

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(11) **042294**

(13) **B1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента  
**2023.02.01**

(51) Int. Cl. **C07K 7/08** (2006.01)  
**C07K 1/00** (2006.01)

(21) Номер заявки  
**201592263**

(22) Дата подачи заявки  
**2014.06.05**

---

(54) **УЛЬТРАЧИСТЫЕ АГОНИСТЫ ГУАНИЛАТЦИКЛАЗЫ С, СПОСОБ ИХ ПОЛУЧЕНИЯ И ИСПОЛЬЗОВАНИЯ**

---

(31) **61/831,402**

(32) **2013.06.05**

(33) **US**

(43) **2016.05.31**

(86) **PCT/US2014/041143**

(87) **WO 2014/197720 2014.12.11**

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

(56) **WO-A2-2012118972**  
**WO-A2-2010065751**

**GIOVANNI PITARI: "Pharmacology and clinical potential of guanylyl cyclase C agonists in the treatment of ulcerative colitis", DRUG DESIGN, DEVELOPMENT AND THERAPY, 19 April 2013 (2013-04-19), pages 351-360, XP55148568, DOI: 10.2147/DDDT.S32252 the whole document**

(72) Изобретатель:  
**Шайлубхай Кунвар, Комиски Стефен,**  
**Фэн Жун, Бай Цзюньцай, Чжан**  
**Жопин (US), Цзя Цзюнь, Чжоу**  
**Цзюньфэн, Чжао Цяо, Чжан Гоцин**  
**(CN)**

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

---

(57) Изобретение относится к способам очистки пептида, содержащего последовательность агониста GCC, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1-251, описываемым в настоящем документе. Способы включают в себя стадию замены растворителя перед стадией сублимационной сушки (лиофилизации).

**B1**

**042294**

**042294**

**B1**

### Родственные заявки

По настоящей заявке испрашивается приоритет и преимущества предварительной патентной заявки USSN 61/831402, поданной 5 июня 2013 г., полное содержание которой приведено в настоящем документе в качестве ссылки.

### Область техники, к которой относится изобретение

Настоящее изобретение относится к способу очистки пептидных агонистов гуанилатциклазы С, которые можно использовать для получения составов для лечения и предотвращения различных заболеваний и нарушений.

### Уровень техники, предшествующий изобретению

Гуанилатциклаза С представляет собой трансмембранную форму гуанилатциклазы, которая экспрессируется на различных клетках, включая эпителиальные клетки желудочно-кишечного тракта (обзор приведен в Vaandrager 2002 Mol. Cell. Biochem. 230:73-83). Она первоначально обнаружена как рецептор кишечника для пептидов термостабильных токсинов (ST), секретируемых энтеробактериями и вызывающих диарею. Пептиды ST разделяют первичную аминокислотную структуру с двумя пептидами, выделенными из слизистой оболочки кишечника и мочи, гуанилином и урогуанилином (Currie, et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 89:947-951 (1992); Hamra, et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 90:10464-10468 (1993); Forte, L., Reg., Pept. 81:25-39 (1999); Schulz, et al., Cell 63:941-948 (1990); Guba, et al., Gastroenterology 111:1558-1568 (1996); Joo, et al., Am. J. Physiol. 274:G633-G644 (1998)).

В кишечнике гуанилин и урогуанилин действуют как регуляторы баланса жидкостей и электролитов. В ответ на высокое пероральное потребление солей, эти пептиды высвобождаются в просвет кишечника, где они связываются с гуанилатциклазой С, локализованной на люминальной мембране энтероцитов (простых столбчатых эпителиальных клеток тонкого кишечника и толстой кишки). Связывание гуанилиновых пептидов с гуанилатциклазой С индуцирует выведение электролитов и воды в просвет кишечника посредством комплексного каскада внутриклеточной сигнализации, инициируемого увеличением уровня циклического гуанозинмонофосфата (цГМФ).

Опосредованная цГМФ передача сигналов, инициируемая гуанилиновыми пептидами, является критической для нормального функционирования кишечника. Любая аномалия в этом процессе может приводить к нарушениям желудочно-кишечного тракта, таким как синдром раздраженного кишечника (IBS) и воспалительные заболевания кишечника. Воспалительное заболевание кишечника является общим названием группы нарушений, которые вызывают воспаление кишечника, характеризующееся покраснением и опуханием ткани. Примеры включают в себя язвенный колит и болезнь Крона. Болезнь Крона представляет собой серьезное воспалительное заболевание, которое преимущественно поражает подвздошную кишку и толстую кишку, однако может возникать также в других отделах желудочно-кишечного тракта. Язвенный колит является воспалительным заболеванием исключительно толстой кишки, толстого кишечника. В отличие от болезни Крона, при которой поражены все слои кишечника, и при которой между пораженными участками кишечника могут присутствовать нормальные здоровые участки кишечника, язвенный колит поражает только наиболее глубокие слои выстилки (слизистой оболочки) толстой кишки непрерывным образом. В зависимости от того, какой участок желудочно-кишечного тракта поражен, болезнь Крона можно обозначать как илеит, регионарный энтерит, колит и т.д. Болезнь Крона и язвенный колит отличаются от спастической толстой кишки или синдрома раздраженного кишечника, которые представляют собой нарушения подвижности желудочно-кишечного тракта. Воспаление желудочно-кишечного тракта может являться хроническим состоянием. По оценкам, настолько много, как 1000000 американцев, поражены воспалительным заболеванием кишечника, по-видимому, с эквивалентным поражением пациентов мужчин и женщин. Большинство случаев диагностируют до 30-летнего возраста, однако заболевание может возникнуть в шестое, седьмое и более поздние десятилетия жизни.

IBS и хроническая идиопатическая констипация представляют собой патологические состояния, которые могут вызывать сильный дискомфорт в кишечнике и нарушение его функционирования, однако в отличие от воспалительных заболеваний кишечника, IBS не вызывает серьезного воспаления или изменения ткани кишечника и, как полагают, не приводит к повышению риска колоректального рака. Ранее, воспалительное заболевание кишечника, глютеновую болезнь и IBS считали совершенно разными нарушениями. В настоящее время, описание воспаления, хотя и незначительного, при IBS, и перекрытие симптомов между IBS и глютеновой болезнью ставят под вопрос это утверждение. Острый бактериальный гастроэнтерит является сильнейшим из идентифицированных до настоящего времени факторов риска последующего развития постинфекционного синдрома раздраженного кишечника. Клинические факторы риска включают пролонгированное острое расстройство и отсутствие рвоты. Генетически определенная чувствительность к воспалительным стимулам также может представлять собой фактор риска для синдрома раздраженного кишечника. Лежащая в основе патофизиология включает повышенную кишечную проницаемость и неспецифическое воспаление, а также измененную подвижность и висцеральную чувствительность. Серотонин (5-гидрокситриптамин [5-HT]) является ключевым модулятором функции кишечника и, как известно, играет ключевую роль в патофизиологии IBS. Активность 5-HT регулируется цГМФ.

В то время как точные причины IBS и воспалительных заболеваний кишечника (IBD) не известны,

нарушение процесса постоянного обновления слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта может вносить вклад в патологию заболевания при IBD и обострять IBS. Процесс обновления выстилки желудочно-кишечного тракта представляет собой эффективный и динамический процесс, вовлекающий непрерывную пролиферацию и накопление нежелательных поврежденных клеток. Скорости пролиферации клеток, выстилающих слизистую оболочку желудочно-кишечного тракта, являются очень высокими, вторыми только после гематопоетической системы. Гомеостаз желудочно-кишечного тракта зависит как от пролиферации, так и от программируемой гибели клеток (апоптоза) эпителиальных клеток, выстилающих слизистую оболочку желудочно-кишечного тракта. Клетки непрерывно теряются с ворсинок в просвет кишечника и пополняются, по существу, с равной скоростью посредством пролиферации клеток в криптах, с их последующим движением вверх к ворсинкам. Скорости пролиферации и апоптоза клеток в эпителии кишечника могут увеличиваться или уменьшаться при множестве условий, например, в ответ на физиологические стимулы, такие как старение, воспалительные сигналы, гормоны, пептиды, факторы роста, химические вещества и пищевые привычки. Кроме того, увеличенная скорость пролиферации часто ассоциирована с уменьшением времени обновления и расширением зоны пролиферации. Индекс пролиферации намного выше при патологических состояниях, таких как язвенный колит и другие нарушения желудочно-кишечного тракта. Гиперплазия кишечника является главным стимулятором воспаления желудочно-кишечного тракта. Апоптоз и пролиферация клеток вместе регулируют количество клеток и определяют индекс пролиферации. Уменьшенные скорости апоптоза часто ассоциированы с аномальным ростом, воспалением и неопластической трансформацией. Таким образом, и увеличенная пролиферация, и/или уменьшенная гибель клеток могут увеличивать индекс пролиферации тканей кишечника, что, в свою очередь, может приводить к воспалительным заболеваниям желудочно-кишечного тракта.

В дополнение к роли урогуанилина и гуанилина в качестве модуляторов секреции жидкости кишечника и ионов, эти пептиды также могут быть вовлечены в постоянное обновление слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта посредством поддержания равновесия между пролиферацией и апоптозом. Например, пептиды урогуанилин и гуанилин, по-видимому, стимулируют апоптоз посредством контроля клеточного потока ионов. Принимая во внимание преобладание воспалительных состояний среди населения западных стран, существует необходимость улучшения вариантов лечения воспалительных состояний, в частности, желудочно-кишечного тракта.

Пептидные агонисты гуанилатциклазы С ("агонисты GCC") описаны в патентах США No. 7041786, 7799897 и в публикациях патентных заявок США No. US2009/0048175, US2010/0069306, US2010/0120694, US2010/0093635 и US2010/0221329, и WO2012/118972. Однако предшествующий синтез пептидов для фармацевтического применения представляет ряд определенных проблем, таких как низкий общий выход (например, менее чем 10%), и/или высокие уровни примесей (например, загрязнений, происходящих из органических растворителей, использованных в ходе синтеза или очистки, и продуктов дегградации или топоизомеров, образованных, например, в ходе очистки).

#### **Сущность изобретения**

В одном из аспектов, настоящее изобретение вытекает из попытки преодоления различных неожиданных проблем, с которыми сталкиваются в ходе процесса очистки пептидных агонистов GCC для фармацевтического применения, например, в процессе лиофилизации и в процессе осаждения, описанных в WO2012/118972. Способы, описываемые в настоящем документе, предоставляют решение этих проблем.

В одном из аспектов, настоящее изобретение относится к очищенному пептиду, содержащему последовательность агониста GCC, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1, 9 и 104, где очищенный пептид обладает следующими характеристиками:

- a) обладает объемной плотностью не более 0,1 г/мл;
- b) содержит менее чем 50 ppm ацетамида;
- c) менее чем 0,3% альфа-Asp-9-пленаканатида.

Очищенный пептид может обладать одним или несколькими из следующих признаков.

Например, пептид является стабильным при 25°C в течение по меньшей мере трех месяцев.

Например, пептид обладает распределением размера частиц, обладающим значением D10 приблизительно от 2 до 15 мкм; значением D50 приблизительно 15-50 мкм; и значением D90 приблизительно 40-80 мкм при измерении по светорассеянию с жидким дисперсантом.

Например, очищенный пептид содержит не более чем 35 ppm ацетамида (например,  $\leq 18$  ppm).

Например, очищенный пептид содержит менее чем 0,15% альфа-Asp-9-пленаканатида (обладающего относительным временем удержания (RRT)  $\sim 1,33$  по анализу сверхэффективной жидкостной хроматографии (СЭЖХ), описываемому в настоящем документе).

Например, очищенный пептид обладает объемной плотностью не более 0,09 г/мл, не более 0,08 г/мл, не более 0,07 г/мл, не более 0,06 г/мл, не более 0,05 г/мл, не более 0,04 г/мл или не более 0,03 г/мл.

Например, очищенный пептид является, по существу, свободным от воды (например, содержание воды не превышает 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3,5, 3, 2,5, 2, 1,5, 1, 0,5, 0,25 или 0,1%, от общей массы пептида).

Например, очищенный пептид обладает хроматографической чистотой не менее 95%, не менее 96% или не менее 97%.

Например, общее содержание примесей в очищенном пептиде составляет менее 3% (например, <2 или <1%).

Например, очищенный пептид является, кроме того, по существу, свободным от одной или более примесей, выбранных из ацетонитрила, спиртов, аммония, ацетатов и TFA.

Например, очищенный пептид содержит менее 300 ppm ацетонитрила (например, <250 ppm).

Например, очищенный пептид содержит менее 0,2% TFA (например, <0,15%, <0,1%, <400 ppm, <300 ppm, <200 ppm, <100 ppm или <50 ppm).

Например, очищенный пептид содержит менее 0,2% изопропанола, т.е. IPA (например, <0,15%, <0,1%, <1000 ppm, <900 ppm, <800 ppm, <700 ppm, <600 ppm, <500 ppm, <400 ppm, <300 ppm, <200 ppm, <100 ppm, <50 ppm или <20 ppm).

Например, очищенный пептид содержит менее 0,25% ацетата (например, <0,2% или <0,1%).

Например, очищенный пептид является, по существу, свободным от топоизомеров (например, <0,4%, <0,3%, <0,2% или <0,1%).

Например, очищенный пептид является, по существу, свободным от изо-Asp<sup>2</sup>-плеканатида (RRT 0,96-0,97) (например, <0,4, <0,3, <0,2 или <0,1%).

В другом аспекте изобретение также относится к способу очистки/выделения пептида, содержащего последовательность агониста GCC, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1-251. Способ включает в себя: получение первого раствора пептида, содержащего пептид, содержащий последовательность агониста GCC, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1-251, воду и ацетонитрил; загрузку колонки с C18 или полимерным адсорбентом первым раствором пептида для адсорбции пептида на колонке с полимерным адсорбентом, элюцию пептида с колонки с C18 или полимерным адсорбентом с помощью водного раствора спирта для получения второго раствора пептида, уменьшение количества спирта во втором растворе пептида, и лиофилизацию второго раствора пептида, так что получают сухой пептид.

Способ может включать в себя один или несколько из следующих признаков.

Например, водный раствор спирта содержит изопропанол (например, с содержанием изопропанола в водном растворе спирта, составляющим приблизительно 40%).

В другом варианте осуществления, водный раствор спирта содержит пропанол, трет-бутанол, 2-бутанол или этанол.

Например, первый раствор пептида дополнительно содержит ацетамид.

Например, первый раствор пептида дополнительно содержит уксусную кислоту (например, 0,2%) или фосфат триэтиламина (например, 1%).

Например, количество спирта (например, изопропанола) во втором растворе пептида уменьшают, например, посредством ротационного выпаривания, до менее 5%.

Например, способ дополнительно включает в себя растворение сухого пептида в воде для получения третьего раствора пептида после лиофилизации. Например, третий раствор пептида дополнительно содержит ацетат аммония или гидроксид аммония (например, так, что третий раствор обладает значением pH приблизительно 5).

Например, способ дополнительно включает в себя лиофилизацию третьего раствора пептида, так что получают очищенный пептид.

Например, пептид в первом растворе пептида получают способом конденсации фрагментов (т.е. гибридным способом в растворе и твердой фазе) как описано в WO2012/118972. В одном из вариантов осуществления, первый раствор пептида получают на стадии солевого обмена, на которой пептид промывают водным раствором ацетонитрила, содержащим фосфат триэтиламина или уксусную кислоту.

Например, колонка с полимерным адсорбентом представляет собой колонку с C18 для препаративной ОФ-ВЭЖХ. В одном из вариантов осуществления, колонка с полимерным адсорбентом содержит полистирольную смолу. В частности, смола выбрана так, что элюированный или десорбированный очищенный пептид составляет не менее 80% количества пептида, адсорбированного на смоле, например, не менее 85%, не менее 90% или не менее 95%. В одном из вариантов осуществления, смола сформирована из перекрестно сшитого полистирола со средним диаметром пор более 5 нм, например приблизительно 6-8 нм, 10-15 нм, 15-20 нм или 25-30 нм.

В другом аспекте изобретение также относится к очищенному пептиду, полученному способом очистки по изобретению. Очищенные пептиды могут обладать одним или несколькими из следующих признаков.

Например, очищенный пептид содержит последовательность агониста GCC, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1, 9 и 104.

Например, очищенный пептид обладает хроматографической чистотой не менее 96%, не менее 97% или не менее 98%. Например, агонист GCC пептид обладает хроматографическим содержанием примесей не более 4%, не более 3,5%, не более 3%, не более 2,5%, не более 2%, не более 1,5% или не более 1%. Хроматографическое содержание примесей определяют как суммарный процент площади для примесей по ВЭЖХ. Хроматографическое содержание примесей включает в себя содержание топоизомеров. Примеси не включают в себя никакого фармацевтически приемлемого наполнителя, используемого для получения состава лекарственного средства.

Например, очищенный пептид является, по существу, свободным от загрязнений, возникающих в результате процесса получения пептида, таких как органические растворители, используемые в процессе, например, аммоний, ацетонитрил, ацетамид, спирт (например, метанол, этанол или изопропанол), TFA, простой эфир или другие загрязнения. В этом контексте, "по существу" свободный от загрязнений означает, что содержание загрязнений пептида в конце процесса очистки предпочтительно составляет менее 0,5%, менее 0,3%, менее 0,25%, менее 0,1%, менее 0,05%, менее 0,04%, менее 0,03%, менее 0,02%, менее 0,01%, менее 0,005%, менее 0,003% или менее 0,001% от общей массы пептида. Например, очищенный пептид содержит <50 ppm ацетамида (например, <35 или <18 ppm), <300 ppm ацетонитрила (например, <250 ppm), <1000 ppm TFA (например, <400, <300, <200, <100 или <50 ppm), <2000 ppm изопропанола (например, <1500, <1000, <500, <400, <300, <200, <100, <50 или <20 ppm), и/или <0,25% ацетата (например, <0,2 или <0,1%). Содержание загрязнений можно определять общепринятыми способами, такими как газовая хроматография. Предпочтительно, количества остаточных растворителей в очищенном пептиде по изобретению составляют менее пределов, установленных в руководствах ICH, например, IMPURITIES: GUIDELINE FOR RESIDUAL SOLVENTS Q3C(R5) (доступно на [http://www.ich.org/fileadmin/Public\\_Web\\_Site/ICH\\_Products/Guidelines/Quality/Q3C/Step4/Q3C\\_R5\\_Step4.pdf](http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q3C/Step4/Q3C_R5_Step4.pdf)).

Например, очищенный пептид содержит менее 0,3% (например, <0,15%) альфа-Asp-9-плеканатида (RRT 1,33).

Например, очищенный пептид обладает объемной плотностью не более 0,09 г/мл, не более 0,08 г/мл, не более 0,07 г/мл, не более 0,06 г/мл, не более 0,05 г/мл, не более 0,04 г/мл или не более 0,03 г/мл.

Например, очищенный пептид является, по существу, свободным от изо-Asp2-плеканатида (RRT~0,96-0,97). В этом контексте "по существу" свободный от изо-Asp2-плеканатида означает, что содержание изо-Asp2-плеканатида в пептиде в конце процесса очистки составляет предпочтительно менее 2%, менее 1,5%, менее 1,25%, менее 1%, менее 0,9%, менее 0,8%, менее 0,7%, менее 0,6%, менее 0,5%, менее 0,4%, менее 0,3%, менее 0,2% или менее 0,1%, от общей массы пептида.

Например, очищенный пептид является, по существу, свободным от топоизомеров. В этом контексте "по существу" свободный от топоизомеров означает, что содержание топоизомера в пептиде в конце процесса очистки составляет предпочтительно менее 2%, менее 1,5%, менее 1,25%, менее 1%, менее 0,9%, менее 0,8%, менее 0,7%, менее 0,6%, менее 0,5%, менее 0,4%, менее 0,3%, менее 0,2%, или менее 0,1%, от общей массы пептида.

Например, очищенный пептид является, по существу, свободным от воды. В этом контексте "по существу" свободный от воды означает, что содержание воды в пептиде в конце процесса очистки составляет предпочтительно менее 10%, 9%, 8%, 7%, менее 6%, менее 5%, менее 4,5%, менее 4,25%, менее 4%, менее 3,5%, менее 3%, менее 2,5%, менее 2%, менее 1,5%, менее 1%, менее 0,5%, менее 0,25% или менее 0,1%, от общей массы пептида.

Например, пептид обладает распределением размера частиц, обладающим значением D10 приблизительно от 2 до 15 мкм; значением D50 приблизительно 15-50 мкм; и значением D90 приблизительно 40-80 мкм при измерении по светорассеянию с жидким дисперсантом.

Например, очищенный пептид обладает распределением размера частиц, характеризующимся значением D50 приблизительно 600 мкм при измерении по светорассеянию с воздушным дисперсантом. Для сравнения, пептиды, очищенные способами лиофилизации и осаждения, описанными в WO2012/118972, обладают значениями D50 приблизительно 180-250 мкм и приблизительно 300 мкм, соответственно.

Например, очищенный пептид, полученный способами по изобретению, обладает приемлемым распределением размера для фармацевтического состава. В одном из вариантов осуществления, пептид (например, SP-304) обладает распределением размера (например, средним размером 80-120 мкм), сравнимым с распределением размера фармацевтического наполнителя (например, микрокристаллической целлюлозы), использованного в составе, например, в единичной лекарственной форме 3 мг/сутки. Распределение размера очищенного пептида может меняться на основании единичной дозы. Например, когда единичная доза составляет менее 3 мг/сутки, очищенный пептид в фармацевтическом составе обладает меньшим средним размером, чем в дозе 3 мг/сутки. Например, очищенный пептид, полученный способами по изобретению, перемалывают для достижения приемлемого распределения размера.

Распределение размера пептида по изобретению можно определять общепринятыми способами, такими как ситовый анализ, анализы затенения или динамического светорассеяния.

Изобретение также относится к составу (например, пероральному составу), содержащему пептиды, полученные и/или очищенные способами, описываемыми в настоящем документе, и в частности, к составу с низкой дозой, содержащему 0,05-10 мг (например, 0,1 мг, 0,3 мг или 0,5 мг) очищенных пептидов. Состав с низкой дозой может дополнительно обладать одним или несколькими дополнительными признаками, как описано в WO2012/037380 и US2012-0237593, и его можно получать способом, описанными в настоящем документе, такими как сухое смешивание.

Другие признаки и преимущества изобретения очевидны из следующего подробного описания и формулы изобретения, в объем которых они включены.

### Краткое описание чертежей

Фиг. 1 представляет собой график, показывающий распределение размера частиц по ситовому анализу для лиофилизированного плеканатида и осажденного плеканатида.

Фиг. 2 представляет собой изображение при оптической микроскопии лиофилизированного плеканатида.

Фиг. 3 представляет собой изображение при оптической микроскопии осажденного плеканатида.

Фиг. 4 представляет собой хроматограмму СЭЖХ плеканатида, выделенного по одному из вариантов осуществления способа очистки по изобретению.

### Подробное описание

В одном из аспектов, настоящее изобретение относится к решению различных неожиданных проблем, возникающих в ходе процессов очистки пептидных агонистов GCC для фармацевтического применения, таких как процесс лиофилизации и процесс осаждения, описанные в WO2012/118972.

В частности, выявлено, что способ лиофилизации, описанный в WO2012/118972, включающий в себя использование растворителя ацетонитрил/вода, неожиданно приводил к обогащению остаточного ацетамида (примеси ацетонитрила в следовых количествах) в продукте лиофилизированном плеканатиде с высоким содержанием ацетамида (т.е. в диапазоне от 88 до 453 ppm среди тестированных партий, или приблизительно 300 ppm в среднем), что мешало коммерческой реализации плеканатида в дозах, превышающих 3 мг/сутки. Кроме того, продукт лиофилизированный плеканатид обладал также высоким разнообразием уровней остаточных солей, таких как TFA, ацетат и соли аммония.

С другой стороны, в то время как продукт плеканатид, очищенный способом осаждения, описанным в WO2012/118972, обладал низким содержанием остаточного ацетамида (<50 ppm) и более высокой объемной или насыпной ПЛОТНОСТЬЮ (т.е. приблизительно в десять раз выше), чем лиофилизированный продукт, осажденный продукт плеканатид содержал высокие уровни остаточных растворителей (например, IPA, настолько высокий, как 90000 ppm) из-за сложности удаления растворителей, использованных для осаждения пептида. Кроме того, в то время как нагревание до низкой температуры (45°C) в ходе вакуумной сушки помогало снижать количество остаточного изопропанола до количества ниже предела ICH 5000 ppm (например, 1700 ppm), продукт термической деградации, альфа-Asp-9-плеканатид, обладающий относительным временем удержания (RRT) ~1,33 в анализе сверхэффективной жидкостной хроматографии (СЭЖХ), образовывался затем в конечном пептидном продукте в концентрации, настолько высокой, как 0,9%. Содержание примеси RRT 1,33 увеличивается также в плеканатиде и таблетках из него в ходе хранения при комнатной температуре. Таким образом, исходный высокий уровень этой примеси RRT 1,33 в плеканатиде, полученном способом осаждения, приводит к меньшему окну приемлемости и таким образом, сокращает пригодный для использования срок хранения продуктов лекарственного средства плеканатида.

Способы очистки по изобретению решают проблему остаточного растворителя и проблему деградации, например, посредством замены растворителя ацетонитрил/вода на растворитель IPA/вода с последующим выпариванием с применением роторного испарителя для снижения уровня IPA до критически низкого уровня (например, <5%), с последующей первой частичной лиофилизацией, что приводит к низкому, но неприемлемым уровням остаточных растворителей, с последующим разведением в воде и конечной лиофилизацией, приводящей к низким и приемлемым уровням остаточных растворителей для фармацевтического применения. Кроме того, способы очистки по изобретению являются пригодными для масштабирования получения/очистки пептидов.

Кроме того, неожиданно обнаружено, что добавление небольшого количества буфера ацетата аммония (например, 0,5% от сухого пептида) в ходе разведения водой (pH 5) перед конечной лиофилизацией улучшает растворимость конечного продукта. Кроме того, буфер ацетат аммония (pH 5) уменьшает скорость топо-изомеризации плеканатида в растворе в ходе лиофилизации. Буфер ацетат аммония (pH 5) контролирует также уровни остаточных солей в конечном продукте с более низким разнообразием по сравнению с продуктом лиофилизации, описанным в WO2012/118972.

Пептид в конце процессов очистки или выделения по изобретению обладает низким уровнем остаточного ацетамида (<50 ppm) и объемной плотностью не более 0,1 г/мл, а также более низким суммарным уровнем остаточных растворителей (например, <500 ppm IPA, <300 ppm ACN), низкими уровнями примесей из-за деградации (например, <0,1% продукта деградации альфа-Asp-9-плеканатида (RRT 1,33)) и топоизомеров (например, 0,4% или менее), и низкими уровнями остаточных солей (например, <0,1% TFA, 0,08-0,23% ацетата и 0,11-0,17% аммония). Сравнение между продуктами плеканатида, выделенными различными способами, представлено в табл. XX ниже.

Изобретение относится к способам очистки или выделения пептидов, например, пептидных агонистов GCC, в частности, пептидов, полученных гибридным способом в растворе и твердой фазе, например, как описано в WO2012/118972, полное содержание которой, таким образом, приведено в качестве ссылки. Гибридный способ включает в себя получение двух или более фрагментов представляющего интерес пептида посредством синтеза в твердой фазе и/или в фазе раствора и соединение их посредством синтеза в фазе раствора для получения целевого пептида. Способ может дополнительно включать в себя, при необходимости, окислительную циклизацию остатков аминокислоты цистеина линейного пептида, полученного соединением фрагментов, для получения циклизированного пептида.

Фрагменты, описанные выше, можно получать способами общепринятого синтеза пептидов в жидкой фазе или твердофазного синтеза пептидов, в которых пептидная связь возникает посредством прямой конденсации аминогруппы (т.е.  $\text{NH}_2$ ) первой аминокислоты с карбоксигруппой (т.е.  $\text{COOH}$ ) второй аминокислоты с исключением молекулы воды. В одном из вариантов осуществления, по меньшей мере один из фрагментов получают твердофазным синтезом пептидов.

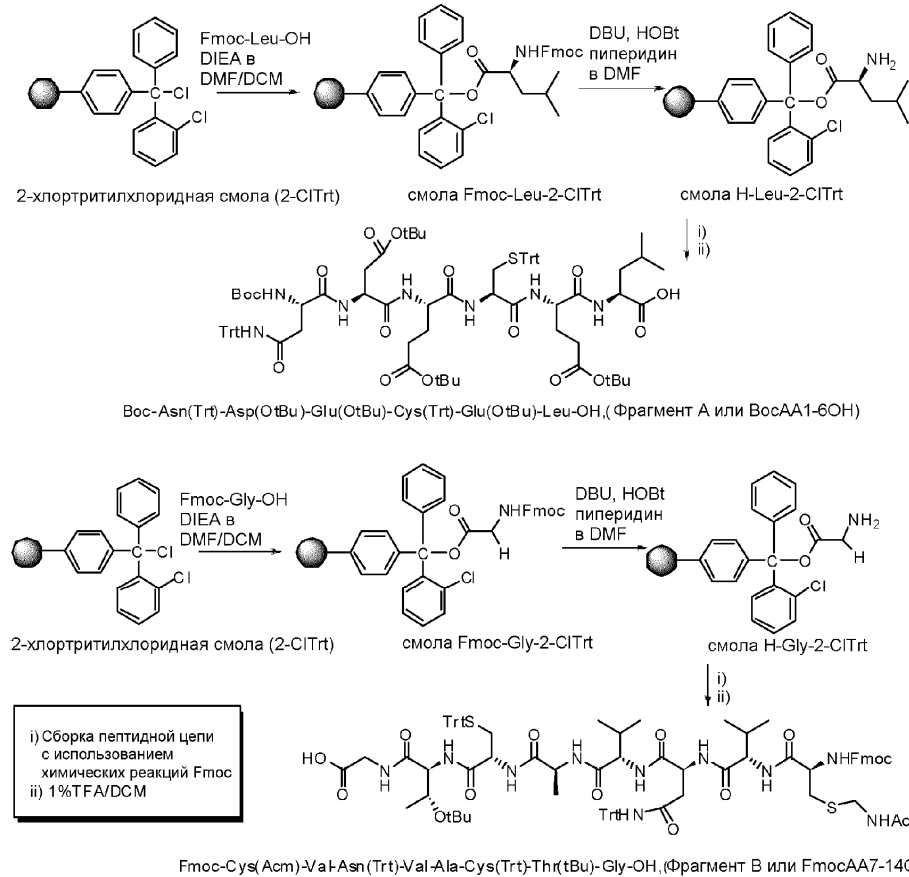
Синтез пептидной связи посредством прямой конденсации, как сформулировано выше, требует супрессии реакционноспособного характера аминогруппы первой и карбоксильной группы второй аминокислоты. Маскирующие заместители (т.е. защитные группы) должны позволять их легкое удаление, без индукции разрушения лабильной молекулы пептида.

Термин "защищенный пептид" или "защищенный фрагмент пептида" относится к пептиду или фрагменту пептида, в которых все реакционноспособные группы на составляющих их аминокислотах маскированы защитными группами, если не указано иначе. Термин "пептид со снятой защитой" или "фрагмент пептида со снятой защитой" относится к пептиду или фрагменту пептида, в которых все реакционноспособные группы на составляющих их аминокислотах являются свободными от маскировки защитными группами, если не указано иначе. Термин "реакционноспособные группы" относится к группам, формирующим пептидную связь, и к группам, мешающим формированию пептидной связи, таким как группы amino, карбоксила, гидроксила и тиола (как в цистеине). Примеры защитных групп для amino включают в себя 9-флуоренилметилоксикарбонил (Fmoc), трет-бутоксикарбонил (Boc), бензоил (Bz), ацетил (Ac) и бензил (Bn), и не являются ограниченными этим. Примеры защитных групп для карбоксила включают в себя тритил (трифенилметил, Trt) и O-трет-бутил (OtBu). Примеры защитных групп для тиола включают в себя ацетамидометил (AcM), трет-бутил (tBu), 3-нитро-2-пиридинсульфенил (NPYS), 2-пиридинсульфенил (Pyr) и тритил (Trt). Дополнительные примеры защитных групп описаны в Greene, T.W., Wuts, P.G. M., *Protective Groups in Organic Synthesis*, 3<sup>rd</sup> edition, John Wiley & Sons: New York, 1999, содержание которого приведено в настоящем документе в качестве ссылки.

Например, гибридные способы синтеза использовали для получения SP-304 (плеканатида). В частности, получают три фрагмента пептида, A, B и C, а затем линейную пептидную последовательность собирают посредством конденсации фрагментов A, B и C следующим образом: получение фрагмента A, Boc-Asn(Trt)-Asp(OtBu)-Glu(OtBu)-Cys(Trt)-Glu(OtBu)-Leu-OH, посредством твердофазного синтеза на 2-хлортритилхлоридной смоле; получение фрагмента B, Fmoc-Cys(AcM)-Val-Asn-Val-Ala-Cys(Trt)-Thr(tBu)-Gly-OH, посредством твердофазного синтеза на 2-хлортритилхлоридной смоле; получение фрагмента C, Cys(AcM)-Leu-OtBu, посредством синтеза в жидкой фазе, соединение фрагментов B и C в жидкой фазе для получения фрагмента B-C, и соединение фрагментов A и B-C для получения линейного пептида A-B-C.

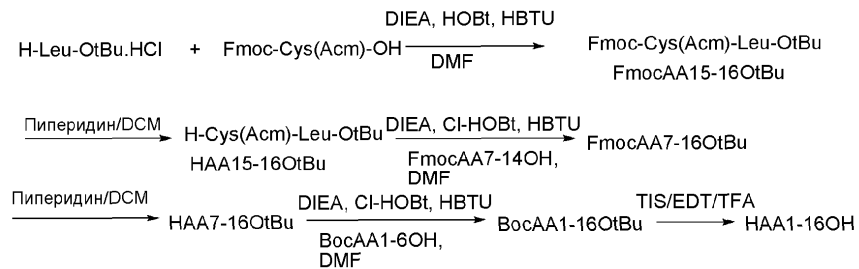
Фрагменты A (BocAA1-6OH) и B (FmocAA7-14OH) с защитой боковых цепей можно получать посредством Fmoc SPPS с использованием сверхчувствительной к кислоте 2-хлортритилхлоридной (2-ClTrt) смолы и защищенных Fmoc производных аминокислот, как показано на схеме 1 ниже.

Схема 1.



Фрагмент С (HAA15-16OtBu) можно получать посредством синтеза в жидкой фазе, а затем соединять с фрагментом В (FmocAA7-14OH) в жидкой фазе для получения фрагмента В-С (FmocAA7-16OtBu). Затем защитную группу Fmoc можно удалять из фрагмента В-С (FmocAA7-16OtBu) для получения HAA7-16OtBu, который затем соединяют с фрагментом А (ВосAA1-6OH) для получения линейного SP-304 с защитой боковых цепей (ВосAA1-16OtBu), как показано на схеме 2 ниже.

Схема 2.



Линейный SP-304 с защитой боковых цепей (ВосAA1-16OtBu) можно обрабатывать трифторуксусной кислотой/триизопропилсиланом/этандитиолом (TFA/TIS/EDT) для получения частично защищенного SP-304 (HAA1-16OH), в котором 2 группы S-Асм (как показано на схеме 2 выше) являются интактными. Частично защищенный линейный SP-304 (HAA1-16OH) можно окислять посредством H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, с последующим одновременным удалением групп S-Асм и формированием дисульфида с помощью иода для получения неочищенного дидицического SP-304, как показано на схемах 3 и 4 ниже.



Схема 3.

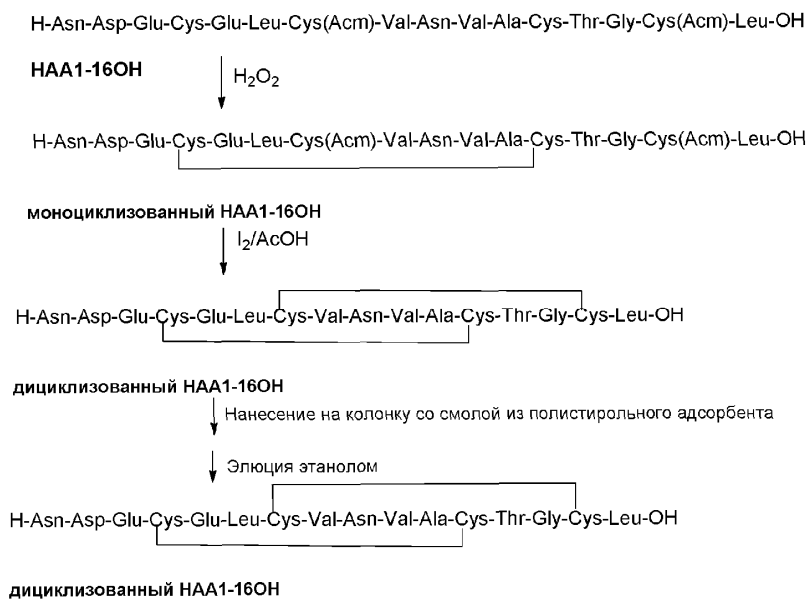
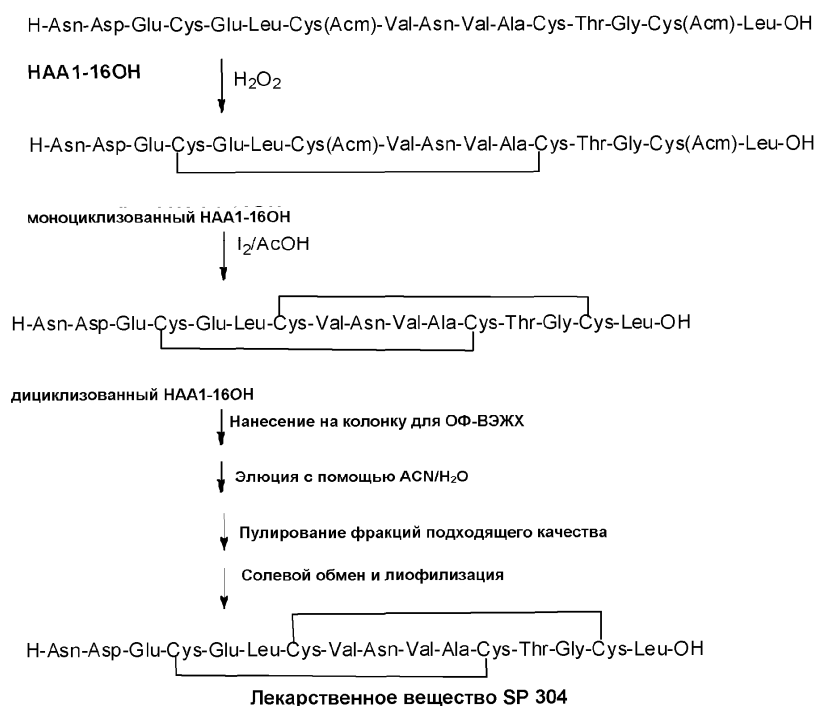


Схема 4.



Раствор неочищенного дициклического SP-304 можно затем очищать и концентрировать, как показано на схеме 3 выше, посредством нанесения раствора на колонку со смолой из полистирольного адсорбента (например, D101 (Anhui Sanxing (China); перекрестно сшитый полистирол; площадь поверхности 500-550 м<sup>2</sup>/г; средний диаметр пор: 9-10 нм; объем пор: 1,18-1,24 мл/г; объемная плотность: 0,65-0,70 г/мл; удельная плотность: 1,03-1,07 г/мл; влажность: 67-75%; размер частиц: 0,315~1,25 мм ≥95%; эффективный диаметр: 0,4~0,7 мм; коэффициент однородности: ≤1,6%), DA201C, DA201H, ADS-8 и ADS-5), элюции дициклического SP-304 с колонки с помощью элюента (например, 90% водного раствора этанола), концентрирования собранного раствора SP-304 при пониженном давлении и осаждения SP-304 с помощью метил-трет-бутилового эфира (МТБЕ). Преципитат можно затем собирать посредством фильтрации или центрифугирования, высушивать в высоком вакууме для получения SP-304 в твердой форме.

Как проиллюстрировано на схеме 4 выше, раствор неочищенного дициклического SP-304 можно очищать также непосредственно на колонке для препаративной ВЭЖХ с C18 с помощью ацетонитрила (ACN), метанола и/или воды в различных буферных системах. Неочищенный дициклический SP-304 можно также очищать другими способами, известными специалисту в данной области.

Специалистам в данной области понятно, что при твердофазном синтезе, снятие защиты и реакции

связывания должны проходить до завершения, и блокирующие группы для боковых цепей должны являться стабильными на всем протяжении синтеза.

Ацетилирование N-конца можно проводить посредством реакции конечного пептида с уксусным ангидридом перед отщеплением от смолы. С-амидирование проводят с использованием подходящей смолы, такой как метилбензгидриламиновая смола, с использованием технологии Вос.

При синтезе в жидкой фазе, можно использовать широкое множество способов связывания и защитных групп (см., Gross и 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)). Кроме того, возможны промежуточная очистка и линейное масштабирование. Специалистам в данной области понятно, что синтез в растворе требует рассмотрения защитных групп для главной цепи и боковых цепей, и способа активации. Кроме того, необходим тщательный выбор фрагментов для минимизации рацемизации в ходе конденсации фрагментов. Например, рацемизацию минимизируют, когда фрагменты содержат С-концевой Gly или Pro. Растворимость также рассматривают в качестве фактора. В твердофазном синтезе пептидов используют нерастворимый полимер для поддержки в ходе органического синтеза. Пептидная цепь с поддерживающей полимером позволяет использование простых стадий промывки и фильтрации вместо трудоемкой очистки на промежуточных стадиях. Твердофазный синтез пептидов можно в основном проводить в соответствии со способом из Merrifield et al., J. Am. Chem. Soc, 1963, 85:2149, который включает в себя сборку линейной пептидной цепи на подложке из смолы с использованием защищенных аминокислот. В твердофазном синтезе пептидов, как правило, используют способ либо с Boc, либо с Fmoc, оба из которых хорошо известны в данной области.

Общий способ гибридного синтеза SP-353 включает в себя синтез в твердой фазе и в жидкой фазе для получения подходящих фрагментов пептидов (см. схемы 5 и 6 ниже), последующую конденсацию фрагментов для получения линейного неочищенного пептида (см. схему 7 ниже), и природное окислительное сворачивание для получения циклизованного конечного продукта (см. схему 7 ниже). Такой же способ также можно использовать для получения других пептидных аналогов ST (таких как SP-354, линаклотид, и т.д.) сходных аминокислотных последовательностей, показанных в табл. II.

Схема 5.

