согласно настоящему изобретению могут быть приготовлены таким образом, чтобы обеспечить биодоступность пептида согласно настоящему изобретению при введении композиции животному, предпочтительно человеку. Композиции могут иметь форму одной или более единичных доз, где, например, таблетка может представлять собой дозу для однократного введения, а емкость, содержащая пептид согласно настоящему изобретению в форме аэрозоля, может содержать множество единичных доз.

Парентеральное введение включает, но не ограничивается перечисленным, внутрикожное, внутримышечное, внутрибрюшинное, внутривенное, подкожное, интраназальное, эпидуральное, интрацеребральное, внутрижелудочковое, интратекальное, интравагинальное или чрескожное. Предпочтительный способ введения остается на усмотрение практикующего врача и будет частично зависеть от локализации патологического состояния.

Жидкие композиции согласно настоящему изобретению, будь то растворы, суспензии или другие подобные формы, также могут содержать одно или более из следующего: стерильные разбавители, такие как вода для инъекций, солевой раствор, предпочтительно физиологический солевой раствор, раствор Рингера, изотонический хлорид натрия, жирные масла, такие как синтетические моно- или диглицериды, полиэтиленгликоли, глицерин или другие растворители;

антибактериальные агенты, такие как бензиловый спирт или метилпарабен; и агенты для регулирования тоничности, такие как хлорид натрия или декстроза. Композиция для парентерального введения может быть заключена в ампулу, одноразовый шприц или многодозовый флакон, изготовленные из стекла, пластика или другого материала. Предпочтительным адъювантом является физиологический солевой раствор.

Пептиды или композиции вводят в терапевтически эффективном количестве. Термины «терапевтически эффективное количество» или «фармацевтически эффективное количество» относятся к количеству, и/или дозе, и/или схеме введения одного или более соединений, необходимым для достижения близкого к желаемому результату, например, к количеству, достаточному для снижения или остановки размножения вируса, или количеству, достаточному для уменьшения тяжести или задержки прогрессирования симптомов вирусного заболевания (например, терапевтически эффективные количества), количеству, достаточному для снижения риска, или отсрочки наступления, и/или уменьшения конечной тяжести заболевания, вызванного вирусной инфекцией (например, профилактически эффективные количества).

Надлежащая доза соединений будет различной в зависимости от конкретного состава, способа применения и его конкретного места, хозяина и заболевания, подлежащего лечению. Другие факторы, такие как возраст, масса тела, пол, диета, время введения, скорость выведения, состояние хозяина, комбинации лекарственных средств, аллергические реакции и тяжесть заболевания, должны быть приняты во внимание. Введение может осуществляться непрерывно или периодически в пределах максимально переносимой дозы.

Как правило, это количество составляет по меньшей мере примерно 0,01% пептида согласно настоящему изобретению от массы композиции. В случае, когда композиция предназначена для перорального введения, это количество может находиться в диапазоне от примерно 0,1% до примерно 80% от массы композиции. Предпочтительные композиции для перорального введения могут содержать от примерно 4% до примерно 50% пептида согласно настоящему изобретению от массы композиции.

Предпочтительные композиции согласно настоящему изобретению готовят таким образом, что единичная доза для парентерального введения содержит от

примерно 0,01 масс.% до примерно 2 масс.% или более пептида согласно настоящему изобретению.

Композиция для внутривенного введения может содержать дозу, составляющую, как правило, от примерно 0,1 мг/сутки до примерно 250 мг/сутки, предпочтительно от примерно 0,1 мг/сутки до примерно 50 мг/сутки.

Пептид может быть введен с терапевтической или профилактической целью. Подходящее лечение назначают 1-4 раза в сутки и предпочтительно продолжают в течение 1-7 дней или более. Термины «лечение», «осуществление лечения» или «лечить» в контексте настоящего описания относятся к действиям, которые оказывают желаемое влияние на симптомы или патологию, связанную с заболеванием или состоянием, в частности, те, которые могут быть осуществлены с применением пептидов, описанных в настоящем документе, и могут включать, но не ограничиваются перечисленными, даже минимальные изменения или улучшения одного или более поддающихся измерению признаков заболевания или состояния, подлежащего лечению. Лечение также относится к задержке наступления, замедлению или обращению прогрессирования, снижению тяжести, или облегчению или предотвращению либо заболевания или состояния, к которому применяют указанный термин, либо одного или более симптомов такого заболевания или состояния. Термины «лечение», «осуществление лечения» или «лечить» не обязательно указывают на полное устранение или излечение заболевания или состояния или связанных с ним симптомов. В другом варианте реализации лечение включает улучшение течения одного симптома заболевания, подлежащего лечению. Улучшение может быть частичным или полным. Субъект, получающий это лечение, представляет собой любого нуждающегося в этом субъекта. Иллюстративные признаки клинического улучшения будут очевидны для специалистов в данной области техники.

Пептиды или композиции согласно настоящему изобретению могут быть введены любым удобным способом, например, путем инфузии или болюсной инъекции, путем всасывания через эпителиальные или слизистые оболочки.

Также может быть применено внутрилегочное введение, например, с использованием ингалятора или небулайзера и состава, содержащего аэрозольный агент, или путем перфузии во фтороуглероде или синтетическом легочном сурфактанте. В некоторых вариантах реализации пептид согласно настоящему

изобретению или композиции может быть приготовлен в виде суппозитория с традиционными связующими веществами и носителями, такими как триглицериды.

Как объяснено выше, в зависимости от пути введения противовирусные пептиды согласно настоящему изобретению могут быть приготовлены любым способом, известным в данной области техники, включая, но не ограничиваясь перечисленными, таблетки, капсулы, капсуловидные таблетки, суспензии, порошки, лиофилизированные препараты, суппозитории, глазные капли, кожные пластыри, растворимые в полости рта составы, спреи, аэрозоли и тому подобное, и могут быть смешаны и приготовлены совместно с буферами, связующими веществами, вспомогательными веществами, стабилизаторами, антиоксидантами и другими агентами, известными в данной области техники.

Введение также может быть осуществлено совместно с другим активным соединением, например, другим противовирусным соединением. Также можно вводить более одного пептида согласно настоящему изобретению.

Пептиды, описанные в настоящем документе, также могут быть представлены в виде фармацевтически приемлемых солей. Термин «фармацевтически приемлемая соль» включает соль, образованную неорганическим основанием (например, щелочными металлами, такими как натрий или калий; щелочноземельными металлами, такими как кальций и магний или алюминий; и аммиаком), органическим основанием (например, триметиламино, триэтиламино, пиридином, пиколином, этаноламино, диэтаноламином и триэтаноламином), неорганической кислотой (например, соляной кислотой, бороводородной кислотой, азотной кислотой, серной кислотой и фосфорной кислотой) или органической кислотой (например, муравьиной кислотой, уксусной кислотой, трифторуксусной кислотой, фумаровой кислотой, щавелевой кислотой, винной кислотой, малеиновой кислотой, лимонной кислотой, янтарной кислотой, яблочной кислотой, метансульфоновой кислотой, бензолсульфоновой кислотой и *n*-толуолсульфоновой кислотой). Приведенные в настоящем документе примеры являются неограничивающими.

Настоящее изобретение также относится к набору, содержащему пептид или композицию согласно настоящему изобретению, а также инструкции по применению и необязательно адъюванты.

Настоящее изобретение также относится к способу скрининга для выявления пептида, обладающего противовирусной активностью, включающему получение производного выделенного противовирусного пептида, описанного в настоящем документе, подвергание пептида воздействию вируса и скрининг на
5 противовирусную активность.

Настоящее изобретение также относится к выделенной молекуле нуклеиновой кислоты, включая молекулу ДНК или РНК, кодирующей противовирусный пептид согласно настоящему изобретению. В другом варианте реализации выделенная нуклеиновая кислота не встречается в природе.

