

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(11) 040600

(13) B1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2022.06.30

(21) Номер заявки
201690732

(22) Дата подачи заявки
2014.10.10

(51) Int. Cl. A61K 38/10 (2006.01)
A61K 38/00 (2006.01)
A61K 38/12 (2006.01)

(54) АГОНИСТЫ ГУАНИЛАТЦИКЛАЗЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ
ИНДУЦИРОВАННЫХ ОПИОИДАМИ ДИСФУНКЦИЙ

(31) 61/889,308

(32) 2013.10.10

(33) US

(43) 2016.12.30

(86) PCT/US2014/060157

(87) WO 2015/054649 2015.04.16

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
БАУШ ХЕЛС АЙЭЛЭНД ЛИМИТЕД
(IE)

(72) Изобретатель:
Шайлубхай Кунвар, Паледжвала
Васим (US)

(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(56) US-A1-20120237593
US-A1-20120220526

ARSHAD et al.: The multiple and enigmatic
roles of guanylyl cyclase C in intestinal homeostasis,
FEBS Lett., 2012 Aug, vol. 586(18), p. 2835-40, entire
documentation, especially abstract; and pg. 2836, col.
1, last para

(57) Данное изобретение предоставляет способ предотвращения, контроля и/или лечения индуцированных опиоидами дисфункций, включающий введение пациенту при необходимости пептида-агониста рецептора гуанилатциклазы (GCRA). Также раскрыты композиции, содержащие пептиды-агонисты рецептора гуанилатциклазы (GCRA), способы получения и способы лечения.

040600

B1

040600

B1

Перекрестная ссылка на родственные заявки

Данная заявка испрашивает преимущество предварительной заявки США № 61/889308, поданной 10 октября 2013 г., которая включена в данную заявку посредством ссылки во всей своей полноте для всех целей.

Область техники, к которой относится изобретение

Представленное изобретение относится к терапевтическому применению агонистов гуанилатциклазы C (GC-C) для лечения индуцированных опиоидами дисфункций, таких как индуцированное опиоидами нарушение стула, индуцированное опиоидами расстройство пищевода и индуцированное опиоидами угнетение дыхания. Агонисты могут использоваться либо отдельно, либо одновременно или последовательно с дополнительными активными агентами для предотвращения, лечения или ослабления одной или более индуцированных опиоидами дисфункций.

Уровень техники изобретения

Опиоиды представляют собой эффективные и широко используемые лекарственные средства для управления болью у раковых и нераковых пациентов. Однако применение опиоидов часто имеет истощающие побочные эффекты, такие как индуцируемая опиоидами дисфункция, включая угнетение дыхания, дисфункция пищевода, эндокринное нарушение и индуцируемое опиоидами нарушение стула (OIBD), которое включает индуцируемый опиоидами запор, сухость во рту, тошноту, рвоту, гастростаз, вздутие и боль в животе.

Существует потребность в композициях и способах лечения и предотвращения побочных эффектов опиоидов.

Сущность изобретения

Представленное изобретение предоставляет способ предотвращения, лечения патологического состояния или ослабления симптома индуцированной опиоидами дисфункции посредством введения нуждающемуся в этом субъекту терапевтически эффективного количества композиции, которая содержит пептид-агонист рецептора гуанилатциклазы (GCRA). Композиция может дополнительно содержать опиоид и/или ингибитор цГМФ-зависимой фосфодиэстеразы. В одном варианте осуществления композиции содержит пептид-агонист рецептора гуанилатциклазы (GCRA) и опиоид. В дополнительном варианте осуществления лекарственная форма пептида-агониста рецептора гуанилатциклазы (GCRA) и опиоида представлена в виде одной и той же капсулы или таблетки. В дополнительном варианте осуществления опиоид выбран из группы, состоящей из морфина, кодеина, оксикодона, гидрокодона, дигидрокодеина, пропоксифена, фентанила, трамадола, лоперамида, буторфанола или их комбинаций.

Композиции представленного изобретения могут дополнительно содержать фармацевтический носитель, эксципиент или разбавитель. В одном варианте осуществления композиции содержит один или более направляющих материалов, выбранных из группы, состоящей из зависимо от pH полимера, набухающего полимера и способной к разложению композиции. В дополнительном варианте осуществления состав композиции оптимизирован для доставки в двенадцатиперстную кишку, тощую кишку, подвздошную кишку, терминальный отдел подвздошной кишки или восходящую ободочную кишку. В еще одном дополнительном варианте осуществления состав композиции оптимизирован для высвобождения по всей толстой кишке. В еще одном варианте осуществления композиции содержит один или более зависящих от pH полимеров, которые разлагаются в диапазоне pH от 4,5 до 5,5, в диапазоне pH от 5,5 до 6,5 или в диапазоне pH от 6,5 до 7,5. В еще одном дополнительном варианте осуществления композиции составлена в виде лекарственной формы таким образом, чтобы высвободиться зависящим от времени образом.

Способ, описанный в данном документе, может дополнительно включать стадию введения больному эффективной дозы ингибитора цГМФ-зависимой фосфодиэстеразы. Например, ингибитором цГМФ-зависимой фосфодиэстеразы является сульфон сулиндака, запринаст, мотапизон, варденафил или силденафил. Ингибитор цГМФ-зависимой фосфодиэстеразы может вводиться либо одновременно, либо последовательно с пептидом GCRA или его фармацевтической композицией.

Представленное изобретение также предоставляет композицию, которая содержит опиоид и пептид-GCRA. Композиция может дополнительно содержать фармацевтический носитель, эксципиент или разбавитель.

Пептид-GCRA, который может использоваться в любом способе или любой композиции изобретения, имеет аминокислотную последовательность любой одной из табл. 2-8. Например, пептидом-GCRA является SEQ ID NO: 1 (SP-304), SEQ ID NO: 9 (SP-333), SP373 (SEQ ID NO: 104), SP364 (SEQ ID NO: 100), SP366 (SEQ ID NO: 102) или SED ID NO: 250.

Краткое описание чертежей

Фиг. 1 представляет собой схему, показывающую основную структуру урогуанилина и SP-333. Изображены единичные буквенные сокращения для аминокислот. SP-333 аналогичен UG за исключением замещения аспарагиновой кислоты (D) в положении 3 от конца N UG на глутаминовую кислоту (E). Дополнительно аминокислоты на обоих концах заменены своими соответствующими D-стереоизомерами. Урогуанилин, также как SP-333, имеет четыре цистеиновых (C) остатка, обеспечивающих возможность образования двух внутримолекулярных дисульфидных связей. Замещенные аминокислоты в SP-333 по-

казаны жирным шрифтом.

Фиг. 2 представляет собой схему, показывающую механизм действия циклического СМР и циклического АМР, облегчающий индуцируемое опиоидами нарушение стула (ОВД).

Фиг. 3А, 3В представляют собой серию графиков, показывающих, что апикальная обработка SP-333 стимулировала ток короткого замыкания в монослое клеток Т-84 и в тощей кишке крыс. Зависимое от концентрации увеличение хлоридных токов (измеряемое, как увеличение тока короткого замыкания), обнаруживаемое после обработки клеток Т-84 (А) и ткани тощей кишки крыс (В) SP-333. Концентрации SP-333, которые индуцировали полумаксимальное увеличение (EC50) Cl-токов, являются сопоставимыми между клетками и тканями; $1,69 \times 10^{-7}$ и $2,99 \times 10^{-7}$ М соответственно. Значения выражены в виде средних $\pm$ стандартная ошибка среднего, n=4. Клетки Т-84 и тощую кишку интактных крыс, помещенные в камеру Уссинга, подвергали воздействию различных концентраций SP-333 в апикальной камере, а также регистрировали и строили в виде графика максимальное стимулирование тока короткого замыкания.

Фиг. 4А, 4В представляют собой серию графиков, показывающих, что апикальная обработка SP-333 стимулирует ток короткого замыкания посредством активации PKG-II и CFTR. Модуляция SP-333 (1 мкМ) стимулировала апикальный ток короткого замыкания в клетках Т-84 (А), тощей кишке крыс (В) в ответ на обработку указанными ингибиторами. Клетки Т-84 и тощую кишку крыс помещали в камеру Уссинга, погруженную на апикальной и базолатеральной стороне в соответствующие буферы, как описано в примере 1. Для оценки роли, играемой PKA и PKG-II, и для идентификации относительного вклада CFTR и CIC-2 в опосредованное агонистами высвобождение Cl-ионов, проводили эксперименты в присутствии и отсутствии киназы и ингибиторов СТ каналов. Используемыми ингибиторами были CdCl₂ (ингибитор CIC-2; Sigma-Aldrich; St Louis, MO), CFTR_{inh}172 (ингибитор CFTR; Santa Cruz Biotech; Dallas, Texas), KT5823 (ингибитор PKG; R&D Systems, Minneapolis, MN), mPKI (ингибитор PKA; EMD Millipore; Billerica, MA). Апикальная поверхность клеток Т-84 (n=4 трансвел/условие) и ткань тощей кишки крыс (n=4-6 препаратов/условие) предварительно обрабатывали в течение 5 мин каждым ингибитором в указанной концентрации перед добавлением 1 мкМ SP-333. Пиковые значения тока короткого замыкания, получаемого после добавления SP-333, регистрировали и рассчитывали в показателях процентных значений относительной активности $\pm$ стандартная ошибка средней.

Фиг. 5А, 5В представляют собой серию графиков, показывающих, что морфин не оказывал неблагоприятного воздействия на стимулированный SP-333 ток короткого замыкания. Клетки Т-84 (А) и тощую кишку крыс (В) предварительно обрабатывали в течение 5 мин 5 мкМ морфина на апикальной стороне. В дальнейшем в апикальную камеру добавляли 1 мкМ SP-333 и регистрировали стимулирование тока короткого замыкания. Ток, зарегистрированный в отсутствии опиоидов, принимали за 100%. Строили график относительного тока короткого замыкания. Значения выражены в виде средних $\pm$ стандартная ошибка среднего, n=3 для клеток Т-84 и n=5-13 для тощей кишки крыс.

Фиг. 6А, 6В представляет собой серию графиков, показывающих, что метадон не оказывал неблагоприятного воздействия на стимулированный SP-333 ток короткого замыкания. Клетки Т-84 (А) и тощую кишку крыс (В) предварительно обрабатывали в течение 5 мин 5 мкМ метадола на апикальной стороне. В дальнейшем в апикальную камеру добавляли 1 мкМ SP-333 и регистрировали стимулирование тока короткого замыкания. Ток, зарегистрированный в отсутствии опиоидов, принимали за 100%. Строили график относительного тока короткого замыкания. Значения выражены в виде средних $\pm$ стандартная ошибка среднего, n=3 для клеток Т-84 и n=5-13 для тощей кишки крыс для каждого опиоида.

Фиг. 7А, 7В представляют собой серию графиков, показывающих, что пероральная обработка SP-333 увеличивает желудочно-кишечный транзит у крыс. Левая панель показывает схему введения доз SP-333. Панель А представляет собой гистограмму, показывающую, что SP-333 увеличивает желудочно-кишечный транзит на 5,6, 13 и 23% при 0,05, 0,5 и 5 мг/кг соответственно, у животных, не использовавшихся ранее в опытах с опиоидами. Панель В представляет собой график распределения, показывающий данные каждого отдельного животного.

Фиг. 8А, 8В представляют собой серию графиков, показывающих, что пероральная обработка SP-333 улучшала желудочно-кишечный транзит после обработки морфином. Указанную дозу морфина вводили самкам крыс линии Спрег-Дули посредством интраперитонеальной инъекции и желудочно-кишечный транзит оценивали, как описано в примере 1. Морфин значительно уменьшал желудочно-кишечный транзит у крыс (А). По сравнению с контролем средой, желудочно-кишечный транзит после единичной дозы морфина замедлялся на 52, 56 и 56% при 0,25, 1,0 и 2,5 мг/кг опиоида соответственно. Способность SP-333 уменьшать индуцированную морфином задержку желудочно-кишечного транзита исследовали посредством введения 2,5 мг/кг морфина посредством интраперитонеальной инъекции, за которой следовали указанные количества SP-333 посредством перорального кормления через желудочный зонд, и оценки желудочно-кишечного транзита, как описано в примере 1. Морфин значительно уменьшал желудочно-кишечный транзит (23% против 53% при обработке средой; $p < 0,0001$) (В). Дозозависимое увеличение желудочно-кишечного транзита наблюдалось после обработки SP-333: 27, 37, 46 и 48% при 0,5, 2,5, 5 и 50 мг/кг соответственно ($P \leq 0,002$ при всех дозах за исключением 0,5 мг/кг по сравнению с группой, получающей дозами только морфин). На А и В изображен средний желудочно-кишечный тран-

зит±стандартная ошибка среднего.

Фиг. 9А, 9В представляют собой серию графиков, показывающих, что пероральная обработка SP-333 улучшала желудочно-кишечный транзит после обработки метадонном. Статистически значимое уменьшение желудочно-кишечного транзита наблюдалось у крыс, которым вводили 0,25, 2,5 и 5 мг/кг метадона (А). Задержка желудочно-кишечного транзита, наблюдаемая при 2,5 мг/кг метадона, была сопоставима с задержкой, наблюдаемой с морфином при такой же дозе (49 и 56% против соответствующего контроля средой для метадона и морфина соответственно). Введение SP-333 создавало зависимое от дозы улучшение кишечного транзита у обработанных метадонном крыс: 40, 39, 44 и 52% при 0,5, 2,5, 5 и 50 мг/кг соответственно ($P \leq 0,01$ при всех дозах). На А и В изображен средний желудочно-кишечный транзит±стандартная ошибка среднего.

Фиг. 10А, 10В представляют собой серию графиков, показывающих, что обработка один раз в день SP-333 нормализовала желудочно-кишечный транзит и восстанавливала выделение кала после обработки метадонном. Запор индуцировали у крыс посредством введения ежедневной дозы, равной 2,5, 5 и 7,5 мг/кг метадона, в течение 7 дней. Регистрировали среднее выделение кала в течение 4 ч после приема дозы во время светлого периода. Статистически значимое уменьшение каловыделения наблюдалось при всех дозах метадона. Для оценки способности SP-333 уменьшать индуцированный метадонном запор крысам вводили дозами 5 мг/кг метадона один раз в день в течение 7 дней. Дозу SP-333 вводили через 10 мин после введения дозы метадона и контролировали выделение кала, как описано выше. SP-333, вводимый обработанным метадонном животным при 2,5 мг/кг, значительно ослаблял индуцированный метадонном запор (В). На А и В изображено среднее количество фекальных комочков±стандартная ошибка среднего на группу обработки.

Фиг. 11 представляет собой график, показывающий, что пероральное ежедневное введение дозы SP-333 уменьшает задержку желудочно-кишечного транзита, вызванную повторным введением дозы метадона. Влияние повторного введения метадона на желудочно-кишечный транзит контролировали после получения крысами один раз в день дозы метадона 5 мг/кг в течение 7 дней, за которой следует 2,5 мг/кг в течение следующей недели. В день тестирования крысам вводили дозу метадона 2,5 мг/кг, за которой следовало пероральное введение через желудочный зонд 2,5 и 5 мг/кг SP-333. Желудочно-кишечный транзит рассчитывали, как описано в примере 1, и строили график в виде среднего желудочно-кишечного транзита±стандартная ошибка средней. Обработка метадонном приводила к значительному уменьшению желудочно-кишечного транзита. Однако у животных, получающих дозу SP-333, наблюдалось статистически значимое улучшение задержки желудочно-кишечного транзита.

Фиг. 12 представляет собой схему, демонстрирующую механизм опосредованного SP-333 уменьшения индуцируемой опиоидами задержки желудочно-кишечного транзита. Морфин и метадон активируют периферически экспрессируемые опиоидные рецепторы, иницируя нисходящие сигналы, приводящие к понижению уровней сАМР вследствие ингибирования аденилилциклазы, которая воздействует на высвобождение нейротрансмиттеров. Вследствие этого желудочно-кишечная перистальтика, сократительная способность и секреция текучих сред ослабляются в сочетании с увеличением поглощения текучих сред и электролитов из просвета кишечника, приводя к проявлению OIBD. За счет связывания с рецептором GC-C на клетках кишечника SP-333 способствует синтезу и аккумуляции внутриклеточной цГМФ, которая, в свою очередь, связывает и активирует PKG-II непосредственно или опосредованно посредством ингибирования фосфодиэстеразы 3. PKG-II может фосфорилировать и активировать канал CFTR, способствуя эффлюксу Cl^- ионов, с последующим пассивным эффлюксом Na^+ и воды в просвет кишечника, облегчая таким образом дефекацию. Хотя метадон может ингибировать CIC-2, опосредованная SP-333 секреция Cl^- из клеток T-84 и тканей тощей кишки крыс происходит посредством PKG-II и CFTR.

Подробное описание

Должно быть понятно, что единственные формы используются по всей данной заявке для удобства за исключением случаев, когда контекст или недвусмысленное заявление указывает иное, причем единственные формы предназначены для включения множественных. Дополнительно должно быть понятно, что каждая журнальная статья, патент, патентная заявка, публикация и т.п., которые упоминаются в данном документе, включены настоящим посредством ссылки во всей своей полноте и для всех целей. Должно быть понятно, что все числовые диапазоны включают все и каждую числовую точку внутри числового диапазона и их следует интерпретировать, как перечисление всех и каждой числовой точки отдельно. Конечные значения всех диапазонов, направленные на один и тот же компонент или свойство, являются включительными и предполагают возможность независимого комбинирования.

"Приблизительно" содержит все значения, имеющие по существу одинаковый эффект или обеспечивающие по существу одинаковый результат как стандартное значение. Таким образом, диапазон, охватываемый термином "приблизительно", будет варьировать в зависимости от контекста, в котором используется термин, например параметр, с которым связано стандартное значение. Таким образом, в зависимости от контекста "приблизительно" может означать, например, ± 15 , ± 10 , ± 5 , ± 4 , ± 3 , ± 2 , $\pm 1\%$ или $\pm$ менее чем 1%. Важно, что все перечисления стандартного значения, предшествующие термину "при-

близительно", предполагают также составление перечисления стандартного значения отдельно.

Представленное изобретение основано на разработке агонистов гуанилатциклазы-С (GC-C). Агонисты являются аналогами урогуанилина, гуанилина, лимфогуанилина и ST пептид E.coli.

Опиоиды широко используются для лечения хронической боли, но их употребление часто связано с различными побочными эффектами. Индуцируемая опиоидами дисфункция включает угнетение дыхания, эндокринное нарушение, расстройство пищевода и индуцируемое опиоидами нарушение стула. Индуцируемая опиоидами дисфункция воздействует на желудочно-кишечный тракт с тяжелым запором, часто наблюдаемым у людей, для которых стандартные слабительные средства являются не очень эффективными. Данный побочный эффект является следствием уменьшения секреции текучих сред, воздействуя на желудочно-кишечную (GI) сократительную способность и дефекацию (BM). Табл. 1 перечисляет несколько неограничивающих примеров вредных воздействий опиоидов и их клинического эффекта. Изобретение частично основано на открытии использования GC-C агонистов для лечения индуцированных опиоидами дисфункций. Аналог урогуанилина активирует передачу сигналов гуанилатциклазы-С/цГМФ (GC-C/цГМФ) с усилением секреции текучих сред в просвете кишечника для нормализации сократительной способности GI и BM и используется для лечения индуцируемого опиоидами запора (OIC). Данное лечение полностью восстанавливает задержку желудочно-кишечного транзита, вызванную морфином или метадонном.

Таблица 1

Воздействие опиоидов на желудочно-кишечный тракт

Место действия	Фармакологическое Действие	Клинический эффект
Желудок	Пониженная сократительная способность желудка	Потеря аппетита
	Пониженный тонус привратника	Тошнота и рвота
Тонкая кишка	Пониженная секреция поджелудочной железы и желчи	Задержка пищеварения
	Пониженная перистальтика	Задержка всасывания лекарственных средств
	Повышенная абсорбция текучих сред	Твердый, сухой стул
Толстая кишка	Пониженная перистальтика	Натуживание, неполное опорожнение, вздутие, вздутие живота, запор
	Повышенные непропульсивные сокращения	Спазм, колики в животе, боль
	Повышенная абсорбция текучих сред	Твердый, сухой стул
	Повышенный тонус анального сфинктера	Неполное опорожнение

Соответственно изобретение также предоставляет способ предотвращения, лечения или ослабления симптома индуцированной опиоидами дисфункции посредством введения больному при необходимости терапевтически эффективного количества агонистов GC-C.

Согласно изобретению агонисты GC-C включают аминокислотные последовательности, представленные формулами I-XX, а также те аминокислотные последовательности, которые суммированы ниже в табл. 2-8. Согласно изобретению агонисты GC-C совместно упоминаются в данном документе как "пептиды GCRA". В некоторых вариантах осуществления агонист GC-C имеет последовательность SEQ ID NO: 1 (SP-304), SEQ ID NO: 9 (SP-333), SP373 (SEQ ID NO: 104), SP364 (SEQ ID NO: 100), SP366 (SEQ ID NO: 102) или SED ID NO: 250.

Под "опиоидами" подразумевается включение, но без ограничения, альфентанила, анилеридина, азимадолина, бремасоцина, бурпренорфина, буторфанолола, кодеина, дезоцина, диацетилморфина (героина), дигидрокодеина, дифеноксилата, этилморфина, федотозина, фентанила, фуналтрексамина, гидрокодона, гидроморфона, леваллорфана, левометадила ацетата, леворфанолола, лоперамида, меперидина (петицина), метадона, морфина, морфин-6-глюкоронида, налбуфина, налорфина, никоморфина, опиума, оксикодона, оксиморфона, пантолона, пентазоцина, пропирама, пропоксифена, ремифентанила, суфентанила, тилидина, тримебутина и трамадола.

Как используется в данном документе, "индуцированная опиоидами дисфункция" и "использование побочных эффектов опиоидов" используются взаимозаменяемо и включают такие как, например, желу-

дочно-кишечная дисфункция (например, ингибирование моторики кишечника, запор, сокращение сфинктеров ЖКТ, тошнота, рвота (изрыгание рвотных масс)), спазм желчевыводящих путей, опиоидная дисфункция толстой кишки, колика, дисфория, зуд, задержка мочеиспускания, угнетение дыхания, сужение зрачка, воздействие на сердечно-сосудистую систему, ригидность стенок грудной клетки и угнетение кашля, снижение стрессовой реакции и иммунодепрессия, связанная с применением наркотической анальгезии или их комбинации. Таким образом, способы изобретения могут быть полезны с точки зрения качества жизни для больных, переносящих применение опиоидов, так же, как и для уменьшения осложнений, возникающих в результате хронического запора, таких как геморрой, подавление аппетита, разрушение слизистой оболочки, сепсис, риск рака толстой кишки и инфаркт миокарда.

В некоторых вариантах осуществления предоставленные агонисты GC-C используются для введения субъекту, подвергающемуся применению опиоидов в остром периоде. В некоторых вариантах осуществления предоставленные лекарственные формы используются для введения пациентам, страдающим послеоперационной желудочно-кишечной дисфункцией, нарушением стула или угнетением дыхания.

В некоторых вариантах осуществления предоставленные лекарственные формы также используются для введения субъектам, подвергающимся хроническому применению опиоидов (например, неизлечимо больным пациентам, получающим опиоидную терапию, таким как больные СПИДом, больные раком, пациенты с сердечно-сосудистым заболеванием; субъектам, получающим хроническую опиоидную терапию для управления болью; субъектам, переносящим опиоидную терапию для поддержания при опиоидной абстиненции). В некоторых вариантах осуществления больным является больной, использующий опиоидную терапию для длительного управления болью. В некоторых вариантах осуществления болью является незлокачественная боль (например, боль в спине, нейропатическая боль, боль, связанная с фибромиалгией, остеоартритом). В некоторых вариантах осуществления субъектом является неизлечимо больной пациент. В других вариантах осуществления субъектом является человек, переносящий поддерживающую терапию при опиоидной абстиненции.

В некоторых вариантах осуществления лекарственные формы, предоставленные в данном документе, вводят больным, которые были выбраны для лечения метадонном или метилналтрексоном. В специальных вариантах осуществления больного выбирают по признаку больного, имеющего повышенный риск развития одного или более патологических состояний, изложенных выше. В еще одном варианте осуществления больного выбирают на основе применения опиоидной терапии для управления болью или на основе наличия одного или более патологических состояний, изложенных в данном документе. В некоторых вариантах осуществления больной страдает запорами или имеет в анамнезе запор вследствие опиоидной терапии. В одном варианте осуществления страдающий запорами больной не имел дефекации предшествующие три дня. В одном варианте осуществления страдающий запорами больной имел менее чем три дефекации за предыдущую неделю. В некоторых вариантах осуществления страдающий запорами больной имел менее чем три дефекации без приема лекарств в неделю в среднем на протяжении последних четырех последовательных недель, и одно или более из следующего:

- (a) твердые или комковатые каловые массы;
- (b) натуживание во время дефекации; и/или
- (c) ощущение неполного опорожнения после дефекации.

Больной может применять опиоиды с перерывами или регулярно.

В одном варианте осуществления больной, который выбран, принимал опиоиды по мере необходимости. В одном варианте осуществления выбранный больной принимал опиоиды на протяжении менее одной недели. В одном варианте осуществления выбранный больной принимал опиоиды в течение по меньшей мере одной недели. В еще одном варианте осуществления выбранный больной принимал опиоиды в течение по меньшей мере двух недель. В еще одном варианте осуществления выбранный больной принимал опиоиды в течение по меньшей мере трех недель. В еще одном варианте осуществления выбранный больной принимал опиоиды в течение по меньшей мере четырех недель. В еще одном варианте осуществления выбранный больной принимал опиоиды в течение по меньшей мере трех месяцев. В еще одном варианте осуществления выбранный больной принимал опиоиды в течение по меньшей мере шести месяцев. В еще одном варианте осуществления выбранный больной принимал опиоиды в течение по меньшей мере двенадцати месяцев. В еще одном варианте осуществления больной, который выбран, принимал опиоиды в течение более чем одного года. В еще одном варианте осуществления выбранный больной принимал опиоиды по меньшей мере через день в течение по меньшей мере двух недель. В одном варианте осуществления выбранный больной получал по меньшей мере 7 доз >25 мг пероральных эквивалентов морфина на протяжении по меньшей мере 14 дней. В одном варианте осуществления выбранный больной получал ежедневную дозу >50 мг пероральных эквивалентов морфина в течение по меньшей мере 14 дней. В одном варианте осуществления выбранный больной страдает запорами вследствие опиоидной терапии и получал ежедневную дозу >50 мг пероральных эквивалентов морфина в течение по меньшей мере 14 дней. В некоторых вариантах осуществления больной получал ежедневную дозу >50 мг пероральных эквивалентов морфина в течение по меньшей мере 14 дней и имел менее чем три (3) дефекации без приема лекарств в неделю в среднем на протяжении по меньшей мере четырех по-

следовательных недель, которые были связаны с одним или более из следующего:

(a) Bristol Stool Form Scale type 1 или 2 в течение по меньшей мере 25% дефекаций без приема лекарств;

(b) натуживание во время по меньшей мере 25% дефекаций без приема лекарств; и/или

(c) ощущение неполного опорожнения после по меньшей мере 25% дефекаций без приема лекарств.

Дефекация без приема лекарств относится к дефекации, не связанной с применением слабительного средства в пределах 24 ч перед дефекацией и/или (c) ощущением неполного опорожнения после дефекации.