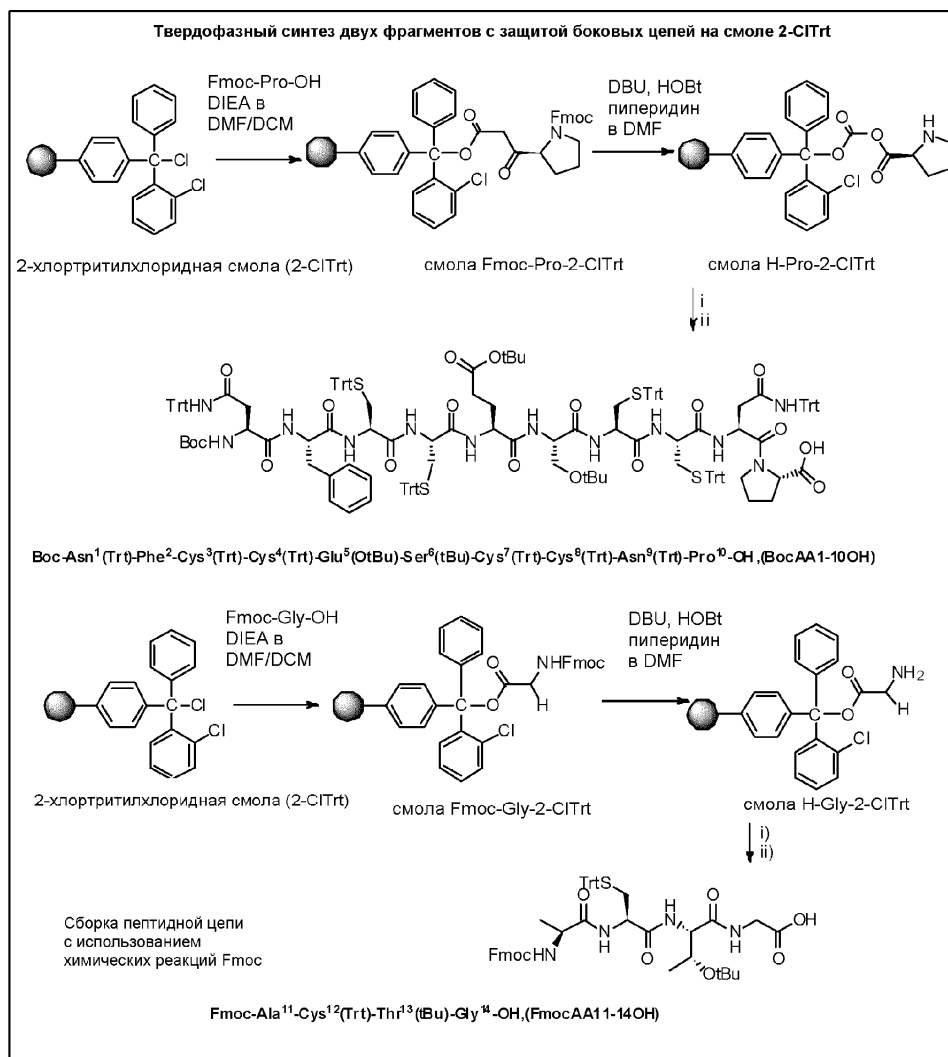


Схема 6.

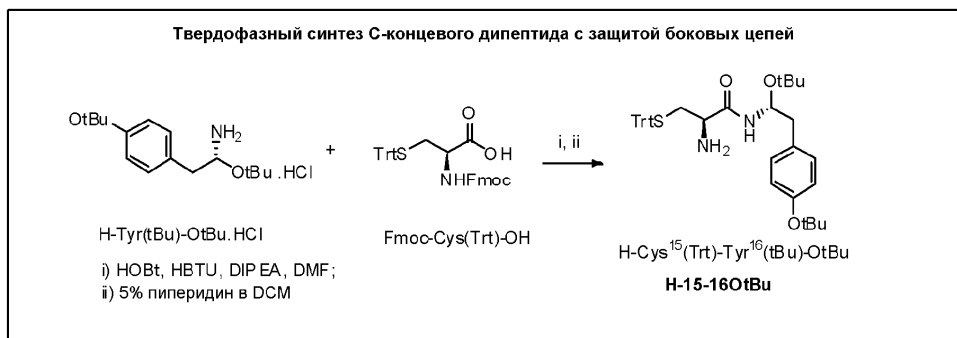
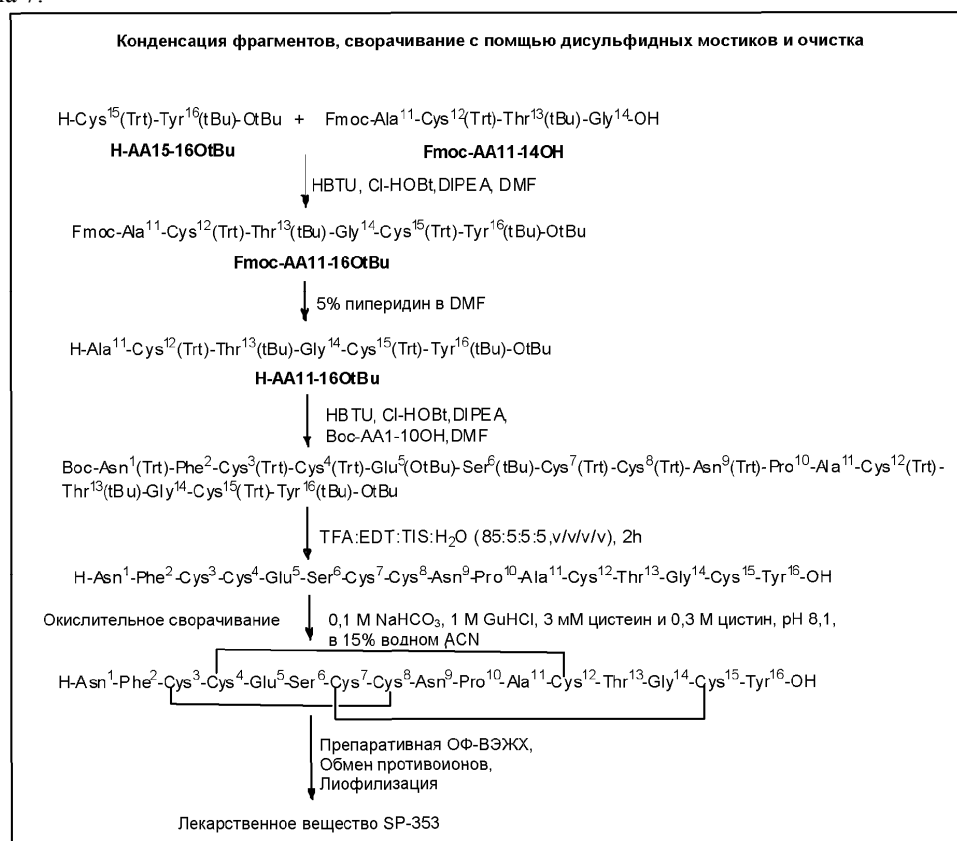


Схема 7.



Общий способ гибридного синтеза SP-333 включает в себя синтез в твердой фазе и в жидкой фазе для получения подходящих фрагментов пептидов (см. схемы 8 и 9 ниже), последующую конденсацию фрагментов для получения линейного неочищенного пептида (см. схему 9 ниже), окислительное сворачивание для получения циклизованного конечного продукта, очистку и лиофилизацию (см. схему 10 ниже).

Схема 8.

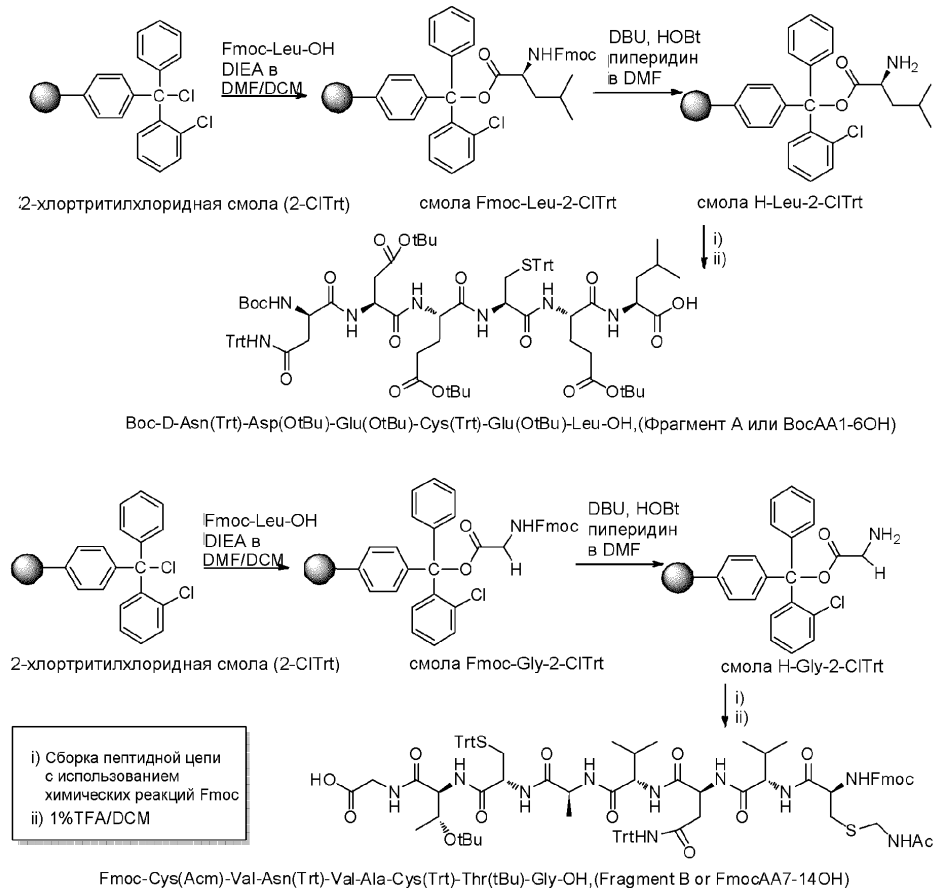


Схема 9.

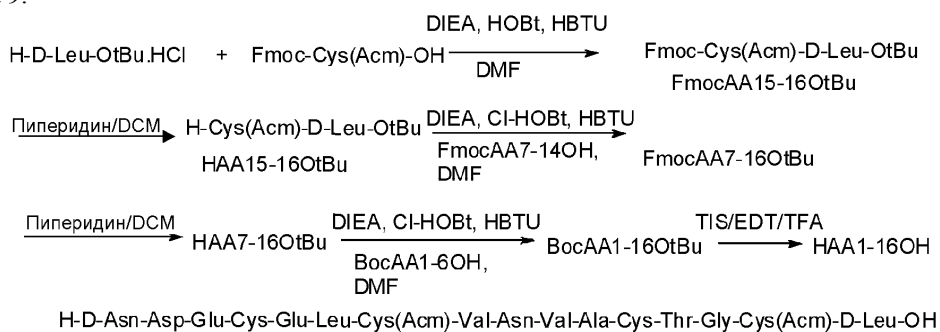
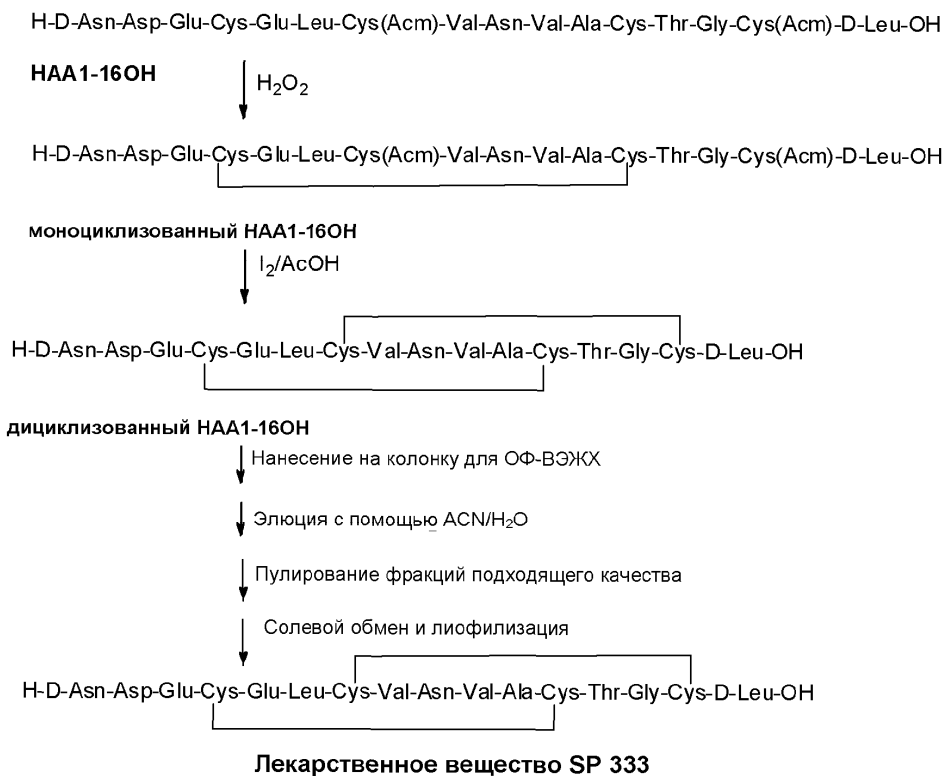
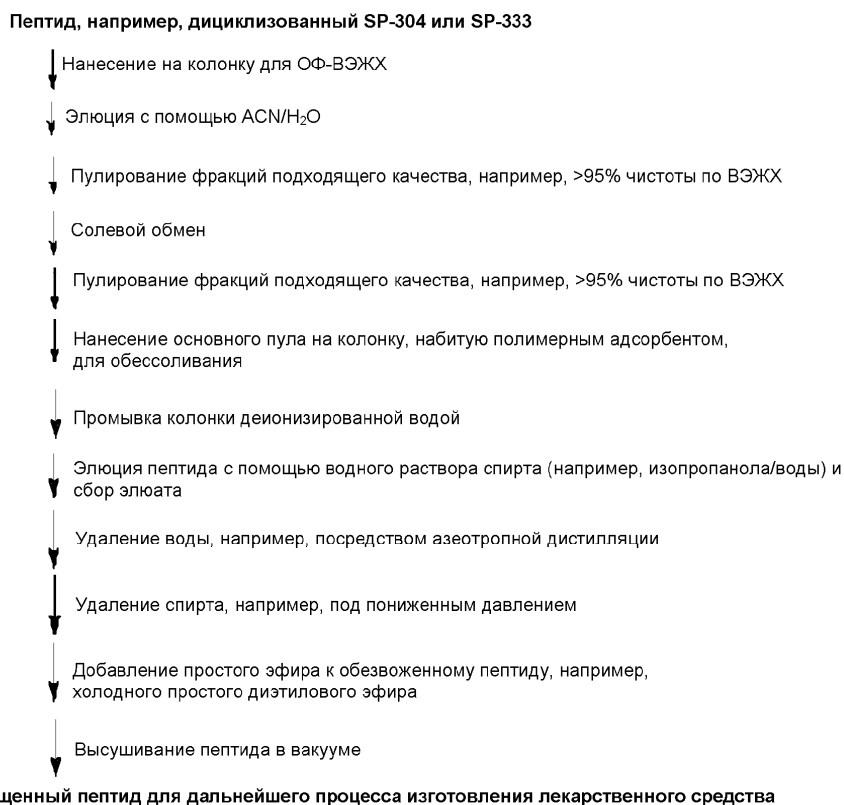


Схема 10.



Общий способ очистки пептидов, включая пептиды, синтезированные гибридными способами, описываемыми в настоящем документе, включает в себя, например, стадии, проиллюстрированные на схеме 11 ниже. Следует понимать, что конкретные стадии на схеме 11 могут повторяться (например, промывка колонки деионизированной водой) или отсутствовать (например, солевой обмен или удаление спирта после обезвоживания) для оптимизации способа очистки.

Схема 11.



Способом осаждения, как проиллюстрировано на схеме 11, получают очищенный пептид, например, пептидные агонисты GCC. Предпочтительно, очищенный пептид представляет собой SP-304 (SEQ ID NO: 1) или SP-333 (SEQ ID NO: 9). В одном из вариантов осуществления, очищенный SP-304 или SP-

333 обладает объемной плотностью не менее 0,05 г/мл, не менее 0,1 г/мл, не менее 0,2 г/мл, не менее 0,3 г/мл, не менее 0,4 г/мл, или не менее 0,5 г/мл. В предпочтительном варианте осуществления, очищенный SP-304 или SP-333 обладает объемной плотностью приблизительно 0,05-2 г/мл, приблизительно 0,2-0,7 г/мл, приблизительно 0,3-0,6 г/мл или приблизительно 0,4-0,5 г/мл. В одном из вариантов осуществления, очищенный SP-304 или SP-333 обладает насыпной плотностью не менее 0,08 г/мл, не менее 0,1 г/мл, не менее 0,15 г/мл, не менее 0,2 г/мл, не менее 0,3 г/мл, не менее 0,4 г/мл, не менее 0,5 г/мл или не менее 0,6 г/мл.

Например, очищенный SP-304 или SP-333 обладает насыпной плотностью 0,08-2 г/мл, приблизительно 0,4-0,9 г/мл, приблизительно 0,5-0,8 г/мл или приблизительно 0,6-0,7 г/мл. В одном из вариантов осуществления, очищенный пептид SP-304 или SP-333 содержит <0,01% ацетамида (например, <28 ppm), <0,3% иона аммония (например, <0,25%), <0,01% ацетонитрила (например, <20 ppm), и/или <0,1% TFA (например, <0,09%). В одном из вариантов осуществления, очищенный пептид SP-304 или SP-333 обладает объемной плотностью 0,4-0,5 г/мл, обладает насыпной плотностью 0,6-0,7 г/мл и содержит <0,01% ацетамида (например, <28 ppm), <0,3% иона аммония (например, <0,25%), <0,01% ацетонитрила (например, <20 ppm) и/или <0,1% TFA (например, <0,09%).

Некоторые варианты осуществления относятся к очищенному пептиду, обладающему последовательностью агониста GCC, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1, 9 и 104, где очищенный пептид обладает следующими характеристиками:

- a) обладает объемной плотностью не более 0,1 г/мл;
- b) содержит менее 50 ppm ацетамида;
- c) менее 0,3% альфа-Asp-9-пленаканатида.

Очищенный пептид может обладать одним или несколькими из следующих признаков.

В одном из вариантов осуществления, пептид является стабильным при 25°C в течение по меньшей мере трех месяцев.

В одном из вариантов осуществления, пептид обладает распределением размера частиц, обладающим значением D10 приблизительно от 2 до 15 мкм; значением D50 приблизительно 15-50 мкм; и значением D90 приблизительно 40-80 мкм при измерении по светорассеянию с жидким дисперсантом.

В одном из вариантов осуществления, очищенный пептид содержит не более, чем 35 ppm ацетамида (например,  $\leq 18$  ppm).

В одном из вариантов осуществления, очищенный пептид содержит менее 0,15% альфа-Asp-9-пленаканатида (обладающего относительным временем удержания (RRT)  $\sim 1,33$  по анализу сверхэффективной жидкостной хроматографии (СЭЖХ), описываемому в настоящем документе).

В некоторых вариантах осуществления, очищенный пептид обладает объемной плотностью не более 0,09 г/мл, не более 0,08 г/мл, не более 0,07 г/мл, не более 0,06 г/мл, не более 0,05 г/мл, не более 0,04 г/мл, или не более 0,03 г/мл.

В некоторых вариантах осуществления, очищенный пептид является, по существу, свободным от воды (например, содержание воды не превышает 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3,5, 3, 2,5, 2, 1,5, 1, 0,5, 0,25 или 0,1%, от общей массы пептида).

В некоторых вариантах осуществления, очищенный пептид обладает хроматографической чистотой не менее 95%, не менее 96%, или не менее 97%.

В некоторых вариантах осуществления, общее содержание примесей в очищенном пептиде составляет менее 3% (например, <2 или <1%).

В некоторых вариантах осуществления, очищенный пептид является, кроме того, по существу, свободным от одной или более примесей, выбранных из ацетонитрила, спиртов, аммония, ацетатов и TFA.

Например, очищенный пептид содержит менее 300 ppm ацетонитрила (например, <250 ppm).

В некоторых вариантах осуществления, очищенный пептид содержит менее 0,2% TFA (например, <0,15%, <0,1%, <400 ppm, <300 ppm, <200 ppm, <100 ppm или <50 ppm).

В некоторых вариантах осуществления, очищенный пептид содержит менее 0,2% изопропанола, т.е. IPA (например, <0,15%, <0,1%, <1000 ppm, <900 ppm, <800 ppm, <700 ppm, <600 ppm, <500 ppm, <400 ppm, <300 ppm, <200 ppm, <100 ppm, <50 ppm, или <20 ppm).

В некоторых вариантах осуществления, очищенный пептид содержит менее 0,25% ацетат (например, <0,2 или <0,1%).

В некоторых вариантах осуществления, очищенный пептид является, по существу, свободным от топоизомеров (например, <0,4, <0,3, <0,2 или <0,1%).

В некоторых вариантах осуществления, очищенный пептид является, по существу, свободным от изо-Asp2-пленаканатида (RRT 0,96-0,97) (например, <0,4, <0,3, <0,2 или <0,1%).

В некоторых вариантах осуществления, очищенный пептид обладает хроматографической чистотой не менее 96%, не менее 97% или не менее 98%. Например, пептид-агонист GCC обладает хроматографическим содержанием примесей не более 4%, не более 3,5%, не более 3%, не более 2,5%, не более 2%, не более 1,5% или не более 1%. Хроматографическое содержание примесей определяют как суммарный процент площади для примесей по ВЭЖХ. Хроматографическое содержание примесей включает в себя

содержание топоизомеров. Примеси не включают в себя никакого фармацевтически приемлемого наполнителя, используемого для получения состава лекарственного средства.

В некоторых вариантах осуществления, очищенный пептид является, по существу, свободным от загрязнений, возникающих в результате процесса получения пептида, таких как органические растворители, используемые в процессе, например, аммоний, ацетонитрил, ацетамид, спирт (например, метанол, этанол, или изопропанол), TFA, простой эфир или другие загрязнения. В этом контексте "по существу" свободный от загрязнений означает, что содержание загрязнений пептида в конце процесса очистки предпочтительно составляет менее 0,5%, менее 0,3%, менее 0,25%, менее 0,1%, менее 0,05%, менее 0,04%, менее 0,03%, менее 0,02%, менее 0,01%, менее 0,005%, менее 0,003%, или менее 0,001% от общей массы пептида. Например, очищенный пептид содержит <50 ppm ацетамида (например,  $\leq 35$  или  $\leq 18$  ppm), <300 ppm ацетонитрила (например, <250 ppm), <1000 ppm TFA (например, <400, <300, <200, <100, или <50 ppm), <2000 ppm изопропанола (например, <1500, <1000, <500, <400, <300, <200, <100, <50 или <20 ppm) и/или <0,25% ацетата (например, <0,2 или <0,1%). Содержание загрязнений можно определять общепринятыми способами, такими как газовая хроматография. Предпочтительно, количества остаточных растворителей в очищенном пептиде по изобретению составляют менее пределов, установленных в руководствах ICH, например, IMPURITIES: GUIDELINE FOR RESIDUAL SOLVENTS Q3C(R5) (доступно на [http://www.ich.org/fileadmin/Public\\_Web\\_Site/ICH\\_Products/Guidelines/Quality/Q3C/Step4/Q3C\\_R5\\_Step4.pdf](http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q3C/Step4/Q3C_R5_Step4.pdf)).

В некоторых вариантах осуществления, очищенный пептид содержит менее 0,3% (например, <0,15%) альфа-Asp-9-пленаканатида (RRT 1,33).

В некоторых вариантах осуществления, очищенный пептид обладает объемной плотностью не более 0,09 г/мл, не более 0,08 г/мл, не более 0,07 г/мл, не более 0,06 г/мл, не более 0,05 г/мл, не более 0,04 г/мл или не более 0,03 г/мл.

В некоторых вариантах осуществления, очищенный пептид является, по существу, свободным от изо-Asp2-плеканатида (RRT~0,96-0,97). В этом контексте "по существу" свободный от изо-Asp2-плеканатида означает, что содержание изо-Asp2-плеканатида в пептиде в конце процесса очистки составляет предпочтительно менее 2%, менее 1,5%, менее 1,25%, менее 1%, менее 0,9%, менее 0,8%, менее 0,7%, менее 0,6%, менее 0,5%, менее 0,4%, менее 0,3%, менее 0,2%, или менее 0,1%, от общей массы пептида.

В некоторых вариантах осуществления, очищенный пептид является, по существу, свободным от топоизомеров. В этом контексте "по существу" свободный от топоизомеров означает, что содержание топоизомера в пептиде в конце процесса очистки составляет предпочтительно менее 2%, менее 1,5%, менее 1,25%, менее 1%, менее 0,9%, менее 0,8%, менее 0,7%, менее 0,6%, менее 0,5%, менее 0,4%, менее 0,3%, менее 0,2%, или менее 0,1%, от общей массы пептида.

В некоторых вариантах осуществления, очищенный пептид является, по существу, свободным от воды. В этом контексте "по существу" свободный от воды означает, что содержание воды в пептиде в конце процесса очистки составляет предпочтительно менее 10, 9, 8, 7%, менее 6%, менее 5%, менее 4,5%, менее 4,25%, менее 4%, менее 3,5%, менее 3%, менее 2,5%, менее 2%, менее 1,5%, менее 1%, менее 0,5%, менее 0,25%, или менее 0,1%, от общей массы пептида.

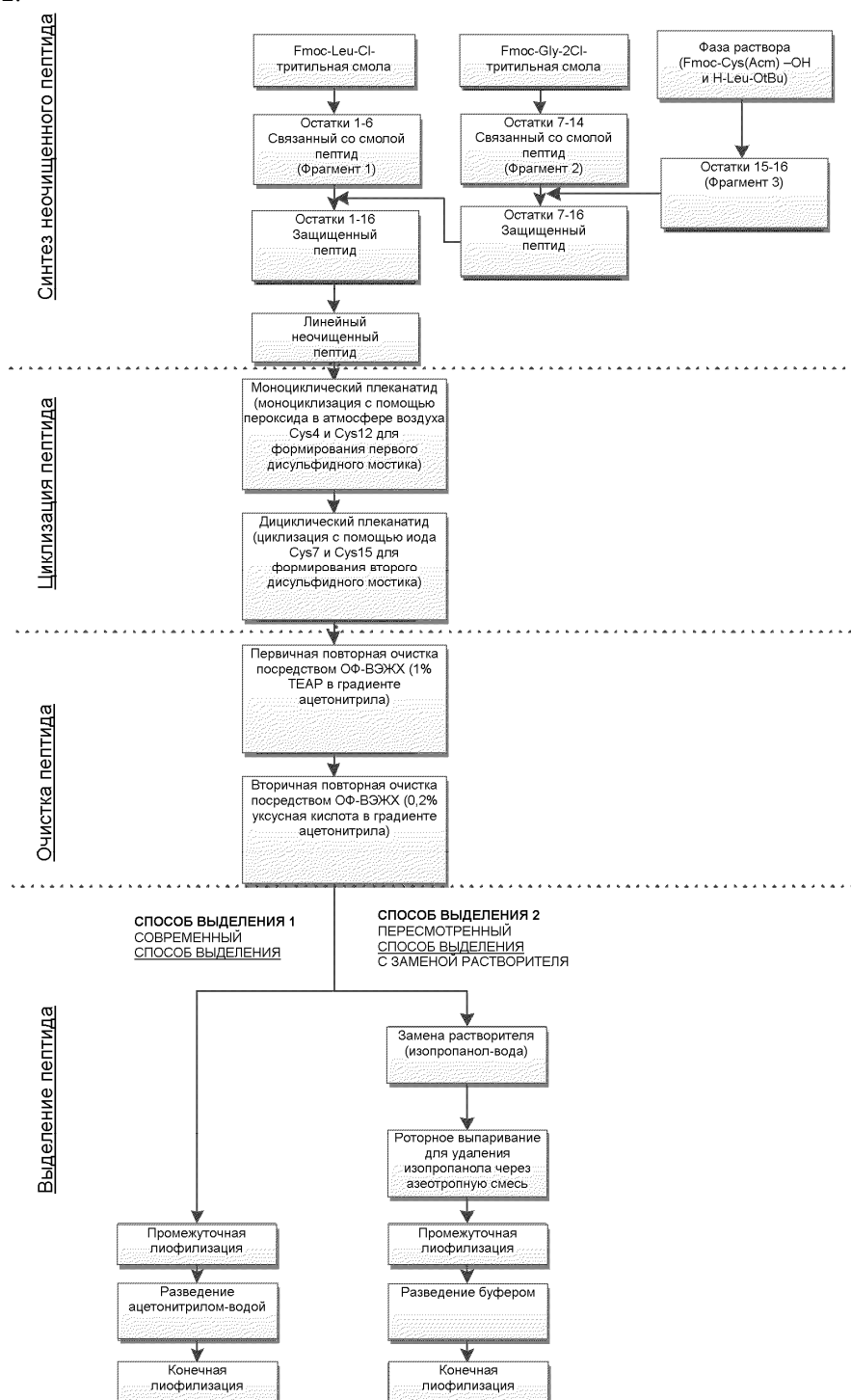
Например, очищенный пептид обладает распределением размера частиц, характеризующимся значением D50 приблизительно 600 мкм при измерении по светорассеянию с воздушным дисперсантом. Для сравнения, пептиды очищенные способами лиофилизации и осаждения, описанными в W2012/118972, обладают значениями D50 приблизительно 180-250 мкм и приблизительно 300 мкм, соответственно.

Например, очищенный пептид, полученный способами по изобретению, обладает приемлемым распределением размера для фармацевтического состава. В одном из вариантов осуществления, пептид (например, SP-304) обладает распределением размера (например, средним размером 80-120 мкм), сравнимым с распределением размера фармацевтического наполнителя (например, микрокристаллической целлюлозы), использованного в составе, например, в единичной лекарственной форме 3 мг/сутки. Распределение размера очищенного пептида может меняться на основании единичной дозы. Например, когда единичная доза составляет менее 3 мг/сутки, очищенный пептид в фармацевтическом составе обладает меньшим средним размером, чем в дозе 3 мг/сутки. Например, очищенный пептид, полученный способами по изобретению, перемалывают для достижения приемлемого распределения размера.

Распределение размера пептида по изобретению можно определять общепринятыми способами, такими как ситовый анализ, анализы затенения или динамического светорассеяния.

В одном из вариантов осуществления, изобретение относится к способу очистки очищаемых пептидов, включая пептиды, синтезированные гибридными способами, описываемыми в настоящем документе. Способ включает в себя, например, стадии (обозначенные как "способ выделения 2"), проиллюстрированные на схеме 12 ниже, по сравнению со стадиями выделения, описанными в WO2012/118972 (обозначенными как "способ выделения 1").

Схема 12.



В одном из вариантов осуществления, способ очистки по изобретению включает в себя следующие стадии.

Моноциклизация линейного неочищенного пептида: сначала формируют дисульфидную связь между Cys4 и Cys12 SP-304 посредством окисления  $H_2O_2$  при pH 8,0-8,5 для получения моноциклизованного неочищенного пептида. Линейный неочищенный пептид медленно добавляют и растворяют в буфере 0,5% ацетате аммония в воде с предварительно добавленной  $H_2O_2$  в соотношении 100:9 грамм пептида к мл  $H_2O_2$  для получения конечной концентрации неочищенного пептида приблизительно 1,0 мг/мл. Затем pH раствора доводят до 8,5 с помощью раствора  $NH_4OH$  во время перемешивания на открытом воздухе. Реакцию окислительной моноциклизации контролируют, например, с использованием способа ВЭЖХ 2, как описано в примере 8. Когда % площади для линейного неочищенного пептида составляет  $\leq 5,0\%$  от % площади для моноциклизованного пептида, реакцию окисления останавливают доведением pH раствора пептида до 1,7-2 с использованием раствора TFA. Затем раствор пептида переводят на следующую стадию для формирования дициклизованного пептида.



Дициклизация моноциклизованного пептида.

Дисульфидную связь между Cys7 и Cys15 формируют посредством 3,0% (мас./об.) I<sub>2</sub> в растворе ацетонитрил. Дисульфидный мостик получают, в то же время одновременно удаляя защитные группы боковых цепей Asp на оставшихся остатках Cys. Реакцию окислительной дициклизации контролируют, например, с использованием способа ВЭЖХ 2. Избыток иода нейтрализуют с помощью раствора 0,1 М аскорбиновой кислоты в воде. После завершения реакции, рН дициклизованного пептида доводят до 6,5-7 с использованием раствора NH<sub>4</sub>OH, и получают материал для первичной очистки.

Первичная очистка дициклизованного неочищенного пептида: Затем раствор дициклизованного неочищенного пептида, полученный в результате стадий окисления, наносят на колонку для препаративной ОФ-ВЭЖХ, набитую смолой C18 для обращеннофазовой хроматографии, управляемую системой для препаративной ВЭЖХ. Пептид элюируют в 1% ТЕАР в буферной системе вода, рН7/ACN. Способ ВЭЖХ 1 как описано в примере 8, например, используют для уточнения процентной чистоты фракций и пулов, полученных в ходе проведения первичной очистки.

Очистка возвращенного в процесс пула(пулов) дициклизованного пептида: После первичной очистки, фракции, требующие дальнейшей очистки, очищают на основании чистоты пулов фракций с использованием 1%ТЕАР в буферной системе вода, рН7/ACN или 0,2% уксусная кислота в воде/ACN. Затем раствор дициклизованного неочищенного пептида, полученный в результате стадий окисления, наносят на колонку для препаративной ОФ-ВЭЖХ, набитую смолой C18 для обращеннофазовой хроматографии, управляемую системой для препаративной ВЭЖХ. Пептид элюируют в 1% ТЕАР в буферной системе вода, рН7/ACN. Способ ВЭЖХ 1, как описано в примере 8, например, используют для уточнения процентной чистоты фракций и пулов, полученных в ходе проведения повторной очистки.

Вторичная очистка и солевой обмен: После повторной очистки, фракции, требующие дальнейшей очистки, очищают на основании чистоты пулов фракций с использованием 1% ТЕАР в буферной системе вода, рН7/ACN или 0,2% уксусная кислота в воде/ACN. Способ ВЭЖХ 1, как описано в примере 8, например, используют для уточнения процентной чистоты фракций и пулов, полученных в ходе проведения вторичной очистки. Способ СЭЖХ 1, как описано в примере 8, например, используют для уточнения процентной чистоты основного пула, полученного в ходе всего проведения очистки, перед переходом к следующей стадии.

Обмен растворителя: Материал, отвечающий критериям основного пула, загружают в колонку для препаративной ОФ-ВЭЖХ с фланцевого конца в обратном направлении, промывают раствором воды/изопропанола (например, с соотношением воды к изопропанолу 99:1) в обратном направлении, и элюируют раствором воды/изопропанола (например, с соотношением воды к изопропанолу 60:40) в прямом направлении. Собранный раствор пептида тестируют способом СЭЖХ 1, чтобы удостовериться в чистоте, затем раствор пептида фильтруют, подвергают выпариванию с применением роторного испарителя для удаления избытка изопропанола (например, до менее 5%), с последующей частичной лиофилизацией, например, в течение не менее 96 часов.

Разведение и конечная лиофилизация: Частично лиофилизированный сухой пептид подвергают разведению в воде для получения гомогенной партии. Буфер, такой как ацетат аммония (например, 0,5% (мас./мас.) от сухого пептида), добавляют в раствор и смешивают, пока ацетат аммония и пептид не растворятся. Материал можно анализировать способом СЭЖХ 1 для проверки чистоты. Растворенный материал можно помещать в лоток лиофилизатора и поддерживать в вакууме, например, в течение не менее 120 часов для получения конечного материала сухого пептида.

#### 1.1. Агонисты GCC.

Агонисты GCC, полученные способами по изобретению, могут связываться с гуанилатциклазой С и стимулировать внутриклеточную продукцию цГМФ. Необязательно, агонисты GCC индуцируют апоптоз и ингибируют пролиферацию эпителиальных клеток. Термин "гуанилатциклаза С" относится к трансмембранной форме гуанилатциклазы, которая действует в качестве рецептора кишечника для пептидов термостабильных токсинов (ST), секретируемых энтеробактериями. Гуанилатциклаза С также является рецептором для природных пептидов гуанилина и урогуанилина. Не исключена возможность того, что могут существовать различные рецепторы для каждого из этих пептидов. Таким образом, термин "гуанилатциклаза С" может также охватывать класс трансмембранных гуанилатциклазных рецепторов, экспрессированных на эпителиальных клетках, выстилающих слизистую оболочку желудочно-кишечного тракта.

Термин "агонист GCC" относится как к пептидам, так и к непептидным соединениям, таким как соединения, которые связываются с гуанилатциклазой С кишечника и стимулируют внутриклеточную продукцию цГМФ. Когда агонист GCC представляет собой пептид, термин охватывает биологически активные фрагменты таких пептидов и пропептидов, которые связываются с гуанилатциклазой С и стимулируют внутриклеточную продукцию цГМФ.

##### 1.1.1. Пептиды-агонисты GCC.

Агонисты GCC, пригодные для способов по изобретению, предпочтительно представляют собой пептиды. В некоторых вариантах осуществления, пептид-агонист GCC обладает длиной менее 30 аминокислот. В конкретных вариантах осуществления пептид-агонист GCC обладает длиной, меньшей или

равной 30, 25, 20, 15, 14, 13, 12, 11, 10 или 5 аминокислот. Примеры пептидов-агонистов GCC для применения в составах и способах по изобретению включают в себя пептиды, описанные в патентах США No. 7879802 и 8034782, и патентных публикациях США No. US2010-0069306 и US2010-0120694, полное содержание каждого из которых приведено в настоящем документе в качестве ссылки.

Конкретные примеры пептидов - агонистов GCC, которые можно очищать или получать способами по изобретению, включают в себя пептиды, описанные в таблицах I-VII ниже. Как используют в таблицах I-VII, термины "PEG3" или "ЗРЕГ" относятся к полиэтиленгликолю, такому как аминоэтилоксиэтил-оксиуксусная кислота (AeeA), и ее полимеры. Как используют в настоящем документе, термин "АМИД" предназначен для обозначения того, что концевая карбоновая кислота замещена амидной группой, т.е. концевой COOH заменен на CONH<sub>2</sub>.

Термин "X<sub>aa</sub>" относится к любой природной или не природной аминокислоте или аналогу аминокислоты. Термин "M<sub>aa</sub>" относится к цистеину (Cys), пеницилламину (Pen), гомоцистеину или 3-меркаптопролину. Термин "Xaa<sub>n1</sub>" предназначен для обозначения аминокислотной последовательности любой природной или не природной аминокислоты или аналога аминокислоты длиной один, два или три остатка; Xaa<sub>n2</sub> предназначен для обозначения аминокислотной последовательности длиной ноль или один остаток; и Xaa<sub>n3</sub> предназначен для обозначения аминокислотной последовательности длиной ноль, один, два, три, четыре, пять или шесть остатков. Кроме того, любая аминокислота, представленная Xaa, Xaa<sub>n1</sub>, Xaa<sub>n2</sub> или Xaa<sub>n3</sub>, может представлять собой L-аминокислоту, D-аминокислоту, метилированную аминокислоту или любую их комбинацию. Необязательно, любой пептид-агонист GCC, представленный формулами I-XX в таблицах, может содержать один или несколько остатков полиэтиленгликоля на N-конце, C-конце или на обоих.

В конкретных вариантах осуществления, агонист GCC, очищенный или полученный способами по изобретению, содержит пептид, выбранный из SEQ ID NO: 1-251, последовательности которых указаны ниже в таблицах I-VII ниже. В одном из вариантов осуществления, агонист GCC, очищенный способами по изобретению, содержит пептид, обозначенный SEQ ID NO: 1, 9 или 104.

В конкретных вариантах осуществления, агонист GCC, полученный способами по изобретению, содержит пептид, являющийся, по существу, эквивалентным пептиду, выбранному из SEQ ID NO: 1-251. Термин "по существу, эквивалентный" относится к пептиду, обладающему аминокислотной последовательностью, эквивалентной последовательности связывающего домена, где конкретные остатки могут быть делетированы или заменены на другие аминокислоты без нарушения способности пептида связываться с гуанилатцикласным рецептором кишечника и стимулировать транспорт жидкости и электролитов.

В конкретном варианте осуществления, агонист GCC, полученный способами по изобретению, содержит пептиды, являющиеся аналогами пептида, выбранного из SEQ ID NO: 1-251. В частности, эти аналоги содержат α-аминоадипиновую кислоту (Aad), предпочтительно, в 3-м положении от N-конца каждого пептида или в положении со стороны N-конца рядом с первым остатком цистеина ("Cys"). 251.

В конкретных вариантах осуществления, пептиды-агонисты GCC являются аналогами урогуанилина или бактериального пептида ST. Урогуанилин представляет собой циркулирующий пептидный гормон с натрийуретической активностью. Пептид ST является членом семейства термостабильных энтеротоксинов (пептидов ST), секретируемых патогенными штаммами E. coli и другими энтеробактериями, которые активизируют гуанилатцикласный рецептор и вызывают секреторную диарею. В отличие от бактериальных пептидов ST, связывание урогуанилина с гуанилатцикласным рецептором зависит от физиологического pH в кишечнике. Следовательно, можно ожидать, что урогуанилин регулирует транспорт жидкостей и электролитов зависимым от pH образом, не вызывая тяжелой диареи.

Пептиды-агонисты GCC, полученные способами по изобретению, могут представлять собой полимеры L-аминокислот, D-аминокислот или комбинацию обоих. Например, в различных вариантах осуществления, пептиды представляют собой D-ретро-инверсо-пептиды. Термин "ретро-инверсо-изомер" относится к изомеру линейного пептида, в котором направление последовательности обращено, и хиральность каждого аминокислотного остатка инвертирована. См., например, Jameson et al., Nature, 368, 744-746 (1994); Brady et al., Nature, 368, 692-693 (1994). Конечным результатом комбинации D-энантиомеров и обратного синтеза является то, что положения карбонильных групп и аминогрупп в каждой амидной связи изменено, в то время как положение боковых групп при каждом альфа-атоме углерода сохранено. Если конкретно не указано иначе, предполагают, что любую данную L-аминокислотную последовательность по изобретению можно преобразовать в D-ретро-инверсо-пептид посредством синтеза последовательности, обратной соответствующей нативной L-аминокислотной последовательности.

Пептиды-агонисты GCC, полученные способами по изобретению, являются способными индуцировать продукцию внутриклеточного цГМФ в клетках и тканях, экспрессирующих гуанилатциклазу C. В определенных вариантах осуществления, пептид-агонист GCC стимулирует 5, 10, 20, 30, 40, 50, 75, 90% или более внутриклеточного цГМФ по сравнению с природными агонистами GCC, такими как урогуанилин, гуанилин или пептиды ST. Необязательно, пептид-агонист GCC стимулирует 5, 10, 20, 30, 40, 50, 75, 90% или более внутриклеточного цГМФ по сравнению с SP-304 (SEQ ID NO: 1). В дополнительных вариантах осуществления, пептид-агонист GCC стимулирует апоптоз, например, программируемую гибель клеток, или активизирует кистозно-фиброзный регулятор трансмембранной проводимости (CFTR).

В некоторых вариантах осуществления, пептиды-агонисты GCC, полученные способами по изобретению, являются более стабильными, чем природные агонисты GCC и/или SP-304 (SEQ ID NO: 1), SP-339 (линаклотид) (SEQ ID NO: 55) или SP-340 (SEQ ID NO: 56). Например, пептид-агонист GCC деградирует на 2, 3, 5, 10, 15, 20, 30, 40, 50, 75, 90% или менее по сравнению с природными агонистами GCC и/или SP-304, SP-339 (линаклотидом) или SP-340. В конкретных вариантах осуществления, пептиды-агонисты GCC для применения в составах и способах по изобретению являются более стабильными по отношению к протеолитическому расщеплению, чем природные агонисты GCC и/или SP-304 (SEQ ID NO: 1), SP-339 (линаклотид) (SEQ ID NO: 55) или SP-340 (SEQ ID NO: 56). В одном из вариантов осуществления, пептид-агонист GCC является пэгилированным для придания пептидам большей устойчивости к протеолизу посредством ферментов желудочно-кишечного тракта. В предпочтительном варианте осуществления, пептид-агонист GCC является пэгилированным с помощью группы аминоэтилоксиэтилоксисуксусной кислоты (Aeea) на его C-конце, на его N-конце или на обоих концах.

