РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(19) **RU** (11) **2 744 691** (13) **C2**

(51) МПК
C07K 7/00 (2006.01)
A61K 38/10 (2006.01)
A61P 13/08 (2006.01)

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК
C07K 7/08 (2021.01); A61K 38/10 (2021.01); A61P 13/08 (2021.01)

(21)(22) Заявка: **2019110137, 29.08.2017**

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
29.08.2017

Дата регистрации:
15.03.2021

Приоритет(ы):
(30) Конвенционный приоритет:
07.09.2016 US 15/258,786

(43) Дата публикации заявки: **08.10.2020** Бюл. № **28**

(45) Опубликовано: **15.03.2021** Бюл. № **8**

(85) Дата начала рассмотрения заявки PCT на национальной фазе: **08.04.2019**

(86) Заявка PCT:
IB 2017/055187 (29.08.2017)

(87) Публикация заявки PCT:
WO 2018/047036 (15.03.2018)

Адрес для переписки:
129090, Москва, ул. Б.Спасская, 25, строение 3, ООО "Юридическая фирма Городисский и Партнеры"

(72) Автор(ы):
ЭВЕРБЕК, Пол (BS)

(73) Патентообладатель(и):
НАЙМОКС КОРПОРЕЙШН (US)

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: **US 2016215031, 28.07.2016. СИНЕЛЬНИКОВ Р. Д. и др. Атлас анатомии человека. Том 2: Учение о внутренностях и эндокринных железах, Изд. 7-е, перераб. В 4-х томах. М.: Новая волна, 2009, 248 с.. HIRSCH E. W., Comparative histology of the urethral mucosa and its relation to gonococcal infections, The Journal of Urology, 1927, V. 17, N. 6, p.575-580.** (см. прод.)

(54) Способ уменьшения тяжести или предупреждения ухудшения или прогрессирования симптомов BPH

(57) Реферат:

Изобретение относится к области биотехнологии, конкретно к способу снижения или предупреждения ухудшения или прогрессирования симптомов доброкачественной гиперплазии предстательной железы (BPH). Предложенный способ, предусматривающий введение терапевтически эффективного количества пептида, содержащего аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 66, снижает ухудшение или прогрессирование симптомов BPH согласно Международной шкале оценки простатических симптомов (IPSS) на более чем 10%. 2 н. и 14 з.п. ф-лы, 8 табл., 8 пр.

(56) (продолжение):
ТРЕТЬЯКОВ В. В. и др. Сравнительные результаты лечения больных пожилого и старческого возраста, страдающих доброкачественной гиперплазией предстательной железы и хроническим простатитом в стадии активного воспаления, Вестник Уральской медицинской академической науки, 2013, N. 4, с.64-68. LOGAN

RU 2744691 C2

RU 2744691 C2

Y. T. et al., Monotherapy versus combination drug therapy for the treatment of benign prostatic hyperplasia, The American Journal of Geriatric Pharmacotherapy, 2005, V. 3, N. 2, p.103-114.

RU 2744691 C2

RU 2744691 C2

RUSSIAN FEDERATION

FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(19) **RU** (11) **2 744 691** (13) **C2**

(51) Int. Cl.
C07K 7/00 (2006.01)
A61K 38/10 (2006.01)
A61P 13/08 (2006.01)

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(52) CPC
C07K 7/08 (2021.01); A61K 38/10 (2021.01); A61P 13/08 (2021.01)

(21)(22) Application: **2019110137, 29.08.2017**

(24) Effective date for property rights:
29.08.2017

Registration date:
15.03.2021

Priority:
(30) Convention priority:
07.09.2016 US 15/258,786

(43) Application published: **08.10.2020** Bull. № **28**

(45) Date of publication: **15.03.2021** Bull. № **8**

(85) Commencement of national phase: **08.04.2019**

(86) PCT application:
IB 2017/055187 (29.08.2017)

(87) PCT publication:
WO 2018/047036 (15.03.2018)

Mail address:
129090, Moskva, ul. B.Spasskaya, 25, stroenie 3, OOO "Yuridicheskaya firma Gorodisskij i Partnery"

(72) Inventor(s):
AVERBACK, Paul (BS)

(73) Proprietor(s):
NYMOX CORPORATION (US)

RU 2744691 C2

(54) METHOD OF REDUCING SEVERITY OR PREVENTING ACERBATION OF PROGRESSION OF SYMPTOMS OF BPH

(57) Abstract:

FIELD: biotechnology.

SUBSTANCE: invention relates to the field of biotechnology, specifically to a method for reducing or preventing acerbation or progression of symptoms of benign prostatic hyperplasia (BPH).

EFFECT: proposed method, which involves administering a therapeutically effective amount of peptide containing an amino acid sequence with SEQ ID NO: 66, reduces acerbation or progression of symptoms of BPH in accordance with the International Prostatic Symptom Scale (IPSS) by more than 10%.

16 cl, 8 tbl, 8 ex

RU 2744691 C2

ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

[0001] Настоящая заявка содержит перечень последовательностей, который был представлен в электронном виде в формате ASCII и включен в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте. Указанная копия ASCII, созданная 25 октября 2016 года, названа 063307-0447520_SL.txt и имеет размер, составляющий 33240 байт.

ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА

[0002] Настоящая заявка испрашивает приоритет в соответствии с обычной заявкой на патент США № 15/258786, поданной 7 сентября 2016 года, под названием «Способ уменьшения тяжести или предупреждения ухудшения или прогрессирования симптомов ВРН», полное содержание которой включено в данный документ посредством ссылки.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

1. Область техники изобретения

[0003] Варианты осуществления включают способы уменьшения тяжести или предупреждения ухудшения или прогрессирования симптомов доброкачественной гиперплазии предстательной железы (ВРН) и способы уменьшения тяжести или предупреждения ухудшения или отсутствия улучшения в отношении симптомов ВРН с применением композиций, содержащих соединения на основе небольших пептидов и фармацевтически приемлемый носитель. Способы включают без ограничения введение композиций внутримышечно, перорально, внутривенно, интрапростатически, внутрибрюшинно, интрацеребрально (интрапаренхимально), интрацеребровентрикулярно, внутриочагово, интраокулярно, интраартериально, интратекально, внутрь опухоли, интраназально, местно, трансдермально, подкожно или внутрикожно пациентам, нуждающимся в этом, при этом введение таким пациентам уменьшает тяжесть или предупреждает ухудшение или прогрессирование симптомов ВРН или уменьшает тяжесть или предупреждает ухудшение или отсутствие улучшения в отношении симптомов ВРН.

2. Описание предшествующего уровня техники

[0004] Суть многих терапевтических способов лечения и процедур заключается в удалении или разрушении вредной или нежелательной ткани. Примеры таких способов лечения включают удаление хирургическим путем раковых или предраковых новообразований, разрушение метастатических опухолей с помощью химиотерапии и уменьшение железистой (например, предстательной) гиперплазии. Другие примеры включают удаление нежелательной растительности на лице, удаление бородавок и удаление нежелательной жировой ткани.

[0005] Доброкачественная гиперплазия предстательной железы (ВРН) часто встречается у пожилых мужчин с симптомами, которые влияют на качество жизни, включая нарушение деятельности и восприятие благополучия. ВРН может быть прогрессирующей, с риском задержки мочи, инфекций, камней в мочевом пузыре и почечной недостаточности. Хотя многие мужчины с легкими или умеренными симптомами чувствуют себя хорошо без вмешательства, неприятные симптомы и осложнения могут прогрессировать у других, что приводит к применению лекарственной терапии или хирургического вмешательства.

[0006] Существует потребность в эффективной композиции, которая будет разрушать, а следовательно либо способствовать удалению, либо подавлять дальнейший рост вредных или нежелательных клеток и ткани, однако будет характеризоваться в основном местными эффектами и минимальной или отсутствующей системной токсичностью, и которая является пригодной для уменьшения тяжести или предупреждения ухудшения

или прогрессирования симптомов ВРН и/или является пригодной для уменьшения тяжести или предупреждения ухудшения или отсутствия улучшения в отношении симптомов ВРН. Также существует потребность в уменьшении потребности в инвазивном хирургическом вмешательстве даже после лечения посредством эффективной композиции.

[0007] Некоторые средства, которые, как известно, обладают способностью разрушать, а следовательно либо способствовать удалению, либо подавлять дальнейший рост вредных или нежелательных клеток и ткани, раскрыты в заявке на патент США № 14/808713, поданной 24 июля 2015 года, под названием: СПОСОБЫ СНИЖЕНИЯ ПОТРЕБНОСТИ В ХИРУРГИЧЕСКОМ ВМЕШАТЕЛЬСТВЕ У ПАЦИЕНТОВ, СТРАДАЮЩИХ ДОБРОКАЧЕСТВЕННОЙ ГИПЕРПЛАЗИЕЙ ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ; заявке на патент США № 14/606683, поданной 27 января, 2015 года, под названием СПОСОБ ЛЕЧЕНИЯ НАРУШЕНИЙ, ТРЕБУЮЩИХ РАЗРУШЕНИЯ ИЛИ УДАЛЕНИЯ КЛЕТОК, заявке на патент США № 14/738551, поданной 12 июня, 2015 года, под названием КОМБИНИРОВАННЫЕ КОМПОЗИЦИИ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ НАРУШЕНИЙ, ТРЕБУЮЩИХ УДАЛЕНИЯ ИЛИ РАЗРУШЕНИЯ НЕЖЕЛАТЕЛЬНЫХ КЛЕТОЧНЫХ ПРОЛИФЕРАЦИЙ, публикациях заявок на патент США №№ 2007/0237780 (в настоящее время приостановлена); 2003/0054990 (теперь патент США № 7172893); 2003/0096350 (теперь патент США № 6924266); 2003/0096756 (теперь патент США № 7192929); 2003/0109437 (теперь патент США № 7241738); 2003/0166569 (теперь патент США № 7317077); 2005/0032704 (теперь патент США № 7408021) и 2015/0148303 (теперь патент США № 9243035), раскрытие каждой из которых включено в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте.

[0008] Доброкачественный избыточный рост ткани представляет собой нарушения, при которых желательно удалять клетки из организма. Доброкачественные опухоли представляют собой клеточные пролиферации, которые не метастазируют по всему организму, но вызывают симптомы заболевания. Такие опухоли могут быть смертельными, если они расположены в недоступных областях в органах, таких как головной мозг. Существуют доброкачественные опухоли органов, в том числе опухоли легкого, головного мозга, кожи, гипофиза, щитовидной железы, коры надпочечников и мозгового вещества, яичника, матки, яичка, соединительной ткани, мышц, кишечника, уха, носа, горла, миндалин, рта, печени, желчного пузыря, поджелудочной железы, предстательной железы, сердца и других органов.

[0009] Хирургическое вмешательство часто является первой стадией в лечении рака. Цель хирургического вмешательства варьирует. Иногда его используют для удаления как можно большей части выраженной опухоли или по меньшей мере для «уменьшения ее объема» (удаление основной массы опухоли, чтобы уменьшить потребность в лечении другими способами). В зависимости от типа и локализации рака, хирургическое вмешательство может также обеспечивать пациенту некоторое облегчение симптомов. Например, если хирург может удалить большую часть растущей опухоли головного мозга, давление внутри черепа снизится, что приведет к улучшению симптомов пациента.