В некоторых вариантах осуществления предоставленные лекарственные формы могут использоваться в способах предотвращения, ингибирования, сокращения, задержки, уменьшения или лечения желудочно-кишечной дисфункции, включая, но без ограничения, синдром раздраженного кишечника, индуцируемое опиоидами нарушение стула, колиты, послеоперационная или послеродовая кишечная непроходимость, тошнота и/или рвота, пониженная моторика и опорожнение желудка, торможение моторики желудка и большие и малые пропульсивные движения тонкой кишки, повышенная амплитуда непропульсивных сегментарных сокращений, сокращение сфинктера Одди, повышенный тонус анального сфинктера, нарушение рефлекторного расслабления с растяжением прямой кишки, снижение секреции желудка, желчи, поджелудочной железы или тонкой кишки, повышенное всасывание воды из содержимого толстой кишки, гастроэзофагеальный рефлюкс, парез желудка, спазмы, вздутие, абдоминальная или эпигастральная боль и дискомфорт, запор, идиопатический запор, послеоперационная желудочно-кишечная дисфункция после хирургического вмешательства в брюшной полости (например, удаление толстой кишки (например, правосторонняя гемиколэктомия, левосторонняя гемиколэктомия, резекция поперечной ободочной кишки, повторная операция для восстановления непрерывности кишки посредством анастомоза, низкая передняя резекция прямой кишки), гистерэктомия) и задержка всасывания вводимых перорально лекарственных средств или питательных веществ.

Пептиды GCRA.

Пептиды-GCRA представленного изобретения являются аналогами урогуанилина, гуанилина, лимфогуанилина и ST пептидов. Термин "пептид" не подразумевает какой-либо определенной длины. В некоторых вариантах осуществления пептид-GCRA имеет длину менее чем 25 аминокислот, например длину, меньшую или равную 20, 15, 14, 13, 12, 11, 10 или 5 аминокислот.

Пептидами-GCRA могут быть полимеры L-аминокислот, D-аминокислот или комбинация того и другого. Например, в различных вариантах осуществления пептидами являются D ретро-инверсные пептиды. Термин "ретроинверсный изомер" относится к изомеру линейного пептида, в котором направление последовательности является обратным, а хиральность каждого аминокислотного остатка является перевернутой. См., например, Jameson et al., Nature, 368, 744-746 (1994); Brady et al., Nature, 368, 692-693 (1994). Конечный результат объединения D-энантиомеров и обратного синтеза состоит в том, что изменяются положения карбонильной и аминогрупп в каждой амидной связи, в то время как сохраняется положение групп боковой цепи в каждом альфа-углеродном атоме. Если конкретно не утверждается иное, предполагается, что любая данная L-аминокислотная последовательность изобретения может быть превращена в D-ретроинверсный пептид посредством синтеза обратного порядка последовательности для соответствующей нативной L-аминокислотной последовательности. Например, пептид-GCRA содержит последовательность, определенную формулами I-XX, и последовательности, перечисленные в табл. 2-8.

Под индуцированием выработки цГМФ подразумевается, что пептид-GCRA индуцирует выработку внутриклеточного цГМФ. Внутриклеточный цГМФ измеряют с помощью способов, известных в данной области. Например, пептиды-GCRA изобретения стимулируют 5, 10, 20, 30, 40, 50, 75, 90% или более внутриклеточного цГМФ по сравнению с существующими в природе агонистами GC-C. В дополнительных вариантах осуществления пептид-GCRA стимулирует апоптоз, например запрограммированную клеточную смерть или активирует муковисцидозный трансмембранный регулятор проводимости (CFTR).

Как используется в данном документе PEG3, 3 PEG, предназначается для обозначения такого полиэтиленгликоля, который содержит аминотилокси-этилокси-уксусную кислоту (AeeA).

Как используется в данном документе, термин "амид" предназначается для обозначения, что концевая карбоновая кислота заменена амидной группой, т.е. концевая COOH заменена на CONH₂.

Как используется в данном документе, термин "pyGlu" относится к пироглутаминовой кислоте.

Как используется в данном документе (например, в формулах I-XX),

Хаа представляет собой любую натуральную, искусственную аминокислоту или аминокислотный аналог;

Маа представляет собой цистеин (Cys), пеницилламин (Pen) гомоцистеин или 3-меркаптопролин;

Хаа_{n1} предназначается для обозначения аминокислотной последовательности любой натуральной, искусственной аминокислоты или аминокислотного аналога, который имеет один, два или три остатка в длину;

Хаа_{n2} предназначается для обозначения аминокислотной последовательности любой натуральной, искусственной аминокислоты или аминокислотного аналога, который имеет ноль или один остаток в длину; и

Хаа_{n3} предназначается для обозначения аминокислотной последовательности любой натуральной, искусственной аминокислоты или аминокислотного аналога, который имеет ноль, один, два, три, четыре, пять или шесть остатков в длину.

Дополнительно любой аминокислотой, представленной Хаа, может быть L-аминокислота, D-аминокислота, метилированная аминокислота, фторированная аминокислота или любая их комбинация. Предпочтительно аминокислотами на N-конце, C-конце или на обоих являются D-аминокислоты. Необязательно любой пептид-GCRA, представленный формулами I-XX, может содержать один или более полиэтиленгликолевых остатков на N-конце, C-конце или на обоих. Иллюстративный полиэтиленгликоль содержит аминоэтилокси-этилокси-уксусную кислоту и ее полимеры.

Конкретные примеры пептидов-агонистов GCC, которые могут использоваться в способах и лекарственных формах изобретения, включают пептид, выбранный из табл. 2-8.

В некоторых вариантах осуществления пептиды-агонисты GCC включают пептиды, имеющие аминокислотную последовательность формулы I, при этом по меньшей мере одной аминокислотой формулы I является D-аминокислота или метилированная аминокислота и/или аминокислотой в положении 16 является серин. Предпочтительно аминокислотой в положении 16 формулы I является D-аминокислота или метилированная аминокислота. Например, аминокислотой в положении 16 формулы I является d-лейцин или d-серин. Необязательно одной или более аминокислотами в положениях 1-3 формулы I являются D-аминокислоты или метилированные аминокислоты или комбинация D-аминокислот или метилированных аминокислот. Например, Asn¹, Asp² или Glu³ (или их комбинацией) формулы I является D-аминокислота или метилированная аминокислота. Предпочтительно аминокислотой в положении Хаа⁶ формулы I является лейцин, серин или тирозин.

В альтернативных вариантах осуществления пептиды-агонисты GCC включают пептиды, имеющие аминокислотную последовательность формулы II, при этом по меньшей мере одной аминокислотой формулы II является D-аминокислота или метилированная аминокислота. Предпочтительно аминокислотой, обозначенной Хаа_{n2} формулы II, является D-аминокислота или метилированная аминокислота. В некоторых вариантах осуществления аминокислотой, обозначенной Хаа_{n2} формулы II, является лейцин, d-лейцин, серин или d-серин. Предпочтительно одной или более аминокислотами, обозначенными Хаа_{n1} формулы II, являются D-аминокислоты или метилированные аминокислоты. Предпочтительно аминокислотой в положении Хаа⁶ формулы II является лейцин, серин или тирозин.

В некоторых вариантах осуществления пептиды-агонисты GCC включают пептиды, имеющие аминокислотную последовательность формулы III, при этом по меньшей мере одной аминокислотой формулы III является D-аминокислота или метилированная аминокислота, и/или Маа не является цистеином. Предпочтительно аминокислотой, обозначенной Хаа_{n2} формулы III, является D-аминокислота или метилированная аминокислота. В некоторых вариантах осуществления аминокислотой, обозначенной Хаа_{n2} формулы III, является лейцин, d-лейцин, серин или d-серин. Предпочтительно одной или более аминокислотами, обозначенными Хаа_{n1} формулы III, являются D-аминокислоты или метилированные аминокислоты. Предпочтительно аминокислотой в положении Хаа⁶ формулы III является лейцин, серин или тирозин.

В других вариантах осуществления пептиды-агонисты GCC включают пептиды, имеющие аминокислотную последовательность формулы IV, при этом по меньшей мере одной аминокислотой формулы IV является D-аминокислота или метилированная аминокислота, и/или Маа не является цистеином. Предпочтительно Хаа_{n2} формулы IV представляет собой D-аминокислоту или метилированную аминокислоту. В некоторых вариантах осуществления аминокислотой, обозначенной Хаа_{n2} формулы IV, является лейцин, d-лейцин, серин или d-серин. Предпочтительно одной или более аминокислотами, обозначенными Хаа_{n1} формулы IV, являются D-аминокислоты или метилированные аминокислоты. Предпочтительно аминокислотой, обозначенной Хаа⁶ формулы IV, является лейцин, серин или тирозин.

В дополнительных вариантах осуществления пептиды-агонисты GCC включают пептиды, имеющие аминокислотную последовательность формулы V, при этом по меньшей мере одной аминокислотой формулы V является D-аминокислота или метилированная аминокислота. Предпочтительно аминокислотой в положении 16 формулы V является D-аминокислота или метилированная аминокислота. Например, аминокислотой в положении 16 (т.е. Хаа¹⁶) формулы V является d-лейцин или d-серин. Необязательно одной или более аминокислотами в положении 1-3 формулы V являются D-аминокислоты или метилированные аминокислоты или комбинация D-аминокислот или метилированных аминокислот. Например, Asn¹, Asp² или Glu³ (или их комбинацией) формулы V являются D-аминокислоты или метилированная аминокислота. Предпочтительно аминокислотой, обозначенной Хаа⁶ формулы V, является лейцин, серин или тирозин.

В дополнительных вариантах осуществления пептиды-GCRA включают пептиды, имеющие аминокислотную последовательность формулы VI, VII-a, VII-b, VIII или IX. Предпочтительно аминокислотой в положении 6 формулы VI, VII-a, VII-b, VIII или IX является лейцин, серин или тирозин. В некоторых аспектах аминокислотой в положении 16 формулы VI, VII-a, VII-b, VIII или IX является лейцин или серин. Предпочтительно аминокислотой в положении 16 формулы VI, VII-a, VII-b, VIII или IX является D-аминокислота или метилированная аминокислота.

В дополнительных вариантах осуществления пептиды-GCRA включают пептиды, имеющие аминокислотную последовательность формулы X, XI, XII, XIII, XIV, XV, XVI или XVII. Необязательно одной или более аминокислот формул X, XI, XII, XIII, XIV, XV, XVI или XVII являются D-аминокислоты или метилированные аминокислоты. Предпочтительно аминокислотой на карбоксильном конце пептидов согласно формулам X, XI, XII, XIII, XIV, XV, XVI или XVII является D-аминокислота или метилированная аминокислота. Например, аминокислотой на карбоксильном конце пептидов согласно формулам X, XI, XII, XIII, XIV, XV, XVI или XVII является D-тирозин.

Предпочтительно аминокислотой, обозначенной Хаа⁶ формулы XIV, является тирозин, фенилаланин или серин. Наиболее предпочтительно аминокислотой, обозначенной Хаа⁶ формулы XIV, является фенилаланин или серин. Предпочтительно аминокислотой, обозначенной Хаа⁴ формулы XV, XVI или XVII, является тирозин, фенилаланин или серин. Наиболее предпочтительно аминокислотой в положении Хаа⁴ формулы XV, XVI или XVII является фенилаланин или серин.

В некоторых вариантах осуществления пептиды-GCRA включают пептиды, содержащие аминокислотную последовательность формулы XVIII. Предпочтительно аминокислотой в положении 1 формулы XVIII является глутаминовая кислота, аспарагиновая кислота, глутамин или лизин. Предпочтительно аминокислотой в положении 2 и 3 формулы XVIII является глутаминовая кислота или аспарагиновая кислота. Предпочтительно аминокислотой в положении 5 является глутаминовая кислота. Предпочтительно аминокислотой в положении 6 формулы XVIII является изолейцин, валин, серин, треонин или тирозин. Предпочтительно аминокислотой в положении 8 формулы XVIII является валин или изолейцин. Предпочтительно аминокислотой в положении 9 формулы XVIII является аспарагин. Предпочтительно аминокислотой в положении 10 формулы XVIII является валин или метионин. Предпочтительно аминокислотой в положении 11 формулы XVIII является аланин. Предпочтительно аминокислотой в положении 13 формулы XVIII является треонин. Предпочтительно аминокислотой в положении 14 формулы XVIII является глицин. Предпочтительно аминокислотой в положении 16 формулы XVIII является лейцин, серин или треонин.

В альтернативных вариантах осуществления пептиды-GCRA включают пептиды, содержащие аминокислотную последовательность формулы XIX. Предпочтительно аминокислотой в положении 1 формулы XIX является серин или аспарагин. Предпочтительно аминокислотой в положении 2 формулы XIX является гистидин или аспарагиновая кислота. Предпочтительно аминокислотой в положении 3 формулы XIX является треонин или глутаминовая кислота. Предпочтительно аминокислотой в положении 5 формулы XIX является глутаминовая кислота. Предпочтительно аминокислотой в положении 6 формулы XIX является изолейцин, лейцин, валин или тирозин. Предпочтительно аминокислотой в положении 8, 10, 11 или 13 формулы XIX является аланин. Предпочтительно аминокислотой в положении 9 формулы XIX является аспарагин или фенилаланин. Предпочтительно аминокислотой в положении 14 формулы XIX является глицин.

В дополнительных вариантах осуществления пептиды-GCRA включают пептиды, содержащие аминокислотную последовательность формулы XX. Предпочтительно аминокислотой в положении 1 формулы XX является глутамин. Предпочтительно аминокислотой в положении 2 или 3 формулы XX является глутаминовая кислота или аспарагиновая кислота. Предпочтительно аминокислотой в положении 5 формулы XX является глутаминовая кислота. Предпочтительно аминокислотой в положении 6 формулы XX является треонин, глутамин, тирозин, изолейцин или лейцин. Предпочтительно аминокислотой в положении 8 формулы XX является изолейцин или валин. Предпочтительно аминокислотой в положении 9 формулы XX является аспарагин. Предпочтительно аминокислотой в положении 10 формулы XX является метионин или валин. Предпочтительно аминокислотой в положении 11 формулы XX является аланин. Предпочтительно аминокислотой в положении 13 формулы XX является треонин. Предпочтительно аминокислотой в положении 1 формулы XX является глицин. Предпочтительно аминокислотой в положении 15 формулы XX является тирозин. Необязательно аминокислота в положении 15 формулы XX имеет две аминокислоты в длину и представляет собой цистеин (Cys), пеницилламин (Pen) гомоцистеин или 3-меркаптопролин и серин, лейцин или треонин.

В некоторых вариантах осуществления одна или более аминокислот пептидов-GCRA может быть заменена искусственной аминокислотой или существующим в природе или искусственным аминокислотным аналогом. Существует множество аминокислот за пределами стандартных 20 (Ala, Arg, Asn, Asp, Cys, Gln, Glu, Gly, His, Ile, Leu, Lys, Met, Phe, Pro, Ser, Thr, Trp, Tyr и Val). Некоторые существуют в природе, другие не существуют (см., например, Hunt, *The Non-Protein Amino Acids: In Chemistry and Biochemistry of the Amino Acids*, Barrett, Chapman and Hall, 1985). Например, ароматическая аминокислота может быть заменена на 3,4-дигидрокси-L-фенилаланин, 3-иодо-L-тирозин, триодотиронин, L-тироксин, фенилглицин (Phg) или нортирозин (norTyr). Phg и norTyr и другие аминокислоты, включая Phe и Tyr, могут быть замещены, например, галогеном, -CH₃, -OH, -CH₂NH₂, C(O)N, -CH₂CH₃, -CN, -CH₂CH₂CH₃, -SH или другой группой. Любая аминокислота может быть замещена D-формой аминокислоты.

Что касается искусственных аминокислот или существующих в природе и искусственных аминокислотных аналогов, ряд замещений в полипептиде и агонистах, описанных в данном документе, возможны отдельно или в комбинации.

Например, глутаминовые остатки могут быть замещены гамма-гидроксиглу или гамма-карбоксиглу. Тирозиновые остатки могут быть замещены альфа-замещенной аминокислотой, такой как L-альфа-метилфенилаланин или аналогами, такими как 3-амино-Тур; Тур(CH₃); Тур(PO₃(CH₃)₂); Тур(SO₃H); бета-циклогексил-Ала; бета-(1-циклопентенил)-Ала; бета-циклопентил-Ала; бета-циклопропил-Ала; бета-квинолил-Ала; бета-(2-тиазолил)-Ала; бета-(триазол-1-ил)-Ала; бета-(2-пиридил)-Ала; бета-(3-пиридил)-Ала; аминокс-Phe; фтор-Phe; циклогексил-Gly; tBu-Gly; бета-(3-бензотиенил)-Ала; бета-(2-тиенил)-Ала; 5-метил-Trp; и А-Метил-Trp. Пролиновые остатки могут быть замещены гомопр (L-пипеколиновая кислота); гидроксипро; 3,4-дегидро-Про; 4-фтор-Про; или альфа-метил-Про или N(альфа)-С(альфа) циклизированные аминокислотные аналоги со структурой: n=0, 1, 2, 3. Аланиновые остатки могут быть замещены альфа-замещенной или N-метилированной аминокислотой, такой как альфа-амино изомасляная кислота (aib), L/D-альфа-этилаланином (L/D-изовалином), L/D-метилвалином или L/D-альфа-метиллейцином или искусственной аминокислотой, такой как бета-фтор-Ала. Аланин также может быть замещен: n=0, 1, 2, 3. Глициновые остатки могут быть замещены альфа-амино изомасляной кислотой (aib) или L/D-альфа-этилаланином (L/D-изовалином).

Дополнительные примеры искусственных аминокислот включают искусственный аналог аланина (например, L-1-Nal или L-2-Nal); искусственный аналог тирозина; искусственный аналог глутамина; искусственный аналог фенилаланина; искусственный аналог серина; искусственный аналог треонина; алкил, арил, ацил, азидо, циано, гало, гидразин, гидразид, гидроксил, алкенил, алкинил, эфир, тиол, сульфонил, селено, сложный эфир, тиокислота, борат, боронат, фосфо, фосфоно, фосфин, гетероциклически, энон, имин, альдегид, гидроксилламин, кето- или аминзамещенную аминокислоту или любую их комбинацию; аминокислоту с фотоактивируемым кросс-линкером; спин-меченую аминокислоту; флуороресцентную аминокислоту; аминокислоту с новой функциональной группой; аминокислоту, которая ковалентно или нековалентно взаимодействует с другой молекулой; связывающую металлы аминокислоту; аминокислоту, которая амидирована на участке, который в природе не амидирован, содержащую металл аминокислоту; радиоактивную аминокислоту; фотолabile и/или фотоизомеризуемую аминокислоту; аминокислоту, содержащую биотин или аналог биотина; гликозилированную или модифицированную углеводом аминокислоту; кетосодержащую аминокислоту; аминокислоты, содержащие полиэтиленгликоль или полиэфир; аминокислоту с замещенным атомом тяжелого элемента (например, аминокислоту, содержащую дейтерий, тритий, ¹³C, ¹⁵N или ¹⁸O); химически расщепляемую или фоторасщепляемую аминокислоту; аминокислоту с удлиненной боковой цепью; аминокислоту, содержащую токсичную группу; замещенную сахаром аминокислоту, например замещенный сахаром серин и т.п.; содержащую сахар аминокислоту с присоединенным углеводом; редокс-активную аминокислоту; β-гидроксисодержащую кислоту; аминокислоту, содержащую аминотиокислоту; α,α-двузамещенную аминокислоту; β-аминокислоту; циклическую аминокислоту, не являющуюся пролином; О-метил-L-тирозин; L-3-(2-нафтил)аланин; 3-метил-фенилаланин; р-ацетил-L-фенилаланин; О-4-аллил-L-тирозин; 4-пропил-L-тирозин; три-О-ацетил-GlcNAc β-серин; L-Допа; фторированный фенилаланин; изопропил-L-фенилаланин; р-азидо-L-фенилаланин; р-ацил-L-фенилаланин; р-бензоил-L-фенилаланин; L-фосфосерин; фосфоносерин; фосфотирозин; р-иодо-фенилаланин; 4-фторфенилглицин; р-бромфенилаланин; р-амино-L-фенилаланин; изопропил-L-фенилаланин; L-3-(2-нафтил)аланин; D-3-(2-нафтил)аланин (dNal); аминок-, изопропил- или О-аллилсодержащий аналог фенилаланина; допа, О-метил-L-тирозин; гликозилированную аминокислоту; р-(пропаргилокси)фенилаланин; диметил-лизин; гидроксипролин; меркаптопропионовую кислоту; метиллизин; 3-нитро-тирозин; норлейцин; пироглутаминовую кислоту; Z (Карбобензоксил); ε-ацетил-лизин; β-аланин; β-аспарагиновую кислоту; β-циклогексилаланин; производное аминобензоила; аминомасляную кислоту (Abu); цитруллин; аминокс-ановую кислоту (Ahx); аминизомасляную кислоту (AIB); циклогексилаланин; d-циклогексилаланин; циклогексилглицин; гидроксипролин; нитро-аргинин; нитро-фенилаланин; нитро-тирозин; норвалин; октагидроиндол карбоксилат; орнитин (Orn); пеницилламин (PEN); тетрагидроизооквинолин; диаминомасляную кислоту; диаминопимелиновую кислоту; пироглутаминовую кислоту; гомоцистеин; гомосерин; N-ε-динитрофенил-лизин; N-ε-метил-лизин; N-s-диметиллизин; N,N,N-ε-триметил-лизин; ацетамидометил защищенные аминокислоты и пегилированные аминокислоты. Дополнительные примеры искусственных аминокислот и аминокислотных аналогов можно найти в США 20030108885, US 20030082575, US 20060019347 (абзацы 410-418) и перечисленных в них ссылках. Полипептиды изобретения могут включать дополнительные модификации, включая модификации, описанные в US 20060019347, абзац 589.

"Nal", используемый в данном документе, относится как к L-1-нафтилаланину (L-1-Nal), так и к L-2-нафтилаланину (L-2-Nal).

В некоторых вариантах осуществления аминокислота может быть заменена существующей в природе, заменимой аминокислотой, например таурином.

В качестве альтернативы пептидами-GCRA являются циклические пептиды. Циклические пептиды GCRA получают с помощью способов, известных в данной области. Например, макроциклизация часто осуществляется посредством образования амидной связи между N- и C-концами пептида, между боковой цепью и N- или C-концом (например, с помощью K₃Fe(CN)₆ при pH 8,5) (Samson et al., Endocrinology,

137:51825185 (1996)) или между двумя боковыми цепями аминокислоты, такой как цистеин. См., например, DeGrado, *Adv Protein Chem*, 39:51-124 (1988). В некоторых вариантах осуществления пептидами-GCRA представленного изобретения являются бициклические пептиды. В различных аспектах пептидами-GCRA являются [4,12; 7,15] бициклы.

В некоторых пептидах-GCRA один или оба элемента одной или обеих пар Cys-остатков, которые обычно образуют дисульфидную связь, могут быть заменены гомоцистеином, пеницилламином, 3-меркаптопропином (Kolodziej et al., 1996, *Int J. Pept. Protein. Res.*, 48:274); β,β -диметилцистеином (Hunt et al., 1993, *Int. J. Pept. Protein. Res.*, 42:249) или диаминопропионовой кислотой (Smith et al., 1978, *J. Med. Chem.*, 2, 1:117) с образованием альтернативных внутренних поперечных связей в положениях обычных дисульфидных связей.

В дополнение одна или более дисульфидных связей могут быть заменены альтернативными ковалентными поперечными связями, например амидной связью ($-\text{CH}_2\text{CH}(\text{O})\text{NHCH}_2-$ или $\text{CH}_2\text{NHCH}(\text{O})\text{CH}_2-$), сложной эфирной связью, сложной тиоэфирной связью, лактамным мостиком, карбамоильной связью, мочевиной связью, тиомочевинной связью, фосфонатной сложной эфирной связью, алкильной связью ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$), алкенильной связью ($-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2-$), эфирной связью ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2-$ или $-\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2-$), тиоэфирной связью ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SCH}_2-$ или $-\text{CH}_2\text{SCH}_2\text{CH}_2-$), аминной связью ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHCH}_2-$ или $-\text{CH}_2\text{NHCH}_2\text{CH}_2-$) или тиоамидной связью ($-\text{CH}_2\text{CH}(\text{S})\text{HNHCH}_2-$ или $-\text{CH}_2\text{NHCH}(\text{S})\text{CH}_2-$). Например, Ledu et al. (*Proc Nat'l Acad. Sci.*, 100:11263-78, 2003) описывают способы получения лактамной и амидной поперечных связей. Иллюстративные пептиды-GCRA, которые содержат лактамный мостик, включают, например, SP-370.

Пептиды-GCRA могут иметь одну или более обычных полипептидных связей, замененных альтернативной связью. Подобные замены могут увеличивать стабильность полипептида. Например, замена полипептидной связи между amino-концом остатка на ароматический остаток (например, Tyr, Phe, Trp) с альтернативной связью может уменьшить расщепление карбокси пептидазами и может увеличить период полураспада в пищеварительном тракте. Связи, которые могут заменять полипептидные связи, включают ретро-инверсную связь ($\text{C}(\text{O})-\text{NH}$ вместо $\text{NH}-\text{C}(\text{O})$); восстановленную амидную связь ($\text{NH}-\text{CH}_2$); тиометиленовую связь ($\text{S}-\text{CH}_2$ или CH_2-S); оксометиленовую связь ($\text{O}-\text{CH}_2$ или CH_2-O); этиленовую связь (CH_2-CH_2); тиоамидную связь ($\text{C}(\text{S})-\text{NH}$); трансолефиновую связь ($\text{CH}=\text{CH}$); фтор замещенную трансолефиновую связь ($\text{CF}=\text{CH}$); кетометиленовую связь ($\text{C}(\text{O})-\text{CHR}$ или $\text{CHR}-\text{C}(\text{O})$), в которой R представляет собой H или CH_3 ; и фтор-кетометиленовую связь ($\text{C}(\text{O})-\text{CFR}$ или $\text{CFR}-\text{C}(\text{O})$), в которой R представляет собой H или CH_3 .

Пептиды-GCRA могут быть модифицированы с использованием стандартных модификаций. Модификации могут происходить на amino (N-), карбокси (C-) конце, внутри или в комбинации любых из предшествующих. В одном аспекте, описанном в данном документе, в полипептиде может иметься более чем один тип модификации. Модификации включают, но без ограничения, ацетилирование, амидирование, биотинилирование, циннамоилирование, фарнесилирование, формилование, миристиоилирование, пальмитоилирование, фосфорилирование (Ser, Tyr или Thr), стеароилирование, сукцинилование, сульфурилирование и образования циклических соединений (посредством дисульфидных мостиков или образования циклических амидов) и модификацию посредством Cys3 или Cys5. Пептиды-GCRA, описанные в данном документе, также могут быть модифицированы посредством 2,4-динитрофенила (DNP), DNP-лизина, модификации 7-амино-4-метил-кумарином (AMC), флуоресцеином, NBD (7-нитробензол-2-окса-1,3-диазолом), p-нитро-анилидом, родамином B, EDANS (5-((2-аминоэтил)амино)нафтаген-1-сульфоновой кислотой), дабцилом, дабсилом, дансилом, тexasским красным, FMOC и Tamra (Тетраметилродамином). Пептиды-GCRA, описанные в данном документе, также могут быть конъюгированы, например, с полиэтиленгликолем (PEG); алкильными группами (например, C1-C20 прямыми или разветвленными алкильными группами); радикалами жирных кислот; комбинациями PEG, алкильных групп и радикалов жирных кислот (см., патент США 6309633; Soltero et al., 2001, *Innovations in Pharmaceutical Technology*, 106-110); BSA и KLH (Keyhole Limpet Hemocyanin). Добавление PEG и других полимеров, которые могут использоваться для модификации полипептидов изобретения, описано в разделе IX US 2006019347.