Конкретные примеры пептидов-агонистов GCC, которые можно получать способами по изобретению, включают в себя пептиды, выбранные из группы, обозначенной SEQ ID NO: 1-251.

В одном из вариантов осуществления, пептид-агонист GCC представляет собой пептид, обладающий аминокислотной последовательностью из любой из формул X-XVII (например, SEQ ID NO: 87-98).

В некоторых вариантах осуществления, пептиды-агонисты GCC включают в себя пептиды, обладающие аминокислотной последовательностью формулы I, где по меньшей мере одна аминокислота формулы I представляет собой D-аминокислоту или метилированную аминокислоту, и/или аминокислота в положении 16 представляет собой серин. Предпочтительно, аминокислота в положении 16 формулы I представляет собой D-аминокислоту или метилированную аминокислоту. Например, аминокислота в положении 16 формулы I представляет собой d-лейцин или d-серин. Необязательно, одна или несколько из аминокислот в положениях 1-3 формулы I представляют собой D-аминокислоты или метилированные аминокислоты или комбинацию D-аминокислот или метилированных аминокислот. Например, Asn<sup>1</sup>, Asp<sup>2</sup> или Glu<sup>3</sup> (или их сочетание) формулы I представляет собой D-аминокислоту или метилированную аминокислоту. Предпочтительно, аминокислота в положении Хаа<sup>6</sup> формулы I представляет собой лейцин, серин или тирозин.

В альтернативных вариантах осуществления, пептиды - агонисты GCC включают в себя пептиды, обладающие аминокислотной последовательностью формулы II, где по меньшей мере одна аминокислота формулы II представляет собой D-аминокислоту или метилированную аминокислоту. Предпочтительно, аминокислота, обозначенная Хаа<sub>n2</sub> формулы II, представляет собой D-аминокислоту или метилированную аминокислоту. В некоторых вариантах осуществления, аминокислота, обозначенная Хаа<sub>n2</sub> формулы II, представляет собой лейцин, d-лейцин, серин или d-серин. Предпочтительно, одна или несколько аминокислот, обозначенных Хаа<sub>n1</sub> формулы II, представляют собой D-аминокислоту или метилированную аминокислоту. Предпочтительно, аминокислота в положении Хаа<sup>6</sup> формулы II представляет собой лейцин, серин или тирозин.

В некоторых вариантах осуществления, пептиды агонисты GCC включают в себя пептиды, обладающие аминокислотной последовательностью формулы III, где по меньшей мере одна аминокислота формулы III представляет собой D-аминокислоту или метилированную аминокислоту, и/или Маа не является цистеином. Предпочтительно, аминокислота, обозначенная Хаа<sub>n2</sub> формулы III, представляет собой D-аминокислоту или метилированную аминокислоту. В некоторых вариантах осуществления аминокислота, обозначенная Хаа<sub>n2</sub> формулы III, представляет собой лейцин, d-лейцин, серин или d-серин. Предпочтительно, одна или несколько аминокислот, обозначенных Хаа<sub>n1</sub> формулы III, представляет собой D-аминокислоту или метилированную аминокислоту.

Предпочтительно, аминокислота в положении Хаа<sub>6</sub> формулы III представляет собой лейцин, серин или тирозин.

В других вариантах осуществления, пептиды-агонисты GCC включают в себя пептиды, обладающие аминокислотной последовательностью формулы IV, где по меньшей мере одна аминокислота формулы IV представляет собой D-аминокислоту или метилированную аминокислоту, и/или Маа не является цистеином. Предпочтительно, Хаа<sub>n2</sub> формулы IV представляет собой D-аминокислоту или метилированную аминокислоту. В некоторых вариантах осуществления, аминокислота, обозначенная Хаа<sub>n2</sub> формулы IV, представляет собой лейцин, d-лейцин, серин или d-серин. Предпочтительно, одна или несколько аминокислот, обозначенных Хаа<sub>n1</sub> формулы IV, представляет собой D-аминокислоту или метилированную аминокислоту. Предпочтительно, аминокислота, обозначенная Хаа<sup>6</sup> формулы IV представляет собой лейцин, серин или тирозин.

В следующих вариантах осуществления, пептиды-агонисты GCC включают в себя пептиды, обладающие аминокислотной последовательностью формулы V, где по меньшей мере одна аминокислота формулы V представляет собой D-аминокислоту или метилированную аминокислоту. Предпочтительно, аминокислота в положении 16 формулы V представляет собой D-аминокислоту или метилированную аминокислоту. Например, аминокислота в положении 16 (т.е. Хаа<sup>16</sup>) формулы V представляет собой d-лейцин или d-серин. Необязательно, одна или несколько аминокислот в положении 1-3 формулы V представляют собой D-аминокислоты или метилированные аминокислоты, или комбинацию D-аминокислот

или метилированных аминокислот. Например, Asn<sup>1</sup>, Asp<sup>2</sup> или Glu<sup>3</sup> (или их сочетание) формулы V представляют собой D-аминокислоты или метилированные аминокислоты. Предпочтительно, аминокислота, обозначенная Хаа<sup>6</sup> формулы V, представляет собой лейцин, серии или тирозин.

В дополнительных вариантах осуществления, пептиды-агонисты GCS включают в себя пептиды, обладающие аминокислотной последовательностью формулы VI, VII, VIII или IX. Предпочтительно, аминокислота в положении 6 формулы VI, VII, VIII или IX представляет собой лейцин, серии или тирозин. В некоторых аспектах аминокислота в положении 16 формулы VI, VII, VIII или IX представляет собой лейцин или серии. Предпочтительно, аминокислота в положении 16 формулы V представляет собой D-аминокислоту или метилированную аминокислоту.

В дополнительных вариантах осуществления, пептиды-агонисты GCS включают в себя пептиды, обладающие аминокислотной последовательностью формулы X, XI, XII, XIII, XIV, XV, XVI или XVII. Необязательно, одна или несколько аминокислот формул X, XI, XII, XIII, XIV, XV, XVI или XVII представляют собой D-аминокислоты или метилированные аминокислоты. Предпочтительно, аминокислота на карбокси-конце пептидов по формулам X, XI, XII, XIII, XIV, XV, XVI или XVII представляет собой D-аминокислоту или метилированную аминокислоту. Например, аминокислота на карбокси-конце пептидов по формулам X, XI, XII, XIII, XIV, XV, XVI или XVII представляет собой D-тирозин.

Предпочтительно, аминокислота, обозначенная Хаа<sup>6</sup> формулы XIV, представляет собой тирозин, фенилаланин или серии. Наиболее предпочтительно, аминокислота, обозначенная Хаа<sup>6</sup> формулы XIV, представляет собой фенилаланин или серии. Предпочтительно, аминокислота, обозначенная Хаа<sup>4</sup> формулы XV, XVI или XVII, представляет собой тирозин, фенилаланин или серии. Наиболее предпочтительно, аминокислота в положении Хаа<sup>4</sup> формулы V, XVI или XVII представляет собой фенилаланин или серии.

В некоторых вариантах осуществления, пептиды GCRA включают в себя пептиды, содержащие аминокислотную последовательность формулы XVIII. Предпочтительно, аминокислота в положении 1 формулы XVIII представляет собой глутаминовую кислоту, аспарагиновую кислоту, глутамин или лизин. Предпочтительно, аминокислота в положении 2 и 3 формулы XVIII представляет собой глутаминовую кислоту или аспарагиновую кислоту. Предпочтительно, аминокислота в положении 5 представляет собой глутаминовую кислоту. Предпочтительно, аминокислота в положении 6 формулы XVIII представляет собой изолейцин, валин, серии, треонин или тирозин. Предпочтительно, аминокислота в положении 8 формулы XVIII представляет собой валин или изолейцин. Предпочтительно, аминокислота в положении 9 формулы XVIII представляет собой аспарагин. Предпочтительно, аминокислота в положении 10 формулы XVIII представляет собой валин или метионин. Предпочтительно, аминокислота в положении 11 формулы XVIII представляет собой аланин. Предпочтительно, аминокислота в положении 13 формулы XVIII представляет собой треонин. Предпочтительно, аминокислота в положении 14 формулы XVIII представляет собой глицин. Предпочтительно, аминокислота в положении 16 формулы XVIII представляет собой лейцин, серии или треонин.

В альтернативных вариантах осуществления, пептиды GCRA включают в себя пептиды, содержащие аминокислотную последовательность формулы XIX. Предпочтительно, аминокислота в положении 1 формулы XIX is серии или аспарагин. Предпочтительно, аминокислота в положении 2 формулы XIX представляет собой гистидин или аспарагиновую кислоту. Предпочтительно, аминокислота в положении 3 формулы XIX представляет собой треонин или глутаминовую кислоту. Предпочтительно, аминокислота в положении 5 формулы XIX представляет собой глутаминовую кислоту. Предпочтительно, аминокислота в положении 6 формулы XIX представляет собой изолейцин, лейцин, валин или тирозин. Предпочтительно, аминокислота в положении 8, 10, 11 или 13 формулы XIX представляет собой аланин. Предпочтительно, аминокислота в положении 9 формулы XIX представляет собой аспарагин или фенилаланин. Предпочтительно, аминокислота в положении 14 формулы XIX представляет собой глицин.

В следующих вариантах осуществления, пептиды GCRA включают в себя пептиды, содержащие аминокислотную последовательность формулы XX. Предпочтительно, аминокислота в положении 1 формулы XX представляет собой глутамин. Предпочтительно, аминокислота в положении 2 или 3 формулы XX представляет собой глутаминовую кислоту или аспарагиновую кислоту. Предпочтительно, аминокислота в положении 5 формулы XX представляет собой глутаминовую кислоту. Предпочтительно, аминокислота в положении 6 формулы XX представляет собой треонин, глутамин, тирозин, изолейцин или лейцин. Предпочтительно, аминокислота в положении 8 формулы XX представляет собой изолейцин или валин. Предпочтительно, аминокислота в положении 9 формулы XX представляет собой аспарагин. Предпочтительно, аминокислота в положении 10 формулы XX представляет собой метионин или валин. Предпочтительно, аминокислота в положении 11 формулы XX представляет собой аланин. Предпочтительно, аминокислота в положении 13 формулы XX представляет собой треонин. Предпочтительно, аминокислота в положении 1 формулы XX представляет собой глицин. Предпочтительно, аминокислота в положении 15 формулы XX представляет собой тирозин. Необязательно, аминокислота в положении 15 формулы XX составляет в длину две аминокислоты и представляет собой цистеин (Cys), пеницилламин (Pen), гомоцистеин или 3-меркаптопролин и серии, лейцин или треонин.

В определенных вариантах осуществления, одна или несколько аминокислот пептидов-агонистов

GCC заменена неприродной аминокислотой или аналогом природной или неприродной аминокислоты. Такие аминокислоты и аналоги аминокислот известны в данной области. См., например, Hunt, "The Non-Protein Amino Acids", in Chemistry and Biochemistry of the Amino Acids, Barrett, Chapman, and Hall, 1985. В некоторых вариантах осуществления, аминокислота заменена природной, заменимой аминокислотой, например, таурином. Неограничивающие примеры природных аминокислот, которые можно заменять небелковыми аминокислотами, включают в себя следующие: (1) ароматическую аминокислоту можно заменять 3,4-дигидрокси-L-фенилаланином, 3-йод-L-тирозином, трийодтиронином, L-тироксин, фенилглицин (Phg) или нортирозином (norTyr); (2) Phg и norTyr, и другие аминокислоты, включая Phe и Tyr, можно замещать, например, галогеном, -CH<sub>3</sub>, -OH, -CH<sub>2</sub>NH<sub>3</sub>, -C(O)H, -CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, -CN, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, -SH или другой группой; (3) остатки глутамина можно заменять гамма-гидрокси-Glu или гамма-карбокси-Glu; (4) остатки тирозина можно заменять альфа-замещенной аминокислотой, такой как L-альфа-метилфенилаланин или такими аналогами, как: 3-амино-Tyr; Tyr (CH<sub>3</sub>); Tyr (PO<sub>3</sub> (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); Tyr(SO<sub>3</sub>H); бета-циклогексил-Ala; бета-(1-циклопентенил)-Ala; бета-циклопентил-Ala; бета-циклопропил-Ala; бета-хинолил-Ala; бета-(2-тиазолил)-Ala; бета-(триазол-1-ил)-Ala; бета-(2-пиридил)-Ala; бета-(3-пиридил)-Ala; амино-Phe; фтор-Phe; циклогексил-Gly; tBu-Gly; бета-(3-бензотиенил)-Ala; бета-(2-тиенил)-Ala; 5-метил-Trp; и A-метил-Trp; (5) остатки пролина можно заменять гомопро(L-пипеколиновой кислотой); гидрокси-Pro; 3,4-дегидро-Pro; 4-фтор-Pro; или альфа-метил-Pro, или N(альфа)-C(альфа)-циклизованными аналогами аминокислот со структурой: n=0, 1, 2, 3; и (6) остатки аланина можно заменять альфа-замещенной или N-метиловой аминокислотой, такой как альфа-аминоизомасляная кислота (aib), L/D-альфа-этилаланин (L/D-изовалин), L/D-метилвалин, или L/D-альфа-метиллейцин или неприродной аминокислотой, такой как бета-фтор-Ala. Аланин можно также заменять на: n=0, 1, 2, 3 остатков. Глицин можно заменять альфа-аминоизомасляной кислотой (aib) или L/D-альфа-этилаланин (L/D-изовалин).

Дополнительные примеры неприродных аминокислот включают в себя: неприродный аналог тирозина; неприродный аналог глутамина; неприродный аналог фенилаланина; неприродный аналог серина; неприродный аналог треонина; аминокислоту, замещенную алкилом, арилом, ацилом, азидо, циано, гало, гидразином, гидразидом, гидроксилем, алкенилом, алкинилом, простым эфиром, тиолом, сульфонилом, селено, сложным эфиром, тиокислотой, боратом, боронатом, фосфо, фосфоно, фосфином, гетероциклом, еноном, имином, альдегидом, гидроксиламином, кето или амино или любой их комбинацией; аминокислоту с подающейся фотоактивации сшивающей группой; спин-меченую аминокислоту; флуоресцентную аминокислоту; аминокислоту с новой функциональной группой; аминокислоту, которая ковалентно или нековалентно взаимодействует с другой молекулой; связывающую металлы аминокислоту; аминокислоту, амидированную по участку, который в природе не амидирован, содержащую металл аминокислоту; радиоактивную аминокислоту; фотоэкранирующую и/или подающуюся фотоизомеризации аминокислоту; содержащую биотин или аналог биотина аминокислоту; гликозилированную или модифицированную углеводом аминокислоту; кетосодержащую аминокислоту; содержащую полиэтиленгликоль или простой полиэфир аминокислоту; замещенную тяжелым атомом аминокислоту (например, содержащую дейтерий, тритий, <sup>13</sup>C, <sup>15</sup>N или <sup>18</sup>O аминокислоту); подающуюся химическому расщеплению или фоторасщеплению аминокислоту; аминокислоту с удлиненной боковой цепью; содержащую токсичную группу аминокислоту; замещенную сахаром аминокислоту, например, замещенный сахаром серии или т.п.; аминокислоту, содержащую сахар, присоединенный к атому углерода; аминокислоту с окислительно-восстановительным потенциалом; кислоту, содержащую α-гидроксильную группу; аминокислоту, содержащую аминотиокислоту; α,α-дизамещенную аминокислоту; β-аминокислоту; циклическую аминокислоту, отличную от пролина; O-метил-L-тирозин; L-3-(2-нафтил)аланин; 3-метил-фенилаланин; p-ацетил-L-фенилаланин; O-4-аллил-L-тирозин; 4-пропил-L-тирозин; три-O-ацетил-GlcNAc β-серин; L-допа; фторированный фенилаланин; изопропил-L-фенилаланин; p-азидо-L-фенилаланин; p-ацил-L-фенилаланин; p-бензоил-L-фенилаланин; L-фосфосерин; фосфоносерин; фосфотирозин; p-иодофенилаланин; 4-фторфенилглицин; p-бромфенилаланин; p-амино-L-фенилаланин; изопропил-L-фенилаланин; L-3-(2-нафтил)аланин; D-3-(2-нафтил)аланин (dNal); амино-, изопропил-, или O-аллил-содержащий аналог фенилаланина; допа, O-метил-L-тирозин; гликозилированную аминокислоту; p-(пропаргилокси)фенилаланин; диметиллизин; гидроксипролин; меркаптопропионовую кислоту; метиллизин; 3-нитротирозин; норлейцин; пироглутаминовую кислоту; Z (карбобензоксил); ε-ацетиллизин; β-аланин; производное аминобензоила; аминокислоту (Abu); цитруллин; аминоксановую кислоту; аминокислоту (AIB); циклогексилаланин; d-циклогексилаланин; гидроксипролин; нитроаргинин; нитрофенилаланин; нитротирозин; норвалин; карбоксилат октагидроиндола; орнитин (Orn); пеницилламин (PEN); тетрагидроизохинолин; защищенные ацетамидометилем аминокислоты и пэгиллированные аминокислоты. Дополнительные примеры неприродных аминокислот и аналогов аминокислот можно найти в US20030108885, US20030082575, US20060019347 (абзацы 410-418) и в цитируемых в них ссылках. Полипептиды по изобретению могут включать дополнительные модификации, включая модификации, описанные в US20060019347, абзац 589. Иллюстративные пептиды-агонисты GCC, содержащие неприродные аминокислоты, включают в себя, например, SP-368 и SP-369.

В некоторых вариантах осуществления, пептиды-агонисты GCC представляют собой циклические

пептиды. Циклические пептиды-агонисты GCC можно получать способами, известными в данной области. Например, макроциклизацию часто проводят посредством образования амидной связи между N- и C-концами пептида, между боковой цепью и N- или C-концом [например, с помощью  $K_3Fe(CN)_6$  при pH 8,5] (Samson et al., *Endocrinology*, 137: 5182-5185 (1996)), или между боковыми цепями двух аминокислот, таких как цистеин. См., например, DeGrado, *Adv Protein Chem*, 39: 51-124 (1988). В различных вариантах осуществления, пептиды-агонисты GCC представляют собой [4,12; 7,15] бициклы.

В конкретных вариантах осуществления, один или оба из остатков Cys, которые обычно образуют дисульфидную связь в пептиде-агонисте GCC, заменяют на гомоцистеин, пеницилламин, 3-меркаптопролин (Kolodziej et al. 1996 *Int. J. Pept. Protein Res.* 48:274),  $\beta,\beta$ -диметилцистеин (Hunt et al. 1993 *Int. J. Pept. Protein Res.* 42:249) или диаминопропионовую кислоту (Smith et al. 1978 *J. Med. Chem.* 21:117) для образования альтернативных внутренних поперечных швов в положениях обычных дисульфидных связей.

В конкретных вариантах осуществления, одну или несколько дисульфидных связей в пептиде-агонисте GCC заменяют альтернативными ковалентными поперечными швами, например, амидной связью ( $-CH_2CH(O)NHCH_2-$  или  $-CH_2NHCH(O)CH_2-$ ), сложноэфирной связью, тиоэфирной связью, лактамным мостиком, карбамоильной связью, мочевиной связью, тиомочевинной связью, фосфонатно-сложноэфирной связью, алкильной связью ( $-CH_2CH_2CH_2CH_2-$ ), алкенильной связью ( $-CH_2CH=CHCH_2-$ ), простой эфирной связью ( $-CH_2CH_2OCH_2-$  или  $-CH_2OCH_2CH_2-$ ), простой тиоэфирной связью ( $-CH_2CH_2SCH_2-$  или  $-CH_2SCH_2CH_2-$ ), аминной связью ( $-CH_2CH_2NHCH_2-$  или  $-CH_2NHCH_2CH_2-$ ) или тиоамидной связью ( $-CH_2C(S)NHCH_2-$  или  $-CH_2NHC(S)CH_2-$ ). Например, в Ledu et al. (*Proc. Natl. Acad. Sci.* 100:11263-78, 2003) описаны способы получения лактамных и амидных перекрестных швов. Иллюстративные пептиды-агонисты GCC, содержащие лактамный мостик, включают в себя, например, SP-370.

В конкретных вариантах осуществления, пептиды-агонисты GCC обладают одной или несколькими общепринятыми полипептидными связями, замененными альтернативными связями. Такие замены могут увеличивать стабильность полипептида. Например, замена полипептидной связи между аминоконцевым остатком и ароматическим остатком (например, Tyr, Phe, Trp) на альтернативную связь может уменьшать расщепление карбоксипептидазами и увеличивать время полужизни в желудочно-кишечном тракте. Связи, которыми можно заменять полипептидные связи, включают в себя: ретро-инверсо связь ( $C(O)-NH$  вместо  $NH-C(O)$ ); восстановленную амидную связь ( $NH-CH_2$ ); тиометиленовую связь ( $S-CH_2$  или  $CH_2-S$ ); оксометиленовую связь ( $O-CH_2$  или  $CH_2-O$ ); этиленовую связь ( $CH_2-CH_2$ ); тиоамидную связь ( $C(S)-NH$ ); транс-олефиновую связь ( $CH=CH$ ); замещенную фтором транс-олефиновую связь ( $CF=CH$ ); кетометиленовую связь ( $C(O)-CHR$  или  $CHR-C(O)$ , где R представляет собой H или  $CH_3$ ); и фтор-кетометиленовую связь ( $C(O)-CFR$  или  $CFR-C(O)$ , где R представляет собой H или F, или  $CH_3$ ).

В конкретных вариантах осуществления, пептиды-агонисты GCC модифицируют с использованием общепринятых модификаций. Модификации можно осуществлять по amino- (N-), карбокси- (C-) концам, внутри или в комбинации любого из вышеуказанного. В одном из аспектов, описываемых в настоящем документе, может присутствовать более одного типа модификации полипептида. Модификации в качестве неограничивающих примеров включают в себя: ацетилирование, амидирование, биотинилирование, циннамоилирование, фарнезилирование, формилирование, миристоилирование, пальмитоилирование, фосфорилирование (Ser, Tyr или Thr), стеарилирование, сукцинирование, сульфурилирование и циклизацию (посредством дисульфидных мостиков или амидной циклизации) и модификацию посредством Cys3 или Cys5. Пептиды-агонисты GCC, описываемые в настоящем документе, также можно модифицировать посредством 2,4-динитрофенила (DNP), DNP-лизина, модификации посредством 7-амино-4-метилкумарина (AMC), флуоресцеина, NBD (7-нитробенз-2-окса-1,3-диазола), п-нитроанилида, родамина B, EDANS (5-(2-аминоэтил)амино)нафталин-1-сульфоной кислоты), дабцила, дабсила, дансила, техасского красного, FMOС и Тамга (тетраметилпроамина). Пептиды-агонисты GCC, описываемые в настоящем документе, также можно конъюгировать, например, с полиэтиленгликолем (PEG); алкильными группами (например,  $C_1-C_{20}$  линейными или разветвленными алкильными группами); группами жирных кислот; комбинациями PEG, алкильных групп и групп жирных кислот (см., патент США 6309633; Soltero et al., 2001 *Innovations in Pharmaceutical Technology* 106-110); BSA и KLH (гемоцианин морского блюда). Добавление PEG и других полимеров, которые можно использовать для модификации пептидов по изобретению, описано в US20060 19347, раздел IX.

Пептид-агонист GCC может также представлять собой производное пептида-агониста GCC, описываемого в настоящем документе. Например, производное включает в себя гибридные и модифицированные формы пептидов-агонистов GCC, в которых конкретные аминокислоты делетированы или заменены. Модификация может также включать в себя гликозилирование. Предпочтительно, когда модификация представляет собой замену аминокислоты, она представляет собой консервативную замену в одном или нескольких положениях, как предсказано, представляющих собой аминокислотные остатки, не являющиеся необходимыми для биологической активности пептида. "Консервативная замена" представляет собой замену, при которой аминокислотный остаток заменяют аминокислотным остатком, обладающим сходной боковой цепью. Семейства аминокислотных остатков, обладающих сходными боковыми цепями, определены в данной области. Эти семейства включают в себя аминокислоты с основными боковыми

цепями (например, лизин, аргинин, гистидин), кислыми боковыми цепи (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).

В одном из вариантов осуществления, пептид-агонист GCC, полученный способами, описываемыми в настоящем документе, подвергают случайному мутагенезу для идентификации мутантов, обладающих биологической активностью.

В одном из вариантов осуществления, способы по изобретению можно использовать для получения пептида-агониста GCC, являющегося, по существу, гомологичным пептиду-агонисту GCC, описываемому в настоящем документе. Такие, по существу, гомологичные пептиды можно выделять посредством перекрестного взаимодействия с антителами против пептида-агониста GCC, описываемого в настоящем документе.

Дополнительные примеры пептидов-агонистов GCC, которые можно получать способами по изобретению, можно найти в таблицах I-VII ниже.

#### 1.1.2. Альтернативные способы получения пептидов-агонистов GCC и их фрагментов.

Пептиды-агонисты GCC и их фрагменты можно получать с использованием принятых в данной области способов, таких как молекулярное клонирование, синтез пептидов или сайт-специфический мутагенез.

В дополнение к общепринятому синтезу пептидов в растворе или твердой фазе, описанному выше, пептиды-агонисты GCC или их фрагменты можно получать посредством современных способов клонирования. Например, пептиды-агонисты GCC получают либо в бактериях, включающих в себя, но без ограничения, *E. coli*, либо в других существующих в настоящее время системах для продукции полипептидов или белков (например, *Bacillus subtilis*, бакуловирусные экспрессирующие системы с использованием клеток *Drosophila Sf9*, экспрессирующие системы дрожжей или мицелиальных грибов, экспрессирующие системы клеток млекопитающих), или их можно синтезировать химическими способами. Если пептид-агонист GCC или вариант пептида предназначены для продукции в бактериях, например, *E. coli*, молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая полипептид, может также кодировать лидерную последовательность, позволяющую секрецию зрелого полипептида из клетки. Таким образом, последовательность, кодирующая полипептид, может включать в себя пре-последовательность и про-последовательность, например, природного бактериального полипептида ST. Секретированный зрелый полипептид можно очищать из среды для культивирования.

Последовательность, кодирующую пептид-агонист GCC, описываемый в настоящем документе, можно вставлять в вектор, способный к доставке и поддержанию молекулы нуклеиновой кислоты в бактериальной клетке. Молекулу ДНК можно вставлять в автономно реплицирующий вектор (пригодные векторы включают в себя, например, pGEM3Z и pCDNA3, и их производные). Нуклеиновая кислота вектора может представлять собой ДНК бактерии или бактериофага, такого как бактериофаг лямбда или M13 и их производные. За конструированием вектора, содержащего нуклеиновую кислоту, описываемую в настоящем документе, может следовать трансформация клетки-хозяина, такой как бактерия. Пригодные бактериальные хозяева включают в себя, в качестве неограничивающих примеров, *E. coli*, *B. subtilis*, *Pseudomonas*, *Salmonella*. Генетическая конструкция также включает в себя, в дополнение к кодирующей молекуле нуклеиновой кислоты, элементы, позволяющие экспрессию, такие как промоторные и регуляторные последовательности. Экспрессирующие векторы могут содержать последовательности для контроля транскрипции, контролирующие инициацию транскрипции, такие как промоторные, энхансерные, операторные и репрессорные последовательности.

Множество последовательностей для контроля транскрипции хорошо известны специалистам в данной области. Экспрессирующий вектор может включать также последовательность для регуляции трансляции (например, нетранслируемую 5'-последовательность, нетранслируемую 3'-последовательность или внутренний участок связывания рибосомы). Вектор может являться способным к автономной репликации, или он может интегрироваться в ДНК хозяина для обеспечения стабильной продукции полипептида.

Кодирующую белок последовательность, включающую в себя пептид-агонист GCC, описываемый в настоящем документе, можно также сливать с нуклеиновой кислотой, кодирующей полипептидную аффинную метку, например, глутатион-S-трансферазу (GST), связывающий мальтозу E белок, белок A, метку FLAG, гексагистидин, метку тус или метку HA вируса гриппа, для облегчения очистки. Слияние с аффинной меткой или репортером соединяет рамку считывания представляющего интерес полипептида с рамкой считывания гена, кодирующего аффинную метку, так что получают трансляционное слияние. Экспрессия слитого гена приводит к трансляции одного полипептида, включающего как представляющий интерес полипептид, так и аффинную метку. В некоторых случаях, когда используют аффинные метки, последовательность ДНК, кодирующую участок узнавания протеазой, вставляют для слияния между рамками считывания для аффинной метки и представляющего интерес полипептида.

Генетические конструкции и способы, пригодные для продукции незрелых и зрелых форм пептидов-агонистов GCS, и вариантов, описываемых в настоящем документе, в экспрессирующих белок системах, отличных от бактерий, и хорошо известные специалистам в данной области, также можно использовать для получения полипептидов в биологической системе.

Пептиды, описываемые в настоящем документе, можно модифицировать посредством присоединения второй молекулы, придающей пептиду желаемое свойство, такое как увеличенное время полужизни в организме, например, пэгиллирования. Такие модификации также входят в объем термина "вариант", как используют в настоящем документе.

Таблица I. Пептиды GCRA (SP-304 и производные)

Наименование	Положение дисульфидных связей	Структура	SEQ ID NO
SP-304	C4:C12, C7:C15	Asn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Leu <sup>16</sup>	1
SP-326	C3:C11, C6:C14	Asp <sup>1</sup> -Glu <sup>2</sup> -Cys <sup>3</sup> -Glu <sup>4</sup> -Leu <sup>5</sup> -Cys <sup>6</sup> -Val <sup>7</sup> -Asn <sup>8</sup> -Val <sup>9</sup> -Ala <sup>10</sup> -Cys <sup>11</sup> -Thr <sup>12</sup> -Gly <sup>13</sup> -Cys <sup>14</sup> -Leu <sup>15</sup>	2
SP-327	C2:C10, C5:C13	Asp <sup>1</sup> -Glu <sup>2</sup> -Cys <sup>3</sup> -Glu <sup>4</sup> -Leu <sup>5</sup> -Cys <sup>6</sup> -Val <sup>7</sup> -Asn <sup>8</sup> -Val <sup>9</sup> -Ala <sup>10</sup> -Cys <sup>11</sup> -Thr <sup>12</sup> -Gly <sup>13</sup> -Cys <sup>14</sup>	3
SP-328	C2:C10, C5:C13	Glu <sup>1</sup> -Cys <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Leu <sup>4</sup> -Cys <sup>5</sup> -Val <sup>6</sup> -Asn <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Ala <sup>9</sup> -Cys <sup>10</sup> -Thr <sup>11</sup> -Gly <sup>12</sup> -Cys <sup>13</sup> -Leu <sup>14</sup>	4
SP-329	C2:C10, C5:C13	Glu <sup>1</sup> -Cys <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Leu <sup>4</sup> -Cys <sup>5</sup> -Val <sup>6</sup> -Asn <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Ala <sup>9</sup> -Cys <sup>10</sup> -Thr <sup>11</sup> -Gly <sup>12</sup> -Cys <sup>13</sup>	5
SP-330	C1:C9, C4:C12	Cys <sup>1</sup> -Glu <sup>2</sup> -Leu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Val <sup>5</sup> -Asn <sup>6</sup> -Val <sup>7</sup> -Ala <sup>8</sup> -Cys <sup>9</sup> -Thr <sup>10</sup> -Gly <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Leu <sup>13</sup>	6
SP-331	C1:C9, C4:C12	Cys <sup>1</sup> -Glu <sup>2</sup> -Leu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Val <sup>5</sup> -Asn <sup>6</sup> -Val <sup>7</sup> -Ala <sup>8</sup> -Cys <sup>9</sup> -Thr <sup>10</sup> -Gly <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup>	7
SP332	C4:C12, C7:C15	Asn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -dLeu <sup>16</sup>	8
SP-333	C4:C12, C7:C15	dAsn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -dLeu <sup>16</sup>	9
SP-334	C4:C12, C7:C15	dAsn <sup>1</sup> -dAsp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -dLeu <sup>16</sup>	10
SP-335	C4:C12, C7:C15	dAsn <sup>1</sup> -dAsp <sup>2</sup> -dGlu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -dLeu <sup>16</sup>	11
SP-336	C4:C12, C7:C15	dAsn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Leu <sup>16</sup>	12
SP-337	C4:C12, C7:C15	dAsn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -dLeu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -dLeu <sup>16</sup>	13
SP-338	C4:C12, C7:C15	Asn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup>	14
SP-342	C4:C12, C7:C15	PEG3-Asn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -dLeu <sup>16</sup> -PEG3	15
SP-343	C4:C12, C7:C15	PEG3-dAsn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -dLeu <sup>16</sup> -PEG3	16
SP-344	C4:C12, C7:C15	PEG3-dAsn <sup>1</sup> -dAsp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -dLeu <sup>16</sup> -PEG3	17
SP-347	C4:C12, C7:C15	dAsn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -dLeu <sup>16</sup> -PEG3	18
SP-348	C4:C12, C7:C15	PEG3-Asn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -dLeu <sup>16</sup>	19



SP-350	C4:C12, C7:C15	PEG3-dAsn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -dLeu <sup>16</sup>	20
SP-352	C4:C12, C7:C15	Asn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -dLeu <sup>16</sup> -PEG3	21
SP-358	C4:C12,C7:C15	PEG3-dAsn <sup>1</sup> -dAsp <sup>2</sup> -dGlu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -dLeu <sup>16</sup> -PEG3	22
SP-359	C4:C12,C7:C15	PEG3-dAsn <sup>1</sup> -dAsp <sup>2</sup> -dGlu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -dLeu <sup>16</sup>	23
SP-360	C4:C12, C7:C15	dAsn <sup>1</sup> -dAsp <sup>2</sup> -dGlu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -dLeu <sup>16</sup> -PEG3	24
SP-361	C4:C12, C7:C15	dAsn <sup>1</sup> -dAsp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -dLeu <sup>16</sup> -PEG3	25
SP-362	C4:C12, C7:C15	PEG3-dAsn <sup>1</sup> -dAsp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -dLeu <sup>16</sup>	26
SP-368	C4:C12, C7:C15	dAsn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -dNal <sup>16</sup>	27
SP-369	C4:C12, C7:C15	dAsn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -AIB <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -AIB <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -dLeu <sup>16</sup>	28
SP-370	C4:C12, C7:C15	dAsn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Asp[Жактам] <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Orn <sup>15</sup> -dLeu <sup>16</sup>	29
SP-371	C4:C12,C7:C15	dAsn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Tyr <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -dLeu <sup>16</sup>	30
SP-372	C4:C12,C7:C15	dAsn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Ser <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -dLeu <sup>16</sup>	31
N1	C4:C12,C7:C15	PEG3-dAsn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Tyr <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -dLeu <sup>16</sup> -PEG3	32
N2	C4:C12,C7:C15	PEG3-dAsn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Tyr <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -dLeu <sup>16</sup>	33
N3	C4:C12,C7:C15	dAsn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Tyr <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -dLeu <sup>16</sup> -PEG3	34
N4	C4:C12,C7:C15	PEG3-dAsn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Ser <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -dLeu <sup>16</sup> -PEG3	35
N5	C4:C12,C7:C15	PEG3-dAsn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Ser <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -dLeu <sup>16</sup>	36
N6	C4:C12,C7:C15	dAsn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Ser <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -dLeu <sup>16</sup> -PEG3	37
N7	C4:C12,C7:C15	Asn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Ser <sup>16</sup>	38
N8	C4:C12,C7:C15	PEG3-Asn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Ser <sup>16</sup> -PEG3	39
N9	C4:C12,C7:C15	PEG3-Asn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Ser <sup>16</sup>	40
N10	C4:C12,C7:C15	Asn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Ser <sup>16</sup> -PEG3	41

N11	C4:C12, C7:C15	PEG3-Asn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -dSer <sup>16</sup> -PEG3	42
N12	C4:C12, C7:C15	PEG3-Asn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -dSer <sup>16</sup>	43
N13	C4:C12, C7:C15	Asn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -dSer <sup>16</sup> -PEG3	44
Формула I	C4:C12, C7:C15	Asn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Xaa <sup>5</sup> -Xaa <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Xaa <sup>8</sup> -Xaa <sup>9</sup> -Xaa <sup>10</sup> -Xaa <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Xaa <sup>13</sup> -Xaa <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Xaa <sup>16</sup>	45
Формула II	C4:C12, C7:C15	Xaa <sub>n1</sub> <sup>1</sup> -Cys <sup>4</sup> -Xaa <sup>5</sup> -Xaa <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Xaa <sup>8</sup> -Xaa <sup>9</sup> -Xaa <sup>10</sup> -Xaa <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Xaa <sup>13</sup> -Xaa <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Xaa <sub>n2</sub> <sup>16</sup>	46
Формула III	4:12, 7:15	Xaa <sub>n1</sub> <sup>1</sup> -Maa <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Xaa <sup>6</sup> -Maa <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Maa <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Maa <sup>15</sup> -Xaa <sub>n2</sub>	47
Формула IV	4:12, 7:15	Xaa <sub>n1</sub> <sup>1</sup> -Maa <sup>4</sup> -Xaa <sup>5</sup> -Xaa <sup>6</sup> -Maa <sup>7</sup> -Xaa <sup>8</sup> -Xaa <sup>9</sup> -Xaa <sup>10</sup> -Xaa <sup>11</sup> -Maa <sup>12</sup> -Xaa <sup>13</sup> -Xaa <sup>14</sup> -Maa <sup>15</sup> -Xaa <sub>n2</sub>	48
Формула V	C4:C12, C7:C15	Asn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Asp <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Xaa <sup>5</sup> -Xaa <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Xaa <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Xaa <sup>10</sup> -Xaa <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Xaa <sup>13</sup> -Xaa <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Xaa <sup>16</sup>	49
Формула VI	C4:C12, C7:C15	dAsn <sup>1</sup> -Glu <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Xaa <sup>5</sup> -Xaa <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -X <sup>3</sup> <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Xaa <sup>10</sup> -Xaa <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Xaa <sup>13</sup> -Xaa <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -d-Xaa <sup>16</sup>	50
Формула VII	C4:C12, C7:C15	dAsn <sup>1</sup> -dGlu <sup>2</sup> -Asp <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Xaa <sup>5</sup> -Xaa <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Xaa <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Xaa <sup>10</sup> -Xaa <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Xaa <sup>13</sup> -Xaa <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -d-Xaa <sup>16</sup>	51
Формула VII	C4:C12, C7:C15	dAsn <sup>1</sup> -dAsp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Xaa <sup>5</sup> -Xaa <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Xaa <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Xaa <sup>10</sup> -Xaa <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Xaa <sup>13</sup> -Xaa <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -d-Xaa <sup>16</sup>	52
Формула VIII	C4:C12, C7:C15	dAsn <sup>1</sup> -dAsp <sup>2</sup> -dGlu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Xaa <sup>5</sup> -Xaa <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Xaa <sup>8</sup> -Tyr <sup>9</sup> -Xaa <sup>10</sup> -Xaa <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Xaa <sup>13</sup> -Xaa <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -d-Xaa <sup>16</sup>	53
Формула IX	C4:C12, C7:C15	dAsn <sup>1</sup> -dGlu <sup>2</sup> -dGlu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Xaa <sup>5</sup> -Xaa <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Xaa <sup>8</sup> -Tyr <sup>9</sup> -Xaa <sup>10</sup> -Xaa <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Xaa <sup>13</sup> -Xaa <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -d-Xaa <sup>16</sup>	54
Формула XXI	C4:C12, C7:C15	Xaa <sub>n1</sub> <sup>1</sup> -Cys <sup>4</sup> -Xaa <sup>5</sup> -Xaa <sup>6</sup> -Xaa <sup>7</sup> -Xaa <sup>8</sup> -Xaa <sup>9</sup> -Xaa <sup>10</sup> -Xaa <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Xaa <sup>13</sup> -Xaa <sup>14</sup> -Xaa <sup>15</sup> -Xaa <sub>n2</sub> <sup>16</sup>	250

Таблица II. Линаклотид и производные

Наименование	Положение дисульфидных связей	Структура	SEQ ID NO:
SP-339 (линаклотид)	C1:C6, C2:C10, C5:13	Cys <sup>1</sup> -Cys <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Tyr <sup>4</sup> -Cys <sup>5</sup> -Cys <sup>6</sup> -Asn <sup>7</sup> -Pro <sup>8</sup> -Ala <sup>9</sup> -Cys <sup>10</sup> -Thr <sup>11</sup> -Gly <sup>12</sup> -Cys <sup>13</sup> -Tyr <sup>14</sup>	55
SP-340	C1:C6, C2:C10, C5:13	Cys <sup>1</sup> -Cys <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Tyr <sup>4</sup> -Cys <sup>5</sup> -Cys <sup>6</sup> -Asn <sup>7</sup> -Pro <sup>8</sup> -Ala <sup>9</sup> -Cys <sup>10</sup> -Thr <sup>11</sup> -Gly <sup>12</sup> -Cys <sup>13</sup>	56
SP-349	C1:C6, C2:C10, C5:13	PEG3-Cys <sup>1</sup> -Cys <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Tyr <sup>4</sup> -Cys <sup>5</sup> -Cys <sup>6</sup> -Asn <sup>7</sup> -Pro <sup>8</sup> -Ala <sup>9</sup> -Cys <sup>10</sup> -Thr <sup>11</sup> -Gly <sup>12</sup> -Cys <sup>13</sup> -Tyr <sup>14</sup> -PEG3	57
SP-353	C3:C8, C4:C12, C7:15	Asn <sup>1</sup> -Phe <sup>2</sup> -Cys <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Ser <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Cys <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Pro <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Tyr <sup>16</sup>	58
SP-354	C3:C8, C4:C12, C7:15	Asn <sup>1</sup> -Phe <sup>2</sup> -Cys <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Phe <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Cys <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Pro <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Tyr <sup>16</sup>	59