[0010] Доброкачественные опухоли и мальформации можно лечить различными способами, включая хирургическое вмешательство, лучевую терапию, терапию лекарственными средствами, термическую или электрическую абляцию, криотерапию и другие. Хотя доброкачественные опухоли не метастазируют, они могут стать большими и рецидивировать. Удаление хирургическим путем доброкачественных опухолей сопряжено со всеми трудностями и побочными эффектами хирургического вмешательства в целом и часто должно проводиться повторно для некоторых

доброкачественных опухолей, таких как аденомы гипофиза, менингиомы головного мозга, гиперплазия предстательной железы и другие. Кроме того, некоторым пациентам, которые получают нехирургическое лечение для облегчения симптомов, вызванных доброкачественными опухолями, все еще необходимо последующее инвазивное хирургическое вмешательство. В Lepor, «Medical Treatment of Benign Prostatic Hyperplasia», Reviews in Urology, Vol. 13, No. 1, pp. 20-33 (2011) раскрыты различные исследования эффективности терапии лекарственным средством в лечении BPH и необходимости последующего инвазивного хирургического лечения из-за прогрессирования или ухудшения симптомов BPH.

[0011] Роль андрогенов в развитии доброкачественной гиперплазии предстательной железы у мужчин хорошо задокументирована (Wilson, N. Engl. J. Med. 317: 628-629, 1987). Фактически, доброкачественная гиперплазия предстательной железы не развивается при отсутствии яичек (упоминается в Wendel et al., J. Urol. 108: 116-119, 1972).

[0012] Известно, что блокада секреции андрогенов яичка с помощью хирургической или медикаментозной (агонистом LHRH) кастрации уменьшает размер предстательной железы (Auclair et al., Biochem. Biophys. Res. Commun. 76: 855-862, 1977; Auclair et al., Endocrinology 101: 1890-1893, 1977; Labrie et al., Int. J. Andrology, suppl. 2 (V. Hansson, ed.), Scriptor Publisher APR, pp. 303-318, 1978; Labrie et al., J. Andrology 1: 209-228, 1980; Tremblay and Belanger, Contraception 30: 483-497, 1984; Tremblay et al., Contraception 30: 585-598, 1984; Dube et al., Acta Endocrinol. (Copenh) 116: 413-417, 1987; Lacoste et al., Mol. Cell. Endocrinol. 56: 141-147, 1988; White, Ann. Surg. 22: 1-80, 1895; Faure et al., Fertil. Steril. 37: 416-424, 1982; Labrie et al., Endocrine Reviews 7: 67-74, 1986; Huggins and Stevens, J. Urol. 43: 705-714, 1940; Wendel et al., J. Urol. 108: 116-119, 1972; Peters and Walsh, N. Engl. J. Med. 317: 599-604, 1987; Gabrilove et al., J. Clin. Endocrinol. Metab. 64: 1331-1333, 1987).

[0013] Несколько исследований показали, что лечение посредством антиандрогена также уменьшает размер предстательной железы (Neri et al., Endocrinology, 82: 311-317, 1968; Neri et al., Investigative Urology, 10: 123-130, 1972; Tunn et al., Acta Endocrinol. (Copenh.) 91: 373-384, 1979; Seguin et al., Mol. Cell. Endocrinol., 21: 37-41, 1981; Lefebvre et al., The Prostate 3: 569-578, 1982; Marchetti and Labrie, J. Steroid Biochem, 29: 691-698, 1988; Lacoste et al., Mol. Cell. Endocrinol. 56: 141-147, 1988; Tunn et al., Invest. Urol. 18: 289-292, 1980; Scott and Wade, J. Urol. 101: 81-85, 1969; Caine et al., J. Urol. 114: 564-568, 1975; Stone et al., J. Urol. 141: 240A, 1989; Clejan et al., J. Urol. 141: 534A, 1989).

[0014] В патенте США № 3423507 раскрыто применение антиандрогенаципротеронацетата (1α,2β-метилен-6-хлор-17α-ацетокси-6-дегидропрогестерона) для лечения доброкачественной гиперплазии предстательной железы. Чистые антиандрогены (патент США № 4329364) вызывают увеличение секреции тестостерона, что может привести к более высокой степени ароматизации в эстрогены, что, как предполагается исходя из современных знаний, отрицательно влияет на гиперплазию предстательной железы (Jacobi et al., Endocrinology 102: 1748-1755, 1978). Несколько исследований показало, что лечение посредством комбинации химической кастрации (агониста LHRH) и антиандрогена вызывает большее подавление размера предстательной железы, чем любое лечение, используемое отдельно (Seguin et al., Mol. Cell. Endocrinol. 21: 37-41, 1981; Lefebvre et al., The Prostate 3: 569-578, 1982; Marchetti and Labrie, J. Steroid Biochem. 29: 691-698, 1988.

[0015] В предстательной железе, а также во многих других тканях, тестостерон необратимо превращается с помощью 5α-редуктазы в более активный андроген дигидротестостерон (Bruchovsky и Wilson, J. Biol. Chem. 243: 2012-2021, 1968; Wilson,

Handbook of Physiology 5 (section 7), pp. 491-508, 1975). Установлено, что ингибиторы 5α-редуктазы подавляют рост предстательной железы (Brooks et al., Endocrinology 109: 830, 1981; Brooks et al., Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 169: 67, 1982; Brooks et al., Prostate 3: 35, 1982; Wenderoth et al., Endocrinology 113,569-573, 1983; McConnell et al., J. Urol. 141: 239A, 1989); Stoner, E., Lecture on the role of 5.alpha.-reductase inhibitor in benign prostatic hypertropy, 84th AUA Annual Meeting, Dallas, May 8, 1989.

[0016] Ингибирующий эффект ингибитора 5α-редуктазы Merck L 652931 в отношении развития предстательной и семенной желез у препубертатных крыс был описан в Proc. 71st Annual Meeting of Endocr. Soc. abst. #1165, p. 314, 1989. Ингибирующий эффект МК-906 в отношении образования дигидротестостерона у мужчин был описан у мужчин Gormley et al. в Proc. 71st Annual Meeting of Endocr. Soc., abst. #1225, p. 329, 1989; Imperato-McGinley et al. в Proc. 71st Annual Meeting of Endocr. Soc., abst. #1639, p. 432, 1989; Geller и Franson в Proc. 71st Annual Meeting of Endocr. Soc., abst. #1640, p. 432, 1989 и Tenover et al. в Proc. 71st Annual Meeting of Endocr. Soc., abst. #583, p. 169, 1989. Активность ингибиторов 5α-редуктазы N,N-диэтил-4-метил-3-оксо-4-аза-5альфа-андростан-17бета-карбоксамида (4-MA) и 6-метилен-4-прегнен-3,20-диона (LY 207320) была описана Toomey et al., Proc. 71st Annual Meeting of Endocr. Soc., abst. #1226, p. 329, 1989.

[0017] В дополнение к хорошо известному эффекту андрогенов в отношении роста предстательной железы, существует множество исследований, которые показывают, что эстрогены также играют роль в пролиферации предстательной железы (Walsh и Wilson, J. Clin. Invest. 57: 1093-1097, 1976; Robinette et al., Invest. Urol. 15: 425-432, 1978; Moore et al., J. Clin. Invest. 63: 351-257, 1979). Кроме того, было показано, что эстрогены усиливают андроген-индуцированный рост предстательной железы у собаки (Walsh and Wilson, J. Clin. Invest. 57: 1093-1097, 1976; Jacobi et al., Endocrinology 102: 1748-1755, 1978; Tunn et al., Urol. Int. 35: 125-140, 1980). Возможным объяснением этого усиливающего эффекта эстрогена в отношении андроген-индуцированного роста предстательной железы является наблюдение того, что, как было показано, 17β-эстрадиол увеличивает связывание андрогена в предстательной железе собаки (Moore et al., J. Clin. Invest. 63: 351-357, 1979).

[0018] Показано, что антиэстроген тамоксифен облегчает стероид-индуцированную доброкачественную гиперплазию предстательной железы у собаки (Funke et al., Acta Endocrinol. 100: 462-472, 1982). Введение антиэстрогена тамоксифена в сочетании со стероидным антиандрогеном ципротеронацетатом у пациентов, страдающих доброкачественной гиперплазией предстательной железы, показало положительный эффект в отношении симптомов заболевания (Di Silverio et al. в Ipertrofia Prostatica Benigna (F. Di Silverio, F. Neumann and M. Tannenbaum, eds), Excerpta Medica, pp. 117-125, 1986). В патенте США № 4310523 предлагается, что комбинация антиандрогена и антиэстрогена является эффективной для профилактики и/или терапии доброкачественной гиперплазии предстательной железы. Однако тамоксифен обладает внутренней эстрогенной активностью, которая ограничивает его эффективность.

[0019] Образование эстрогена в результате ароматизации андрогенов происходит в нескольких сайтах. У мужчин ароматизация андрогенов была продемонстрирована в яичке, жировой и мышечной тканях, коже, печени, мозге и предстательной железе (Schweikert et al., J. Clin. Endocrinol. Metab. 40: 413-417, 1975; Folker and James, J. Steroid Biochem. 49: 687-690, 1983; Longcope et al., J. Clin. Endocrinol. Metab. 46: 146-152, 1978; Lacoste and Labrie, неопубликованные данные; Stone et al., The Prostate 9: 311-318, 1986; Stone et al., Urol. Res. 15: 165-167, 1987). Существуют данные об увеличении продуцирования эстрогенов в предстательной железе у пациентов с доброкачественной

гиперплазией предстательной железы (Stone et al., The Prostate 9: 311-318, 1986). Такие данные указывают на то, что местное образование эстрогенов может играть решающую роль в стимулировании роста предстательной железы сверх действия, спрогнозированного для циркулирующих эстрогенов.

[0020] В патенте США № 4472382 раскрыто лечение ВРН антиандрогеном и некоторыми пептидами, которые действуют как агонисты LH-RH. В патенте США № 4596797 раскрыты ингибиторы ароматазы в качестве способа профилактики и/или лечения гиперплазии предстательной железы. В патенте США № 4760053 описано лечение некоторых видов рака, в котором комбинируют агониста LHRH с антиандрогеном и/или антиэстрогеном и/или по меньшей мере одним ингибитором биосинтеза половых стероидов. В патенте США № 4775660 раскрыт способ лечения рака молочной железы посредством комбинированной терапии, которая может включать хирургическое или химическое предотвращение секреции яичников и введение антиандрогена и антиэстрогена.

[0021] В патенте США № 4659695 раскрыт способ лечения рака предстательной железы у восприимчивых особей мужского пола животных, включая людей, у которых гормональная секреция яичка блокируется хирургическим или химическим путем, например, с помощью агониста LHRH, который включает введение антиандрогена, например флутамида, в сочетании с по меньшей мере одним ингибитором биосинтеза половых стероидов, например аминоглутетимидом и/или кетоконазолом. Раскрытия каждого из вышеуказанных патентов (США 4472382, 4596797, 4760053, 4775660 и 4659695) включены в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте.