В одном аспекте изобретение предоставляет пептид Aad-GCRA, который изложен, например, в WO 20140151206, которая включена настоящим посредством ссылки во всей своей полноте для всех целей. Табл. 1 WO 20140151206 раскрывает примеры различных производных альфа-аминоадипиновой кислоты пептидов-GCRA. Пептиды Aad-GCRA являются аналогами урогуанилина, гуанилина, лимфогуанилина и ST пептидов. Конкретно данные аналогии содержат α -аминоадипиновую кислоту (Ad), предпочтительно в 3-м положении от конца N каждого пептида или в положении в N-концевую сторону рядом с первым цистеиновым (Cys) остатком. Например, пептид Aad-GCRA содержит последовательности, определенные формулами I, II, III, IV, V, VI, VII, VIII, IX, XVIII или XXI, которые могут содержать α -аминоадипиновую кислоту.

В некоторых вариантах осуществления пептид Aad-GCRA представляет собой $\text{Asn}^1\text{-Asp}^2\text{-Aad}^3\text{-Cys}^4\text{-Glu}^5\text{-Leu}^6\text{-Cys}^7\text{-Val}^8\text{-Asn}^9\text{-Val}^{10}\text{-Ala}^{11}\text{-Cys}^{12}\text{-Thr}^{13}\text{-Gly}^{14}\text{-Cys}^{15}\text{-Leu}^{16}$ (SEQ ID NO: 251; SP-304-Aad), dAsn^1 -

Asp²-Aad³-Cys⁴-Glu⁵-Leu⁶-Cys⁷-Val⁸-Asn⁹-Val¹⁰-Ala¹¹-Cys¹²-Thr¹³-Gly¹⁴-Cys¹⁵-dLeu¹⁶ (SEQ ID NO: 253; SP-333-Aad); Pyglu¹-Asp²-Aad³-Cys⁴-Glu⁵-Leu⁶-Cys⁷-Val⁸-Asn⁹-Val¹⁰-Ala¹¹-Cys¹²-Thr¹³-Gly¹⁴-Cys¹⁵-dLeu-AMIDE 16 (SEQ ID NO: 254; SP-373-Aad), dAsn¹-Asp²-Aad³-Cys⁴-Glu⁵-Leu⁶-Cys⁷-Val⁸-Asn⁹-Val¹⁰-Ala¹¹-Cys¹²-Thr¹³-Gly¹⁴-Cys¹⁵-dSer¹⁶ (SEQ ID NO: 255; SP-364-Aad); dAsn¹-Asp²-Aad³-Cys⁴-Glu⁵-Leu⁶-Cys⁷-Val⁸-Asn⁹-Val¹⁰-Ala¹¹-Cys¹²-Thr¹³-Gly¹⁴-Cys¹⁵-dTyr¹⁶ (SEQ ID NO: 256; SP-366-Aad); или Xaa_{n1}-Cys⁴-Xaa⁵-Xaa⁶-Xaa⁷-Xaa⁸-Xaa⁹-Xaa¹⁰-Xaa¹¹-Cys¹²-Xaa¹³-Xaa¹⁴-Xaa¹⁵-Xaa_{n2}¹⁶ (SEQ ID NO: 257).

Также в изобретение включены пептиды, которые биологически или функционально эквивалентны пептидам, описанным в данном документе. Термин "биологический эквивалент" или функциональный эквивалент" означает, что композиции представленного изобретения способны демонстрировать некоторые или все эффекты, модулирующие выработку цГМФ.

Пептиды-GCRA также могут содержать производные пептидов-GCRA, которые предназначены включать гибридные и модифицированные формы пептидов-GCRA, в которых некоторые аминокислоты были удалены или заменены, и такие модификации, где одна или более аминокислот были заменены на модифицированную аминокислоту или необычную аминокислоту, и такие модификации, как гликозилирование при условии, что модифицированная форма сохраняет биологическую активность пептидов-GCRA. Под сохранением биологической активности подразумевается, что цГМФ и/или апоптоз индуцируется пептидом-GCRA, хотя необязательно на таком же уровне эффективности, как уровень идентифицированного встречающегося в природе пептида-GCRA.

Предпочтительными вариантами являются варианты, которые имеют консервативные аминокислотные замены, сделанные в одном или более прогнозируемых заменимых аминокислотных остатков. "Консервативной аминокислотной заменой" является замена, в которой аминокислотный остаток заменен на аминокислотный остаток, имеющий аналогичную боковую цепь. В данной области были определены семейства аминокислотных остатков, имеющих аналогичные боковые цепи. Данные семейства включают аминокислоты с основными боковыми цепями (например, лизин, аргинин, гистидин), кислыми боковыми цепями (например, аспарагиновая кислота, глутаминовая кислота), незаряженными полярными боковыми цепями (например, глицин, аспарагин, глутамин, серин, треонин, тирозин, цистеин), неполярными боковыми цепями (например, аланин, валин, лейцин, изолейцин, пролин, фенилаланин, метионин, триптофан), бета разветвленными боковыми цепями (например, треонин, валин, изолейцин) и ароматическими боковыми цепями (например, тирозин, фенилаланин, триптофан, гистидин). Таким образом, прогнозируемый заменимый аминокислотный остаток в полипептиде-GCRA заменен на другой аминокислотный остаток из того же семейства боковых цепей. В качестве альтернативы в еще одном варианте осуществления вдоль всей или части кодирующей последовательности GCRA случайным образом могут вводиться мутации, например, посредством насыщающего мутагенеза, и полученные в результате мутанты можно скринировать для идентификации мутантов, которые сохраняют активность.

Таблица 2

Пептиды-GCRA (SP-304 и производные)

Название	Положение Дисульфидных связей	Структура	SEQ ID NO
SP-304	C4:C12, C7:C15	Asn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Leu ¹⁶	1
SP-326	C3:C11, C6:C14	Asp ¹ -Glu ² -Cys ³ -Glu ⁴ -Leu ⁵ -Cys ⁶ -Val ⁷ -Asn ⁸ -Val ⁹ -Ala ¹⁰ -Cys ¹¹ -Thr ¹² -Gly ¹³ -Cys ¹⁴ -Leu ¹⁵	2
SP-327	C3:C11, C6:C14	Asp ¹ -Glu ² -Cys ³ -Glu ⁴ -Leu ⁵ -Cys ⁶ -Val ⁷ -Asn ⁸ -Val ⁹ -Ala ¹⁰ -Cys ¹¹ -Thr ¹² -Gly ¹³ -Cys ¹⁴	3
SP-328	C2:C10, C5:C13	Glu ¹ -Cys ² -Glu ³ -Leu ⁴ -Cys ⁵ -Val ⁶ -Asn ⁷ -Val ⁸ -Ala ⁹ -Cys ¹⁰ -Thr ¹¹ -Gly ¹² -Cys ¹³ -Leu ¹⁴	4
SP-329	C2:C10, C5:C13	Glu ¹ -Cys ² -Glu ³ -Leu ⁴ -Cys ⁵ -Val ⁶ -Asn ⁷ -Val ⁸ -Ala ⁹ -Cys ¹⁰ -Thr ¹¹ -Gly ¹² -Cys ¹³	5
SP-330	C1:C9, C4:C12	Cys ¹ -Glu ² -Leu ³ -Cys ⁴ -Val ⁵ -Asn ⁶ -Val ⁷ -Ala ⁸ -Cys ⁹ -Thr ¹⁰ -Gly ¹¹ -Cys ¹² -Leu ¹³	6
SP-331	C1:C9, C4:C12	Cys ¹ -Glu ² -Leu ³ -Cys ⁴ -Val ⁵ -Asn ⁶ -Val ⁷ -Ala ⁸ -Cys ⁹ -Thr ¹⁰ -Gly ¹¹ -Cys ¹²	7
SP-332	C4:C12, C7:C15	Asn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dLeu ¹⁶	8
SP-333	C4:C12, C7:C15	dAsn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dLeu ¹⁶	9
SP-334	C4:C12, C7:C15	dAsn ¹ -dAsp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dLeu ¹⁶	10
SP-335	C4:C12, C7:C15	dAsn ¹ -dAsp ² -dGlu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dLeu ¹⁶	11
SP-336	C4:C12, C7:C15	dAsn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Leu ¹⁶	12
SP-337	C4:C12, C7:C15	dAsn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -dLeu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dLeu ¹⁶	13
SP-338	C4:C12, C7:C15	Asn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵	14
SP-342	C4:C12, C7:C15	PEG3-Asn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dLeu ¹⁶ -PEG3	15
SP-343	C4:C12, C7:C15	PEG3-dAsn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dLeu ¹⁶ -PEG3	16
SP-344	C4:C12, C7:C15	PEG3-dAsn ¹ -dAsp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dLeu ¹⁶ -PEG3	17
SP-347	C4:C12, C7:C15	dAsn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dLeu ¹⁶ -PEG3	18
SP-348	C4:C12, C7:C15	PEG3-Asn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dLeu ¹⁶	19
SP-350	C4:C12, C7:C15	PEG3-dAsn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dLeu ¹⁶	20
SP-352	C4:C12, C7:C15	Asn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dLeu ¹⁶ -PEG3	21

SP-358	C4:C12,C7:C15	PEG3-dAsn ¹ -dAsp ² -dGlu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dLeu ¹⁶ -PEG3	22
SP-359	C4:C12,C7:C15	PEG3-dAsn ¹ -dAsp ² -dGlu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dLeu ¹⁶	23
SP-360	C4:C12, C7:C15	dAsn ¹ -dAsp ² -dGlu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dLeu ¹⁶ -PEG3	24
SP-361	C4:C12, C7:C15	dAsn ¹ -dAsp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dLeu ¹⁶ -PEG3	25
SP-362	C4:C12, C7:C15	PEG3-dAsn ¹ -dAsp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dLeu ¹⁶	26
SP-368	C4:C12, C7:C15	dAsn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dNal ¹⁶	27
SP-369	C4:C12, C7:C15	dAsn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -AIB ⁸ -Asn ⁹ -AIB ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dLeu ¹⁶	28
SP-370	C4:C12, 7:15	dAsn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Asp[Лактамной] ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Om ¹⁵ -dLeu ¹⁶	29
SP-371	C4:C12,C7:C15	dAsn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Tyr ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dLeu ¹⁶	30
SP-372	C4:C12,C7:C15	dAsn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Ser ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dLeu ¹⁶	31
N1	C4:C12,C7:C15	PEG3-dAsn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Tyr ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dLeu ¹⁶ -PEG3	32
N2	C4:C12,C7:C15	PEG3-dAsn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Tyr ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dLeu ¹⁶	33
N3	C4:C12,C7:C15	dAsn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Tyr ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dLeu ¹⁶ -PEG3	34
N4	C4:C12,C7:C15	PEG3-dAsn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Ser ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dLeu ¹⁶ -PEG3	35
N5	C4:C12,C7:C15	PEG3-dAsn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Ser ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dLeu ¹⁶	36
N6	C4:C12,C7:C15	dAsn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Ser ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dLeu ¹⁶ -PEG3	37
N7	C4:C12,C7:C15	Asn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Ser ¹⁶	38
N8	C4:C12,C7:C15	PEG3-Asn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Ser ¹⁶ -PEG3	39
N9	C4:C12,C7:C15	PEG3-Asn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Ser ¹⁶	40
N10	C4:C12,C7:C15	Asn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Ser ¹⁶ -PEG3	41
N11	C4:C12,C7:C15	PEG3-Asn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dSer ¹⁶ -PEG3	42
N12	C4:C12,C7:C15	PEG3-Asn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dSer ¹⁶	43
N13	C4:C12,C7:C15	Asn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dSer ¹⁶ -PEG3	44
Формула I	C4:C12,C7:C15	Asn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Xaa ⁵ -Xaa ⁶ -Cys ⁷ -Xaa ⁸ -Xaa ⁹ -Xaa ¹⁰ -Xaa ¹¹ -Cys ¹² -Xaa ¹³ -Xaa ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Xaa ¹⁶	45
Формула II	C4:C12,C7:C15	Xaa _{n1} -Cys ⁴ -Xaa ⁵ -Xaa ⁶ -Cys ⁷ -Xaa ⁸ -Xaa ⁹ -Xaa ¹⁰ -Xaa ¹¹ -Cys ¹² -Xaa ¹³ -Xaa ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Xaa _{n2} ¹⁶	46
Формула III	4:12,7:15	Xaa _{n1} -Maa ⁴ -Glu ⁵ -Xaa ⁶ -Maa ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Maa ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Maa ¹⁵ -Xaa _{n2}	47
Формула IV	4:12,7:15	Xaa _{n1} -Maa ⁴ -Xaa ⁵ -Xaa ⁶ -Maa ⁷ -Xaa ⁸ -Xaa ⁹ -Xaa ¹⁰ -Xaa ¹¹ -Maa ¹² -Xaa ¹³ -Xaa ¹⁴ -Maa ¹⁵ -Xaa _{n2}	48
Формула V	C4:C12,C7:C15	Asn ¹ -Asp ² -Asp ³ -Cys ⁴ -Xaa ⁵ -Xaa ⁶ -Cys ⁷ -Xaa ⁸ -Asn ⁹ -Xaa ¹⁰ -Xaa ¹¹ -Cys ¹² -Xaa ¹³ -Xaa ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Xaa ¹⁶	49
Формула VI	C4:C12,C7:C15	dAsn ¹ -Glu ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Xaa ⁵ -Xaa ⁶ -Cys ⁷ -X ³⁸ -Asn ⁹ -Xaa ¹⁰ -Xaa ¹¹ -Cys ¹² -Xaa ¹³ -Xaa ¹⁴ -Cys ¹⁵ -d-Xaa ¹⁶	50
Формула VII-a	C4:C12,C7:C15	dAsn ¹ -dGlu ² -Asp ³ -Cys ⁴ -Xaa ⁵ -Xaa ⁶ -Cys ⁷ -Xaa ⁸ -Asn ⁹ -Xaa ¹⁰ -Xaa ¹¹ -Cys ¹² -Xaa ¹³ -Xaa ¹⁴ -Cys ¹⁵ -d-Xaa ¹⁶	51
Формула VII-b	C4:C12,C7:C15	dAsn ¹ -dAsp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Xaa ⁵ -Xaa ⁶ -Cys ⁷ -Xaa ⁸ -Asn ⁹ -Xaa ¹⁰ -Xaa ¹¹ -Cys ¹² -Xaa ¹³ -Xaa ¹⁴ -Cys ¹⁵ -d-Xaa ¹⁶	52
Формула VIII	C4:C12,C7:C15	dAsn ¹ -dAsp ² -dGlu ³ -Cys ⁴ -Xaa ⁵ -Xaa ⁶ -Cys ⁷ -Xaa ⁸ -Tyr ⁹ -Xaa ¹⁰ -Xaa ¹¹ -Cys ¹² -Xaa ¹³ -Xaa ¹⁴ -Cys ¹⁵ -d-Xaa ¹⁶	53
Формула IX	C4:C12,C7:C15	dAsn ¹ -dGlu ² -dGlu ³ -Cys ⁴ -Xaa ⁵ -Xaa ⁶ -Cys ⁷ -Xaa ⁸ -Tyr ⁹ -Xaa ¹⁰ -Xaa ¹¹ -Cys ¹² -Xaa ¹³ -Xaa ¹⁴ -Cys ¹⁵ -d-Xaa ¹⁶	54
Формула XXI	C4:C12,C7:C15	Xaa _{n1} -Cys ⁴ -Xaa ⁵ -Xaa ⁶ -Xaa ⁷ -Xaa ⁸ -Xaa ⁹ -Xaa ¹⁰ -Xaa ¹¹ -Cys ¹² -Xaa ¹³ -Xaa ¹⁴ -Xaa ¹⁵ -Xaa _{n2} ¹⁶	250

Таблица 3

Линаклотид и производные

Название	Положение дисульфидных связей	Структура	SEQIDNO:
SP-339 (линаклотид)	C1:C6, C2:C10, C5:C13	Cys ¹ -Cys ² -Glu ³ -Tyr ⁴ -Cys ⁵ -Cys ⁶ -Asn ⁷ -Pro ⁸ -Ala ⁹ -Cys ¹⁰ -Thr ¹¹ -Gly ¹² -Cys ¹³ -Tyr ¹⁴	55
SP-340	C1:C6, C2:C10, C5:C13	Cys ¹ -Cys ² -Glu ³ -Tyr ⁴ -Cys ⁵ -Cys ⁶ -Asn ⁷ -Pro ⁸ -Ala ⁹ -Cys ¹⁰ -Thr ¹¹ -Gly ¹² -Cys ¹³	56
SP-349	C1:C6, C2:C10, C5:C13	PEG3-Cys ¹ -Cys ² -Glu ³ -Tyr ⁴ -Cys ⁵ -Cys ⁶ -Asn ⁷ -Pro ⁸ -Ala ⁹ -Cys ¹⁰ -Thr ¹¹ -Gly ¹² -Cys ¹³ -Tyr ¹⁴ -PEG3	57
SP-353	C3:C8, C4:C12, C7:C15	Asn ¹ -Phe ² -Cys ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Ser ⁶ -Cys ⁷ -Cys ⁸ -Asn ⁹ -Pro ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Tyr ¹⁶	58
SP-354	C3:C8, C4:C12, C7:C15	Asn ¹ -Phe ² -Cys ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Phe ⁶ -Cys ⁷ -Cys ⁸ -Asn ⁹ -Pro ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Tyr ¹⁶	59
SP-355	C1:C6, C2:C10, C5:C13	Cys ¹ -Cys ² -Glu ³ -Tyr ⁴ -Cys ⁵ -Cys ⁶ -Asn ⁷ -Pro ⁸ -Ala ⁹ -Cys ¹⁰ -Thr ¹¹ -Gly ¹² -Cys ¹³ -dTyr ¹⁴	60
SP-357	C1:C6, C2:C10, C5:C13	PEG3-Cys ¹ -Cys ² -Glu ³ -Tyr ⁴ -Cys ⁵ -Cys ⁶ -Asn ⁷ -Pro ⁸ -Ala ⁹ -Cys ¹⁰ -Thr ¹¹ -Gly ¹² -Cys ¹³ -Tyr ¹⁴	61
SP-374	C3:C8, C4:C12, C7:C15	Asn ¹ -Phe ² -Cys ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Thr ⁶ -Cys ⁷ -Cys ⁸ -Asn ⁹ -Pro ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Tyr ¹⁶	62
SP-375	C3:C8, C4:C12, C7:C15	Asn ¹ -Phe ² -Cys ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Ser ⁶ -Cys ⁷ -Cys ⁸ -Asn ⁹ -Pro ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dTyr ¹⁶	63
SP-376	C3:C8, C4:C12, C7:C15	dAsn ¹ -Phe ² -Cys ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Ser ⁶ -Cys ⁷ -Cys ⁸ -Asn ⁹ -Pro ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Tyr ¹⁶	64
SP-377	C3:C8, C4:C12, C7:C15	dAsn ¹ -Phe ² -Cys ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Ser ⁶ -Cys ⁷ -Cys ⁸ -Asn ⁹ -Pro ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dTyr ¹⁶	65
SP-378	C3:C8, C4:C12, C7:C15	Asn ¹ -Phe ² -Cys ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Thr ⁶ -Cys ⁷ -Cys ⁸ -Asn ⁹ -Pro ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dTyr ¹⁶	66
SP-379	C3:C8, C4:C12, C7:C15	dAsn ¹ -Phe ² -Cys ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Thr ⁶ -Cys ⁷ -Cys ⁸ -Asn ⁹ -Pro ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Tyr ¹⁶	67
SP-380	C3:C8, C4:C12, C7:C15	dAsn ¹ -Phe ² -Cys ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Thr ⁶ -Cys ⁷ -Cys ⁸ -Asn ⁹ -Pro ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dTyr ¹⁶	68
SP-381	C3:C8, C4:C12, C7:15	Asn ¹ -Phe ² -Cys ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Phe ⁶ -Cys ⁷ -Cys ⁸ -Asn ⁹ -Pro ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dTyr ¹⁶	69
SP-382	C3:C8, C4:C12, C7:15	dAsn ¹ -Phe ² -Cys ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Phe ⁶ -Cys ⁷ -Cys ⁸ -Asn ⁹ -Pro ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Tyr ¹⁶	70
SP-383	C3:C8, C4:C12, C7:15	dAsn ¹ -Phe ² -Cys ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Phe ⁶ -Cys ⁷ -Cys ⁸ -Asn ⁹ -Pro ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dTyr ¹⁶	71
SP384	C1:C6, C2:C10, C5:C13	Cys ¹ -Cys ² -Glu ³ -Tyr ⁴ -Cys ⁵ -Cys ⁶ -Asn ⁷ -Pro ⁸ -Ala ⁹ -Cys ¹⁰ -Thr ¹¹ -Gly ¹² -Cys ¹³ -Tyr ¹⁴ -PEG3	72
N14	C1:C6, C2:C10, C5:C13	PEG3-Cys ¹ -Cys ² -Glu ³ -Tyr ⁴ -Cys ⁵ -Cys ⁶ -Asn ⁷ -Pro ⁸ -Ala ⁹ -Cys ¹⁰ -Thr ¹¹ -Gly ¹² -Cys ¹³ -PEG3	73
N15	C1:C6, C2:C10, C5:C13	PEG3-Cys ¹ -Cys ² -Glu ³ -Tyr ⁴ -Cys ⁵ -Cys ⁶ -Asn ⁷ -Pro ⁸ -Ala ⁹ -Cys ¹⁰ -Thr ¹¹ -Gly ¹² -Cys ¹³	74
N16	C1:C6, C2:C10, C5:C13	Cys ¹ -Cys ² -Glu ³ -Tyr ⁴ -Cys ⁵ -Cys ⁶ -Asn ⁷ -Pro ⁸ -Ala ⁹ -Cys ¹⁰ -Thr ¹¹ -Gly ¹² -Cys ¹³ -PEG3	75
N17	C3:C8, C4:C12, C7:C15	PEG3-Asn ¹ -Phe ² -Cys ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Ser ⁶ -Cys ⁷ -Cys ⁸ -Asn ⁹ -Pro ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Tyr ¹⁶ -PEG3	76
N18	C3:C8, C4:C12, C7:C15	PEG3-Asn ¹ -Phe ² -Cys ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Ser ⁶ -Cys ⁷ -Cys ⁸ -Asn ⁹ -Pro ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Tyr ¹⁶	77
N19	C3:C8, C4:C12, C7:C15	Asn ¹ -Phe ² -Cys ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Ser ⁶ -Cys ⁷ -Cys ⁸ -Asn ⁹ -Pro ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Tyr ¹⁶ -PEG3	78
N20	C3:C8, C4:C12, C7:C15	PEG3-Asn ¹ -Phe ² -Cys ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Phe ⁶ -Cys ⁷ -Cys ⁸ -Asn ⁹ -Pro ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Tyr ¹⁶ -PEG3	79
N21	C3:C8, C4:C12, C7:C15	PEG3-Asn ¹ -Phe ² -Cys ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Phe ⁶ -Cys ⁷ -Cys ⁸ -Asn ⁹ -Pro ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Tyr ¹⁶	80
N22	C3:C8, C4:C12, C7:C15	Asn ¹ -Phe ² -Cys ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Phe ⁶ -Cys ⁷ -Cys ⁸ -Asn ⁹ -Pro ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Tyr ¹⁶ -PEG3	81
N23	C3:C8, C4:C12, C7:C15	PEG3-Asn ¹ -Phe ² -Cys ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Tyr ⁶ -Cys ⁷ -Cys ⁸ -Asn ⁹ -Pro ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Tyr ¹⁶ -PEG3	82
N24	C3:C8, C4:C12, C7:C15	PEG3-Asn ¹ -Phe ² -Cys ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Tyr ⁶ -Cys ⁷ -Cys ⁸ -Asn ⁹ -Pro ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Tyr ¹⁶	83

N25	C3:C8, C4:C12, C7:C15	Asn ¹ -Phe ² -Cys ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Tyr ⁶ -Cys ⁷ -Cys ⁸ -Asn ⁹ -Pro ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Tyr ¹⁶ -PEG3	84
N26	C1:C6, C2:C10, C5:C13	Cys ¹ -Cys ² -Glu ³ -Ser ⁴ -Cys ⁵ -Cys ⁶ -Asn ⁷ -Pro ⁸ -Ala ⁹ -Cys ¹⁰ -Thr ¹¹ -Gly ¹² -Cys ¹³ -Tyr ¹⁴	85
N27	C1:C6, C2:C10, C5:C13	Cys ¹ -Cys ² -Glu ³ -Phe ⁴ -Cys ⁵ -Cys ⁶ -Asn ⁷ -Pro ⁸ -Ala ⁹ -Cys ¹⁰ -Thr ¹¹ -Gly ¹² -Cys ¹³ -Tyr ¹⁴	86
N28	C1:C6, C2:C10, C5:C13	Cys ¹ -Cys ² -Glu ³ -Ser ⁴ -Cys ⁵ -Cys ⁶ -Asn ⁷ -Pro ⁸ -Ala ⁹ -Cys ¹⁰ -Thr ¹¹ -Gly ¹² -Cys ¹³	87
N29	C1:C6, C2:C10, C5:C13	Cys ¹ -Cys ² -Glu ³ -Phe ⁴ -Cys ⁵ -Cys ⁶ -Asn ⁷ -Pro ⁸ -Ala ⁹ -Cys ¹⁰ -Thr ¹¹ -Gly ¹² -Cys ¹³	88
N30	1:6, 2:10, 5:13	Pen ¹ -Pen ² -Glu ³ -Tyr ⁴ -Pen ⁵ -Pen ⁶ -Asn ⁷ -Pro ⁸ -Ala ⁹ -Pen ¹⁰ -Thr ¹¹ -Gly ¹² -Pen ¹³ -Tyr ¹⁴	89
N31	1:6, 2:10, 5:13	Pen ¹ -Pen ² -Glu ³ -Tyr ⁴ -Pen ⁵ -Pen ⁶ -Asn ⁷ -Pro ⁸ -Ala ⁹ -Pen ¹⁰ -Thr ¹¹ -Gly ¹² -Pen ¹³	90
Формула X	C9:C14, C10:C18, C13:C21	Xaa ¹ -Xaa ² -Xaa ³ -Xaa ⁴ -Xaa ⁵ -Xaa ⁶ -Asn ⁷ -Tyr ⁸ -Cys ⁹ -Cys ¹⁰ -Xaa ¹¹ -Tyr ¹² -Cys ¹³ -Cys ¹⁴ -Xaa ¹⁵ -Xaa ¹⁶ -Xaa ¹⁷ -Cys ¹⁸ -Xaa ¹⁹ -Xaa ²⁰ -Cys ²¹ -Xaa ²²	91
Формула XI	C9:C14, C10:C18, C13:C21	Xaa ¹ -Xaa ² -Xaa ³ -Xaa ⁴ -Xaa ⁵ -Xaa ⁶ -Asn ⁷ -Phe ⁸ -Cys ⁹ -Cys ¹⁰ -Xaa ¹¹ -Phe ¹² -Cys ¹³ -Cys ¹⁴ -Xaa ¹⁵ -Xaa ¹⁶ -Xaa ¹⁷ -Cys ¹⁸ -Xaa ¹⁹ -Xaa ²⁰ -Cys ²¹ -Xaa ²²	92
Формула XII	C3:C8, C4:C12, C7:C15	Asn ¹ -Phe ² -Cys ³ -Cys ⁴ -Xaa ⁵ -Phe ⁶ -Cys ⁷ -Cys ⁸ -Xaa ⁹ -Xaa ¹⁰ -Xaa ¹¹ -Cys ¹² -Xaa ¹³ -Xaa ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Xaa ¹⁶	93
Формула XIII	3:8, 4:12, 7:15	Asn ¹ -Phe ² -Pen ³ -Cys ⁴ -Xaa ⁵ -Phe ⁶ -Cys ⁷ -Pen ⁸ -Xaa ⁹ -Xaa ¹⁰ -Xaa ¹¹ -Cys ¹² -Xaa ¹³ -Xaa ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Xaa ¹⁶	94
Формула XIV	3:8, 4:12, 7:15	Asn ¹ -Phe ² -Maa ³ -Maa ⁴ -Xaa ⁵ -Xaa ⁶ -Maa ⁷ -Maa ⁸ -Xaa ⁹ -Xaa ¹⁰ -Xaa ¹¹ -Maa ¹² -Xaa ¹³ -Xaa ¹⁴ -Maa ¹⁵ -Xaa ¹⁶	95
Формула XV	1:6, 2:10, 5:13	Maa ¹ -Maa ² -Glu ³ -Xaa ⁴ -Maa ⁵ -Maa ⁶ -Asn ⁷ -Pro ⁸ -Ala ⁹ -Maa ¹⁰ -Thr ¹¹ -Gly ¹² -Maa ¹³ -Tyr ¹⁴	96
Формула XVI	1:6, 2:10, 5:13	Maa ¹ -Maa ² -Glu ³ -Xaa ⁴ -Maa ⁵ -Maa ⁶ -Asn ⁷ -Pro ⁸ -Ala ⁹ -Maa ¹⁰ -Thr ¹¹ -Gly ¹² -Maa ¹³	97
Формула XVII	1:6, 2:10, 5:13	Xaa _{n3} -Maa ¹ -Maa ² -Xaa ³ -Xaa ⁴ -Maa ⁵ -Maa ⁶ -Xaa ⁷ -Xaa ⁸ -Xaa ⁹ -Maa ¹⁰ -Xaa ¹¹ -Xaa ¹² -Maa ¹³ -Xaa _{n2}	98