## 042294

SP-355	C1:C6, C2:C10, C5:13	Cys <sup>1</sup> -Cys <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Tyr <sup>4</sup> -Cys <sup>5</sup> -Cys <sup>6</sup> -Asn <sup>7</sup> -Pro <sup>8</sup> -Ala <sup>9</sup> -Cys <sup>10</sup> -Thr <sup>11</sup> -Gly <sup>12</sup> -Cys <sup>13</sup> -dTyr <sup>14</sup>	60
SP-357	C1:C6, C2:C10, C5:13	PEG3-Cys <sup>1</sup> -Cys <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Tyr <sup>4</sup> -Cys <sup>5</sup> -Cys <sup>6</sup> -Asn <sup>7</sup> -Pro <sup>8</sup> -Ala <sup>9</sup> -Cys <sup>10</sup> -Thr <sup>11</sup> -Gly <sup>12</sup> -Cys <sup>13</sup> -Tyr <sup>14</sup>	61
SP-374	C3:C8, C4:C12, C7:15	Asn <sup>1</sup> -Phe <sup>2</sup> -Cys <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Thr <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Cys <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Pro <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Tyr <sup>16</sup>	62
SP-375	C3:C8, C4:C12, C7:15	Asn <sup>1</sup> -Phe <sup>2</sup> -Cys <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Ser <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Cys <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Pro <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -dTyr <sup>16</sup>	63
SP-376	C3:C8, C4:C12, C7:15	dAsn <sup>1</sup> -Phe <sup>2</sup> -Cys <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Ser <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Cys <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Pro <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Tyr <sup>16</sup>	64
SP-377	C3:C8, C4:C12, C7:15	dAsn <sup>1</sup> -Phe <sup>2</sup> -Cys <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Ser <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Cys <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Pro <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -dTyr <sup>16</sup>	65
SP-378	C3:C8, C4:C12, C7:15	Asn <sup>1</sup> -Phe <sup>2</sup> -Cys <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Thr <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Cys <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Pro <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -dTyr <sup>16</sup>	66
SP-379	C3:C8, C4:C12, C7:15	dAsn <sup>1</sup> -Phe <sup>2</sup> -Cys <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Thr <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Cys <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Pro <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Tyr <sup>16</sup>	67
SP-380	C3:C8, C4:C12, C7:15	dAsn <sup>1</sup> -Phe <sup>2</sup> -Cys <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Thr <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Cys <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Pro <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -dTyr <sup>16</sup>	68
SP-381	C3:C8, C4:C12, C7:15	Asn <sup>1</sup> -Phe <sup>2</sup> -Cys <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Phe <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Cys <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Pro <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -dTyr <sup>16</sup>	69
SP-382	C3:C8, C4:C12, C7:15	dAsn <sup>1</sup> -Phe <sup>2</sup> -Cys <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Phe <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Cys <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Pro <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Tyr <sup>16</sup>	70
SP-383	C3:C8, C4:C12, C7:15	dAsn <sup>1</sup> -Phe <sup>2</sup> -Cys <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Phe <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Cys <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Pro <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -dTyr <sup>16</sup>	71
SP-384	C1:C6, C2:C10, C5:13	Cys <sup>1</sup> -Cys <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Tyr <sup>4</sup> -Cys <sup>5</sup> -Cys <sup>6</sup> -Asn <sup>7</sup> -Pro <sup>8</sup> -Ala <sup>9</sup> -Cys <sup>10</sup> -Thr <sup>11</sup> -Gly <sup>12</sup> -Cys <sup>13</sup> -Tyr <sup>14</sup> -PEG3	72
N14	C1:C6, C2:C10, C5:13	PEG3-Cys <sup>1</sup> -Cys <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Tyr <sup>4</sup> -Cys <sup>5</sup> -Cys <sup>6</sup> -Asn <sup>7</sup> -Pro <sup>8</sup> -Ala <sup>9</sup> -Cys <sup>10</sup> -Thr <sup>11</sup> -Gly <sup>12</sup> -Cys <sup>13</sup> -PEG3	73
N15	C1:C6, C2:C10, C5:13	PEG3-Cys <sup>1</sup> -Cys <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Tyr <sup>4</sup> -Cys <sup>5</sup> -Cys <sup>6</sup> -Asn <sup>7</sup> -Pro <sup>8</sup> -Ala <sup>9</sup> -Cys <sup>10</sup> -Thr <sup>11</sup> -Gly <sup>12</sup> -Cys <sup>13</sup>	74
N16	C1:C6, C2:C10, C5:13	Cys <sup>1</sup> -Cys <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Tyr <sup>4</sup> -Cys <sup>5</sup> -Cys <sup>6</sup> -Asn <sup>7</sup> -Pro <sup>8</sup> -Ala <sup>9</sup> -Cys <sup>10</sup> -Thr <sup>11</sup> -Gly <sup>12</sup> -Cys <sup>13</sup> -PEG3	75
N17	C3:C8, C4:C12, C7:15	PEG3-Asn <sup>1</sup> -Phe <sup>2</sup> -Cys <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Ser <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Cys <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Pro <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Tyr <sup>16</sup> -PEG3	76
N18	C3:C8, C4:C12, C7:15	PEG3-Asn <sup>1</sup> -Phe <sup>2</sup> -Cys <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Ser <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Cys <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Pro <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Tyr <sup>16</sup>	77
N19	C3:C8, C4:C12, C7:15	Asn <sup>1</sup> -Phe <sup>2</sup> -Cys <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Ser <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Cys <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Pro <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Tyr <sup>16</sup> -PEG3	78
N20	C3:C8, C4:C12, C7:15	PEG3-Asn <sup>1</sup> -Phe <sup>2</sup> -Cys <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Phe <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Cys <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Pro <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Tyr <sup>16</sup> -PEG3	79
N21	C3:C8, C4:C12, C7:15	PEG3-Asn <sup>1</sup> -Phe <sup>2</sup> -Cys <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Phe <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Cys <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Pro <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Tyr <sup>16</sup>	80
N22	C3:C8, C4:C12, C7:15	Asn <sup>1</sup> -Phe <sup>2</sup> -Cys <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Phe <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Cys <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Pro <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Tyr <sup>16</sup> -PEG3	81

N23	C3:C8, C4:C12, C7:15	PEG3-Asn <sup>1</sup> -Phe <sup>2</sup> -Cys <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Tyr <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Cys <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Pro <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Tyr <sup>16</sup> -PEG3	82
N24	C3:C8, C4:C12, C7:15	PEG3-Asn <sup>1</sup> -Phe <sup>2</sup> -Cys <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Tyr <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Cys <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Pro <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Tyr <sup>16</sup>	83
N25	C3:C8, C4:C12, C7:15	Asn <sup>1</sup> -Phe <sup>2</sup> -Cys <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Tyr <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Cys <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Pro <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Tyr <sup>16</sup> -PEG3	84
N26	C1:C6, C2:C10, C5:13	Cys <sup>1</sup> -Cys <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Ser <sup>4</sup> -Cys <sup>5</sup> -Cys <sup>6</sup> -Asn <sup>7</sup> -Pro <sup>8</sup> -Ala <sup>9</sup> -Cys <sup>10</sup> -Thr <sup>11</sup> -Gly <sup>12</sup> -Cys <sup>13</sup> -Tyr <sup>14</sup>	85
N27	C1:C6, C2:C10, C5:13	Cys <sup>1</sup> -Cys <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Phe <sup>4</sup> -Cys <sup>5</sup> -Cys <sup>6</sup> -Asn <sup>7</sup> -Pro <sup>8</sup> -Ala <sup>9</sup> -Cys <sup>10</sup> -Thr <sup>11</sup> -Gly <sup>12</sup> -Cys <sup>13</sup> -Tyr <sup>14</sup>	86
N28	C1:C6, C2:C10, C5:13	Cys <sup>1</sup> -Cys <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Ser <sup>4</sup> -Cys <sup>5</sup> -Cys <sup>6</sup> -Asn <sup>7</sup> -Pro <sup>8</sup> -Ala <sup>9</sup> -Cys <sup>10</sup> -Thr <sup>11</sup> -Gly <sup>12</sup> -Cys <sup>13</sup> -	87
N29	C1:C6, C2:C10, C5:13	Cys <sup>1</sup> -Cys <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Phe <sup>4</sup> -Cys <sup>5</sup> -Cys <sup>6</sup> -Asn <sup>7</sup> -Pro <sup>8</sup> -Ala <sup>9</sup> -Cys <sup>10</sup> -Thr <sup>11</sup> -Gly <sup>12</sup> -Cys <sup>13</sup>	88
N30	1:6, 2:10, 5:13	Pen <sup>1</sup> -Pen <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Tyr <sup>4</sup> -Pen <sup>5</sup> -Pen <sup>6</sup> -Asn <sup>7</sup> -Pro <sup>8</sup> -Ala <sup>9</sup> -Pen <sup>10</sup> -Thr <sup>11</sup> -Gly <sup>12</sup> -Pen <sup>13</sup> -Tyr <sup>14</sup>	89
N31	1:6, 2:10, 5:13	Pen <sup>1</sup> -Pen <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Tyr <sup>4</sup> -Pen <sup>5</sup> -Pen <sup>6</sup> -Asn <sup>7</sup> -Pro <sup>8</sup> -Ala <sup>9</sup> -Pen <sup>10</sup> -Thr <sup>11</sup> -Gly <sup>12</sup> -Pen <sup>13</sup>	90
Формула X	C9:C14, C10:C18, C13:21	Xaa <sup>1</sup> -Xaa <sup>2</sup> -Xaa <sup>3</sup> -Xaa <sup>4</sup> -Xaa <sup>5</sup> -Xaa <sup>6</sup> -Asn <sup>7</sup> -Tyr <sup>8</sup> -Cys <sup>9</sup> -Cys <sup>10</sup> -Xaa <sup>11</sup> -Tyr <sup>12</sup> -Cys <sup>13</sup> -Cys <sup>14</sup> -Xaa <sup>15</sup> -Xaa <sup>16</sup> -Xaa <sup>17</sup> -Cys <sup>18</sup> -Xaa <sup>19</sup> -Xaa <sup>20</sup> -Cys <sup>21</sup> -Xaa <sup>22</sup>	91
Формула XI	C9:C14, C10:C18, C13:21	Xaa <sup>1</sup> -Xaa <sup>2</sup> -Xaa <sup>3</sup> -Xaa <sup>4</sup> -Xaa <sup>5</sup> -Xaa <sup>6</sup> -Asn <sup>7</sup> -Phe <sup>8</sup> -Cys <sup>9</sup> -Cys <sup>10</sup> -Xaa <sup>11</sup> -Phe <sup>12</sup> -Cys <sup>13</sup> -Cys <sup>14</sup> -Xaa <sup>15</sup> -Xaa <sup>16</sup> -Xaa <sup>17</sup> -Cys <sup>18</sup> -Xaa <sup>19</sup> -Xaa <sup>20</sup> -Cys <sup>21</sup> -Xaa <sup>22</sup>	92
Формула XII	C3:C8, C4:C12, C7:15	Asn <sup>1</sup> -Phe <sup>2</sup> -Cys <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Xaa <sup>5</sup> -Phe <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Cys <sup>8</sup> -Xaa <sup>9</sup> -Xaa <sup>10</sup> -Xaa <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Xaa <sup>3</sup> -Xaa <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Xaa <sup>16</sup>	93
Формула XIII	3:8, 4:12, C:15	Asn <sup>1</sup> -Phe <sup>2</sup> -Pen <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Xaa <sup>5</sup> -Phe <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Pen <sup>8</sup> -Xaa <sup>9</sup> -Xaa <sup>10</sup> -Xaa <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Xaa <sup>13</sup> -Xaa <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Xaa <sup>16</sup>	94
Формула XIV	3:8, 4:12, 7:15	Asn <sup>1</sup> -Phe <sup>2</sup> -Maa <sup>3</sup> -Maa <sup>4</sup> -Xaa <sup>5</sup> -Xaa <sup>6</sup> -Maa <sup>7</sup> -Maa <sup>8</sup> -Xaa <sup>9</sup> -Xaa <sup>10</sup> -Xaa <sup>11</sup> -Maa <sup>12</sup> -Xaa <sup>13</sup> -Xaa <sup>14</sup> -Maa <sup>15</sup> -Xaa <sup>16</sup>	95
Формула XV	1:6, 2:10, 5:13	Maa <sup>1</sup> -Maa <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Xaa <sup>4</sup> -Maa <sup>5</sup> -Maa <sup>6</sup> -Asn <sup>7</sup> -Pro <sup>8</sup> -Ala <sup>9</sup> -Maa <sup>10</sup> -Thr <sup>11</sup> -Gly <sup>12</sup> -Maa <sup>13</sup> -Tyr <sup>14</sup>	96
Формула XVI	1:6, 2:10, 5:13	Maa <sup>1</sup> -Maa <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Xaa <sup>4</sup> -Maa <sup>5</sup> -Maa <sup>6</sup> -Asn <sup>7</sup> -Pro <sup>8</sup> -Ala <sup>9</sup> -Maa <sup>10</sup> -Thr <sup>11</sup> -Gly <sup>12</sup> -Maa <sup>13</sup> -	97
Формула XVII	1:6, 2:10, 5:13	Xaa <sub>n3</sub> -Maa <sup>1</sup> -Maa <sup>2</sup> -Xaa <sup>3</sup> -Xaa <sup>4</sup> -Maa <sup>5</sup> -Maa <sup>6</sup> -Xaa <sup>7</sup> -Xaa <sup>8</sup> -Xaa <sup>9</sup> -Maa <sup>10</sup> -Xaa <sup>11</sup> -Xaa <sup>12</sup> -Maa <sup>13</sup> -Xaa <sub>n2</sub>	98

Таблица III. Пептиды GCRA

Наименование	Положение дисульфидных связей	Структура	SEQ ID NO:
SP-363	C4:C12, C7:C15	dAsn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -dLeu-АМИД <sup>16</sup>	99
SP-364	C4:C12, C7:C15	dAsn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -dSer <sup>16</sup>	100
SP-365	C4:C12, C7:C15	dAsn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -dSer-АМИД <sup>16</sup>	101
SP-366	C4:C12, C7:C15	dAsn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -dTyr <sup>16</sup>	102
SP-367	C4:C12, C7:C15	dAsn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -dTyr-АМИД <sup>16</sup>	103
SP-373	C4:C12, C7:C15	Pyglu <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -dLeu-АМИД <sup>16</sup>	104
/	C4:C12, C7:C15	Pyglu <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Leu <sup>16</sup>	251
SP-304 ди PEG	C4:C12, C7:C15	PEG3-Asn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Leu <sup>16</sup> -PEG3	105

SP-304 N-PEG	C4:C12, C7:C15	PEG3-Asn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Leu <sup>16</sup>	106
SP-304 C-PEG	C4:C12, C7:C15	Asn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Leu <sup>16</sup> -PEG3	107

Таблица IV. Аналоги SP-304, урогуанилин и аналоги урогуанилина

Наименование	Положение дисульфидных связей	Структура	SEQ ID NO
Формула XVIII	C4:C12, C7:C15	Xaa <sup>1</sup> -Xaa <sup>2</sup> -Xaa <sup>3</sup> -Maa <sup>4</sup> -Xaa <sup>5</sup> -Xaa <sup>6</sup> -Maa <sup>7</sup> -Xaa <sup>8</sup> -Xaa <sup>9</sup> -Xaa <sup>10</sup> -Xaa <sup>11</sup> -Maa <sup>12</sup> -Xaa <sup>13</sup> -Xaa <sup>14</sup> -Maa <sup>15</sup> -Xaa <sup>16</sup>	108
Урогуанилин	C4:C12, C7:C15	Asn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Asp <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Leu <sup>16</sup>	109
N32	C4:C12, C7:C15	Glu <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Asp <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Leu <sup>16</sup>	110
N33	C4:C12, C7:C15	Glu <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Leu <sup>16</sup>	111
N34	C4:C12, C7:C15	Glu <sup>1</sup> -Glu <sup>2</sup> -Asp <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Leu <sup>16</sup>	112
N35	C4:C12, C7:C15	Glu <sup>1</sup> -Glu <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Leu <sup>16</sup>	113
N36	C4:C12, C7:C15	Asp <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Asp <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Leu <sup>16</sup>	114
N37	C4:C12, C7:C15	Asp <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Leu <sup>16</sup>	115
N38	C4:C12, C7:C15	Asp <sup>1</sup> -Glu <sup>2</sup> -Asp <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Leu <sup>16</sup>	116
N39	C4:C12, C7:C15	Asp <sup>1</sup> -Glu <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Leu <sup>16</sup>	117
N40	C4:C12, C7:C15	Gln <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Asp <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Leu <sup>16</sup>	118
N41	C4:C12, C7:C15	Gln <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Leu <sup>16</sup>	119
N42	C4:C12, C7:C15	Gln <sup>1</sup> -Glu <sup>2</sup> -Asp <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Leu <sup>16</sup>	120
N43	C4:C12, C7:C15	Gln <sup>1</sup> -Glu <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Leu <sup>16</sup>	121
N44	C4:C12, C7:C15	Lys <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Asp <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Leu <sup>16</sup>	122
N45	C4:C12, C7:C15	Lys <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Leu <sup>16</sup>	123
N46	C4:C12, C7:C15	Lys <sup>1</sup> -Glu <sup>2</sup> -Asp <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Leu <sup>16</sup>	124

N47	C4:C12, C7:C15	Lys <sup>1</sup> -Glu <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Leu <sup>16</sup>	125
N48	C4:C12, C7:C15	Glu <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Asp <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Ser <sup>16</sup>	126
N49	C4:C12, C7:C15	Glu <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Ser <sup>16</sup>	127
N50	C4:C12, C7:C15	Glu <sup>1</sup> -Glu <sup>2</sup> -Asp <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Ser <sup>16</sup>	128
N51	C4:C12, C7:C15	Glu <sup>1</sup> -Glu <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Ser <sup>16</sup>	129
N52	C4:C12, C7:C15	Asp <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Asp <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Ser <sup>16</sup>	130
N53	C4:C12, C7:C15	Asp <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Ser <sup>16</sup>	131
N54	C4:C12, C7:C15	Asp <sup>1</sup> -Glu <sup>2</sup> -Asp <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Ser <sup>16</sup>	132
N55	C4:C12, C7:C15	Asp <sup>1</sup> -Glu <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Ser <sup>16</sup>	133
N56	C4:C12, C7:C15	Gln <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Asp <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Ser <sup>16</sup>	134
N57	C4:C12, C7:C15	Gln <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Ser <sup>16</sup>	135
N58	C4:C12, C7:C15	Gln <sup>1</sup> -Glu <sup>2</sup> -Asp <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Ser <sup>16</sup>	136
N59	C4:C12, C7:C15	Gln <sup>1</sup> -Glu <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Ser <sup>16</sup>	137
N60	C4:C12, C7:C15	Lys <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Asp <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Ser <sup>16</sup>	138
N61	C4:C12, C7:C15	Lys <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Ser <sup>16</sup>	139
N62	C4:C12, C7:C15	Lys <sup>1</sup> -Glu <sup>2</sup> -Asp <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Ser <sup>16</sup>	140
N63	C4:C12, C7:C15	Lys <sup>1</sup> -Glu <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Ser <sup>16</sup>	141
N65	C4:C12, C7:C15	Glu <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Asp <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ile <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Met <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Leu <sup>16</sup>	142
N66	C4:C12, C7:C15	Glu <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ile <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Met <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Leu <sup>16</sup>	143
N67	C4:C12, C7:C15	Glu <sup>1</sup> -Glu <sup>2</sup> -Asp <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ile <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Met <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Leu <sup>16</sup>	144
N68	C4:C12, C7:C15	Glu <sup>1</sup> -Glu <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ile <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Met <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Leu <sup>16</sup>	145
N69	C4:C12, C7:C15	Asp <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Asp <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ile <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Met <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Leu <sup>16</sup>	146



Таблица V. Гуанилин и аналоги

Наименование	Положение дисульфидных связей	Структура	SEQ ID NO
Формула XIX	4:12, 7:15	Xaa <sup>1</sup> -Xaa <sup>2</sup> -Xaa <sup>3</sup> -Maa <sup>4</sup> -Xaa <sup>5</sup> -Xaa <sup>6</sup> -Maa <sup>7</sup> -Xaa <sup>8</sup> -Xaa <sup>9</sup> -Xaa <sup>10</sup> -Xaa <sup>11</sup> -Maa <sup>12</sup> -Xaa <sup>13</sup> -Xaa <sup>14</sup> -Maa <sup>15</sup>	174
Гуанилин	C4:C12, C7:C15	Ser <sup>1</sup> -His <sup>2</sup> -Thr <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Ile <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ala <sup>8</sup> -Phe <sup>9</sup> -Ala <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Ala <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup>	175
Гуанилин человека	C4:C12, C7:C15	Pro <sup>1</sup> -Gly <sup>2</sup> -Thr <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Ile <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ala <sup>8</sup> -Tyr <sup>9</sup> -Ala <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup>	252
N97	C4:C12, C7:C15	Ser <sup>1</sup> -His <sup>2</sup> -Thr <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Ile <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ala <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Ala <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Ala <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup>	176
N98	C4:C12, C7:C15	Ser <sup>1</sup> -His <sup>2</sup> -Thr <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ala <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Ala <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Ala <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup>	177
N99	C4:C12, C7:C15	Ser <sup>1</sup> -His <sup>2</sup> -Thr <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Val <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ala <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Ala <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Ala <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup>	178
N100	C4:C12, C7:C15	Ser <sup>1</sup> -His <sup>2</sup> -Thr <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Tyr <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ala <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Ala <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Ala <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup>	179
N101	C4:C12, C7:C15	Ser <sup>1</sup> -His <sup>2</sup> -Thr <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Ile <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ala <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Ala <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Ala <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup>	180
N102	C4:C12, C7:C15	Ser <sup>1</sup> -His <sup>2</sup> -Thr <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ala <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Ala <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Ala <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup>	181
N103	C4:C12, C7:C15	Ser <sup>1</sup> -His <sup>2</sup> -Thr <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Val <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ala <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Ala <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Ala <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup>	182
N104	C4:C12, C7:C15	Ser <sup>1</sup> -His <sup>2</sup> -Thr <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Tyr <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ala <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Ala <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Ala <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup>	183
N105	C4:C12, C7:C15	Ser <sup>1</sup> -His <sup>2</sup> -Thr <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Ile <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ala <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Ala <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Ala <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup>	184
N106	C4:C12, C7:C15	Ser <sup>1</sup> -His <sup>2</sup> -Thr <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ala <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Ala <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Ala <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup>	185
N107	C4:C12, C7:C15	Ser <sup>1</sup> -His <sup>2</sup> -Thr <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Val <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ala <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Ala <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Ala <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup>	186
N108	C4:C12, C7:C15	Ser <sup>1</sup> -His <sup>2</sup> -Thr <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Tyr <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ala <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Ala <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Ala <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup>	187
N109	C4:C12, C7:C15	Ser <sup>1</sup> -His <sup>2</sup> -Thr <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Ile <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ala <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Ala <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Ala <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup>	188
N110	C4:C12, C7:C15	Ser <sup>1</sup> -His <sup>2</sup> -Thr <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ala <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Ala <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Ala <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup>	189
N111	C4:C12, C7:C15	Ser <sup>1</sup> -His <sup>2</sup> -Thr <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Val <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ala <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Ala <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Ala <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup>	190
N112	C4:C12, C7:C15	Ser <sup>1</sup> -His <sup>2</sup> -Thr <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Tyr <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ala <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Ala <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Ala <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup>	191
N113	C4:C12, C7:C15	Asn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Ile <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ala <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Ala <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Ala <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup>	192
N114	C4:C12, C7:C15	Asn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ala <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Ala <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Ala <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup>	193
N115	C4:C12, C7:C15	Asn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Val <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ala <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Ala <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Ala <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup>	194
N116	C4:C12, C7:C15	Asn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Tyr <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ala <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Ala <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Ala <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup>	195
N117	C4:C12, C7:C15	Asn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Ile <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ala <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Ala <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Ala <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup>	196
N118	C4:C12, C7:C15	Asn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ala <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Ala <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Ala <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup>	197



N119	C4:C12, C7:C15	Asn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Val <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ala <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Ala <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Ala <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup>	198
N120	C4:C12, C7:C15	Asn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Tyr <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ala <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Ala <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Ala <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup>	199
N121	C4:C12, C7:C15	Asn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Ile <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ala <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Ala <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Ala <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup>	200
N122	C4:C12, C7:C15	Asn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ala <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Ala <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Ala <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup>	201
N123	C4:C12, C7:C15	Asn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Val <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ala <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Ala <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Ala <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup>	202
N124	C4:C12, C7:C15	Asn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Tyr <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ala <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Ala <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Ala <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup>	203
N125	C4:C12, C7:C15	Asn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Ile <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ala <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Ala <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Ala <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup>	204
N126	C4:C12, C7:C15	Asn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ala <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Ala <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Ala <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup>	205
N127	C4:C12, C7:C15	Asn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Val <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ala <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Ala <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Ala <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup>	206
N128	C4:C12, C7:C15	Asn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Tyr <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ala <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Ala <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Ala <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup>	207

Таблица VI. Лимфогуанилин и аналоги

Наименование	Положение дисульфидных связей	Структура	SEQ ID NO
Формула XX	4:12, 7:15	Xaa <sup>1</sup> -Xaa <sup>2</sup> -Xaa <sup>3</sup> -Maa <sup>4</sup> -Xaa <sup>5</sup> -Xaa <sup>6</sup> -Maa <sup>7</sup> -Xaa <sup>8</sup> -Xaa <sup>9</sup> -Xaa <sup>10</sup> -Xaa <sup>11</sup> -Maa <sup>12</sup> -Xaa <sup>13</sup> -Xaa <sup>14</sup> -Xaa <sup>15</sup>	208
Лимфогуанилин	C4:C12	Gln <sup>1</sup> -Glu <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ile <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Met <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Tyr <sup>15</sup>	209
N129	C4:C12	Gln <sup>1</sup> -Glu <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Thr <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ile <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Met <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Tyr <sup>15</sup>	210
N130	C4:C12	Gln <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Thr <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ile <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Met <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Tyr <sup>15</sup>	211
N131	C4:C12	Gln <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Asp <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Thr <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ile <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Met <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Tyr <sup>15</sup>	212
N132	C4:C12	Gln <sup>1</sup> -Glu <sup>2</sup> -Asp <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Thr <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ile <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Met <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Tyr <sup>15</sup>	213
N133	C4:C12	Gln <sup>1</sup> -Glu <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Glu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ile <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Met <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Tyr <sup>15</sup>	214
N134	C4:C12	Gln <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Glu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ile <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Met <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Tyr <sup>15</sup>	215

N135	C4:C12	Gln <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Asp <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Glu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ile <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Met <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Tyr <sup>15</sup>	216
N136	C4:C12	Gln <sup>1</sup> -Glu <sup>2</sup> -Asp <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Glu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ile <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Met <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Tyr <sup>15</sup>	217
N137	C4:C12	Gln <sup>1</sup> -Glu <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Tyr <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ile <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Met <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Tyr <sup>15</sup>	218
N138	C4:C12	Gln <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Tyr <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ile <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Met <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Tyr <sup>15</sup>	219
N139	C4:C12	Gln <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Asp <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Tyr <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ile <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Met <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Tyr <sup>15</sup>	220
N140	C4:C12	Gln <sup>1</sup> -Glu <sup>2</sup> -Asp <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Tyr <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ile <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Met <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Tyr <sup>15</sup>	221
N141	C4:C12	Gln <sup>1</sup> -Glu <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Ile <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ile <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Met <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Tyr <sup>15</sup>	222
N142	C4:C12	Gln <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Ile <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ile <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Met <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Tyr <sup>15</sup>	223
N143	C4:C12	Gln <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Asp <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Ile <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ile <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Met <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Tyr <sup>15</sup>	224
N144	C4:C12	Gln <sup>1</sup> -Glu <sup>2</sup> -Asp <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Ile <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ile <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Met <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Tyr <sup>15</sup>	225
N145	C4:C12, C7:C15	Gln <sup>1</sup> -Glu <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Thr <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ile <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Met <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Ser <sup>16</sup>	226
N146	C4:C12, C7:C15	Gln <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Thr <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ile <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Met <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Ser <sup>16</sup>	227
N147	C4:C12, C7:C15	Gln <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Asp <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Thr <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ile <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Met <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Ser <sup>16</sup>	228
N148	C4:C12, C7:C15	Gln <sup>1</sup> -Glu <sup>2</sup> -Asp <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Thr <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ile <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Met <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Ser <sup>16</sup>	229
N149	C4:C12, C7:C15	Gln <sup>1</sup> -Glu <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Glu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ile <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Met <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Ser <sup>16</sup>	230
N150	C4:C12, C7:C15	Gln <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Glu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ile <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Met <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Ser <sup>16</sup>	231
N151	C4:C12, C7:C15	Gln <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Asp <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Glu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ile <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Met <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Ser <sup>16</sup>	232
N152	C4:C12, C7:C15	Gln <sup>1</sup> -Glu <sup>2</sup> -Asp <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Glu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ile <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Met <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Ser <sup>16</sup>	233
N153	C4:C12, C7:C15	Gln <sup>1</sup> -Glu <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Tyr <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ile <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Met <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Ser <sup>16</sup>	234
N154	C4:C12, C7:C15	Gln <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Tyr <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ile <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Met <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Ser <sup>16</sup>	235
N155	C4:C12, C7:C15	Gln <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Asp <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Tyr <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ile <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Met <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Ser <sup>16</sup>	236
N156	C4:C12, C7:C15	Gln <sup>1</sup> -Glu <sup>2</sup> -Asp <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Tyr <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ile <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Met <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Ser <sup>16</sup>	237
N157	C4:C12, C7:C15	Gln <sup>1</sup> -Glu <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Ile <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ile <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Met <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Ser <sup>16</sup>	238
N158	C4:C12, C7:C15	Gln <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Ile <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ile <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Met <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Ser <sup>16</sup>	239
N159	C4:C12, C7:C15	Gln <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Asp <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Ile <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ile <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Met <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Ser <sup>16</sup>	240
N160	C4:C12, C7:C15	Gln <sup>1</sup> -Glu <sup>2</sup> -Asp <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Ile <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ile <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Met <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Ser <sup>16</sup>	241

Таблица VII. Пептид ST и аналоги

Наименование	Положение дисульфидных связей	Структура	SEQ ID NO
Пептид ST	C3:C8, C4:C12, C7:15	Asn <sup>1</sup> -Ser <sup>2</sup> -Ser <sup>3</sup> -Asn <sup>4</sup> -Ser <sup>5</sup> -Ser <sup>6</sup> -Asn <sup>7</sup> -Tyr <sup>8</sup> -Cys <sup>9</sup> -Cys <sup>10</sup> -Glu <sup>11</sup> -Lys <sup>12</sup> -Cys <sup>13</sup> -Cys <sup>14</sup> -Asn <sup>15</sup> -Pro <sup>16</sup> -Ala <sup>17</sup> -Cys <sup>18</sup> -Thr <sup>19</sup> -Gly <sup>20</sup> -Cys <sup>21</sup> -Tyr <sup>22</sup>	242
N161	C3:C8, C4:C12, C7:15	PEG3-Asn <sup>1</sup> -Phe <sup>2</sup> -Cys <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Thr <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Cys <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Pro <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Tyr <sup>16</sup> -PEG3	243
N162	C3:C8, C4:C12, C7:15	PEG3-Asn <sup>1</sup> -Phe <sup>2</sup> -Cys <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Thr <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Cys <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Pro <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Tyr <sup>16</sup>	244
N163	C3:C8, C4:C12, C7:15	Asn <sup>1</sup> -Phe <sup>2</sup> -Cys <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Thr <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Cys <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Pro <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Tyr <sup>16</sup> -PEG3	245
N164	C3:C8, C4:C12, C7:15	Asn <sup>1</sup> -Phe <sup>2</sup> -Cys <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Tyr <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Cys <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Pro <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Tyr <sup>16</sup>	246
N165	C3:C8, C4:C12, C7:15	dAsn <sup>1</sup> -Phe <sup>2</sup> -Cys <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Tyr <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Cys <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Pro <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -dTyr <sup>16</sup>	247
N166	C3:C8, C4:C12, C7:15	Asn <sup>1</sup> -Phe <sup>2</sup> -Cys <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Tyr <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Cys <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Pro <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -dTyr <sup>16</sup>	248
N167	C3:C8, C4:C12, C7:15	dAsn <sup>1</sup> -Phe <sup>2</sup> -Cys <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Tyr <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Cys <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Pro <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Tyr <sup>16</sup>	249

### 1.2. Способы применения.

Изобретение относится к способам лечения или предотвращения нарушений желудочно-кишечного тракта и увеличения двигательной активности желудочно-кишечного тракта у нуждающегося в этом субъекта посредством введения эффективного количества агониста GСС или его состава субъекту. Неограничивающие примеры нарушений желудочно-кишечного тракта, которые можно лечить или предотвращать способами по изобретению, включают в себя синдром раздраженного кишечника (IBS), неязвенную диспепсию, связанные с инфекцией *H. pylori* язвы, хроническую псевдонепроходимость кишечника, функциональную диспепсию, псевдонепроходимость толстой кишки, дуоденогастральный рефлюкс, гастроэзофагеальную рефлюксную болезнь (GERD), илеус (например, послеоперационный илеус), гастропарез, изжогу (высокую кислотность в ЖК тракте), констипацию (например, констипацию, ассоциированную с применением лекарственных средств, таких как опиоиды, лекарственные средства против остеоартрита или лекарственные средства против остеопороза); послеоперационную констипацию, констипацию, ассоциированную с невропатическими нарушениями, болезнь Крона и язвенный колит.

В одном из вариантов осуществления, изобретение относится к способам лечения или предотвращения нарушения двигательной активности желудочно-кишечного тракта, синдрома раздраженного кишечника, функционального нарушения желудочно-кишечного тракта, гастроэзофагеальной рефлюксной болезни, дуоденогастрального рефлюкса, функциональной изжоги, диспепсии, функциональной диспепсии, неязвенной диспепсии, гастропареза, хронической псевдонепроходимости кишечника, псевдонепроходимости толстой кишки, ожирения, застойной сердечной недостаточности или доброкачественной гиперплазии предстательной железы.

В одном из вариантов осуществления, изобретение относится к способам лечения или предотвращения констипации и/или увеличения двигательной активности желудочно-кишечного тракта у нуждающегося в этом субъекта посредством введения эффективного количества агониста GСС или его состава субъекту. Принятые в клинике критерии, определяющие констипацию, лежат в диапазоне частоты опорожнений кишечника, консистенции фекалий и легкости опорожнения кишечника. Одним из общепринятых определений констипации является менее трех опорожнений кишечника в неделю. Другие определения включают в себя аномально твердый стул или дефекацию, требующую избыточного напряжения (Schiller 2001 *Aliment Pharmacol Ther* 15:749-763). Констипация может являться идиопатической (функциональная констипация или гипокINETическая констипация) или вторичной по отношению к другим причинам, включая неврологические, метаболические или эндокринные нарушения. Эти нарушения включают в себя сахарный диабет, гипотиреоз, гипертиреоз, гипокальциемию, рассеянный склероз, болезнь Паркинсона, повреждения спинного мозга, нейрофиброматоз, автономную невропатию, болезнь

Шагаса, болезнь Гиршпрунга и кистозный фиброз. Констипация также может являться результатом хирургической операции или являться обусловленной применением лекарственных средств, таких как анальгетики (подобные опиоидам), антигипертензивные средства, противосудорожные средства, антидепрессанты, противоспастические средства и антипсихотические средства.

В различных вариантах осуществления, констипация является ассоциированной с применением лекарственного средства; констипация является ассоциированной с невропатическим нарушением; констипация представляет собой констипацию после хирургической операции; констипация является ассоциированной с нарушением желудочно-кишечного тракта; констипация является идиопатической (функциональная констипация или гипокинетическая констипация); констипация является ассоциированной с невропатическим, метаболическим или эндокринным нарушением (например, сахарным диабетом, гипотиреозом, гипертиреозом, гипокальциемией, рассеянным склерозом, болезнью Паркинсона, повреждениями спинного мозга, нейрофиброматозом, автономной невропатией, болезнью Шагаса, болезнью Гиршпрунга или кистозным фиброзом). Констипация также может являться результатом хирургической операции или являться обусловленной применением лекарственных средств, таких как анальгетики (например, опиоиды), антигипертензивные средства, противосудорожные средства, антидепрессанты, противоспастические средства и антипсихотические средства.

В одном из вариантов осуществления, изобретение относится к способам лечения или предотвращения хронической идиопатической констипации и увеличения двигательной активности желудочно-кишечного тракта у нуждающегося в этом субъекта посредством введения эффективного количества агониста GСС или его состава субъекту.

Термин "лечение", как используют в настоящем документе, относится к уменьшению, частичному улучшению, облегчению или смягчению по меньшей мере одного клинического симптома, ассоциированного с нарушением желудочно-кишечного тракта, поддаваемым лечению. Термин "предотвращение" относится к ингибированию или задержке начала или прогрессирования по меньшей мере одного клинического симптома, ассоциированного с нарушениями желудочно-кишечного тракта, подлежащими предотвращению. Термин "эффективное количество", как используют в настоящем документе, относится к количеству, обеспечивающему некоторое улучшение или преимущество для субъекта. В определенных вариантах осуществления, эффективное количество представляет собой количество, обеспечивающее некоторое облегчение, смягчение и/или уменьшение по меньшей мере одного клинического симптома нарушения желудочно-кишечного тракта, подлежащего лечению. В других вариантах осуществления, эффективное количество представляет собой количество, обеспечивающее некоторое ингибирование или задержку начала или прогрессирования по меньшей мере одного клинического симптома, ассоциированного с нарушением желудочно-кишечного тракта, подлежащего предотвращению. Терапевтические эффекты не обязательно должны являться полными или излечивающими, при условии, что некоторое преимущество предоставлено субъекту. Термин "субъект" предпочтительно относится к субъекту-человеку, но может также относиться к нечеловекообразному примату или другому млекопитающему, предпочтительно, выбранному из мыши, крысы, собаки, кошки, коровы, лошади или свиньи.

Изобретение также относится к способам лечения злокачественной опухоли желудочно-кишечного тракта у нуждающегося в этом субъекта посредством введения эффективного количества агониста GСС или его состава субъекту. Неограничивающие примеры злокачественных опухолей желудочно-кишечного тракта, которые можно лечить способами по изобретению, включают в себя рак желудка, рак пищевода, рак поджелудочной железы, колоректальный рак, рак кишечника, рак анального канала, рак печени, рак желчного пузыря или рак толстого кишечника.

Изобретение также относится к способам лечения нарушений метаболизма липидов, нарушений желчевыводящих путей, воспалительных нарушений, нарушений легких, злокачественных опухолей, сердечных нарушений, включая сердечно-сосудистые нарушения, повреждений глаз, повреждений полости рта, нарушений крови, нарушений печени, повреждений кожи, нарушений предстательной железы, нарушений эндокринной системы и ожирения.

Нарушения метаболизма липидов включают в себя, в качестве неограничивающих примеров, дислипидемию, гиперлипидемию, гиперхолестеринемию, гипертриглицеридемию, ситостеролемию, семейную гиперхолестеринемию, ксантому, комбинированную гиперлипидемию, недостаточность лецитин-холестерин-ацилтрансферазы, танжерскую болезнь, абеталипопротеинемию, эректильную дисфункцию, стеатоз печени и гепатит.

Нарушения желчевыводящих путей включают в себя нарушения желчного пузыря, например, такие как камни в желчном пузыре, холангит при раке желчного пузыря или первичный склерозирующий холангит; или нарушения желчных протоков, например, такие как холецистит, рак желчных протоков или фасциолез.

Воспалительные нарушения включают в себя воспаление тканей и органов, такое как воспаление почек (например, нефрит), воспаление желудочно-кишечной системы (например, болезнь Крона и язвенный колит); некротизирующий энтероколит (NEC); воспаление поджелудочной железы (например, панкреатит), недостаточность поджелудочной железы, воспаление легких (например, бронхит или астма) или воспаление кожи (например, псориаз, экзема).

Нарушения легких включают в себя, например, хроническое обструктивное заболевание легких (COPD) и фиброз.

Злокачественная опухоль включает в себя канцерогенез тканей и органов, включая метастазирование, например, такой как злокачественная опухоль желудочно-кишечного тракта, (например, рак желудка, рак пищевода, рак поджелудочной железы колоректальный рак, рак кишечника, рак анального отверстия, рак печени, рак желчного пузыря или рак толстого кишечника; рак легких; рак щитовидной железы; рак кожи (например, меланома); злокачественная опухоль полости рта; злокачественная опухоль мочевыводящих путей (например, рак мочевого пузыря или рак почки); злокачественная опухоль клеток крови (например, миелома или лейкоз) или рак предстательной железы.

Сердечные нарушения включают в себя, например, застойную сердечную недостаточность, трахейную сердечную гипертензию, высокий уровень холестерина или высокий уровень триглицеридов. Сердечно-сосудистые нарушения включают в себя, например, аневризму, стенокардию, атеросклероз, острое нарушение мозгового кровообращения (инсульт), цереброваскулярное заболевание, застойную сердечную недостаточность, ишемическую болезнь сердца, инфаркт миокарда (сердечный приступ) или заболевание периферических сосудов.

Нарушения печени включают в себя, например, цирроз и фиброз. Кроме того, агонист GC-C также можно использовать для облегчения регенерации печени у пациентов с трансплантатом печени. Повреждения глаз включают в себя, например, повышенное внутриглазное давление, глаукому, синдром сухих глаз, дегенерацию сетчатки, повреждения слезных желез или воспаление глаз. Повреждения кожи включают в себя, например, ксероз. Повреждения ротовой полости включают в себя, например, сухость во рту (ксеростомия), синдром Шегрена, заболевания десен (например, пародонтоз) или закупоривание или нарушение функционирования протоков слюнных желез. Нарушения предстательной железы включают в себя, например, доброкачественную гиперплазию предстательной железы (BPH). Нарушения эндокринной системы включают в себя, например, сахарный диабет, гипертиреоз, гипотиреоз и кистозный фиброз.

#### 1.2.1. Терапевтически эффективные дозы.

Нарушения лечат, предотвращают или облегчают посредством введения субъекту, например, млекопитающему, такому как нуждающийся в этом человек, терапевтически эффективной дозы пептида-агониста GCC. Настоящее изобретение частично основано на неожиданных результатах клинических испытаний у человека, показывающих, что составы по изобретению являются терапевтически эффективными в намного более низких дозах, чем предсказано на основании исследований на животных. В одном из аспектов изобретения, терапевтически эффективная доза составляет между 0,01 миллиграмма (мг) и 10 мг на единичную дозу. Термин "единичная доза" относится к отдельной единице доставки лекарственного средства, например, таблетке, капсуле, раствору, ингаляции, составу с контролируемым высвобождением или продленным высвобождением (например, технология MMX® от Cosmo Pharmaceuticals). В одном из вариантов осуществления, эффективная доза составляет между 0,01 и 9 мг. В другом варианте осуществления, эффективная доза составляет между 0,01 и 5 мг. В другом варианте осуществления, эффективная доза составляет между 0,01 и 3 мг. В другом варианте осуществления, эффективная доза составляет между 0,10 и 5 мг. В другом варианте осуществления, эффективная доза составляет между 0,10 и 3 мг. В одном из вариантов осуществления, единичная доза составляет 0,01, 0,05, 0,1, 0,2, 0,3, 0,5, 1,0, 1,5, 2,0, 2,5, 3,0, 5 или 10 мг. В одном из вариантов осуществления, единичная доза составляет 0,3, 1,0, 3,0, 9,0 или 9,5 мг.

Пептиды-агонисты GCC могут присутствовать в фармацевтической композиции в единичной лекарственной форме, вместе с одним или несколькими фармацевтически приемлемыми наполнителями. Количество присутствующего пептида должно являться достаточным для оказания положительного терапевтического эффекта при введении пациенту. То, что составляет "положительный терапевтический эффект", зависит от конкретного состояния, подлежащего лечению, и включает в себя любое значимое улучшение, легко определяемое специалистом в данной области.

Агонисты GCC для применения в способах, описанных выше, предпочтительно вводят перорально. Лекарственные формы включают в себя растворы, суспензии, эмульсии, таблетки и капсулы.

Общую суточную дозу можно вводить пациенту в однократной дозе или во множестве субдоз. Как правило, субдозы можно вводить от двух до шести раз в сутки, предпочтительно, от двух до четырех раз в сутки, и даже более предпочтительно, от двух до трех раз в сутки. Предпочтительно, вводят однократную суточную дозу.

Агонисты GCC можно вводить либо в качестве отдельного активного средства, либо в комбинации с одним или несколькими дополнительными активными средствами. Во всех случаях, дополнительные активные средства следует вводить в дозе, которая является терапевтически эффективной, с использованием существующего уровня техники в качестве руководства. Агонисты GCC можно вводить в одной композиции или последовательно с одним или несколькими дополнительными активными средствами. В одном из вариантов осуществления, агонист GCC вводят в комбинации с одним или несколькими ингибиторами цГМФ-зависимой фосфодиэстеразы, такими как сулиндак-сульфон, запринаст, мотапизон, варденафил или силденафил. В другом варианте осуществления, агонист GCC вводят в комбинации с од-

ним или несколькими химиотерапевтическими средствами. В другом варианте осуществления, агонист GCS вводят в комбинации с одним или несколькими противовоспалительными лекарственными средствами, такими как стероиды или нестероидные противовоспалительные лекарственные средства (NSAIDs), такие как аспирин.

