

(12) МЕЖДУНАРОДНАЯ ЗАЯВКА, ОПУБЛИКОВАННАЯ В
СООТВЕТСТВИИ С ДОГОВОРом О ПАТЕНТНОЙ КООПЕРАЦИИ (РСТ)

(19) Всемирная Организация
Интеллектуальной Собственности
Международное бюро

(43) Дата международной публикации
20 августа 2020 (20.08.2020)



(10) Номер международной публикации
WO 2020/167167 A2

(51) Международная патентная классификация:
C07K 7/08 (2006.01) A61K 38/16 (2006.01)
C07K 14/00 (2006.01) A61P 25/28 (2006.01)
A61K 38/10 (2006.01)

(21) Номер международной заявки: PCT/RU2020/000073

(22) Дата международной подачи:
13 февраля 2020 (13.02.2020)

(25) Язык подачи: Русский

(26) Язык публикации: Русский

(30) Данные о приоритете:
2019104371 13 февраля 2019 (13.02.2019) RU
2020106418 11 февраля 2020 (11.02.2020) RU

(71) Заявитель: **ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ ИНСТИТУТ БИООРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ ИМ. АКАДЕМИКОВ М.М. ШЕМИКИНА И Ю.А. ОВЧИННИКОВА РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК (ИБХ РАН) (FEDERALNOE GOSUDARSTVENNOE BIUDZHETNOE UCHREZHDENIE NAUKI INSTITUT BIOORGANICHESKOI KHIMII IM. AKADEMIKOV M.M. SHEMAKINA I YU.A. OVCHINNIKOVA ROSSIYSKOI AKADEMII NAUK (IBKH RAN))** [RU/RU]; ул. Миклухо-Маклая, 16/10, Москва, 117997, Moscow (RU).

(72) Изобретатели; и

(71) Заявители: **ЛЮКМАНОВА, Екатерина Назымовна (LIUKMANOVA, Ekaterina Nazymovna)** [RU/RU]; ул. Саморы Машела, 4, корп. 1, кв. 147, Москва, 117198, Moscow (RU). **ШЕНКАРЕВ, Захар Олегович (SHENKAREV, Zakhar Olegovich)** [RU/RU]; ул. Саморы Машела, 4, корп. 1, кв. 147, Москва, 117198, Moscow (RU). **ШУЛЕПКО, Михаил Анатольевич (SHULEPKO, Mikhail Anatolevich)** [RU/RU]; дер. Софьино, 24, кв. 54, Наро-Фоминский р-н, Московская обл., 143395, der. Sofyino (RU).

(72) Изобретатель: **КИРПИЧНИКОВ, Михаил Петрович (KIRPICHNIKOV, Mikhail Petrovich)**; ул. Трехгорный вал, 12, стр. 2, кв. 10, Москва, 123022, Moscow (RU).

(74) Агент: **ЧАБАНЬ, Юлия Михайловна (CHABAN, Juliya Mikhailovna)**; ул. Миклухо-Маклая, 16/10, патентный отдел, ГСП-7, В-437, Москва, 117997 (RU).

(81) Указанные государства (если не указано иначе, для каждого вида национальной охраны): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

(84) Указанные государства (если не указано иначе, для каждого вида региональной охраны): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), евразийский (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), европейский патент (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Декларации в соответствии с правилом 4.17:

— касающаяся права заявителя подавать заявку на патент и получать его (правило 4.17 (ii))

Опубликована:

— без отчёта о международном поиске и с повторной публикацией по получении отчёта (правило 48.2(g))

(54) Title: PEPTIDE HAVING LYNXI PROTEIN ACTIVITY, (VARIANTS), PHARMACEUTICAL COMPOSITION FOR TREATING ANXIETY DISORDERS AND DEPRESSION OR FOR MODIFYING COGNITIVE IMPAIRMENTS WHEN SUFFERING FROM NEURODEGENERATIVE DISEASES, AND CONTAINING SAID PEPTIDE, AND METHOD FOR TREATING AND MODIFYING SAID IMPAIRMENTS

(54) Название изобретения: ПЕПТИД, ОБЛАДАЮЩИЙ АКТИВНОСТЬЮ БЕЛКА LYNXI, (ВАРИАНТЫ), ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ КОМПОЗИЦИЯ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ТРЕВОЖНЫХ РАССТРОЙСТВ И ДЕПРЕССИИ ИЛИ КОРРЕКЦИИ КОГНИТИВНЫХ НАРУШЕНИЙ ПРИ НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ, СОДЕРЖАЩАЯ УКАЗАННЫЙ ПЕПТИД, И СПОСОБ ЛЕЧЕНИЯ И КОРРЕКЦИИ УКАЗАННЫХ НАРУШЕНИЙ

(57) Abstract: The present invention relates to biotechnology and medicine, in particular to peptides having Lynx1 protein activity, to a pharmaceutical composition for treating anxiety disorders, depression and for modifying cognitive impairments when suffering from neurodegenerative diseases, and containing said peptide, and to a method for treating and modifying said impairments.

(57) Реферат: Настоящее изобретение относится к биотехнологии и медицине, в частности к пептидам, обладающим активностью белка Lynx1, к фармацевтической композиции для лечения тревожных расстройств, депрессии и коррекции когнитивных нарушений при нейродегенеративных заболеваниях, содержащей указанный пептид, и к способу лечения и коррекции указанных нарушений.



WO 2020/167167 A2

ПЕПТИД, ОБЛАДАЮЩИЙ АКТИВНОСТЬЮ БЕЛКА LYNX1, (ВАРИАНТЫ),
ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ КОМПОЗИЦИЯ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ТРЕВОЖНЫХ
РАССТРОЙСТВ И ДЕПРЕССИИ ИЛИ КОРРЕКЦИИ КОГНИТИВНЫХ
НАРУШЕНИЙ ПРИ НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ,
5 СОДЕРЖАЩАЯ УКАЗАННЫЙ ПЕПТИД, И СПОСОБ ЛЕЧЕНИЯ И КОРРЕКЦИИ
УКАЗАННЫХ НАРУШЕНИЙ

Область техники

10 Настоящее изобретение относится к биотехнологии и медицине, в частности к пептидам, обладающим активностью белка Lynx1, фармацевтической композиции для лечения и коррекции когнитивных нарушений при нейродегенеративных заболеваниях, содержащей указанный пептид, и способу лечения и коррекции указанных нарушений.

Предшествующий уровень техники

Белок Lynx1, обнаруженный в мозге человека, относится к семейству белков Ly-6/uPAR и является эндогенным модулятором работы никотинового
20 ацетилхолинового рецептора (nAChR) [Miwa JM, Ibanez-Tallon I, Crabtree GW, Sánchez R, Sali A, Role LW, Heintz N. (1999), Neuron, 23:105–114]. Известно, что экспрессия Lynx1 в коре головного мозга трансгенных мышей, моделирующих болезнь Альцгеймера (БА), снижена по сравнению с экспрессией Lynx1 в коре головного мозга мышей дикого типа [Thomsen M.S., Arvaniti M., Jensen M.M., Shulepko M.A.,
25 Dolgikh D.A., Pinborg L.H., Härtig W., Lyukmanova E.N., Mikkelsen J.D., (2016), Neurobiol. Aging, 46:13–21]. Известно, что водорастворимый домен белка человека Lynx1 (ws-Lynx1) взаимодействует с nAChR $\alpha 7$ типа [Lyukmanova E.N., Shenkarev Z.O., Shulepko M.A., Mineev K.S., D'Hoedt D., Kasheverov I.E., Filkin S.Y., Krivolapova A.P., Janickova H., Dolezal V., Dolgikh D.A. и др (2011), J. Biol. Chem., 286:10618–10627].

30 Различные формы β -амилоидного пептида (A β) образуют бляшки при БА, а также угнетают другие функции ЦНС, включая работу $\alpha 7$ -nAChR. Показано, что ws-Lynx1 конкурирует с олигомерами самой токсичной формы β -амилоидного пептида (A β 1–42) за связывание с $\alpha 7$ -nAChR. На первичной культуре нейронов коры головного мозга мыши показано, что прединкубация с ws-Lynx1 снижает цитотоксический
35 эффект A β 1–42 [Thomsen M.S., Arvaniti M., Jensen M.M., Shulepko M.A., Dolgikh D.A.,

Pinborg L.H., Härtig W., Lyukmanova E.N., Mikkelsen J.D. (2016), Neurobiol. Aging, 46:13–21]. Ws-Lynx1 также предотвращает снижение экспрессии эндогенного Lynx1 в первичной культуре нейронов, вызванное A β 1-42 [М.Л. Бычков, Н.А. Васильева, М.А. Шулепко, П.М. Балабан, М.П. Кирпичников, Е.Н. Люкманова, (2018), Acta Naturae, 3(38):61-66].