Таблица 4

Пептиды GCRA

Название	Положение дисульфидных связей	Структура	SEQIDNO:
SP-363	C4:C12,C7:C15	dAsn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dLeu-AMID ¹⁶	99
SP-364	C4:C12,C7:C15	dAsn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dSer ¹⁶	100
SP-365	C4:C12,C7:C15	dAsn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dSer-AMID ¹⁶	101
SP-366	C4:C12,C7:C15	dAsn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dTyr ¹⁶	102
SP-367	C4:C12,C7:C15	dAsn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dTyr-AMID ¹⁶	103
SP-373	C4:C12,C7:C15	Pyglu ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dLeu-AMID ¹⁶	104
/	C4:C12,C7:C15	Pyglu ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Leu ¹⁶	251
SP-304diPEG	C4:C12,C7:C15	PEG3-Asn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Leu ¹⁶ -PEG3	105
SP-304N-PEG	C4:C12,C7:C15	PEG3-Asn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Leu ¹⁶	106
SP-304C-PEG	C4:C12,C7:C15	Asn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Leu ¹⁶ -PEG3	107

Таблица 5

Аналоги SP-304, урогуанилин и аналоги урогуанилина

Название	Положение дисульфидных связей	Структура	SEQIDNO
Формула XVIII	C4:C12, C7:C15	Xaa ¹ -Xaa ² -Xaa ³ -Maa ⁴ -Xaa ⁵ -Xaa ⁶ -Maa ⁷ -Xaa ⁸ -Xaa ⁹ -Xaa ¹⁰ -Xaa ¹¹ -Maa ¹² -Xaa ¹³ -Xaa ¹⁴ -Maa ¹⁵ -Xaa ¹⁶	108
Урогуанилин	C4:C12, C7:C15	Asn ¹ -Asp ² -Asp ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Leu ¹⁶	109
N32	C4:C12,C7:C15	Glu ¹ -Asp ² -Asp ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Leu ¹⁶	110
N33	C4:C12,C7:C15	Glu ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Leu ¹⁶	111
N34	C4:C12,C7:C15	Glu ¹ -Glu ² -Asp ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Leu ¹⁶	112
N35	C4:C12,C7:C15	Glu ¹ -Glu ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Leu ¹⁶	113
N36	C4:C12,C7:C15	Asp ¹ -Asp ² -Asp ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Leu ¹⁶	114
N37	C4:C12,C7:C15	Asp ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Leu ¹⁶	115
N38	C4:C12,C7:C15	Asp ¹ -Glu ² -Asp ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Leu ¹⁶	116

Таблица 6

Гуанилин и аналоги

Название	Положение дисульфидных связей	Структура	SEQIDNO
Формула XIX	4:12,7:15	Xaa ¹ -Xaa ² -Xaa ³ -Maa ⁴ -Xaa ⁵ -Xaa ⁶ -Maa ⁷ -Xaa ⁸ -Xaa ⁹ -Xaa ¹⁰ -Xaa ¹¹ -Maa ¹² -Xaa ¹³ -Xaa ¹⁴ -Maa ¹⁵	174
Гуанилин	C4:C12,C7:C15	Ser ¹ -His ² -Thr ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Ile ⁶ -Cys ⁷ -Ala ⁸ -Phe ⁹ -Ala ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Ala ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵	175
Человеческий Гуанилин	C4:C12, C7:C15	Pro ¹ -Gly ² -Thr ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Ile ⁶ -Cys ⁷ -Ala ⁸ -Tyr ⁹ -Ala ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵	252
N97	C4:C12,C7:C15	Ser ¹ -His ² -Thr ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Ile ⁶ -Cys ⁷ -Ala ⁸ -Asn ⁹ -Ala ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Ala ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵	176
N98	C4:C12,C7:C15	Ser ¹ -His ² -Thr ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Ala ⁸ -Asn ⁹ -Ala ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Ala ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵	177
N99	C4:C12,C7:C15	Ser ¹ -His ² -Thr ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Val ⁶ -Cys ⁷ -Ala ⁸ -Asn ⁹ -Ala ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Ala ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵	178
N100	C4:C12,C7:C15	Ser ¹ -His ² -Thr ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Tyr ⁶ -Cys ⁷ -Ala ⁸ -Asn ⁹ -Ala ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Ala ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵	179
N101	C4:C12,C7:C15	Ser ¹ -His ² -Thr ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Ile ⁶ -Cys ⁷ -Ala ⁸ -Asn ⁹ -Ala ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Ala ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵	180
N102	C4:C12,C7:C15	Ser ¹ -His ² -Thr ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Ala ⁸ -Asn ⁹ -Ala ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Ala ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵	181
N103	C4:C12,C7:C15	Ser ¹ -His ² -Thr ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Val ⁶ -Cys ⁷ -Ala ⁸ -Asn ⁹ -Ala ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Ala ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵	182
N104	C4:C12,C7:C15	Ser ¹ -His ² -Thr ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Tyr ⁶ -Cys ⁷ -Ala ⁸ -Asn ⁹ -Ala ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Ala ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵	183
N105	C4:C12,C7:C15	Ser ¹ -His ² -Thr ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Ile ⁶ -Cys ⁷ -Ala ⁸ -Asn ⁹ -Ala ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Ala ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵	184
N106	C4:C12,C7:C15	Ser ¹ -His ² -Thr ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Ala ⁸ -Asn ⁹ -Ala ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Ala ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵	185
N107	C4:C12,C7:C15	Ser ¹ -His ² -Thr ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Val ⁶ -Cys ⁷ -Ala ⁸ -Asn ⁹ -Ala ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Ala ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵	186
N108	C4:C12,C7:C15	Ser ¹ -His ² -Thr ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Tyr ⁶ -Cys ⁷ -Ala ⁸ -Asn ⁹ -Ala ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Ala ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵	187
N109	C4:C12,C7:C15	Ser ¹ -His ² -Thr ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Ile ⁶ -Cys ⁷ -Ala ⁸ -Asn ⁹ -Ala ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Ala ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵	188
N110	C4:C12,C7:C15	Ser ¹ -His ² -Thr ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Ala ⁸ -Asn ⁹ -Ala ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Ala ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵	189
N111	C4:C12,C7:C15	Ser ¹ -His ² -Thr ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Val ⁶ -Cys ⁷ -Ala ⁸ -Asn ⁹ -Ala ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Ala ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵	190
N112	C4:C12,C7:C15	Ser ¹ -His ² -Thr ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Tyr ⁶ -Cys ⁷ -Ala ⁸ -Asn ⁹ -Ala ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Ala ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵	191
N113	C4:C12,C7:C15	Asn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Ile ⁶ -Cys ⁷ -Ala ⁸ -Asn ⁹ -Ala ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Ala ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵	192
N114	C4:C12,C7:C15	Asn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Ala ⁸ -Asn ⁹ -Ala ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Ala ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵	193
N115	C4:C12,C7:C15	Asn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Val ⁶ -Cys ⁷ -Ala ⁸ -Asn ⁹ -Ala ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Ala ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵	194
N116	C4:C12,C7:C15	Asn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Tyr ⁶ -Cys ⁷ -Ala ⁸ -Asn ⁹ -Ala ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Ala ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵	195
N117	C4:C12,C7:C15	Asn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Ile ⁶ -Cys ⁷ -Ala ⁸ -Asn ⁹ -Ala ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Ala ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵	196
N118	C4:C12,C7:C15	Asn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Ala ⁸ -Asn ⁹ -Ala ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Ala ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵	197
N119	C4:C12,C7:C15	Asn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Val ⁶ -Cys ⁷ -Ala ⁸ -Asn ⁹ -Ala ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Ala ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵	198
N120	C4:C12,C7:C15	Asn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Tyr ⁶ -Cys ⁷ -Ala ⁸ -Asn ⁹ -Ala ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Ala ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵	199
N121	C4:C12,C7:C15	Asn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Ile ⁶ -Cys ⁷ -Ala ⁸ -Asn ⁹ -Ala ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Ala ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵	200
N122	C4:C12,C7:C15	Asn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Ala ⁸ -Asn ⁹ -Ala ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Ala ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵	201
N123	C4:C12,C7:C15	Asn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Val ⁶ -Cys ⁷ -Ala ⁸ -Asn ⁹ -Ala ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Ala ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵	202
N124	C4:C12,C7:C15	Asn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Tyr ⁶ -Cys ⁷ -Ala ⁸ -Asn ⁹ -Ala ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Ala ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵	203
N125	C4:C12,C7:C15	Asn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Ile ⁶ -Cys ⁷ -Ala ⁸ -Asn ⁹ -Ala ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Ala ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵	204
N126	C4:C12,C7:C15	Asn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Ala ⁸ -Asn ⁹ -Ala ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Ala ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵	205
N127	C4:C12,C7:C15	Asn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Val ⁶ -Cys ⁷ -Ala ⁸ -Asn ⁹ -Ala ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Ala ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵	206
N128	C4:C12,C7:C15	Asn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Tyr ⁶ -Cys ⁷ -Ala ⁸ -Asn ⁹ -Ala ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Ala ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵	207

Таблица 7

Лимфоугуанилин и аналоги

Название	Положение дисульфидных связей	Структура	SEQIDNO
Формула XX	4:12	Xaa ¹ -Xaa ² - Xaa ³ -Maa ⁴ -Xaa ⁵ -Xaa ⁶ -Maa ⁷ -Xaa ⁸ -Xaa ⁹ -Xaa ¹⁰ -Xaa ¹¹ -Maa ¹² -Xaa ¹³ -Xaa ¹⁴ -Xaa ¹⁵	208
Лимфоугуанилин	C4:C12	Gln ¹ -Glu ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Tyr ¹⁵	209
N129	C4:C12	Gln ¹ -Glu ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Thr ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Tyr ¹⁵	210
N130	C4:C12	Gln ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Thr ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Tyr ¹⁵	211
N131	C4:C12	Gln ¹ -Asp ² -Asp ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Thr ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Tyr ¹⁵	212
N132	C4:C12	Gln ¹ -Glu ² -Asp ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Thr ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Tyr ¹⁵	213
N133	C4:C12	Gln ¹ -Glu ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Glu ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Tyr ¹⁵	214
N134	C4:C12	Gln ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Glu ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Tyr ¹⁵	215
N135	C4:C12	Gln ¹ -Asp ² -Asp ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Glu ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Tyr ¹⁵	216
N136	C4:C12	Gln ¹ -Glu ² -Asp ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Glu ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Tyr ¹⁵	217
N137	C4:C12	Gln ¹ -Glu ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Tyr ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Tyr ¹⁵	218
N138	C4:C12	Gln ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Tyr ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Tyr ¹⁵	219
N139	C4:C12	Gln ¹ -Asp ² -Asp ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Tyr ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Tyr ¹⁵	220
N140	C4:C12	Gln ¹ -Glu ² -Asp ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Tyr ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Tyr ¹⁵	221
N141	C4:C12	Gln ¹ -Glu ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Ile ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Tyr ¹⁵	222
N142	C4:C12	Gln ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Ile ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Tyr ¹⁵	223
N143	C4:C12	Gln ¹ -Asp ² -Asp ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Ile ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Tyr ¹⁵	224
N144	C4:C12	Gln ¹ -Glu ² -Asp ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Ile ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Tyr ¹⁵	225
N145	C4:C12,C7:C15	Gln ¹ -Glu ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Thr ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Ser ¹⁶	226
N146	C4:C12,C7:C15	Gln ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Thr ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Ser ¹⁶	227
N147	C4:C12,C7:C15	Gln ¹ -Asp ² -Asp ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Thr ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Ser ¹⁶	228
N148	C4:C12,C7:C15	Gln ¹ -Glu ² -Asp ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Thr ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Ser ¹⁶	229
N149	C4:C12,C7:C15	Gln ¹ -Glu ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Glu ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Ser ¹⁶	230
N150	C4:C12,C7:C15	Gln ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Glu ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Ser ¹⁶	231
N151	C4:C12,C7:C15	Gln ¹ -Asp ² -Asp ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Glu ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Ser ¹⁶	232
N152	C4:C12,C7:C15	Gln ¹ -Glu ² -Asp ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Glu ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Ser ¹⁶	233
N153	C4:C12,C7:C15	Gln ¹ -Glu ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Tyr ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Ser ¹⁶	234
N154	C4:C12,C7:C15	Gln ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Tyr ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Ser ¹⁶	235
N155	C4:C12,C7:C15	Gln ¹ -Asp ² -Asp ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Tyr ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Ser ¹⁶	236
N156	C4:C12,C7:C15	Gln ¹ -Glu ² -Asp ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Tyr ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Ser ¹⁶	237
N157	C4:C12,C7:C15	Gln ¹ -Glu ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Ile ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Ser ¹⁶	238
N158	C4:C12,C7:C15	Gln ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Ile ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Ser ¹⁶	239
N159	C4:C12,C7:C15	Gln ¹ -Asp ² -Asp ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Ile ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Ser ¹⁶	240
N160	C4:C12,C7:C15	Gln ¹ -Glu ² -Asp ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Ile ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Ser ¹⁶	241

Таблица 8

ST Пептид и аналоги

Название	Положение дисульфидных связей	Структура	SEQIDNO
ST Пептид	C9:C14,C10:C18,C13:C21	Asn ¹ -Ser ² -Ser ³ -Asn ⁴ -Ser ⁵ -Ser ⁶ -Asn ⁷ -Tyr ⁸ -Cys ⁹ -Cys ¹⁰ -Glu ¹¹ -Lys ¹² -Cys ¹³ -Cys ¹⁴ -Asn ¹⁵ -Pro ¹⁶ -Ala ¹⁷ -Cys ¹⁸ -Thr ¹⁹ -Gly ²⁰ -Cys ²¹ -Tyr ²²	242
N161	C3:C8,C4:C12,C7:C15	PEG3-Asn ¹ -Phe ² -Cys ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Thr ⁶ -Cys ⁷ -Cys ⁸ -Asn ⁹ -Pro ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Tyr ¹⁶ -PEG3	243
N162	C3:C8,C4:C12,C7:C15	PEG3-Asn ¹ -Phe ² -Cys ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Thr ⁶ -Cys ⁷ -Cys ⁸ -Asn ⁹ -Pro ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Tyr ¹⁶	244
N163	C3:C8,C4:C12,C7:C15	Asn ¹ -Phe ² -Cys ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Thr ⁶ -Cys ⁷ -Cys ⁸ -Asn ⁹ -Pro ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Tyr ¹⁶ -PEG3	245
N164	C3:C8,C4:C12,C7:C15	Asn ¹ -Phe ² -Cys ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Tyr ⁶ -Cys ⁷ -Cys ⁸ -Asn ⁹ -Pro ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Tyr ¹⁶	246
N165	C3:C8,C4:C12,C7:C15	dAsn ¹ -Phe ² -Cys ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Tyr ⁶ -Cys ⁷ -Cys ⁸ -Asn ⁹ -Pro ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dTyr ¹⁶	247
N166	C3:C8,C4:C12,C7:C15	Asn ¹ -Phe ² -Cys ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Tyr ⁶ -Cys ⁷ -Cys ⁸ -Asn ⁹ -Pro ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dTyr ¹⁶	248
N167	C3:C8,C4:C12,C7:C15	dAsn ¹ -Phe ² -Cys ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Tyr ⁶ -Cys ⁷ -Cys ⁸ -Asn ⁹ -Pro ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Tyr ¹⁶	249

Термин "по существу состоящий из" включает пептиды, которые являются идентичными изложенной последовательности (любой из табл. 2-8) и другим последовательностям, которые по существу не отличаются в показателях либо структуры, либо функции. Для цели представленной заявки пептид отли-

чается по существу, если его структура отличается более чем на три аминокислоты от пептида любой из табл. 2-8 или если его активация клеточной выработки цГМФ уменьшается или повышается более чем на 50%. Предпочтительно по существу аналогичные пептиды должны отличаться не более чем на две аминокислоты и не отличаться более чем приблизительно на 25% в отношении активации выработки цГМФ.

Также в значение "по существу гомологичный" включен любой пептид-GCRA, который может быть выделен посредством перекрестной реактивности с антителами в пептиду-GCRA.

Получение пептидов-GCRA.

Пептиды-GCRA легко получают, используя современные методики клонирования, или их можно синтезировать с помощью твердофазных методов или с помощью сайт-направленного мутагенеза. Пептид-GCRA может включать доминантные отрицательные формы полипептида.

Химический синтез обычно можно осуществлять, используя стандартные методики синтеза пептидов в жидкой фазе или в твердой фазе, в которых пептидная связь возникает через прямую конденсацию аминогруппы одной аминокислоты с карбоксигруппой другой аминокислоты с устранением молекулы воды. Синтез пептидной связи посредством прямой конденсации, как сформулировано выше, требует подавления реактивного характера аминогруппы первой и карбоксильной группы второй аминокислот. Маскирующие заместители должны обеспечивать их легкое удаление, не вызывая разрыва неустойчивой молекулы пептида.

В жидкофазном синтезе может использоваться широкий ряд способов соединения и защитных групп (См., Gross and Meienhofer, eds., "The Peptides: Analysis, Synthesis, Biology", vol. 1-4 (Academic Press, 1979); Bodansky and Bodansky, "The Practice of Peptide Synthesis", 2d ed. (Springer Verlag, 1994)).

В дополнение возможны промежуточная очистка и линейное увеличение масштаба. Рядовым специалистам в данной области будет понятно, что синтез в растворе требует учета групп, защищающих главную цепь и боковую цепь, и способа активации. В дополнение необходим осторожный отбор сегментов для минимизации рацемизации во время конденсации сегментов. Фактором также являются соображения растворимости. В твердофазном синтезе пептидов используется нерастворимый полимер для подложки во время органического синтеза. Пептидная цепь на полимерной подложке обеспечивает возможность применения простых стадий промывания и фильтрации вместо трудоемких очисток на промежуточных стадиях. Твердофазный синтез пептидов обычно можно осуществлять согласно способу по Merrifield et al., J. Am. Chem. Soc., 1963, 85:2149, который включает сборку линейной пептидной цепи на полимерной подложке с использованием защищенных аминокислот. В твердофазном синтезе пептидов обычно используется либо Boc, либо Fmoc стратегии, которые хорошо известны в данной области.

Рядовым специалистам в данной области будет понятно, что в твердофазном синтезе реакции снятия защиты и соединения должны протекать до конца и группы, блокирующие боковую цепь, должны быть стабильными на протяжении всего синтеза. В дополнение твердофазный синтез обычно является наиболее подходящим, когда пептиды необходимо получать в маленьком объеме.

Ацетилирование N-конца может осуществляться путем реакции конечного пептида с уксусным ангидридом перед отщеплением из смолы. С-амидирование осуществляется с использованием подходящей смолы, такой как метилбензгидриламиновой смолы, с использованием технологии Boc.

В качестве альтернативы пептиды-GCRA получают с помощью современных методик клонирования. Например, пептиды-GCRA получают либо в бактериях, включая, без ограничения, *E.coli*, или в других существующих системах для выработки полипептидов или белков (например, *Bacillus subtilis*, экспрессирующих бакуловирусных системах, использующих клетки дрозофилы Sf9, экспрессирующих системах дрожжей или мицелиальных грибов, клеточных экспрессирующих системах млекопитающих), или они могут быть химически синтезированы. Если пептид-GCRA или иной пептид должен быть создан в бактериях, например, *E.coli*, молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая полипептид, также может кодировать лидерную последовательность, которая обеспечивает возможность секреции зрелого полипептида из клетки. Таким образом, последовательность, кодирующая полипептид, может содержать препоследовательность и пропоследовательность, например, существующего в природе бактериального ST полипептида. Секретированный, зрелый полипептид может быть очищен из культуральной среды.

Последовательность, кодирующая пептид-GCRA, описанный в данном документе, может быть вставлена в вектор, способный доставлять и сохранять молекулу нуклеиновой кислоты в клетках бактерии. Молекула DNA может быть вставлена в автономно реплицирующийся вектор (подходящие векторы включают, например, pGEM3Z, pCDNA3 и их производные). Нуклеиновой кислотой вектора может быть ДНК бактерии или бактериофага, такого как бактериофаг лямбда или M13 и их производные. За конструированием вектора, содержащего нуклеиновую кислоту, описанную в данном документе, может следовать трансформация клетки-хозяина, такого как бактерия. Подходящие бактерии-хозяева включают, но без ограничения, *E.coli*, *B.subtilis*, *Pseudomonas*, *Salmonella*, генетический конструктор также включает, в дополнение к кодирующей молекуле нуклеиновой кислоты, элементы, которые обеспечивают возможность экспрессии, такие как промотор и регуляторные последовательности. Экспрессионные векторы могут содержать транскрипционные контрольные последовательности, которые управляют инициацией транскрипции, такие как промоторные, энхансерные, операторные и репрессорные последовательности.

Квалифицированным специалистам в данной области хорошо известно множество транскрипцион-

ных контрольных последовательностей. Экспрессионный вектор также может содержать трансляционную регуляторную последовательность (например, нетранслируемую 5' последовательность, нетранслируемую 3' последовательность или участок внутренней посадки рибосомы).

Вектор может быть способен к автономной репликации, или он может интегрироваться в ДНК хозяина, чтобы обеспечить стабильность во время выработки полипептида.

Кодирующая белок последовательность, которая содержит пептид-GCRA, описанный в данном документе, также может быть слита с нуклеиновой кислотой, кодирующей полипептидный аффинный маркер, например глутатион S-трансферазу (GST), мальтоза Е связывающий белок, белок А, FLAG-маркер, гекса-гистидин, микологический маркер или HA маркер гриппа, для того чтобы облегчить очистку. Слияние аффинного маркера или репортера соединяет рамку считывания интересующего полипептида с рамкой считывания гена, кодирующего аффинный маркер, таким образом, что генерируется трансляционное слияние. Экспрессия гена слияния приводит к трансляции единичного полипептида, который содержит как интересующий полипептид, так и аффинный маркер. В некоторых случаях, когда используют аффинные маркеры, последовательность ДНК, кодирующая сайт распознавания протеазы, будет сливаться между рамками считывания для аффинного маркера и интересующего полипептида.

Генетические конструкторы и способы, подходящие для выработки незрелых и зрелых форм пептидов и вариантов GCRA, описанных в данном документе, в системах экспрессии белков, не являющихся бактериями, и хорошо известные квалифицированным специалистам в данной области, также могут быть использованы для выработки полипептидов в биологической системе.

Пептиды, раскрытые в данном документе, могут быть модифицированы за счет прикрепления второй молекулы, которая придает пептиду желательное свойство, такое как повышенный период полураспада в организме, например пегилирование. Подобные модификации также попадают в пределы объема правовых притязаний термина "вариант", который используется в данном документе.

Под "ингибированием", или "угнетением", или "уменьшением" подразумевают, что пептид-GCRA понижает активность и/или выработку белка по меньшей мере на 5%, по меньшей мере на 10%, по меньшей мере на 15%, по меньшей мере на 20%, по меньшей мере на 25%, по меньшей мере на 30%, по меньшей мере на 35%, по меньшей мере на 40%, по меньшей мере на 45%, по меньшей мере на 50%, по меньшей мере на 55%, по меньшей мере на 60%, по меньшей мере на 65%, по меньшей мере на 70%, по меньшей мере на 75%, по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95% или по меньшей мере на 100% или более относительно активности и/или выработки белка без пептида-GCRA.

Под "индуцировать" подразумевают, что пептид-GCRA увеличивает активность и/или выработку белка по меньшей мере на 5%, по меньшей мере на 10%, по меньшей мере на 15%, по меньшей мере на 20%, по меньшей мере на 25%, по меньшей мере на 30%, по меньшей мере на 35%, по меньшей мере на 40%, по меньшей мере на 45%, по меньшей мере на 50%, по меньшей мере на 55%, по меньшей мере на 60%, по меньшей мере на 65%, по меньшей мере на 70%, по меньшей мере на 75%, по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95% или по меньшей мере на 100% или более относительно активности и/или выработки белка без пептида-GCRA.

Термин "лечение" или "обработка" относится к уменьшению или ослаблению симптомов у больного, предотвращению ухудшения или нарастания симптомов, и/или предотвращению заболевания у больного, у которого оно отсутствует. Для данного больного улучшение, ухудшение, ослабление или нарастание симптомов может быть определено с помощью любого объективного или субъективного критерия. Эффективность лечения может быть измерена в виде улучшения заболеваемости или смертности (например, удлинения кривой выживаемости для выбранной популяции). Таким образом, эффективное лечение должно включать терапию существующего заболевания, контроль заболевания за счет замедления или остановки его нарастания, предотвращение возникновения заболевания, уменьшение количества или тяжести симптомов или их комбинацию. Результат может быть показан на стадии управления с использованием одного или более статистически значимых критериев.

Термин "предотвращение" в отношении данного заболевания или расстройства означает предотвращение начала развития заболевания, если не произошло предотвращение возникновения заболевания или расстройства у больного, который может быть предрасположен к расстройству или заболеванию, но у которого еще не было диагностировано наличие расстройства или заболевания, и/или предотвращение дальнейшего развития заболевания/расстройства, если оно уже имеется.