[0022] ВРН вызвана повышенной активностью как андрогенов, так и эстрогенов. Из-за такой двойной этиологии ВРН предлагаемая гормональная терапия была менее чем удовлетворительной и была непредсказуемой, часто вызывая неприемлемые побочные эффекты. Более того, способы лечения согласно предшествующему уровню техники редко приводили к уменьшению объема предстательной железы на более чем приблизительно 20-30% с неустойчивым эффектом в отношении симптоматики (Scott и Wade, J. Urol. 101: 81-85, 1969; Caine et al., J. Urol. 114: 564-568, 1975; Peters and Walsh, New Engl. J. Med. 317: 599-604, 1987; Gabrilove et al., J. Clin. Endocrinol. Metab. 64: 1331-1333, 1987; Stone et al., J. Urol. 141: 240A, 1989; Clejan et al., J. Urol. 141: 534A, 1989; Stoner, E., Lecture on the role of 5α-reductase inhibitor in benign prostatic hypertrophy, 84th AUA Annual Meeting, Dallas, May 8, 1989.

[0023] Объяснение механизма, кратко изложенного выше, привело в результате к недавней разработке эффективных средств для контроля, а во многих случаях и наоборот, - прогрессирования ВРН. На переднем плане среди этих средств находится продукт PROSCAR® (финастерид) от Merck & Co., Inc. Эффект этого соединения заключается в подавлении фермента тестостерона 5α-редуктазы, который превращает тестостерон в 5α-дигидротестерон, что приводит в результате к снижению скорости увеличения предстательной железы и часто к уменьшению массы предстательной железы.

[0024] Во всех или в большинстве этих случаев существует потребность в способах лечения, которые способны устранить, разрушить или уменьшить нежелательные состояния, которые могут вызвать ухудшение или прогрессирование и/или ухудшение или отсутствие улучшения в отношении симптомов ВРН без риска и побочных эффектов, сопутствующих традиционной терапии. Также существует необходимость в разработке средств терапии, которые могут уменьшать тяжесть или предупреждать ухудшение или прогрессирование и/или ухудшение или отсутствие улучшения в отношении симптомов,

обычно ассоциированных с BPH.

[0025] Во всем данном описании, включая вышеизложенное описание предшествующего уровня техники, любые и все общедоступные документы, описанные в данном документе, включая любые и все опубликованные заявки на патент США, специально включены в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте. Вышеприведенное описание предшествующего уровня техники никоим образом не предназначено для признания того, что любой из документов, описанных в нем, включая находящиеся на рассмотрении заявки на патент США, является предшествующим уровнем техники для настоящего изобретения. Более того, описание в данном документе любых недостатков, связанных с описанными продуктами, способами и/или устройством, не предназначено для ограничения вариантов осуществления. Действительно, аспекты вариантов осуществления могут включать определенные признаки описанных продуктов, способов и/или устройств, не претерпевая от их описанных недостатков.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ВАРИАНТОВ ОСУЩЕСТВЛЕНИЯ

[0026] В данной области техники остается потребность в новых, менее токсичных и менее частых (например, избегая необходимости принимать лекарственные препараты ежедневно или еженедельно) способах лечения для уменьшения тяжести или предупреждения ухудшения или прогрессирования и/или уменьшения тяжести или предупреждения ухудшения или отсутствия улучшения в отношении симптомов, обычно ассоциированных с BPH. Варианты осуществления, описанные в данном документе, удовлетворяют эти потребности.

[0027] Настоящее изобретение частично основано на открытии того, что некоторые NTP-пептиды, в том числе специфический пептид, описанный аминокислотной последовательностью Ile-Asp-Gln-Gln-Val-Leu-Ser-Arg-Ile-Lys-Leu-Glu-Ile-Lys-Arg-Cys-Leu (SEQ ID NO: 66), способны к уменьшению тяжести или предупреждению ухудшения или прогрессирования и/или уменьшению тяжести или предупреждению ухудшения или отсутствия улучшения в отношении симптомов, обычно ассоциированных с BPH.

[0028] Это изобретение также частично основано на открытии того, что некоторые NTP-пептиды, в том числе специфический пептид, описанный аминокислотной последовательностью Ile-Asp-Gln-Gln-Val-Leu-Ser-Arg-Ile-Lys-Leu-Glu-Ile-Lys-Arg-Cys-Leu (SEQ ID NO: 66), либо отдельно, либо в комбинации с дополнительным активным средством, способным лечить и/или уничтожать нежелательные клеточные пролиферации у млекопитающих, обеспечивают неожиданное улучшение в уменьшении тяжести или предупреждении ухудшения или прогрессирования и/или уменьшении тяжести или предупреждении ухудшения или отсутствия улучшения в отношении симптомов, обычно ассоциированных с BPH, у пациентов, подверженных такому ухудшению или прогрессированию.

[0029] Некоторые варианты осуществления направлены на способы уменьшения тяжести или предупреждения ухудшения или прогрессирования и/или уменьшения тяжести или предупреждения ухудшения или отсутствия улучшения в отношении симптомов, обычно ассоциированных с BPH, у млекопитающих, предусматривающие введение млекопитающему, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества композиции, содержащей NTP-пептид, либо отдельно, либо в комбинации с по меньшей мере одним дополнительным активным средством, способным лечить и/или уничтожать нежелательные клеточные пролиферации у млекопитающих. Композиции можно вводить внутримышечно, перорально, внутривенно, внутрибрюшинно, интрацеребрально (интрапаренхимально), интрацеребровентрикулярно, внутрь опухоли, внутриочагово, внутрикожно,

интратекально, интраназально, интраокулярно, интраартериально, местно, трансдермально, с помощью аэрозоля, инфузии, болюсной инъекции, имплантационного устройства, устройства замедленного высвобождения и т. д. В качестве альтернативы, NTP-пептиды можно экспрессировать in vivo путем введения гена, который экспрессирует NTP-пептиды, путем введения вакцины, которая индуцирует такую продукцию, или путем введения клеток, бактерий или вирусов, которые экспрессируют пептид in vivo, вследствие генетической модификации или иным образом.

[0030] В другом варианте осуществления введение композиции, содержащей NTP-пептид, либо отдельно, либо в комбинации с по меньшей мере одним дополнительным активным средством, способным лечить и/или уничтожать нежелательные клеточные пролиферации у млекопитающих, уменьшает процентную долю млекопитающих, характеризующихся ухудшением или прогрессированием и/или ухудшением или отсутствием улучшения в отношении симптомов BPH, как измерено согласно Международной шкале оценки простатических симптомов (IPSS), на более чем 10% по сравнению с введением контрольной композиции, которая не содержит NTP-пептид.

[0031] Как вышеприведенное общее описание, так и последующее подробное описание являются иллюстративными и пояснительными и предназначены для обеспечения дополнительного объяснения вариантов осуществления, как заявлено. Другие объекты, преимущества и особенности будут очевидны для специалистов в данной области техники из следующего подробного описания вариантов осуществления.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ПРЕДПОЧТИТЕЛЬНЫХ ВАРИАНТОВ ОСУЩЕСТВЛЕНИЯ

[0032] Прежде чем описать белки, нуклеотидные последовательности, пептиды, композиции, активные средства и т. д., а также способы по настоящему изобретению, следует понимать, что настоящее изобретение не ограничивается конкретными описанными методологией, протоколами, линиями клеток, векторами и реагентами, так как они могут различаться. Также необходимо понимать, что терминология, используемая в данном документе, предназначена лишь с целью описания конкретных вариантов осуществления, и не предназначена для ограничения объема вариантов осуществления настоящего изобретения, которые будут ограничиваться лишь прилагаемой формулой изобретения.

[0033] Если не указано иное, то используемые в данном документе термины и фразы определены, как указано ниже. Во всем данном описании формы существительного единственного числа включают ссылку на формы множественного числа, если контекст четко не определяет иное. Таким образом, например, ссылка на «клетку-хозяина» включает множество таких клеток-хозяев, а ссылка на «антитело» представляет собой ссылку на одно или более антител и их эквивалентов, известных специалистам в данной области техники, и т. д.

[0034] Аминокислоты и аминокислотные остатки, описанные в данном документе, могут упоминаться в соответствии с принятым одно- или трехбуквенным кодом, приведенным в таблице ниже.

Таблица 1

Трехбуквенная аминокислота	Однобуквенный символ	Символ
Аланин	A	Ala
Аргинин	R	Arg
Аспарагин	N	Asn
Аспарагиновая кислота	D	Asp
Цистеин	C	Cys

Глутамин	Q	Gln
Глутаминовая кислота	E	Glu
Глицин	G	Gly
Гистидин	H	His
Изолейцин	I	Ile
Лейцин	L	Leu
Лизин	K	Lys
Метионин	M	Met
Фенилаланин	F	Phe
Пролин	P	Pro
Серин	S	Ser
Треонин	T	Thr
Триптофан	W	Trp
Тирозин	Y	Tyr
Валин	V	Val

[0035] Выражение «NTP-пептид» относится к пептидам, содержащим аминокислотные последовательности, соответствующие по меньшей мере части аминокислотной последовательности белков нервной нити или фрагментам белков нервной нити, и включает гомологи, производные, варианты, слитые белки и пептидомиметики таких пептидов, если в контексте не указано иное. Выражение «NTP-пептид» также относится к пептиду или другому химическому соединению, заявленным в одной или более из следующего: заявке на патент США № 14/808713, поданной 24 июля 2015 года, под названием СПОСОБЫ СНИЖЕНИЯ ПОТРЕБНОСТИ В ХИРУРГИЧЕСКОМ ВМЕШАТЕЛЬСТВЕ У ПАЦИЕНТОВ, СТРАДАЮЩИХ ДОБРОКАЧЕСТВЕННОЙ ГИПЕРПЛАЗИЕЙ ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ; заявке на патент США № 14/606683, поданной 27 января, 2015 года, под названием СПОСОБ ЛЕЧЕНИЯ НАРУШЕНИЙ, ТРЕБУЮЩИХ РАЗРУШЕНИЯ ИЛИ УДАЛЕНИЯ КЛЕТОК, заявке на патент США № 14/738551, поданной 12 июня, 2015 года, под названием КОМБИНИРОВАННЫЕ КОМПОЗИЦИИ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ НАРУШЕНИЙ, ТРЕБУЮЩИХ УДАЛЕНИЯ ИЛИ РАЗРУШЕНИЯ НЕЖЕЛАТЕЛЬНЫХ КЛЕТОЧНЫХ ПРОЛИФЕРАЦИЙ; публикациях заявок на патент США №№ 2007/0237780 (в настоящее время приостановлена); 2003/0054990 (теперь патент США № 7172893); 2003/0096350 (теперь патент США № 6924266); 2003/0096756 (теперь патент США № 7192929); 2003/0109437 (теперь патент США № 7241738); 2003/0166569 (теперь патент США № 7317077) и 2005/0032704 (теперь патент США № 7408021); и 2015/0148303 (теперь патент США № 9243035). Раскрытия каждая из данных заявок включены посредством ссылки в данный документ во всей своей полноте. Конкретные пептиды перечислены ниже.