В поведенческих тестах на когнитивные способности показано, что введение ws-Lynx1 интраназально мышам дикого типа и мышам, моделирующим БА, улучшает когнитивные процессы, уменьшает уровень тревожности и положительно влияет на процессы памяти [Bychkov M., Vasilyeva N., Andreev-Andrievsky A., Shulepko M., Popova A., Lagereva E., Zueva I., Petrov K., Kulbatskii D., Loktyushov E., Thomsen M., Dolgikh D., Shenkarev Z., Balaban P., Kirpichnikov M., Lyukmanova E. (2018), FEBS OPEN BIO, 8(Прил.1):262].

В патентной заявке US20080221013 A1 заявлено применение белка Lynx1 для лечения неврологических нарушений.

Ws-Lynx1 является сравнительно большим белком (масса 8,4 кДа) и содержит пять дисульфидных связей, что значительно затрудняет его рекомбинантную продукцию или получение методами химического синтеза. Сложность и низкий выход процедуры ренатурации ws-Lynx1 [М.А. Шулепко, Е.Н. Люкманова, И.Е. Кашеверов, Д.А. Долгих, В.И. Цетлин, М.П. Кирпичников. (2011), Биоорг. хим., 37(5):609-615] не позволяет получать препарат белка в количествах, достаточных для доклинических и клинических исследований, а также для применения в качестве лекарственного средства.

В патентах США №№ 8,629,114, 9,522,193 и 9,913,915 раскрыты пептиды длиной 16, 12 и 17 аминокислот, соответственно, полученные на основании 17-тизвенного консервативного домена ws-Lynx1, а также их варианты, содержащие консервативные замены аминокислот. Показано использование этих пептидов для транспорта активных веществ, присоединённых к этим пептидам, через гематоэнцефалический барьер.

Однако, до настоящего времени не было известно, обладает ли короткий пептид консервативного домена ws-Lynx1 активностью полноразмерного белка ws-Lynx1.

Краткое описание настоящего изобретения

Технической проблемой, на решение которой направлено настоящее изобретение, является разработка простых в получении препаратов пептидов, обладающих свойствами белка ws-Lynx1. Технический результат, который достигается заявленным изобретением, это расширение арсенала средств, используемых для лечения тревожных расстройств, депрессии и коррекции когнитивных нарушений при нейродегенеративных заболеваниях.

В ходе исследования небольших модифицированных пептидов, созданных на основании консервативного домена ws-Lynx1, циклизированных внутримолекулярной дисульфидной связью, содержащих от 15 до 21 остатка аминокислот, было обнаружено, что все исследованные пептиды, даже один из самых коротких пептидов, содержащий 15 остатков аминокислот консервативного домена ws-Lynx1, сохраняют активность белка ws-Lynx1 и улучшают когнитивные процессы, уменьшают уровень тревожности и положительно влияют на процессы памяти у мышей, моделирующих БА. При этом, такие короткие пептиды могут быть получены методом химического синтеза, что кардинально облегчает их получение в количествах, необходимых для применения в медицинских целях. Наличие только одной дисульфидной связи и замена метионинов на норлейцин значительно облегчает и оптимизирует процедуру ренатурации препаратов. Также модификация концевых аминокислот полученных пептидов позволяет увеличить их устойчивость и время жизни в организме пациента.

Так было создано настоящее изобретение и решена проблема создания небольших пептидов, обладающих всеми свойствами препарата белка ws-Lynx1.

Настоящее изобретение представляет собой циклический пептид, обладающий активностью белка Lynx1 и имеющий последовательность аминокислот SEQ ID NO: 1. Указанный цикл образован посредством дисульфидной связи между вторым и предпоследним остатками цистеина указанного пептида.

Также настоящее изобретение представляет собой описанный выше пептид, выбранный из пептидов, имеющих последовательность аминокислот SEQ ID NO: 2, 3, 4 или 5.

Также настоящее изобретение представляет собой описанный выше пептид, у которого карбоксильная группа последней аминокислоты модифицирована и представляет собой С-концевой амид.

Также настоящее изобретение представляет собой описанный выше пептид, у которого первая аминокислота указанного пептида дополнительно содержит защитную группу, выбранную из ацетильной группы, формильной группы, остатка

пироглутаминовой кислоты, а также карбоновых кислот алифатического и ароматического рядов.

Также настоящее изобретение представляет собой фармацевтическую композицию для лечения тревожных расстройств, депрессии и коррекции когнитивных нарушений при нейродегенеративных заболеваниях, содержащую эффективное количество описанного выше пептида и фармацевтически приемлемый носитель.

Также настоящее изобретение представляет собой описанную выше фармацевтическую композицию, в которой указанный пептид выбран из пептидов, имеющих последовательность аминокислот SEQ ID NO: 2, 3, 4 или 5.

Также настоящее изобретение представляет собой описанную выше фармацевтическую композицию для интраназального, внутривенного, перорального или сублингвального введения.

Также настоящее изобретение представляет собой способ лечения тревожных расстройств, депрессии и коррекции когнитивных нарушений при нейродегенеративных заболеваниях, включающий введение субъекту, имеющему когнитивные нарушения при нейродегенеративных заболеваниях, эффективного количества пептида по п. 1.

Также настоящее изобретение представляет собой описанный выше способ, в котором указанный пептид выбран из пептидов, имеющих последовательность аминокислот SEQ ID NO: 2, 3, 4 или 5.

Также настоящее изобретение представляет собой описанный выше способ, в котором указанный пептид вводят в составе описанной выше фармацевтической композиции.

Также настоящее изобретение представляет собой описанный выше способ, в котором указанную композицию вводят интраназально, внутривенно, перорально или сублингвально.

Также настоящее изобретение представляет собой описанный выше способ, в котором нейродегенеративные заболевания выбраны из группы, включающей болезнь Альцгеймера, кортикобазальную дегенерацию, болезнь Пика, болезнь Паркинсона, деменцию с тельцами Леви, мультисистемную атрофию.

Краткое описание рисунков

На Фиг. 1 изображена последовательность водорастворимого домена белка Lynx1 (ws-Lynx1) человека и пептидов на основе фрагментов его центральной петли согласно настоящему изобретению. Курсивом и подчеркиванием показаны искусственно добавленные или замененные остатки аминокислот. X – норлейцин.

5 Линиями показаны циклы, образуемые дисульфидными связями белка Lynx1, а цикл у пептидов согласно настоящему изобретению, образуемый за счёт дисульфидной связи между вторым и предпоследним остатками цистеина.

На Фиг. 2 приведены результаты масс-спектрометрического анализа циклических пептидов cLy15 (А) и cLy21 (Б). Спектры были получены на
10 времяпролетном масс-спектрометре MALDI-TOF, BRUKER Ultraflex (Германия), оборудованном Nd:YAG лазером. Полученные спектры показали соответствие молекулярной массы циклических пептидов расчетным значениям.

На Фиг.3 приведены результаты исследования препаратов ws-Lynx1 и cLy15 на $\alpha 7$ -нАХР экспрессированные в ооцитах *X. laevis*. Кривые доза-ответ для
15 ингибирования аппроксимированы уравнением Хилла со следующими параметрами ws-Lynx1: $IC_{50} = 49$ мкМ, $nH = 1.1$; cLy15: $IC_{50} = 25$ мкМ, $nH = 1.3$. Данные показаны как среднее $\pm$ S.E.M. ($n = 3$ ооцита в каждом эксперименте).

На Фиг. 4 показаны результаты исследования по изучению проникновения препаратов ws-Lynx1, cLy15 и cLy21 через гематоэнцефалический барьер у мышей
20 при интраназальном введении. (А). Приведены изображения конфокальной микроскопии срезов мозга мышей после интраназального введения деионизированной воды (контроль) и препаратов CF647-ws-Lynx1 и CF647-cLy15. Ядра клеток окрашены Hoechst3323 (черный цвет). Флуоресценция CF647 изображена оттенками серого цвета. Шкала 125 мкм. (Б). Сравнение ненормированных уровней флуоресценции
25 CF647 (условные единицы) в области гиппокампа. Данные показаны как среднее $\pm$ S.E.M. ($n = 5$ мышей в каждой группе). * означает статистически значимые ($p < 0.05$) отличия от контрольной группы согласно однофакторному дисперсионному анализу (one-way ANOVA) и апостериорному критерию Даннетта.