10 Настоящее изобретение также относится к вектору, содержащему нуклеиновую кислоту, кодирующую противовирусный пептид согласно настоящему изобретению. Вектор может представлять собой экспрессионный вектор, в частности, для экспрессии в эукариотических клетках. Такими векторами могут являться, например, вирусные, плазмидные, космидные векторы или векторы на
15 основе искусственной хромосомы (например, искусственной хромосомы дрожжей).

Векторы, описанные в настоящем документе, могут быть введены в клетки или ткани любым из множества способов, известных в данной области техники. Такие способы описаны, например, в источнике Sambrook et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor, 4th edition (June 15, 2012).

20 Настоящее изобретение также относится к клетке-хозяину, содержащей противовирусный пептид согласно настоящему изобретению.

Клетка-хозяин может представлять собой любую прокариотическую или эукариотическую клетку, хотя эукариотические клетки являются предпочтительными. Иллюстративные эукариотические клетки включают клетки
25 млекопитающих (такие как клетки яичника китайского хомяка (CHO) или клетки COS). Другие подходящие клетки-хозяева известны в данной области техники.

Таким образом, в настоящем изобретении, клетки могут быть трансфицированы *in vitro* или *ex vivo*, и экспрессируемый пептид может быть
30 выделен из них с помощью способов, известных в данной области техники. Клетки также могут быть введены субъекту или, в качестве альтернативы, клетки могут быть непосредственно модифицированы *in vivo*.

Настоящее изобретение также относится к комбинации, содержащей противовирусный пептид согласно настоящему изобретению и выбранный второй агент, например, выбранный из нуклеиновой кислоты, пептида, белка, контрастного вещества, антитела, токсина и малой молекулы.

5 Настоящее изобретение также относится к рекомбинантной библиотеке, например, фаговой библиотеке, содержащей пептид согласно настоящему изобретению.

Несмотря на то, что приведенное выше раскрытие обеспечивает общее описание того, что охватывается объемом настоящего изобретения, включая
10 способы, равно как и лучший способ, получения и применения этого изобретения, следующие примеры предложены, чтобы обеспечить специалистам в данной области техники дополнительную возможность практического осуществления этого изобретения и предоставить его полное письменное описание. Однако специалистам в данной области техники будет очевидно, что особенности этих примеров не
15 следует рассматривать как ограничивающие настоящее изобретение, объем которого следует понимать из формулы изобретения и ее эквивалентов, прилагаемых к настоящему раскрытию. Различные дополнительные аспекты и варианты реализации настоящего изобретения будут очевидны специалистам в данной области техники с учетом настоящего раскрытия. Особенности этих примеров не следует
20 рассматривать как ограничивающие.

«И/или» в контексте настоящего описания следует понимать как конкретное раскрытие каждого из двух указанных признаков или компонентов совместно с другим или без него. Например, «А и/или В» следует понимать как конкретное
25 раскрытие каждого из (i) А, (ii) В и (iii) А и В, как если бы каждый из этих вариантов был отдельно представлен в настоящем документе.

Если контекст не требует иного, описания и определения признаков, изложенные выше, не ограничиваются каким-либо конкретным аспектом или вариантом реализации настоящего изобретения и в равной степени применяются ко всем описанным аспектам и вариантам реализации.

30

ПРИМЕРЫ

Следующие неограничивающие примеры приведены для дополнительной иллюстрации настоящего изобретения.

Пример 1. Материалы и способы.

Культуру клеток и вирус: ВПГ, РСВ, ЦМВ и ВИЧ накапливали путем многократного пересева в клетках Vero, Hep-2, HFFF-2 и МКПК, соответственно, для получения рабочих стоковых растворов с высоким титром.

5 Синтез пептидов: Пептиды были синтезированы компанией Mimotopes (Австралия) или Genscript (США) с использованием твердофазного метода. Последовательности иллюстративных пептидов, применяемых в настоящем исследовании, перечислены в таблицах 1-8. Все пептиды очищали с помощью ВЭЖХ (с чистотой более > 90) и подтверждали последовательности масс-
10 спектрометрическим анализом. К N-концу всех пептидов необязательно добавляют последовательность «RRKK» (или «gkck») для увеличения растворимости. Все пептиды синтезируют с использованием правовращающих аминокислот или левовращающих аминокислот в зависимости от последовательности. Все пептиды подвергали циклизации при участии дисульфидной связи с использованием остатков
15 цистеина, присутствующих в пептиде.

Анализ цитопатического действия (ЦПД) для ВПГ, РСВ и ЦМВ: Подходящие клетки высевали в 96-луночные планшеты и инкубировали в течение ночи до достижения $\sim 70\%$ конфлюэнтности. Вирусы обрабатывали с применением различных концентраций пептида или переносящей среды в течение 90 минут при 4°
20 С и добавляли к конфлюэнтному монослою клеток для проведения остальной части анализа. В конце периода инкубирования определяли жизнеспособность клеток путем добавления реагента МТТ и инкубирования планшетов при 37°C в течение 2-4 часов при $5\% \text{CO}_2$. После инкубирования добавляли 100% изопропанол для растворения кристаллов формазана и регистрировали оптическую плотность при 540
25 нм, вычитая фоновые значения при 620 нм.

Для расчета процента защиты клеток, достигнутого при применении положительного контроля или исследуемых соединений, использовали формулу Пауэлса (Pauwels) (представлена ниже).

30 Процент защиты клеток = $([\text{ОП}_0]_{\text{вирус}} - [\text{ОПк}]_{\text{вирус}} / [\text{ОПк}]_{\text{ложн.}} - [\text{ОПк}]_{\text{вирус}}) \times 100,$

где:

[ОПо]вирус = оптическая плотность, определенная в лунке при оценке действия данной концентрации исследуемого образца или положительного контроля на инфицированные вирусом клетки.

5 [ОПк]вирус = оптическая плотность, определенная в лунке при оценке действия отрицательного контроля на инфицированные вирусом клетки.

[ОПк]ложн. = оптическая плотность, определенная в лунке при оценке действия отрицательного контроля на ложно инфицированные клетки.

10 Данные проценты использовали для определения EC_{50} , которую рассчитывали с помощью нелинейного регрессионного анализа с использованием дополнения Excel IDBS XLFit версии 5.4.0.8.

Таблица 9: Продолжительность анализа ЦПД и множественность инфекции (МОИ)

Вирус	Продолжительность анализа (дни)	МОИ
ВПГ	4	0,02
РСВ	5	0,02
ЦМВ	14	0,006
ВИЧ-1	7	0,1

15 Оценка эффективности против ВИЧ на свежеполученных МКПК человека: МКПК инфицировали различными концентрациями обработанных пептидами вирусов и инкубировали при 37°C, 5% CO₂ в течение семи дней. После этого инкубирования клетки осаждали центрифугированием и собирали супернатанты для анализа активности обратной транскриптазы (ОТ). Цитотоксическое действие соединений исследовали с добавлением к клеткам MTS после удаления супернатанта. Анализ данных для расчета IC_{50} и TC_{50} был выполнен КИО (контрактной исследовательской организацией) с помощью собственной компьютерной программы.

25 Анализ активности обратной транскриптазы: Анализ активности обратной транскриптазы (ОТ) проводили в планшете для микротитрования. Кратко, меченный тритием тимидин трифосфат (3H-ТТР, 80 Ки/ммоль, NEN (GE Healthcare) готовили в виде стокового раствора путем объединения 150 мкл поли-гА (20 мг/мл) с 0,5 мл олиго-dT (20 единиц/мл) и 5,35 мл стерильной dH₂O. Свежий буфер для реакции ОТ

готовили с использованием 125 мкл 1,0 М ЭГТК, 125 мкл dH₂O, 125 мкл 20% тритона X100, 50 мкл 1,0 М Трис (pH 7,4), 50 мкл 1,0 М ДТТ и 40 мкл 1,0 М MgCl₂. Конечную реакционную смесь получали путем смешивания 1 части 3Н-ТТР, 4 частей dH₂O, 2,5 частей стокового раствора поли-гА:олиго-dТ и 2,5 частей буфера для реакции. Добавляли десять микролитров этой реакционной смеси в планшет для микротитрования, а также добавляли 15 мкл содержащего вирус супернатанта и перемешивали. Затем планшет инкубировали при 37°C в течение 60 минут. После инкубирования объем реакционной смеси наносили на плоские фильтры DE81 (Wallac), интенсивно промывали с помощью 5% натрий-фосфатного буфера или 2X SSC (Life Technologies), затем в дистиллированной воде с последующей промывкой 70% этанолом и сушкой на воздухе. Для количественной оценки включенной радиоактивности (импульсов в минуту, имп./мин) использовали стандартные методики жидкостно-сцинтилляционных измерений.