Внутриклеточный цГМФ вырабатывается за счет воздействия, например, контакта ткани (например, желудочно-кишечной ткани, ткани легкого, ткани пищевода) или клетки с агонистами-GCRA. Под индуцированием подразумевают увеличение выработки цГМФ по сравнению с тканью или клеткой, которая не была в контакте с пептидом или вариантом GCRA. Ткани или клетки непосредственно контактируют с пептидом или вариантом GCRA. В качестве альтернативы пептид или вариант GCRA вводят системно. Пептид или вариант GCRA вводят в количестве, достаточном для увеличения внутриклеточной концентрации цГМФ. Выработку цГМФ измеряют посредством исследования на клетках, известного в данной области (25).

Расстройства лечат, предотвращают или ослабляют посредством введения нуждающемуся в этом

больному, например млекопитающему, такому как человек, терапевтически эффективной дозы пептида-GCRA. Пептиды-GCRA могут присутствовать в фармацевтической композиции в виде разовой дозы, вместе с одним или более фармацевтически приемлемыми эксципиентами. Термин "форма разовой дозы" относится к единичному объекту доставки лекарственного средства, например таблетке, капсуле, раствору или лекарственной форме для ингаляции. Количество имеющегося пептида должно быть достаточным, чтобы иметь положительный терапевтический эффект при введении пациенту (обычно между 10 мкг и 3 г). Что именно составляет "положительный терапевтический эффект", будет зависеть от конкретного патологического состояния, подвергаемого лечению, и будет включать любое значимое улучшение патологического состояния, легко распознаваемое квалифицированным специалистом в данной области.

Пептиды-GCRA можно вводить отдельно или в комбинации с опиоидом. В данной области известны опиоиды, используемые для обезболивания. Например, опиоидные соединения включают, но без ограничения, альфентанил, анилеридин, азмадолин, бремасоцин, бупренорфин, буторфанол, кодеин, дезоцин, диацетилморфин (героин), дигидрокодеин, дифеноксилат, этилморфин, федотозин, фентанил, фуналтрексамин, гидрокодон, гидроморфон, левалморфан, левометадил ацетат, леворфанол, лоперамид, меперидин (петидин), метадон, морфин, морфин-6-глюкоронид, налбуфин, налорфин, никоморфин, опиум, оксикодон, оксиморфон, пантопон, пентазоцин, пропирам, пропоксифен, ремифентанил, суфентанил, тилидин, тримебутин и трамадол. В некоторых вариантах осуществления опиоидом является по меньшей мере один опиоид, выбранный из альфентанила, бупренорфина, буторфаноло, кодеина, дезоцина, дигидрокодеина, фентанила, гидрокодона, гидроморфона, леворфаноло, меперицина (петицина), метадона, морфина, налбуфина, никоморфина, оксикодона, оксиморфона, пантопона, пентазоцина, пропирама, пропоксифена, суфентанила и/или трамадола. В некоторых вариантах осуществления представленного изобретения опиоид выбирают из морфина, кодеина, оксикодона, гидрокодона, дигидрокодеина, пропоксифена, фентанила, трамадола и их смесей. В отдельном варианте осуществления опиоидом является лоперамид. В других вариантах осуществления опиоидом является смешанный агонист, такой как буторфанол. В некоторых вариантах осуществления больным вводят более чем один опиоид, например морфин и героин или метадон и героин.

Пептиды-GCRA можно вводить отдельно или в комбинации с другим терапевтическим агентом, например с терапевтическими агентами для лечения, предотвращения или ослабления симптомов индуцируемой опиоидами дисфункции. Иллюстративные терапевтические агенты включают, но без ограничения, пероральные слабительные средства (например, мягчительные или индуцирующие перистальтику средства), суппозитории, клизмы, антагонисты опиоидов (например, налоксон, налмефен, метилналтрексон), полиэтиленгликоль, лекарственные средства, которые избирательно выделяют периферические мю-опиоидные рецепторы (например, метилналтрексон, алвимопан), активаторы канала-переносчика для ионов хлора 2 типа (например, лубипростон), антагонисты рецепторов дофамина (например, метоклопрамид), неопиоиды, лиганды для рецептора 5-гидроксиทริปтамина (серотонин, 5HT), ампакины, ингибиторы рецептора N-метил-D-аспартата, модуляторы AMPA рецепторов, тапендатола, NKTR-118, TD-1211 и/или микроглиальные ингибиторы (например, миноциклин).

Термин "комбинированная терапия" означает введение двух или более активных агентов одновременно или последовательно. Одновременное введение может достигаться с лекарственной формой, в которой смешаны два или более активных агента или при одновременном введении двух или более активных агентов, приготовленных в независимых лекарственных формах. Последовательное введение двух или более активных агентов может достигаться с двумя или более активными агентами, приготовленными в независимых лекарственных формах, вводимых последовательно, при этом один агент вводят первым, за которым следует второй агент, вводимый спустя секунды, минуты, часы или дни после первого агента.

Комбинированная терапия может достигаться посредством введения двух или более агентов, например пептида-GCRA, описанного в данном документе, или композиции, описанной в данном документе, и другого соединения, каждое из которых приготовлено в виде лекарственной формы и вводится отдельно, или посредством введения двух или более агентов в виде единой лекарственной формы. Комбинированная терапия также охватывает другие комбинации. Например, два агента могут быть приготовлены в лекарственной форме вместе и вводиться в сочетании с отдельной лекарственной формой, содержащей третий агент. В то время как в комбинационной терапии два или более агентов могут вводиться одновременно, это не является необходимостью. Например, введение первого агента (или комбинации агентов) может предшествовать введению второго агента (или комбинации агентов) на минуты, часы, дни или недели. Таким образом, два или более агентов могут вводиться в пределах минуты друг от друга, или в пределах 1, 2, 3, 6, 9, 12, 15, 18 или 24 ч друг от друга, или в пределах 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 14 дней друг от друга, или в пределах 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, или 10 недель друг от друга. В некоторых случаях возможны даже более длинные интервалы. В то время как во многих случаях необходимо, чтобы два или более агентов, используемых в комбинированной терапии, в одно и то же время присутствовали внутри организма пациента, это не является необходимостью.

Пептиды-GCRA, описанные в данном документе, могут быть объединены с ингибиторами фосфо-

диэстеразы, например сулиндак сульфоном, запринастом, силденафилом, варденафилом или тадалафилом для дополнительного повышения уровней цГМФ в тканях или органах-мишенях.

Комбинированная терапия также может включать два или более введения одного или более агентов, используемых в комбинации. Например, если агент X и агент Y используются в комбинации, их можно вводить последовательно в любой комбинации один или более раз, например, в порядке X-Y-X, X-X-Y, Y-X-Y, Y-Y-X, X-X-Y-Y и т.д.

Комбинированная терапия также может включать введение двух или более агентов через различные пути или места. Например, (а) один агент вводят перорально, а другие агенты вводят внутривенно или (b) один агент вводят перорально, а другой вводят местно. В каждом случае агенты можно вводить либо одновременно, либо последовательно. Аппроксимированные дозировки для некоторых из агентов комбинированной терапии, описанных в данном документе, можно найти в "BNF Recommended Dose" столбце таблиц на страницах 11-17 WO 01/76632 (данные в таблицах относятся к марту 2000 г., Британский национальный формуляр), а также можно найти в других стандартных формулярах и других предписывающих лекарственных средства каталогах. Для некоторых лекарственных средств обычно предписываемая доза по показанию будет немного варьировать от страны к стране.

Пептиды-GCRA, отдельно или в комбинации, могут быть объединены с любым фармацевтически приемлемым носителем или средой. Таким образом, они могут быть объединены с материалами, которые не создают неблагоприятных, аллергических или иных нежелательных реакций при введении пациенту. Используемые носители или среды могут включать растворители, диспергирующие вещества, покрытия, способствующие поглощению агентов, агенты с регулируемым высвобождением и один или более инертных эксципиентов (которые включают крахмалы, полиолы, гранулирующие агенты, микрокристаллическую целлюлозу (например, целфер, Celphere beads®), разбавители, смазывающие вещества, связующие вещества, вещества для улучшения распадаемости таблеток и т.п.) и т.д. При необходимости дозировки таблеток раскрытых композиций могут быть покрыты с помощью стандартных водных или неводных технологий.

Фармацевтическая композиция изобретения составлена в виде лекарственной формы, совместимой с предназначенным для нее путем введения. Примеры путей введения включают парентеральное, например внутривенное, внутрикожное, подкожное, пероральное (например, ингаляционное), трансдермальное (местное), чресслизистое и ректальное введение. Растворы или суспензии, используемые для парентерального, внутрикожного или подкожного применения, могут включать следующие компоненты: стерильный разбавитель, такой как вода для инъекции, солевой раствор, нелетучие масла, полиэтиленгликоли, глицерин, пропиленгликоль или другие синтетические растворители; антибактериальные агенты, такие как бензиловый спирт или метиловые парабены; антиоксиданты, такие как аскорбиновая кислота или бисульфит натрия; хелатирующие агенты, такие как этилендиаминтетрауксусная кислота; буферы, такие как ацетаты, цитраты или фосфаты; и агенты для регулирования тоничности, такие как хлорид натрия или декстроза. pH можно регулировать кислотами или основаниями, такими как соляная кислота или гидроксид натрия. Парентеральный препарат может быть заключен в ампулы, одноразовые шприцы или флаконы на несколько доз, изготовленные из стекла или пластмассы.

Фармацевтические композиции, подходящие для использования для инъекций, включают стерильные водные растворы (при растворимости в воде) или дисперсии и стерильные порошки для незапланированного получения стерильных инъекционных растворов или дисперсий. Для внутривенного введения подходящие носители включают физиологический солевой раствор, бактериостатическую воду, Stermophor EL™ (BASF, Parsippany, N.J.) или фосфатно-солевой буферный раствор (PBS). Во всех случаях композиция должна быть стерильной и должна быть текучей в такой степени, чтобы имелась возможность легкого введения через шприц. Она должна быть стабильной в условиях изготовления и хранения и должна быть защищена против загрязняющего действия таких микроорганизмов, как бактерии и грибы. Носителем может быть растворитель или дисперсионная среда, содержащая, например, воду, этанол, полиол (например, глицерин, пропиленгликоль и жидкий полиэтиленгликоль и т.п.) и их подходящие смеси. Подходящая текучесть может сохраняться, например, за счет применения такого покрытия, как лецитин, за счет поддержания требуемого размера частиц в случае дисперсии и за счет применения поверхностно-активных веществ. Предотвращение действия микроорганизмов может достигаться с помощью различных антибактериальных и противогрибковых агентов, например, парабенов, хлорбутанола, фенола, аскорбиновой кислоты, тимерозала и т.п. Во многих случаях предпочтительным будет включение в композицию изотонических агентов, например сахаров, полиспиртов, таких как манитол, сорбитол, хлорид натрия. Пролонгированное поглощение инъекционных композиций может быть вызвано за счет включения в композицию агента, который задерживает поглощение, например моностеарата алюминия и желатина.

Стерильные инъекционные растворы могут быть получены посредством включения активного соединения (например, агониста-GCRA) в требуемом количестве в подходящем растворителе с одним или комбинацией ингредиентов, перечисленных выше, в соответствии с требованиями, с последующей стерилизацией с фильтрованием. В общем дисперсии получают посредством включения активного соедине-

ния в стерильную среду, которая содержит основную дисперсионную среду и требующиеся другие ингредиенты из перечисленных выше. В случае стерильных порошков для получения стерильных инъекруемых растворов способами получения являются вакуумная сушка и сублимационная сушка, которые дают порошок активного ингредиента плюс любой дополнительный требуемый ингредиент из его предварительно простерилизованного и профильтрованного раствора.

Пероральные композиции обычно включают инертный разбавитель или пищевой носитель, такой как маннитол, фруктоолигосахариды, полиэтиленгликоль и другие эксципиенты. Они могут быть заключены в желатиновые капсулы или спрессованы в таблетки. С целью перорального терапевтического введения активное соединение может быть объединено с эксципиентами и использоваться в виде таблеток, пастилок или капсул. Пероральные композиции также могут быть получены с использованием текучего носителя для применения в качестве полоскания для рта, при этом соединение в текучем носителе применяют перорально, полоскают и выплевывают или проглатывают. Фармацевтически совместимые связывающие агенты и/или материалы-адьюванты могут быть включены в виде части композиции. Таблетки, пилюли, капсулы, пастилки и т.п. могут содержать любой из следующих ингредиентов или соединений аналогичной природы: связующее вещество, такое как микрокристаллическая целлюлоза, трагакантовая камедь или желатин; эксципиент, такой как крахмал или лактоза, вещество для улучшения распадаемости таблеток, такое как альгиновая кислота, примогель или кукурузный крахмал; смазывающее вещество, такое как стеарат магния или стероты; вещество, способствующее скольжению, такое как коллоидный диоксид кремния; подслащивающее вещество, такое как сахароза или сахарин; или ароматизирующее вещество, такое как перечная мята, метил салицилат или апельсиновая отдушка.

Для введения с помощью ингаляции соединения доставляют в форме аэрозольной струи из находящегося под давлением контейнера или дозатора, который содержит подходящий пропеллент, например газ, такой как диоксид углерода, или небулайзера.

Системное введение также может происходить с помощью чресслизистого или трансдермального средства. Для чресслизистого или трансдермального введения в лекарственных формах используют проникающие вещества, подходящие для барьера, через который надо пройти. Подобные проникающие вещества в общем известны в данной области и включают, например, для чресслизистого введения детергенты, соли желчных кислот и производные фусидовой кислоты. Чресслизистое введение может осуществляться посредством применения назальных спреев или суппозитория. Для трансдермального введения активные соединения приготовлены в лекарственных формах в виде мазей, бальзамов, гелей или кремов, как в общем известно в данной области.

Соединения также могут быть получены в форме суппозитория (например, с обычными основами суппозитория, такими как кокосовое масло и другие глицериды) или удерживающих клизм для ректальной доставки.

В одном варианте осуществления активные соединения готовят с носителями, которые будут защищать соединение от быстрого удаления из организма, например лекарственные формы с регулируемым высвобождением, включая импланты и системы доставки в микрокапсулах. Могут использоваться биоразлагаемые, биосовместимые полимеры, такие как этиленвинилацетат, полиангидриды, полиглицолиевая кислота, коллаген, сложные полиортоэфир и полимолочная кислота. Способы получения подобных лекарственных форм будут понятны квалифицированным специалистам в данной области. Материалы также могут быть получены на коммерческой основе от Alza Corporation и Nova Pharmaceuticals, Inc. В качестве фармацевтически приемлемых носителей также могут быть использованы липосомные суспензии (включая липосомы, нацеленные на инфицированные клетки с моноклональными антителами к вирусным антигенам). Они могут быть получены согласно способам, известным квалифицированным специалистам в данной области, например, как описано в патенте США № 4522811, полностью включенном в данный документ посредством ссылки.

Для легкости введения и равномерности дозировки особенно предпочтительно готовить пероральные или парентеральные композиции в стандартной лекарственной форме. Стандартная лекарственная форма, как используется в данном документе, относится к физически дискретным единицам, пригодным в качестве стандартных дозровок для больного, подлежащего лечению, причем каждая единица содержит заданное количество активного соединения, рассчитанное для выработки требуемого терапевтического эффекта в сочетании с требуемым фармацевтическим носителем. Описание стандартных лекарственных форм изобретения диктуется и непосредственно зависит от уникальных характеристик активного соединения и конкретного терапевтического эффекта, который должен быть достигнут.

Фармацевтические композиции могут быть заключены в контейнер, упаковку или дозатор вместе с инструкциями для введения.

Композиции представленного изобретения могут также необязательно включать другие терапевтические ингредиенты, противослеживающие агенты, консерванты, подслащивающее вещества, красители, вкусоароматические добавки, осушители, пластификаторы, красящие вещества, вещества, способствующие скольжению, антиадгезивные вещества, антистатические вещества, поверхностно-активные вещества (смачивающие агенты), антиоксиданты, покрывающие пленкой агенты и т.п.. Любой подобный необязательный ингредиент должен быть совместим с соединением, описанным в данном документе, для

обеспечения стабильности лекарственной формы.

Композиция может содержать другие вспомогательные вещества по мере необходимости, включая, например, лактозу, глюкозу, фруктозу, галактозу, трегалозу, сахарозу, мальтозу, раффинозу, мальтит, мелицитозу, стахиозу, лактит, палатинит, крахмал, ксилитол, маннитол, миоинозитол и т.п. и их гидраты, и аминокислоты, например аланин, глицин и бетаин, и полипептиды и белки, например альбумин.

Примеры эксципиентов для применения в качестве фармацевтически приемлемых носителей и фармацевтически приемлемых инертных носителей и вышеупомянутых дополнительных ингредиентов включают, но без ограничения, связующие вещества, наполнители, разрыхлители, смазывающие вещества, антимикробные агенты и покрывающие агенты, такие как следующие.

Связующие вещества: кукурузный крахмал, картофельный крахмал, другие крахмалы, желатин, натуральные и синтетические камеди, такие как акациевая, ксантановая, альгинат натрия, альгиновая кислота, другие альгинаты, измельченная трагакантовая камедь, гуаровая камедь, целлюлоза и ее производные (например, этилцеллюлоза, ацетат целлюлозы, кальциевая соль карбоксиметилцеллюлозы, натриевая соль карбоксиметилцеллюлозы), поливинилпирролидон (например, повидон, кросповидон, копovidон и т.д.), метилцеллюлоза, гидроксипропилметилцеллюлоза, желатинированный крахмал (например, STARCH 1500® и STARCH 1500 LM®, продаваемые Colorcon, Ltd.), гидроксипропилметилцеллюлоза, микрокристаллическая целлюлоза (FMC Corporation, Marcus Hook, PA, USA) или их смеси.

Наполнители: тальк, карбонат кальция (например, гранулы или порошок), двухосновной фосфат кальция, трехосновной фосфат кальция, сульфат кальция (например, гранулы или порошок), микрокристаллическая целлюлоза, порошкообразная целлюлоза, декстраты, каолин, маннитол, кремниевая кислота, сорбитол, крахмал, желатинированный крахмал, декстроза, фруктоза, мед, безводная лактоза, моногидрат лактозы, лактоза и аспартам, лактоза и целлюлоза, лактоза и микрокристаллическая целлюлоза, мальтодекстрин, мальтоза, маннитол, микрокристаллическая целлюлоза & гуаровая камедь, меласса, сахароза смеси, разрыхлители, такие как агар-агар, альгиновая кислота, карбонат кальция, микрокристаллическая целлюлоза, кроскармеллоза натрия, кросповидон, полакрилин калия, карбоксиметилкрахмал натрия, картофельный или тапиоковый крахмал, другие крахмалы, желатинированный крахмал, глины, другие альгины, другие целлюлозы, камеди (подобные геллановой), низкозамещенная гидроксипропилцеллюлоза или их смеси.

Смазывающие вещества: стеарат кальция, стеарат магния, минеральное масло, легкое минеральное масло, глицерин, сорбитол, маннитол, полиэтиленгликоль, другие гликоли, стеариновая кислота, натрия лаурилсульфат, натрия стеарилфумарат, смазывающее вещество из жирных кислот из растительного сырья, тальк, гидрогенизированное растительное масло (например, арахисовое масло, хлопковое масло, подсолнечное масло, кунжутное масло, оливковое масло, кукурузное масло и соевое масло), стеарат цинка, этилолеат, этиллаурат, агар, силоидный силикагель (AEROSIL 200, W.R. Grace Co., Baltimore, MD USA), coagulated aerosol синтетические диоксида кремния (Deaussa Co., Plano, TX USA), пирогенный диоксид кремния (CAB-O-SIL, Cabot Co., Boston, MA USA) или их смеси.

Противослеживающие агенты: силикат кальция, силикат магния, диоксид кремния, коллоидный диоксид кремния, тальк или их смеси.

Антимикробные агенты: бензалкония хлорид, бензетония хлорид, бензойная кислота, бензиловый спирт, бутилпарабен, цетилпиридиний хлорид, крезол, хлорбутанол, дегидроуксусная кислота, этилпарабен, метилпарабен, фенол, фенилэтиловый спирт, феноксиэтанол, фенилмеркурацетат, фенилмеркурнитрат, сорбат калия, пропилпарабен, натрия бензоат, натрия дегидроацетат, натрия пропионат, сорбиновая кислота, тимеросал, тимьян или их смеси.

Покрывающие агенты: натриевая соль карбоксиметилцеллюлозы, ацетатфталат целлюлозы, этилцеллюлоза, желатин, фармацевтическая глазурь, гидроксипропилцеллюлоза, гидроксипропилметилцеллюлоза (гипромеллоза), фталат гидроксипропилметилцеллюлозы, метилцеллюлоза, полиэтиленгликоль, фталат поливинилацетата, шеллак, сахароза, титана диоксид, карнаубский воск, микрокристаллический воск, геллановая камедь, мальтодекстрин, метакрилаты, микрокристаллическая целлюлоза и каррагинан или их смеси.

Лекарственные формы также могут включать другие эксципиенты и их категории, включая, но без ограничения, L-гистидин, Pluronic®, Полоксамеры (такие как Lutrol® и Полоксамер 188), аскорбиновую кислоту, глутатион, агенты, улучшающие проницаемость (например, липиды, холат натрия, ацилкарнитин, салицилаты, смешанные соли желчных кислот, мицеллы жирных кислот, хелатирующие агенты, жирная кислота, поверхностно-активные вещества, среднецепочечные глицериды), ингибиторы протеаз (например, соевый ингибитор трипсина, органические кислоты), снижающие pH агенты и способствующие всасыванию агенты, эффективные в обеспечении биодоступности (включая, но без ограничения, агенты, описанные в US 6086918 и US 5912014), кремы и лосьоны (подобно мальтодекстрину и каррагинанам); материалы для жевательных таблеток (подобно декстрозе, фруктозе, моногидрату лактозы, лактозе и аспартаму, лактозе и целлюлозе, мальтодекстрину, мальтозе, маннитолу, микрокристаллической целлюлозе и гуаровой камеди, кристаллическому сорбитолу); агенты для парентерального применения (подобно маннитолу и повидону); пластификаторы (подобно дибутилсебацатату, пластификаторам для

покрытия, фталату поливинилацетата); порошкообразные смазки (подобно глицерил бегенату); мягкие желатиновые капсулы (подобно специальному раствору сорбитола); сферы для покрытия (подобно сахарным сферам); сфероидизирующие агенты (подобно глицерил бегенату и микрокристаллической целлюлозе); суспендирующие/желирующие агенты (подобно каррагинану, геллановой камеди, маннитулу, микрокристаллической целлюлозе, повидону, карбоксиметилкрахмалу натрия, ксантановой камеди); подсластители (подобно аспартаму, аспартаму и лактозе, декстрозе, фруктозе, меду, мальтодекстрину, мальтозе, маннитулу, мелассе, кристаллическому сорбитолу, специальному раствору сорбитола, сахарозе); агенты для влажного гранулирования (подобно карбонату кальция, безводной лактозе, моногидрату лактозы, мальтодекстрину, маннитулу, микрокристаллической целлюлозе, повидону, крахмалу), карамель, натрий-карбоксиметилцеллюлоза, вкусоароматическая добавка "вишневый крем" и вкусоароматическая добавка "вишня", безводная лимонная кислота, лимонная кислота, кондитерский сахар, D&C красный № 33, D&C Желтый #10 алюминиевый лак, динатрия эдетат, этиловый спирт 15%, FD&C желтый № 6 алюминиевый лак, FD&C Голубой #1 алюминиевый лак, FD&C Голубой № 1, FD&C Голубой № 2 алюминиевый лак, FD&C Зеленый № 3, FD&C красный № 40, FD&C Желтый № 6 алюминиевый лак, FD&C Желтый № 6, FD&C Желтый №10, глицерина пальмитостеарат, глицерил моностеарат, индигокармин, лецитин, манитол, метил- и пропилпарабены, моноаммония глицеризинат, натуральная и искусственная вкусоароматическая добавка "апельсин", фармацевтическая глазурь, полоксамер 188, полидекстроза, полисорбат 20, полисорбат 80, поливидон, желатинизированный кукурузный крахмал, желатинизированный крахмал, краситель железа оксид красный, сахарин натрия, карбоксиметилэфира натрия, хлорид натрия, цитрат натрия, фосфат натрия, клубничная вкусоароматическая добавка, синтетический краситель железа оксид черный, синтетический краситель железа оксид красный, диоксид титана и белый пчелиный воск.

Твердые пероральные лекарственные формы могут необязательно быть обработаны системами покрытия (например, система пленочного покрытия Opadry® fx, например, Opadry® голубой (OY-LS-20921), Opadry® белый (YS-2-7063), Opadry® белый (YS-1-7040) и черные чернила (S-1-8106).

Агенты либо в их свободной форме, либо в виде соли, можно комбинировать с полимером, таким как полимолочная-гликолевая кислота (PLGA), поли-(I)-молочная-гликолевая-винная кислота (P(I)LG) (WO 01/12233), полигликолевая кислота (США 3773919), полимолочная кислота (США 4767628), поли(ε-капролактон) и поли(алкиленоксид) (США 20030068384) для создания лекарственной формы с замедленным высвобождением. Подобные лекарственные формы могут использоваться в имплантах, которые высвобождают полипептид или другой агент в течение периода, составляющего несколько дней, несколько недель или несколько месяцев в зависимости от полимера, размера частиц полимера и размера импланта (см., например, US 6620422). Другие лекарственные формы с замедленным высвобождением и полимеры для применения в них описаны в EP 0467389 A2, WO 93/24150, US 5612052, WO 97/40085, WO 03/075887, WO 01/01964A2, US 5922356, WO 94/155587, WO 02/074247A2, WO 98/25642, US 5968895, US 6180608, US 20030171296, US 20020176841, US 5672659, US 5893985, US 5134122, US 5192741, US 5192741, US 4668506, US 4713244, US 5445832, US 4931279, US 5980945, WO 02/058672, WO 97/26015, WO 97/04744 и US 20020019446. В подобных лекарственных формах с замедленным высвобождением микрочастицы (Delie and Blanco-Prieto, 2005, Molecule, 10:65-80) полипептида комбинированы с микрочастицами полимера. Один или более имплантов с замедленным высвобождением может быть помещен в толстый кишечник, тонкий кишечник или в оба. US 6011011 и WO 94/06452 описывают лекарственную форму с замедленным высвобождением, предоставляющую либо полиэтиленгликоли (т.е. PEG 300 и PEG 400), либо триацетин. WO 03/053401 описывает лекарственную форму, которая может как улучшать биодоступность, так и обеспечивать регулируемое высвобождение агента в пределах ЖКТ. Дополнительные лекарственные формы с регулируемым высвобождением описаны в материалах WO 02/38129, EP 326151, US 5236704, WO 02/30398, WO 98/13029, US 20030064105, US 20030138488A1, US 20030216307A1, US 6667060, WO 01/49249, WO 01/49311, WO 01/49249, WO 01/49311 и США 5877224, которые могут включать лекарственные формы с регулируемым высвобождением, описанные в WO04041195 (включая герметичную и кишечнорастворимую оболочку, описанную в нем) и pH-регулируемые покрытия, которые обеспечивают доставку в толстый кишечник, включая pH-регулируемые покрытия, описанные в США 4910021 и WO 9001329. US 4910021 описывает применение pH-регулируемого материала для покрытия капсул. WO9001329 описывает применение pH-регулируемых покрытий на шариках, содержащих кислоту, где кислота в основной грануле пролонгирует растворение pH-регулируемого покрытия. Патент США № 5175003 раскрывает смесь полимеров с двойным механизмом, состоящую из pH-регулируемых кишечных материалов и пленкообразующих пластификаторов, способных придавать проницаемость кишечному материалу, для применения в системах доставки лекарственного средства; пеллеты с матрицей, состоящей из смеси полимеров с двойным механизмом, пропитанной лекарственным препаратом, и иногда покрывающей нейтральное в фармацевтическом отношении ядро; покрытые мембраной пеллеты, содержащей пеллеты с матрицей, покрытой оболочкой из смеси полимеров с двойным механизмом из такой же или другой композиции; и лекарственной формы, содержащей матрицу пеллет. Матрица пеллеты высвобождает растворимые в ки-

слотах лекарственные средства посредством диффузии в кислой pH и посредством распадаемости при уровнях pH, номинально составляющих приблизительно 5,0 или выше.