На Фиг. 5 приведены результаты поведенческого теста «Открытое поле»,
30 показывающие анксиолитические (противотревожные) свойства препаратов ws-Lynx1 и cLy15 у мышей линии C57BL/6. Приведено количество визитов мышей в центральную область установки за 5 мин теста. Чем выше это значение, тем меньше уровень тревожности. Данные показаны как среднее $\pm$ S.E.M. ($n = 12$ мышей в каждой группе). * означает статистически значимые ($p < 0.05$) отличия от контрольной

группы согласно однофакторному дисперсионному анализу (one-way ANOVA) и апостериорному критерию Даннетта.

На Фиг. 6 приведены результаты поведенческого теста «Ротарод или вращающийся стержень», показывающие улучшение моторной памяти, координации и баланса у мышей линии C57BL/6, получавших препараты ws-Lynx1 и cLy15. Приведено время удержания мыши на вращающемся стержне (сек) в зависимости от дня эксперимента. Данные показаны как среднее $\pm$ S.E.M. ($n = 12$ мышей в каждой группе). *, ** означает статистически значимые ($p < 0.05, 0.01$) отличия группы ws-Lynx1 от контрольной группы. #, ##, ### означает статистически значимые ($p < 0.05, 0.01, 0.001$) отличия группы cLy15 от контрольной группы согласно двухфакторному дисперсионному анализу (two-way ANOVA) и апостериорному критерию Даннетта.

На Фиг. 7 приведены результаты поведенческого теста на обонятельную память у мышей линии 2xTg-AD, моделирующих болезнь Альцгеймера. Тест проводили два дня. На первый день животному предъявляли незнакомый запах и измеряли время, необходимое для его обнюхивания. На второй день измеряли время, необходимое для обнюхивания того же запаха. При формировании памяти это время уменьшалось. На рисунке показано время обнюхивания ольфакторной метки во второй день, нормализованное на время обнюхивания в первый день. Показаны следующие группы животных: Tg- не трансгенные однопометники, получавшие воду (положительный контроль); Tg+ трансгенные животные, получавшие воду (отрицательный контроль); а также трансгенные животные (Tg+) получавшие ws-Lynx1, cLy15 и cLy21. Данные показаны как среднее $\pm$ S.E.M. ($n = 10-14$ мышей в каждой группе). * означает статистически значимые ($p < 0.05$) отличия от контрольной группы (Tg+) согласно однофакторному дисперсионному анализу (one-way ANOVA) и апостериорному критерию Даннетта.

На Фиг. 8 приведены результаты поведенческого теста на формирование условного рефлекса пассивного избегания (УРПИ) у мышей линии 2xTg-AD, моделирующих болезнь Альцгеймера. Показана доля животных, не зашедших в процессе тестирования в темную камеру, у которых сформировался рефлекс пассивного избегания. Показаны следующие группы животных: Tg- нетрансгенные однопометники, получавшие воду (положительный контроль); Tg+ трансгенные животные, получавшие воду (отрицательный контроль); а также трансгенные животные (Tg+) получавшие ws-Lynx1, cLy15 и cLy21. ($n = 10-14$ мышей в каждой группе).

Подробное описание настоящего изобретения

Первым объектом настоящего изобретения является пептид, длиной от 15 до 21 аминокислоты, обладающий активностью белка Lynx1.

5 Термин «пептид, обладающий активностью белка Lynx1» означает, что указанный пептид, также как полноразмерный водорастворимый домен белка человека Lynx1 (ws-Lynx1), обладает способностью к взаимодействию с nAHP $\alpha 7$ типа. Способность к взаимодействию с nAHP $\alpha 7$ типа может быть определена, например, как описано в [Miwa JM, Ibanez-Tallon I, Crabtree GW, Sánchez R, Sali A, Role LW, Heintz N. (1999), Neuron, 23:105–114] и [Lyukmanova E.N., Shenkarev Z.O., Shulepko M.A., Mineev K.S., D'Hoedt D., Kasheverov I.E., Filkin S.Y., Krivolapova A.P., Janickova H., Dolezal V., Dolgikh D.A. и др (2011), J. Biol. Chem., 286:10618–10627].

15 Также термин «пептид, обладающий активностью белка Lynx1» означает, что указанный пептид, также как полноразмерный ws-Lynx1, способен конкурировать с олигомерами самой токсичной формы β -амилоидного пептида (A β 1-42) за связывание с $\alpha 7$ -nAHP. Способность к конкуренции с олигомерами самой токсичной формы β -амилоидного пептида (A β 1-42) за связывание с $\alpha 7$ -nAHP может быть определена, например, как описано в [Thomsen M.S., Arvaniti M., Jensen M.M., Shulepko M.A., Dolgikh D.A., Pinborg L.H., Härtig W., Lyukmanova E.N., Mikkelsen J.D. (2016), Neurobiol. Aging, 46:13–21].

25 Также термин «пептид, обладающий активностью белка Lynx1» означает, что указанный пептид, также как полноразмерный ws-Lynx1, способен предотвращать снижение экспрессии эндогенного Lynx1 в первичной культуре нейронов, вызванное A β 1-42. Указанная активность может быть определена, например, как описано в [М.Л. Бычков, Н.А. Васильева, М.А. Шулепко, П.М. Балабан, М.П. Кирпичников, Е.Н. Люкманова, (2018), Acta Naturae, 3(38):61-66].

30 Пептид согласно настоящему изобретению имеет последовательность аминокислот SEQ ID NO: 1. Указанный пептид представлен в виде альтернатив модифицированного консервативного домена ws-Lynx1, предпочтительно содержащего остатки норлейцина вместо остатков метионина и дополнительно содержащего по одному остатку аминокислоты, предпочтительно глицина, на N- и на C-концах.

35 Ввиду того, что некоторые аминокислоты обладают высокой гомологией друг к другу, различия между такими аминокислотами не оказывают существенного влияния на трехмерную структуру пептида и его активность. Поэтому пептиды

согласно настоящему изобретению также включают в себя варианты пептидов, обладающие активностью ws-Lynx1 и содержащие консервативные замены аминокислот. Примеры консервативных замен включают: замену Ala на Ser или Thr, замену Arg на Gln, His или Lys, замену Asn на Glu, Gln, Lys, His или Asp, замену Asp на Asn, Glu или Gln, замену Gln на Asn, Glu, Lys, His, Asp или Arg, замену Glu на Asn, Gln, Lys или Asp, замену Gly на Pro, замену His на Asn, Lys, Gln, Arg или Tyr, замену Ile на Leu, Met, Val или Phe, замену Leu на Ile, Met, Val или Phe, замену Lys на Asn, Glu, Gln, His или Arg, замену Met на Nle, Ile, Leu, Val или Phe, замену Phe на Trp, Tyr, Met, Ile или Leu, замену Ser на Thr или Ala, замену Thr на Ser или Ala, замену Trp на Phe или Tyr, замену Tyr на His, Phe или Trp, и замену Val на Met, Ile или Leu. Именно такая возможность консервативных замен в пептидах согласно настоящему изобретению отображена в последовательности аминокислот SEQ ID NO: 1.

Конкретными вариантами пептидов согласно настоящему изобретению являются пептиды, имеющие последовательность аминокислот SEQ ID NO: 2, 3, 4 или 5.

В качестве альтернативы, первая аминокислота на N-конце пептидов согласно настоящему изобретению может дополнительно содержать защитную группу, выбранную из ацетильной группы, формильной группы, остатка пироглутаминовой кислоты, также карбоновых кислот алифатического и ароматического рядов.

В случае получения пептидов согласно настоящему изобретению методом химического синтеза, карбоксильная группа последней аминокислоты указанного пептида может представлять собой C-концевой амид.