1) SEQ ID NO. 1: MEFSLLLPRLECNGA или Met-Glu-Phe-Ser-Leu-Leu-Leu-Pro-Arg-Leu-Glu-Cys-Asn-Gly-Ala

2) SEQ ID NO. 2: GAISAHRNLRLPGSS или Gly-Ala-Ile-Ser-Ala-His-Arg-Asn-Leu-Arg-Leu-Pro-Gly-Ser-Ser

3) SEQ ID NO. 3: DSPASASPVAGITGMCT или Asp-Ser-Pro-Ala-Ser-Ala-Ser-Pro-Val-Ala-Gly-Ile-Thr-Gly-Met-Cys-Thr

4) SEQ ID NO. 4: MCTHARLILYFFLVEM или Met-Cys-Thr-His-Ala-Arg-Leu-Ile-Leu-Tyr-Phe-Phe-Leu-Val-Glu-Met

5) SEQ ID NO. 5: YFFLVEMEFLH или Tyr-Phe-Phe-Leu-Val-Glu-Met-Glu-Phe-Leu-His

6) SEQ ID NO. 6: VGQAGLELPTS или Val-Gly-Gln-Ala-Gly-Leu-Glu-Leu-Pro-Thr-Ser

7) SEQ ID NO. 7: DDPSVSASQSARYRTGH или Asp-Asp-Pro-Ser-Val-Ser-Ala-Ser-Gln-Ser-Ala-Arg-Tyr-Arg-Thr-Gly-His

8) SEQ ID NO. 8: TGHHARLCLANFCG или Thr-Gly-His-His-Ala-Arg-Leu-Cys-Leu-Ala-Asn-Phe-Cys-Gly

9) SEQ ID NO. 9: ANFCGRNRVSLMCPSWS или Ala-Asn-Phe-Cys-Gly-Arg-Asn-Arg-Val-Ser-Leu-Met-Cys-Pro-Ser-Trp-Ser

10) SEQ ID NO. 10: PELKQSTCLSLPKCWDYRR или Pro-Glu-Leu-Lys-Gln-Ser-Thr-Cys-Leu-Ser-Leu-Pro-Lys-Cys-Trp-Asp-Tyr-Arg-Arg

11) SEQ ID NO. 11: LKQSTCLSLPKCWDYRR или Leu-Lys-Gln-Ser-Thr-Cys-Leu-Ser-Leu-Pro-Lys-Cys-Trp-Asp-Tyr-Arg-Arg

12) SEQ ID NO. 12: STCLSLPKCWDYRR или Ser-Thr-Cys-Leu-Ser-Leu-Pro-Lys-Cys-Trp-Asp-Tyr-Arg-Arg

13) SEQ ID NO. 13: LSLPKCWDYRR или Leu-Ser-Leu-Pro-Lys-Cys-Trp-Asp-Tyr-Arg-Arg

14) SEQ ID NO. 14: KCWDYRRAAVPGL или Lys-Cys-Trp-Asp-Tyr-Arg-Arg-Ala-Ala-Val-Pro-Gly-Leu

15) SEQ ID NO. 15: KCWDYRRAAVPGLFILFFL или Lys-Cys-Trp-Asp-Tyr-Arg-Arg-Ala-Ala-Val-Pro-Gly-Leu-Phe-Ile-Leu-Phe-Phe-Leu

16) SEQ ID NO. 16: KCWDYRRAAVPGLFILFFLRHRCP или Lys-Cys-Trp-Asp-Tyr-Arg-Arg-Ala-Ala-Val-Pro-Gly-Leu-Phe-Ile-Leu-Phe-Phe-Leu-Arg-His-Arg-Cys-Pro

17) SEQ ID NO. 17: KCWDYRRAAVPGLFILFFLRHRCPTLTQDEVQWCDHSS или Lys-Cys-Trp-Asp-Tyr-Arg-Arg-Ala-Ala-Val-Pro-Gly-Leu-Phe-Ile-Leu-Phe-Phe-Leu-Arg-His-Arg-Cys-Pro-Thr-Leu-Thr-Gln-Asp-Glu-Val-Gln-Trp-Cys-Asp-His-Ser-Ser

18) SEQ ID NO. 18: WDYRR или Trp-Asp-Tyr-Arg-Arg

19) SEQ ID NO. 19: FILFFLRHRCPTL или Phe-Ile-Leu-Phe-Phe-Leu-Arg-His-Arg-Cys-Pro-Thr-Leu

20) SEQ ID NO. 20: FILFFLRHRCPTLTQDEVQWCDHSS или Phe-Ile-Leu-Phe-Phe-Leu-Arg-His-Arg-Cys-Pro-Thr-Leu-Thr-Gln-Asp-Glu-Val-Gln-Trp-Cys-Asp-His-Ser-Ser

21) SEQ ID NO. 21: HRCPTLTQDEVQWCDHSSLQPSTPEIKHP или His-Arg-Cys-Pro-Thr-Leu-Thr-Gln-Asp-Glu-Val-Gln-Trp-Cys-Asp-His-Ser-Ser-Leu-Gln-Pro-Ser-Thr-Pro-Glu-Ile-Lys-His-Pro

22) SEQ ID NO. 22: PASASQVAGTKDMH или Pro-Ala-Ser-Ala-Ser-Gln-Val-Ala-Gly-Thr-Lys-Asp-Met-His

23) SEQ ID NO. 23: DMHHYTWLIFIFIFNFLR или Asp-Met-His-His-Tyr-Thr-Trp-Leu-Ile-Phe-Ile-Phe-Ile-Phe-Asn-Phe-Leu-Arg

24) SEQ ID NO. 24: HYTWLIFIFIFNFLRQSLN или His-Tyr-Thr-Trp-Leu-Ile-Phe-Ile-Phe-Ile-Phe-Asn-Phe-Leu-Arg-Gln-Ser-Leu-Asn

25) SEQ ID NO. 25: SVTQAGVQWRNLGSLQPLPPGFKLFSCPSLLSSWDYRRPPRLANF или Ser-Val-Thr-Gln-Ala-Gly-Val-Gln-Trp-Arg-Asn-Leu-Gly-Ser-Leu-Gln-Pro-Leu-Pro-Pro-Gly-Phe-Lys-Leu-Phe-Ser-Cys-Pro-Ser-Leu-Leu-Ser-Ser-Trp-Asp-Tyr-Arg-Arg-Pro-Pro-Arg-Leu-Ala-Asn-Phe

26) SEQ ID NO. 26: PGFKLFSCPSLLSSWDYRR или Pro-Gly-Phe-Lys-Leu-Phe-Ser-Cys-Pro-Ser-Leu-Leu-Ser-Ser-Trp-Asp-Tyr-Arg-Arg

27) SEQ ID NO. 27: FKLFSCPSLLSSWDYRRPPRLANF или Phe-Lys-Leu-Phe-Ser-Cys-Pro-Ser-Leu-Leu-Ser-Ser-Trp-Asp-Tyr-Arg-Arg-Pro-Pro-Arg-Leu-Ala-Asn-Phe

28) SEQ ID NO. 28: FSCPSLLSSWDYRR или Phe-Ser-Cys-Pro-Ser-Leu-Leu-Ser-Ser-Trp-Asp-Tyr-Arg-Arg

29) SEQ ID NO. 29: SLLSSWDYRR или Ser-Leu-Leu-Ser-Ser-Trp-Asp-Tyr-Arg-Arg

30) SEQ ID NO. 30: SSWDY или Ser-Ser-Trp-Asp-Tyr

31) SEQ ID NO. 31: SSWDYRR или Ser-Ser-Trp-Asp-Tyr-Arg-Arg

32) SEQ ID NO. 32: SSWDYRRPPRLANFFVFLVEMGFTM или Ser-Ser-Trp-Asp-Tyr-Arg-

Arg-Pro-Pro-Arg-Leu-Ala-Asn-Phe-Phe-Val-Phe-Leu-Val-Glu-Met-Gly-Phe-Thr-Met

33) SEQ ID NO. 33: FVFLVEMGFTM или Phe-Val-Phe-Leu-Val-Glu-Met-Gly-Phe-Thr-Met

34) SEQ ID NO. 34: MGFTMFARLILISGPCDLPASAS или Met-Gly-Phe-Thr-Met-Phe-Ala-Arg-Leu-Ile-Leu-Ile-Ser-Gly-Pro-Cys-Asp-Leu-Pro-Ala-Ser-Ala-Ser

35) SEQ ID NO. 35: ISGPC или Ile-Ser-Gly-Pro-Cys

36) SEQ ID NO. 36: DLPASASQSAGITGVSH или Asp-Leu-Pro-Ala-Ser-Ala-Ser-Gln-Ser-Ala-Gly-Ile-Thr-Gly-Val-Ser-His

37) SEQ ID NO. 37: GVSHHARLIFNFCLFEM или Gly-Val-Ser-His-His-Ala-Arg-Leu-Ile-Phe-Asn-Phe-Cys-Leu-Phe-Glu-Met

38) SEQ ID NO. 38: NFCLFEMESH или Asn-Phe-Cys-Leu-Phe-Glu-Met-Glu-Ser-His

39) SEQ ID NO. 39: SVTQAGVQWPNLGSLQPLPPGLKRFSCLSLPSSWDYGHLPPHPANF или Ser-Val-Thr-Gln-Ala-Gly-Val-Gln-Trp-Pro-Asn-Leu-Gly-Ser-Leu-Gln-Pro-Leu-Pro-Pro-Gly-Leu-Lys-Arg-Phe-Ser-Cys-Leu-Ser-Leu-Pro-Ser-Ser-Trp-Asp-Tyr-Gly-His-Leu-Pro-Pro-His-Pro-Ala-Asn-Phe

40) SEQ ID NO. 40: PPGLKRFSCLSLPSSWDYG или Pro-Pro-Gly-Leu-Lys-Arg-Phe-Ser-Cys-Leu-Ser-Leu-Pro-Ser-Ser-Trp-Asp-Tyr-Gly

41) SEQ ID NO. 41: FSCLSLPSSWDYGH или Phe-Ser-Cys-Leu-Ser-Leu-Pro-Ser-Ser-Trp-Asp-Tyr-Gly-His

42) SEQ ID NO. 42: LSLPSSWDY или Leu-Ser-Leu-Pro-Ser-Ser-Trp-Asp-Tyr

43) SEQ ID NO. 43: SSWDYGHLPPHPANFCIFIRGGVSPYLSGWSQTPDLR или Ser-Ser-Trp-Asp-Tyr-Gly-His-Leu-Pro-Pro-His-Pro-Ala-Asn-Phe-Cys-Ile-Phe-Ile-Arg-Gly-Gly-Val-Ser-Pro-Tyr-Leu-Ser-Gly-Trp-Ser-Gln-Thr-Pro-Asp-Leu-Arg