В некоторых вариантах осуществления композиции, описанные в данном документе, составлены в форме с зависимым от pH высвобождением. В качестве альтернативы подобные композиции составлены в форме, которая высвобождает пептиды в конкретной области желудочно-кишечного (GI) тракта (например, двенадцатиперстной кишке, тощей кишке, подвздошной кишке, терминальном отделе подвздошной кишки или восходящей ободочной кишке). Лекарственная форма может содержать инертный носитель, покрытый композицией и кишечнорастворимой оболочкой, которая высвобождает пептиды при конкретном pH (таком как pH 5 или pH 7). Предпочтительным pH для высвобождения в двенадцатиперстной кишке или тощей кишке является pH 4,5-5,5 или pH 5,5-6,5. Предпочтительным pH для высвобождения в подвздошной кишке, терминальном отделе подвздошной кишки или восходящей ободочной кишке является pH 5,5-6,5 или pH 6,5-7,5. Предпочтительно инертный носитель представляет собой выбранный из маннитола, лактозы, микрокристаллической целлюлозы или крахмала.

Пептиды-GCRA, описанные в данном документе, могут быть приготовлены в лекарственной форме с системой с иницилируемым pH намеченным регулируемым высвобождением, описанной в WO 04052339. Агенты, описанные в данном документе, могут быть приготовлены в лекарственной форме согласно методике, описанной в любом из WO 03105812 (экструдированные гидратируемые полимеры); WO 0243767 (мембранные транслокаторы, расщепляемые ферментами); WO 03007913 и WO 03086297 (мукоадгезивные системы); WO 02072075 (двухслойный состав с покрытием, включающий вещество, понижающее pH, и вещество, способствующее всасыванию); WO 04064769 (амидированные полипептиды); WO 05063156 (суспензия твердых липидов с псевдотропными и/или тиксотропными свойствами после плавления); WO 03035029 и WO 03035041 (разрушаемые, желудочные задерживающие лекарственные формы); US 5007790 и US 5972389 (лекарственные формы с замедленным высвобождением); WO 04/112711 (оральные композиции с пролонгированным действием); WO 05027878, WO 02072033 и WO 02072034 (композиции с отсроченным высвобождением и с природной или синтетической смолой); WO 05030182 (лекарственные формы с регулируемым высвобождением с возрастающей скоростью); WO 05048998 (система микрокапсуляции); патент US 5952314 (биополимер); US 5108758 (матричная доставка со стеклообразной амиллозой); US 5840860 (доставка на основе модифицированного крахмала). JP 10324642 (система доставки, включающая хитозан и устойчивые в желудочно-кишечном тракте материалы, такие как глиадин пшеницы или зеин); US 5866619 и US 6368629 (полимер, содержащий сахарид); US 6531152 (описывает систему доставки лекарственных средств, содержащую водорастворимое ядро (Са пектинат или другие водонерастворимые полимеры) и наружную оболочку, которая разрывается (например, гидрофобный полимер Eudragit)); US 6234464; US 6403130 (покрытие с полимером, содержащим казеин и высокометоксилированный пектин); WO 0174175 (продукт реакции Майяра); WO 05063206 (состав, увеличивающий растворимость); WO 04019872 (слитые белки-носители).

Лекарственные формы с регулируемым высвобождением.

В одном варианте осуществления лекарственная форма агониста GCC содержит направляющий материал, который обеспечивает регулируемое (временнзависимое) высвобождение агониста GCC. Регулируемое высвобождение в данном контексте включает отсроченное замедленное высвобождение, отсроченное регулируемое высвобождение, отсроченное медленное высвобождение, отсроченное пролонгированное высвобождение, отсроченное продленное высвобождение и неожиданное высвобождение или "взрывное".

Предпочтительно лекарственная форма с регулируемым высвобождением содержит медленно разрушающуюся сердцевину, содержащую агонист GCC, окруженный направляющим материалом. Направляющий материал предпочтительно содержит по меньшей мере один набухаемый полимер. Неограничивающие примеры набухаемых полимеров для применения в лекарственной форме изобретения с регулируемым высвобождением включают акриловые сополимеры, например EUDRAGIT RL, EUDRAGIT RS или EUDRAGIT NE; поливинилацетат, например KOLLICOAT SR 30D; и производные целлюлозы, такие как этилцеллюлоза или ацетатцеллюлоза, например SURELEASE и AQUACOAT ECD. В предпочтительном варианте осуществления направляющий материал содержит одно или более из EUDRAGIT RL, EUDRAGIT RS или EUDRAGIT NE для обеспечения регулируемого по времени высвобождения агониста GCC за счет независимого от pH набухания. В отдельном варианте осуществления направляющий материал содержит EUDRAGIT RL:RS (2:8) и наружное покрытие, содержащее EUDRAGIT FS.

Дополнительные неограничивающие примеры набухаемых полимеров, которые могут использоваться в лекарственных формах изобретения с замедленным высвобождением, включают поли(гидроксалькилметакрилат), имеющий молекулярную массу от 30000 до 5000000; каппа-каррагинан; поливинилпирролидон, имеющий молекулярную массу от 10000 до 360000; анионные и катионные гидрогели; полиэлектролитные комплексы; поли(виниловый спирт), имеющий низкие количества ацетата, поперечно-сшитого с глиоксалом, формальдегидом или глутаральдегидом и имеющего степень полимеризации от 200 до 30000; смесь, содержащую метилцеллюлозу, поперечно-сшитый агар и карбоксиметилцеллюлозу; водонерастворимый, водонабухаемый сополимер, получаемый посредством образования дисперсии тонкоизмельченного малеинового ангидрида со стиролом, этиленом, пропиленом, бутиленом

или изобутиленом; набухаемые в воде полимеры N-виниллактамов; полисахарид, набухаемые в воде камеди, гидроксипропилметилцеллюлозу высокой вязкости и/или их смеси. В некоторых вариантах осуществления набухаемый полимер выбирают из группы, состоящей из пектината кальция, поперечно-сшитого полисахарида, водонерастворимого крахмала, микрокристаллической целлюлозы, водонерастворимого поперечно-сшитого пептида, водонерастворимого поперечно-сшитого белка, водонерастворимого поперечно-сшитого желатина, водонерастворимого поперечно-сшитого гидролизованного желатина, водонерастворимого поперечно-сшитого коллагена, модифицированной целлюлозы и поперечно-сшитой полиакриловой кислоты. Неограничивающие примеры поперечно-сшитого полисахарида включают нерастворимые соли металлов или поперечно-сшитые производные альгината, пектина, ксантановой камеди, гуаровой камеди, трагакантовой камеди и камеди рожкового дерева, каррагинана, их солей металлов и их ковалентных поперечно-сшитых производных. Неограничивающие примеры модифицированной целлюлозы включают поперечно-сшитые производные гидроксипропилцеллюлозы, гидроксипропилметилцеллюлозы, гидроксизетилцеллюлозы, метилцеллюлозы, карбоксиметилцеллюлозы и соли металлов карбоксиметилцеллюлозы.

В некоторых вариантах осуществления набухаемая сердцевина также содержит капиллярный агент, такой как диоксид кремния. Капиллярный агент также может быть выбран из разрыхлителя, такого как микрокристаллическая целлюлоза с усилением скорости водопоглощения. Другие подходящие капиллярные агенты включают, но без ограничения, каолин, диоксид титана, пирогенный диоксид кремния, оксид алюминия, ниацинамид, лаурилсульфат натрия, поливинилпирролидон с низкой молекулярной массой, m-пирол, бентонит, алюмосиликат магния, сложный полиэфир, полиэтилен и их смеси.

В некоторых вариантах осуществления направляющий материал, который может содержать часть сердцевины и/или образовывать один или более слоев, покрывающих сердцевину, необязательно дополнительно содержит по меньшей мере одно из смазывающих веществ, способствующих протеканию средства, пластификатора, уменьшающего липкость средства, поверхностно-активного вещества, смачивающего средства, суспендирующего средства и диспергирующего средства.

В некоторых вариантах осуществления направляющий материал содержит водонерастворимый полимер и порообразующее средство. Неограничивающие примеры порообразующих средств включают сахарозу, хлорид натрия, хлорид калия, поливинилпирролидон и/или полиэтиленгликоль, водорастворимые органические кислоты, сахара и сахарный спирт. В некоторых вариантах осуществления порообразующее средство образует часть наружного слоя или покрытия. В других вариантах осуществления порообразующее средство неравномерно распределено на протяжении всего водонерастворимого полимера.

В одном варианте осуществления направляющий материал содержит наносимое прессованием покрытие.

Неограничивающие примеры материалов, которые могут использоваться в качестве наносимого прессованием покрытия, включают камедь, выбранную из группы, состоящей из ксантановой камеди, камеди бобов рожкового дерева, галактанов, маннанов, альгинатов, камеди карайи, пектина, агара, трагаканта, камеди акации, каррагинана, трагаканта, хитозана, агара, альгиновой кислоты, гидроколлоидов акации катеху, камеди *salai guggal*, камеди индийского бделия, камеди копайбы, асафетиды, камеди *sambhi*, *Enterolobium cyclocarpum*, камеди мастикового дерева, бензойной камеди, сандарака, камеди кабира, камеди *Butea frondosa* (камеди растения "пламя леса"), мирру, коньяк маннана, гуаровой камеди, велановой камеди, геллановой камеди, камеди тары, камеди бобов рожкового дерева, каррагинановой камеди, глюкоманнана, галактановой камеди, альгината натрия, трагаканта, хитозана, ксантановой камеди, деацетилированной ксантановой камеди, пектина, полипектата натрия, глутена, камеди карайи, тамариндовой камеди, гхатти камеди, акароидной/Уасса/красной камеди, даммаровой камеди, камеди можжевельника, сложноэфирной камеди, камеди семян *ipil-ipil*, камеди *talha* (*Acacia seyal*) и камеди клеток культурных растений, в том числе камеди растений родов: *acacia*, *actinidia*, *aptenia*, *carbobrotus*, *chickorium*, *cucumis*, *glycine*, *hibiscus*, *hordeum*, *letuca*, *lycopersicon*, *malus*, *medicago*, *mesembryanthemum*, *oryza*, *panicum*, *phalaris*, *phleum*, *poliathus*, *polycarbophyl*, *sida*, *solanum*, *trifolium*, *trigonella*, камедь семян *Azafia africana*, камедь *Treculia africana*, камедь *detarium*, камедь *cassia*, камедь *carob*, камедь *Prosopis africana*, камедь *Colocassia esulenta*, камедь *Hakea gibbosa*, камедь *khaya*, склероглюкан и зеа, а также смеси любых из перечисленных.

В некоторых вариантах осуществления направляющий материал дополнительно содержит пластификатор, повышающее жесткость вещество, смачивающий агент, суспендирующий агент, диспергирующий агент или их комбинацию. Неограничивающие примеры пластификатора включают дибутилсебацат, полиэтиленгликоль и полипропиленгликоль, дибутилфталат, диэтилфталат, триэтилцитрат, трибутилцитрат, ацетилованный моноглицерид, ацетилтрибутилцитрат, триацетин, диметилфталат, бензиловый бензоат, бутиловые и/или гликолевые сложные эфиры жирных кислот, рафинированные минеральные масла, олеиновую кислоту, касторовое масло, кукурузное масло, камфору, глицерин и сорбитол или их комбинацию. В одном варианте осуществления повышающее жесткость вещество содержит цетиловый спирт. Неограничивающие примеры смачивающих агентов включают полоксамер, полиоксисетиленовые эфиры, полиоксисетиленовые сложные эфиры сорбита и жирных кислот, полиоксисетиленовый стеарат, лаурилсульфат натрия, сложные эфиры сорбита и жирных кислот, хлорид бензалкония, поли-

этоксилированное касторовое масло и докузат натрия. Неограничивающие примеры суспендирующих агентов включают альгиновую кислоту, бентонид, карбомер, карбоксиметилцеллюлозу, карбоксиметилцеллюлозу кальция, гидроксиэтилцеллюлозу, гидроксипропилцеллюлозу, микрокристаллическую целлюлозу, коллоидный диоксид кремния, декстрин, желатин, гуаровую камедь, ксантановую камедь, каолин, алюмосиликат магния, мальтит, среднецепочечные триглицериды, метилцеллюлозу, полиоксиэтиленовые сложные эфиры сорбита и жирных кислот, поливинилпирролидинон, пропиленгликоль альгинат, альгинат натрия, сложные эфиры сорбита и жирных кислот и трагакантовую камедь. Неограничивающие примеры диспергирующих агентов включают полоксамер, полиоксиэтиленовые сложные эфиры сорбита и жирных кислот и сложные эфиры сорбита и жирных кислот.

В некоторых вариантах осуществления лекарственная форма с намеченным высвобождением дополнительно содержит наружную кишечнорастворимую оболочку поверх материала с намеченным высвобождением. Предпочтительно кишечнорастворимую оболочку выбирают из группы, состоящей из ацетатфталата целлюлозы, ацетатсукцината гидроксипропилметилцеллюлозы, EUDRAGIT L100 и EUDRAGIT L30D-55.

Взрывная лекарственная форма.

В одном варианте осуществления лекарственной формой агониста GCC является лекарственная форма с задержкой по времени, выполненная с возможностью быстрого взрывного высвобождения агониста GCC в толстой кишке или тонкой кишке ("взрывная лекарственная форма"). Лекарственная форма содержит сердцевину и наружный слой. Сердцевина содержит по меньшей мере один агонист GCC и по меньшей мере один агент с регулируемым взрывом. В некоторых вариантах осуществления сердцевина дополнительно содержит по меньшей мере один разрыхлитель, выбранный из группы, состоящей из кроскармеллозы натрия, кросповидона (поперечно-сшитого PVP), карбоксиметилкрахмала натрия (натрия крахмала гликолята), поперечно-сшитой карбоксиметилцеллюлозы натрия (кроскармеллозы), желатинизированного крахмала (крахмала 1500), микрокристаллического крахмала, водонерастворимого крахмала, карбоксиметилцеллюлозы кальция и алюмосиликата магния или их комбинации. В других вариантах осуществления сердцевина дополнительно содержит по меньшей мере одно из способствующего всасыванию вещества, связующего вещества, повышающего твердость вещества, буферного вещества, наполнителя, регулирующего протекание вещества, смазывающего вещества, взаимоусиливающего вещества, хелатирующего вещества, антиоксиданта, стабилизатора и консерванта. Необязательно сердцевина также содержит один или более других эксципиентов.

Агент с регулируемым взрывом в сердцевине предпочтительно содержит водонерастворимый полимер для регулируемой скорости проникновения воды в сердцевину и повышения внутреннего давления (осмотического давления) внутри сердцевины. Подобный агент с регулируемым взрывом предпочтительно способен набухать при контакте с жидкостью. Неограничивающие примеры подходящих водонерастворимых полимеров включают поперечносшитый полисахарид, водонерастворимый крахмал, микрокристаллическую целлюлозу, водонерастворимый поперечно-сшитый пептид, водонерастворимый поперечно-сшитый белок, водонерастворимый поперечно-сшитый желатин, водонерастворимый поперечно-сшитый гидролизированный желатин, водонерастворимый поперечно-сшитый коллаген, модифицированную целлюлозу и поперечно-сшитую полиакриловую кислоту. В одном варианте осуществления водонерастворимый полимер представляет собой поперечно-сшитый полисахарид, выбранный из группы, состоящей из нерастворимых солей металлов или поперечно-сшитых производных альгината, пектина, ксантановой камеди, гуаровой камеди, трагакантовой камеди и камеди бобов рожкового дерева, каррагинановой камеди, их солей металлов и их ковалентных поперечно-сшитых производных. В одном варианте осуществления водонерастворимый полимер представляет собой модифицированную целлюлозу, выбранную из группы, состоящей из поперечно-сшитых производных гидроксипропилцеллюлозы, гидроксипропилметилцеллюлозы, гидроксиэтилцеллюлозы, метилцеллюлозы, карбоксиметилцеллюлозы и солей металлов карбоксиметилцеллюлозы. В еще одном варианте осуществления водонерастворимый полимер выбирают из кальция пектината, микрокристаллической целлюлозы или их комбинации.

Наружный слой содержит водонерастворимый гидрофобный носитель и порообразующий агент, состоящий из водонерастворимого гидрофильного специального вещества.

Порообразующий агент представляет собой водопроницаемый агент, который обеспечивает возможность поступления жидкости в сердцевину. Необязательно наружный слой дополнительно содержит по меньшей мере одно из смачивающего агента, суспендирующего агента, диспергирующего агента, повышающего жесткость вещества и пластификатора.

В некоторых вариантах осуществления водонерастворимый гидрофобный носитель выбирают из группы, состоящей из сополимера диметиламиноэтилакрилата/этилметакрилата, причем сополимер основан на сложных эфирах акриловой и метакриловой кислоты с низким содержанием групп четвертичного аммония, при этом молярное соотношение аммониевых групп и остальных нейтральных сложных эфиров (мет)акриловой кислоты составляет приблизительно 1:20, полимера, соответствующего USP/NF "Аммонийно-Метакрилатному Сополимеру Типа А", сополимера этилметакрилата/хлортриметиламмонийметил метакрилата, сополимера на основе сложных эфиров акриловой и метакриловой кислоты с низкими содержанием групп четвертичного аммония, при этом молярное соотношение аммониевых группы и остальных

ных нейтральных сложных эфиров (мет)акриловой кислоты составляет 1:40, полимера, соответствующего USP/NF "Аммонийно-Метакрилатному Сополимеру Типа В", сополимера диметиламиноэтилметакрилата/метилметакрилата и бутилметакрилата, сополимера на основе нейтральных сложных эфиров метакриловой кислоты и сложных эфиров диметиламиноэтилметакрилата, при этом полимер является катионным в присутствии кислот, этилакрилата и сополимера метилакрилата/этилметакрилата и метилметилакрилата, причем сополимером является нейтральный сополимер на основе нейтральных сложных эфиров метакриловой кислоты и акриловой кислоты, этилцеллюлозы, шеллака, зеина и восков.

В некоторых вариантах осуществления водонерастворимое вещество в виде частиц представляет собой гидрофильный, а также водонерастворимый полимер, предпочтительно выбранный из группы, состоящей из водонерастворимого поперечно-сшитого полисахарида, водонерастворимого поперечно-сшитого белка, водонерастворимого поперечно-сшитого пептида, водонерастворимого поперечно-сшитого желатина, водонерастворимого поперечно-сшитого гидролизованного желатина, водонерастворимого поперечно-сшитого коллагена, водонерастворимой поперечно-сшитой полиакриловой кислоты, водонерастворимых поперечно-сшитых производных целлюлозы, водонерастворимого поперечно-сшитого поливинилпирролидона, микрокристаллической целлюлозы, нерастворимого крахмала, микрокристаллической крахмала и их комбинации. Наиболее предпочтительно водонерастворимым веществом в виде частиц является микрокристаллическая целлюлоза.

В некоторых вариантах осуществления взрывная лекарственная форма дополнительно содержит кишечнорастворимую оболочку на наружном слое. Кишечнорастворимую оболочку предпочтительно выбирают из группы, состоящей из ацетатфталат целлюлозы, ацетатсукцинат гидроксипропилметилцеллюлозы и полимера EUDRAGIT, такого как EUDRAGIT L100 или EUDRAGIT L30D-55.

Биоразлагающиеся лекарственные формы.

В одном варианте осуществления лекарственная форма агониста GCC содержит натуральный или синтетический полимер, который подвержен разложению посредством по меньшей мере одного бактериального фермента толстой кишки. Предпочтительно агонист GCC погружен в полимерный матрикс. Неограничивающие примеры подобных полимеров включают полимеры полисахаридов, таких как амилаза, хитозана, хондроитинсульфат, циклодекстрин, декстран, гуаровую камедь, пектин и ксилан. Предпочтительно, натуральный или синтетический полимер желируют или поперечно-сшивают с катионом, таким как катион цинка, например, из сульфата цинка, хлорида цинка или ацетата цинка. Лекарственная форма предпочтительно находится в форме ионно поперечно-сшитых шариков, которые в дальнейшем покрывают кишечнорастворимой оболочкой. Кишечнорастворимая оболочка может содержать любой подходящий для кишечнорастворимой оболочки материал, такой как фталат гидроксипропилметилцеллюлозы, поливинилацетатфталат, ацетатфталат целлюлозы, ацетатсукцинат гидроксипропилметил целлюлозы, альгиновая кислота и альгинат натрия, или полимер EUDRAGIT.

В еще одном варианте осуществления лекарственная форма агониста GCC содержит агонист GCC, ковалентно конъюгированный с молекулой-носителем таким образом, что ковалентная связь между агонистом GCC и носителем в желудке и тонкой кишке является стабильной, но лабильной в нижнем отделе желудочно-кишечного тракта, особенно в толстой кишке. Агонист GCC, ковалентно связанный с молекулой-носителем, упоминается как "пролекарство GCC". В некоторых вариантах осуществления пролекарство GCC содержит агонист GCC, ковалентно конъюгированный с молекулой-носителем посредством азосвязи или гликозидной связи. В других вариантах осуществления пролекарство GCC содержит глукуронид, циклодекстрин, сложный эфир декстрана или полярную аминокислоту. В некоторых вариантах осуществления пролекарство GCC представляет собой полимерное пролекарство. В одном варианте осуществления полимерное пролекарство содержит полиамиды, содержащие азогруппы.

Дозировка.

Пептиды-GCRA, описанные в данном документе, могут быть приготовлены в лекарственной форме с использованием технологии желудочно-кишечной удерживающей системы (GIRES; Merriam Pharmaceuticals). GIRES содержит форму выпуска с регулируемым высвобождением внутри надувного мешка, который помещен в капсулу с лекарственным средством для перорального введения. При растворении капсулы газогенерирующая система надувает мешок в желудке, где он сохраняется в течение 16-24 ч, все время высвобождая вещества, описанные в данном документе.

Пептиды-GCRA, описанные в данном документе, могут быть приготовлены в лекарственной форме в осмотическом устройстве, включая осмотические устройства, раскрытые в US 4503030, US 5609590 и US 5358502. US 4503030 раскрывает осмотическое устройство для диспергирования лекарственного средства в области желудочно-кишечного тракта с определенным pH. Более конкретно изобретение относится к осмотическому устройству, содержащему стенку, образованную из полупроницаемой чувствительной к pH композиции, которая окружает отделение, содержащее лекарственное средство, с проходом через стенку, соединяющим внешнюю часть устройства с отделением. Устройство доставляет лекарственное средство с регулируемой скоростью в область желудочно-кишечного тракта, имеющую pH меньше чем 3,5, и устройство саморазрушается и высвобождает все свое лекарственное средство в область желудочно-кишечного тракта, имеющую pH больше чем 3,5, обеспечивая посредством этого общую доступность для поглощения лекарственного средства. Патенты США № 5609590 и 5358502 раскрывают

осмотическое взрывное устройство для диспергирования полезного вещества в водную окружающую среду. Устройство содержит полезное вещество и осмотический агент, окруженный по меньшей мере частично полупроницаемой мембраной. Полезное вещество также может выступать в качестве осмотического агента. Полупроницаемая мембрана является проницаемой для воды и по существу непроницаемой для полезного вещества и осмотического агента. Иницирующее средство прикреплено к полупроницаемой мембране (например, соединяет две половины капсулы).

Иницирующее средство активируется рН от 3 до 9 и иницирует возможную, но неожиданную, доставку полезного вещества. Данные устройства обеспечивают возможность иницируемого рН высвобождения сердцевин из полезного вещества в виде болуса посредством осмотического взрыва.

Уровни дозировок активных ингредиентов в фармацевтической композиции также могут варьировать, для того чтобы достичь переходной или устойчивой концентрации соединения у больного, особенно в месте и вокруг места воспаления или зоны заболевания, и чтобы привести к требуемому ответу. Вполне в пределах компетенции в данной области начинать дозы соединения с уровней ниже, чем требуются для достижения требуемого действия, и постепенно увеличивать дозировку, пока не будет достигнуто требуемое действие. Должно быть понятно, что конкретный уровень дозы для любого отдельно больного будет зависеть от ряда факторов, включая массу тела, общего состояния здоровья, питания, естественного течения болезни, пути и схемы введения, комбинирования с одним или более другими лекарственными средствами и тяжести заболевания.

Эффективная доза композиции будет обычно находиться между приблизительно 1 мкг и приблизительно 10 мг на килограмм массы тела, предпочтительно между приблизительно 10 мкг и 5 мг соединения на килограмм массы тела. Регулирование дозировки будет сделано с применением способов, которые являются общеринятыми в данной области и будет основываться на используемой конкретной композиции и клиническим соображениям.

Агонисты рецептора гуанилатциклазы, используемые в способах, описанных выше, можно вводить перорально, системно или местно. Лекарственные формы включают препараты для ингаляции или инъекции, растворы, суспензии, эмульсии, таблетки, капсулы, бальзамы для местного применения и лосьоны, трансдермальные композиции, другие известные пептидные лекарственные формы и пегилированные пептидные аналоги. Агонисты можно вводить либо в виде единственного активного агента, либо в комбинации с другими лекарственными средствами, например с ингибитором цГМФ-зависимой фосфодиэстеразы и с противовоспалительным агентом. Во всех случаях дополнительные лекарственные средства необходимо вводить в дозировке, которая является терапевтически эффективной с использованием в качестве руководящих рекомендаций существующего уровня техники. Лекарственные средства можно вводить в единой композиции или последовательно.

Уровни дозировки агониста GCR для применения в способах данного изобретения обычно составляют приблизительно от 0,001 мг до приблизительно 10000 мг в сутки, предпочтительно от приблизительно 0,005 мг до приблизительно 1,000 мг в сутки. Например, эффективная дозировка пептида-GCRA для применения в способах данного изобретения составляет приблизительно 0,1, приблизительно 0,2, приблизительно 0,3, приблизительно 0,4, приблизительно 0,5, приблизительно 0,6, приблизительно 0,7, приблизительно 0,8, приблизительно 0,9, приблизительно 1,0, приблизительно 1,5, приблизительно 2,0, приблизительно 2,5, приблизительно 3,0, приблизительно 3,5, приблизительно 4,0, приблизительно 4,5, приблизительно 5,0, приблизительно 5,5, приблизительно 6,0, приблизительно 6,5, приблизительно 7,0, приблизительно 7,5, приблизительно 8,0, приблизительно 8,5, приблизительно 9,0, приблизительно 9,5, приблизительно 10, приблизительно 11, приблизительно 12, приблизительно 13, приблизительно 14, приблизительно 15, приблизительно 16, приблизительно 17, приблизительно 18, приблизительно 19 или приблизительно 20 мг в день или необязательно два раза в день. Предпочтительно пептид-GCRA дают после еды (т.е. через 30 мин). В некоторых вариантах осуществления вводят второй агент, используемый для лечения расстройства метаболизма липидов, билиарного расстройства, сердечно-сосудистого заболевания, ожирения или эндокринного расстройства. Подходящие вторые агенты описаны в данном документе. В некоторых аспектах второй агент вводят в менее чем стандартных дозах для лечения конкретного расстройства, поскольку пептид-GCRA действует в синергизме со вторым агентом. Например, приблизительно 2,5, приблизительно 5, приблизительно 7,5 или приблизительно 10 мг Liptor дают два раза в день после еды (т.е. через 30 мин). В зависимости от мг/кг суточной дозы, даваемой либо в разовой, либо в разделенных дозах, дозировки обычно варьируют приблизительно от 0,001/75 мг/кг до приблизительно 10,000/75 мг/кг, предпочтительно от приблизительно 0,005/75 мг/кг до приблизительно 1,000/75 мг/кг.