Как уже указывалось выше в разделе «Краткое описание настоящего изобретения», авторы настоящего изобретения обнаружили, что все исследованные пептиды, даже один из самых коротких пептидов, содержащий 15 остатков аминокислот консервативного домена ws-Lynx1, сохраняют активность белка ws-Lynx1 и улучшают когнитивные процессы, уменьшают уровень тревожности и положительно влияет на процессы памяти у мышей, моделирующих БА. При этом, такие короткие пептиды могут быть получены методом химического синтеза, что кардинально облегчает их получение в количествах, необходимых для применения в медицинских целях. Наличие только одной дисульфидной связи и замена метионинов на норлейцин значительно облегчает и оптимизирует процедуру ренатурации препаратов. Также модификация концевых аминокислот полученных пептидов позволяет увеличить их устойчивость и время жизни в организме пациента.

Пептиды, согласно настоящему изобретению, содержат цикл, образованный посредством дисульфидной связи между вторым и предпоследним остатками цистеина указанного пептида.

Образование дисульфидной связи между вторым и предпоследним остатками цистеина указанного пептида для получения циклического пептида предпочтительно проводить на последней стадии химического синтеза, например, посредством удаления защитных групп с боковых цепей остатков цистеина и проведения реакции циклизации с использованием, например, тетрахлорметана и триэтиламина в N-метилпирролидоне (NMP), как это описано ниже в Примере 1.

Другим объектом настоящего изобретения являются фармацевтическая композиция для лечения тревожных расстройств, депрессии и коррекции когнитивных нарушений при нейродегенеративных заболеваниях, содержащая эффективное количество пептида или пептидов согласно настоящему изобретению и фармацевтически приемлемый носитель.

Такая фармацевтическая композиция предназначена для интраназального, внутривенного, перорального или сублингвального введения. Предпочтительной формой указанной фармацевтической композиции является водный раствор. Также фармацевтическая композиция может находиться в форме суспензий, назальных спреев, стерильных инъеклируемых препаратов, например стерильных инъеклируемых водных растворов или суспензий, или таблеток, капсул или саше для перорального введения.

Фармацевтически приемлемый носитель может представлять собой растворитель или диспергирующую среду, которая содержит, например, воду, водные солевые растворы.

Композиции, предназначенные для введения интраназальным путём в виде капель, аэрозоля или путём ингаляции, или предназначенные для введения пероральным путём или сублингвально (подъязычное введение) приготавливают с помощью методов, хорошо известных в области технологии изготовления фармацевтических композиций, и они могут представлять собой растворы на основе физиологического раствора, содержащие бензиловый спирт или другие приемлемые консерванты, вещества, повышающие абсорбцию для увеличения биологической доступности, и/или другие солюбилизующие или диспергирующие агенты, известные в данной области.

Композиции согласно настоящему изобретению также можно вводить внутривенно (как в виде болюса, так и путем инфузии), при этом все применяемые

формы являются хорошо известными специалисту в области фармацевтики. Предназначенные для введения путем инъекции растворы или суспензии можно приготавливать с помощью известных методов с использованием приемлемых нетоксичных, пригодных для парентерального введения разбавителей или растворителей, таких как, вода, раствор Рингера или изотонический раствор хлорида натрия.

Фармацевтические композиции согласно настоящему изобретению, предназначенные для перорального применения, могут находиться в форме отдельных стандартных дозируемых форм, таких как таблетки, капсулы или саше, каждая из которых содержит заранее определенное количество действующего вещества, в форме порошка или гранул, а также в форме раствора или суспензии в водной среде. Такие композиции можно приготавливать с помощью любых фармацевтических методов, при этом все методы включают стадию приведения действующего вещества в контакт с носителем, включающим один или несколько необходимых ингредиентов. В целом композиции приготавливают путем однородного и тщательного смешения действующего вещества с жидкими носителями или тонко измельченными твердыми носителями или с ими обоими и при необходимости путем придания продукту требуемой формы.

Таблетки, капсулы и саше могут также содержать связующее вещество, например трагакантовую смолу, аравийскую камедь, кукурузный крахмал или желатин; эксципиенты, например, вторичный кислый фосфат кальция; разрыхлитель, например, кукурузный крахмал, картофельный крахмал, альгиновая кислота; замасливатель, например, стеарат магния; и подслащивающее вещество, например, сахарозу, лактозу или сахарин.

Таблетку можно изготавливать путём прессования или литья под давлением, необязательно с использованием одного или нескольких вспомогательных ингредиентов. Спрессованные таблетки можно изготавливать с помощью соответствующей машины путём прессования действующего вещества, находящегося в свободно текучей форме, такой как порошок или гранулы, необязательно в смеси со связующим веществом, замасливателем, инертным разбавителем, поверхностно-активным веществом или диспергирующим агентом. Таблетки, получаемые путём отливки, можно изготавливать с помощью соответствующей машины путем литья под давлением с использованием смеси соединения, находящегося в порошкообразной форме, увлажненной инертным жидким разбавителем.

Предпочтительными являются фармацевтические композиции, содержащие пептид или смесь пептидов, имеющих последовательность аминокислот SEQ ID NO: 2, 3, 4 или 5.

Эффективное количество пептидов, применяемых для терапии, может варьироваться в зависимости от пути введения, состояния, подлежащего лечению, и серьезности подлежащего лечению состояния. Таким образом, режим доз с использованием пептидов согласно настоящему изобретению выбирают с учетом различных факторов, включающих тип, вид, возраст, вес, пол и медицинское состояние пациента; серьезность подлежащего лечению состояния; путь введения; почечную и печеночную функцию пациента. Лечащий врач или клиницист легко могут определить и назначить эффективное количество лекарственного средства, необходимое для лечения тревожных расстройств, депрессии и для коррекции когнитивных нарушений при нейродегенеративных заболеваниях. Достижение оптимальной концентрации лекарственного средства в том диапазоне, в котором оно обладает эффективностью и в котором не наблюдается токсического действия, можно осуществлять с использованием режима, учитывающего кинетику биодоступности лекарственного средства.

Следующим объектом настоящего изобретения является способ лечения тревожных расстройств, депрессии и коррекции когнитивных нарушений при нейродегенеративных заболеваниях. Указанный способ включает введение субъекту, у которого наблюдаются тревожные расстройства или состояние депрессии, или имеющему когнитивные нарушения при нейродегенеративных заболеваниях, эффективного количества пептида или пептидов согласно настоящему изобретению.

Нейродегенеративные заболевания, которые вызывают указанные когнитивные нарушения, подлежащие коррекции, выбраны из группы, включающей болезнь Альцгеймера, кортикобазальную дегенерацию, болезнь Пика, болезнь Паркинсона, деменцию с тельцами Леви, мультисистемную атрофию.

Введение эффективного количества пептида или пептидов согласно настоящему изобретению субъекту в рамках способа согласно настоящему изобретению включает интраназальное, внутривенное, пероральное или сублингвальное введение фармацевтической композиции согласно настоящему изобретению в зависимости от её вида.

Предпочтительным в способе согласно настоящему изобретению является введение фармацевтических композиций, содержащих пептид или смесь пептидов, имеющих последовательность аминокислот SEQ ID NO: 2, 3, 4 или 5.

Настоящее изобретение более детально описано со ссылкой на примеры.

Примеры

Последующие примеры приведены для целей разъяснения сущности настоящего изобретения и не ограничивают каким-либо образом объём правовой охраны, определяемый формулой настоящего изобретения.

Пример 1. Синтез циклопептидов cLy15 и cLy21

Твёрдофазный синтез линейных пептидил-полимеров Ly15 и Ly21, содержащих на остатках цистеина S-трет-бутилсульфенильные защитные группы (StBu) (Seq X), проводили согласно стандартным протоколам, используя Fmoc/tBu стратегию [Chan W. C., White P. D., (2000), Fmoc Solid Phase Peptide Synthesis: a Practical Approach. Oxford, UK: Oxford University Press, 41-76]. Конверсию реакций ацилирования свободных аминогрупп контролировали с помощью хлоранилового теста и теста Кайзера. Для присоединения остатков Cys использовали защищенное производное Fmoc-Cys(StBu)-OH, синтезированное согласно протоколу, описанному в [Atherton E., Sheppard R. C. (1989), Solid Phase Peptide Synthesis a practical approach. 1-st edition. Oxford, UK: Information Press Ltd]. Снятие StBu защитных групп с боковых цепей остатков цистеина проводили с использованием 2-меркаптоэтанола в присутствии N-метилморфолина (NMM) в диметилформамиде (DMF) в атмосфере инертного газа.