Комбинированной терапии можно достигнуть посредством введения двух или более средств, например, пептида-агониста GCS, описываемого в настоящем документе, и другого соединения, каждое из которых составляют и вводят по отдельности, или посредством введения двух или более средств в одном составе. Другие комбинации также включены в комбинированную терапию. Например, два средства можно составлять вместе и вводить в комбинации с отдельным составом, содержащим третье средство. В то время как два или более средств при комбинированной терапии можно вводить одновременно, это не является необходимым. Например, введение первого средства (или комбинации средств) может предшествовать введению второго средства (или комбинации средств) на несколько минут, часов, суток или недель. Таким образом, два или более средства можно вводить в пределах нескольких минут друг от друга, или в пределах 1, 2, 3, 6, 9, 12, 15, 18 или 24 часов друг от друга, или в пределах 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 14 суток 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 длительные интервалы. В то время как во многих случаях является желательным, чтобы два или более средств, используемых при комбинированной терапии, присутствовали в организме пациента одновременно, это не является необходимым.

Пептиды-агонисты GCS, описываемые в настоящем документе, можно комбинировать с ингибиторами фосфодиэстеразы, например, сулиндак-сульфон, запринастом, силденафилом, варденафилом или тадалфилом для дополнительного увеличения уровней цГМФ в тканях- или органах-мишенях.

Комбинированная терапия может включать в себя также два или более введений одного или нескольких средств, используемых в комбинации. Например, если средство X и средство Y используют в комбинации, их следует вводить последовательно в любой комбинации один или несколько раз, например, в таком порядке, как X-Y-X, X-X-Y, Y-X-Y, Y-Y-X, X-X-Y-Y и т.д.

#### 1.2.2. Иллюстративные средства для комбинированной терапии.

Составы агонистов GCS по изобретению можно вводить отдельно или в комбинации с одним или несколькими дополнительными терапевтическими средствами в качестве части терапевтического режима для лечения или предотвращения заболевания или нарушения желудочно-кишечного тракта. В некоторых вариантах осуществления, состав агониста GCS содержит одно или несколько дополнительных лекарственных средств. В других вариантах осуществления, агонист GCS составляют отдельно от одного или нескольких дополнительных лекарственных средств. В соответствии с этим вариантом осуществления, агонист GCS вводят одновременно, последовательно или в отличное время по отношению к одному или нескольким дополнительным лекарственным средствам. В одном из вариантов осуществления, состав агониста GCS вводят в комбинации с одним или несколькими дополнительными лекарственными средствами, выбранными из группы, состоящей из ингибиторов фосфодиэстеразы, циклических нуклеотидов (таких как цГМФ и цАМФ), слабительного средства (такого как сенна или метамуцил), смягчителя стула, лекарственных средств против IBD, направленных против фактора некроза опухоли альфа (таких как ремикейд, энбрел или хумира), и противовоспалительных лекарственных средств (таких как ингибиторы COX-2, сульфасалазин, производные 5-ASA и NSAID). В определенных вариантах осуществления, состав агониста GCS вводят в комбинации с эффективной дозой ингибитора цГМФ-специфической фосфодиэстеразы (цГМФ-PDE) либо одновременно, либо последовательно с указанным агонистом GCS. Ингибиторы цГМФ-PDE включают в себя, например, сулиндак-сульфон, запринаст, мотапизон, варденафил и силденафил. В другом варианте осуществления, состав агониста GCS вводят в комбинации с ингибиторами транспортеров циклических нуклеотидов.

Дополнительные примеры терапевтических средств, которые можно вводить в комбинации с составами агониста GCS по изобретению, приведены в следующих разделах.

##### 1.2.2.1. Средства для лечения злокачественных опухолей желудочно-кишечного тракта.

Составы агонистов GCS, описываемые в настоящем документе, можно использовать в комбинации с одним или несколькими противоопухолевыми средствами, включая, в качестве неограничивающих примеров, алкилирующие средства, эпиподофиллотоксины, нитрозомочевины, антитметаболиты, алкалоиды барвинка, антрациклиновые антибиотики, средства на основе азотистого иприта и т.п. Конкретные противоопухолевые средства включают в себя тамоксифен, таксол, этопозид и 5-фторурацил. В одном из вариантов осуществления, составы агонистов GCS используют в комбинации с противовирусным средством или моноклональным антителом.

Неограничивающие примеры противоопухолевых средств, которые можно использовать в комбинации с составами агонистов GCS по изобретению для лечения рака толстого кишечника, включают в себя антипролиферативные средства, средства для модификации или репарации ДНК, ингибиторы синтеза ДНК, регуляторы транскрипции ДНК/РНК, ингибиторы процессинга РНК, средства, влияющие на экспрессию, синтез и стабильность белка, средства, влияющие на локализацию белков или их способность проявлять их физиологическое действие, средства, мешающие взаимодействиям белок-белок или белок-нуклеиновая кислота, средства, действующие посредством РНК-интерференции, связывающие

рецептор молекулы любой химической природы (включая низкомолекулярные соединения и антитела), направленные токсины, активаторы ферментов, ингибиторы ферментов, регуляторы генов, ингибиторы HSP-90, молекулы, создающие помехи для микротрубочек или других компонентов цитоскелета, или для адгезии и подвижности клеток, средств для фототерапии и вспомогательные терапевтические средства.

Репрезентативные антипролиферативные средства включают в себя N-ацетил-D-сфингозин (C.sub.2 церамид), апигенин, хлорид берберина, динатриевую соль дихлорметиленидифосфоновой кислоты, алоэ-эмодин, эмодин, HA 14-1, N-гексаноил-D-сфингозин (C.sub.6 церамид), 7 $\beta$ -гидроксихолестерин, 25-гидроксихолестерин, гиперфорин, партенолид и рапамицин. Репрезентативные средства для модификации и репарации ДНК включают в себя афидиколин, сульфат блеомицина, карбоплатин, кармустин, хлорамбуцил, моногидрат циклофосамида, моногидрат циклофосфамида ISOPAC.RTM., дихлорид цисдиаминоплатины (II) (цисплатин), эскулетин, мелфалан, гидрохлорид метоксиамина, митомицин C, дигидрохлорид митоксантрона, оксалиплатин и стрептозоцин.

Репрезентативные ингибиторы синтеза ДНК включают в себя (+-)аметоптерин(метотрексат), 1,4-диоксид 3-амино-1,2,4-бензотриазина, аминоптерин, цитозин-b-D-арабинофуранозид (Ara-C), гидрохлорид цитозин-b-D-арабинофуранозид (Ara-C), 2-фтораденин-9-b-D-арабинофуранозид (дез-фосфат флу-дарабина; F-ара-A), 5-фтор-5'-дезоксисуридин, 5-фторурацил, ганцикловир, гидроксимочевину, 6-меркаптопурин и 6-тиогуанин.

Репрезентативные регуляторы транскрипции ДНК/РНК включают в себя актиномицин D, гидрохлорид даунорубицина, 5,6-дихлорбензимидазол-1-b-D-рибофуранозид, гидрохлорид доксорубицина, гомогаррингтонин и гидрохлорид идарубицина.

Репрезентативные активаторы и ингибиторы ферментов включают в себя форсколин, DL-аминоглутетимид, апицидин, ингибитор Бовмана-Бирка, бутеин, (S)-(+)-камптотecin, куркумин, (-)-дегуелин, (-)-депудецин, гиклат доксициклина, этопозид, форместан, натриевую соль фостриецина, гиспидин, 2-имино-1-имидазолдинуксусную кислоту (циклокреатин), оксамфлатин, 4-фенилмасляную кислоту, росковитин, вальпроат натрия, трихостатин А, тирфостин AG 34, тирфостин AG 879, фрагмент ингибитора трипсина мочи, вальпроевую кислоту (2-пропилпентановую кислоту) и ХК469.

Репрезентативные регуляторы генов включают в себя 5-аза-2'-дезоксцитидин, 5-азацитидин, хлоркальциферол (витамин D3), циглитизон, ацетат ципротерона, 15-дезоксид-D.sup.12,14-простагландин J.sub.2, эпитестостерон, флутамид, аммонийную соль глицирризиновой кислоты (глицирризин), 4-гидрокситамоксифен, мифепристон, гидрохлорид прокаинамида, гидрохлорид ралоксифена, полностью-транс-ретинол (альдегид витамина А), ретиноевую кислоту (кислый витамин А), 9-цис-ретиноевую кислоту, 13-цис-ретиноевую кислоту, п-гидроксианилид ретиноевой кислоты, ретинол (витамин А), тамоксифен, тамоксифеновую соль лимонной кислоты, тетрадецилтиоуксусную кислоту и троглитазон.

Репрезентативные ингибиторы HSP-90 включают в себя 17-(аллиламино)-17-деметоксигелданамицин и гелданамицин.

Репрезентативные ингибиторы микротрубочек включают в себя колхицины, доластатин 15, нокодазол, таксаны и в частности, паклитаксел, подофиллотоксин, ризоксин, соль сульфат винбластина, соль сульфат винкристина и соль сульфат виндезина и соль дитаратрат винорелбина (навельбин).

Репрезентативные средства для проведения фототерапии включают в себя фотоактивные порфириновые кольца, гиперидин, 5-метоксипсорален, 8-метоксипсорален, псорален и урсодезоксихолевую кислоту.

Репрезентативные средства, используемые в качестве вспомогательных лекарственных средств, включают в себя амифостин, 4-амино-1,8-нафталимид, брэфелдин А, циметидин, динатриевую соль фосфомицина, соль ацетат леупролида (лейпрорелин), соль ацетат гормона, высвобождающего лютеинизирующий гормон (LH-RH), лектин, гидрохлорид папаверина, пифитрин-а, гидробромид (-)-скополамина и тапсигаргин.

Средства могут также представлять собой средства против VEGF (фактора роста эндотелия сосудов), такие, как известны в данной области. В настоящее время проходят клинические испытания или одобрены несколько антител и низкомолекулярных соединений, функционирующих посредством ингибирования VEGF, такие как авастин (бевацизумаб), SU5416, SU11248 и BAY 43-9006. Средства могут также являться нацеленными против рецепторов фактора роста, таких как рецепторы семейства EGF/ErbB, например, рецептор EGF (пресса или gefитиниб, и тарцева или эрлотиниб), рецептор ErbB2 (герцептин или трастузумаб), другие рецепторы (например, ритуксимаб или ритуксан/мабтера), тирозинкиназы, нерецепторные тирозинкиназы, клеточные серии/треонинкиназы (включая MAP-киназы), и различные другие белки, нарушение регуляции которых вносит вклад в онкогенез (например, малые G-белки/семейства Ras и большие/гетеротримерные G-белки). Несколько антител и низкомолекулярных соединений, нацеленных на эти молекулы, в настоящее время находятся на различных стадиях разработки (включая одобренные для лечения или для клинических испытаний). В предпочтительном варианте осуществления, изобретение относится к способу лечения рака толстого кишечника у нуждающегося в этом субъекта посредством введения субъекту состава агониста GCS в комбинации с одним или несколькими противоопухолевыми средствами, выбранными из группы, состоящей из паклитаксела, доцетаксела, тамоксифена, винорелбина, гемцитабина, цисплатина, этопозиды, топотекана, иринотекана, ана-

строзола, ритуксимаба, трастузумаба, флударабина, циклофосфида, гентузумаба, карбоплатина, интерферонов и доксорубицина. В конкретном варианте осуществления противоопухолевое средство представляет собой паклитаксел. В дополнительном варианте осуществления, способ дополнительно включает в себя противоопухолевое средство, выбранное из группы, состоящей из 5-FU, доксорубицина, винорелбина, цитоксана и цисплатина.

#### 1.2.2.2. Средства для лечения болезни Крона.

В одном из вариантов осуществления, состав агониста GCS по изобретению вводят в качестве части комбинированной терапии с одним или несколькими дополнительными лекарственными средствами для лечения болезни Крона. Неограничивающие примеры одного или нескольких дополнительных лекарственных средств включают в себя сульфасалазин и другие содержащие месаламин лекарственные средства, в общем известные как средства 5-ASA, такие как асакол, дипентум или пентаза, или инфликсимаб (ремикейд). В определенных вариантах осуществления, одно или несколько дополнительных средств представляют собой кортикостероид или иммуносупрессирующее средство, такое как 6-меркаптопурин или азатиоприн. В другом варианте осуществления, одно или несколько дополнительных средств представляют собой средство против диареи, такое как дифеноксилат, лоперамид или кодеин.

#### 1.2.2.3. Средства для лечения язвенного колита.

В одном из вариантов осуществления, состав агониста GCS по изобретению вводят в качестве части комбинированной терапии с одним или несколькими дополнительными лекарственными средствами для лечения язвенного колита. Средства, используемые для лечения язвенного колита, перекрываются со средствами для лечения болезни Крона. Неограничивающие примеры одного или нескольких дополнительных лекарственных средств, которые можно использовать в комбинации с составом агониста GCS по изобретению, включают в себя аминосалицилаты (лекарственные средства, содержащие 5-аминосалициловую кислоту (5-ASA)), такие как сульфасалазин, олсалазин, месаламин и балсалазид. Другие лекарственные средства, которые можно использовать, включают в себя кортикостероиды, такие как преднизон и гидрокортизон, иммуномодуляторы, такие как азатиоприн, 6-меркаптопурин (6-MP), цитокины, интерлейкины и лимфокины, и средства против TNF-альфа, включая тиазолидиндионы или глитазоны, такие как розиглитазон и пиоглитазон. В одном варианте осуществления, одно или несколько дополнительных лекарственных средств включают в себя как циклоспорин А, так и 6-MP или азатиоприн для лечения активного, тяжелого язвенного колита.

#### 1.2.2.4. Средства для лечения констипации/синдрома раздраженного кишечника.

В одном из вариантов осуществления, состав агониста GCS по изобретению вводят в качестве части комбинированной терапии с одним или несколькими дополнительными лекарственными средствами для лечения констипации, такой как констипация, ассоциированная с синдромом раздраженного кишечника. Неограничивающие примеры одного или нескольких дополнительных лекарственных средств включают в себя слабительные средства, такие как сенна, миралакс, лактулоза, PEG или поликарбофил кальция), смягчитель стула (такой как минеральное масло или колас), наполнители (такие как метамуцил или отруби), такие средства, как зелнорм (называемый также тегасерод) и антихолинергические лекарственные средства, такие как бентил и левсин.

#### 1.2.2.5. Средства для лечения послеоперационного илеуса.

В одном из вариантов осуществления, состав агониста GCS по изобретению вводят в качестве части комбинированной терапии с одним или несколькими дополнительными лекарственными средствами для лечения послеоперационного илеуса.

Неограничивающие примеры одного или нескольких дополнительных лекарственных средств включают в себя энтерег (алвимопан; ранее называемый адолор/ADL 8-2698), конивапан и родственные средства, описанные в US6645959.

#### 1.2.2.6. Средства против ожирения.

В одном из вариантов осуществления, состав агониста GCS по изобретению вводят в качестве части комбинированной терапии с одним или несколькими дополнительными лекарственными средствами для лечения ожирения. Неограничивающие примеры одного или нескольких дополнительных лекарственных средств включают в себя ингибиторы 11 $\beta$  HSD-I (11-бета-гидроксистероиддегидрогеназы типа 1), такие как BVT 3498, BVT 2733, 3-(1-адамантил)-4-этил-5-(этилтио)-4Н-1,2, 4-триазол, 3-(1-адамантил)-5-(3,4,5-триметоксифенил)-4-метил-4Н-1,2,4-триазол, 3-адамантил-4,5,6,7,8,9,10,11,12,3а-декагидро-1,2,4-триазоло[4,3-а][11] аннулен и соединения, описанные в WO01/90091, WO01/90090, WO01/90092 и WO02/072084; антагонисты 5HT, такие как антагонисты в WO03/037871, WO03/037887 и т.п.; модуляторы 5HT $\alpha$ , такие как карбидопа, бенсеразид и модуляторы, описанные в US6207699, WO03/031439, и т.п.; агонисты 5HT $2c$  (рецептора серотонина 2c), такие как BVT933, DPCA37215, IK264, PNU 22394, WAY161503, R-1065, SB 243213 (Glaxo Smith Kline) и YM 348, и агонисты, описанные в US3914250, WO00/77010, WO02/36596, WO02/48124, WO02/10169, WO01/66548, WO02/44152, WO02/51844, WO02/40456 и WO02/40457; модуляторы рецептора 5HT $6$ , такие как модуляторы в WO03/030901, WO03/035061, WO03/039547, и т.п.; ацилэстрогены, такие как олеоилэстрон, описанный в del Mar-Grasa, M. et al, Obesity Research, 9:202-9 (2001) и в патентной заявке Японии No. JP 2000256190; анорексигенные бициклические соединения, такие как 1426 (Aventis) и 1954 (Aventis) и соединения, опи-



санные в WO00/18749, WO01/32638, WO01/62746, WO01/62747 и WO03/015769; антагонисты/обратные агонисты CB 1 (рецептора каннабиноида-1), такие как римонабант (Acomplia; Sanofi), SR-147778 (Sanofi), SR-141716 (Sanofi), BAY 65-2520 (Bayer) и SLV 319 (Solvay) и описанные в патентных публикациях US4973587, US5013837, US5081122, US5112820, US5292736, US5532237, US5624941, US6028084, US6509367, US6509367, WO96/33159, WO97/29079, WO98/31227, WO98/33765, WO98/37061, WO98/41519, WO98/43635, WO98/43636, WO99/02499, WO00/10967, WO00/10968, WO01/09120, WO01/58869, WO01/64632, WO01/64633, WO01/64634, WO01/70700, WO01/96330, WO02/076949, WO03/006007, WO03/007887, WO03/020217, WO03/026647, WO03/026648, WO03/027069, WO03/027076, WO03/027114, WO03/037332, WO03/040107, WO03/086940, WO03/084943 и EP658546; агонисты ССК-А (холицистокинина-А), такие как AR-R 15849, GI 181771 (GSK), JMV-180, A-71378, A-71623 и SR146131 (Sanofi), и описанные в US5739106; CNTF (цилиарные нейротрофические факторы), такие как GI-181771 (Glaxo-SmithKline), SR1 46131 (Sanofi Synthelabo), бутабиндид, PD 170292 и PD 149164 (Pfizer); производные CNTF, такие как Ахокине® (Regeneron), и описанные в WO94/09134, WO98/22128 и WO99/43813; ингибиторы дипептидилпептидазы IV (DP-IV), такие как тиазолонид изолейцина, пирролидид валина, NVP-DPP728, LAF237, P93/01, P 3298, TSL 225 (триптофил-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-3-карбоновая кислота; описанная Yamada et al, Bioorg. & Med. Chem. Lett. 8 (1998) 1537-1540), TMC-2A/2B/2C, ингибиторы CD26, FE 999011, P9310/K364, VIP 0177, SDZ 274-444, 2-цианопирролидины и 4-цианопирролидины, такие как описанные в Ashworth et al, Bioorg. & Med. Chem. Lett., Vol. 6, No. 22, pp 1163-1166 и 2745-2748 (1996) и соединения, описанные в патентных публикациях. WO99/38501, WO99/46272, WO99/67279 (Probiobdrug), WO99/67278 (Probiobdrug), WO99/61431 (Probiobdrug), WO02/083128, WO02/062764, WO03/000180, WO03/000181, WO03/000250, WO03/002530, WO03/002531, WO03/002553, WO03/002593, WO03/004498, WO03/004496, WO03/017936, WO03/024942, WO03/024965, WO03/033524, WO03/037327 и EP1258476; агонисты/антагонисты рецептора средства, усиливающего секрецию гормона роста, такие как NN703, гексарелин, МК-0677 (Merck), SM-130686, CP-424391 (Pfizer), LY 444,711 (Eli Lilly), L-692,429 и L-163,255, и такие как описанные в USSN 09/662448, предварительной патентной заявке США 60/203335, US6358951, US2002049196, US2002/022637, WO01/56592 и WO02/32888; антагонисты/обратные агонисты H3 (гистамина H3), такие как тиоперамид, 3-(1H-имидазол-4-ил)пропил N-(4-пентенил)карбамат, клобенпропит, иодофенпропит, имопроксифан, GT2394 (Gliatech) и A331440, O-[3-(1H-имидазол-4-ил)пропанол]карбаматы (Kiec-Kononowicz, K. et al., Pharmazie, 55:349-55 (2000)), содержащие антагонисты рецептора гистамина H3 (Lazewska, D. et al., Pharmazie, 56:927-32 (2001)), производные бензофенона и родственные соединения (Sasse, A. et al., Arch. Pharm. (Weinheim) 334:45-52 (2001)), замещенные N-фенилкарбаматы (Reidemeister, S. et al., Pharmazie, 55:83-6 (2000)) и производные проксифана (Sasse, A. et al., J. Med. Chem. 43:3335-43 (2000)) и модуляторы рецептора гистамина H3, такие как описанные в WO02/15905, WO03/024928 и WO03/024929; производные лептина, такие как описанные в US5552524, US5552523, US5552522, US5521283, WO96/23513, WO96/23514, WO96/23515, WO96/23516, WO96/23517, WO96/23518, WO96/23519 и WO96/23520; лептин, включая рекомбинантный человеческий лептин (PEG-OB, Hoffman La Roche) и рекомбинантный человеческий метионил-лептин (Amgen); ингибиторы липазы, такие как тетрагидролипастатин (орлистат/Xenical®), Triton WR1339, RHC80267, липостатин, тисапонин, фосфат диэтилумбеллиферила, FL-386, WAY-121898, Bay-N-3176, валилактон, эстерацин, эбелактон А, эбелактон В и RHC 80267, и описанные в патентных публикациях WO01/77094, US4598089, US4452813, US5512565, US5391571, US5602151, US4405644, US4189438 и US4242453; модуляторы метаболизма липидов, такие как маслянистая кислота, эритродиоол, урсоловая кислота, уваол, бетулиновая кислота, бетулин и т.п., и соединения, описанные в WO03/011267; агонисты Mc4r (рецептора меланокортина 4), такие как CHIR86036 (Chiron), ME-10142, ME-10145 и HS-131 (Melacure), и описанные в публикациях PCT No. WO99/64002, WO00/74679, WO01/991752, WO01/25192, WO01/52880, WO01/74844, WO01/70708, WO01/70337, WO01/91752, WO02/059095, WO02/059107, WO02/059108, WO02/059117, WO02/06276, WO02/12166, WO02/11715, WO02/12178, WO02/15909, WO02/38544, WO02/068387, WO02/068388, WO02/067869, WO02/081430, WO03/06604, WO03/007949, WO03/009847, WO03/009850, WO03/013509 и WO03/031410; модуляторы Mc5r (рецептора меланокортина 5), такие как описанные в WO97/19952, WO00/15826, WO00/15790, US20030092041; антагонисты рецептора меланинконцентрирующего гормона 1 (MCHR), такие как T-226296 (Takeda), SB 568849, SNP-7941 (Synaptic) и описанные в патентных публикациях WO01/21169, WO01/82925, WO01/87834, WO02/051809, WO02/06245, WO02/076929, WO02/076947, WO02/04433, WO02/51809, WO02/083134, WO02/094799, WO03/004027, WO03/13574, WO03/15769, WO03/028641, WO03/035624, WO03/033476, WO03/033480, JP13226269 и JP1437059; модуляторы mGluR5, такие как описанные в WO03/029210, WO03/047581, WO03/048137, WO03/051315, WO03/051833, WO03/053922, WO03/059904, и т.п.; серотонинэргические средства, такие как фенфлурамин (такие как Pondimin® (гидрохлорид N-этил-альфа-метил-3-(трифторметил)бензолэтанамин), Robbins), дексфенфлурамин (такой как Redux® (гидрохлорид N-этил-альфа-метил-3-(трифторметил)бензолэтанамин), Interneuron) и сибутамин ((Meridia®, Knoll/Reductil™), включая рацемические смеси, а также оптически чистые изомеры (+) и (-) и их фармацевтически приемлемые соли,

растворители, гидраты, клатраты и пролекарства, включая их соли моногидрата гидрохлорида сибутрамина и соединения, описанные в US4746680, US4806570, и US5436272, US20020006964, WO01/27068, и WO01/62341; ингибиторы транспорта NE (норэпинефрина), такие как GW 320659, деспирамин, талсупрам и номифенсин; антагонисты NPY 1, такие как BIBP3226, J-115814, BIBO 3304, LY-357897, CP-671906, GI-264879A и описанные в US6001836, WO96/14307, WO01/23387, WO99/51600, WO01/85690, WO01/85098, WO01/85173, и WO01/89528; антагонисты NPY5 (нейропептида Y Y5), такие как 152,804, GW-569180A, GW-594884A, GW-587081X, GW-548118X, FR235208, FR226928, FR240662, FR252384, 1229U91, GI-264879A, CGP71683A, LY-377897, LY-366377, PD-160170, SR-120562A, SR-120819A, JCF-104 и H409/22, и соединения, описанные в патентных публикациях US6140354, US6191160, US6218408, US6258837, US6313298, US6326375, US6329395, US6335345, US6337332, US6329395, US6340683, EP01010691, EP-01044970, WO97/19682, WO97/20820, WO97/20821, WO97/20822, WO97/20823, WO98/27063, WO00/107409, WO00/185714, WO00/185730, WO00/64880, WO00/68197, WO00/69849, WO01/113917, WO01/09120, WO01/14376, WO01/85714, WO01/85730, WO01/07409, WO01/02379, WO01/23388, WO01/23389, W00 1/44201, WO01/62737, WO01/62738, WO01/09120, WO02/20488, WO02/22592, WO02/48152, WO02/49648, WO02/051806, WO02/094789, WO03/009845, WO03/014083, WO03/022849, WO03/028726 и Norman et al, J. Med. Chem. 43:4288-4312 (2000); антагонисты опиоидов, такие как налмефен (REVEX®), 3-метоксиналтрексон, метилналтрексон, налоксон и налтрексон (например, PT901; Pain Therapeutics, Inc.) и описанные в US20050004155 и WO00/21509; антагонисты орексина, такие как SB-334867-A и описанные в патентных публикациях WO01/96302, WO01/68609, WO02/44172, WO02/51232, WO02/51838, WO02/089800, WO02/090355, WO03/023561, WO03/032991 и WO03/037847; ингибиторы PDE (например, соединения, замедляющие деградацию циклического АМФ (цАМФ) и/или циклического ГМФ (цГМФ) посредством ингибирования фосфодиэстераз, что может приводить к относительному повышению внутриклеточной концентрации цАМФ и цГМФ; возможными ингибиторами PDE являются в первую очередь соединения, перечисленные как члены класса, состоящего из ингибиторов PDE3, класса, состоящего из ингибиторов PDE4, и/или класса, состоящего из ингибиторов PDE5, в частности вещества, которые можно обозначать как ингибиторы смешанных типов PDE3/4 или как ингибиторы смешанных типов PDE3/4/5) такие как описанные в патентных публикациях DE1470341, DE2108438, DE2123328, DE2305339, DE2305575, DE2315801, DE2402908, DE2413935, DE2451417, DE2459090, DE2646469, DE2727481, DE2825048, DE2837161, DE2845220, DE2847621, DE2934747, DE3021792, DE3038166, DE3044568, EP000718, EP0008408, EP0010759, EP0059948, EP0075436, EP0096517, EP0112987, EP0116948, EP0150937, EP0158380, EP0161632, EP0161918, EP0167121, EP0199127, EP0220044, EP0247725, EP0258191, EP0272910, EP0272914, EP0294647, EP0300726, EP0335386, EP0357788, EP0389282, EP0406958, EP0426180, EP0428302, EP0435811, EP0470805, EP0482208, EP0490823, EP0506194, EP0511865, EP0527117, EP0626939, EP0664289, EP0671389, EP0685474, EP0685475, EP0685479, JP92234389, JP94329652, JP95010875, US4963561, US5141931, WO9117991, WO9200968, WO9212961, WO9307146, WO9315044, WO9315045, WO9318024, WO9319068, WO9319720, WO9319747, WO9319749, WO9319751, WO9325517, WO9402465, WO9406423, WO9412461, WO9420455, WO9422852, WO9425437, WO9427947, WO9500516, WO9501980, WO9503794, WO9504045, WO9504046, WO9505386, WO9508534, WO9509623, WO9509624, WO9509627, WO9509836, WO9514667, WO9514680, WO9514681, WO9517392, WO9517399, WO9519362, WO9522520, WO9524381, WO9527692, WO9528926, WO9535281, WO9535282, WO9600218, WO9601825, WO9602541, WO9611917, DE3142982, DE1116676, DE2162096, EP0293063, EP0463756, EP0482208, EP0579496, EP0667345 US6331543, US20050004222 (включая описанные в формулах I-XIII и параграфах 37-39, 85-0545 и 557-577), WO9307124, EP0163965, EP0393500, EP0510562, EP0553174, WO9501338 и WO9603399, а также ингибиторы PDE5 (такие как RX-RA-69, SCH-51866, KT-734, веснаринон, запринаст, SKF-96231, ER-21355, BF/GP-385, NM-702 и силденафил (Viagra™)), ингибиторы PDE4 (такие как этазолат, ICI63197, RP73401, имазолидинон (RO-20-1724), MEM 1414 (R1533/R1500; Pharmacia Roche), денбуфиллин, ролипрам, оксагрелат, нитраквазон, Y-590, DH-6471, SKF-94120, мотапизон, ликсазинон, индолидан, олпринон, атизорам, KS-506-G, дипамфиллин, BMY-43351, атизорам, арофиллин, филиминаст, PDB-093, UCB-29646, CDP-840, SKF-107806, пикламиласт, RS-17597, RS-25344-000, SB-207499, тибенеласт, SB-210667, SB-211572, SB-211600, SB-212066, SB-212179, GW-3600, CDP-840, мопидамол, анагрелид, ибудиласт, амринон, пимобендан, цилостазол, квазинон и N-(3,5-дихлорпирид-4-ил)-3-циклопропилметокси-4-дифторметоксибензамид, ингибиторы PDE3 (такие как ICI153, 100, беморандан (RWJ 22867), MCI-154, UD-CG 212, сульмазол, ампизон, цилостамид, карбазеран, пироксимон, имазодан, CI-930, сиквазодан, адибендан, сатеринон, SKF-95654, SDZ-MKS-492, 349-U-85, эморадан, EMD-53998, EMD-57033, NSP-306, NSP-307, ревизинон, NM-702, WIN-62582 и WIN-63291, эноксимон и милринон, ингибиторы PDE3/4 (такие как бенафентрин, треквинсин, ORG-30029, зардаверин, L-686398, SDZ-ISQ-844, ORG-20241, EMD-54622 и толафентрин) и другие ингибиторы PDE (такие как винпоцетин, папаверин, энпрофиллин, циломиласт, феноксимон, пентоксифиллин, рофлумиласт, тадалафил (Cialis®), теофиллин и варденафил (Levitra®)); агонисты нейропептида Y2 (NPY2) включают в себя, в качестве неограничивающих примеров: полипептид YY и его фрагменты и варианты (например, YY3-36 (PYY3-36) (N. Engl. J. Med.

349:941, 2003; KPEAPGE DASPEELNRY YASLRHYLNL VTRQRY (SEQ ID NO:XXX)), и агонисты PYY, такие как описанные в WO02/47712, WO03/026591, WO03/057235 и WO03/027637; ингибиторы обратного захвата серотонина, такие как пароксетин, флуоксетин (Prozac™), флувоксамин, сертралин, циталопрам и имипрамин, и описанные в US6162805, US6365633, WO03/00663, WO01/27060, и WO01/162341; агонисты тиреоидного гормона  $\beta$ , такие как KB-2611 (KaroBioBMS) и описанные в WO02/15845, WO97/21993, WO99/00353, GB98/284425, Предварительной заявке США No. 60/183223, и Патентной заявке Японии No. JP 2000256190; активаторы UCP-1 (разобщающего белка-1), 2, или 3, такие как фитановая кислота, 4-[(E)-2-(5,6,7,8-тетрагидро-5,5,8,8-тетраметил-2-нафталенил)-1-пропенил]бензойная кислота (TTNPB), ретиноевая кислота и описанные в WO99/00123; агонисты  $\beta$ 3 (бета-адренергического рецептора 3), такие как AJ9677/ТАК677 (Dainippon/Takeda), L750355 (Merck), CP331648 (Pfizer), CL-316,243, SB 418790, BRL-37344, L-796568, BMS-196085, BRL-35135A, CGP12177A, BTA-243, GW 427353, трекадрин, зенека D7114, N-5984 (Nisshin Kyorin), LY-377604 (Lilly), SR 59119A и описанные в US5541204, US5770615, US5491134, US5776983, US488064, US5705515, US5451677, WO94/18161, WO95/29159, WO97/46556, WO98/04526 и WO98/32753, WO01/74782, WO02/32897, WO03/014113, WO03/016276, WO03/016307, WO03/024948, WO03/024953 и WO03/037881; норадренергические средства, включая в качестве неограничивающих примеров, диэтилпропион (такой как Tenuate® (1-пропанон, 2-(диэтиламино)-1-фенилгидрохлорид), Merrell), декстроамфетамин (известный также как сульфат декстроамфетамина, дексамфетамин, декседрин, дексампекс, ферндекс, оксидесс II, робес, спанкап #1), мазиндол ((или 5-(п-хлорфенил)-2,5-дигидро-3H-имидазо[2,1-a]изоиндол-5-ол), такой как Sanorex®, Novartis или Mazanor®, Wyeth Ayerst), фенилпропаноламин (или гидрохлорид альфа-(1-аминоэтил)бензолметанола), фентермин ((или моногидрохлорид 3-[[4,5-дигидро-1H-имидазол-2-ил)этил](4-метилфенил)амино]фенола, такой как Adipex-P®, Lemmon, FASTIN®, Smith-Kline Beecham и Ionamin®, Medeva), фендиметразин ((или L-(+)-тарtrat (2S,3S)-3,4-диметил-2-фенилморфолина (1:1)), такой как Metra® (Forest), Plegine® (Wyeth-Ayerst), Prelu-2® (Boehringer Ingelheim), и Statobex® (Lemmon), тарtrat фендамина (такой как Thephorin® (L-(+)-тарtrat 2,3,4,9-тетрагидро-2-метил-9-фенил-1H-инденол[2,1-e]пиридина (1:1)), Hoffmann-LaRoche), метамфетамин (такой как Desoxyn®, Abbot (гидрохлорид (S)-N, (альфа)-диметилбензолэтанамин)), и тарtrat фендиметразина (такой как капсулы с замедленным высвобождением Bontril®, амарин (тарtrat 3,4-диметил-2-фенилморфолина); повышающие регуляторы/индукторы окисления жирных кислот, FamoXin® (Genset); ингибиторы моноаминоксидазы, включая, в качестве неограничивающих примеров, бифлоксатон, моклобемид, брофароамин, феноксатин, эсупрон, бефол, толосактон, пирлиндол, амифламин, серкларемин, базинаприн, лазабемид, милацемид, кароксазон и другие конкретные соединения, как описано в WO01/12176; и другие средства против ожирения, такие как агонисты 5HT-2, ингибиторы ACC (ацетил-СоА карбоксилазы), такие как описанные в WO03/072197, альфа-липовая кислота (альфа-LA), AOD9604, подавляющие аппетит средства, такие как в WO03/40107, ATL-962 (Alizyme PLC), бензокаин, гидрохлорид бензфетамина (Didrex), ламинария (focus vesiculosus), BRS3 (рецептор бомбезина подтипа 3) агонисты, бупропион, кофеин, агонисты ССК, хитозан, хром, конъюгированная линолевая кислота, агонисты высвобождающего кортикотропин гормона, дегидроэпиандростерон, DGAT1 (диацилглицерин ацилтрансфераза 1) ингибиторы, ингибиторы DGAT2 (диацилглицеринацилтрансферазы 2), ингибиторы транспортера дикарбоксила, эфедра, ингибиторы экзендина-4 (ингибитор glp-1), FAS (синтазы жирных кислот) (такие как церуленин и C75), ингибиторы ресорбции жиров (такие как в WO03/053451, и т.п.), ингибиторы транспортеров жирных кислот, природные водорастворимые волокна (такие как псилиум, подорожник, гуар, овес, пектин), антагонисты галанина, галега (козлятник лекарственный, французская сирень), гарциния камбоджская, дубровник (teucri mkm chamaedrys), антитела против грелина и антагонисты грелина (такие как описанные в WO01/87335 и WO02/08250), полипептидные гормоны и их варианты, влияющие на секрецию из островковых клеток, такие как гормоны из семейства генов секретина/желудочного ингибиторного полипептида (GIP)/вазоактивного полипептида кишечника (VIP)/активирующего аденилатциклазу гипофиза полипептида (PACAP)/глюкагоноподобного полипептида II (GLP-II)/глицентина/глюкагона и/или из семейства генов адреномедуллина/амилиана/родственного кальцитонину полипептида (CGRP) GLP-1, включая агонисты (глюкагоноподобного полипептида 1) (например, (1) экзендин-4, (2) молекулы GLP-1, описанные в US20050130891, включая GLP-1(7-34), GLP-1(7-35), GLP-1(7-36) или GLP-1(7-37) в их карбоксилированных или амидированных по С-концу формах или в форме модифицированных полипептидов GLP-1 и их модификаций, включая описанные в параграфах 17-44 US20050130891, и используют производные, полученные из GLP-1-(7-34)COOH и соответствующего амида кислоты, обладающие следующей общей формулой: R-NH-NAEGTFTSDVSYLEGQAAKEFIAWLVK-CONH<sub>2</sub>, где R=H или органическое соединение, обладающее от 1 до 10 атомов углерода. Предпочтительно, R представляет собой остаток карбоновой кислоты. Особенно предпочтительными являются следующие остатки карбоновых кислот: формил, ацетил, пропионил, изопропионил, метил, этил, пропил, изопропил, n-бутил, втор-бутил, трет-бутил.) и glp-1 (глюкагоноподобный полипептид-1), антагонисты глюкостероидов, ингибиторы транспортеров глюкозы, средства, усиливающие секрецию гормонов роста (такие как раскрыты и конкретно описаны в US5536716), интерлейкин-6 (IL-6) и его модуляторы (как в WO03/057237 и т.п.), L-карнитин, агонисты

Mc3r (рецептора меланокортина 3), агонист/антагонисты MCH2R (меланин-концентрирующего гормона 2R), антагонисты меланин-концентрирующего гормона, агонисты меланокортина (такие как меланотан II или описанные в WO99/64002 и WO00/74679), *potamo herba*, ингибиторы транспортеров фосфата, растительный лекарственный препарат 57 (CP 644,673), пируват, ингибиторы SCD-1 (стеароил-СоА десатуразы-1), T71 (Tularik, Inc., Boulder CO), топирамат (Topimax®, описанный как противосудорожное средство, которое, как показано, способно повышать потерю массы), модуляторы факторов транскрипции (такие как описанные в WO03/026576), ингибиторы  $\beta$ -гидроксистероиддегидрогеназы-1 ( $\beta$ -HSD-I),  $\beta$ -гидрокси- $\beta$ -метилбутират, p57 (Pfizer), зонизамид (Zonegran™, описан как противозпилептическое средство, которое, как показано, способно вызывать потерю массы) и средства, описанные в US20030119428, параграфы 20-26.

#### 1.2.2.7. Ингибиторы фосфодиэстеразы.

В конкретных вариантах осуществления, режим комбинированной терапии включает в себя введение одного или нескольких ингибиторов фосфодиэстеразы ("PDE"). Ингибиторы PDE замедляют деградацию циклического АМФ (цАМФ) и/или циклического ГМФ (цГМФ) посредством ингибирования фосфодиэстераз, что может приводить к относительному увеличению внутриклеточной концентрации цАМФ и/или цГМФ. Неограничивающие примеры ингибиторов PDE, которые можно использовать в комбинации с агонистами GCC по изобретению, включают в себя ингибиторы PDE3, ингибиторы PDE4 и/или ингибиторы PDE5, в частности вещества, которые можно обозначать как ингибиторы смешанных типов PDE3/4 или как ингибиторы смешанных типов PDE3/4/5. Неограничивающие примеры таких ингибиторов PDE описаны в следующих патентных заявках и патентах: DE1470341, DE2108438, DE2123328, DE2305339, DE2305575, DE2315801, DE2402908, DE2413935, DE2451417, DE2459090, DE2646469, DE2727481, DE2825048, DE2837161, DE2845220, DE2847621, DE2934747, DE3021792, DE3038166, DE3044568, EP000718, EP0008408, EP0010759, EP0059948, EP0075436, EP0096517, EP0112987, EP0116948, EP0150937, EP0158380, EP0161632, EP0161918, EP0167121, EP0199127, EP0220044, EP0247725, EP0258191, EP0272910, EP0272914, EP0294647, EP0300726, EP0335386, EP0357788, EP0389282, EP0406958, EP0426180, EP0428302, EP0435811, EP0470805, EP0482208, EP0490823, EP0506194, EP0511865, EP0527117, EP0626939, EP0664289, EP0671389, EP0685474, EP0685475, EP0685479, JP92234389, JP94329652, JP95010875, Патентах США No. 4963561, 5141931, WO9117991, WO9200968, WO9212961, WO9307146, WO9315044, WO9315045, WO9318024, WO9319068, WO9319720, WO9319747, WO9319749, WO9319751, WO9325517, WO9402465, WO9406423, WO9412461, WO9420455, WO9422852, WO9425437, WO9427947, WO9500516, WO9501980, WO9503794, WO9504045, WO9504046, WO9505386, WO9508534, WO9509623, WO9509624, WO9509627, WO9509836, WO9514667, WO9514680, WO9514681, WO9517392, WO9517399, WO9519362, WO9522520, WO9524381, WO9527692, WO9528926, WO9535281, WO9535282, WO9600218, WO9601825, WO9602541, WO9611917, DE3142982, DE1116676, DE2162096, EP0293063, EP0463756, EP0482208, EP0579496, EP0667345 US6331543, US20050004222 (включая описанные в формулах I-XIII и параграфах 37-39, 85-0545 и 557-577) и WO9307124, EP0163965, EP0393500, EP0510562, EP0553174, WO9501338 и WO9603399. Ингибиторы PDE5, которые можно упомянуть в качестве примера, представляют собой RX-RA-69, SCH-51866, KT-734, веснаринон, запринаст, SKF-96231, ER-21355, BF/GP-385, NM-702 и силденафил (Viagra®). Ингибиторы PDE4, которые можно упомянуть в качестве примера, представляют собой RO-20-1724, MEM 1414 (R1533/R1500; Pharmacia Roche), денбуфиллин, ролипрам, оксагрелат, нитраквазон, Y-590, DH-6471, SKF-94120, мотапизон, ликсазинон, индолидан, олпринон, атизорам, KS-50 6-G, DIPAMFYLLINE, BMY-43351, атизорам, арофиллин, филаминат, PDB-093, UCB-29646, CDP-840, SKF-107806, пикламиласт, RS-17597, RS-25344-000, SB-207499, тибенеласт, SB-210667, SB-211572, SB-211600, SB-212066, SB-212179, GW-3600, CDP-840, мопидамол, анагрелид, ибудиласт, амринон, пимобендан, цилостазол, квазинон и N-(3,5-дихлорпирид-4-ил)-3-циклопропилметокси-4-дифторметоксибензамид. Ингибиторы PDE3, которые можно упомянуть в качестве примера, представляют собой сульмазол, ампинон, цилостамид, карбазеран, пироксимон, имазодан, CI-930, сиквазодан, адибендан, сатеринон, SKF-95654, SDZ-MKS-492, 349-U-85, эморадан, EMD-53998, EMD-57033, NSP-306, NSP-307, REVIZINONE, NM-702, WIN-62582 и WIN-63291, эноксимон и милринон. Ингибиторы PDE3/4, которые можно упомянуть в качестве примера, представляют собой бенафентрин, треквинсин, ORG-30029, зардаверин, L-686398, SDZ-ISQ-844, ORG-20241, EMD-54622 и толафентрин. Другие ингибиторы PDE включают в себя: циломиласт, пентоксифиллин, рофлумиласт, тадалафил (Cialis®), теофиллин и варденафил (Levitra®), запринаст (специфический для PDE5 агонист GCC).