Анализ цитотоксичности 1: В конце анализа ОТ в каждую лунку планшета добавляли 20 мкл растворимого реагента MTS на основе тетразолия (CellTiter 96 Reagent, Promega) для определения жизнеспособности клеток и количественной оценки токсичности соединения. Затем планшеты для микротитрования инкубировали при 37°C в течение 4-6 ч в увлажненной атмосфере с 5% CO₂. Промежутки времени инкубирования выбирали на основе эмпирически определенных периодов времени для оптимального восстановления красителя. Количество растворимого формазана, полученного при восстановлении MTS клетками, определяли спектрофотометрически при 490/650 нм с помощью считывающего устройства для микропланшетов.

Анализ цитотоксичности 2: Клетки MDCK или клетки A549 (~5000 клеток/лунку) выращивают в течение ночи в 96-луночных планшетах. Среду заменяют серийными разведениями пептидов и повторно инкубируют в течение 24/48 ч. Культуральную среду удаляют и добавляют 20 мкл раствора CellTiter 96[®] Aqueous One Solution [3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-3,5-дифенилтетразолия бромид] (Promega, WI, США) и инкубируют при 37°C в течение 2 ч. Оптическую плотность определяют при 490 нм в считывающем устройстве для микропланшетов (iMARK, BioRad, США).

Аланиновое сканирование: Очищенные вирусы количественно определяют с помощью анализа Брэдфорда (Bradford assay, Thermo Scientific, США). На

поверхность лунок 96-луночного микропланшета для ELISA (Eppendorf, США) наносят 15 мкг/лунку очищенного вируса в течение ночи при 4°C. Покрытые лунки дважды промывают с помощью 1xФСБТ (фосфатно-буферный солевой раствор с Tween-20) и блокируют 5 мг/мл БСА в 1xФСБ при комнатной температуре в течение 5 1 ч. Покрытые лунки инкубируют со 150 мкМ конъюгированных с биотином пептидов в 1% БСА (бычий сывороточный альбумин)/1xФСБТ в течение 2 ч при комнатной температуре. После трех промывок с использованием 1xФСБТ конъюгированные с биотином пептиды выявляют с помощью первичных антител кролика к биотину (Cell Signaling 1:250, MA) и конъюгированных с ПХ вторичных 10 антител к иммуноглобулинам кролика (Abcam 1:5000, MA). Оптическую плотность считывают на считывающем устройстве для микропланшетов Biorad iMark при 415 нм.

Анализ гемагглютинации: Гемагглютинацию эритроцитов цыпленка (cRBCs) выполняют в 96-луночных планшетах для микротитрования с V-образным дном в 15 соответствии с источником Jones *et al.*, Journal of Virology, 80 (24):11960-11967 (2006).

Анализ Брэдфорда: Количественную оценку белка осуществляют с помощью набора Coomassie (Bradford) Protein assay kit (Thermo scientific, США) в соответствии с инструкциями производителя.

20 Расчет IC₅₀: Все эксперименты проводят в трех повторностях, и данные представляют собой результаты по меньшей мере трех независимых определений. Значения IC₅₀ рассчитывают на основе кривых зависимости ответа от дозы, которые анализируют с использованием программного обеспечения Graphpad Prism™ или 25 дополнения Excel IDBS XLFit версии 5.4.0.8.

Анализ гемолитической активности: свежеполученные эритроциты человека три раза промывают буфером ФСБ (pH 7,4) посредством центрифугирования при 500 xg в течение 10 минут. Пептиды инкубируют с промытыми эритроцитами в планшете для микротитрования с V-образным дном в течение 1 часа. В качестве положительного контроля используют 1% тритон X-100. После инкубирования 30 планшет центрифугируют при 500 xg в течение 5 минут, и супернатанты переносят в новый 96-луночный планшет с прозрачным дном и определяют оптическую плотность при 545 нм с помощью устройства для считывания микропланшетов iMark (Biorad, США).

Пример 2. Действие противовирусных пептидов на гемагглютинирующую активность: В этом примере противовирусные пептиды исследуют в отношении их способности подавлять гемагглютинацию, вызванную вирусами, чтобы выяснить, подавляют ли указанные пептиды репликацию вируса путем присоединения к белку ГА (гемагглютинину) вирусов. Кратко, 10 мкМ пептида смешивают с 4ГАЕ/50 мкл вируса и определяют активность ГА с использованием эритроцитов цыпленка. При обработке пептидом не наблюдали подавления гемагглютинирующей активности.

Пример 3. Цитотоксическое действие FPT на гепатоциты человека: Цитотоксическое действие противовирусных пептидов на клетки печени человека НераRG™, клетки с подтвержденным фенотипом дифференцированных гепатоцитов в условиях культуры клеток, исследовано компанией AvantiCell Science Ltd, UK Кратко, цитотоксичность исследуемых веществ определяют по высвобождению содержимого клетки (цитозоля), в частности, цитозольных дегидрогеназ, в течение 24-часового заражения. Высвобождение содержимого клеток в культуральную среду определяют с помощью чувствительного анализа на основе флуоресценции. Эффективность анализа контролировали с помощью отрицательных контролей (растворителей исследуемых веществ) и положительных контролей в виде известных цитотоксических агентов. В конце периода заражения данные анализа получают с помощью стандартной методологии, и результаты рассчитывают в виде процента лизиса клеток (% лизиса) путем сравнения значений, полученных в опыте, со значениями, полученными для полностью лизированного обработанного поверхностно-активным веществом контроля (100% лизиса).

Пример 4. Цитотоксическое действие противовирусных пептидов на клетки MDCK или клетки A549: Цитотоксическое действие противовирусных пептидов представлено на фигуре 12 и фигуре 13 и оценивается согласно объяснению в примере 1. Кратко, клетки MDCK/клетки A549 обрабатывают либо 0 мкМ пептида (ложно обработанные), либо возрастающими концентрациями (то есть 0,1 мкМ, 0,3 мкМ, 1 мкМ, 3 мкМ, 10 мкМ, 30 мкМ и 100 мкМ) PSP V A19 и PSP VI A1, и через 48 часов после заражения определяют гибель клеток путем анализа цитотоксичности с помощью набора для анализа пролиферации клеток CellTiter 96® AQueous One Solution (Promega, США) в соответствии с инструкциями производителя. Полученные данные нормируют на ложно обработанные клетки. Как показано в результатах, PSP V A19 и PSP VI A1 не показали значимой токсичности в

отношении клеток MDCK/клеток A549 и имеют значение CE_{50} (cytotoxic effect 50) более 30 мкМ.

Пример 5. Гемолитическая активность FPT: Гемолитическое действие противовирусных пептидов представлено на фигуре 14 и оценивалось согласно объяснению в примере 1. Кратко, различные концентрации пептидов инкубируют с эритроцитами человека и определяют гемолиз через один час после инкубирования по оптической плотности высвобожденного гемоглобина в супернатанте при 545 нм с помощью устройства для считывания микропланшетов Biorad iMark.

Пример 6. Для пептидов в таблице 10 указаны значения IC_{50} или EC_{50} для иллюстративных противовирусных пептидов, описанных в настоящем документе, в отношении различных вирусов, содержащих матриксный слой.