Для получения циклических пептидов cLy15 и cLy21 прямо на смоле проводили реакцию циклизации с использованием тетрахлорметана и триэтиламина в N-метилпирролидоне (NMP). Наличие свободных S-H групп в пептидах, находящихся на полистироловом носителе, определяли с помощью теста Элмана. Снятие циклических пептидов со смолы проводили с помощью 95% трифторуксусной кислоты (TFA). Циклические пептиды cLy15 и cLy21 осаждали диэтиловым эфиром, осадок центрифугировали и сушили в среде инертного газа. Очистку целевых циклических пептидов проводили методом обращённо-фазовой ВЭЖХ на колонке Jupiter C4, A300, 4,6×250 мм (Phenomenex, США) в линейном градиенте концентрации ацетонитрила от 5% до 25% за 90 мин в присутствии 0,1%-ной TFA, скорость элюции – 0,2 мл/мин. Оптическую плотность элюата регистрировали при 230 нм. Идентичность полученных препаратов подтверждали методом МАЛДИ масс-спектрометрии (Фиг. 2).

Пример 2. Изучение взаимодействия циклического пептида cLy15 и ws-Lynx1 с $\alpha 7$ -нАХР, экспрессированными в ооцитах *X. laevis*.

Рекомбинантный белок ws-Lynx1 получали в клетках *E. coli* как описано в [М.А. Шулепко, Е.Н. Люкманова, И.Е. Кашеверов, Д.А. Долгих, В.И. Цетлин, М.П. Кирпичников. (2011), Биорг. хим., 37(5):609-615]. Чистоту, гомогенность и корректный фолдинг белка проверяли с помощью ВЖЭХ, MALDI-MS, SDS-PAGE и ЯМР-спектроскопии.

Ооциты лягушки *X. laevis* были получены как описано в [Osmakov D.I., Koshelev S.G., Andreev Y.A., Dubinnyi M.A., Kublistki V.S., Efremov R.G., Sobolevsky A.I. and Kozlov S.A. (2018), Br. J. Pharmacol. 175:924-937]. В каждый ооцит была произведена инъекция 2.5–10 нг мРНК, кодирующей ген $\alpha 7$ -нАХР человека. После инъекции ооциты содержали в течение 2–3 дней на 19°C и затем вплоть до 7 дней на 15°C в среде ND-96 с добавлением 50 мг/мл гентамицина. Среда ND-96 содержала (в mM): 96 NaCl, 2 KCl, 1.8 CaCl₂, 1 MgCl₂, 10 HEPES, pH 7.4.

Измерения с двухэлектродной фиксацией потенциала проводили, используя усилитель GeneClamp500 (Axon Instruments, Великобритания) с удерживающим потенциалом – 50 мВ как описано в [Osmakov D.I., Koshelev S.G., Andreev Y.A., Dubinnyi M.A., Kublistki V.S., Efremov R.G., Sobolevsky A.I. and Kozlov S.A. (2018), Br. J. Pharmacol. 175:924-937]. Микроэлектроды заполняли 3 М KCl. В качестве внешнего раствора использовали среду ND-96. Токи через $\alpha 7$ -нАХР вызывали 200 мс импульсами 100 мкМ ацетилхолина. Кривые доза-ответ для ингибирования $\alpha 7$ -нАХР записывали, используя концентрации ws-Lynx1 и cLy15 в диапазоне 0 - 100 мкМ. В каждом эксперименте было использовано по три ооцита (n = 3). Анализ полученных кривых доза-ответ (Фиг. 3) показал, что концентрации полумаксимального ингибирования IC₅₀ для ws-Lynx1 и cLy15 составляют 49 и 25 мкМ, соответственно. Это свидетельствует о способности изучаемых пептидов взаимодействовать с $\alpha 7$ -нАХР.

Пример 3. Изучение проникновения циклических пептидов cLy15 и cLy21, а также ws-Lynx1, через гематоэнцефалический барьер при интраназальном введении.

Препараты cLy15, cLy21 и ws-Lynx1 метили флуоресцентной меткой CF647 (Sigma-Aldrich) в соответствии с рекомендациями производителя метки. Очистку полученных флуоресцентных препаратов осуществляли методом ВЖЭХ на колонке Jupiter C4, A300, 4,6×250 мм (Phenomenex, США) в линейном градиенте концентрации

ацетонитрила от 10% до 70% за 50 мин в присутствии 0,1%-ной TFA, скорость элюции – 1 мл/мин.

Для эксперимента использовали мышей линии C57BL/6 (самцы, возраст 7 месяцев, вес ~ 30 гр). Двадцать животных случайным образом разделяли на четыре группы по пять животных в каждой ($n = 5$). Мыши из первой группы (контроль) получали по 3 мкл деионизированной воды интраназально; мыши из второй группы получали по 50 мкг CF647-ws-Lynx1, растворенного в 3 мкл деионизированной воды, интраназально; мыши из третьей группы получали по 10 мкг CF647-cLy15, растворённого в 3 мкл деионизированной воды, интраназально; мыши из четвёртой группы получали по 14 мкг CF647-cLy21, растворённого в 3 мкл деионизированной воды, интраназально.

Через 40-60 минут после введения препаратов животных анестезировали изофлураном и перфузировали транскардиально фосфатно-солевым буфером (PBS) в течение 15 мин, а затем 4% параформальдегидом (PFA) в течение 15 минут. После этого извлекали мозг животного и фиксировали в 4% PFA в течение 48 часов, а затем помещали в 30% раствор сахарозы на 72 часа. Корональные срезы целого мозга получали на ротационном микротоме Microm HM-360 (Thermo Scientific) и хранили в растворе PBS при +4°C. Срезы анализировали на конфокальном микроскопе Nikon Eclipse T2000E (x10 сухой объектив) (Фиг. 4А). Количественное измерение флуоресценции в отдельных областях мозга выполняли с помощью программы ImageJ (NIH, США). Полученные значения без дополнительной нормировки сравнивали с контрольными, используя однофакторный дисперсионный анализ (one-way ANOVA) и апостериорный критерий Даннетта. Согласно полученным данным (Фиг. 4Б) при интраназальном введении препаратов CF647-ws-Lynx1, CF647-cLy15, и CF647-cLy21 модельным животным наблюдалось статистически значимое повышение уровня флуоресценции на срезах мозга. Это свидетельствует об успешном прохождении препаратов через гематоэнцефалический барьер.

Пример 4. Изучение влияния циклического пептида cLy15 и ws-Lynx1, на уровень тревожности и моторную память у модельных животных.

Тридцать шесть мышей линии C57BL/6 (самцы, возраст 7 месяцев, вес ~ 30 гр) случайным образом разделяли на три группы по 12 мышей в каждой ($n = 12$). Мыши из каждой группы в течение 11 дней каждый день получали интраназально различные вещества, растворенные в 3 мкл деионизированной воды. Мыши из первой группы

(контроль) получали чистую воду. Мыши из второй и третьей групп получали по 50 мкг ws-Lynx1 (примерно 1,5 мг/кг) или по 10 мкг cLy15, соответственно.

Помимо ежедневных манипуляций, мышей приучали к контакту с руками экспериментатора в течение 10 дней. На 11 день через 60 минут после введения препаратов проводили поведенческий тест «Открытое поле». Тестирование проводили на открытой площадке в приборе Multiconditioning (TSE, Германия). Животное помещали на открытую ярко освещенную площадку и регистрировали его активность на протяжении 5 минут. Параметры двигательной активности, такие как пройденное расстояние, время, проведенное в центре площадки, время перемещения, количество вертикальных стоек и т.п., регистрировались автоматически при помощи программного обеспечения TSE.