44) SEQ ID NO. 44: PGFFKLFSCPSLLSSWDYRR или Pro-Gly-Phe-Phe-Lys-Leu-Phe-Ser-Cys-Pro-Ser-Leu-Leu-Ser-Ser-Trp-Asp-Tyr-Arg-Arg

45) SEQ ID NO. 45: PELKQSTCLSLPKCWDYRR или Pro-Glu-Leu-Lys-Gln-Ser-Thr-Cys-Leu-Ser-Leu-Pro-Lys-Cys-Trp-Asp-Tyr-Arg-Arg

46) SEQ ID NO. 46: PPGLKRFSCLSLPSSWDYG или Pro-Pro-Gly-Leu-Lys-Arg-Phe-Ser-Cys-Leu-Ser-Leu-Pro-Ser-Ser-Trp-Asp-Tyr-Gly

47) SEQ ID NO. 47: FSCLSLPSSWDYGH или Phe-Ser-Cys-Leu-Ser-Leu-Pro-Ser-Ser-Trp-Asp-Tyr-Gly-His

48) SEQ ID NO. 48: STCLSLPKCWDYRR или Ser-Thr-Cys-Leu-Ser-Leu-Pro-Lys-Cys-Trp-Asp-Tyr-Arg-Arg

49) SEQ ID NO. 49: FSCPSLLSSWDYRR или Phe-Ser-Cys-Pro-Ser-Leu-Leu-Ser-Ser-Trp-Asp-Tyr-Arg-Arg

50) SEQ ID NO. 50: LSLPSSWDY или Leu-Ser-Leu-Pro-Ser-Ser-Trp-Asp-Tyr

51) SEQ ID NO. 51: LSLPKCWDYRR или Leu-Ser-Leu-Pro-Lys-Cys-Trp-Asp-Tyr-Arg-Arg

52) SEQ ID NO. 52: SLLSSWDYRR или Ser-Leu-Leu-Ser-Ser-Trp-Asp-Tyr-Arg-Arg

53) SEQ ID NO. 53: LPSSWDYRR или Leu-Pro-Ser-Ser-Trp-Asp-Tyr-Arg-Arg

54) SEQ ID NO. 54: SSWDYRR или Ser-Ser-Trp-Asp-Tyr-Arg-Arg

55) SEQ ID NO. 55: SSWDY или Ser-Ser-Trp-Asp-Tyr

56) SEQ ID NO. 56: SSWDYRRFILFFL или Ser-Ser-Trp-Asp-Tyr-Arg-Arg-Phe-Ile-Leu-Phe-Phe-Leu

57) SEQ ID NO. 57: WDYRRFIFNFL или Trp-Asp-Tyr-Arg-Arg-Phe-Ile-Phe-Asn-Phe-Leu

58) SEQ ID NO. 58: FNFCLF или Phe-Asn-Phe-Cys-Leu-Phe

59) SEQ ID NO. 59: FIFNFL или Phe-Ile-Phe-Asn-Phe-Leu

60) SEQ ID NO. 60: PASASPVAGITGM или Pro-Ala-Ser-Ala-Ser-Pro-Val-Ala-Gly-Ile-Thr-Gly-Met

61) SEQ ID NO. 61: PASASQVAGTKDM или Pro-Ala-Ser-Ala-Ser-Gln-Val-Ala-Gly-Thr-

Lys-Asp-Met

62) SEQ ID NO. 62: PASASQSAGITGV или Pro-Ala-Ser-Ala-Ser-Gln-Ser-Ala-Gly-Ile-Thr-Gly-Val

63) SEQ ID NO. 63: PASASPVAG или Pro-Ala-Ser-Ala-Ser-Pro-Val-Ala-Gly

64) SEQ ID NO. 64: FFLVEM или Phe-Phe-Leu-Val-Glu-Met

65) SEQ ID NO. 65: SVTQAGVQW или Ser-Val-Thr-Gln-Ala-Gly-Val-Gln-Trp

66) SEQ ID NO. 66: IDQQVLSRIKLEIKRCL или Ile-Asp-Gln-Gln-Val-Leu-Ser-Arg-Ile-Lys-Leu-Glu-Ile-Lys-Arg-Cys-Leu

67) SEQ ID NO. 67: LSRIKLEIK или Leu-Ser-Arg-Ile-Lys-Leu-Glu-Ile-Lys

68) SEQ ID NO. 68: GDHGRPNLSRLKLAIKYEVKKM или Gly-Asp-His-Gly-Arg-Pro-Asn-Leu-Ser-Arg-Leu-Lys-Leu-Ala-Ile-Lys-Tyr-Glu-Val-Lys-Lys-Met

69) SEQ ID NO. 69: QQSIAVKFLAVFGVSI или Gln-Gln-Ser-Ile-Ala-Val-Lys-Phe-Leu-Ala-Val-Phe-Gly-Val-Ser-Ile

70) SEQ ID NO. 70: GLLFPVFSVCYLIAPKSPLGL или Gly-Leu-Leu-Phe-Pro-Val-Phe-Ser-Val-Cys-Tyr-Leu-Ile-Ala-Pro-Lys-Ser-Pro-Leu-Gly-Leu

71) SEQ ID NO. 71: MMVCWNRFGKWVYFI или Met-Met-Val-Cys-Trp-Asn-Arg-Phe-Gly-Lys-Trp-Val-Tyr-Phe-Ile

72) SEQ ID NO. 72: SAIFNFGPRYLYHGV или Ser-Ala-Ile-Phe-Asn-Phe-Gly-Pro-Arg-Tyr-Leu-Tyr-His-Gly-Val

73) SEQ ID NO. 73: PFYFLILVRIISFLI или Pro-Phe-Tyr-Phe-Leu-Ile-Leu-Val-Arg-Ile-Ile-Ser-Phe-Leu-Ile

74) SEQ ID NO. 74: GDMEDVLLNCTLLKR или Gly-Asp-Met-Glu-Asp-Val-Leu-Leu-Asn-Cys-Thr-Leu-Leu-Lys-Arg

75) SEQ ID NO. 75: SSRFRFWGALVCSMD или Ser-Ser-Arg-Phe-Arg-Phe-Trp-Gly-Ala-Leu-Val-Cys-Ser-Met-Asp

76) SEQ ID NO. 76: SCRFSRVAVTYRFIT или Ser-Cys-Arg-Phe-Ser-Arg-Val-Ala-Val-Thr-Tyr-Arg-Phe-Ile-Thr

77) SEQ ID NO. 77: LLNIPSPAVWMARNT или Leu-Leu-Asn-Ile-Pro-Ser-Pro-Ala-Val-Trp-Met-Ala-Arg-Asn-Thr

78) SEQ ID NO. 78: MAQSRLTATSASRVQ или Met-Ala-Gln-Ser-Arg-Leu-Thr-Ala-Thr-Ser-Ala-Ser-Arg-Val-Gln

79) SEQ ID NO. 79: AILLSQPPKQLGLRA или Ala-Ile-Leu-Leu-Ser-Gln-Pro-Pro-Lys-Gln-Leu-Gly-Leu-Arg-Ala

80) SEQ ID NO. 80: PANTPLIFVFSLEAG или Pro-Ala-Asn-Thr-Pro-Leu-Ile-Phe-Val-Phe-Ser-Leu-Glu-Ala-Gly

81) SEQ ID NO. 81: FHHICQAGLKLLTSG или Phe-His-His-Ile-Cys-Gln-Ala-Gly-Leu-Lys-Leu-Leu-Thr-Ser-Gly

82) SEQ ID NO. 82: DPPASAFQSAGITGV или Asp-Pro-Pro-Ala-Ser-Ala-Phe-Gln-Ser-Ala-Gly-Ile-Thr-Gly-Val

83) SEQ ID NO. 83: SHLTQPANLDKKICS или Ser-His-Leu-Thr-Gln-Pro-Ala-Asn-Leu-Asp-Lys-Lys-Ile-Cys-Ser

84) SEQ ID NO. 84: NGGSCYVAQAGLKLLASCNPSK или Asn-Gly-Gly-Ser-Cys-Tyr-Val-Ala-Gln-Ala-Gly-Leu-Lys-Leu-Leu-Ala-Ser-Cys-Asn-Pro-Ser-Lys

85) SEQ ID NO. 85: MWTLKSSLVLLLCLT или Met-Trp-Thr-Leu-Lys-Ser-Ser-Leu-Val-Leu-Leu-Leu-Cys-Leu-Thr

86) SEQ ID NO. 86: CSYAFMFSSLRQKTS или Cys-Ser-Tyr-Ala-Phe-Met-Phe-Ser-Ser-Leu-Arg-Gln-Lys-Thr-Ser

87) SEQ ID NO. 87: EPQGKVPCGEHFRIR или Glu-Pro-Gln-Gly-Lys-Val-Pro-Cys-Gly-

Glu-His-Phe-Arg-Ile-Arg

88) SEQ ID NO. 88: QNLPEHTQGWLGSKW или Gln-Asn-Leu-Pro-Glu-His-Thr-Gln-Gly-Trp-Leu-Gly-Ser-Lys-Trp

89) SEQ ID NO. 89: LWLLFAVVPFVILKC или Leu-Trp-Leu-Leu-Phe-Ala-Val-Val-Pro-Phe-Val-Ile-Leu-Lys-Cys

90) SEQ ID NO. 90: QRDSEKNKVRMAPFF или Gln-Arg-Asp-Ser-Glu-Lys-Asn-Lys-Val-Arg-Met-Ala-Pro-Phe-Phe

91) SEQ ID NO. 91: LHHIDSISGVSGKRMF или Leu-His-His-Ile-Asp-Ser-Ile-Ser-Gly-Val-Ser-Gly-Lys-Arg-Met-Phe

92) SEQ ID NO. 92: EAYYTMLHLPTTNRP или Glu-Ala-Tyr-Tyr-Thr-Met-Leu-His-Leu-Pro-Thr-Thr-Asn-Arg-Pro

93) SEQ ID NO. 93: KIAHCILFNQPHSPR или Lys-Ile-Ala-His-Cys-Ile-Leu-Phe-Asn-Gln-Pro-His-Ser-Pro-Arg

94) SEQ ID NO. 94: SNSHSHPNPLKLHRR или Ser-Asn-Ser-His-Ser-His-Pro-Asn-Pro-Leu-Lys-Leu-His-Arg-Arg

95) SEQ ID NO. 95: SHSHNRPRAYILITI или Ser-His-Ser-His-Asn-Arg-Pro-Arg-Ala-Tyr-Ile-Leu-Ile-Thr-Ile

96) SEQ ID NO. 96: LPSKLKLRTHSQSHH или Leu-Pro-Ser-Lys-Leu-Lys-Leu-Arg-Thr-His-Ser-Gln-Ser-His-His

97) SEQ ID NO. 97: NPLSRTSNSTPTNSFLMTSSKPR или Asn-Pro-Leu-Ser-Arg-Thr-Ser-Asn-Ser-Thr-Pro-Thr-Asn-Ser-Phe-Leu-Met-Thr-Ser-Ser-Lys-Pro-Arg