Таблица 10. Значения IC_{50} или EC_{50} (мкМ) иллюстративных пептидов, определенные *in vitro* способами, описанными в настоящем документе.

Соединение	PCB-A2 (EC_{50})	ВПГ-2 (EC_{50})	ЦМВ AD169 (EC_{50})	ВИЧ-1 92UG029 (IC_{50})
H-RRKKcwwftfiac-OH (PSP VI A1)	17,8	~30	13,8	60,8
H-RRKKctwftfinc-OH (PSP IV A17)	12,6	~30	18,9	-
H-RRKKtwftfin-OH (PSP IV A17-LS)	-	-	-	79,1
H-cwwftfinc-OH (PSP V A19-C)	-	-	-	66,5

15

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Robert A Lamb GDP, ed *Paramyxoviridae*. 5 ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2007. David M Knipe PMH, ed. *Fields Virology*; No. 1.
2. Nair H, Nokes DJ, Gessner BD, et al. Global burden of acute lower respiratory infections due to respiratory syncytial virus in young children: a systematic review and meta-analysis. *Lancet*. May 01 2010;375(9725):1545-1555.

20

3. Eric A. F. Simões JPD, Michael Boeckh, Louis Bont, James E. Crowe Jr, Paul Griffiths,, Frederick G. Hayden RLH, Rosalind L. Smyth, Keith Spencer, Steffen Thirstrup, Edward E. Walsh,, Whitley aRJ. Challenges and Opportunities in Developing Respiratory Syncytial Virus Therapeutics. *The Journal of Infectious Diseases*. 2015;211(S1):S1-20.
5
4. Edward S Mocarski J, Thomas Shenk, Robert F Pass, ed *Cytomegaloviruses*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2007. David M Knipe PMH, ed. Fields Virology; No. 2.
5. Philip E Pellet BR, ed *Herpesviridae*. 5 ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2007. David M Knipe PMH, ed. Fields Virology; No. 2.
10
6. Plosa EJ, Esbenshade JC, Fuller MP, Weitkamp JH. Cytomegalovirus infection. *Pediatr Rev*. Apr 2012;33(4):156-163; quiz 163.
7. Rawlinson WD, Boppana SB, Fowler KB, et al. Congenital cytomegalovirus infection in pregnancy and the neonate: consensus recommendations for prevention, diagnosis, and therapy. *Lancet Infect Dis*. Mar 10 2017.
15
8. Khalil A, Jones C, Ville Y. Congenital cytomegalovirus infection: management update. *Curr Opin Infect Dis*. Jun 2017;30(3):274-280.
9. Tan BH. Cytomegalovirus Treatment. *Curr Treat Options Infect Dis*. 2014;6(3):256-270.
- 20 10. Harter G, Michel D. Antiviral treatment of cytomegalovirus infection: an update. *Expert Opin Pharmacother*. Apr 2012;13(5):623-627.
11. Bernard Roizman DMK, Richard J Whitley, ed *Herpes Simplex Viruses*. 5 ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2007. David M Knipe PMH, ed. Fields Virology; No. 2.
- 25 12. Harris M. Globally, an estimated two-thirds of the population under 50 are infected with herpes simplex virus type 1. Geneva: World Health Organization; 2015.
13. Looker KJ, Magaret AS, May MT, et al. Global and Regional Estimates of Prevalent and Incident Herpes Simplex Virus Type 1 Infections in 2012. *PLoS One*. 2015;10(10):e0140765.
- 30 14. Katharine J Looker GPG, George P Schmid. An estimate of the global prevalence and incidence of herpes simplex virus type 2 infection. *Bulletin of the World Health Organization* 2008;86(10):737-816.

15. Le Cleach L, Trinquart L, Do G, et al. Oral antiviral therapy for prevention of genital herpes outbreaks in immunocompetent and nonpregnant patients. *Cochrane Database Syst Rev*. Aug 03 2014(8):CD009036.
16. Vere Hodge RA FH. Antiviral agents for herpes simplex virus. *Advances in Pharmacology*. 2013;67:1-38.
17. Goff SP, ed *Retroviridae: The Retroviruses and their replication*. 5 ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2007. David M Knipe PMH, ed. Fields Virology; No. 2.
18. Daniel R Kuritzkes BDW, ed *HIV-1 Pathogenesis, clinical manifestations and treatment*. 5 ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2007. David M Knipe PMH, ed. Fields Virology; No. 2.
19. Prokofjeva MM, Kochetkov SN, Prassolov VS. Therapy of HIV Infection: Current Approaches and Prospects. *Acta Naturae*. Oct-Dec 2016;8(4):23-32.
20. Joseph L. Kukura MPT, ed *Current Challenges and Opportunities in the Pharmaceutical Industry*: John Wiley & Sons; 2010. Ende DJa, ed. Chemical Engineering in the Pharmaceutical Industry: R&D to Manufacturing; No. 1.
21. Fry DC. Targeting protein-protein interactions for drug discovery. *Methods Mol Biol*. 2015;1278:93-106.
22. Scott DE, Bayly AR, Abell C, Skidmore J. Small molecules, big targets: drug discovery faces the protein-protein interaction challenge. *Nat Rev Drug Discov*. Aug 2016;15(8):533-550.
23. Samaranayake H, Wirth T, Schenkwein D, Raty JK, Yla-Herttuala S. Challenges in monoclonal antibody-based therapies. *Ann Med*. 2009;41(5):322-331.
24. Fosgerau K, Hoffmann T. Peptide therapeutics: current status and future directions. *Drug Discov Today*. Jan 2015;20(1):122-128.
25. Otvos L, Jr., Wade JD. Current challenges in peptide-based drug discovery. *Front Chem*. 2014;2:62.
26. Oyston PC, Fox MA, Richards SJ, Clark GC. Novel peptide therapeutics for treatment of infections. *J Med Microbiol*. Aug 2009;58(Pt 8):977-987.
- 30 27. Seo MD, Won HS, Kim JH, Mishig-Ochir T, Lee BJ. Antimicrobial peptides for therapeutic applications: a review. *Molecules*. Oct 18 2012;17(10):12276-12286.

28. Rajik M, Jahanshiri F, Omar AR, Ideris A, Hassan SS, Yusoff K. Identification and characterisation of a novel anti-viral peptide against avian influenza virus H9N2. *Virologica J.* Jun 05 2009;6:74.
29. Rajik M, Yusoff K. Peptide inhibitors against influenza virus. *Antiviral Chem Chemother.* Mar 07 2011;21(4):151-154.
- 5
30. Vlieghe P, Lisowski V, Martinez J, Khrestchatisky M. Synthetic therapeutic peptides: science and market. *Drug Discov Today.* Jan 2010;15(1-2):40-56.
31. Rajik M, Inventor; Viramatix Sdn Bhd, assignee. Broad-spectrum anti-influenza therapeutic peptides2015.
- 10 32. Rajik M, Inventor; Viramatix Sdn Bhd, assignee. Peptides and uses therefor as antiviral agents2016.

Полное содержание каждого документа и публикации, упомянутых в настоящем документе, включено в настоящее описание посредством ссылки.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Применение терапевтически эффективного количества пептида, содержащего последовательность twtftfin, или аналог, или производное twtftfin, формулы A1-A2-A3-A4-A5-A6-A7, где A1 представляет собой t или w, A2 представляет собой k или w, A3 представляет собой s или f, A4 представляет собой r или t, A5 представляет собой f, h, i, n или w, A6 представляет собой i или d, и A7 представляет собой n или a, и где любой один или любые два из A1, A2, A3, A4, A5, A6 или A7 необязательно заменены на другую D-аминокислоту или L-аминокислоту, или фармацевтической композиции любого из указанного выше в 5 10 приготовлении лекарственного средства для лечения инфекции, вызванной по меньшей мере частично вирусом, содержащим слой матричного белка, или оболочечным вирусом, у животного-хозяина, причем указанный вирус не является вирусом гриппа или ортомиксовирусом.