Для оценки уровня тревожности анализировали число визитов животного в центральную область площадки. Чем выше это значение, тем меньше уровень тревожности. Полученные значения сравнивали с контрольными, используя однофакторный дисперсионный анализ (one-way ANOVA) и апостериорный критерий Даннетта. Согласно полученным данным (Фиг. 5) при интраназальном введении препаратов ws-Lynx1 и cLy15 модельным животным наблюдалось уменьшение уровня тревожности, которое для препарата cLy15 было статистически значимо ($p < 0.05$)

Для исследования моторной координации и баланса проводили поведенческий тест «Вращающийся стержень – ротарод» в приборе RotaRod (Columbus Instruments, США). Принцип теста заключается в том, что животное удерживает равновесие на пластиковом вращающемся стержне. Животное помещают на стержень, вращающийся с постоянной скоростью 5 вращений в минуту, включают ускорение 0,6 вращений в минуту и регистрируют время падения животного со стержня. Чем дольше животное способно удерживаться на стержне, тем лучше его координация. Для исследования формирования моторной памяти и обучения тест повторяли в течение 5 дней. Наблюдаемое увеличение времени удержания животного на стержне (Фиг. 6) свидетельствовало о формировании у животных моторной памяти. Результаты теста показали, что у животных, получавших cLy15 и ws-Lynx1, моторная память формируется лучше, чем у контрольных животных, получавших воду. Отличия между группами по сравнению с контролем постепенно нарастали и становились статистически значимыми на третий день. Отличия сохранялись вплоть до пятого дня измерений (Фиг. 6)

Пример 5. Изучение влияния препаратов циклических пептидов cLy15 и cLy21, а также ws-Lynx1 на формирование обонятельной памяти и условного рефлекса пассивного избегания у животных, моделирующих болезнь Альцгеймера.

В качестве модели болезни Альцгеймера использовали 51 взрослого самца мышей линии B6C3-Tg (APP695) 85Dbo Tg (PSEN1) 85Dbo, экспрессирующих химерный белок-предшественник амилоида и мутант пресенилина-1 человека (2xTg-AD), а также 10 нетрансгенных однопометных самцов линии B6C3 (Tg-) (8 месяцев, вес 30–35 г). Обе мутации APP/PS1 связаны с ранним началом болезни Альцгеймера.

Мышей линии 2xTg-AD случайным образом разделяли на четыре группы, содержащих 12 – 14 мышей в каждой (n = 12-14). Мыши из каждой группы в течение 11 дней каждый день получали интраназально различные вещества, растворённые в 3 мкл деионизированной воды. Мыши из первой группы (отрицательный контроль) получали чистую воду. Мыши из второй, третьей и четвертой групп получали по 50 мкг ws-Lynx1 (примерно 1,5 мг/кг), по 10 мкг cLy15, или по 14 мкг cLy21, соответственно. В качестве положительного контроля использовали группу Tg-мышей (n = 10), которые получали по 3 мкл деионизированной воды интраназально в течение 13 дней.

Формирование обонятельной памяти исследовали по способности запоминать ольфакторный стимул и реагировать сниженным интересом на повторное предъявление той же ольфакторной метки на следующий день. Тестирование выполняли в клетке, на одну из стенок которой приклеивали квадрат из фильтровальной бумаги размером примерно 1 см². Животное помещали в клетку на 10 минут для адаптации. Затем наносили мочу незнакомого самца на фильтровальную бумагу и оставляли животное в клетке еще на 2 минуты. Поведение животного регистрировали на видео, которое впоследствии анализировали, регистрируя количество подходов к ольфакторной метке и время пребывания у ольфакторной метки. Интерес к ольфакторной метке определяли в области 5x5 см около ольфакторной метки.

Для оценки формирования обонятельной памяти время интереса к ольфакторной метке во второй день, нормализовали на время в первый день (Фиг. 7). Контрольные нетрансгенные животные на второй день в среднем тратили значительно меньше времени на обнюхивание знакомой метки (время обнюхивания на второй день 69% от первого дня). Трансгенные животные не проявляли признаков формирования обонятельной памяти (время обнюхивания на второй день 110% от первого дня). Группы трансгенных животных, получавшие ws-Lynx1, cLy15 и cLy21, тратили

меньше времени на обнюхивание знакомого запаха (65%, 79% и 107% от первого дня). Полученные данные (Фиг. 7) свидетельствуют о восстановлении обонятельной памяти у животных, получавших cLy15 и ws-Lynx1. При интраназальном введении препарата ws-Lynx1 уменьшение времени обнюхивания метки было статистически
5 значимо ($p < 0.05$)

Исследование формирования условного рефлекса пассивного избегания (УРПИ) проводили с помощью прибора Multiconditioning (TSE, Германия). Тестирование проводили в двухкамерной коробке прибора, содержащей черную и белую камеры. На первом этапе животные знакомились с черно-белой камерой. На
10 втором этапе проводилось обучение. На дне темной камеры размещали металлическую решетку, подключенную к электричеству. Животное помещали в светлую ярко освещенную камеру при закрытой дверце между камерами. Через 45 секунд дверца автоматически открывалась, после чего в течение 5 минут животное имело возможность зайти в черную камеру. После захода животного в черную камеру,
15 дверца автоматически закрывалась. Спустя 15 секунд после закрытия дверцы в черной камере, на решетку подавался электростимул 0,6 mV, длительностью 3 секунды. Через 15 секунд животное извлекали из черной камеры. На следующий день после обучения проводили третий этап – тестирование. Животное снова помещали в светлую камеру с закрытой дверцей. Через 45 секунд дверца автоматически открывалась, после чего на
20 протяжении 5 минут животное имело возможность свободно перемещаться между камерами. Регистрировали количество заходов животного в черную камеру.

Согласно полученным данным (Фиг. 8), контрольные животные, как моделирующие болезнь Альцгеймера (Tg+), так и нетрансгенные однопотомки (Tg-)
25 сформировался УРПИ. В то же время интраназальное введение препаратов ws-Lynx1, cLy15, и cLy21 приводило к значительному увеличению обучаемости. У 50-60% животных из этих групп сформировался УРПИ.