98) SEQ ID NO. 98: SSSLGLPKCWDYRHE или Ser-Ser-Ser-Leu-Gly-Leu-Pro-Lys-Cys-Trp-Asp-Tyr-Arg-His-Glu

99) SEQ ID NO. 99: LLSLALMINFRVMAC или Leu-Leu-Ser-Leu-Ala-Leu-Met-Ile-Asn-Phe-Arg-Val-Met-Ala-Cys

100) SEQ ID NO. 100: TFKQHIELRQKISIV или Thr-Phe-Lys-Gln-His-Ile-Glu-Leu-Arg-Gln-Lys-Ile-Ser-Ile-Val

101) SEQ ID NO. 101: PRKLCCMGPVCPVKI или Pro-Arg-Lys-Leu-Cys-Cys-Met-Gly-Pro-Val-Cys-Pro-Val-Lys-Ile

102) SEQ ID NO. 102: ALLTINGHCTWLPAS или Ala-Leu-Leu-Thr-Ile-Asn-Gly-His-Cys-Thr-Trp-Leu-Pro-Ala-Ser

103) SEQ ID NO. 103: MFVFCLILNREKIKG или Met-Phe-Val-Phe-Cys-Leu-Ile-Leu-Asn-Arg-Glu-Lys-Ile-Lys-Gly

104) SEQ ID NO. 104: GNSSFFLLSFFFSFQ или Gly-Asn-Ser-Ser-Phe-Phe-Leu-Leu-Ser-Phe-Phe-Phe-Ser-Phe-Gln

105) SEQ ID NO. 105: NCCQCFQCRTTEGYA или Asn-Cys-Cys-Gln-Cys-Phe-Gln-Cys-Arg-Thr-Thr-Glu-Gly-Tyr-Ala

106) SEQ ID NO. 106: VECFYCLVDKAAFECWWFYSFDT или Val-Glu-Cys-Phe-Tyr-Cys-Leu-Val-Asp-Lys-Ala-Ala-Phe-Glu-Cys-Trp-Trp-Phe-Tyr-Ser-Phe-Asp-Thr

107) SEQ ID NO. 107: MEPHTVAQAGVPQHD или Met-Glu-Pro-His-Thr-Val-Ala-Gln-Ala-Gly-Val-Pro-Gln-His-Asp

108) SEQ ID NO. 108: LGSLQSLLPRFKRFS или Leu-Gly-Ser-Leu-Gln-Ser-Leu-Leu-Pro-Arg-Phe-Lys-Arg-Phe-Ser

109) SEQ ID NO. 109: CLILPKIWDYRNMNT или Cys-Leu-Ile-Leu-Pro-Lys-Ile-Trp-Asp-Tyr-Arg-Asn-Met-Asn-Thr

110) SEQ ID NO. 110: ALIKRNRYTPETGRKS или Ala-Leu-Ile-Lys-Arg-Asn-Arg-Tyr-Thr-Pro-Glu-Thr-Gly-Arg-Lys-Ser

111) SEQ ID NO. 111: IDQQVLSRI или Ile-Asp-Gln-Gln-Val-Leu-Ser-Arg-Ile

112) SEQ ID NO. 112: KLEIKRCL или Lys-Leu-Glu-Ile-Lys-Arg-Cys-Leu

113) SEQ ID NO. 113: VLSRIK или Val-Leu-Ser-Arg-Ile-Lys

114) SEQ ID NO. 114: RIKLEIK или Arg-Ile-Lys-Leu-Glu-Ile-Lys

115) SEQ ID NO. 115: VLSRIKLEIKRCL или Val-Leu-Ser-Arg-Ile-Lys-Leu-Glu-Ile-Lys-Arg-Cys-Leu и

116) SEQ ID NO. 116: IDQQVLSRIKLEI или Ile-Asp-Gln-Gln-Val-Leu-Ser-Arg-Ile-Lys-Leu-Glu-Ile.

Выражение «NTP-пептид» также предпочтительно включает (без ограничения) аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 1-116.

[0036] Термин «фрагмент» относится к белку или полипептиду, которые состоят из непрерывной подпоследовательности аминокислотной последовательности белка или пептида, и включает встречающиеся в природе фрагменты, такие как сплайс-варианты и фрагменты, полученные в результате встречающейся в природе активности протеазы in vivo. Такой фрагмент может быть усечен на аминоконце, карбоксиконце и/или внутри (например, путем естественного сплайсинга). Такие фрагменты могут быть получены с аминоконцевым метионином или без него. Термин «фрагмент» включает фрагменты, одинаковые или отличные от одного и того же белка или пептида, с общей непрерывной аминокислотной последовательностью или без нее, соединенные вместе, либо непосредственно, либо через линкер. Специалист в данной области техники сможет выбрать подходящий фрагмент для применения в вариантах осуществления без излишних экспериментов с использованием руководств и процедур, изложенных в данном документе.

[0037] Термин «вариант» относится к белку или полипептиду, в которых присутствуют одна или более аминокислотных замен, делеций и/или вставок по сравнению с аминокислотной последовательностью белка или пептида, и включает встречающиеся в природе аллельные варианты или альтернативные сплайс-варианты белка или пептида. Термин «вариант» включает замену одной или более аминокислот в пептидной последовательности подобной или гомологичной аминокислотой(аминокислотами) или отличной аминокислотой(аминокислотами). Существует много шкал, по которым аминокислоты можно отнести к подобным или гомологичным. (Gunnar von Heijne, Sequence Analysis in Molecular Biology, p. 123-39 (Academic Press, New York, N.Y. 1987). Предпочтительные варианты включают замены аланина в одном или более положениях аминокислот. Другие предпочтительные замены включают консервативные замены, которые оказывают незначительное влияние или не влияют на общий суммарный заряд, полярность или гидрофобность белка. Консервативные замены изложены в таблице 2 ниже.

Таблица 2

Консервативные аминокислотные замены

Основные	Аргинин Лизин Гистидин
Кислые	Глутаминовая кислота Аспарагиновая кислота
Незаряженные полярные	Глутамин Аспарагин Серин Треонин Тирозин

Неполярные	Фенилаланин Триптофан Цистеин Глицин Аланин Валин Пролин Метионин Лейцин Изолейцин

В таблице 3 представлена другая схема аминокислотных замен.

Таблица 3

Исходный остаток	Замены
Ala	gly; ser
Arg	lys
Asn	gln; his
Asp	glu
Cys	ser
Gln	asn
Glu	asp
Gly	ala; pro
His	asn; gln
Ile	eu; val
Leu	ile; val
Lys	arg; gln; glu
Met	leu; tyr; ile
Phe	met; leu; tyr
Ser	thr
Thr	ser
Trp	tyr
Tyr	trp; phe
Val	ile; leu

[0038] Другие варианты могут состоять из менее консервативных аминокислотных замен, таких как выбор остатков, которые более значительно различаются по своему эффекту в отношении сохранения (a) структуры полипептидного остова в участке замены, например, такой как лист или спиральная конформация, (b) заряда или гидрофобности молекулы в сайте-мишени, или (c) размера боковой цепи. Замены, которые, как правило, должны иметь более существенный эффект в отношении функции, представляют собой замены, в которых (a) глицин и/или пролин замещены другой аминокислотой или удалены или вставлены; (б) гидрофильный остаток, например, серил или треонил, замещен (или заменен) гидрофобным остатком, например, лейцилом, изолейцилом, фенилаланилом, валилом или аланилом; (c) остаток цистеина замещен (или заменен) любым другим остатком; (d) остаток, имеющий электроположительную боковую цепь, например, лизил, аргинил или гистидил, замещен (или заменен) остатком, имеющим электроотрицательный заряд, например, глутамилом или аспартилом; или (e) остаток, имеющий объемную боковую цепь, например фенилаланин, замещен (или заменен) остатком, не имеющим такой боковой цепи, например, глицином. Другие варианты включают варианты, предназначенные либо для создания нового сайта (сайтов) гликозилирования и/или фосфорилирования, либо варианты, предназначенные для удаления существующего сайта(сайтов) гликозилирования и/или фосфорилирования. Варианты включают по меньшей мере одну аминокислотную замену в сайте гликозилирования, сайте протеолитического расщепления и/или остатке цистеина. Варианты также включают белки и пептиды с дополнительными аминокислотными остатками до или после аминокислотной последовательности белка или пептида на

линкерных пептидах. Например, остаток цистеина может быть добавлен как к амино-, так и к карбокси-концам NTP-пептида, чтобы обеспечить циклизацию пептида посредством образования дисульфидной связи. Термин «вариант» также охватывает полипептиды, которые имеют аминокислотную последовательность NTP-пептида с по меньшей мере одной и не более 25 или больше дополнительными аминокислотами, фланкирующими либо 3'-, либо 5'-конец пептида.

[0039] Термин «производное» относится к химически модифицированным белку или полипептиду, которые были химически модифицированы посредством либо природных процессов, таких как процессинг и другие посттрансляционные модификации, но также посредством методик химической модификации, например, путем добавления одной или более молекул полиэтиленгликоля, сахаров, фосфатов и/или других таких молекул, где молекула или молекулы не связаны естественным образом с белками дикого типа или NTP-пептидами. Производные включают соли. Такие химические модификации хорошо описаны в основных текстах и в более подробных монографиях, а также в многочисленной исследовательской литературе, и они хорошо известны специалистам в данной области техники. Понятно, что один и тот же тип модификации может присутствовать в одинаковой или различной степени в нескольких сайтах данных белка или полипептида. Также эти белок или полипептид могут содержать множество типов модификаций. Модификации могут происходить в любом месте белка или полипептида, в том числе пептидном остове, аминокислотных боковых цепях и амино- или карбокси-концах. Модификации включают, например, ацетилирование, ацилирование, ADP-рибозилирование, амидирование, ковалентное присоединение флавина, ковалентное присоединение гемового фрагмента, ковалентное присоединение нуклеотида или производного нуклеотида, ковалентное присоединение липида или производного липида, ковалентное присоединение фосфотидилинозитола, перекрестное сшивание, циклизацию, образование дисульфидной связи, деметилирование, образование ковалентных перекрестных сшивок, образование цистеина, образование пироглутамата, формилирование, гамма-карбоксилирование, гликозилирование, образование GPI-якоря, гидроксилирование, йодирование, метилирование, миристоилирование, окисление, протеолитический процессинг, фосфорилирование, пренилирование, рацемизацию, гликозилирование, липидное присоединение, сульфатирование, гамма-карбоксилирование остатков глутаминовой кислоты, гидроксилирование и ADP-рибозилирование, селеноилирование, сульфатирование, добавление аминокислот, опосредованное транспортной РНК, к белкам, такое как аргинилирование и убиквитинирование. См., например, Proteins--Structure And Molecular Properties, 2nd Ed., T. E. Creighton, W. H. Freeman and Company, New York (1993) и Wold, F., «Posttranslational Protein Modifications: Perspectives and Prospects», стр. 1-12 в Posttranslational Covalent Modification Of Proteins, B. C. Johnson, Ed., Academic Press, New York (1983); Seifter et al., Meth. Enzymol. 182:626-646 (1990) и Rattan et al., «Protein Synthesis: Posttranslational Modifications and Aging», Ann. N.Y. Acad. Sci. 663: 48-62 (1992). Термин «производные» включает химические модификации, в результате которых белок или полипептид становятся разветвленными или циклическими, с разветвлением или без него. Циклические, разветвленные и разветвленные кольцевые белки или полипептиды могут быть получены в результате посттрансляционных природных процессов и могут быть получены также посредством полностью синтетических способов.