#### 1.2.2.8. Анальгетические средства.

В определенных вариантах осуществления, режим комбинированной терапии включает в себя введение одного или нескольких анальгетических средств, например, анальгетического соединения или анальгетического полипептида. В некоторых вариантах осуществления, состав агониста GCC вводят одновременно или последовательно с одним или несколькими анальгетическими средствами. В других вариантах осуществления, агонист GCC является ковалентно связанным или соединенным с анальгетическим средством для получения терапевтического конъюгата. Неограничивающие примеры анальгетиче-

ских средств, которые можно использовать, включают в себя блокаторы кальциевых каналов, антагонисты рецептора 5HT (например, антагонисты рецептора 5HT<sub>3</sub>, 5HT<sub>4</sub> и 5HT<sub>1</sub>), агонисты опиоидного рецептора (лоперамид, федотозин и фентанил), антагонисты рецептора NK<sub>1</sub>, агонисты рецептора ССК (например, локсиглумид), NK<sub>1</sub> антагонисты рецептора, антагонисты рецептора NK<sub>3</sub>, ингибиторы обратного захвата норэпинефрина-серотонина (NSRI), агонисты ваниллоидных и каннабиноидных рецепторов, и сиалорфин. Дополнительные примеры анальгетических средств различных классов известны в данной области.

В одном из вариантов осуществления, анальгетическое средство представляет собой анальгетический полипептид, выбранный из группы, состоящей из родственных сиалорфину полипептидов, включая полипептиды, содержащие аминокислотную последовательность QHNPR (SEQ ID NO: 239), включая: VQHNPR (SEQ ID NO: 240); VRQHNPR (SEQ ID NO: 241); VRGQHNPR (SEQ ID NO: 242); VRGPQHNPR (SEQ ID NO: 243); VRGPRQHNPR (SEQ ID NO: 244); VRGPRRQHNPR (SEQ ID NO: 245); и RQHNPR (SEQ ID NO: 246). Родственные сиалорфину полипептиды связывают неврилизин и ингибируют опосредованное неврилизином разрушение субстанции P и Met-энкефалина. Таким образом, соединения или полипептиды, являющиеся ингибиторами неврилизина, являются полезными анальгетическими средствами, которые можно вводить с агонистами GCC, описываемыми в настоящем документе или ковалентно связывать с агонистом GCC для получения терапевтического конъюгата. Сиалорфин и родственные полипептиды описаны в патенте США 6589750; US20030078200 A1; и WO02/051435 A2.

В другом варианте осуществления, состав агониста GCC по изобретению вводят в качестве части режима комбинированной терапии с антагонистом или агонистом опиоидного рецептора. В одном из вариантов осуществления, агонист GCC и антагонист или агонист опиоидного рецептора связывают посредством ковалентной связи. Неограничивающие примеры антагонистов опиоидных рецепторов включают в себя налоксон, налтрексон, метилналозон, налмефен, ципридим, бета-фуналтрексамин, налоксоназин, налтриндол, нор-биналторфимин, пентапептид энкефалин (HOE825; Tyr-D-Lys-Gly-Phe-L-гомосерин), тримебутин, вазоактивный полипептид кишечника, гастрин, глюкагоны. Неограничивающие примеры агонистов опиоидных рецепторов включают в себя федотозин, асимадолин и кетоциклозоцин, соединения, описанные в WO03/097051 и WO05/007626, морфин, дифенилосилат, фракефамид (H-Tyr-D-Ala-Phe(F)-Phe-NH<sub>2</sub>; WO01/019849 A1) и лоперамид.

Дополнительные неограничивающие примеры анальгетических средств, которые можно использовать в режиме комбинированной терапии с составами агонистов GCC по изобретению, включают в себя дипептид Tyr-Arg (киоторфин); происходящий из хромогранина полипептид (CgA 47-66; См., например, Ghia et al. 2004 Regulatory polypeptides 119:199); агонисты рецептора ССК, такие как церулеин; полипептиды конотоксина; пептидные аналоги тимулина (заявка Франции 2830451); антагонисты рецептора ССК (ССКа или ССКb), включая локсиглумид и декслоксиглумид (R-изомер локсиглумида) (WO 88/05774); агонисты 5-HT<sub>4</sub>, такие как тегасерод (Zelnorm®), мозаприд, метоклопрамид, закоприд, цизаприд, рензаприд, производные бензимидазолна, такие как BIMU 1 и BIMU 8 и лирексаприд; блокаторы кальциевых каналов, такие как зиконотид и родственные соединения, описанные, например, в EP625162B1, US5364842, US5587454, US5824645, US5859186, US5994305, US6087,091, US6136786, WO93/13128 A1, EP1336409 A1, EP835126 A1, EP835126 B1, US5795864, US5891849, US6054429, WO97/01351 A1; антагонисты рецептора NK-I, такие как апрепитант (Merck & Co Inc), вофопитант, эзлопитант (Pfizer, Inc.), R-673 (Hoffmann-La Roche Ltd), SR-48968 (Sanofi Synthelabo), CP-122,721 (Pfizer, Inc.), GW679769 (Glaxo Smith Kline), TAK-637 (Takeda/Abbot), SR-14033, и родственные соединения, описанные, например, в EP 873753 A1, US20010006972 A1, US20030109417 A1, WO01/52844 A1 (обзор см. в Giardina et al. 2003. Drugs 6:758); антагонисты рецептора NK-2, такие как непадутант (Menarini Ricerche SpA), саредутант (Sanofi-Synthelabo), GW597599 (Glaxo Smith Kline), SR-144190 (Sanofi-Synthelabo) и UK-290795 (Pfizer Inc); антагонисты рецептора NK<sub>3</sub>, такие как осанетант (SR-142801; Sanofi-Synthelabo), SSR-241586, талнетант и родственные соединения, описанные, например, в WO02/094187 A2, EP 876347 A1, WO97/21680 A1, US6277862, WO98/1 1090, WO95/28418, WO97/19927 и Boden et al. (J Med Chem. 39:1664-75, 1996); ингибиторы обратного захвата норэпинефрина-серотонина (NSRI), такие как милнаципран и родственные соединения, описанные в WO03/077897; и антагонисты ваниллоидного рецептора, такие как арванил и родственные соединения, описанные в WO01/64212 A1.

В дополнение к родственным сиалорфину полипептидам, анальгетические полипептиды включают в себя: AspPhe, эндоморфин-1, эндоморфин-2, ноцистатин, даларгин, люпрон, зиконотид и субстанцию P.

1.2.2.9. Инсулин и модулирующие инсулин средства.

Пептиды-агонисты GCC, описываемые в настоящем документе, можно использовать в комбинированной терапии с инсулином и родственными соединениями, включая инсулин приматов, грызунов или кролика, включая их биологически активные варианты, включая аллельные варианты, более предпочтительно, инсулин человека, доступный в рекомбинантной форме. Источники инсулина человека включают в себя фармацевтически приемлемые и стерильные составы, такие как составы, доступные из Eli Lilly (Indianapolis, Ind. 46285) как H MKMulin™ (источник рДНК инсулина человека). См. THE PHYSICIAN'S DESK REFERENCE, 55.sup.th Ed. (2001) Medical Economics, Thomson Healthcare (где описаны другие пригодные виды инсулина человека).

Пептиды GCC, описываем в настоящем документе также можно использовать в комбинированном лечении со средствами, способными усиливать эффекты или повышать уровни инсулина у субъекта после введения, например, глипизидом и/или розиглитазоном. Полипептиды и агонисты, описываемые в настоящем документе, можно использовать в комбинированной терапии с SYMLIN® (ацетатом прамлингида) и Exenatide® (синтетическим экзендином-4; полипептидом из 39 ак).

#### 1.2.2.10. Антигипертензивные средства.

Пептиды-агонисты GCC, описываемые в настоящем документе, можно использовать в комбинированной терапии с антигипертензивными средством, включая в качестве неограничивающих примеров: (1) диуретики, такие как тиазиды, включая хлорталидон, хлортиазид, дихлорофенамид, гидрофлуметиазид, индапамид, политиазид и гидрохлортиазид; петлевые диуретики, такие как буметанид, этакриновая кислота, фуросемид и торсемид; калийсберегающие мочегонные средства, такие как амилорид и триамтерен; ингибиторы карбоангидразы, осмотические средства (такие как глицерин) и антагонисты альдостерона, такие как спиронолактон, эфиренон и т.п.; (2) бета-адренергические блокаторы, такие как ацебутолол, атенолол, бетаксолол, бевантолол, бисопролол, бопиндолол, картеолол, карведилол, целипролол, эсмолол, инденолол, метапролол, надолол, небиволол, пентбутолол, пиндолол, пропранолол, соталола, тератолол, тилизола и тимолол, и т.п.; (3) блокаторы кальциевых каналов, такие как амлодипин, аранидипин, азелнидипин, барнидипин, бенидипин, бепридил, циналдипин, клеvidипин, дилтиазем, эфонидипин, фелодипин, галлопамил, израдипин, лацидипин, лемилдипин, лерканидипин, никардипин, нифедипин, нилвадипин, нимодепин, низолдипин, нитрендипин, манидипин, пранидипин и верапамил, и т.п.; (4) ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента (ACE), такие как беназеприл, каптоприл, церанаприл, цилазаприл, делаприл; эналаприл; эналаприл; фосиноприл; имидаприл; лизиноприл; лозиноприл; моэксиприл; квинаприл; квинаприлат; рамиприл; периндоприл; периндроприл; кваниприл; спираприл; тенокаприл; трандолаприл и зофеноприл, и т.п.; (5) ингибиторы нейтральной эндопептидазы, такие как омапатрилат, кадоксатрил и экадотрил, фосидотрил, сампатрилат, AVE7688, ER4030 и т.п.; (6) антагонисты эндотелина, такие как тезосентан, A308165 и YM62899, и т.п.; (7) сосудорасширяющие средства, такие как гидралазин, клонидин, миноксидил, и никотиниловый спирт, и т.п.; (8) антагонисты рецептора ангиотензина II, такие как апросартан, кандесартан, эпросартан, ирбесартан, лозартан, олмесартан, пратосартан, тасосартан, телмисартан, валсартан и EXP-3137, FI6828K и RNH6270, и т.п.; (9)  $\alpha/\beta$ -адренергические блокаторы, такие как нипрадиол, аротинолол и амосулолол, и т.п.; (10) альфа 1-блокаторы, такие как теразозин, урапидил, празосин, тамсулозин, буназоцин, тримазоцин, доксазолин, нафтопидил, индорамина, WHP 164, и XENOIO, и т.п.; (11) альфа 2-агонисты, такие как лофексидин, тиаменидин, моксионидин, рилменидин и кванобенз, и т.п.; (12) ингибиторы альдостерона и т.п.; и (13) связывающие ангиопозитин-2 средства, такие как описанные в WO03/030833. Конкретные антигипертензивные средства, которые можно использовать в комбинации с полипептидами и агонистами, описываемыми в настоящем документе, включают в себя, в качестве неограничивающих примеров: диуретики, такие как тиазиды (например, хлорталидон, циклотиазид (CAS RN 2259-96-3), хлортиазид (CAS RN 72956-09-3, который можно получать, как описано в US2809194), дихлорофенамид, гидрофлуметиазид, индапамид, политиазид, бендрофлуметазид, метиклотазид, политиазид, трихлорметазид, хлорталидон, индапамид, метолазон, хинетазон, алтиазид (CAS RN 5588-16-9, который можно получать, как описано в Патенте Британии No. 902658), бензтиазид (CAS RN 91-33-8, который можно получать, как описано в US3108097), бутиазид (который можно получать, как описано в Патенте Британии No. 861367), и гидрохлортиазид), петлевые диуретики (например, буметанид, этакриновая кислота, фуросемид и торасемид), калийсберегающие мочегонные средства (например, амилорид, и триамтерен (Номер CAS 396-01-0)), и антагонисты альдостерона (например, спиронолактон (Номер CAS 52-01-7), эфиренон, и т.п.);  $\beta$ -адренергические блокаторы, такие как амиодарон (кордарон, пацерон), гидрохлорид бунолола (CAS RN 31969-05-8, Parke-Davis), ацебутолол ( $\pm$ N-[3-ацетил-4-[2-гидрокси-3-[(1-метилэтил)амино]пропокси]фенил]-бутанамида или ( $\pm$ )-3'-ацетил-4'-[2-гидрокси-3-(изопропиламино)пропокси]бутиранилид), гидрохлорид ацебутолола (например, Sectral®, Wyeth-Ayerst), гидрохлорид алпренолола (CAS RN 13707-88-5 см. Патентную заявку Нидерландов No. 6605692), атенолол (например, Tenormin®, AstraZeneca), гидрохлорид картеолола (например, Cartrol® Filmtab®, Abbott), гидрохлорид целипролола (CAS RN 57470-78-7, см. также в US4034009), гидрохлорид цетамолола (CAS RN 77590-95-5, см. также в US4059622), гидрохлорид лабеталола (например, Normodyne®, Schering), гидрохлорид эсмолола (например, Brevibloc®, Baxter), гидрохлорид левобетаксолола (например, глазная суспензия Betaxon™, Alcon), гидрохлорид левобунолола (например, Betagan® Liquifilm® с C CAP® Compliance Cap, Allergan), надолол (например, надолол, Mylan), практолол (CAS RN 6673-35-4, см. также в US3408387), гидрохлорид пропранолола (CAS RN 318-98-9), гидрохлорид соталола (например, Vatarase AF™, Verlex), тимолол (гемигидрат (S)-1-[(1,1-диметилэтил)амино]-3-[[4-4(4-морфолинил)-1,2,5-тиадиазол-3-ил]окси]-2-пропанола, CAS RN 91524-16-2), малеатная соль (S)-1-[(1,1-диметилэтил)амино]-3-[[4-(4-морфолинил)-1,2,5-тиадиазол-3-ил]окси]-2-пропанол-(Z)-2-бутендиоата тимолола (1:1), CAS RN 26921-17-5), бисопролол (( $\pm$ )-1-[4-[[2-(1-метилэтокси)этокси]-метил]феноксил]-3- [(1-метилэтил)амино]-2-пропанол, CAS RN 66722-44-9), фумарат бисопролола (такой как (E)-2-бутендиоат ( $\pm$ )-1-[4-[[2-(1-

метилэтокси)этокси]метил]фенокси]-3-[(1-метилэтил)амино]-2-пропанола (2:1) (соль), например, Zebeta™, Lederle Cons мкмег), небивалол ( $\alpha$   $\alpha'$ -[имино-бис(метилен)]бис[6-фтор-3,4-дигидро-2Н-1-бензопиран-2-метанол, CAS RN 99200-09-6 см. также Патент США No. 4654362), гидрохлорид циклопролола, такой как гидрохлорид 1-[4-[2-(циклопропилметокси)этокси]фенокси]-3-[1-метилэтил)амино]-2-пропанола, А.А.С. RN 63686-79-3), гидрохлорид декспропронолола (гидрохлорид 1-[1-метилэтил)амино]-3-(1-нафталенилокси)-2-пропанола (CAS RN 13071-11-9), гидрохлорид диацетолола (моногидрохлорид N-[3-ацетил-4-[2-гидрокси-3-[(1-метилэтил)амино]пропокси]]фенил]ацетамида, CAS RN 69796-04-9), гидрохлорид дилевалола (моногидрохлорид 2-гидрокси-5-[1-гидрокси-2-[1-метил-3-фенилпропил)амино]этил]бензамида, CAS RN 75659-08-4), гидрохлорид эксапролола (гидрохлорид 1-(2-циклогексилфенокси)-3-[(1-метилэтил)амино]-2-пропанола, CAS RN 59333-90-3), сульфат флестолола ((+)-сульфат 2-фтор-,3-[[2-[аминокарбонил)амино]диметилэтил]амино]-2-гидроксипропилового сложного эфира бензойной кислоты (1:1) (соль), CAS RN 88844-73-9; гидрохлорид металола (моногидрохлорид N-[4-[1-гидрокси-2-(метиламино)пропил]фенил]-метансульфонамида, CAS RN 7701-65-7), метопролол, 1-[4-(2-метоксиэтил)фенокси]-3-[1-метилэтил)амино]-2-пропанол; CAS RN 37350-58-6), тартрат мето-пролола (такой как 1-[4-(2-метоксиэтил)фенокси]-3-[(1-метилэтил)амино]-2-пропанол, например, Lopresor®, Novartis), сульфат паматолола ((±) сульфат метилового сложного эфира [2-[4-[2-гидрокси-3-[(1-метилэтил)амино]пропокси]фенил]этил]карбаминной кислоты, (соль) (2:1), CAS RN 59954-01-7), сульфат пентбутолола (сульфат (S)-1-(2-циклопентилфенокси)-3-[1,1-диметилэтил)амино]-2-пропанола, (2:1) (соль), CAS RN 38363-32-5), практолол (N-[4-[2-гидрокси-3-[(1-метилэтил)амино]пропокси]фенил]ацетамид, CAS RN 6673-35-4); гидрохлорид трипронолола (гидрохлорид (±) 1-[(1-метилэтил)амино]-3-[2-(метилтио)фенокси]пропанола, CAS RN 39832-43-4), толамол (4-[2-[[2-гидрокси-3-(2-метилфенокси)пропил]амино]этоксил]бензамид, CAS RN 38103-61-6), бопиндол, инденолол, пиндол, пропанолол, тертатолол и тилизол, и т.п.; блокаторы кальциевых каналов, такие как соль безилат амлодипина (такая как бензолсульфонат 3-этил-5-метил-2-(2-аминоэтоксиметил)-4-(2-хлорфенил)-1,4-дигидро-6-метил-3,5-пиридиндикарбоксилата, например, Norvasc®, Pfizer), малеат клентиазема ((Z)-2-бутендиоат 3-(ацетилокси)-8-хлор-5-[2-(диметиламино)этил]-2,3-дигидро-2-(4-метоксифенил)-(2S-цис)-1, 5-бензотиазепин-4(5H)-она, (1:1), см. также US4567195), израдипин ((±)-4(4-бензофуразанил)-1,4-дигидро-2,6-диметил-3,5-пиридиндикарбоксилат метил-1-метилэтилового сложного эфира 4-(4-бензофуразанил)-1,4-дигидро-2,6-диметил-3,5-пиридиндикарбоновой кислоты, см. также US4466972); нимодипин (такой как изопропил-(2-метоксиэтил)-1,4-дигидро-2,6-диметил-4-(3-нитрофенил)-3,5-пиридиндикарбоксилат, например, Nimotop®, Bayer), фелодипин (такой как этилметил-4-(2,3-дихлорфенил)-1,4-дигидро-2,6-диметил-3,5-пиридиндикарбоксилат, например, Plendil® с продленным высвобождением, AstraZeneca LP), нилвадипин (3-метил-5-(1-метилэтиловый) сложный эфир 2-циано-1,4-дигидро-6-метил-4-(3-нитрофенил)-3,5-пиридиндикарбоновой кислоты, см. также US3799934), нифедипин (такой как диметиловый сложный эфир 1,4-дигидро-2,6-диметил-4-(2-нитрофенил)-3,5-пиридиндикарбоновой кислоты, например, таблетки с продленным высвобождением Procardia XL®, Pfizer), гидрохлорид дилтиазема (такой как моногидрохлорид (+)-цис-3-(ацетилокси)-5[2-(диметиламино)этил]-2,-3-дигидро-2(4-метоксифенил)-1,5-бензотиазепин-4(5H)-она, например, Tiazac®, Forest), гидрохлорид верапамила (такой как гидрохлорид (альфа)- [ [3-[ [2-(3,4-диметоксифенил)этил]метиламино]пропил]-3,4-диметокси-(альфа)-(1-метилэтил)бензоацетонитрила, например, Isortin® SR, Knoll Labs), гидрохлорид телудипина (моногидрохлорид диэтилового сложного эфира 2- [ (диметиламино)метил]4-[2-[ (1E)-3-(1,1-диметилэтокси)-3-оксо-1-пропенил]фенил]-1,4-дигидро-6-метил-3,5-пиридиндикарбоновой кислоты) CAS RN 108700-03-4), белфосдил (тетрабутиловый сложный эфир [2-(2-феноксипропил)-1,3-пропан-диил]бис-Фосфоновой кислоты, CAS RN 103486-79-9), фостедил (диэтиловый сложный эфир [[4-(2-бензотиазолил)фенил]метил]фосфоновой кислоты, CAS RN 75889-62-2), аранидипин, азелнидипин, барнидипин, бенидипин, бепридил, циналдипин, клевидипин, эфонидипин, галлопамил, лацидипин, лемилдипин, лерканидипин, малеат монатевила ((Z)-2-бутендиоат (+)-N-(6,11-дигидродибензо(b,e)тиепин-11-ил)4-(4-фторфенил)-1-пиперазинбутанамида, (1:1), малеат (±)-N-(6,11-дигидродибензо (b,e)тиепин-11-ил)-4-(п-фторфенил)-1-пиперазинбутирамида (1:1) CAS RN 132046-06-1), никардипин, низолдипин, нитрендипин, манидипин, пранидипин и т.п.; антагонисты кальциевых T-каналов, такие как мибефрадил; ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента (ACE), такие как беназеприл, гидрохлорид беназеприла (такой как моногидрохлорид 3-[[1-(этоксикарбонил)-3-фенил-1(S)-пропил]амино]-2,3,4,5-тетрагидро-2-оксо-1Н-1-(3S)-бензазепин-1-уксусной кислоты, например, Lotrel®, Novartis), каптоприл (такой как 1-[(2S)-3-меркапто-2-метилпропионил]-L-пролин, например, каптоприл, Mylan, CAS RN 62571-86-2 и другие, описанные в US4046889), церанаприл (и другие, описанные в US4452790), цетаприл (алацеприл, даиниппон, описанный в Eur. Therap. Res. 39:671 (1986); 40:543 (1986)), цилазаприл (Hoffman-LaRoche), описанный в J. Cardiovasc. Pharmacol. 9:39 (1987), индалаприл (гидрохлорид делаприла (1,1-диоксид 3-бицикло[2,2,1]гепт-5-ен-2-ил-6-хлор-3,4-дигидро-2Н-1,2,4-бензотиадазин-7-сульфонамида, CAS RN 2259-96-3); описанный в US4385051), эналаприл (и другие, описанные в US4374829), эналоприл, эналоприлат, фосиноприл, ((такой как натриевая соль 4-циклогексил-1-[[[2-метил-1-(1-оксопропокси)пропокси](4-фенилбутил)фосфинил]ацетил]-L-пролина,

например, моноприл, Bristol-Myers Squibb и другие, описанные в US4168267), фосиноприл натрия (4-циклогексил-1-[(R)-(1S)-2-метил-1-(1-оксопропокси)пропокси]-L-пролин, имидаприл, индолаприл (Schering, описанный в J. Cardiovasc. Pharmacol. 5:643, 655 (1983)), лизиноприл (Merck), лозиноприл, моэксиприл, гидрохлорид моэксиприла (моногидрохлорид (3S)-2-[(2S)-2-[(1S)-1-(этоксикарбонил)-3-фенилпропил]амино]-1-оксопропил]-1,2,3,4-тетрагидро-6,7-диметокси-3-изохинолинкарбоновой кислоты, CAS RN 82586-52-5), квинаприл, квинаприлат, рамиприл (Hoechst), описанный в EP 79022 и Curr. Ther. Res. 40:74 (1986), эрбумин периндоприла (такой как 1-этиловый сложный эфир 2S,3aS,7aS-1-[(S)-N-[(S)-1-карбоксивбутил]аланил]гексагидроиндолинкарбоновой кислоты, соединение с трет-бутиламином (1:1), например, Aceon®, Solvay), периндоприл (Servier, описанный в Eur. J. clin. Pharmacol. 31:519 (1987)), кваниприл (описанный в US4344949), спираприл (Schering, описанный в Acta. Pharmacol. Toxicol. 59 (Suppl. 5): 173 (1986)), тенокаприл, трандолаприл, зофеноприл (и другие, описанные в US4316906), рентиаприл (фентиаприл, описанный в Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. 10:131 (1983)), пивоприл, YS980, тепротид (усилитель брадикинина BPP9a CAS RN 35115-60-7), BRL 36378 (Smith Kline Beecham, см. EP80822 и EP60668), MC-838 (Chugai, см. CA. 102:72588v и Jap. J. Pharmacol. 40:373 (1986), CGS 14824 (Ciba-Geigy), 3-([1-этоксикарбонил-3-фенил-(1S)-пропил]амино)-2,3,4,5-тетрагидро-2-оксо-1-(3S)-бензазепин-1-уксусная кислота HCl, см. патент Великобритании No. 2103614), CGS 16,617 (Ciba-Geigy, 3(S)-[(1S)-5-амино-1-карбокспентил]амино]-2,3,4,5-тетрагидро-2-оксо-1H-1-бензазепин-1-этановая кислота, см. US4473575), Ru 44570 (Hoechst, см. Arzneimittelforschung 34:1254 (1985)), R 31-2201 (Hoffman-LaRoche см. FEBS Lett. 165:201 (1984)), CI925 (Pharmacologist 26:243, 266 (1984)), WY-44221 (Wyeth, см. J. Med. Chem. 26:394 (1983)), и описанные в US2003006922 (параграф 28), US4337201, US4432971 (фосфонамидаты); ингибиторы нейтральной эндопептидазы, такие как омапатрилат (Vanlev®), CGS 30440, кадоксатрил и экадотрил, фазидотрил (также известный как аладотрил или алатриоприл), сампатрилат, миксанприл и гемопатрилат, AVE7688, ER4030 и описанные в US5362727, US5366973, US5225401, US4722810, US5223516, US4749688, US552397, US5504080, US5612359, US5525723, EP0599444, EP0481522, EP0599444, EP0595610, EP0534363, EP534396, EP534492, EP0629627; антагонисты эндотелина, такие как тезосентан, A308165 и YM62899, и т.п.; сосудорасширяющие средства, такие как гидралазин (апресолин), клонидин (гидрохлорид клонидина (моногидрохлорид N-(2,6-дихлорфенил)4,5-дигидро-1H-имидазол-2-амин, CAS RN 4205-91-8), катапрес, миноксидил (лонитен), никотиниловый спирт (рониасол), гидрохлорид дилтиазема (такой как моногидрохлорид (+)-цис-3-(ацетилокси)-5[2-(диметиламино)этил]-2,-3-дигидро-2(4-метоксифенил)-1,5-бензотиазепин-4(5H)-она, например, Tiazac®, Forest), динитрат изосорбита (такой как 2,5-динитрат 1,4:3,6-диангидро-D-глюцита например, Isordil® Titradose®, Wyeth-Ayerst), мононитрат сосорбида (такой как 1,4:3,6-диангидро-D-глюцит-1,5-нитрат, органический нитрат, например, Ismo®, Wyeth-Ayerst), нитроглицерин (такой как тринитрат 2,3-пропантриола, например, Nitrostat® Parke-Davis), гидрохлорид верапамила (такой как гидрохлорид (±)-(альфа) [3-[[2-(3,4-диметоксифенил)этил]метиламино]пропил]-3,4-диметокси-(альфа)-(1-метилэтил)бензолацетонитрила, например, Covera HS® с продленным высвобождением, Searle), хромо-нар (который можно получать, как описано в US3282938), клонитат (Annalen 1870 155), дропрениламин (который можно получать, как описано в DE2521113), лидофлазин (который можно получать, как описано в US3267104); прениламин (который можно получать, как описано в US3152173), нитрат пропатила (который можно получать, как описано в Патенте Франции No. 1103113), гидрохлорид миофлазина (дигидрохлорид 3-(аминокарбонил)4-[4,4-бис(4-фторфенил)бутил]-N-(2,6-дихлорфенил)-1-пиперазинацетамида, CAS RN 83898-67-3), миксидин (бензолэтанамин 3,4-диметокси-N-(1-метил-2-пирролидинилиден)-пирролидина, 2-[(3,4-диметоксифенэтил)имино]-1-метил-1-метил-2-[(3,4-диметоксифенэтил)имино]пирролидин, CAS RN 27737-38-8), молсидомин (внутренняя соль 5-[(этоксикарбонил)амино]-3-(4-морфолинил)-1,2,3-оксадиазолия, CAS RN 25717-80-0), мононитрат изосорбита (5-нитрат 1,4:3,6-диангидро-D-глюцита, CAS RN 16051-77-7), тетранитрат эритритила (тетранитрат (2R, 3S)-rel-1,2,3,4-бутантетрола, CAS RN 7297-25-8), клонитрат (динитрат 3-хлор-1,2-пропандиола (7Cl, 8Cl, 9Cl) CAS RN 2 612-33-1), дипиридамола 2,2',2''-[(4,8-ди-1-пиперидинилпиримидо[5,4-d]пиримидин-2,6-диил)динитрило]тетракистанола CAS RN 58-32-2), никорандил (CAS RN 65141-4 6-03), пиридинкарбоксамид (метил-2-метилпропиловый сложный эфир 1,4-дигидро-2,6-диметил-4-(2-нитрофенил)-N-[2-(нитроокси)этил]-низолдипин-3,5-пиридиндикарбоновой кислоты, CAS RN 63675-72-9), нифедипин (диметиловый сложный эфир 1,4-дигидро-2,6-диметил-4-(2-нитрофенил)-3,5-пиридиндикарбоновой кислоты, CAS RN 21829-25-4), малеат пергекселина ((2Z)-2-бутендиоат 2-(2,2-дициклогексилэтил)-пиперидина, (1:1) CAS RN 6724-53-4), гидрохлорид окспренолола (гидрохлорид 1-[(1-метилэтил)амино]-3-[2-(2-пропенилокси)фенокси]-2-пропанола, CAS RN 6452-73-9), пентринитрол (мононитрат (сложный эфир) 2,2-бис[(нитроокси)метил]-1,3-пропандиола, CAS RN 1607-17-6), верапамил (α-[3-[[2-(3,4-диметоксифенил)этил]-метиламино]пропил]-3,4-диметокси-α-(1-метилэтил)-бензолацетонитрил, CAS RN 52-53-9) и т.п.; антагонисты рецептора ангиотензина II, такие как, апросартан, золазартан, олмесартан, пратосартан, FI6828K, RNH6270, кандесартан (2-этокси-1-[[2'-(1H-тетразол-5-ил)[1,1'-бифенил]4-ил]метил]-1H-бензимидазол-7-карбоновая кислота, CAS RN 139481-59-7), кандесартан цилексетил ((+/-)-1-(циклогексилкарбонилокси)этил-2-этокси-1-[[2'-(1H-тетразол-5-



ил)бифенил-4-ил]-1Н-бензимидазолкарбоксилат, CAS RN 145040-37-5, US5703110 и US5196444), эпросартан (3-[1-4-карбоксифенилметил]-2-н-бутилимидазол-5-ил)-(2-тиенилметил)пропеновая кислота, US5185351 и US5650650), ирбесартан (2-н-бутил-3-[[2'-(1Н-тетразол-5-ил)бифенил-4-ил]метил]-1,3-диазапиридо[4,4]нон-1-ен-4-он, US5270317 и US5352788), лозартан (калиевая соль 2-N-бутил-4-хлор-5-гидроксиметил-1-[[2'-(1Н-тетразол-5-ил)бифенил-4-ил]-метил]имидазола, US5138069, US5153197 и US5128355), тасосартан (5,8-дигидро-2,4-диметил-8-[[2'-(1Н-тетразол-5-ил)[1,г-бифенил]4-ил]метил]-пиридо[2,3-d]пиримидин-7(6Н)-он, US5149699), телмисартан (4'-[(1,4-диметил-2'-пропил-(2,6'-би-1Н-бензимидазол)-г-ил)]-[1,1'-бифенил]-2-карбоновая кислота, CAS RN 144701-48-4, US5591762), милфазартан, абитезартан, валсартан (Diovan® (Novartis), (S)-N-валерил-N-[[2'-(1Н-тетразол-5-ил)бифенил-4-ил]метил]валин, US5399578), EXP-3137 (2-N-бутил-4-хлор-1-[[2'-(1Н-тетразол-5-ил)бифенил-4-ил]метил]имидазол-5-карбоновая кислота, US5138069, US5153197 и US5128355), 3-(2'-(тетразол-5-ил)-1,г-бифен-4-ил)метил-5,7-диметил-2-этил-3Н-имидазо[4,5-b]пиридин, 4'-[2-этил-4-метил-6-(5,6,7,8-тетрагидроимидазо[1,2-а]пиридин-2-ил)-бензимидазол-1-ил]-метил]-1,г-бифенил]-2-карбоновая кислота, 2-бутил-6-(1-метокси-1-метилэтил)-2-[2'-1Н-тетразол-5-ил]бифенил-4-илметил]хиназолин-4(3Н)-он, 3-[2'-карбоксифенил-4-ил]метил]-2-циклопропил-7-метил-3Н-имидазо[4,5-b]пиридин, 2-бутил-4-хлор-1-[[2'-(1Н-тетразол-5-ил)бифенил-4-ил]метил]имидазолкарбоновая кислота, калиевая соль 1-(этоксикарбонилокси)этилового сложного эфира 2-бутил-4-хлор-1-[[2'-(1Н-тетразол-5-ил)[1,1'-бифенил]-4-ил]метил]-1Н-имидазол-5-карбоновой кислоты, дикалий 2-бутил-4-(метилтио)-1-[[2-[[[(пропиламино)карбонил]амино]сульфонил](1,1'-бифенил)-4-ил]метил]-1Н-имидазол-5-карбоксилата, метил-2-[[4-бутил-2-метил-6-оксо-5-[[2'-(1Н-тетразол-5-ил)-[1,1'-бифенил]-4-ил]метил]-1-(6Н)-пиримидинил]метил]-3-тиофенкарбоксилат, 5-[(3,5-дибутил-1Н-1,2,4-триазол-1-ил)метил]-2-[2-(1Н-тетразол-5-илфенил)]пиридин, соль D,L-лизина 6-бутил-2-(2-фенилэтил)-5-[[2'-(1Н-тетразол-5-ил)[1,1'-бифенил]-4-метил]пиримидин-4-(3Н)-она, 5-метил-7-н-пропил-8-[[2'-(1Н-тетразол-5-ил)бифенил-4-ил]метил]-[1,2,4]-триазоло[1,5-с]пиримидин-2(3Н)-он, калиевая соль 2,7-диэтил-5-[[2'-(5-тетразолил)бифенил-4-ил]метил]-5Н-пиразоло[1,5-b][1,2,4]триазола, калиевая соль этилового сложного эфира 2-[2-бутил-4,5-дигидро-4-оксо-3-[2'-(1Н-тетразол-5-ил)-4-бифенилметил]-3Н-имидазол[4,5-с]пиридин-5-илметил]бензойной кислоты, 3-метокси-2,6-диметил-4-[[2'(1Н-тетразол-5-ил)-1,1'-бифенил-4-ил]метокси]пиридин, 2-этокси-1-[[2'-(5-оксо-2,5-дигидро-1,2,4-охадиазол-3-ил)бифенил-4-ил]метил]-1Н-бензимидазол-7-карбоновая кислота, 1-[N-(2'-(1Н-тетразол-5-ил)бифенил-4-ил-метил)-N-валеролиламинометил]циклопентан-1-карбоновая кислота, 7-метил-2н-пропил-3-[[2'-1Н-тетразол-5-ил]бифенил-4-ил]метил]-3Н-имидазо[4,5-6]пиридин, 2-[5-[[2-этил-5,7-диметил-3Н-имидазо[4,5-b]пиридин-3-ил]метил]-2-хинолинил]бензоат натрия, 2-бутил-6-хлор-4-гидроксиметил-5-метил-3-[[2'-(1Н-тетразол-5-ил)бифенил-4-ил]метил]пиридин, (тетразол-5-ил)бифенил-4-ил]метил]пиримидин-6-он-2-[[[2-бутил-1-[(4-карбоксифенил)метил]-1Н-имидазол-5-ил]метил]амино]бензойная кислота, 4 (S)-[4-(карбоксиметил)фенокси]-N-[2(R)-[4-(2-сульфобензамидо)имидазол-1-ил]октаноил]-L-пролин, 1-(2,6-диметилфенил)-4-бутил-1,3-дигидро-3-[[6-[2-(1Н-тетразол-5-ил)фенил]-3-пиридинил]метил]-2Н-имидазол-2-он, 5,8-этано-5,8-диметил-2-н-пропил-5,6,7,8-тетрагидро-1-[[2'(1Н-тетразол-5-ил)бифенил-4-ил]метил]-1Н,4Н-1,3,4а,8а-тетразацклопентанфталлин-9-он, 4-[1-[2'-(1,2,3,4-тетразол-5-ил) бифен-4-ил]метиламино]-5,6,7,8-тетрагидро-2-трифлиазазолин, 2-(2-хлорбензоил)амино-5-этил-3-[2'-(1Н-тетразол-5-ил)бифенил-4-ил]метил-1,3,4-тиадиазолин, дикалиевая соль 2-[5-этил-3-[2-(1Н-тетразол-5-ил)бифенил-4-ил]метил]-1,3,4-тиазолин-2-илиден]аминокарбонил-1-циклопентенкарбоновой кислоты и 1-этоксикарбонилоксиэтиловый сложный эфир 2-бутил-4-[N-метил-N-(3-метилкротоноил)амино]-1-[[2'-(1Н-тетразол-5-ил)бифенил-4-ил]метил]-1Н-имидазол-5-карбоновой кислоты, описанные в патентных публикациях EP475206, EP497150, EP539086, EP539713, EP535463, EP535465, EP542059, EP497121, EP535420, EP407342, EP415886, EP424317, EP435827, EP433983, EP475898, EP490820, EP528762, EP324377, EP323841, EP420237, EP500297, EP426021, EP480204, EP429257, EP430709, EP434249, EP446062, EP505954, EP524217, EP514197, EP514198, EP514193, EP514192, EP450566, EP468372, EP485929, EP503162, EP533058, EP467207 EP399731, EP399732, EP412848, EP453210, EP456442, EP470794, EP470795, EP495626, EP495627, EP499414, EP499416, EP499415, EP511791, EP516392, EP520723, EP520724, EP539066, EP438869, EP505893, EP530702, EP400835, EP400974, EP401030, EP407102, EP411766, EP409332, EP412594, EP419048, EP480659, EP481614, EP490587, EP467715, EP479479, EP502725, EP503838, EP505098, EP505111 EP513,979 EP507594, EP510812, EP511767, EP512675, EP512676, EP512870, EP517357, EP537937, EP534706, EP527534, EP540356, EP461040, EP540039, EP465368, EP498723, EP498722, EP498721, EP515265, EP503785, EP501892, EP519831, EP532410, EP498361, EP432737, EP504888, EP508393, EP508445, EP403159, EP403158, EP425211, EP427463, EP437103, EP481448, EP488532, EP501269, EP500409, EP540400, EP005528, EP028834, EP028833, EP411507, EP425921, EP430300, EP434038, EP442473, EP443568, EP445811, EP459136, EP483683, EP518033, EP520423, EP531876, EP531874, EP392317, EP468470, EP470543, EP502314, EP529253, EP543263, EP540209, EP449699, EP465323, EP521768, EP415594, WO92/14468, WO93/08171, WO93/08169, WO91/00277, WO91/00281, WO91/14367, WO92/00067, WO92/00977, WO92/20342, WO93/04045, WO93/04046, WO91/15206, WO92/14714, WO92/09600, WO92/16552, WO93/05025, WO93/03018, WO91/07404, WO92/02508, WO92/13853, WO91/19697, WO91/11909, WO91/12001,

WO91/11999, WO91/15209, WO91/15479, WO92/20687, WO92/20662, WO92/20661, WO93/01177, WO91/14679, WO91/13063, WO92/13564, WO91/17148, WO91/18888, WO91/19715, WO92/02257, WO92/04335, WO92/05161, WO92/07852, WO92/15577, WO93/03033, WO91/16313, WO92/00068, WO92/02510, WO92/09278, WO9210179, WO92/10180, WO92/10186, WO92/10181, WO92/10097, WO92/10183, WO92/10182, WO92/10187, WO92/10184, WO92/10188, WO92/10180, WO92/10185, WO92/20651, WO93/03722, WO93/06828, WO93/03040, WO92/19211, WO92/22533, WO92/06081, WO92/05784, WO93/00341, WO92/04343, WO92/04059, US5104877, US5187168, US5149699, US5185340, US4880804, US5138069, US4916129, US5153197, US5173494, US5137906, US5155126, US5140037, US5137902, US5157026, US5053329, US5132216, US5057522, US5066586, US5089626, US5049565, US5087702, US5124335, US5102880, US5128327, US5151435, US5202322, US5187159, US5198438, US5182288, US5036048, US5140036, US5087634, US5196537, US5153347, US5191086, US5190942, US5177097, US5212177, US5208234, US5208235, US5212195, US5130439, US5045540, US5041152 и US5210204, и их фармацевтически приемлемые соли и эфиры;  $\alpha/\beta$ -адренергические блокаторы, такие как нипрадиол, аротинолол, амосулалол, тозилат бретилия (CAS RN: 61-75-6), мезилат дигидроэрготамина (такой как монометансульфонат (5'( $\alpha$ 2))-9,10-дигидро-12'-гидрокси-2'-метил-5'-(фенилметил)эрготаман-3',6',18-триона, например, DHE 45® Injection, Novartis), карведилол (такой как  $(\pm)$ -1-(карбазол-4-илокси)-3-[[2-(о-метоксифенокс)этил]амино]-2-пропанол, например, Coreg®, SmithKline Beecham), лабеталол (такой как моногидрохлорид 5-[1-гидрокси-2-[(1-метил-3-фенилпропил)амино]этил]салициламида, например, Normodyne®, Schering), тозилат бретилия (2-бром-N-этил-N,N-диметилбензолметанаминиевая соль 4-метилбензолсульфоновой кислоты (1:1), CAS RN 61-75-6), мезилат фенотолamina (монометансульфонат 3-[[4,5-дигидро-1H-имидазол-2-ил)метил] (4-метилфенил)амино]фенола (соль), CAS RN 65-28-1), тартрат солипертина ((2R,3R)-2,3-дигидроксибутандиоат 7-[2-[4-(2-метоксифенил)-1-пиперазинил]этил]-5H-1,3-диоксо[4,5-f]индола, (1:1) CAS RN 5591-43-5), гидрохлорид золертина (моногидрохлорид 1-фенил-4-[2-(1H-тетразол-5-ил)этил]пиперазина, (8Cl, 9Cl) CAS RN 7241-94-3) и т.п.; блокаторы  $\alpha$ -адренергического рецептора, такие как альфузоцин (CAS RN: 81403-68-1), теразозин, урапидил, празосин (Minipress®), тамсулозин, буназоцин, тримазоцин, доксазозин, нафтопидил, индорамин, WHP 164, XENOLO, гидрохлорид фенспирида (который можно получать, как описано в US3399192), проксан (CAS RN 33743-96-3) и гидрохлорид лабеталолола, и их сочетания;  $\alpha$ 2-агонисты, такие как метилдопа, метилдопа HCL, лофексидин, тиаменидин, моксонидин, рилменидин, кванобенз и т.п.; ингибиторы альдостерона и т.п.; ингибиторы ренина, включая алискирен (SPPIOO; Novartis/Speedel); связывающие ангиопозитин-2 средства, такие как описанные в WO03/030833; средства против стенокардии, такие как гидрохлорид ранолазина (дигидрохлорид N-(2,6-диметилфенил)-4-[2-гидрокси-3-(2-метоксифенокс)пропил]-1-пиперазинацетамида, CAS RN 95635-56-6), гидрохлорид бетаксоллола (гидрохлорид 1-[4-[2-(циклопропилметокси)этил]фенокс]-3-[(1-метилэтил)амино]-2-пропанола, CAS RN 63659-19-8), гидрохлорид бутпрозина (моногидрохлорид [4-[3-(дибутиламино)пропокси]фенил](2-этил-3-индолизинил)-метанона, CAS RN 62134-34-3), малеат цинепазета ((2Z)-2-бутендиоат этилового сложного эфира 4-[1-оксо-3-(3,4,5-триметоксифенил)-2-пропенил]-1-пиперазинуксусной кислоты (1:1), CAS RN 50679-07-7), тозифен (4-метил-N-[[[(1S)-1-метил-2-фенилэтил]амино]карбонил]бензолсульфонамид, CAS RN 32295-184), гидрохлорид верапамила (моногидрохлорид  $\alpha$ -[3-[[2-(3,4-диметоксифенил)этил]метиламино]пропил]-3,4-диметокси- $\alpha$ -(1-метилэтил)бензолацетонитрила, CAS RN 152-114), молсидомин (внутренняя соль 5-[[этоксикарбонил]амино]-3-(4-морфолинил)-1,2,3-оксадиазолия CAS RN 25717-80-0) и гидрохлорид ранолазина (дигидрохлорид N-(2,6-диметилфенил)4-[2-гидрокси-3-(2-метоксифенокс)пропил]-1-пиперазинацетамида, CAS RN 95635-56-6); тозифен (4-метил-N-[[[(1S)-1-метил-2-фенилэтил]амино]карбонил]бензолсульфонамид, CAS RN 32295-184); адренергические стимуляторы, такие как гидрохлорид гуанфацина (такой как гидрохлорид N-амидино-2-(2,6-дихлорфенил)ацетамида, например, таблетки Тепех®, доступные из Robins); метилдопа-гидрохлортиазид (такой как лево-3-(3,4-дигидроксифенил)-2-метилаланин) в сочетании с гидрохлортиазидом (таким как 1,1-диоксид 6-хлор-3,4-дигидро-2H-1,2,4-бензотиадиазин-7-сульфонамида, например, например, в сочетании с таблетками Aldoril®, доступными из Merck), метилдопа-хлортиазид (такой как 1,1-диоксид 6-хлор-2H-1,2,4-бензотиадиазин-7-сульфонамида и метилдопа, как описано выше, например, Aldoclor®, Merck), гидрохлорид клонидина (такой как гидрохлорид 2-(2,6-дихлорфениламино)-2-имидазолина и хлорталидон (такой как 2-хлор-5-(1-гидрокси-3-оксо-1-изоиндолинил)бензолсульфонамид), например, Combipres®, Boehringer Ingelheim), гидрохлорид клонидина (такой как гидрохлорид 2-(2,6-дихлорфениламино)-2-имидазолина, например, Catapres®, Boehringer Ingelheim), клонидин (1H-имидазол-2-амин, N-(2,6-дихлорфенил)4,5-дигидро-CAS RN 4205-90-7), гизаар (Merck; комбинация лозартана и гидрохлортиазида), ко-диован (Novartis; комбинация валсартана и гидрохлортиазида), лотрел (Novartis; комбинация беназеприла и амлодипина) и кадует (Pfizer; комбинация амлодипина и аторвастатина), и средства, описанные в US20030069221.