2. Применение по п. 1, где указанный вирус представляет собой ретровирус, лентивирус, парамиксовирус, флавивирус, вирус гепатита С, вирус клещевого энцефалита, вирус желтой лихорадки, вирус лихорадки денге, филовирус, тогавирус, буньявирус, герпесвирус, гепаднавирус, парамиксовирус или 15 коронавируса.

3. Применение по п. 1, где указанный вирус представляет собой ВИЧ, вирус Эбола, вирус Марбург, вирус краснухи, хантавирус, аренавирус, цитомегаловирус, вирус гепатита В или торовирус. 20

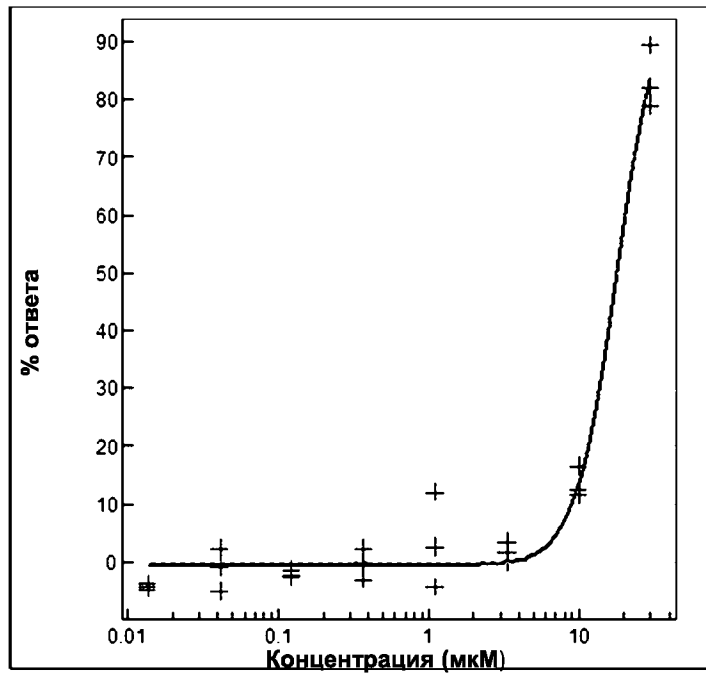
4. Применение по п. 1, где указанная инфекция представляет собой СПИД, герпес или ТОРС.

5. Применение по любому из пп. 1-4, где указанный пептид содержит последовательность twtftfin, X/xwftfin, tX/xftfin, twX/xtfin, twfX/xfin, twftX/xin, twftfX/xn, twftfiX/x или X/xwftfiX/x, где X/x представляет собой глицин, или любую D-аминокислоту, или любую L-аминокислоту, и где в каждой последовательности одна дополнительная аминокислота введена, удалена или заменена на другую D-аминокислоту, или на глицин, или на любую L-аминокислоту. 25 30

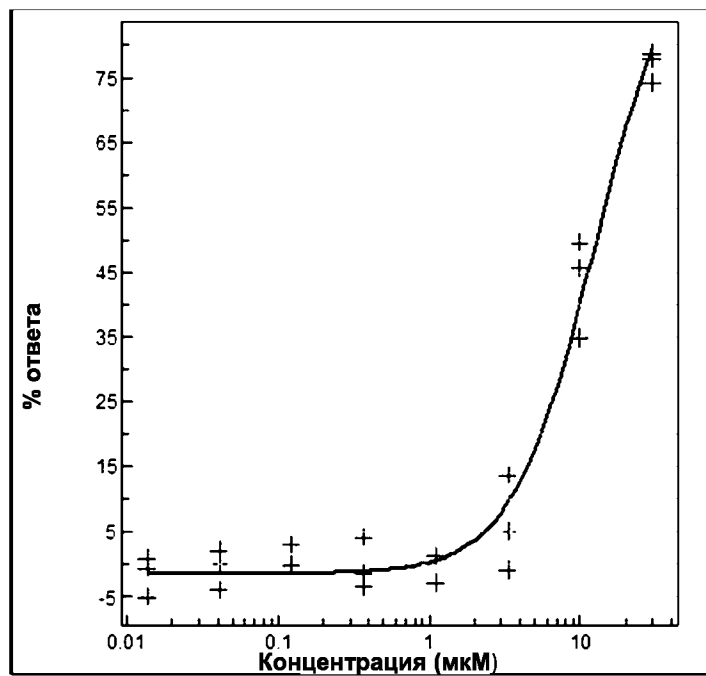
6. Применение по любому из пп. 1-4, где указанный пептид содержит последовательность X/xwftfiX/x.

7. Применение по любому из пп. 1-4, где указанный пептид содержит последовательность PSP IV A17, PSP V A19 или PSP VI A1.
8. Применение по любому из пп. 1-4, где указанный пептид дополнительно содержит N-концевой и/или C-концевой остаток цистеина.
- 5 9. Применение по любому из пп. 1-4, где указанный пептид дополнительно содержит одну или более меток растворимости, каждая из которых выбрана независимо.
10. Применение по любому из предшествующих пунктов, где указанный пептид находится в циклической форме.
- 10 11. Применение по любому из предшествующих пунктов, где указанный пептид имеет IC_{50} в отношении вируса менее 100 мкМ.
12. Применение по любому из предшествующих пунктов, где лекарственное средство является подходящим для назального, внутрилегочного, перорального или парентерального введения.
- 15 13. Применение по любому из предшествующих пунктов, где лекарственное средство предназначено для профилактического лечения.
14. Набор, содержащий терапевтически эффективное количество пептида, содержащего последовательность twftfin, или аналог, или производное twftfin, или фармацевтической композиции любого из указанного выше, и инструкции для
- 20 лечения инфекции, вызванной по меньшей мере частично вирусом, содержащим слой матричного белка, или оболочечным вирусом, у хозяина-животного, причем указанный вирус не является вирусом гриппа или ортомиксовирусом.