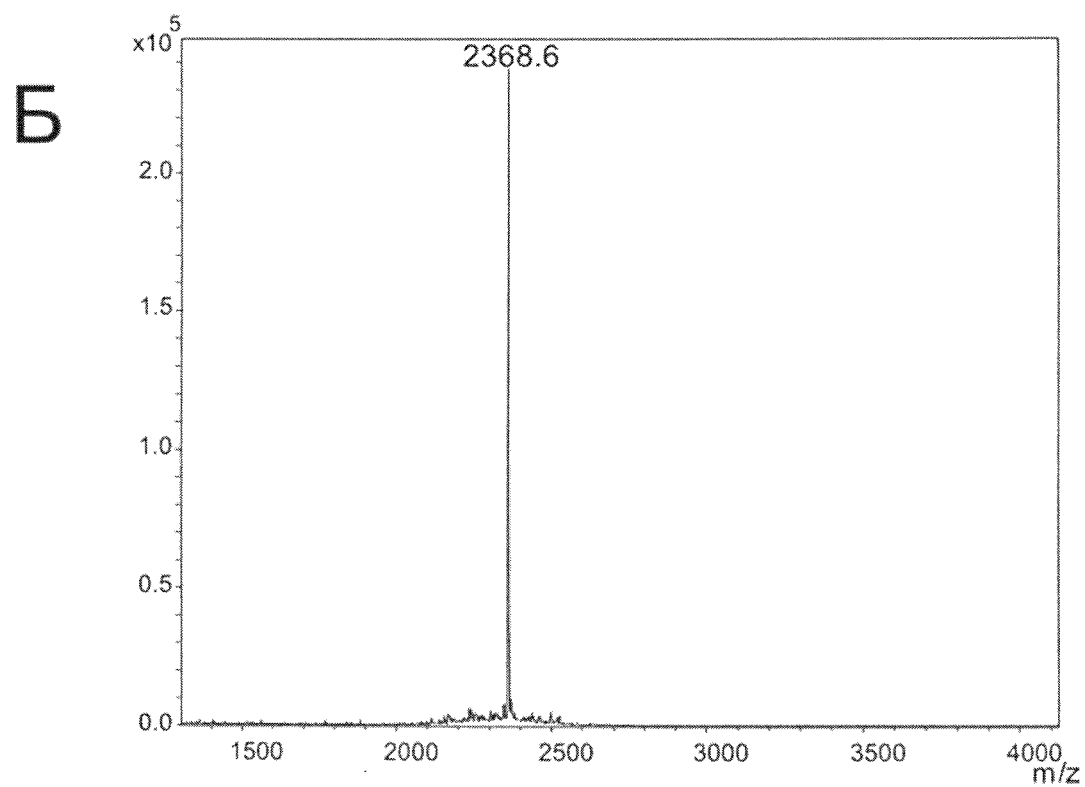
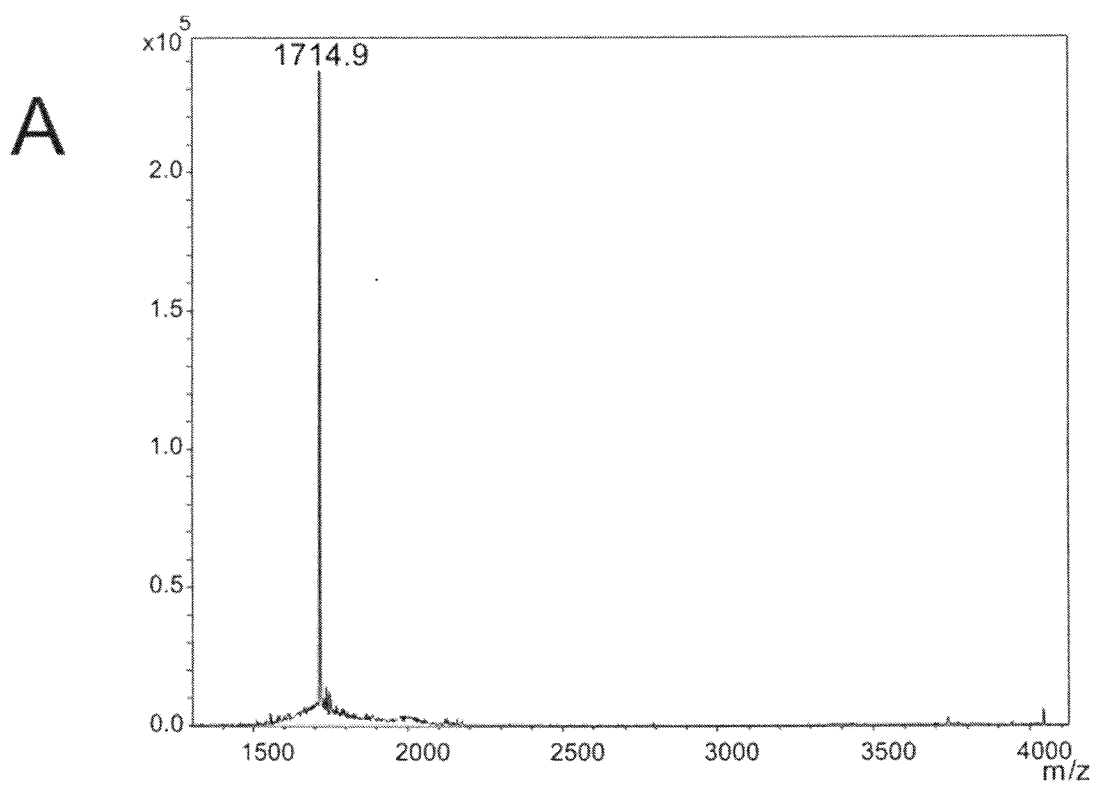
Хотя настоящее изобретение было подробно описано со ссылкой на
30 предпочтительные варианты его осуществления, для специалиста в данной области техники ясно, что могут быть сделаны различные замены и использованы различные эквиваленты, которые не выходят за рамки настоящего изобретения. Все процитированные в настоящем описании документы являются частью настоящей заявки, включённые в неё посредством ссылки.

Формула изобретения

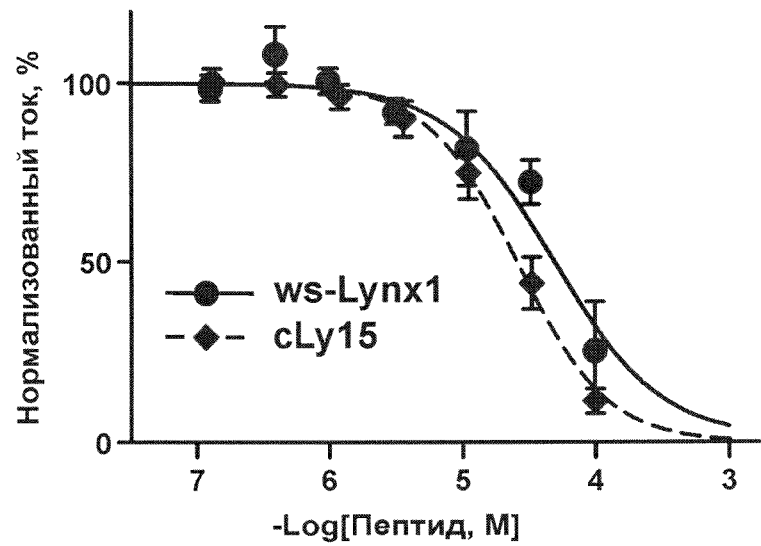
1. Пептид, обладающий активностью белка Lynx1 и имеющий последовательность аминокислот SEQ ID NO: 1, где карбоксильная группа последней аминокислоты необязательно модифицирована и указанная модификация представляет собой С-концевой амид, и первая аминокислота указанного пептида необязательно дополнительно содержит защитную группу, выбранную из ацетильной группы, формильной группы, остатка пироглутаминовой кислоты или карбоновой кислоты алифатического или ароматического ряда.
2. Пептид по п.1, отличающийся тем, что указанный пептид выбран из пептидов, имеющих последовательность аминокислот SEQ ID NO: 2, 3, 4 или 5.
3. Фармацевтическая композиция для лечения тревожных расстройств, депрессии и коррекции когнитивных нарушений при нейродегенеративных заболеваниях, содержащая эффективное количество пептида по пп. 1 или 2 и фармацевтически приемлемый носитель.
4. Фармацевтическая композиция по п. 3, где указанный пептид выбран из пептидов, имеющих последовательность аминокислот SEQ ID NO: 2, 3, 4 или 5.
5. Фармацевтическая композиция по пп. 3 или 4 для интраназального, внутривенного, перорального или сублингвального введения.
6. Способ лечения тревожных расстройств, депрессии и коррекции когнитивных нарушений при нейродегенеративных заболеваниях, включающий введение субъекту, имеющему когнитивные нарушения при нейродегенеративных заболеваниях, эффективного количества пептида по п. 1,.
7. Способ по п. 6, где указанный пептид выбран из пептидов, имеющих последовательность аминокислот SEQ ID NO: 2, 3, 4 или 5.
8. Способ по пп. 6 или 7, отличающийся тем, что указанный пептид вводят в составе фармацевтической композиции по пп. 3-5.
9. Способ по п. 8, отличающийся тем, что указанную композицию вводят интраназально, внутривенно, перорально или сублингвально.
10. Способ по п. 6, отличающийся тем, что нейродегенеративные заболевания выбраны из группы, включающей болезнь Альцгеймера, кортикобазальную дегенерацию, болезнь Пика, болезнь Паркинсона, деменцию с тельцами Леви, мультисистемную атрофию.