#### 1.2.2.11. Средства для лечения респираторных нарушений.

Пептиды-агонисты GСС, описываемые в настоящем документе, можно использовать в комбинированной терапии с одним или несколькими из следующих средств, которые можно использовать для лече-

ния респираторных и других нарушений, включая, в качестве неограничивающих примеров: (1)  $\beta$ -агонисты, включая, в качестве неограничивающих примеров: альбутерол (PRO VENTIL®, S ALBUT AMOI®, VENTOLIN®), бамбутерол, битотерол, кленбутерол, фенотерол, формотерол, изоэтарин (BRONKOSOL®, BRONKOMETER®), метапротеренол (ALUPENT®, METAPREL®), пиребутерол (MAXAIR®), репротерол, римитерол, сальметерол, тербуталин (BRETHAIRE®, BRETHINE®, BRICANYL®), адреналин, изопротеренол (ISUPREL®), кислую соль адреналина и винной кислоты (PRIMATENE®), эфедрин, орцифенлин, фенотерол и изоэтарин; (2) стероиды, включая в качестве неограничивающих примеров, беклометазон, дипропионат беклометазона, бетаметазон, будезонид, бунедосид, бутиксокорт, дексаметазон, флунизол, флуоокортин, флуказон, гидрокортизон, метилпреднизон, мометазон, преднизолон, преднизон, типредан, тиксокортал, триамцинолон и ацетонид триамцинолона; (3) сочетания  $\beta$ 2-агонистов-кортикостероидов [например, сальметерол-флуказон (AD V AIR®), формотерол-будесонид (S YMBICORT®)]; (4) антагонисты рецептора лейкотриена D4/антагонисты лейкотриена/антагонисты LTD4 (т.е. любые соединения, способные блокировать, ингибировать, уменьшать или иным образом нарушать взаимодействие лейкотриенов с рецептором Cys LTI), включая в качестве неограничивающих примеров: зафгукаст, монтелукаст, монтелукаст натрия (SINGULAIR®), пранлукаст, иралукаст, побилукаст, SKB-106,203 и соединения, описанные как обладающие антагонистической активностью по отношению к LTD4, описанные в Патенте США No. 5565473; (5) 5-ингибиторы липоксигеназы и/или ингибиторы биосинтеза лейкотриенов [например, zileuton и BAY1005 (CA реестр 128253-31-6)]; (6) антагонисты рецептора гистамина H1/антигистаминные средства (т.е. любые соединения, способные блокировать, ингибировать, уменьшать или иным образом нарушать взаимодействие гистамина с его рецептором), включая, в качестве неограничивающих примеров: астемизол, акривастин, антазолин, азатадин, азеластин, астамизол, бромфенирамин, малеат бромфенирамина, карбиноксамин, каребастин, цетиразин, хлорфенирамин, малеат хлорфенирамина, циметидин, клемастин, циклизин, ципрогептадин, дезкарбоэтоксилоратадин, дексхлорфенирамин, диметинден, дифенгидрамин, дифенилпиралин, сукцинат доксиламина, доксиларнин, эбастин, эфлетиризин, эпинастин, фамотидин, фексофенадин, гидроксизин, гидроксизин, кетотифен, левокабастин, левоцетиризин, левоцетиризин, лоратидин, меклизин, мепирамин, меквитазин, метдилазин, миансерин, мизоластин, ноберастин, норастернизол, норазтемизол, фениндамин, фенирамин, пикумаст, прометазин, пинламин, пирирамин, ранитидин, темеластин, терфенадин, тримепразин, трипеленамин и трипролидин; (7) антихолинергические средства, включая в качестве неограничивающих примеров: атропин, бензатропин, бипериден, флутропиум, хиосциамин (например, Levsin®, Levbid®, Levsin/SL®, Anaspaz®, Levsinex timecaps®, NuLev®), илутропиум, ипратропиум, бромид ипратропиума, метскополамин, оксипутилин, респензепин, скополамин, и тиотропий; (8) противокашлевые средства, включая в качестве неограничивающих примеров: декстрометорфан, кодеин и гидроморфон; (9) противоотечные средства, включая в качестве неограничивающих примеров: псевдоэфедрин и фенилпропаноламин; (10) отхаркивающее средство, включая в качестве неограничивающих примеров: гвайфенезин, гвайколсульфат, терпин, хлорид аммония, гвайколат глицерина и йодированный глицерин; (11) бронходилататоры, включая в качестве неограничивающих примеров: теофиллин и аминофиллин; (12) противовоспалительные средства, включая в качестве неограничивающих примеров: флурибипрофен, диклофенак, индометацин, кетопрофен, S-кетопрофен, теноксикам; (13) ингибиторы PDE (фосфодиэстеразы), включая в качестве неограничивающих примеров описываемые в настоящем документе; (14) рекомбинантное гуманизованное моноклональное антитело [например, ксолаир (называемый также омализумаб), rh мкмаб и тализумаб]; (15) гуманизованные легочные сурфактанты, включая рекомбинантные формы сурфактантных белков SP-B, SP-C или SP-D [например, SURFAXIN®, ранее известный как dsc-104 (Discovery Laboratories)], (16) средства, ингибирующие эпителиальные натриевые каналы (ENaC), такие как амилорид и родственные соединения; (17) противомикробные средства, используемые для лечения легочных инфекций, такие как ацикловир, амикацин, амоксициллин, доксициклин, сульфаметоксазол триметоприн, амфотерицин В, азитромицин, клэритромицин, рокситромицин, клэритромицин, цефалоспорины (цефалоспирин, цефметазол и т.д.), ципрофлоксацин, этамбутол, гентимицин, ганцикловир, имипенем, изониазид, итраконазол, пенициллин, рибавирин, рифампин, рифабутин, амантадин, римантадин, стрептомицин, тобрамицин и ванкомицин; (18) средства, активирующие секрецию хлорида через Ca<sup>++</sup>-зависимые каналы хлоридных ионов (такие как агонисты пуриnergических рецепторов (P2Y(2))); (19) средства, уменьшающие вязкость мокроты, такие как человеческая рекомбинантная ДНКазы 1, (Pulmozyme®); (20) нестероидные противовоспалительные средства (ацетамин, ацетаминофен, ацетилсалициловая кислота, алклофенак, алминопрофен, апазон, аспирин, беноксапрофен, безиперилон, буклоксовая кислота, карпрофен, клиданак, диклофенак, диклофенак, дифлунизал, дифлунизал, этодолак, фенбуфен, фенбуфен, фенклофенак, фенклозловая кислота, фенпрофен, фентиазак, фепразон, флуфенамовая кислота, флуфенисал, флуфенисал, флупрофен, флупрофен, флупрофен, фуорофенак, ибуфенак, ибупрофен, индометацин, индометацин, индопрофен, изоксепак, изоксикам, кетопрофен, кетопрофен, кеторолак, меклофенамовая кислота, меклофенамовая кислота, мефенамовая кислота, мефенамовая кислота, миропрофен, мофебутазон, набуметон оксапрозин, напроксен, напроксен, нифлумовая кислота, оксапрозин, окспинак, оксифенбутазон, фенацетин, фенилбутазон, фенил-

бутазон, пироксикам, пироксикам, пирпрофен, пранопрופן, судоксикам, теноксикам, сульфасалазин, сулиндак, сулиндак, супрофен, тиапрофеновая кислота, тиопинак, тиоксапрофен, толфенамовая кислота, толметин, толметин, зидометацин и зомепирак); и (21) антиоксидантные лекарственные средства в виде аэрозолей, такие как S-нитрозоглутатион.

#### 1.2.2.12. Противодиабетические средства.

Пептиды-агонисты GСС, описываемые в настоящем документе, можно использовать в терапевтической комбинации с одним или несколькими противодиабетическими средствами, включая в качестве неограничивающих примеров: агонисты PPAR $\gamma$ , такие как глитазоны (например, WAY-120,744, AD 5075, балаглитазон, циглитазон, дарглитазон (CP-86325, Pfizer), энглитазон (CP-68722, Pfizer), изаглитазон (MIT/J&J), MCC-555 (Mitsubishi, описанный в US5594016), пиоглитазон (например, такой как Actos<sup>TM</sup> пиоглитазон; Takeda), розиглитазон (Avandia<sup>TM</sup>; Smith Kline Beecham), малеат розиглитазона, троглитазон (Rezulin<sup>®</sup>, описанный в US4572912), ривоглитазон (CS-O1 1, Sankyo), GL-262570 (Glaxo Wellcome), BRL49653 (описанный в WO98/05331), CLX-0921, 5-BTZD, GW-0207, LG-100641, JJT-501 (JPNT/P&U), L-895645 (Merck), R-119702 (Sankyo/Pfizer), NN-2344 (Dr. Reddy/NN), YM-440 (Yamanouchi), LY-300512, LY-519818, R483 (Roche), T131 (Tularik) и т.п. и соединения, описанные в US4687777, US5002953, US5741803, US5965584, US6150383, US6150384, US6166042, US6166043, US6172090, US6211205, US6271243, US6288095, US6303640, US6329404, US5994554, WO97/10813, WO97/27857, WO97/28115, WO97/28137, WO97/27847, WO00/76488, WO03/000685, WO03/027112, WO03/035602, WO03/048130, WO03/055867 и их фармацевтически приемлемые соли; бигуаниды, такие как гидрохлорид метформина (гидрохлорид диамида N,N-диметилиминодидикарбонимида, такой как Glucophage<sup>TM</sup>, Bristol-Myers Squibb); гидрохлорид метформина с глибуридом, такой как Glucovance<sup>TM</sup>, Bristol-Myers Squibb); буформин (диамид N-бутилимидокарбонимида); этоформин (1-бутил-2-этилбигуанид, Schering A. G.); другие формы солей метформина (включая те, где соль выбрана из группы из ацетата, бензоата, цитрата, фумарата, эмбоната, хлорфеноксиацетата, гликолята, пальмоата, аспартата, метансульфоната, малеата, парахлорфеноксиизобутирата, формата, лактата, сукцината, сульфата, тартрата, циклогексанкарбоксилата, гексаноата, октаноата, деканоата, гексадеканоата, октодеканоата, бензолсульфоната, триметоксибензоата, паратолюолсульфоната, адамантанкарбоксилата, гликоксилата, глутамата, пирролидонкарбоксилата, нафталинсульфоната, 1-глюкозафосфата, нитрата, сульфита, дитионата и фосфата) и феноформин; ингибиторы протеинтирозинфосфатазы-1В (PTP-1B), такие как A-401674, KR 61639, OC-060062, OC-83839, OC-297962, MC52445, MC52453, ISIS 113715 и описанные в WO99/585521, WO99/58518, WO99/58522, WO99/61435, WO03/032916, WO03/032982, WO03/041729, WO03/055883, WO02/26707, WO02/26743, JP2002114768, и их фармацевтически приемлемые соли и эфиры; сульфонилкарбамиды, такие как ацетогексамид (например, Dymelor, Eli Lilly), карбутамид, хлорпропамид (например, Diabinese<sup>®</sup>, Pfizer), глиамилид (Pfizer), гликлазид (например, Diamcron, Servier Canada Inc), глимепирид (например, описанный в US4379785, такой как Амарил, Aventis), глипентид, глипизид (например, глюкотрол или глюкотрол XL с продленным высвобождением, Pfizer), глихидон, глисоламид, глибурид/глибенкламид (например, микроназа или глиназа Prestab, Pharmacia & Upjohn, и Diabeta, Aventis), толазамид (например, толиназа) и толбутамид (например, ориназа), и их фармацевтически приемлемые соли и эфиры; меглитиниды, такие как репаглинид (например, Prandin<sup>®</sup>, Novo Nordisk), KAD1229 (PF/Kissei), и натеглинид (например, Starlix<sup>®</sup>, Novartis), и их фармацевтически приемлемые соли и эфиры; ингибиторы  $\alpha$ -глюкозидгидролазы (или ингибиторы глюкозида), такие как акарбоза (например, Precose<sup>TM</sup>, Bayer, описанный в US4904769), миглитол (такой как GLYSET<sup>TM</sup>, Pharmacia & Upjohn, описанный в US4639436), камиглибоза (метил-6-дезоксигликопиранозид, Marion Merrell Dow), воглибоза (Takeda), адипозин, эмглитат, прадиимидин-Q, салбостатин, СКD-711, MDL-25637, MDL-73945 и MOR 14, и соединения, описанные в US4062950, US4174439, US4254256, US4701559, US4639436, US5192772, US4634765, US5157116, US5504078, US5091418, US5217877, US51091 и WO01/47528 (полиамины); ингибиторы  $\alpha$ -амилазы, такие как тендаместат, трестатин и A1-3688, и соединения, описанные в US4451455, US4623714 и US4273765; ингибиторы SGLT2, включая описанные в US6414126 и US6515117; ингибиторы  $\alpha$ P2, такие, как описано в US6548529; средства, повышающие секрецию инсулина, такие как линоглирид, A-4166, форскилин, дибутирил цАМФ, изобутилметилксантин (IBMX) и их фармацевтически приемлемые соли и эфиры; ингибиторы окисления жирных кислот, такие как кломоксир и этомоксир, и их фармацевтически приемлемые соли и эфиры; антагонисты A2, такие как мидаглизол, изаглидол, дериглидол, идазоксан, эроксан и флупараоксан, и их фармацевтически приемлемые соли и эфиры; инсулин и родственные соединения (например, миметики инсулина), такие как биота, LP-100, новарапид, инсулин детемир, инсулин лизпро, инсулин гларгин, инсулинцинкавая суспензия (ленте и ультраленте), инсулин Lys-Pro, GLP-I (1-36) амид, GLP-I (73-7) (инсулинтропин, описанный в US5614492), LY-315902 (Lilly), GLP-I (7-36)-NH<sub>2</sub>, AL-401 (Autoimmune), конкретные композиции, как описано в US4579730, US4849405, US4963526, US5642868, US5763396, US5824638, US5843866, US6153632, US6191105 и WO85/05029, и инсулин приматов, грызунов или кролика, включая их биологически активные варианты, включая аллельные варианты, более предпочтительно, инсулин человека, доступный в рекомбинантной форме (источники инсулина человека включают в себя фарма-

цветически приемлемые и стерильные составы, такие как доступные из Eli Lilly (Indianapolis, Ind. 46285), как H MKMulin™ (источник рДНК инсулина человека), см. также THE PHYSICIAN'S DESK REFERENCE, 55.sup.th Ed. (2001) Medical Economics, Thomson Healthcare (описывающий другие пригодные виды инсулина человека); нетиазолидиндионовые средства, такие как JT-501 и фарглитазар (GW-2570/GI-262579), и их фармацевтически приемлемые соли и эфиры; двойные агонисты PPAR $\alpha/\gamma$ , такие как AR-HO39242 (Astrazeneca), GW-409544 (Glaxo-Wellcome), BVT-142, CLX-0940, GW-1536, GW-1929, GW-2433, KRP-297 (Kyorin Merck; 5-[(2,4-диоксо-1,2,4-тиазолидинил)метил]метокси-N-[[4-(трифторметил)фенил]метил]бензамид), L-796449, LR-90, MK-0767 (Merck/Kyorin/Banyu), SB 219994, мураглитазар (BMS), тезаглитазар (Astrazeneca), реглитазар (JT-501) и описанные в WO99/16758, WO99/19313, WO99/20614, WO99/38850, WO00/23415, WO00/23417, WO00/23445, WO00/50414, WO01/00579, WO01/79150, WO02/062799, WO03/004458, WO03/016265, WO03/018010, WO03/033481, WO03/033450, WO03/033453, WO03/043985, WO031053976, Патентной заявке США серийный No. 09/664598, поданной 18 сентября 2000 г., Murakami et al. Diabetes 47, 1841-1847 (1998), и их фармацевтически приемлемые соли и эфиры; другие инсулин-сенситизирующие лекарственные средства; агонисты рецептора VPAC2; модуляторы GLK, такие как описанные в WO03/015774; модуляторы ретиноидов, такие как описанные в WO03/000249; ингибиторы GSK 3 $\beta$ /GSK 3, такие как 4-[2-(2-бромфенил)-4-(4-фторфенил-1H-имидазол-5-ил)пиридин и соединения, описанные в WO03/024447, WO03/037869, WO03/037877, WO03/037891, WO03/068773, EP1295884, EP1295885, и т.п.; ингибиторы гликогенфосфоорилазы (HGLPa), такие как CP-368,296, CP-316,819, BAYR3401, и соединения, описанные в WO01/94300, WO02/20530, WO03/037864, и их фармацевтически приемлемые соли или эфиры; стимуляторы поглощения АТФ, такие как описанные в WO03/007990; TRB3 ингибиторы; лиганды ваниллоидного рецептора, такие как описанные в WO03/049702; гипогликемические средства, такие как описанные в WO03/015781 и WO03/040114; ингибиторы киназы-3 гликогенкиназы, такие как средства, описанные в WO03/035663, такие как описанные в WO99/51225, US20030134890, WO01/24786 и WO03/059870; отвечающий на инсулин ДНК-связывающий белок-1 (IRDBP-I), как описано в WO03/057827, и т.п.; антагонисты аденозина A2, такие как описанные в WO03/035639, WO03/035640 и т.п.; агонисты PPAR $\delta$ , такие как GW 501516, GW 590735, и соединения, описанные в JP10237049 и WO02/14291; ингибиторы дипептидилпептидазы IV (DP-IV), такие как тиазолидид изолейцина, NVP-DPP72 8A (1-[[[2-[(5-циано-2-пиридин-2-ил)амино]этил]амино]ацетил]-2-циано-(S)-пирролидин, описанный в Hughes et al, Biochemistry, 38(36), 11597-11603, 1999), P32/98, NVP-LAF-237, P3298, TSL225 (триптофил-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-3-карбоновая кислота, описанная в Yamada et al, Bioorg. & Med. Chem. Lett. 8 (1998) 1537-1540), валинпирролидид, TMC-2A/2B/2C, ингибиторы CD-26, FE999011, P9310/K364, VIP 0177, DPP4, SDZ 274-444, 2-циано-пирролидины и 4-циано-пирролидины, как описано в Ashworth et al, Bioorg. & Med. Chem. Lett., Vol. 6, No. 22, pp 1163-1166 и 2745-2748 (1996), и соединения, описанные в US6395767, US6573287, US6395767 (описанные соединения включают в себя BMS-477118, BMS-471211 и BMS 538,305), WO99/38501, WO99/46272, WO99/67279, WO99/67278, WO99/61431WO03/004498, WO03/004496, EP1258476, WO02/083128, WO02/062764, WO03/000250, WO03/002530, WO03/002531, WO03/002553, WO03/002593, WO03/000180, и WO03/000181; агонисты GLP-I, такие как экзендин-3 и экзендин-4 (включая полипептид из 39 аминокислот синтетический экзендин-4, называемый Exenatide®), и соединения, описанные в US2003087821 и NZ 504256, и их фармацевтически приемлемые соли и эфиры; пептиды, включая амлинтид и Symlin® (ацетат прамлинтида); и активаторы гликокиназы, такие как описанные в US2002103199 (конденсированные гетероароматические соединения) и WO02/48106 (изоиндолин-1-он-замещенные соединения пропионамида).

Полное содержание всех патентов, патентных заявок и публикаций, упомянутых в настоящем документе, таким образом, приведено в качестве ссылки. Однако, когда содержание патентной заявки или публикации, содержащей точные определения, приведено в качестве ссылки, эти точные определения следует понимать как применимые к приведенному патенту, патентной заявке или публикации, в которых они обнаружены, а не к остальному тексту этой заявки. В случае конфликта, настоящее описание, включая определения, имеет преимущество. Процитированные в настоящем документе ссылки не следует признавать как известный уровень техники для изобретения.

Следует понимать, что в то время как изобретение описано в комбинации с предпочтительными конкретными вариантами его осуществления, вышеизложенное описание предназначено для иллюстрации, а не ограничения объема изобретения. Специалистам в данной области понятно, что можно вносить различные изменения, и эквиваленты можно заменять без отклонения от объема изобретения, и кроме того, что преимущества и модификации очевидны специалистам в области, к которой относится изобретение.

#### Примеры

Пример 1. Получение фрагментов SP-304 с защищенными боковыми цепями (как в WO2012/118972).

Присоединение Fmoc-AA-OH к смоле 2-CITrt Смолу 2-CITrt (10 г, замещение=1,0 ммоль/г смолы) суспендировали в 100 мл дихлорметана (DCM) в течение 5 минут, а затем высушивали. Эстерификацию

проводили с использованием 1,5 эквивалентов Fmoc-аминокислоты и 1,7 эквивалентов диизопропилэтиламина (DIEA) в 80 мл DCM (с минимальным количеством диметилформамида (DMF) для полного растворения аминокислоты) в течение 2 часов. Полученную смолу промывали с помощью 60 мл DCM и блокировали концевые группы с помощью раствора 60 мл DIEA/метанола (1:9, об./об.) в течение 30 минут. Загруженную смолу затем промывали с помощью DCM (6 объемов) 2 раза, DMF (6 объемов) 3 раза и метил-трет-бутилового эфира (MTBE) (6 объемов) 3 раза, и высушивали в высоком вакууме. Замещение защищенной Fmoc смолы определяли посредством анализа высвобождения Fmoc. Наконец, проводили снятие защиты группой Fmoc с помощью смеси из 5% пиперидина, 1% 1,8-дiazобидибензо[5,4,0]ундец-7-ена (DBU) и 1% N-гидроксисбензотриазола (HOBT) в DMF (10 объемов) 2 раза, и смолу промывали и высушивали в высоком вакууме для получения конечной смолы для синтеза пептидов. Результаты экспериментов перечислены в табл. VIII ниже.

Таблица VIII. Получение смолы H-Gly-2ClTrt и H-Leu-2ClTrt

Смола 2-ClTrt с аминокислотой	Масштаб синтеза (ммоль)	Замещение загруженной смолы по анализу высвобождения Fmoc	Выход (масса, % выхода)
Смола H-Gly-2ClTrt	4,16	0,57 ммоль/г смолы	6 г, 82%
Смола H-Leu-2ClTrt	5,20	0,81 ммоль/г смолы	6,4 г, 100%
Смола H-Gly-2ClTrt	300	0,80 ммоль/г смолы	328,6 г, 88%
Смола H-Leu-2ClTrt	300	0,75 ммоль/г смолы	338,5 г, 84%

Синтез фрагментов А и В с защищенными боковыми цепями.

Смолу H-Gly-2-ClTrt или смолу H-Leu-2-ClTrt суспендировали в DMF (10 объемов) в течение 20 минут, затем высушивали. Полученную смолу промывали DMF (10 объемов) в течение 5 минут. Сборку цепей проводили с использованием общепринятых химических реакций с Fmoc. В общем, 1,5 эквивалентов Fmoc-аминокислоты и 1,5 эквивалентов HOBT растворяли в DMF (4,5 объемов), с последующим добавлением 1,5 эквивалентов DIEA. Затем полученный раствор охлаждали до ниже 5°C с помощью ледяной-водяной бани и активировали добавлением 1,5 эквивалентов HBTU. DCM (1,5 объемов) добавляли к смоле, с последующим добавлением раствора активированной Fmoc-аминокислоты. Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 часов и завершение ацилирования контролировали посредством теста Кайзера. Если тест Кайзера указывал на присутствие не вступившего в реакцию амина после 2 часов, необходимо было повторное присоединение тем же самым способом с использованием 1,0 эквивалента Fmoc-аминокислоты, 1,0 эквивалента HOBT и 1,0 эквивалента DIEA. Кэпирование в основном осуществляли посредством ацилирования не вступившего в реакцию амина с помощью раствора смеси уксусного ангидрида/пиридина/DMF. Пептидную последовательность собирали посредством повторения вышеуказанной процедуры кэпирования с соответствующими производными Fmoc-аминокислоты в последовательности от C- до N-конца. Присоединение остатка Fmoc-Cys(Trt)-OH или Fmoc-Cys(Act)-OH осуществляли с использованием активации in situ 2,0 эквивалентов Fmoc-Cys(Trt)-OH или Fmoc-Cys(Act)-OH, 2,0 эквивалентов HOBT и 2,0 эквивалентов DIC в способе DCM/DMF для минимизации рацемизации цистеина.

После завершения стадии синтеза, смолу с пептидом тщательно промывали с помощью DMF (10 объемов), MTBE (10 объемов), DMF (10 объемов, 3 раза) и MTBE (10 объемов, 3 раза) и затем высушивали в вакуумной печи до постоянной массы.

Пептид с защищенными боковыми цепями отщепляли от смолы с использованием 1% TFA/DCM (10 объемов) 3 раза, 5 минут каждый раз, и отщепленные фракции собирали в пиридине каждый раз (соотношение объемов 1:1 к TFA в каждой отщепленной фракции). Смолу с пептидом промывали с помощью DCM (7,5 объемов). Фракции комбинировали и концентрировали в вакууме до 10% от исходного объема, и полученный раствор разводили этанолом (3 объема) и концентрировали до 50% от исходного объема. Наконец, пептид осаждали добавлением воды (1 объем). Твердое вещество собирали вакуумной фильтрацией или центрифугированием и промывали водой дважды. Продукт сушили в вакууме до постоянной массы и подвергали анализу ВЭЖХ и ES-MS. Результаты экспериментов представлены в табл. IX ниже.

Таблица IX Получение фрагментов А и В

Фрагмент	Масштаб синтеза (ммоль)	Масса смолы с конечным пептидом и выход по увеличению массы смолы	Полученный выход фрагмента (% выхода)	Чистота (HPLC)	Массы фрагментов Рассчитано/ Обнаружено*
FmocAA7-14OH (1)	3,4	9,5 г, 66,4%	3,337 г (61,3%)	87,8%	1599,95/1598,86
WocAA1-6OH (2)	5,2	11,8 г, 76,3%	5,896 г (76,9%)	94,6%	1474,80/1473,94
FmocAA7-14OH (1')	200	479,7 г, 74,4%	213,7 г (66,8%)	90,1%	1599,95/1598,81
WocAA1-6OH (2')	200	544,0 г, 101,3%	247,0 г (83,7%)	94,2%	1474,80/1473,94

\* рассчитано=средняя молекулярная масса; обнаружено=моноизотопная масса по ES-MS.

Пример 2. Конденсация фрагментов SP-304 в растворе (как в WO2012/118972).

Синтез фрагмента С: Н-АА15-16OtBu (1-1) Раствор Fmoc-Cys(Acm)-OH (124,38 г, 0,3 моль), Н-Leu-OtBu.HCl (67,12 г, 0,3 моль) и НОВt (40,54 г, 0,3 моль) в DMF (600 мл) охлаждали до -5°C. Добавляли гексафторфосфат 2-[1H-бензотриазол-1-ил]-1,1,3,3-тетраметилуруния (НВТУ) (113,79 г, 0,3 моль) и полностью растворяли. DIEA (183,1 мл, 1,05 моль) добавляли по каплям в течение периода 105 минут при той же температуре с хорошим перемешиванием, поддерживая рН смеси между 6 и 7. Перемешивание продолжали в течение 15 минут при 0°C, и реакцию мониторировали с помощью TLC. Реакционную смесь разбавляли этилацетатом (EtOAc) (600 мл) и 5% H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (300 мл). Органический слой отделяли, и водный слой экстрагировали с помощью EtOAc (600 мл). Объединенные экстракты промывали 5% H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (2 раза), H<sub>2</sub>O (1 раз), насыщенным NaHCO<sub>3</sub> (3 раза), H<sub>2</sub>O (2 раза) и рассолом (2 раза). Раствор сушили над безводным MgSO<sub>4</sub>, фильтровали и выпаривали в вакууме досуха. Продукт перекристаллизовывали из петролейного эфира/EtOAc (3:1) и высушивали: 166,75 г (выход 95,0%, чистота 99,0%).

Fmoc-Cys(Acm)-Leu-OtBu (166,75 г, 0,277 моль) растворяли в растворе 10% пиперидина/DCM (810 мл) при перемешивании. Реакцию мониторировали с помощью TLC. После завершения реакции за 3 часа, растворитель и летучие вещества удаляли с использованием роторного вакуумного испарителя. Полученный маслянистый материал растирали с петролейным эфиром для удаления побочных продуктов декантацией. Осадок, сироп, собирали в EtOAc и промывали смесью растворов NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>/Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (рН 6), затем насыщенным NaHCO<sub>3</sub>, очищенной H<sub>2</sub>O и рассолом. Органический слой сушили над безводным MgSO<sub>4</sub>. Выпариванием растворителя и летучих веществ получали маслянистый продукт Н-Cys(Acm)-Leu-OtBu (1-1) (73,23 г, выход: 73,1%, чистота: 98,0%).

Синтез фрагмента В-С: НАА7-16OtBu (2-3).

Раствор Fmoc-AA7-14OH (1') (198,3 г, 124,0 ммоль), Н-АА15-16OtBu (1-1) (52,3 г, 148,8 ммоль) и Cl-НОВt (21,0 г, 124,0 ммоль) в DMF (2500 мл) охлаждали до -5°C. Добавляли НВТУ (51,7 г, 136,4 ммоль) и полностью растворяли. DIEA (54,1 мл, 310 ммоль) добавляли затем при перемешивании, поддерживая рН смеси между 6 и 7. Перемешивание продолжали в течение 30 минут при 0-5°C. Реакционной смеси позволяли медленно нагреваться до 20-27°C, и перемешивание продолжали в течение полутора часов. Затем смесь выливали в предварительно охлажденную (10-20°C) 0,5 Н водную HCl (20 л). Суспензию выдерживали при 20-25°C в течение 45 минут. Твердое вещество собирали посредством фильтрации суспензии через воронку из фриттованного стекла со средним размером пор и последующей промывки 0,5 Н водной HCl (3500 мл, 2 раза), очищенной водой (3500 мл), насыщенным водным NaHCO<sub>3</sub> (3500 мл, 2 раза) и очищенной водой (3500 мл, 2 раза), и простым диэтиловым эфиром (2000 мл, 2 раза). Наконец, влажный, неочищенный пептид FmocAA7-16OtBu сушили в десикаторе в высоком вакууме при комнатной температуре с получением 238,22 г продукта (чистота, 85,27%, выход 98,9%).

К раствору FmocAA7-16OtBu (234,88 г, 120,9 ммоль) в DMF (2350 мл) добавляли пиперидин (123 мл, 1245,2 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 25°C в течение двух с половиной часов, а затем смесь выливали в н-гексан (20,0 л). Полученный липкий преципитат растирали с н-гексаном (3500 мл, 7 раз). Липкий преципитат растворяли в минимальном количестве DMF (2000 мл), а затем выливали в 0,5 Н водную HCl (10 объемов). Твердое вещество собирали фильтрацией и промывали очищенной водой (3 раза), а затем простым диэтиловым эфиром (3000 мл, 3 раза), высушивали на воздухе в течение ночи, а затем высушивали в вакууме с получением продукта (2-3) (НАА7-16OtBu) (183,67 г, чистота: 68,4%, выход %: 88,33%, ES-MS, MW: рассчитано=1721,2, обнаружено=1719,84).

Синтез полностью защищенного А-В-С: WocAA1-16OtBu (3-3).

Раствор НАА7-16OtBu (2-3) (183,67 г, 106,71 ммоль), WocAA1-6-OH (2') (157,65 г, 106,71 ммоль) и 6-Cl-НОВt (18,141 г, 106,71 ммоль) в DMF (3 л) охлаждали до -3-0°C. Добавляли НВТУ (44,523 г, 117,38 ммоль) и полностью растворяли. DIEA (55,8 мл, 320,13 ммоль) добавляли затем при перемешивании, поддерживая рН смеси 6. Перемешивание продолжали в течение 20 минут при -5-0°C. Реакционной сме-

си позволяли медленно нагреваться до 25°C, и перемешивание продолжали в течение 2,5 часов, с последующим дополнительным добавлением HBTU (4,048 г, 10,671 ммоль) и DIEA (2 мл). Перемешивание продолжали в течение следующих 1,5 часов. Полученную смесь выливали в MeOH (15 л), и преципитат собирали и промывали смесью MeOH/DMF (5:1, об./об.) (2 раза, 3 л), 0,1 N HCl (3 л, 2 раза), насыщенным NaHCO<sub>3</sub> (2 раза), очищенной водой (3 раза), простым диэтиловым эфиром (2 раза) и высушивали в вакууме с получением продукта ВосAA1-16OtBu (3-3) (278,0 г, выход 82,0%. Примечание: чистоту определяли после снятия защиты).

Синтез частично защищенного линейного SP-304: HAA1-16OH (4-4).

Смесь TFA/TIS/EDT (8:1:1, 2400 мл) охлаждали до (0-5°C) под азотом, и по частям добавляли ВосAA1-16OtBu (3-3) (201 г). Полученную суспензию перемешивали при 0-10°C в течение 30 мин, затем реакционному раствору позволяли нагреваться до 20-25°C на водяной бане (10 минут), и перемешивание продолжали в течение дополнительных 1 час и 50 мин при той же температуре. Реакционную смесь выливали в предварительно охлажденный (10°C) МТВЕ (18 л). Некоторое количество тепла выделялось в ходе добавления раствора пептида/TFA, и внутренняя температура поднималась до 25°C. Затем полученную суспензию выдерживали в ледяной-водяной бане (5-10°C) в течение 40 мин. Преципитат собирали фильтрацией и промывали МТВЕ (2000 мл, 4 раза), и высушивали в вакууме над P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, получая 148,37 г грязно-белого продукта, HAA1-16OH (4-4) (частота: 62,23%, ES-MS, MW: рассчитано=1828,07, обнаружено=1826,67).

Пример 3. Окислительная циклизация и очистка SP-304 посредством полистирольной абсорбирующей смолы (как в WO2012/118972).

HAA1-16OH (4-4) (0,58 г) растворяли в 5 мл ацетонитрила и разводили 575 мл очищенной воды. Раствор доводили до pH 8-9 with 25% раствора аммиака, и добавляли 3% пероксид водорода (0,58 мл), затем реакционную смесь поддерживали в течение часа с мониторингом образования дисульфида посредством ВЭЖХ. Затем азот пропускали через реакционную смесь, и раствор подкисляли до pH 3-4 с помощью уксусной кислоты (71,8% по ВЭЖХ, расчетное выделение 98,5% от площади пика). В полученную смесь по каплям добавляли 1% иод/ACN в течение периода 10 минут с хорошим перемешиванием, пока сохранялся желтый цвет иода. Перемешивание продолжали в течение 30 минут при 17-20°C. Иод инактивировали добавлением 0,5 М водной аскорбиновой кислоты, пока желтая окраска не исчезала. Затем pH смеси доводили до 6-7 с помощью 25% раствора аммиака (51,0% по ВЭЖХ, расчетное выделение 50% от площади пика).

Полистирольной абсорбирующей смолой (D101) набивали колонку CM 3(ID)×9(л) и хорошо уравновешивали б объемами колонки (CV) этанола, 4 CV очищенной воды, 2 CV 5% водной HCl, 4 CV очищенной воды, 2 CV 2% водного NaOH и 4 CV очищенной воды при скорости потока 3 CV/час. Затем раствор окисленного пептида наносили на колонку при 2 CV/час. После нанесения, колонку промывали 2 CV очищенной воды при 2 CV/час. Элюцию проводили нанесением 80% водного этанола на колонку при 2 CV/час. Фракции с поглощением УФ при 215 нм собирали и объединяли (125 мл). Затем объединенные фракции выпаривали в вакууме до 10% от исходного объема, и суспензию осаждали с помощью 125 мл холодного МТВЕ (10 объемов). Твердое вещество собирали фильтрацией и высушивали в вакууме с получением неочищенного SP-304 (0,282 г, 55,0% по ВЭЖХ).

Пример 4. Окислительная циклизация и очистка SP-304 посредством ОФ-ВЭЖХ (как в WO2012/118972).

Неочищенный пептид (4-4), полученный, как описано в примере 2, растворяли в 10% водном ACN до приблизительной концентрации 1,25 г/л с постоянным перемешиванием посредством механической мешалки. pH раствора пептида доводили до 8,5-9,0 с помощью 20% водного аммиака, и полученный раствор интенсивно перемешивали без крышки. Добавляли пероксид водорода (3%, 0,25 эквивалентов), и перемешивание продолжали при комнатной температуре в течение 60 минут. Анализ ВЭЖХ показал полное расходование линейного пептида. Затем раствор подкисляли до pH 3-4 с помощью 10% водного АсОН. Полученный раствор разбавляли до концентрации приблизительно 1 г/л очищенной водой. Добавляли иод (1,3% в ACN) с интенсивным перемешиванием в течение периода 10 минут, пока сохранялся желтый цвет иода. С приблизительно 10-минутными интервалами образцы отбирали из смеси и анализировали посредством ОФ-ВЭЖХ. Пик моноциклизованного пептида постепенно уменьшался, и появлялся новый пик (дициклизованного пептида). Окисление завершалось, когда не оставалось пика моноциклизованного пептида. Избыток иода нейтрализовали небольшим количеством аскорбиновой кислоты. Полученный раствор наносили на колонку с C18 для ОФ-ВЭЖХ, набитую Kromasil 100Å, 10 мкм силикагелем. После нанесения раствора дициклизованного пептида, 3 объема колонки раствора 90% подвижной фазы А (1,0% ТЕА, 0,5% Н<sub>3</sub>Р<sub>4</sub> в Н<sub>2</sub>О, pH 7) и 10% подвижной фазы В (ацетонитрила) наносили для смыва линий нанесения. Затем запускали градиент от 10 до 30% В в течение 80 минут. Фракции собирали в записанные интервалы, когда началась элюция основного пика. Чистоту каждой фракции контролировали посредством аналитической ОФ-ВЭЖХ. Фракции чистотой ≤95% (не удовлетворяющие критериям основного пула) объединяли соответственно и перерабатывали далее с использованием такой же буферной системы и параметров градиентной элюции, указанных выше. Все фракции с чистотой ≥95%



объединяли и хранили при 2-8°C. Раствор очищенного пептида разбавляли в соотношении 1:1 очищенной водой, а затем наносили на такую же колонку для ОФ-ВЭЖХ. Обмен противоионов проводили посредством промывки колонки 2-3 объемами колонки 0,5 М водного ацетата аммония, с последующей градиентной элюцией от 90% С (0,2% водный раствор АсОН) и 10% подвижной фазы D (АСN) до 50% подвижной фазы С и 50% подвижной фазы D в течение 50 минут. Фракции собирали в записанные интервалы и мониторировали посредством аналитической ОФ-ВЭЖХ. Фракции ( $\geq 95\%$ ) собирали и лиофилизировали с получением конечного сухого пептида, 68,0 г (96,1% чистоты).

Пример 5. Обессоливание и выделение SP-304 после очистки посредством ОФ-ВЭЖХ (как в WO2012/118972).

После очистки плеканатида посредством ОФ-ВЭЖХ, как описано в примере 4, его обессоливали и выделяли. Кратко, очищенный плеканатид в буфере ацетате аммония/ацетонитриле/воде наносили на колонку, набитую полимерным адсорбентом (макропористой адсорбционной смолой), а затем элюировали смесью спирта/воды. Наконец, спиртовой раствор пептида концентрировали при пониженном давлении, осаждали с помощью простого эфира, например, простого диэтилового эфира или МТВЕ, и высушивали в вакууме для получения конечного продукта.

Отбор смол (полимерных адсорбентов).