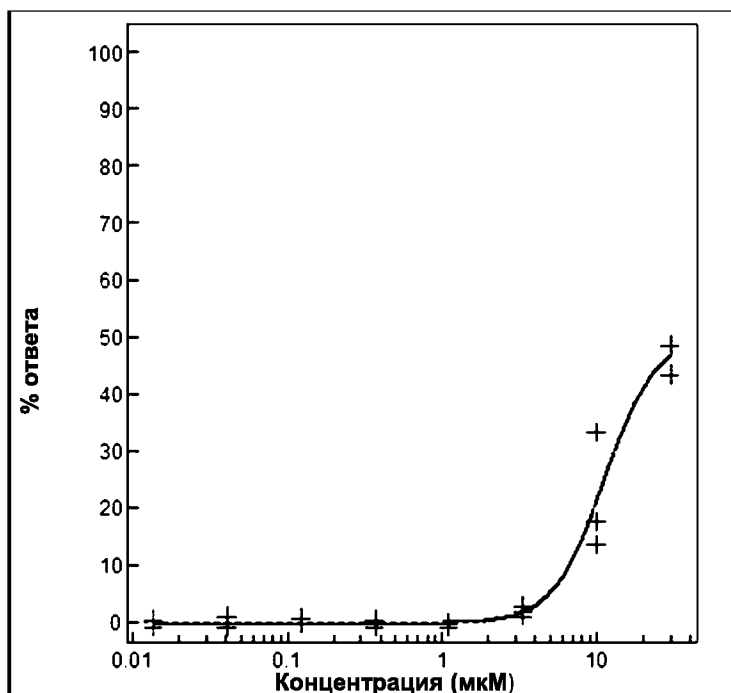
Фигура 1



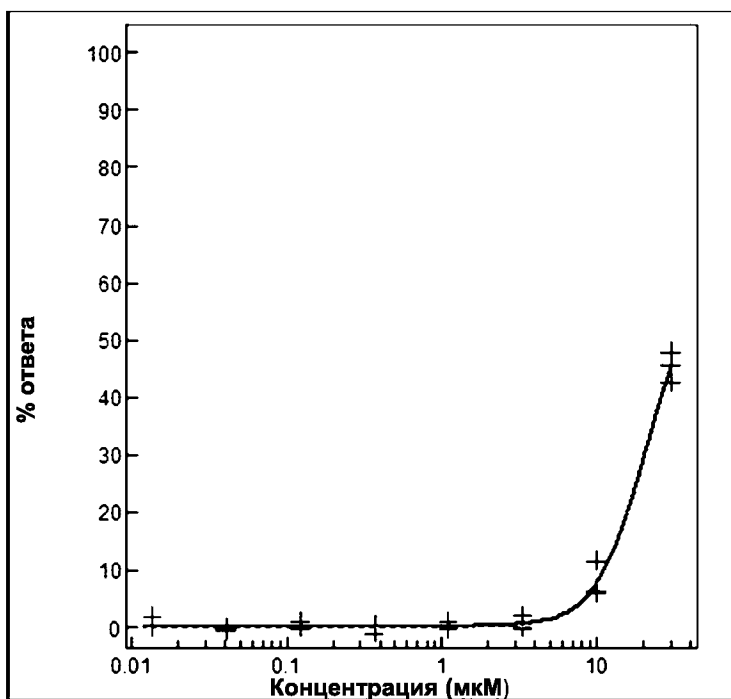
Фигура 2



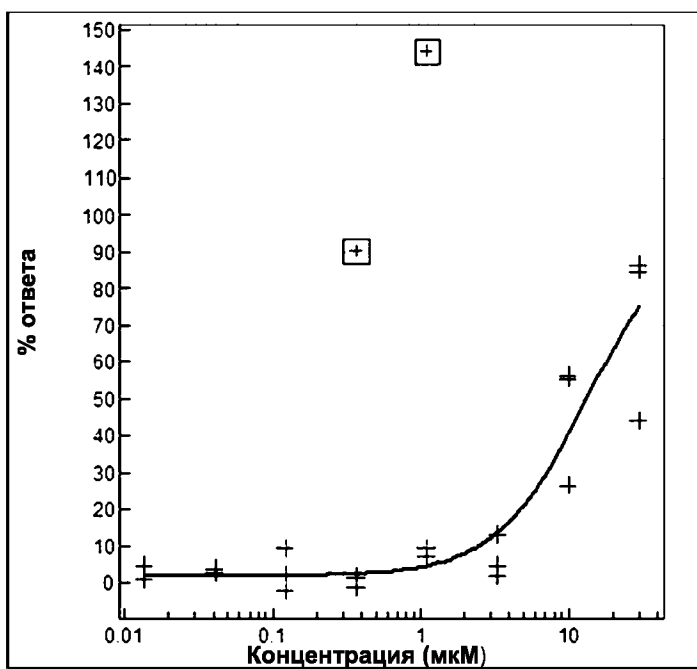
Фигура 3



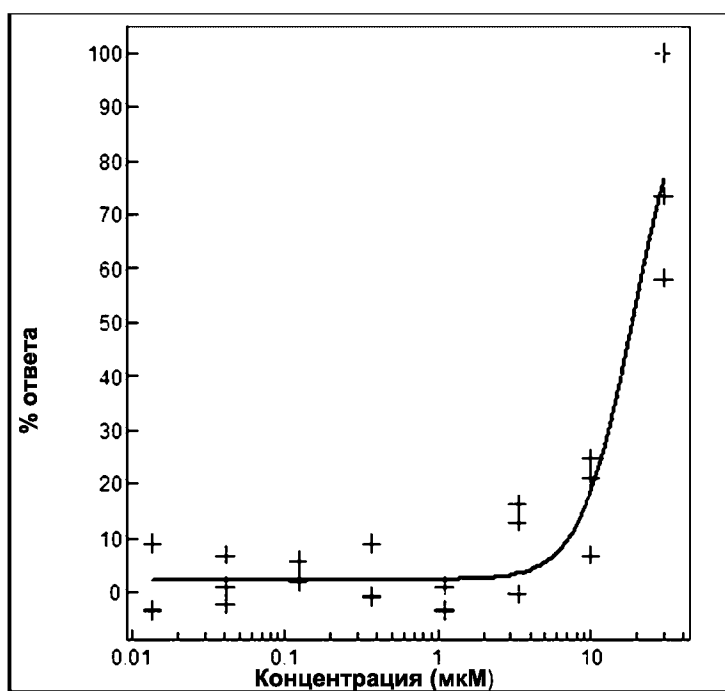
Фигура 4



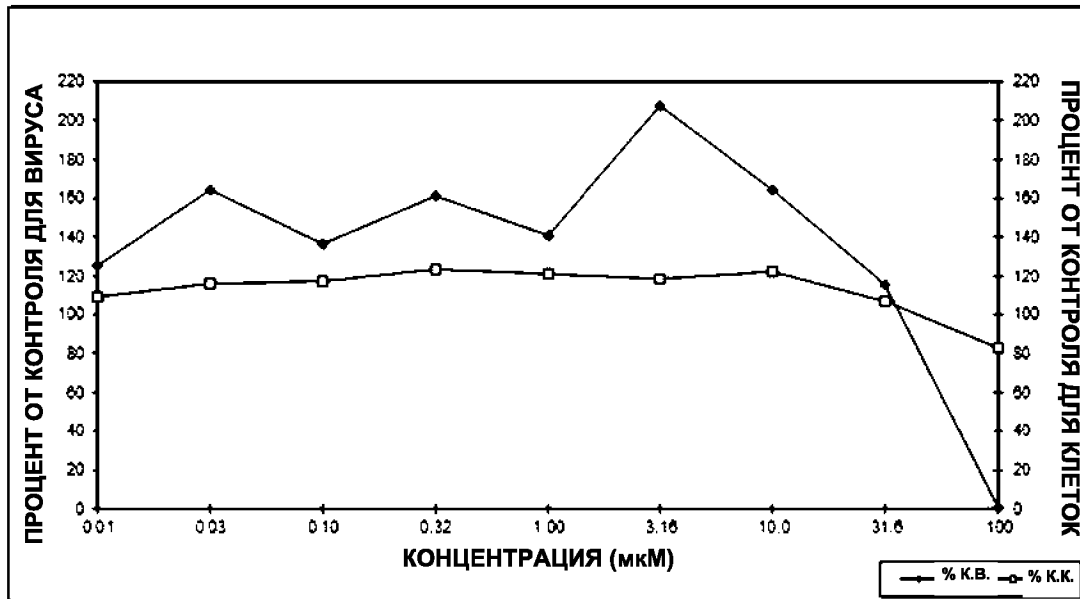