Общая суточная доза каждого ингибитора может вводиться пациенту в единой дозе или во множественных субдозах. Обычно субдозы можно вводить от двух до шести раз в день, предпочтительно от двух до четырех раз в день и даже более предпочтительно от двух до трех раз в день. Дозы могут быть в лекарственной форме с немедленным высвобождением или в лекарственной форме с замедленным высвобождением, достаточно эффективных для получения требуемого контроля в течение патологического состояния.

Схема приема лекарственного средства, с одной стороны, для предотвращения, лечения, облегчения или ослабления патологического состояния или расстройства или, с другой стороны, для защиты от па-

тологического состояния или лечения патологического состояния комбинациями и композициями представленного изобретения выбрана в соответствии с рядом факторов. Данные факторы включают, но без ограничения, конституцию, возраст, массу тела, пол, питание и патологическое состояние больного, тяжесть заболевания, путь введения, фармакологические аспекты, такие как действие, эффективность, фармакокинетический и токсикологический профили конкретных используемых ингибиторов, используется ли система доставки лекарственного средства или вводятся ли ингибиторы с другими активными ингредиентами. Таким образом, фактически используемая схема приема может широко варьировать и вследствие этого отклоняться от изложенной выше предпочтительной схемы приема.

Примеры

Пример 1. Пероральная обработка SP-333, аналогом урогуанилина, облегчает морфин- и метадон-индуцированный запор посредством активации гуанилатциклазы-С и муковисцидозный трансмембранный регулятор проводимости у крыс.

Опиоиды широко используются для лечения хронической боли, но их употребление часто связано с тяжелым запором у людей, для которых стандартные слабительные средства являются не очень эффективными. Хочется верить, что данный побочный эффект имеет место вследствие понижения секреции текучих сред, воздействуя на сократительную способность желудочно-кишечного (GI) тракта и дефекацию (BM). Механизм, через который возникает индуцированное опиоидами нарушение стула, показан на фиг. 2. Таким образом, существует потребность в безопасном, вводимом перорально фармакологическом агенте, который способен облегчить запор, индуцированный обширным классом опиоидов.

SP-333, аналог урогуанилина, активирует GC-C для стимуляции выработки циклического GMP, который, в свою очередь, активирует муковисцидозный трансмембранный регулятор проводимости (CFTR), апикальный хлоридный канал, ответственный за эффлюкс хлорид-ионов из энтероцитов, выстилающих желудочно-кишечный (GI) тракт, приводя к чистому эффлюксу воды в просвет кишечника для облегчения дефекации и сократительной способности ЖКТ (Shailubhai, 2002; Forte, 2004; Basu et al., 2010; Steinbrecher, 2014).

Данное исследование демонстрирует потенциал SP-333 в качестве перорального терапевтического лекарственного средства для лечения индуцируемого опиоидами запора (OIC). Лечение SP-333 вызывает зависимое от концентрации увеличение токов короткого замыкания (I_{sc}) через монослой клеток T-84 и ткань тощей кишки крыс, даже в присутствии морфина или метадона. Данное увеличение в токе короткого замыкания, по всей видимости, опосредовано через GC-C/цГМФ механизм активации белка киназы G-II и муковисцидозного трансмембранного регулятора проводимости. В исследованиях на крысах ежедневное интраперитонеальное введение метадона в течение семи дней создавало значительную задержку пассажа по ЖКТ, приводящую к выраженному снижению ежедневного выделения кала. Вводимый перорально SP-333 полностью восстанавливал задержку желудочно-кишечного транзита, вызванную морфином или метадоном. Пероральная обработка SP-333 (2,5 и 5 мг/кг/день) не только нормализовала желудочно-кишечный транзит, но также частично восстанавливала выделение кала.

Материалы и способы.

Культура клеток.

T84, клеточная линия рака человека, была закуплена у American Type Culture Collection (ATCC) (Manassas, VA, USA). Клетки культивировали в среде DMEM/F-12 (Fisher Scientific, Pittsburgh, PA), содержащей 10% фетальной бычьей сыворотки (Atlanta Biologicals, Flowery Branch, GA), 1% пенициллина/стрептомицина (Invitrogen, Carlsbad, CA) и 1% глутамакса (Invitrogen, Carlsbad, CA), как описано (Shailubhai et al., 2000). Для экспериментов в камере Уссинга клетки выращивали на вставках Snapwell из 12 мм проницаемой мембраны из сложного полиэфира (размер пор 0,4 мкм) с плотностью засева, составляющей ~150000 клеток/вставку (CLS 3801, Sigma, Saint Louis, MO) и инкубировали при 37°C в увлажненной атмосфере, содержащей 5% CO₂.

Животные.

Все манипуляции исследования проводили по краткому руководству исследования, утвержденному Институциональным комитетом по уходу за животными и их использованию исследовательских лабораторий MB (Spinnerstown, PA) или Lampire Biological Laboratories (Pipersville, PA). Самок крыс линии Спрег-Дули [Crl:CD(SD)] в возрасте от семи до восьми недель, весящих между ~180-210 г, получили от Charles River Laboratories и дали возможность акклиматизироваться в течение недели. Животных содержали на 12-часовом цикле света-темноты. Для сбора ткани тонкого кишечника и оценки желудочно-кишечного транзита крысы голодали в течение по меньшей мере 18 ч перед экспериментом со свободным доступом к воде.

Сбор тканей крыс.

Крысы были умерщвлены посредством ингаляции CO₂. Был сделан срединный разрез брюшной полости. Проксимальный 5-сантиметровый отрезок тощей кишки на 1 см дистальнее связки Трейтца идентифицировали, иссекали и переносили в ледяную среду RPMI, содержащую индометацин (10 мкм). Через 10 мин ткань переносили в свежую ледяную среду RPMI без индометацина. Ткань прикалывали на планшет для диссекции и рассекали вдоль брыжеечного края с апикальным концом, направленным

вверх, и помещали на ползуны камеры Уссинга, как описано ниже.

Измерение токов короткого замыкания.

Измерение I_{sc} проводили на системе EasyMount камеры Уссинга (4 камеры) с многоканальным вольт-амперными (I-V) клеммами VCCMC8 (Physiologic Instruments, San Diego, CA). Трансэпителиальное сопротивление (TER) через монослой клеток, культивированных на проницаемых мембранах, регулярно контролировали с применением эпителиального вольт-омметра EVOM (EMD Millipore, MA). Применяли сплошной слой клеток T-84 с $TER > 1000 \text{ ом}\cdot\text{см}^2$. Клетки и ткани помещали на конкретные ползуны (площадь щели $1,12 \text{ см}^2$ для клеток и $0,5 \text{ см}^2$ для ткани), предоставленные Physiologic Instruments, и помещали в камеру Уссинга. Камеры на продолжительное время погружали в буферный раствор Кребса-Рингера. Омывающий базолатеральную поверхность раствор содержал (в mM) 115 NaCl, 25 NaHCO_3 , 3,3 KH_2PO_4 , 0,8 K_2HPO_4 , 1,12 MgCl_2 , 1,2 CaCl_2 и 10 ГЭПЭС (Cuppoletti et al., 2004). Для того чтобы исследовать действие SP-333 или конкретных ингибиторов на хлоридные каналы на апикальной мембране, создавали хлоридный градиент от базолатеральной поверхности к апикальной посредством замещения NaCl в буферном растворе, контактирующего с апикальной мембраной, равной концентрацией глюконата натрия. Поскольку глюконат хелатирует ионы Ca^{2+} , концентрация CaCl_2 повышалась до 4 mM (Bijvelds et al., 2009). Буферный раствор продолжительно насыщали углеродом (смесь 95% O_2 и 5% CO_2) и температуру 37°C сохраняли постоянной с помощью отопительного блока. Леммы соединяли с программным обеспечением Acquire & Analyze (Physiologic Instruments) для автоматического сбора данных из всех четырех камер. Для измерения величины трансэпителиального напряжения и проходящего тока применяли контрольные электроды Ag/AgCl.

Для оценки стимулированного SP-333 тока короткого замыкания через монослой клеток T-84 ($n=4$ трансвел/концентрация) и ткань тощей кишки крыс ($n=4$ препаратов/концентрация), указанные количества агониста добавляли к апикальному буферному раствору после стабилизации исходного состояния и регистрировали пиковую активность и строили в виде графика как I_{sc} ($\text{мкА}/\text{см}^2$) $\pm$ стандартная ошибка средней. Влияние морфина или метадона на стимулированный SP-333 ток короткого замыкания определяли посредством предварительной обработки клеток ($n=3$ трансвел/опиоидная концентрация) и тощей кишки крыс ($n=4-15$ препаратов/опиоидная концентрация) на апикальной стороне опиоидом в течение 5 мин (Cuppoletti et al., 2013). В дальнейшем к буферному раствору на апикальной стороне добавляли 1 мкМ SP-333, пиковую активность стимулированных токов измеряли и выражали в виде хлоридных токов (I_{sc}) (относительно контрольной группы, получающей носитель) $\pm$ стандартная ошибка средней. Для оценки роли, которую играют PKA и PKG-II, и определения относительного вклада CFTR и CIC-2 в отношении опосредованного агонистами высвобождения Cl^- -ионов эксперименты проводили в присутствии и отсутствии киназы и ингибиторов СТ каналов. Используемыми ингибиторами были CdCl_2 (ингибитор CIC-2; Sigma-Aldrich; St Louis, MO), $\text{CFTR}_{inh} 172$ (ингибитор CFTR; Santa Cruz Biotech; Dallas, Texas), KT5823 (ингибитор PKG; R&D Системы, Minneapolis, MN), mPKI (ингибитор PKA; EMD Millipore; Billerica, MA). Перед добавлением 1 мМ SP-333 клетки T-84 ($n=4$ трансвел/условие) и ткань тощей кишки ($n=4-6$ препаратов/условие) предварительно обрабатывали в течение 5 мин каждым ингибитором в указанной концентрации. Пиковый ток, полученный после добавления SP-333, регистрировали и рассчитывали в показателях процентных значений относительной активности $\pm$ стандартная ошибка средней.

Влияние SP-333 на индуцируемую опиоидами задержку желудочно-кишечного транзита у крыс.

Способность опиоидов к задержке желудочно-кишечного транзита у крыс исследовали либо посредством введения 0 (носитель), 0,25, 1 и 2,5 мг/кг морфина или 0 (носитель), 0,25, 2,5 и 5 мг/кг метадона (объемная доза 1,5 мл/кг) посредством интраперитонеальной инъекции. В качестве контроля растворителем служила вода. Через 10 мин 2 мл питания, содержащее активированный уголь, состоящее из 10% активированного угля (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) и 10% смолы акации (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) в воде вводили посредством перорального кормления через желудочный зонд. Через 10 мин после питания, включавшего уголь, крысы были умерщвлены посредством интраперитонеальной инъекции 150 мг/кг раствора Beuthanasia-D (пентобарбитал натрия, 390 мг/мл). Извлекали тонкую кишку и регистрировали общую длину от пилорического сфинктера до илеоцекального соединения, а также расстояние, пройденное ведущим краем угля. Транзит по кишечнику определяли посредством подсчета отношения (выражено в виде процента) расстояния между пилорическим сфинктером и ведущим краем угля к расстоянию между пилорическим сфинктером и илеоцекальным соединением.

Для оценки способности SP-333 вызывать обратное развитие индуцированной морфином задержки желудочно-кишечного транзита животным вводили 2,5 мг/кг морфина посредством интраперитонеальной инъекции тотчас после перорального введения через желудочный зонд 0 (носитель), 0,5, 2,5, 5 и 50 мг/кг SP-333 (объемная доза 1,5 мл/кг). В качестве контроля растворителем служила вода. Через 10 мин вводили питание, включавшее уголь, и через 10 мин после питания, включавшего активированный уголь, крысы были умерщвлены, и транзит по кишечнику рассчитывали, как описано выше.

Для оценки способности SP-333 вызывать обратное развитие индуцированной метадоном задержки желудочно-кишечного транзита животным вводили 2,5 мг/кг метадона посредством интраперитонеальной инъекции. Через 10 мин, тотчас после перорального введения через желудочный зонд 2 мл питания,

содержащего уголь, перорально через желудочный зонд вводили 0 (носитель), 0,1, 0,5, 2,5, 5 и 50 мг/кг SP-333 (объемная доза 1,5 мл/кг). Через 10 мин после питания, включавшего активированный уголь, крысы были умерщвлены, и транзит по кишечнику рассчитывали, как описано выше.

Способность SP-333 ослаблять задержку желудочно-кишечного транзита, индуцированного повторным введением метадона, также оценивали аналогичным образом. Самки крыс линии Спрег-Дуули в возрасте от семи до восьми недель ($n=7$ /группа) получали посредством интраперитонеальной инъекции 16 доз метадона (один раз в день; 7 доз по 5 мг/кг и 9 доз по 2,5 мг/кг). Через 10 мин после каждой дозы метадона каждая группа получала пероральное кормление через желудочный зонд носителя, 2,5, и 5 мг/кг SP-333. В конце режима применения препарата животные голодали в течение ночи и оценивали желудочно-кишечный транзит, как описано выше.

Влияние SP-333 на индуцированный метадонот запор у крыс.

Для идентификации дозы метадона, которая индуцирует запор у крыс, самкам крыс линии Спрег-Дуули в возрасте от семи до восьми недель ($n=6$ /группа) вводили 0 (носитель), 2,5, 5, и 7,5 мг/кг метадона (1,5 мл/кг объемная доза) посредством интраперитонеальной инъекции один раз в день в течение 5 дней. Фекальные комочки собирали с 4 ч интервалами во время светового цикла и регистрировали среднее количество комочков для каждой группы в ходе исследования после введения суточной дозы метадона.

Для оценки способности SP-333 уменьшать индуцированный метадонот запор с целью индуцирования запора самкам крыс линии CD Спрег-Дуули в возрасте от 7 до 8 недель ($n=7$ /группа) вводили 5 мг/кг метадона (или носителя) каждый день в течение 7 дней посредством интраперитонеальной инъекции, каждый день через 10 мин после интраперитонеальной дозы пероральное вводили через желудочный зонд 2,5 и 5 мг/кг SP-333 или носителя (буфер). Фекальные комочки собирали с 4-часовыми интервалами во время светового цикла и регистрировали среднее количество комочков для каждой группы в ходе исследования после введения суточной дозы носителя, метадона или комбинация метадона и SP-333.

Статистический анализ.

Для подсчета сводных статистических данных и инферентных тестов применяли GraphPad Prism (version 6.01). Данные, выраженные как среднее $\pm$ стандартная ошибка среднего и различия между контрольной группой и группой лечения, оценивали на значимость посредством двустороннего t-критерия Стьюдента.

Результаты.

PKG-II- и CFTR-каналзависимое стимулирование токов Cl^- посредством SP-333 в клетках T-84 и тощей кишке крыс. SP-333 стимулирует Cl^- токи (выражены в виде увеличения тока короткого замыкания) в клетках T-84 и тощей кишке крыс. Результаты изображены на фиг. 3. Включение SP-333 (0,01-10 мкМ) в буферный раствор в контакте с поверхностью слизистой клеток T-84 (фиг. 3А) или тощей кишкой крыс (фиг. 3В) приводила к зависимому от концентрации увеличению тока короткого замыкания, приближаясь к насыщению при 10 мкМ в обоих случаях. Общий ток короткого замыкания из тканей тощей кишки был значительно выше, чем ток наблюдаемый для клеток T-84. Однако концентрация SP-333, которая индуцировала 50% увеличение тока короткого замыкания в монослойе клеток T-84 ($EC_{50}=1,69 \times 10^{-7}$ М) или ткани тощей кишки ($EC_{50}=2,99 \times 10^{-7}$ М) была сравнима.

В клетках T-84 80% подавление SP-333-стимулированного тока короткого замыкания наблюдалось в присутствии 10 мкМ CFTR_{inh}172 по сравнению с подавлением, наблюдаемым отдельно с 1 мкМ SP-333 (фиг. 4А). Относительный ток короткого замыкания в присутствии ингибитора PKG-II (4 мкМ) также подавлялся приблизительно на 35% (фиг. 4А). Не наблюдалось никакого заметного снижения стимулированного тока короткого замыкания в присутствии ингибитора CIC-2, CdCl₂ (300 мкМ) и 3,2 мкМ ингибитора протеинкиназы А (mPKI-) (фиг. 4А). Аналогичная картина наблюдалась для тощей кишки крыс, хотя величина ингибирования с равным количеством CFTR_{inh}172 была меньше по сравнению с величиной, обнаруживаемой в клетках T-84 (фиг. 4В). Взятые вместе результаты предполагают, что для опосредованного SP-333 увеличения тока короткого замыкания в модели клеточной системы, а также в крысиных тканях требуются активированные каналы PKG-II и CFTR.

Влияние морфина и метадона на SP-333-стимулированные Cl^- токи. Влияние выбранных концентраций морфина и метадона на SP-333-стимулированный ток короткого замыкания оценивали в клетках T-84 и тощей кишки крыс. Результаты показаны на фиг. 5 (морфин) и фиг. 6 (метадон).

Предварительная обработка апикальной мембраны 5 мкМ морфина имела ничтожное влияние на 1 мкМ SP-333-стимулированный ток короткого замыкания в клетках T-84 и тканях тощей кишки крыс (фиг. 5). Аналогично клетки T-84 и тощая кишка крыс, предварительно обработанные 5 мкМ метадона не оказывали влияние на опосредованные SP-333 токи (фиг. 6А и 6В).

Влияние перорального введения SP-333 на индуцированную морфином задержку желудочно-кишечного транзита крыс. Дозозависимое увеличение транзита по тонкому кишечнику наблюдалось после единичного перорального введения через желудочный зонд дозы SP-333 (5,6, 13, 23% при 0,05, 0,5 и 5 мг/кг соответственно; см. фиг. 7) по сравнению с контролем средой, если предполагается, что обработка отдельно SP-333 вызывает увеличение желудочно-кишечного транзита у животных, не использовав-

шихся ранее в опытах с опиоидами (Joshi et al., 2014). Интраперитонеальное (IP) введение морфина значительно уменьшало желудочно-кишечный транзит у крыс (фиг. 8А). По сравнению с контролем средой желудочно-кишечный транзит после единичной дозы морфина замедлялся на 52, 56 и 56% при 0,25, 1,0 и 2,5 мг/кг опиоида соответственно.

Для оценки способности SP-333 уменьшать индуцированную морфином задержку желудочно-кишечного транзита животным вводили 2,5 мг/кг морфина посредством интраперитонеальной инъекции непосредственно, за чем следовало пероральное введение через желудочный зонд 0 (носитель), 0,5, 2,5, 5 и 50 мг/кг SP-333. Животных умерщвляли через 10 мин и рассчитывали желудочно-кишечный транзит, как описано в "Материалах и методах". Морфин значительно уменьшал желудочно-кишечный транзит (23% против 53% при обработке средой; $p < 0,0001$) (фиг. 8В). SP-333 создавало зависимое от дозы улучшение кишечного транзита при обработке крыс морфином: 27, 37, 46 и 48% при 0,5, 2,5, 5 и 50 мг/кг, соответственно ($P < 0,0001$ при всех дозах за исключением 0,5 мг/кг по сравнению с морфином отдельно). Результаты предполагают, что доза SP-333, равная 5 мг/кг, является достаточно для уменьшения влияния морфина на желудочно-кишечный транзит. Средний желудочно-кишечный транзит $\pm$ стандартная ошибка среднего изображен на фиг. 8В.

Влияние перорального введения SP-333 на индуцированную метадонем задержку желудочно-кишечного транзита крыс.

Интраперитонеальное введение метадона значительно уменьшало желудочно-кишечный транзит у крыс. Доза метадона, равная 2,5 мг/кг, была достаточно для значительного уменьшения желудочно-кишечного транзита. Дополнительно результаты были сопоставимы с результатами, наблюдаемыми для морфина при 2,5 мг/кг (49 и 56% против соответствующего контроля средой для метадона и морфина соответственно). Средний желудочно-кишечный транзит $\pm$ стандартная ошибка среднего изображен на фиг. 9А.

Для оценки способности SP-333 уменьшать индуцированный метадонем отсроченный желудочно-кишечный транзит животным вводили 2,5 мг/кг метадона посредством интраперитонеальной инъекции. Через 10 мин через желудочный зонд перорально вводили 0 (носитель), 0,5, 2,5, 5 и 50 мг/кг SP-333. Животных умерщвляли через 10 мин и рассчитывали желудочно-кишечный транзит, как описано в "Материалах и методах". Метадон значительно уменьшал желудочно-кишечный транзит (28% против 55% при обработке средой; $P < 0,0001$). Как изображено на фиг. 9В, введение SP-333 создавало зависимое от дозы улучшение кишечного транзита у обработанных метадонем крыс: 40, 39, 44 и 52% при 0,5, 2,5, 5, и 50 мг/кг соответственно ($P < 0,01$ при всех дозах). Эти данные подтверждают, что доза SP-333, равная 5 мг/кг, является достаточно для уменьшения влияния метадона на желудочно-кишечный транзит. Средний желудочно-кишечный транзит $\pm$ стандартная ошибка среднего изображены на фиг. 9В.

Влияние перорального введения SP-333 на запор, индуцированный у крыс повторным введением метадона.

Запор индуцировали у крыс посредством интраперитонеального введения 2,5, 5, и 7,5 мг/кг метадона один раз в день в течение периода, составлявшего 5 дней. Среднее количество фекальных комочков, собранных в течение 4-часового периода во время светового цикла, было значительно ниже в группе животных, которым вводили метадон, по сравнению с контрольной группой, получающей носитель; 29, 77 и 54%, ниже при 2,5, 5 и 7,5 мг/кг соответственно ($P < 0,01$ при всех дозах) (фиг. 10А). Наиболее выраженное влияние метадона на выделение кала наблюдалось при дозе 5 мг/кг. Для оценки способности SP-333 уменьшать индуцированный метадонем запор, животным вводили 5,0 мг/кг метадона посредством интраперитонеальной инъекции один раз в день в течение периода 7 дней. Через 10 мин после введения опиоида через желудочный зонд перорально вводили 0 (носитель), 2,5 и 5 мг/кг SP-333 каждый день и выделение кала контролировали на протяжении 4 ч периода времени во время светового цикла. Как показано на фиг. 10В, значимое снижение среднего количества фекальных комочков наблюдалось у животных, которым вводили отдельно метадон (на 82% меньше против контроля средой). Среднее количество комочков при всех дозах SP-333 было выше по сравнению с группой, которой вводили метадон. Трехкратное увеличение числа комочков наблюдалось при 2,5 мг/кг SP-333 по сравнению с числом комочков, наблюдаемым для группы, которой вводили метадон, которая не получала SP-333, демонстрируя, что SP-333 ослабляет запор у крыс после повторного введения метадона. Дополнительно введение SP-333 ослабляло задержку желудочно-кишечного транзита, вызванную повторным введением дозы метадона (фиг. 11).

Обсуждение.

Эксперименты в камере Уссинга, проводимые с клетками Т-84 и тощей кишкой крыс, подтверждают что SP-333 опосредованное стимулирование тока короткого замыкания зависит от функции канала PKG-II и CFTR. Исследования животной модели *in vivo* дополнительно демонстрируют, что перорально вводимый SP-333 способен ослаблять задержку желудочно-кишечного транзита у крыс, индуцированную единичным или повторным введением доз опиоидов, а также ослаблять запор, индуцированный повторным введением метадона.

Механизм, с помощью которого агонисты GC-C ослабляют индуцированную опиоидами задержку

желудочно-кишечного транзита и запор, представлен на фиг. 12. Активация периферически экспрессируемых опиоидных рецепторов морфином и метадоном инициирует нисходящие сигналы, что приводит к ингибированию синтетического фермента сАМР, аденили циклазы и высвобождению нейротрансмиттеров, таких как ацетилхолин, вещество Р и вазоактивный желудочный пептид (Sobczak et al., 2013). Вследствие этого задерживается опорожнение желудка, ослабляются желудочно-кишечный транзит и перистальтика, уменьшается секреция с сопутствующим увеличением поглощения текучих сред и электролитов из просвета кишечника, приводя к проявлению OIBD (Holzer, 2009; Müller-Lissner, 2010; Sobczak et al., 2013). Вовлечение апикально экспрессируемого рецептора GC-C эпителиальных клеток желудка SP-333 способствует синтезу и накоплению внутриклеточного цГМФ (Zhang et al., 2012). Это второе средство передачи информации обладает потенциалом влияния на многочисленные эффекторы в клетках; они могут связывать и активировать PKG-II, активировать протеинкиназу А (PKA) либо непосредственно, либо опосредованно посредством ингибирования фосфодиэстеразы 3, которая гидролизует сАМР до АМР. PKG-II и PKA могут фосфорилировать и активировать канал CFTR, способствуя эффлоксу Cl^- ионов, за которым следует пассивный эффлокс Na^+ и воды в просвет кишечника, облегчая таким образом дефекацию. Электрофизиологические данные подтверждают, что SP-333-опосредованное увеличение тока короткого замыкания в монослой клеток T-84 и тканях тощей кишки крыс происходит посредством PKG-II и CFTR. Присутствие ингибитора PKA (mPKI) и ингибитора CIC-2 (CdCl_2) оказывает минимальное влияние на стимулированный SP-333 ток короткого замыкания в клетках и тканях.

Квалифицированные специалисты в данной области поймут или будут способны выяснить, используя не более чем рутинных экспериментов, многие эквиваленты конкретных вариантов осуществления, описанных в данном документе. Подобные эквиваленты охватываются формулой изобретения, представленной в данном документе.

Включение посредством ссылки

Данная заявка включает посредством ссылки все публикации и ссылки, раскрытые в данном документе для всех целей во всей их полноте.

Ссылки.

Barrett KE and Keely SJ (2000) Chloride secretion by the intestinal epithelium: molecular basis and regulatory aspects. *Annu Rev Physiol* 62:535-572.

Basu N, Arshad N and Visweswariah SS (2010) Receptor guanylyl cyclase C (GC-C): regulation and signal transduction. *Mol Cell Biochem* 334:67-80.

Bell TJ, Panchal SJ, Miaskowski C, Bolge SC, Milanova T and Williamson R (2009) The prevalence, severity, and impact of opioid-induced bowel dysfunction: results of a US and European

Patient Survey (PROBE 1). Pain medicine 10:35-42.

Bianchi G, Fiocchi R, Peracchia F, Petrillo P, Tavani A and Manara L (1984) The peripheral narcotic antagonist N-allyl levallorphan-bromide (CM 32191) selectively prevents morphine antipropulsive action and buprenorphine in-vivo binding in the rat intestine. JPharm Pharmacol 36:326-330.

Bijvelde MJC, Bot AGM, Escher JC and de Jonge HR (2009) Activation of Intestinal Cl⁻ Secretion by Lubiprostone Requires the Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator. Gastroenterology 137:976-985.