[0040] Термин «гомолог» относится к белку, который на по меньшей мере 60 процентов идентичен по своей аминокислотной последовательности NTP-пептиду, что определяется стандартными способами, которые обычно используются для сравнения

сходства в положении аминокислот двух полипептидов. Степень сходства или идентичности между двумя белками можно легко рассчитать известными способами, включая без ограничения способы, описанные в Computational Molecular Biology, Lesk, A. M., ed., Oxford University Press, New York, 1988; Biocomputing: Informatics and Genome Projects, Smith, D. W., ed., Academic Press, New York, 1993; Computer Analysis of Sequence Data, Part I, Griffin, A. M., and Griffin, H. G., eds., Humana Press, New Jersey, 1994; Sequence Analysis in Molecular Biology, von Heinje, G., Academic Press, 1987; Sequence Analysis Primer, Gribskov, M. and Devereux, J., eds., M Stockton Press, New York, 1991 и Carillo H. and Lipman, D., SIAM, J. Applied Math., 48:1073 (1988). Предпочтительные способы определения идентичности предназначены для обеспечения наибольшего соответствия между протестированными последовательностями. Способы определения идентичности и сходства кодифицированы в общедоступных компьютерных программах.

[0041] Предпочтительные способы с использованием компьютерных программ, пригодные для определения идентичности и сходства между двумя последовательностями, включают без ограничения программный пакет GCG (Devereux, J., et al., Nucleic Acids Research, 12(1): 387 (1984)), BLASTP, BLASTN, и FASTA, Atschul, S. F. et al., J. Molec. Biol., 215: 403-410 (1990). Программа BLAST X общедоступна в NCBI и других источниках (BLAST Manual, Altschul, S., et al., NCBI NLM NIH Bethesda, Md. 20894; Altschul, S., et al., J. Mol. Biol., 215: 403-410 (1990). Например, используя компьютерный алгоритм, такой как GAP (Genetic Computer Group, Университет Висконсина, Мэдисон, Висконсин), два белка или полипептида, для которых должна быть определена процентная идентичность последовательности, выравнивают для оптимального соответствия их соответствующих аминокислот («длина совпадения», как определено алгоритмом).

[0042] Штраф за открытие гэпа (который рассчитывается как 3-кратная средняя диагональ; «средняя диагональ» представляет собой среднее значение диагонали используемой матрицы сравнения; «диагональ» представляет собой оценку или число, присвоенные каждому идеальному совпадению аминокислот по конкретной матрице сравнения) и штраф за продление гэпа (который обычно равен {доле (1/10)}, умноженной на штраф за открытие гэпа), а также матрица сравнения, такая как PAM 250 или BLOSUM 62, используются в сочетании с алгоритмом. Алгоритмом также может использоваться стандартная матрица сравнения (см. Dayhoff et al. в Atlas of Protein Sequence and Structure, vol. 5, supp.3 для матрицы сравнения PAM250; см. Henikoff et al., Proc. Natl. Acad. Sci USA, 89:10915-10919 для матрицы сравнения BLOSUM 62). Процент идентичности затем рассчитывается по алгоритму. Гомологи обычно имеют одну или более аминокислотных замен, делеций и/или вставок по сравнению с белком или пептидом сравнения, в зависимости от обстоятельств.

[0043] Термин «слитый белок» относится к белку, в котором один или более пептидов рекомбинантно слиты или химически конъюгированы (в том числе ковалентно и нековалентно) с белком, таким как (без ограничения) антитело или фрагмент антитела, такой как F.sub.ab-фрагмент или Fv короткой цепи. Термин «слитый белок» также относится к мультимерам (т. е. димерам, тримерам, тетрамерам и высшим мультимерам) пептидов. Такие мультимеры включают гомомерные мультимеры, содержащие один пептид, гетеромерные мультимеры, содержащие более одного пептида, и гетеромерные мультимеры, содержащие по меньшей мере один пептид и по меньшей мере один другой белок. Такие мультимеры могут быть результатом гидрофобных, гидрофильных, ионных и/или ковалентных соединений, связей или сшивок, могут образовываться поперечными сшивками с использованием линкерных молекул или могут быть связаны

опосредованно путем, например, образования липосом.

[0044] Термин «пептидомиметик» или «миметик» относится к биологически активным соединениям, которые имитируют биологическую активность пептида или белка, но уже не являются пептидными по химической природе, то есть они уже не содержат пептидных связей (то есть амидных связей между аминокислотами). В данном случае термин пептидомиметик используется в более широком смысле для включения молекул, которые уже не являются полностью пептидными по своей природе, таких как псевдопептиды, частичные пептиды и пептоиды. Примеры пептидомиметиков в этом более широком смысле (где часть пептида заменена структурой, в которой отсутствуют пептидные связи) описаны ниже. Независимо от того, являются ли они полностью или частично непептидными, пептидомиметики в соответствии с вариантами осуществления обеспечивают пространственное расположение реакционноспособных химических фрагментов, которые очень похожи на трехмерное расположение активных групп в пептиде, на котором основан пептидомиметик. В результате такой подобной геометрии активного сайта пептидомиметик обладает эффектом в отношении биологических систем, которые схожи с биологической активностью пептида.

[0045] Пептидомиметики согласно вариантам осуществления предпочтительно практически сходны как по трехмерной форме, так и по биологической активности с пептидами, описанными в данном документе. Примеры способов структурной модификации пептида, известных из уровня техники для создания пептидомиметика, включают инверсию хиральных центров остова, приводящих к структурированию остатка D-аминокислоты, что может, особенно на N-конце, приводить к повышенной стабильности для протеолитического разрушения без неблагоприятного влияния на активность. Пример приведен в статье «Tritriated D-ala.sup.1-Peptide T Binding», Smith C. S. et al., Drug Development Res., 15, pp. 371-379 (1988). Второй способ заключается в изменении циклической структуры для стабильности, такой как межцепочечные имиды и лактамы от N до C (Ede et al. в Smith and Rivier (Eds.) «Peptides: Chemistry and Biology», Escom, Leiden (1991), pp. 268-270). Пример этого приведен в конформационно ограниченных тимопентин-подобных соединениях, таких как раскрытые в патенте США № 4457489 (1985), Goldstein, G. et al., раскрытие которого включено посредством ссылки в данный документ во всей своей полноте. Третий способ заключается в замене пептидных связей в пептиде псевдопептидными связями, что придает устойчивость к протеолизу.

[0046] Был описан ряд псевдопептидных связей, которые в целом не влияют на структуру и биологическую активность пептида. Одним из примеров такого подхода является замена ретроинверсо-псевдопептидных связей («Biologically active retroinverso analogues of thymopentin», Sisto A. et al в Rivier, J. E. и Marshall, G. R. (eds) «Peptides, Chemistry, Structure and Biology», Escom, Leiden (1990), pp. 722-773) и Dalpozzo, et al. (1993), Int. J. Peptide Protein Res., 41:561-566, включенные в данный документ посредством ссылки). В соответствии с этой модификацией аминокислотные последовательности пептидов могут быть идентичны последовательностям пептида, описанным выше, за исключением того, что одна или более пептидных связей заменены ретроинверсо-псевдопептидной связью. Предпочтительно, большая часть N-концевой пептидной связи является замещенной, поскольку такая замена будет придавать устойчивость к протеолизу экзопептидазами, действующими на N-конец. Дополнительные модификации также можно осуществлять путем замещения химических групп аминокислот другими химическими группами с подобной структурой. Другой подходящей псевдопептидной связью, которая, как известно, повышает устойчивость к ферментативному расщеплению

без потери или с незначительной потерей биологической активности, является уменьшенная изостерная псевдопептидная связь (Couder, et al. (1993), Int. J. Peptide Protein Res., 41:181-184, включено в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте).

[0047] Таким образом, аминокислотные последовательности этих пептидов могут быть идентичны последовательностям пептида, за исключением того, что одна или более пептидных связей заменены изостерной псевдопептидной связью. Предпочтительно, большая часть N-концевой пептидной связи является замещенной, поскольку такая замена придавала бы устойчивость к протеолизу экзопептидазами, действующими на N-конец. Синтез пептидов с одной или более восстановленными изостерными псевдопептидными связями известен из уровня техники (Couder et al. (1993), упомянуто выше). Другие примеры включают введение кетометиленовых или метилсульфидных связей для замены пептидных связей.

[0048] Пептоидные производные пептидов представляют собой другой класс пептидомиметиков, которые сохраняют важные структурные детерминанты для биологической активности, и в то же время устраняют пептидные связи, за счет чего обеспечивается придание устойчивости к протеолизу (Simon, et al., 1992, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89:9367-9371, включен в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте). Пептоиды являются олигомерами N-замещенных глицинов. Был описан ряд N-алкильных групп, каждая из которых соответствует боковой цепи природной аминокислоты (Simon, et al. (1992), упомянуто выше). Некоторые или все аминокислоты пептидов могут быть заменены N-замещенным глицином, соответствующим замещенной аминокислоте.

[0049] Термин «пептидомиметик» или «миметик» также включает обратные D-пептиды и энантиомеры, определенные ниже.

[0050] Термин «обратный D-пептид» относится к биологически активным белку или пептиду, состоящим из D-аминокислот, расположенных в обратном порядке по сравнению с L-аминокислотной последовательностью пептида. Таким образом, карбоксиконцевой остаток пептида из L-аминокислот становится аминоконцевым для пептида из D-аминокислот и так далее. Например, пептид ETESH(SEQ ID NO: 117) становится $H_dS_dE_dT_dE_d$, где E_d, H_d, S_d и T_d являются D-аминокислотами, соответствующими L-аминокислотам, E, H, S и T, соответственно.

[0051] Термин «энантиомер» относится к биологически активному белку или пептиду, где один или более остатков L-аминокислоты в аминокислотной последовательности пептида заменены соответствующим остатком(остатками) D-аминокислоты.

[0052] Используемый в данном документе термин «композиция» в широком смысле относится к любой композиции, содержащей указанный пептид или аминокислотную последовательность и необязательно дополнительное активное средство. Композиция может содержать сухой состав, водный раствор или стерильную композицию. Композиции, содержащие пептиды, могут быть использованы в качестве гибридизационных зондов. Зонды могут храниться в лиофилизированной форме и могут быть связаны со стабилизирующим средством, таким как углевод. При гибридизации зонд может быть размещен в водном растворе, содержащем соли, например, NaCl, детергенты, например, додецилсульфат натрия (SDS), и другие компоненты, например, раствор Денхардта, сухое молоко, ДНК из молок лососевых и т. д.