Фигура 5



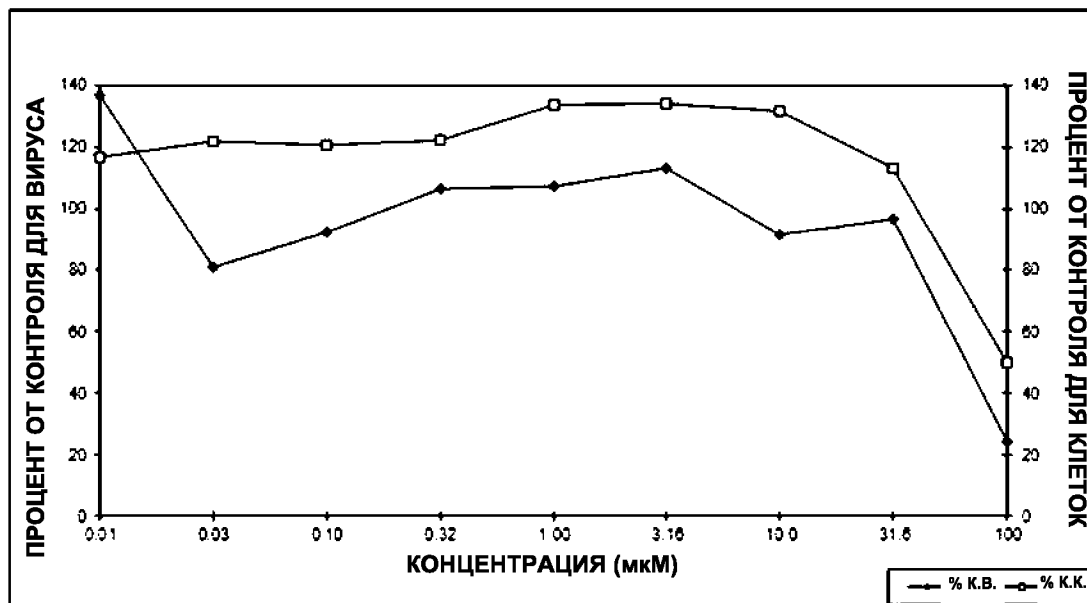
Фигура 6



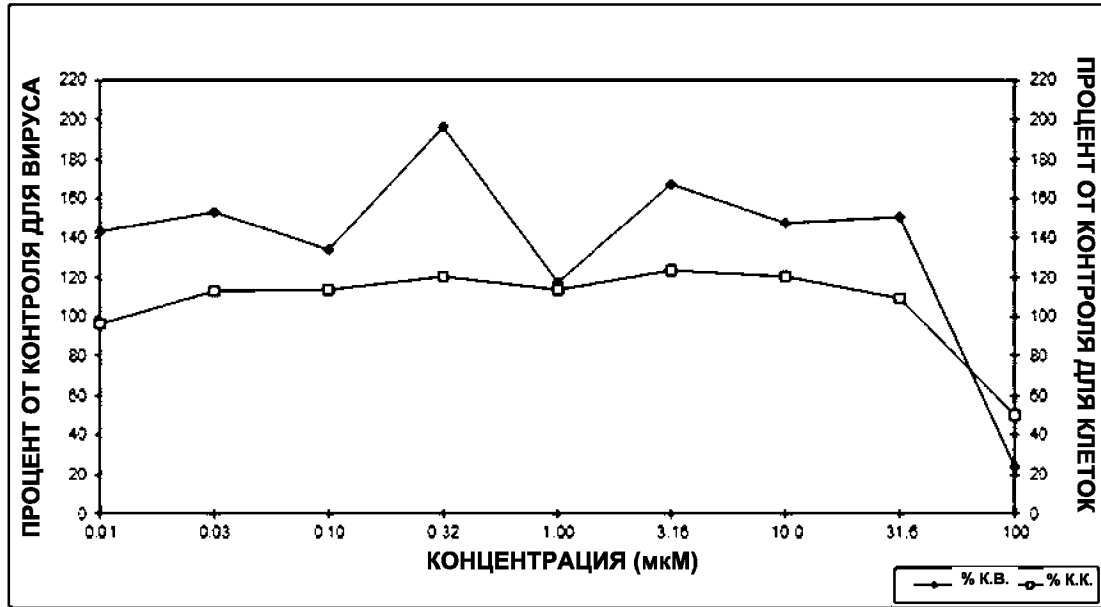
Фигура 7



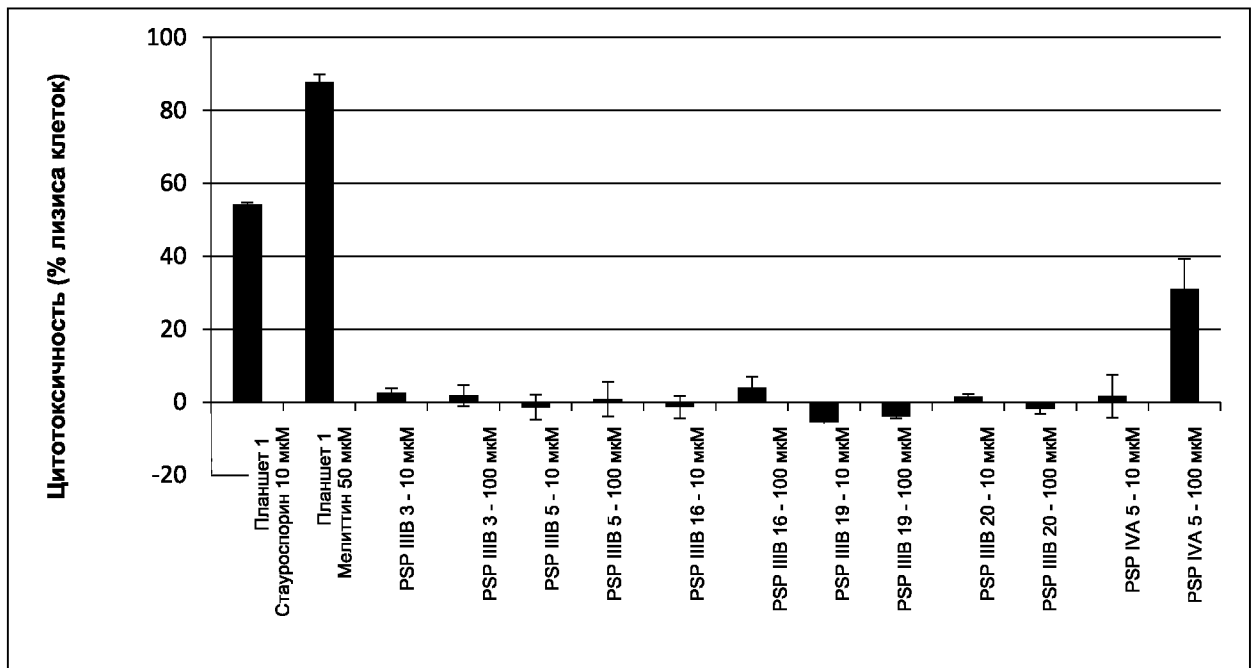
Фигура 8



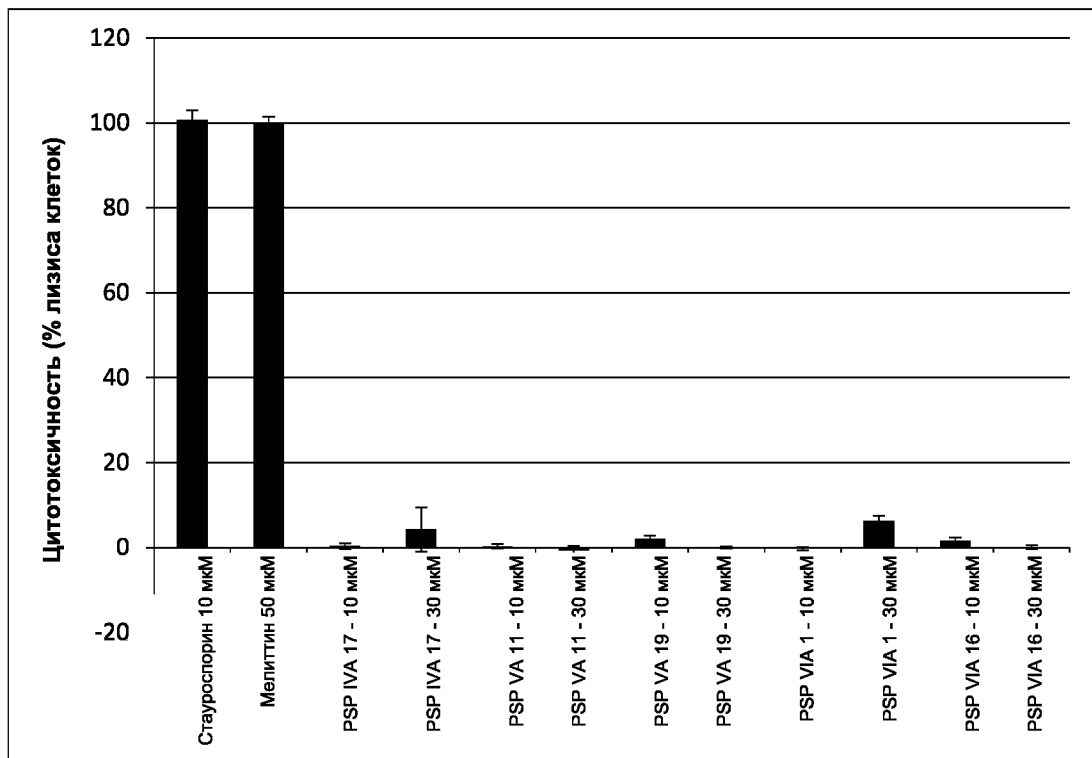