Camilleri M (2011) Opioid-induced constipation: challenges and therapeutic opportunities. Am J Gastroenterol 106:835-842; quiz 843.

Clarke LL (2009) A guide to Ussing chamber studies of mouse intestine. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 296:G1 151-166.

Cook SF, Lanza L, Zhou X, Sweeney CT, Goss D, Hollis K, Mangel AW and Fehnel SE (2008) Gastrointestinal side effects in chronic opioid users: results from a population-based survey. Aliment Pharmacol Ther 27: 1224-1232.
 Cyert BL, Katz S, Vallejo R, Scott CB, Joswick TR, Dolecek G and Ueno R (2010) 906 A Phase 3, Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Clinical Trial of Lubiprostone for the Treatment of Opioid-Induced Bowel Dysfunction in Patients With Chronic, Non-Cancer Pain. Gastroenterology 138 :S- 129.

Cuppoletti J, Chakrabarti J, Tewari K and Malinowska DH (2013) Methadone but not morphine inhibits lubiprostone-stimulated Cl⁻ currents in T84 intestinal cells and recombinant human ClC-2, but not CFTR Cl⁻ currents. Cell Biochem Biophys 66:53-63.

Cuppoletti J, Chakrabarti J, Tewari KP and Malinowska DH (2014) Differentiation between Human ClC-2 and CFTR Cl⁻ Channels with Pharmacological Agents. Am J Physiol Cell Physiol.

Cuppoletti J, Malinowska DH, Tewari KP, Li QJ, Sherry AM, Patchen ML and Ueno R (2004) SPI-0211 activates T84 cell chloride transport and recombinant human ClC-2 chloride currents. AmJ Physiol Cell Physiol 287 :C1173- 1183.

Fiocchi R, Bianchi G, Petrillo P, Tavani A and Manara L (1982) Morphine inhibits gastrointestinal transit in the rat primarily by impairing propulsive activity of the small intestine. *Life Sci* 31:222 1-2223.

Forte LR, Jr. (2004) Uroguanylin and guanylin peptides: pharmacology and experimental therapeutics. *Pharmacol Ther* 104 :137- 162.

Furlan AD, Sandoval JA, Mailis-Gagnon A and Tunks E (2006) Opioids for chronic noncancer pain: a meta-analysis of effectiveness and side effects. *CMAJ* 1A 1589-1594.

Golin-Bisello F, Bradbury N and Ameen N (2005) STa and cGMP stimulate CFTR translocation to the surface of villus enterocytes in rat jejunum and is regulated by protein kinase G. *Am J Physiol Cell Physiol* 289 :C708-7 16.

Holzer P (2009) Opioid receptors in the gastrointestinal tract. *Regul Pept* 155: 11-17.

Joshi A, Patwa V, Thadi A, Vemalapally L, Foss J, Feng R, Comiskey S, Ricci A, Palejwala V, Brancale A and Shailubhai K (20 14) Plecanatide and SP-333, Novel Homologs of Uroguanylin, Activate Guanylate Cyclase C to Promote Gastrointestinal Motility and Bowel Movement in Rats and Monkeys. *Dig Dis Sc z:Communicated*.

Ketwaroo GA, Cheng V and Lembo A (20 13) Opioid-induced bowel dysfunction. *Curr Gastroenterol Rep* 15:344.

Kumar L, Barker C and Emmanuel A (20 14) Opioid-induced constipation: pathophysiology, clinical consequences, and management. *Gastroenterology research and practice* 2014 :14 1737.

Kurz A and Sessler DI (2003) Opioid-induced bowel dysfunction: pathophysiology and potential new therapies. *Drugs* 63:649-67 1.

Lipecka J, Bali M, Thomas A, Fanen P, Edelman A and Fritsch J (2002) Distribution of ClC-2 chloride channel in rat and human epithelial tissues. *Am J Physiol Cell Physiol* 282 :C805-8 16.

Love BL, Johnson A and Smith LS (20 14) Linaclotide: A novel agent for chronic constipation and irritable bowel syndrome. *Am J Health Syst Pharm* 71 :1081-109 1.

Manara L, Bianchi G, Ferretti P and Tavani A (1986) Inhibition of gastrointestinal transit by morphine in rats results primarily from direct drug action on gut opioid sites. J Pharmacol Exp Ther 237 :945-949.

Manara L, Bianchi G, Fiocchi R, Notarnicola A, Peracchia F and Tavani A (1982) Inhibition of gastrointestinal transit by morphine and FK 33-824 in the rat and comparative narcotic antagonist properties of naloxone and its N-methyl quaternary analog. Life Sci 31:127 1- 1274.

Miner PB, Surowitz R, Fogel R, Koltun W, Drossman DA, Camilleri M, Mangel A, Barrow L, Jacob G and Shailubhai K (2013) Plecanatide, a novel guanylate cyclase-C (GC-C) receptor agonist, is efficacious and safe in patients with chronic idiopathic constipation (CIC): results from a 951 patient, 12 week, multi-center trial. Gastroenterology 144 :S-263 (Abstract 925g).

Miiller-Lissner S (20 10) Opioid- induced Constipation- Mechanisms, Relevance and Management. Eur Gastroenterol Hepatol Rev 6:54-57.

Nighot PK, Moeser AJ, Ryan KA, Ghashghaei T and Blikslager AT (2009) ClC-2 is required for rapid restoration of epithelial tight junctions in ischemic-injured murine jejunum. Exp Cell Res 315 : 1 10-1 18.

Pappagallo M (2001) Incidence, prevalence, and management of opioid bowel dysfunction. AmJ Surg 182 : 1 1S-18S.

Pena-Munzenmayer G, Catalan M, Cornejo I, Figueroa CD, Melvin JE, Niemeyer MI, Cid LP and Sepulveda FV (2005) Basolateral localization of native ClC-2 chloride channels in absorptive intestinal epithelial cells and basolateral sorting encoded by a CBS-2 domain di-leucine motif. J Cell Sci 118 :4243-4252.

Penning-van Beest FJ, van den Haak P, Klok RM, Prevoo YF, van der Peet DL and Herings RM (2010) Quality of life in relation to constipation among opioid users. Journal of medical economics 13 :129-135.

Quigley C (2005) The role of opioids in cancer pain. BMJ

331 :825-829.

Rauck RL (2013) Treatment of Opioid-Induced Constipation: Focus on the Peripheral mu-Opioid Receptor Antagonist Methylnaltrexone. *Drugs* 73: 1297-1306.

Shailubhai K (2002) Therapeutic applications of guanylate cyclase-C receptor agonists. *Curr Opin Drug Discov Devel* 5:261-268.

Shailubhai K, Comiskey S, Foss JA, Feng R, Barrow L, Comer GM and Jacob GS (2013) Plecanatide, an oral guanylate cyclase C agonist acting locally in the gastrointestinal tract, is safe and welltolerated in single doses. *DigDis Sci* 58:2580-2586.

Shailubhai K, Yu HH, Karunanandaa K, Wang JY, Eber SL, Wang Y, Joo NS, Kim HD, Miedema BW, Abbas SZ, Boddupalli SS, Currie MG and Forte LR (2000) Uroguanylin treatment suppresses polyp formation in the Apc(Min/+) mouse and induces apoptosis in human colon adenocarcinoma cells via cyclic GMP. *Cancer Res* 60:5151-5157.

Sobczak M, Salaga M, Storr MA and Fichna J (2013) Physiology, signaling, and pharmacology of opioid receptors and their ligands in the gastrointestinal tract: current concepts and future perspectives. *J Gastroenterol*.

Steinbrecher KA (2014) The multiple roles of guanylate cyclase C, a heat stable enterotoxin receptor. *Current opinion in gastroenterology* 30: 1-6.

Steinbrecher KA and Cohen MB (2011) Transmembrane guanylate cyclase in intestinal pathophysiology. *Current opinion in gastroenterology* 27:139-145.

Sun X, Wang X, Wang GD, Xia Y, Liu S, Qu M, Needleman BJ, Mikami DJ, Melvin WS, Bohn LM, Ueno R and Wood JD (2011) Lubiprostone reverses the inhibitory action of morphine on mucosal secretion in human small intestine. *Dig Dis Sci* 56:330-338.

Sykes NP (1998) The relationship between opioid use and laxative use in terminally ill cancer patients. *Palliat Med* 12:375-382.

Thiagarajah JR, Broadbent T, Hsieh E and Verkman AS (2004)

Prevention of toxin-induced intestinal ion and fluid secretion by a small-molecule CFTR inhibitor. *Gastroenterology* 126 :5 11-519.

Wang G-D, Wang X, Qu M-H, Xia Y and Wood JD (2014) 414 Reversal of Opioid-Induced Constipation by Lubiprostone (Amitiza®) in Guinea Pig Ileum. *Gastroenterology* 146 :S-89.

Wong BS and Camilleri M (2011) Lubiprostone for the treatment of opioid-induced bowel dysfunction. *Expert Opin Pharmacother* 12:983-990.

Zhang G, Arjunan KP, Foss J, Comiskey S and Shailubhai K (2012) SP-333, a Proteolysis-resistant Agonist of Guanylate Cyclase-C, Inhibits Activation of NF-kappa B and Suppresses Production of Inflammatory Cytokines to Ameliorate DSS-induced Colitis in Mice. *Am J Gastroenterol* 107 :S626-S626.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ предотвращения, лечения или ослабления симптомов индуцированной опиоидами дисфункции кишечника, включающий введение нуждающемуся в этом субъекту терапевтически эффективного количества композиции, содержащей пептид-агонист рецептора гуанилатциклазы (GCRA), состоящий из SEQ ID NO: 9, где субъект подвергается хроническому применению опиоидов или применению опиоидов в остром периоде.

2. Способ по п.1, дополнительно включающий введение эффективной дозы ингибитора цГМФ-зависимой фосфодиэстеразы указанному субъекту.

3. Способ по п.2, в котором указанный ингибитор цГМФ-зависимой фосфодиэстеразы выбирают из группы, состоящей из сульфон сулиндака, запринаста, мотапизона, варденафила и силденафила.

4. Способ по п.2, в котором указанный ингибитор цГМФ-зависимой фосфодиэстеразы вводят либо одновременно, либо последовательно с указанным пептидом-GCRA или его фармацевтической композицией.

5. Применение композиции, содержащей в терапевтически эффективном количестве пептид-агонист рецептора гуанилатциклазы (GCRA), по существу состоящий из SEQ ID NO: 9, для предотвращения, лечения или ослабления симптомов индуцированной опиоидами дисфункции кишечника у субъекта, нуждающегося в этом, где субъект подвергается хроническому применению опиоидов или применению опиоидов в остром периоде.

6. Применение по п.5, где композиция дополнительно содержит эффективную дозу ингибитора цГМФ-зависимой фосфодиэстеразы.

7. Применение композиции, содержащей в терапевтически эффективном количестве опиоид и пептид-агонист рецептора гуанилатциклазы (GCRA), по существу состоящий из SEQ ID NO: 9, для предотвращения, лечения или ослабления симптомов индуцированной опиоидами дисфункции кишечника у субъекта, нуждающегося в этом, где субъект подвергается хроническому применению опиоидов или применению опиоидов в остром периоде.

8. Применение по п.7, где указанный опиоид и пептид-агонист рецептора гуанилатциклазы (GCRA) вводят в одной таблетке или капсуле.

9. Применение по любому из пп.5-7, где композиция дополнительно содержит один или более направляющих материалов, выбранных из группы, состоящей из зависимого от pH полимера, набухаемого полимера и способной к разложению композиции.

10. Применение по любому из пп.5-7, где композиция дополнительно содержит фармацевтический носитель, эксципиент или разбавитель.

11. Применение по п.9, где указанная композиция оптимизирована для доставки в двенадцатиперстную кишку, тощую кишку, подвздошную кишку, терминальный отдел подвздошной кишки или восходящую ободочную кишку.

12. Применение по п.9, где указанная композиция оптимизирована для высвобождения по всей толстой кишке.

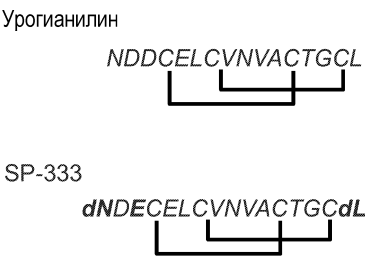
13. Применение по п.9, где указанная композиция содержит один или более зависимых от pH полимеров, которые разлагаются в диапазоне pH от 4,5 до 5,5, в диапазоне pH от 5,5 до 6,5 или в диапазоне pH от 6,5 до 7,5.

14. Применение по п.9, где высвобождение указанной композиции зависит от времени.

15. Применение по п.7, где указанный опиоид выбирают из группы, состоящей из морфина, кодеина, оксикодона, гидрокодона, дигидрокодеина, пропоксифена, фентанила, трамадола, лоперамида, бу-

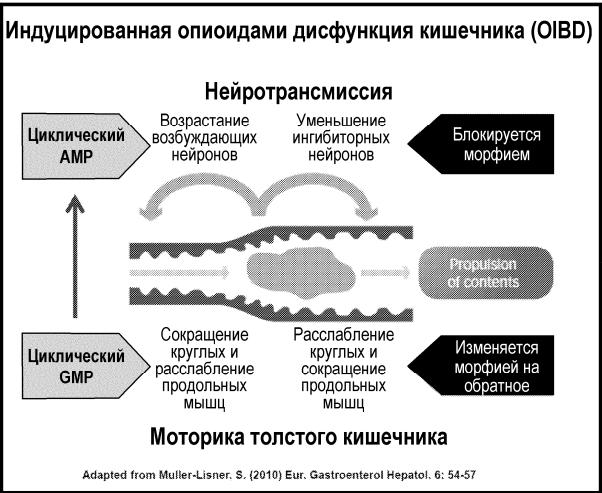
торфанола и их комбинаций.

Первичная структура урогианилина и SP-333

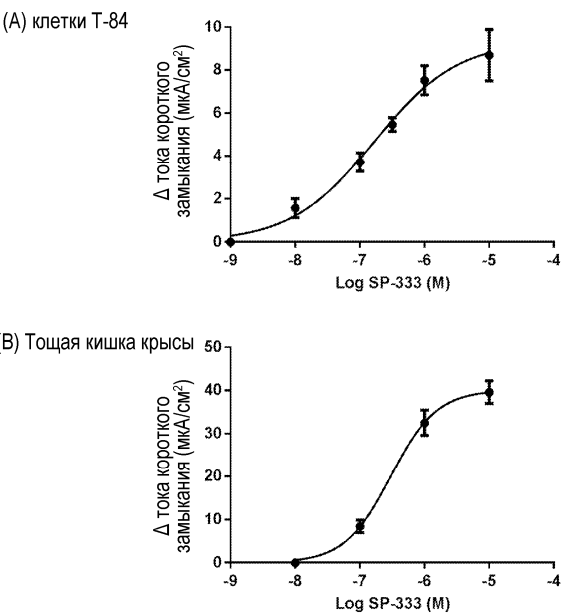


Изображены единичные буквенные обозначения для аминокислот

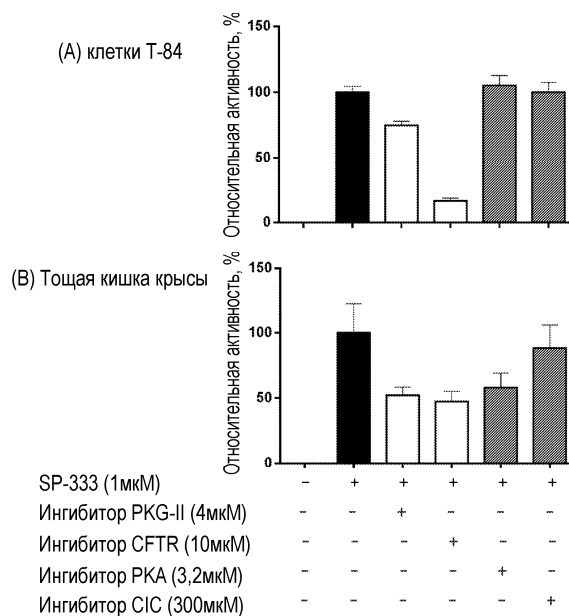
Фиг. 1



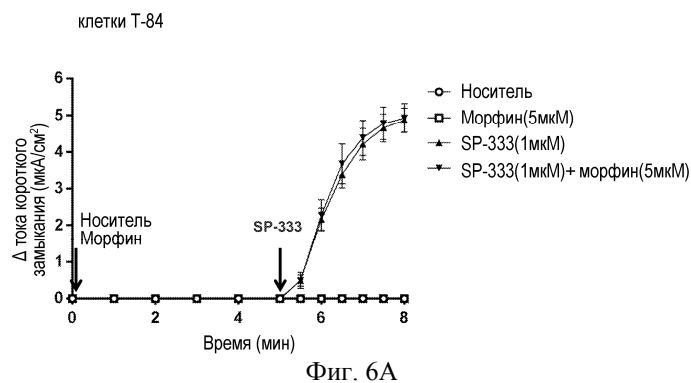
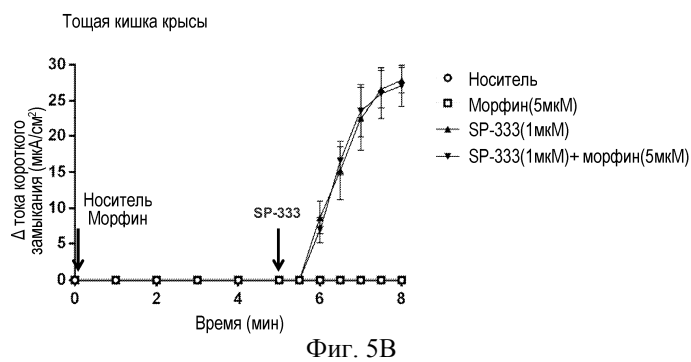
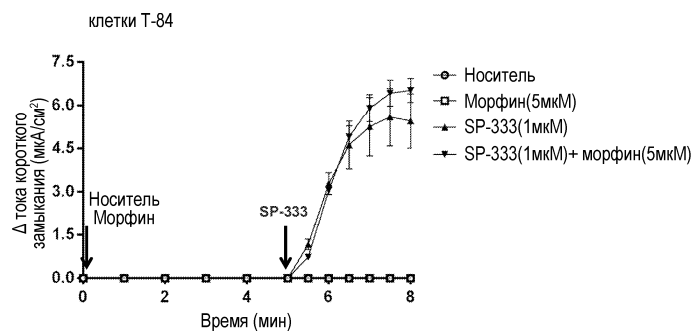
Фиг. 2

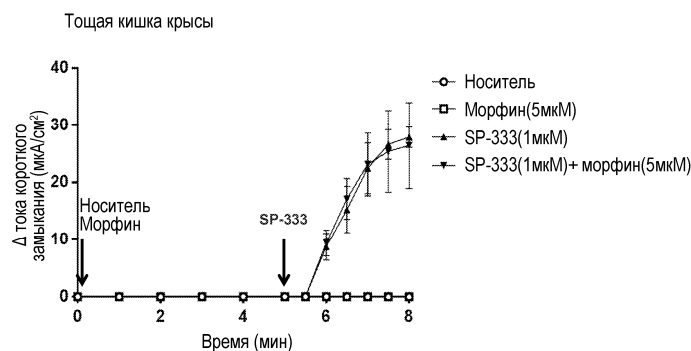


Фиг. 3

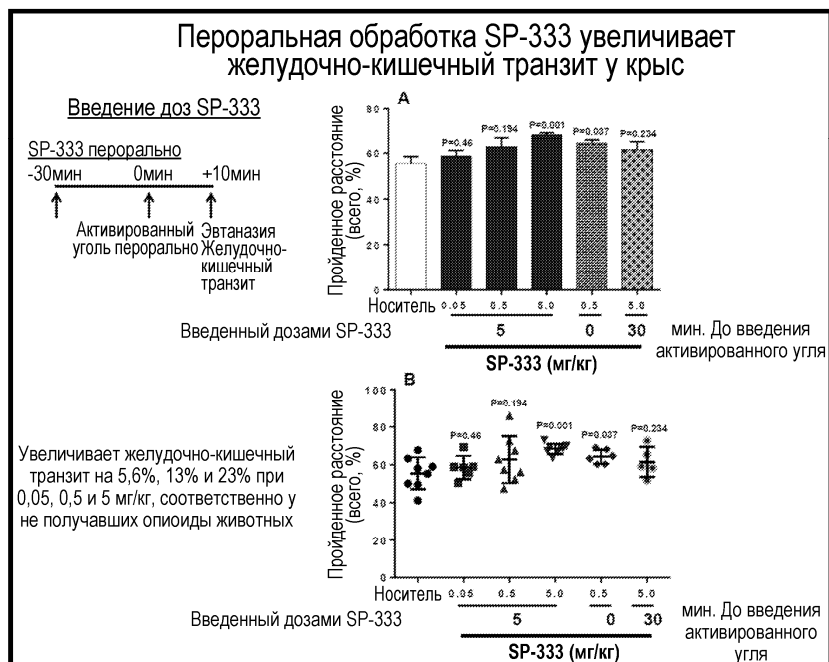


Фиг. 4

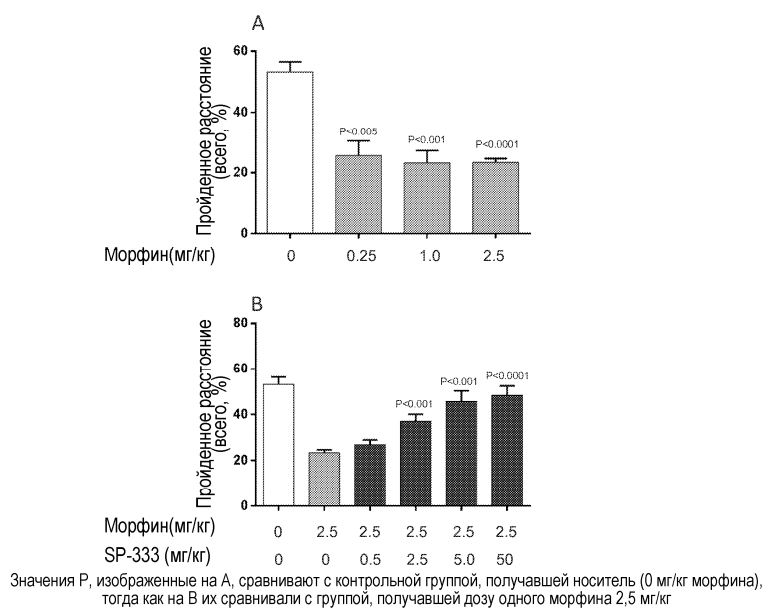




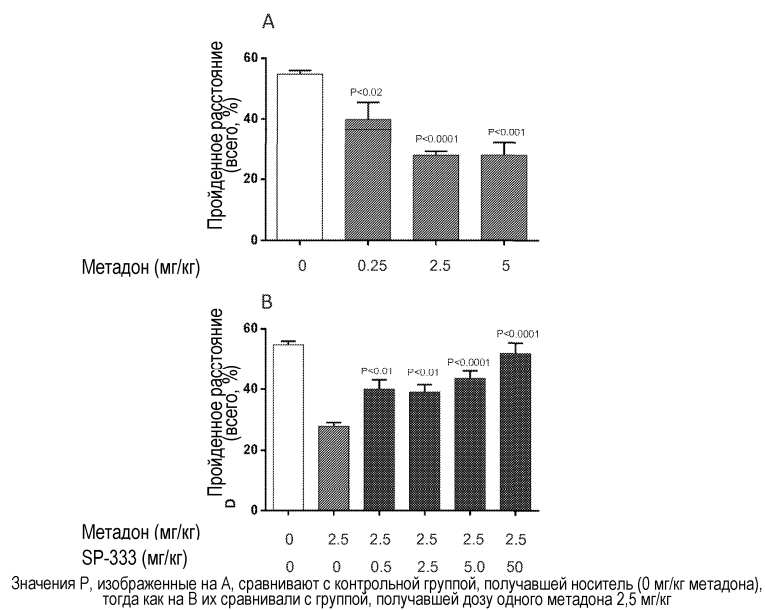
Фиг. 6В



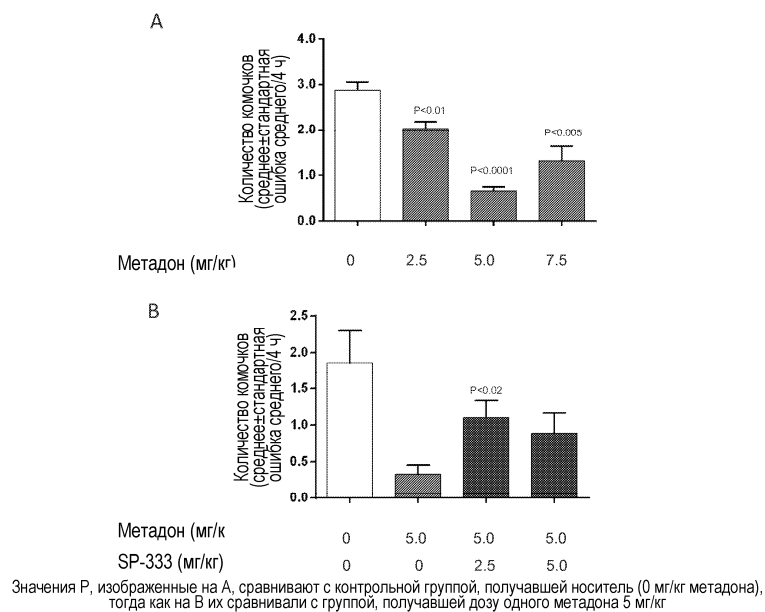
Фиг. 7



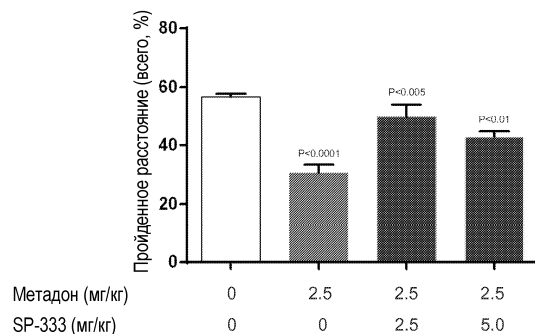
Фиг. 8



Фиг. 9

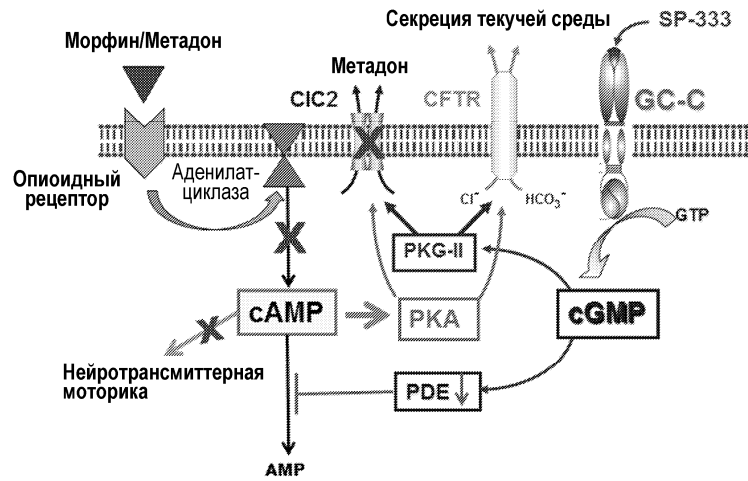


Фиг. 10



Значения P, изображенные на А, сравнивают с контрольной группой, получавшей носитель (0 мг/кг метадона)

Фиг. 11



ФИГ. 12