Предварительная обработка смол: Полимерные адсорбенты, DA201-C (от Jiangsu Suqing, China; перекрестно сшитый полистирол; площадь поверхности 1200-1400 м<sup>2</sup>/г; средний диаметр пор: 3-4 нм; объем пор: 1,1-1,2 мл/г; объемная плотность: 0,68-0,75 г/мл; удельная плотность: 1,03-1,1 г/мл; влажность: 50-60%; размер частиц: 0,315-1,25 мм  $\geq 95\%$ ; эффективный диаметр: 0,4-0,7 мм; коэффициент однородности:  $\leq 1,6\%$ ), DA201-H (from Jiangsu Suqing, China; перекрестно сшитый полистирол; площадь поверхности  $\geq 800$  м<sup>2</sup>/г; средний диаметр пор: 6-8 нм; объем пор: 1,5-1,8 мл/г; объемная плотность: 0,65-0,70 г/мл; удельная плотность: 1,02-1,07 г/мл; влажность: 55-65%; размер частиц: 0,315-1,25 мм  $\geq 95\%$ ; эффективный диаметр: 0,4-0,7 мм; коэффициент однородности:  $\leq 1,6\%$ ), ADS-5 (от Nankai Hecheng, China; перекрестно сшитый полистирол; площадь поверхности 520-600 м<sup>2</sup>/г; средний диаметр пор: 25-30 нм; объемная плотность: 0,7-0,8 г/мл; влажность: 60-70%; размер частиц: 0,315-1,25 мм  $\geq 95\%$ ; коэффициент однородности:  $\leq 1,6\%$ ), и ADS-8 (от Nankai Hecheng, China; перекрестно сшитый полистирол; площадь поверхности 450-500 м<sup>2</sup>/г; средний диаметр пор: 12-16 нм; объемная плотность: 0,65-0,75 г/мл; влажность: 60-70%; размер частиц: 0,315-1,25 мм  $\geq 95\%$ ; коэффициент однородности:  $\leq 1,6\%$ ) суспендировать в 4-6 объемах этанола в течение ночи. Декантировать или отсосать супернатант с осевшей смолы. Добавить 6-8 объемов деионизированной воды и ресуспендировать смолу с осторожным перемешиванием сверху. Снова декантировать или отсосать супернатант с осевшей смолы. Повторять вышеописанные стадии обработки водой и декантации, пока появление мелких частиц не станет минимальным.

Набивка и регенерация колонки: Ресуспендировать вышеописанные предварительно обработанные смолы 1-2 объемами деионизированной воды для формирования суспензии соответствующей смолы с использованием осторожного встряхивания. Медленно заливать суспензию смолы снизу в колонку для предотвращения захвата воздуха. После полного переноса суспензии смолы в колонку, промыть внутреннюю часть колонки с использованием бутылки с пульверизатором, содержащей деионизированную воду. Открыть выход колонки для формирования осевшего слоя смолы (ID=4 см, H=10 см). Затем слои смол промывали последовательно при скорости потока 3CV в час 4 CV деионизированной воды, 2CV 5% водной HCl, 4CV деионизированной воды, 2CV 2% водного NaOH и наконец, 4 CV деионизированной воды, пока pH элюата не стал приблизительно 7.

Получение образцов для нанесения: 2000 мг лиофилизированного плеканатида растворяли в смеси из 60 мл АСN и 150 мл 0,2% водного АсОН (pH водного АсОН доводили до 4 с помощью 10% водного аммиака). После фильтрации с помощью 1,2 мкм нейлоновой мембраны, фильтрат разбавляли до 250 мл с помощью 0,2% водного АсОН (pH4) и разделяли на 4 части (62,5 мл каждая) для нанесения.

Нанесение образцов на колонки: по 62,5 мл вышеописанного раствора пептида наносили на 4 вышеописанные колонки при скорости потока 2CV/час, соответственно. Элюат после нанесения собирали и тестировали посредством ОФ-ВЭЖХ для оценки абсорбирующей емкости каждой смолы. Абсорбирующая емкость каждой смолы показана в табл. X ниже.

Таблица X

Смолы	Пептид в наносимом образце	Абсорбированный пептид	Соотношение абсорбции
DA201-C	500 мг	303,5 мг	60,7%
DA201-H	500 мг	493,4 мг	98,7%
ADS-5	500 мг	450,5 мг	90,1%
ADS-8	500 мг	466,1 мг	93,2%

Способ ВЭЖХ: устройство для ВЭЖХ: Shimadzu LC-10AD vp; колонка: Kromasil, C18, 4,6×250 мм; подвижная фаза А: 0,1% TFA в воде; подвижная фаза В: 0,1% TFA в ACN; детекция при: 215 нм; температура колонки: 40°C; скорость потока: 1,0 мл/мин; градиент: от 25% В до 45% В в течение 30 мин.

Расчет абсорбирующей емкости: абсорбирующую емкость каждой смолы демонстрировали по соотношению абсорбции пептида, нанесенного на каждую колонку, которое рассчитывали по количеству пептида, абсорбированному на колонке с каждой смолой, деленное на количество пептида в каждом нанесенном образце (500 мг). Количество пептида, абсорбированное на каждой колонке, рассчитывали по формуле ниже:

Количество абсорбированного пептида=Количество пептида в нанесенном образце - Количество пептида в элюате после нанесения=500 мг-62,5 мл×(1,6 мг/мл×площадь пика ВЭЖХ для элюата/площадь пика ВЭЖХ для стандартного раствора пептида).

Промывка колонки деионизированной водой.

Вышеописанные загруженные колонки затем промывали 2CV деионизированной воды при 2CV/час для удаления солей. Элюаты после промывки собирали и анализировали посредством ОФ-ВЭЖХ для определения количества пептида, десорбированного водой с использованием того же самого вышеописанного способа.

Соотношения десорбированных пептидов для каждой смолы перечислены в табл. XI ниже.

Таблица XI

Смолы	Пептид, абсорбированный на смоле	Десорбированный пептид	Соотношение десорбции
DA201-C	303,5 мг	184,5 мг	60,8%
DA201-H	493,4 мг	40,9 мг	8,3%
ADS-5	450,5 мг	41,9 мг	9,3%
ADS-8	466,1 мг	40,1 мг	8,6%

Десорбция пептида с помощью 90% этанола/воды: После промывок 2CV воды, пептид, абсорбированный на каждой колонке, элюировали затем 1-2CV 90% этанола в воде при 2 CV/час. Элюат собирали и анализировали посредством ОФ-ВЭЖХ для определения количества пептида, десорбированного 90% этанолом с использованием того же вышеописанного способа. Соотношения десорбированных пептидов для каждой смолы перечислены в табл. XII ниже.

Таблица XII

Смолы	Пептид, абсорбированный на смоле после промывок 2CV воды	Десорбированный пептид	Соотношение десорбции
DA201-C	119,0 мг	47,6 мг (посредством 2CV этанола)	40%
DA201-H	452,5 мг	452,5 мг (посредством 1,5CV этанола)	100%
ADS-5	408,6 мг	408,6 мг (посредством 1,5 CV этанола)	100%
ADS-8	426,0 мг	426,0 мг (посредством 1,5 CV этанола)	100%

Выделение пептида из этанольного раствора.

Собранный с каждой колонки раствор пептида/этанол/воды концентрировали при пониженном давлении, осаждали с помощью МТВЕ, фильтровали и высушивали в вакууме для получения конечного продукта. Общий выход пептида, обработанного на каждой колонке, показан в табл. XIII ниже.

Таблица XIII

Смолы	Пептид в наносимом образце	Конечный полученный продукт	Суммарный выход
DA201-С	500 мг	52 мг	10,4%
DA201-Н	500 мг	460 мг	92,0%
ADS-5	500 мг	400 мг	80,0%
ADS-8	500 мг	430 мг	86,0%

Вывод из отбора смолы.

По вышеуказанным данным (табл. X-XIII), для смолы DA201-Н показана наилучшая абсорбирующая емкость и наилучшая эффективность десорбции (этанолом) для плеканатида среди смол в эксперименте. Оптимизация способа обессоливания и выделения Отбор растворителей для элюции: Изопропанол и этанол являются двумя общепринятыми растворителями для элюции пептида с полимерных абсорбентов. В табл. XIV показано количество плеканатида, которое возможно растворить в водном растворе этанола или изопропанола в зависимости от об./об. % изопропанола (или этанола): воды.

Таблица XIV

Растворитель	Растворимость
90%IPA/вода	67,5 мг/мл
75%IPA/вода	596,1 мг/мл
50%IPA/вода	635,0 мг/мл
90%EtOH/вода	302,0 мг/мл
75%EtOH/вода	700,0 мг/мл

Воду из раствора пептида/спирта можно удалять азеотропной дистилляцией. В табл. XV показаны свойства бинарных азеотропных смесей этанол/вода и изопропанол/вода.

Таблица XV

Компонент А	Компонент В	Точка кипения А	Точка кипения В	Точка кипения азеотропной смеси	масс.% А в азеотропной смеси
Вода	Этанол	100°C	78,3°C	78,2°C	4%
Вода	Изопропанол	100°C	82,3°C	80,3°C	12,6%

Деградация плеканатида может возникать в ходе длительного хранения раствора пептида/спирта/воды и процесса концентрации. В табл. XVI показаны данные стабильности плеканатида в 75% растворе IPA/воды и 90% EtOH/воды при 23°C.

Таблица XVI

Длительность	Чистота (в 90% водном EtOH) *	Чистота (в 75% водном IPA) *
0 часов	98,5%	98,7%
2 часа	98,4%	98,7%
4 часа	N/A	98,3%
6 часов	98,1%	97,5%
8 часов	N/A	96,6%
10 часов	95,5%	N/A
24 часа	92,0%	N/A
25 часов	N/A	96,1%

\* способ ВЭЖХ: устройство для ВЭЖХ: Shimadzu LC-10AD vp; колонка: Kromasil, C18, 4,6x250 мм; подвижная фаза А: 0,1% TFA в воде; подвижная фаза В: 0,1% TFA в ACN; детекция при: 215 нм; температура колонки: 40°C; ско-

рость потока: 1,0 мл/мин; градиент: от 25 %В до 45% В в течение 30 мин.

По полученным данным тестирования, плеканатид являлся достаточно стабильным при 23°C в растворе спирта/воды в течение 6 часов.

Эксперименты по элюции проводили с использованием смесей изопропанол/вода с различными об./об.%. Соотношение десорбции и содержание воды в элюатах пептидов перечислены в табл. XVII ниже.

Таблица XVII

об./об.% IPA/воды	75% IPA/water	95% IPA/water	100% IPA/water
Содержание воды в элюате пептида*	65,9%	53,0%	49,8%
Соотношение десорбции	100%	100%	90%

75% изопропанол/вода в качестве элюирующего раствора: 500 мг плеканатида (98,1% чистоты) растворяли в смеси 16 мл ACN и 49 мл 0,2% водного AcOH (pH раствора 0,2% AcOH доводили до 4,0 посредством добавления 10% водного NH<sub>4</sub>OH). После фильтрации посредством нейлоновой мембраны 1,2 мкм, раствор пептида наносили на колонку, набитую смолой DA201-H (ID=4 см, H=10 см, набита и предварительно обработана способом, упомянутым ранее) при 2CV/час. После нанесения, колонку промывали 2 CV деионизированной воды при 2CV/час. Затем пептид элюировали посредством 1,5 CV 75% IPA/воды при 2CV/час. Элюцию мониторовали посредством ОФ-ВЭЖХ. Элюат собирали (124 мл, 98,3% чистоты). Анализом Карла Фишера показали воду (65,9% мас.%). В 1-горлую, 500-мл круглодонную колбу помещали 124 мл элюата пептид/IPA/вода, собранного выше (97,6% чистоты, слабая деградация происходила в ходе хранения при 2-8°C в течение 2 суток). Затем колбу помещали в роторный испаритель при пониженном давлении (60 Па) и частично погружали в водяную баню при 23°C. Беловатую суспензию получали посредством вытесняющей подачи приблизительно 622 мл изопропанола в течение 2 часов до приблизительно 1/3 от исходного объема раствора (97,7% чистоты). Анализом Карла Фишера показали воду (0,17% мас.%). К концентрату добавляли 350 мл предварительно охлажденного простого диэтилового эфира, твердое вещество собирали посредством центрифугирования при 3500 об./мин в течение 3 минут и высушивали в вакууме с получением 333 мг конечного продукта (выход 6 6,6%, чистота 97,2% по ВЭЖХ).

95% изопропанол/вода в качестве элюирующего раствора I: 500 мг плеканатида (чистота 98,1%) растворяли в смеси 16 мл ACN и 49 мл 0,2% водного AcOH (pH раствора 0,2% AcOH доводили до 4,0 посредством добавления 10% водного NH<sub>4</sub>OH). После фильтрации посредством 1,2 мкм нейлоновой мембраны, раствор пептида наносили на колонку, набитую смолой DA201-H (ID=4 см, H=10 см, предварительно обработана способом, упомянутым ранее) при 2CV/час. После нанесения, колонку промывали 2 CV деионизированной воды при 2 CV/час. Затем пептид элюировали посредством 1,5 CV 95% IPA/воды при 2CV/час. Элюцию мониторовали посредством ОФ-ВЭЖХ. Элюат собирали (117 мл, чистота 98,1%). Анализом Карла Фишера показали воду (52% мас.%). В 1-горлую, 500-мл круглодонную колбу помещали 117 мл элюата пептид/IPA/вода, собранного выше. Затем колбу помещали в роторный испаритель при пониженном давлении (50 Па) и частично погружали в водяную баню при 23°C. Беловатое твердое вещество получали посредством вытесняющей подачи приблизительно 470 мл изопропанола в течение 130 мин (чистота 97,9%). К вышеописанному твердому веществу добавляли 50 мл предварительно охлажденного простого диэтилового эфира для формирования суспензии и выпаривали при пониженном давлении (50 Па) на роторном испарителе при 23°C досуха. Выход составлял 430 мг конечного продукта (86%). Чистота по ВЭЖХ составляла 97,9%.

95% изопропанол/вода в качестве элюирующего раствора II: 500 мг плеканатида (чистота 98,1%) растворяли в смеси 16 мл ACN и 49 мл 0,2% водного AcOH (pH раствора 0,2% AcOH доводили до 4,0 посредством добавления 10% водного NH<sub>4</sub>OH). После фильтрации посредством 1,2 мкм нейлоновой мембраны, раствор пептида наносили на колонку, набитую смолой DA201-H (ID=4 см, H=10 см, набита и предварительно обработана способом, упомянутым ранее) при 2 CV/час. После нанесения, колонку промывали 2 CV деионизированной воды при 2 CV/час. Затем пептид элюировали посредством 1,5 CV 95% IPA/воды при 2 CV/час. Элюцию мониторовали посредством ОФ-ВЭЖХ. Элюат собирали (118 мл, чистота 98,2%). Анализом Карла Фишера показали воду (53% мас.%). В 1-горлую, 500-мл круглодонную колбу помещали 118 мл элюата пептид/IPA/вода, собранного выше. Затем колбу помещали в роторный испаритель при пониженном давлении (50 Па) и частично погружали в водяную баню при 23°C. Беловатую суспензию (~40 мл) получали посредством вытесняющей подачи приблизительно 330 мл изопропанола в течение 100 мин (чистота 97,7%). К вышеописанной суспензии добавляли 400 мл предварительно охлажденного простого диэтилового эфира для формирования суспензии. После поддержания при температуре окружающей среды в течение 1 часа, твердое вещество собирали посредством центрифугирования при 3500 об./мин в течение 3 минут и высушивали в вакууме с получением 370 мг конечного про-

дукта. Выход составлял 74%. Чистота по ВЭЖХ составляла 97,9%.

95% изопропанол/вода в качестве элюирующего раствора III: 10 г плеканатида обессоливали и осаждали способом, сходным с описанным выше. Интересно, что выход осаднения улучшился до 93%, что является значительным улучшением выхода. Чистота по ВЭЖХ после осаднения составляла 98,47%.

Пример 6. Характеризация лиофилизированного SP-304 и осадненного SP-304 (как в WO2012/118972).

Плеканатид, очищенный посредством лиофилизации, как описано в примере 4, и плеканатид, очищенный посредством осаднения, как описано в примере 5, анализировали для определения значений существенных химических примесей, таких как уровни ацетамида, TFA, ионов аммония и ацетонитрила. Результаты перечислены в таблице ниже.

	Ацетамид	TFA	Ионы аммония	Ацетонитрил
Лиофилизированный плеканатид	356 ppm	0,14%	1,58%	40 ppm
Осажденный плеканатид	<28 ppm (LOQ способа)	0,09%	0,23%	Не детектировано (LOQ 20 ppm)

Как показано по вышеуказанным результатам, способ осаднения обеспечивает значительно сниженные уровни нежелательных технологических примесей.

Плеканатид, очищенный посредством лиофилизации, как описано в примере 4, и плеканатид, очищенный посредством осаднения, как описано в примере 5, измеряли для получения их объемной плотности, насыпной плотности, распределения размера и формы частиц.

Оборудование.

(1) Устройство для тестирования насыпной плотности модели TD-1020;

(2) Акустический просеивающий сепаратор модели L3P;

(3) Оптический микроскоп LINITRON 2850.

Способы.

1) Измерения объемной и насыпной плотности: модифицированный способ USP 1;

a. 100,0 мл мерный цилиндр использовали для лиофилизированного плеканатида,

b. 10,0 мл мерный цилиндр использовали для осадненного плеканатида.

2) Анализ распределения размера частиц;

a. использованные сита: 200, 140, 100, 60, 40 и 30 меш,

b. размер образца: 2 г лиофилизированного плеканатида и 6,4 г осадненного плеканатида.

3) Оптический микроскопический анализ: размер и форма частиц;

a. сухой порошок вручную распределяли на стекле для микроскопа,

b. увеличение: 100 х,

c. нормальные условия освещения (без поляризационных фильтров).

Результаты.

(1) Физические свойства: лиофилизированный плеканатид представляет собой легкий, пушистый и белый порошок. Осажденный плеканатид представляет собой немного грязно-белый порошок.

(2) Объемная и насыпная плотность: в табл. XVIII представлены данные объемной и насыпной плотности для образцов плеканатида, как лиофилизированных, так и осадненных.

Таблица XVIII

Образец плеканатида	Объемная плотность, г/мл	Насыпная плотность, г/мл
Лиофилизированный, партия 101221	0,0332	0,0680
Осажденный, партия 120210	0,486	0,641

Как видно из данных, осадненный плеканатид неожиданно является значительно более плотным, чем лиофилизированный плеканатид. Осажденный плеканатид имеет меньшую тенденцию к образованию пыли в ходе переработки, что предоставляет преимущества увеличенной безопасности и уменьшенных потерь при переработке.

(3) Распределение размера частиц: В табл. XIX обобщен анализ распределения размера частиц. На фиг. 1 данные представлены графически.

Таблица XIX

# размер в меш	Размер частиц (мкм)	Удержанная масса (г)		Удержанный процент	
		Лиофилизирова нный	Осажденны й	Лиофилизирова нный	Осажденный
30	600	0,07	0,45	3,6%	7,1%
40	425	0,26	0,17	13,3%	2,7%
60	250	0,17	0,67	8,7%	10,5%
100	150	0,51	2,08	26,0%	32,7%
140	106	0,65	1,22	33,2%	19,2%
200	75	0,24	0,68	12,2%	10,7%
Поддон	<75	0,06	1,09	3,1%	17,1%
	Всего	1,96	6,36	100,0%	100,0%

Как показано в табл. XIX и на фиг. 1, распределения размера частиц являются различными для обоих типов плеканатида. В ходе анализа наблюдали, что осажденный плеканатид содержал некоторые более крупные частицы, которые можно было легко разрушить. Отмечено также, что лиофилизированный плеканатид, по-видимому, являлся хлопьевидным и прилипал сверху и снизу сит, в то время как прилипание не наблюдали для осажденного плеканатида. Это указывает на лучшие технологические свойства осажденного плеканатида.

(4) Размер и форма частиц: На фиг. 2 и 3 представлен оптический микроскопический анализ образцов лиофилизированного и осажденного плеканатида, соответственно. Как видно на фиг. 2, лиофилизированный плеканатид находится в аморфной форме и обладает неоднородной формой частиц. Они формируют физические агрегаты с частицами, лежащими друг поверх друга. На фиг. 3 для осажденного плеканатида показаны различимые отдельные частицы. По внешнему виду и формам частиц, осажденный плеканатид может обладать лучшими реологическими свойствами и таким образом, может облегчать переработку твердого вещества в ходе изготовления.

Для лиофилизированной и осажденной форм плеканатида показаны различные физические внешний вид и свойства по анализам плотности, распределения размера частиц и формы. Осажденная форма является более пригодной для переработки твердой лекарственной формы в ходе изготовления в отношении уменьшения образования пыли, меньшего налипания на перерабатывающее оборудование и потенциально меньших потерь при переработке.

Осажденная форма является более пригодной для переработки твердой лекарственной формы в ходе изготовления (например, твердой лекарственной формы с низкой дозой). Более высокая плотность осажденного материала может уменьшать потери аэрозоля или "пыли" в ходе взвешивания, переноса и смешивания. Показано, что другая форма частиц уменьшает потери, связанные с прилипанием к экранам или ситам. Более высокая плотность должна улучшать однородность состава, поскольку размер и плотность частиц лекарственного средства более близко совпадают с размером и плотностью частиц наполнителей.

Пример 7. Состав с низкой дозой осажденного SP-304 (как в WO2012/118972).

Плеканатид, очищенный посредством осаждения, как описано в примере 5, перерабатывали далее для получения составов с низкой дозой, как описано ниже.

Состав партии при сухом смешивании.

Смешивание.

Avicel PH 102 просеивают через сито 60 меш. V-образные смесители (1 кварта (1,1 л), 4 кварты (4,4 л) и 16 кварт (17,6 л) ) затем опудривают просеянным Avicel PH 102. SP-304 просеивают через сито 200 меш и загружают в V-образный смеситель на 1 кварту (1,1 л). Затем приблизительно 80 г Avicel PH 102 добавляют в смеситель на 1 кварту (1,1 л), и смесь смешивают в течение 10 минут при 25 об./мин. Затем смесь переносят в V-образный смеситель на 4 кварты (4,4 л), который опудривают просеянным Avicel PH 102. Смеситель на 1 кварту (1,1 л) промывают Avicel, и смывтый материал переносят в смеситель на 4 кварты (4,4 л). Промывку повторяют, пока весь SP-304 не перенесут в смеситель на 4 кварты (4,4 л). Приблизительно 200 г Avicel добавляют в смеситель на 4 кварты (4,4 л), и смесь перемешивают в течение 10 минут. Полученную смесь затем просеивают через сито 60 меш, переносят в предварительно опудренный смеситель на 16 кварт (17,6 л) (опудренный 1500 г Avicel). Смеситель на 4 кварты (4,4 л) промывают Avicel, и смывтый материал переносят в смеситель на 16 кварт (17,6 л). Оставшийся Avicel добавляют в смеситель на 16 кварт (17,6 л), и смесь перемешивают в течение 10 минут. Полученную

смесь пропускают через конусную мельницу, промывают избытком Avicel, а затем возвращают в смеситель на 16 кварт (17,6 л) и дополнительно перемешивают в течение 5 минут. Подходящее количество стеарата магния взвешивают, просеивают через сито 60 меш, и добавляют в смеситель на 16 кварт (17,6 л). Полученную смесь перемешивают в течение 2 минут. Полученную смесь затем либо упаковывают в капсулы, либо прессуют для формирования таблеток.

Инкапсуляция.

Устанавливают наполнитель капсул MG2 Planeta. Определяют среднюю массу пустых оболочек капсул и рассчитывают целевую массу наполнения капсул ( $\pm 5\%$ ). Смесь после вышеописанного процесса добавляют в бункер наполнителя капсул и начинают инкапсуляцию. Рабочие параметры массы корректируют вручную. Полученные капсулы затем сортируют в соответствии с целевой массой наполнения.

Прессование.

Устанавливают пресс для таблеток Fette. Затем перемешанную смесь загружают в бункер для порошка и присоединяют инструменты. Массу каждой таблетки устанавливают на  $100 \text{ мг} \pm 5\%$  и твердость на 4-6 Кр. Массу, жесткость и толщину таблеток измеряют и регистрируют каждые 5-10 минут. Проводят также измерения истираемости для обеспечения удовлетворительного продукта.

Пример 8. Синтез и очистка SP-304 посредством замены растворителя - лиофилизации.

Моноциклизация линейного неочищенного пептида: Сначала формировали дисульфидную связь между Cys<sup>4</sup> и Cys<sup>12</sup> посредством окисления H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> при pH 8,0-8,5 для получения моноциклизованного неочищенного пептида. Линейный неочищенный пептид медленно добавляли и растворяли в буфере 0,5% ацетате аммония в воде с предварительно добавленной H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> в соотношении 100:9 грамм пептида к мл H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> для получения конечной концентрации неочищенного продукта приблизительно 1,0 мг/мл. Затем pH раствора доводили до 8,5 с помощью раствора NH<sub>4</sub>OH во время перемешивания без крышки. Реакцию окислительной моноциклизации мониторировали с использованием способа ВЭЖХ 2. Когда % площади для линейного неочищенного пептида составлял  $\leq 5,0\%$  от % площади моноциклизованного пептида, реакцию окисления останавливали посредством доведения pH раствора пептида до 1,7-2 с использованием раствора TFA. Затем раствор пептида переводили на следующую стадию для формирования дициклизованного пептида.

Дициклизация моноциклизованного пептида.

Дисульфидную связь между Cys<sup>7</sup> и Cys<sup>15</sup> формировали посредством 3,0% (мас./об.) I<sub>2</sub> в растворе ацетонитрила. Дисульфидный мостик получали, в то же время одновременно удаляя защитные группы боковых цепей Asp, присутствующие на оставшихся остатках Cys. Реакцию окислительной дициклизации мониторировали с использованием способа ВЭЖХ 2. Избыток иода инактивировали с помощью раствора 0,1 М аскорбиновой кислоты в воде. После завершения реакции, pH дициклизованного пептида доводили до 6,5-7 с использованием раствора NH<sub>4</sub>OH, и получали материал для первичной очистки.

Первичная очистка дициклизованного неочищенного Пептида: Затем раствор дициклизованного неочищенного пептида, полученного после стадий окисления, наносили на колонку для препаративной ОФ-ВЭЖХ, набитую смолой C18 для обращеннофазовой хроматографии, управляемую системой для препаративной ВЭЖХ. Пептид элюировали в 1% фосфате триэтиламина (TEAP) в буферной системе вода, pH7/ACN. Способ ВЭЖХ 1 использовали для уточнения процентной чистоты фракций и пулов, полученных в ходе проведения первичной очистки.

Очистка возвращенного в процесс пула(пулов) дициклизованного пептида: После первичной очистки, фракции, требующие дальнейшей очистки, очищали на основании чистоты пулов фракций с использованием 1%TEAP в буферной системе вода, pH7/ACN или 0,2% уксусная кислота в воде/ACN. Затем раствор дициклизованного неочищенного пептида, полученный в результате стадий окисления, наносили на колонку для препаративной ОФ-ВЭЖХ, набитую смолой C18 для обращеннофазовой хроматографии, управляемую системой для препаративной ВЭЖХ. Пептид элюировали в 1% TEAP в буферной системе вода, pH7/ACN. Способ ВЭЖХ 1 использовали для уточнения процентной чистоты фракций и пулов, полученных в ходе проведения повторной очистки.

Вторичная очистка и солевой обмен: После повторной очистки, фракции, требующие дальнейшей очистки, очищали на основании чистоты пулов фракций с использованием 1% TEAP в буферной системе вода, pH7/ACN или 0,2% уксусная кислота в воде/ACN. Способ ВЭЖХ 1 использовали для уточнения процентной чистоты фракций и пулов, полученных в ходе проведения вторичной очистки. Способ СЭЖХ 1 использовали для уточнения процентной чистоты основного пула, полученного в ходе всего проведения очистки, перед переходом к следующей стадии.

Обмен растворителя: Материал, отвечающий критериям основного пула, загружали в колонку для препаративной ОФ-ВЭЖХ с фланцевого конца в обратном направлении, промывали раствором с 99:1 воды к изопропанолу в обратном направлении, и элюировали раствором с 40:60 изопропанол:вода в прямом направлении. Собранный раствор пептида тестировали способом СЭЖХ 1, чтобы удостовериться в чистоте, затем раствор пептида фильтровали, подвергали выпариванию с применением роторного испарителя для удаления избытка изопропанол до менее 5%, с последующей частичной лиофилизацией, например, в течение не менее 96 часов.

Разведение и конечная лиофилизация: Частично лиофилизированный сухой пептид подвергали разведению в воде для получения гомогенной партии. Количество 0,5% (мас./мас.) ацетата аммония от сухого пептида добавляли в раствор и смешивали, пока ацетат аммония/пептид не растворялись. Материал подвергали анализу способом СЭЖХ 1 для проверки чистоты. Растворенный материал помещали в лоток лиофилизатора и поддерживали в вакууме в течение не менее 120 часов для получения конечного материала сухого пептида.

Способы контроля в ходе технологического процесса.

Способ ВЭЖХ 1: следующий аналитический способ ОФ-ВЭЖХ можно использовать для уточнения процентной чистоты по ВЭЖХ после стадий первичной и вторичной очистки или для документации на указанную партию.

Параметры ВЭЖХ.

Колонка: Waters SunFire™ C8, 3,5 мкм, 4,6×150 мм или эквивалентная.

Длина волны: 215 нм.

Подвижная фаза А: 0,02 М ТЕАР в воде, pH 6,5 (аналитический буфер ВА).

Подвижная фаза В: 100% АСН.

Объем впрыска: 5-50 мкл.

Температура колонки: 40°C.

Параметры градиентной элюции.

Способ ВЭЖХ 2: следующий аналитический способ ОФ-ВЭЖХ можно использовать для уточнения процентной чистоты по ВЭЖХ линейного неочищенного пептида и для мониторинга прогресса стадий окислительной циклизации.

Параметры ВЭЖХ.

Колонка: Kromasil C18 5 мкм 100Å 4,5×250 мм или эквивалентная.

Длина волны: 215 нм.

Подвижная фаза А: 0,02 М ТЕАР в воде, pH 6,5 (аналитический буфер ВА).

Подвижная фаза В: 100% АСН.

Объем впрыска: 5-50 мкл.

Температура колонки: 40°C.

Параметры градиентной элюции.

Способ СЭЖХ 1: следующий аналитический способ ОФ-ВЭЖХ можно использовать для уточнения процентной чистоты основного пула и материала конечного продукта пептида перед лиофилизацией.

Параметры СЭЖХ.

Колонка: Waters Acquity BEH C18, 1,7 мкм, 150×2,1 мм, P/N 186002353 с встроенным в колонку фильтрующим звеном Waters Acquity, 0,2 мкм, P/N 205000343.

Длина волны: 215 нм.

Подвижная фаза А: 48/52/0,16 - MeOH/вода/TFA.

Объем впрыска: 5 мкл.

Температура колонки: 10°C.

Параметры изократической элюции.

Две партии получали способом, описанным в примере: партию #121026 IPA2 с размером партии 50 г и партию #121026 В с размером партии 930 г. Как проиллюстрировано на фиг. 4, пептид партии #121026 IPA2 обладал хроматографической чистотой по СЭЖХ ~98%. Другие характеристики двух партий обобщены в табл. XX ниже, по сравнению партиями, полученными способами, описанными в WO2012/118972.



Таблица XX

	Процесс лиофилизации с ACN (среднее или диапазон)	Процесс лиофилизации с ACN (партия 101221) WO 2012/118972	Процесс лиофилизации с ACN (партия 110425) WO 2012/118972	Процесс осаждения (партия Feb2012) WO 2012/118972	Осаждение Process (партия 120210) WO 2012/118972	Процесс осаждения (партия 130117)	Процесс замены растворителя (партия 121026 IPA2)	Процесс замены растворителя (партия 121026 B)
Размер партии	1110-2580 г	1142 г	1110 г	0,5 г	10 г	200 г	50 г	930 г
Ацетамид	88-453 ppm	350 ppm	356 ppm	<28 ppm		<47 ppm	35 ppm	<18 ppm
TFA	<0,04-0,25%	0,2%	0,14%		0,09%	0,10%	<0,04%	<0,04%
Ацетат	0,6-4,7%	<0,6%	0,6%			<0,01%	0,08%	0,21%
Аммоний	0,02-1,94%	1,05%	1,58%	0,23%		0,61%	0,17%	0,11%
Продукт деградации (RRT 1,33)	<0,10-0,15%	<0,10%	0,10%		0,31%	0,89%	0,10%	0,11%
Хроматографическая чистота по СЭЖХ		97,3%	97,6%			97,0%	97,8%	97,1%
Общее количество примесей	2,24% (n=7) 1,46-2,71%	2,33%	1,87%		2,51%	2,89%	2,17%	2,92%
ROS (остаточный органический растворитель)	ACN 0-40 ppm	Всего <20 ppm	ACN 40 ppm	Этилацетат 20 ppm IPA 27000 ppm Метанол 250 ppm MTBE 20 ppm Тетрагидрофуран 70 ppm	IPA 90,000 ppm	IPA 1700 ppm	ACN 240 ppm	IPA 320 ppm
Объемная плотность	0,03-0,06 г/см <sup>3</sup>	0,033 г/см <sup>3</sup>			0,486 г/см <sup>3</sup>	0,64 г/см <sup>3</sup>	0,03 г/см <sup>3</sup>	0,056 г/см <sup>3</sup>
Размер частиц воздушного дисперсанта (D50 мкм)	182-234	235				300	635	91
Размер частиц жидкого дисперсанта (мкм)		D10: 8 D50: 22 D90: 37	D10: 7 D50: 21 D90: 59				D10: 8 D50: 21 D90: 40	D10: 4 D50: 17 D90: 34
Рентген	Аморфный					Аморфный	Аморфный	Аморфный
Ситовый анализ (оставшийся процент)		600 мкм 3,6% 425 мкм 13,3% 250 мкм 8,7% 150 мкм 26,0% 106 мкм 33,2%			600 мкм 7,1% 425 мкм 2,7% 250 мкм 10,5% 150 мкм 32,7% 106 мкм 19,2%	600 мкм 11,0% 425 мкм 13,1% 250 мкм 24,7% 150 мкм 23,7% 106 мкм 11,0%	600 мкм 42,1% 425 мкм 26,3% 250 мкм 21,1% 150 мкм 7,9% 106 мкм 2,6%	600 мкм 3,6% 425 мкм 7,1% 250 мкм 17,9% 150 мкм 10,7% 106 мкм 25%
Вода		5,4%	7,3%			4,9%	5,3%	2,7%

Таблица XXI. Стабильность лекарственного вещества  
плеканатида, партия 121026В, хранение при 25°C

Партия No.: 121026В	Контейнер: 60 мл прозрачные бутылки		
Тест	T=0	3 месяца	6 месяцев
Внешний вид (визуально)	Белый порошок	Белый порошок	Белый порошок
Идентичность по СЭЖХ I	Соответствует	Соответствует	Соответствует
Хроматографическая чистота плеканатида (СЭЖХ) (% площади)	97,1%	97,0%	96,4%
Общее количество примесей	2,92%	2,90%	3,61%
Содержание воды (KF)	2,7%	8,7%	8,3%

#### ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Очищенный пептидный препарат, содержащий пептид, содержащий аминокислотную последовательность агониста GCC, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1, 9 и 104, где очищенный пептидный препарат имеет менее 0,05% трифторуксусной кислоты (ТФУ) от общей массы пептида в пептидном препарате, где очищенный пептидный препарат получен способом, включающим:

наличие первого пептидного раствора, содержащего воду, ацетонитрил и пептид, содержащий аминокислотную последовательность агониста GCC, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1, 9 и 104;

загрузку колонки с C18 или полимерным адсорбентом первым пептидным раствором для адсорбции пептида на колонке с C18 или полимерным адсорбентом, элюцию пептида с колонки с C18 или полимерным адсорбентом с помощью водного раствора изопропанола с получением второго пептидного раствора, уменьшение количества изопропанола во втором пептидном растворе, лиофилизацию второго пептидного раствора, так что получают сухой пептид, растворение сухого пептида в водном растворе ацетата аммония с получением третьего пептидного раствора, и лиофилизацию третьего пептидного раствора, так что получают очищенный пептид.

2. Очищенный пептидный препарат по п.1, где пептид является стабильным при 25°C в течение по меньшей мере трех месяцев.

3. Очищенный пептидный препарат по п.1, где пептид обладает распределением размера частиц, отличающимся:

- значением D10 приблизительно 2-15 мкм;
- значением D50 приблизительно 15-50 мкм; и
- значением D90 приблизительно 40-80 мкм при измерении по светорассеянию с жидким дисперсантом.

4. Очищенный пептидный препарат по п.1, где пептид обладает объемной плотностью не более 0,06 г/мл.

5. Очищенный пептидный препарат по п.1 или 2, где пептид обладает хроматографической чистотой не менее 95%.

6. Очищенный пептидный препарат по любому из пп.1-5, где содержание воды в пептидном препарате составляет менее 10% от общей массы пептида в пептидном препарате.

7. Очищенный пептидный препарат по любому из пп.1-6, где пептидный препарат также содержит менее 0,5% по массе относительно массы пептида одного или нескольких примесей, выбранных из группы, состоящей из ацетонитрила, спиртов, аммония и ацетата.

8. Очищенный пептидный препарат по п.7, где пептидный препарат содержит менее 300 ppm ацетонитрила.

9. Очищенный пептидный препарат по любому из пп.7-8, где пептидный препарат содержит менее 1000 ppm изопропанола.

10. Очищенный пептидный препарат по любому из пп.7-9, где пептидный препарат содержит менее 600 ppm изопропанола.

11. Очищенный пептидный препарат по любому из пп.7-10, где пептид содержит менее 0,25% ацетата от общей массы пептида в пептидном препарате.

12. Очищенный пептидный препарат по любому из пп.1-11, где пептидный препарат дополнительно содержит менее 2% топоизомеров пептидов от общей массы пептида в пептидном препарате.

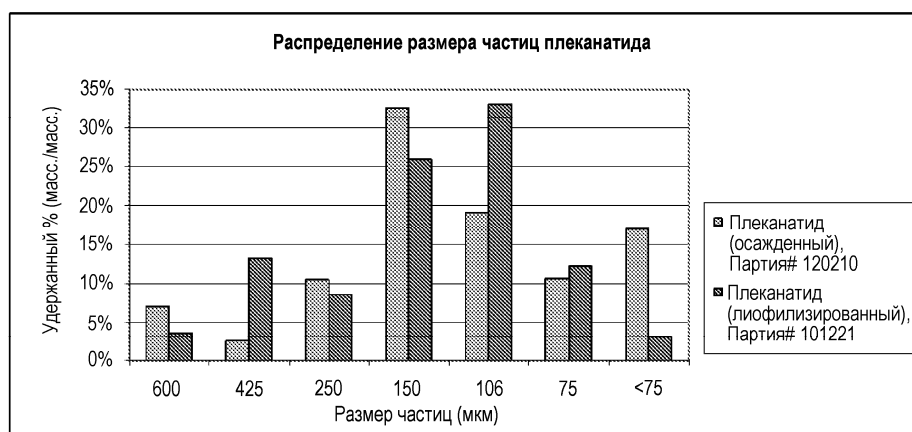
13. Очищенный пептидный препарат по любому из пп.1-11, где пептид дополнительно содержит 2% изо-Asp2-плеканатида (относительное время удержания составляет 0,96-0,97) от общей массы пептида в пептидом препарате.

14. Очищенный пептидный препарат по п.1, где содержание изопропанола в водном растворе изопропанола составляет приблизительно 40%.

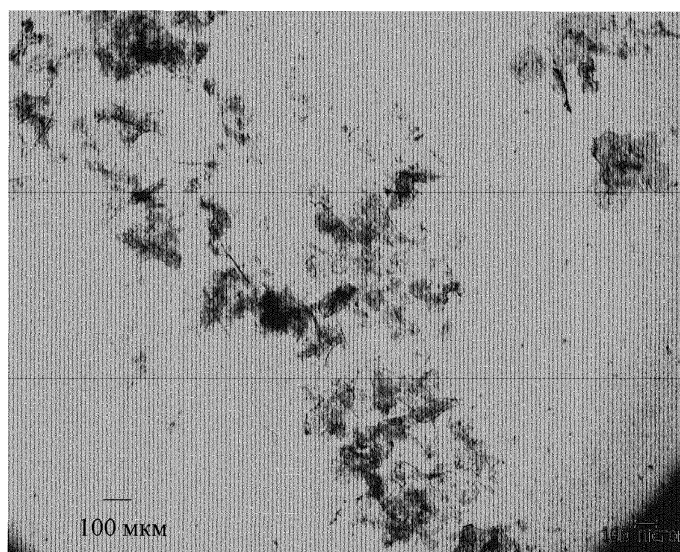
15. Очищенный пептидный препарат по п.1, где первый раствор пептида дополнительно содержит ацетамид.

16. Очищенный пептидный препарат по п.1, где количество изопропанола во втором растворе пептида уменьшают посредством ротационного выпаривания.

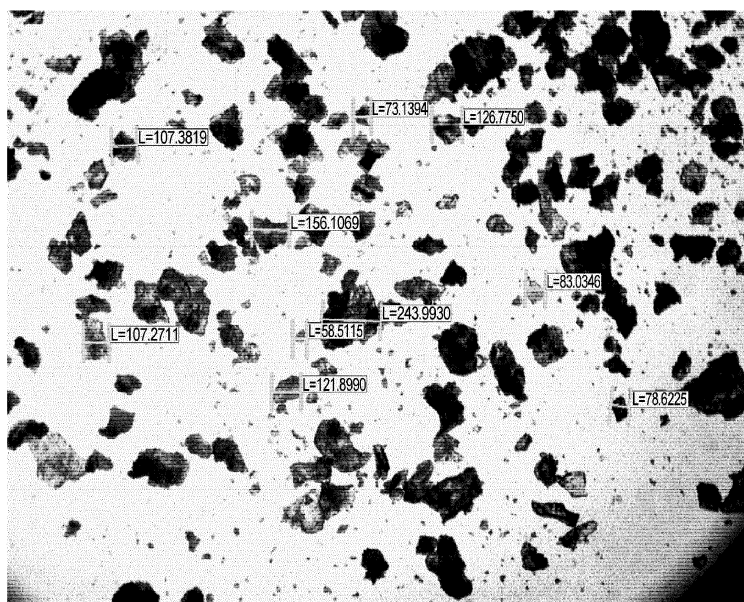
17. Очищенный пептидный препарат по п.1, где количество изопропанола во втором растворе пептида уменьшают до менее 5% от общей массы пептида.



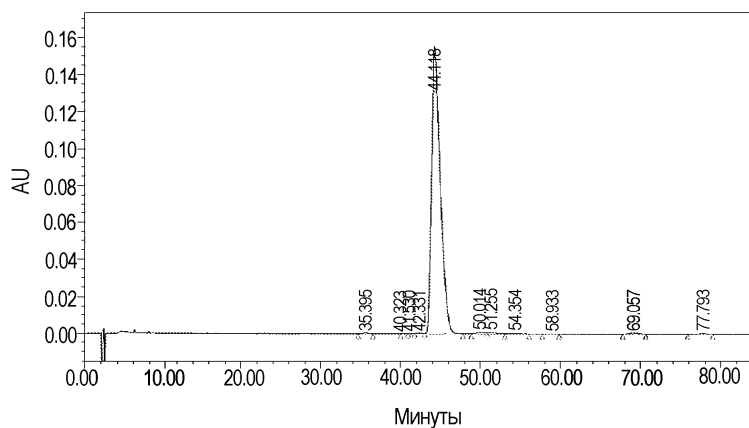
Фиг. 1



Фиг. 2



Фиг. 3



	RT	Площадь	% площади	Высота
1	35.395	25544	0.21	570
2	40.323	4201	0.03	122
3	41.530	6027	0.05	166
4	42.331	17626	0.14	323
5	44.118	12069650	97.95	158103
6	50.014	64915	0.53	903
7	51.255	49338	0.40	714
8	54.354	18505	0.15	227

9	58.933	5886	0.05	101
10	69.057	45061	0.37	565
11	77.793	15160	0.12	183

Фиг. 4