Фигура 9



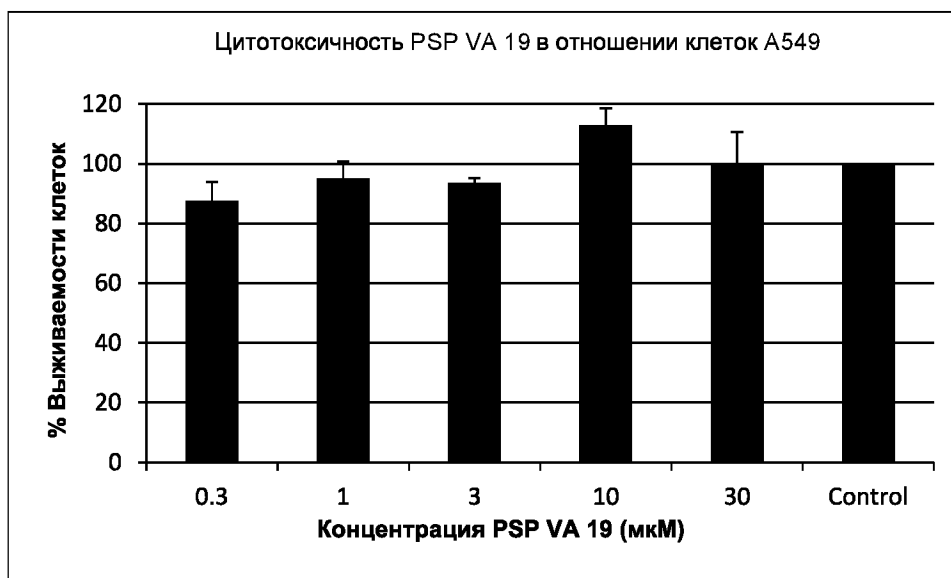
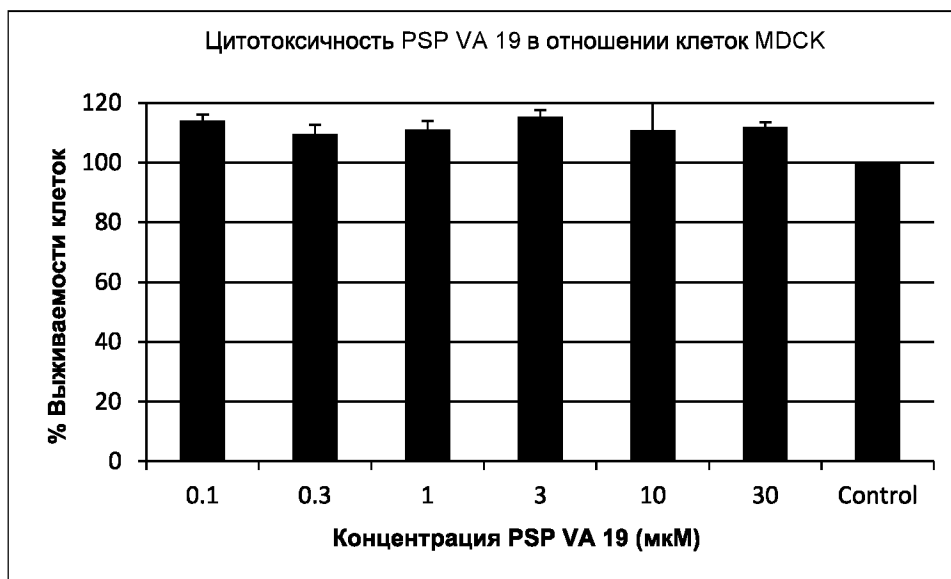
Фигура 10

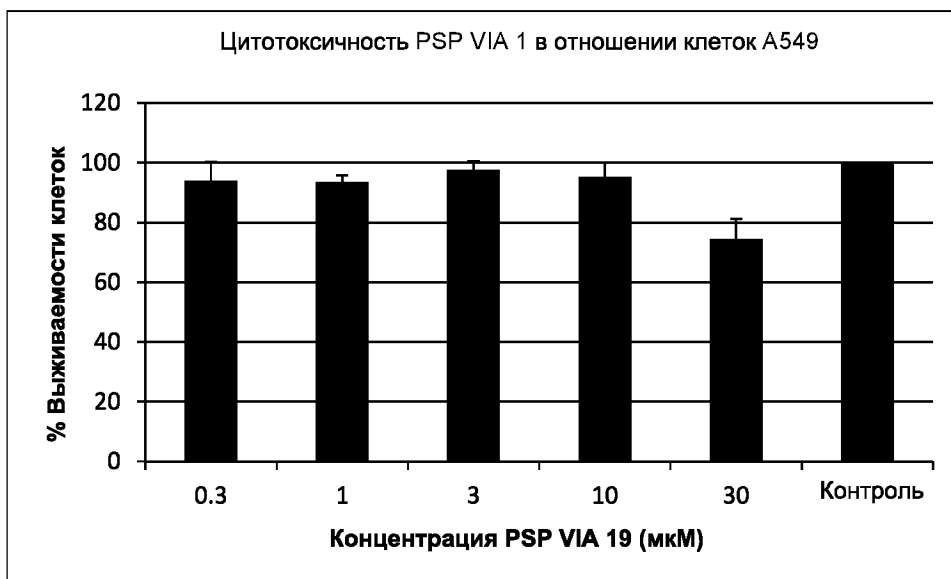
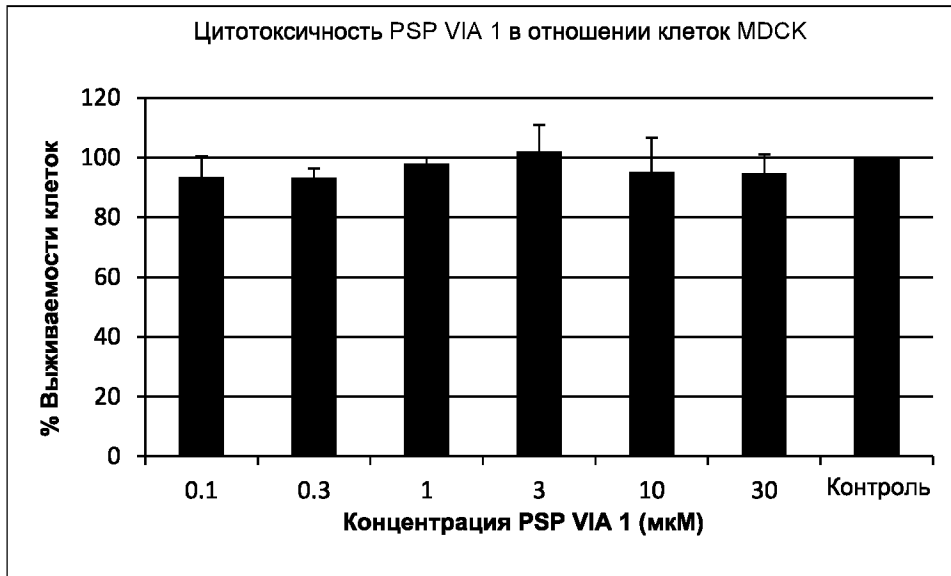


Фигура 11



Фигура 12



Фигура 13

Фигура 14