Ws-Lynx1

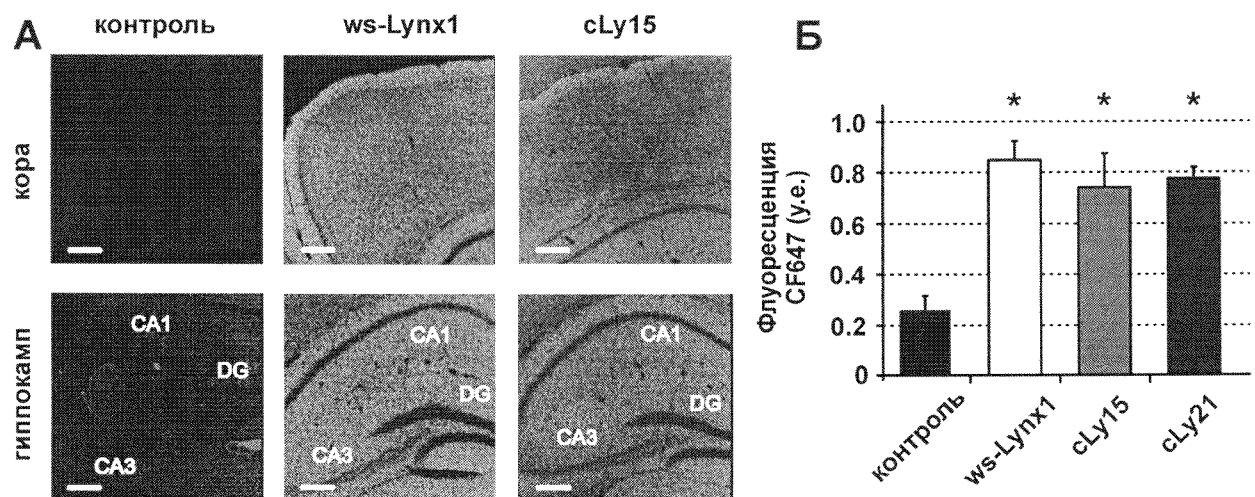
Фиг. 1



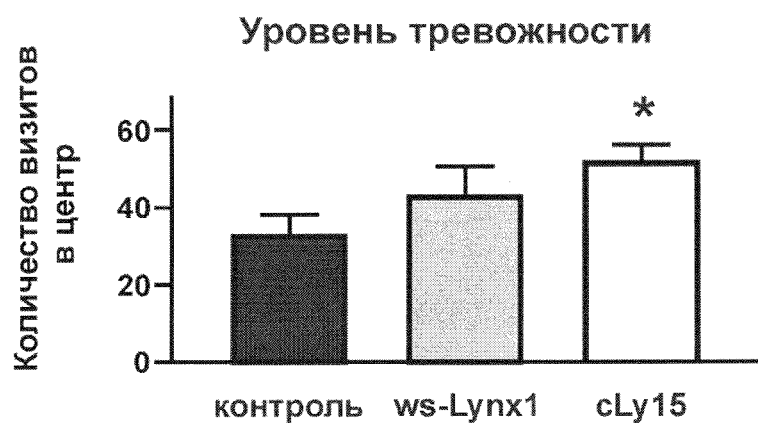
Фиг. 2



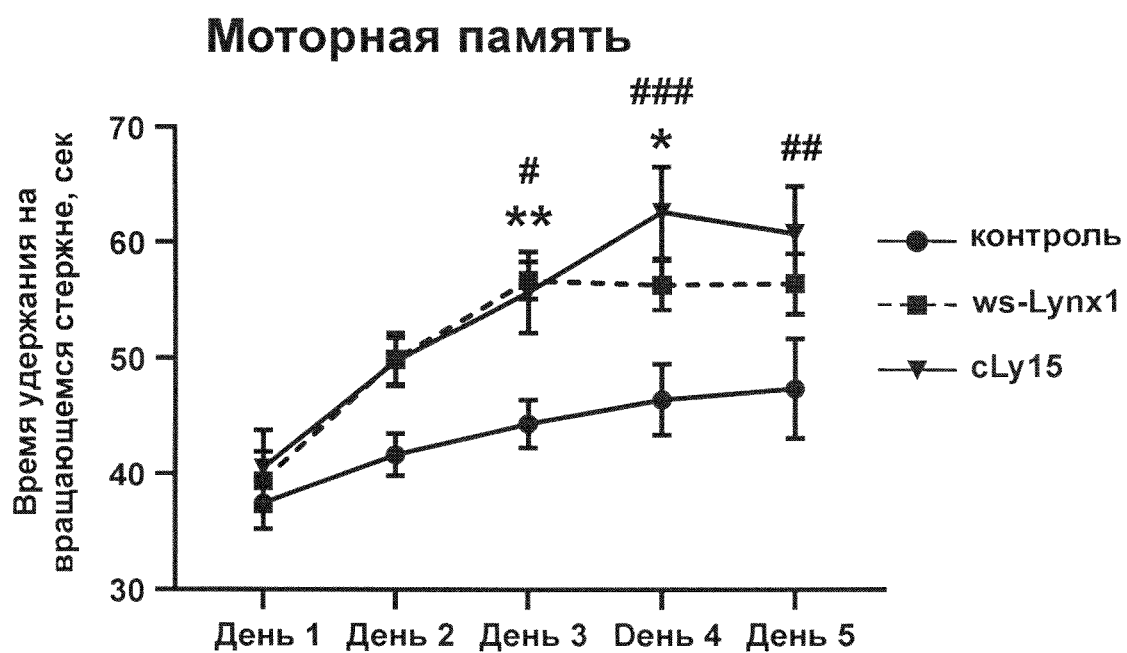
Фиг. 3



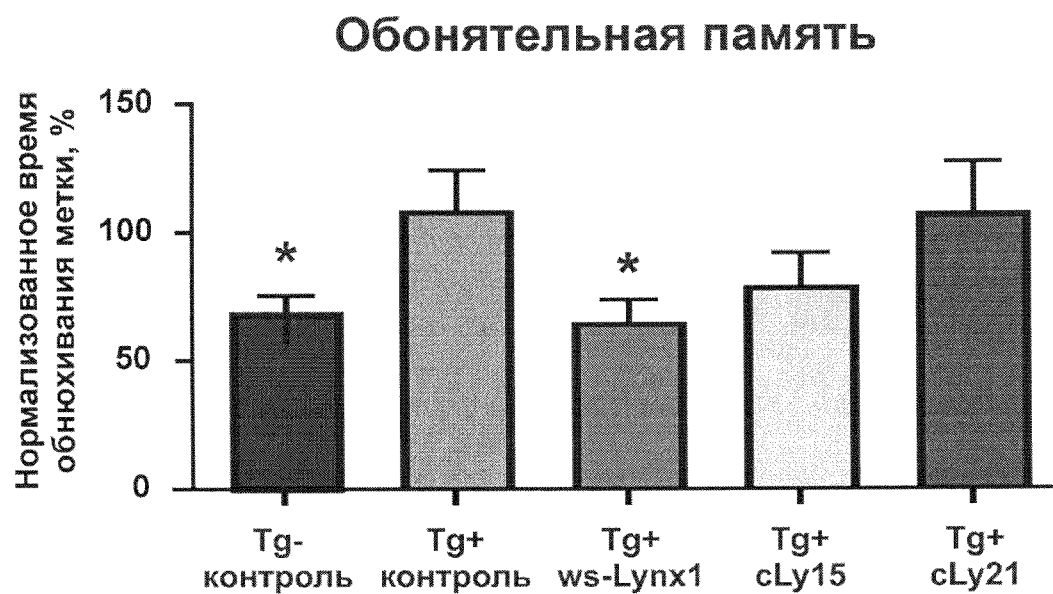
Фиг. 4



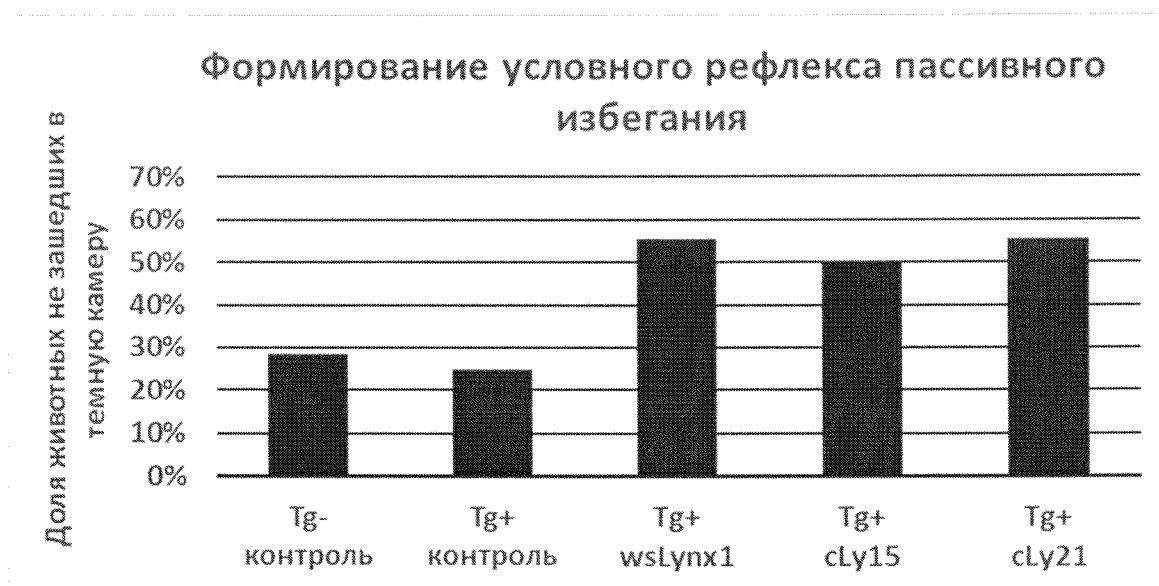
Фиг. 5



Фиг. 6



Фиг. 7



Фиг. 8