[0053] В альтернативном варианте осуществления, в котором дополнительное активное средство используется в сочетании с NTP-пептидом, выражение «активное

средство» используется для обозначения любого средства, способного удалять нежелательные клеточные пролиферации и/или новообразование ткани. Подходящие активные средства могут включать без ограничения (i) противораковые активные средства (такие как алкилирующие средства, ингибиторы топоизомеразы I, ингибиторы топоизомеразы II, антиметаболиты РНК/ДНК и антимитотические средства); (ii) активные средства для лечения доброкачественных новообразований, такие как активные средства против акне и бородавок; (iii) антиандрогенные соединения (ципротеронацетат (1α,2β-метилен-6-хлор-17α-ацетокси-6-дегидропрогестерон), тамоксифен, ингибиторы ароматазы); (iv) блокаторы альфа1-адренергических рецепторов (тамсулозин, теразозин, доксазозин, празозин, буназозин, индорамин, алфулзозин, силодозин); (v) ингибиторы 5α-редуктазы (финастерид, дутастерид); (vi) ингибиторы фосфодиэстеразы 5 типа (PDE5) (тадалафил) и их комбинации.

[0054] Варианты осуществления направлены на способы уменьшения тяжести или предупреждения ухудшения или прогрессирования и/или уменьшения тяжести или предупреждения ухудшения или отсутствия улучшения в отношении симптомов, ассоциированных с BPH, предусматривающие введение млекопитающему, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества композиции, содержащей NTP-пептид, либо отдельно, либо в комбинации с по меньшей мере одним дополнительным активным средством. Специалисту в данной области техники будет понятно, что млекопитающее с ухудшением или прогрессированием или ухудшением или отсутствием улучшения в отношении симптомов BPH является млекопитающим, характеризующимся увеличением оценки IPSS с течением времени или не демонстрирующим улучшения (т. е. снижения) IPSS с течением времени. Специалист в данной области техники знает и понимает как определить оценку IPSS, применяя хорошо известные и принятые в отрасли стандарты.

[0055] Международная шкала оценки простатических симптомов (I-PSS) основывается на ответах на семь вопросов, касающихся симптомов мочевыводящих путей, и на один вопрос, касающийся качества жизни. Каждый вопрос, касающийся симптомов мочевыводящих путей, дает возможность пациенту выбрать один из шести ответов, указывающих на увеличение тяжести конкретного симптома. Ответам присваиваются баллы от 0 до 5. Таким образом, общая оценка может находиться в диапазоне от 0 до 35 (от бессимптомной до симптоматической в значительной мере). Вопросы относятся к следующим симптомам мочевыводящих путей:

Вопросы относительно симптомов

1. Неполное опорожнение
2. Частота
3. Перебои
4. Неотложный позыв к мочеиспусканию
5. Слабый поток
6. Натуживание
7. Ноктурия

Восьмой вопрос относится к воспринимаемому пациентом качеству жизни.

[0056] Первые семь вопросов IPSS являются идентичными вопросам, включенным в индекс симптомов Американской урологической ассоциации (AUA), которая в настоящее время классифицирует симптомы следующим образом:

легкие (оценка симптомов равна 7 или меньше);

умеренные (оценка симптомов находится в диапазоне 8-19);

тяжелые (оценка симптомов находится в диапазоне 20-35).

Международный научный комитет (SCI) под патронажем Всемирной организации здравоохранения (WHO) и Международного союза по борьбе против рака (UICC) рекомендует применять только один вопрос для оценки качества жизни. Ответы на этот вопрос находятся в диапазоне от «довольный» до «ужасный» или от 0 до 6. Хотя этот один вопрос может охватывать или может не охватывать общее влияние симптомов доброкачественной гиперплазии предстательной железы (BPH) или качества жизни, - это может служить в качестве значимой отправной точки для беседы между доктором и пациентом.

[0057] Не все млекопитающие, страдающие BPH, характеризуются ухудшением или прогрессированием или ухудшением или отсутствием улучшения в отношении симптомов, ассоциированных с BPH. Другими словами, у некоторых млекопитающих, страдающих BPH, может не наблюдаться увеличение их оценки IPSS с течением времени, несмотря на то, что они продолжают страдать от нарушения. Аналогично, у некоторых млекопитающих, страдающих BPH, может наблюдаться значительное увеличение оценки IPSS с течением времени. Описанные в данном документе варианты осуществления могут включать лечение млекопитающих, страдающих BPH, которые подвержены ухудшению или прогрессированию или которые подвержены ухудшению или отсутствию улучшения в отношении симптомов BPH, как показано с помощью увеличения IPSS с течением времени или с помощью существенного снижения IPSS с течением времени. В другом варианте осуществления млекопитающими, лечение которых осуществляют, являются те, которые страдают BPH или подвержены ее развитию. В других вариантах осуществления млекопитающими, лечение которых осуществляют, являются те, которым был поставлен диагноз BPH, и в настоящее время лечение их осуществляют альфа-блокаторами, такими как тамсулозин, теразозин, доксазозин, или ингибиторами 5-альфа-редуктазы, такими как финастерид, дутастерид, или ингибиторами фосфодиэстеразы 5 типа (ингибиторами PDE5), такими как тадалафил. В другом варианте осуществления композиции вводят более одного раза.

[0058] Другие пептидные последовательности, полученные из NTP-пептида, которые, как установлено, являются эффективным средством, вызывающим гибель клеток, также могут использоваться в качестве дополнительного активного средства в комбинации с NTP-пептидами, описанными в данном документе. Специалист в данной области техники может, используя представленные в данном документе руководства, синтезировать без излишних экспериментов фрагменты эффективного пептида, охватывающего всю аминокислотную последовательность этого белка, для идентификации других эффективных пептидных последовательностей.

[0059] Автором настоящего изобретения при проведении клинических испытаний для лечения BPH неожиданно было обнаружено, что введение NTP-пептидов, отдельно или в комбинации с другим активным средством, резко снижало прогрессирование или ухудшение и неожиданно снижало ухудшение или отсутствие улучшения в отношении симптомов BPH, как измерено с помощью увеличения IPSS. Автором настоящего изобретения было обнаружено, что процентная доля млекопитающих, характеризующихся увеличением IPSS, была резко снижена при введении NTP-пептидов, отдельно или в комбинации с другим активным средством, по сравнению с теми млекопитающими, которым вводили контроль. Автором настоящего изобретения во время клинических испытаний было обнаружено, что процентная доля млекопитающих, характеризующихся увеличением IPSS и которым вводили NTP-пептид(пептиды), отдельно или в комбинации с другим активным средством, была снижена на более чем приблизительно 10% по сравнению с процентной долей млекопитающих,

характеризующихся увеличением оценки IPSS, которым вводили контроль. Например, если процентная доля млекопитающих, характеризующихся ухудшением или прогрессированием симптомов BPH, которым вводили контроль, составляла приблизительно 50%, тогда процентная доля млекопитающих, характеризующихся ухудшением или прогрессированием симптомов BPH, и которым вводили NTP-пептид (пептиды), отдельно или в комбинации с другим активным средством, будет составлять менее 45%, приводя таким образом к по меньшей мере приблизительно 10% уменьшению тяжести или предупреждению ухудшения или прогрессирования симптомов BPH. В некоторых вариантах осуществления введение NTP-пептида(пептидов), отдельно или в комбинации с другим активным средством, обеспечивает по меньшей мере приблизительно 15% уменьшение тяжести или предупреждение ухудшения или прогрессирования симптомов BPH, или по меньшей мере приблизительно 18%, или по меньшей мере приблизительно 23%, или по меньшей мере приблизительно 27%, или по меньшей мере приблизительно 35%, или по меньшей мере приблизительно 45%, или по меньшей мере приблизительно 50%, или по меньшей мере приблизительно 60%, или по меньшей мере приблизительно 65%, или до приблизительно 100%, или в пределах диапазона от приблизительно 10% до приблизительно 70%, или от приблизительно 20% до приблизительно 65%, или от приблизительно 30% до приблизительно 60%, или от приблизительно 35% до приблизительно 60%. В других вариантах осуществления введение NTP-пептида(пептидов), отдельно или в комбинации с другим активным средством, обеспечивает по меньшей мере приблизительно 15% уменьшение тяжести или предупреждение ухудшения или отсутствия улучшения в отношении симптомов BPH, или по меньшей мере приблизительно 23%, или по меньшей мере приблизительно 27%, или по меньшей мере приблизительно 35%, или по меньшей мере приблизительно 45%, или по меньшей мере приблизительно 50%, или по меньшей мере приблизительно 60%, или по меньшей мере приблизительно 65%, или до приблизительно 100%, или в пределах диапазона от приблизительно 10% до приблизительно 80%, или от приблизительно 20% до приблизительно 75%, или от приблизительно 25% до приблизительно 70%.

[0060] Среди пациентов, которых лечили с помощью композиций по настоящему изобретению, проявлялось значительное снижение процентной доли пациентов, характеризующихся ухудшением или отсутствием улучшения в отношении IPSS. При введении контроля пациенты характеризовались ухудшением оценки IPSS в количестве, составляющем приблизительно 20-50% или приблизительно 21%, и пациенты характеризовались ухудшением или отсутствием улучшения в отношении IPSS в количестве от приблизительно 40% до приблизительно 75% или приблизительно 50%. Способ согласно вариантам осуществления может приводить к меньшей процентной доле пациентов, характеризующихся ухудшением или отсутствием улучшения в отношении IPSS. В одном варианте осуществления введение описанных в данном документе композиций приводит в результате к процентной доле пациентов, характеризующихся ухудшением IPSS, в диапазоне от приблизительно 0% (полное предупреждение) до приблизительно 25%, или от приблизительно 2,5% до 20%, или от приблизительно 5% до 15%, или к любому значению или диапазону от приблизительно 0% до приблизительно 25%. В другом варианте осуществления введение описанных в данном документе композиций приводит в результате к процентной доле пациентов, характеризующихся ухудшением или отсутствием улучшения в отношении IPSS, в диапазоне от приблизительно 0% (полное предупреждение) до приблизительно 40%, или от приблизительно 10% до 40%, или от приблизительно 15% до 36%, или к любому

значению или диапазону от приблизительно 0% до приблизительно 40%.

[0061] Варианты осуществления включают способ лечения млекопитающего, страдающего от состояния, которое может приводить к ВРН, и/или млекопитающих, которые могут быть подвержены ухудшению или прогрессированию, или млекопитающих, которые могут быть подвержены ухудшению или отсутствию улучшения в отношении симптомов ВРН, предусматривающий введение один раз или более одного раза NTP-пептида млекопитающему либо отдельно, либо в комбинации с введением дополнительного активного средства. Способ включает без ограничения введение NTP-пептидов внутримышечно, перорально, внутривенно, внутрибрюшинно, интрацеребрально (интрапаренхимально), интрацеребровентрикулярно, внутриочагово, интраокулярно, интраартериально, интратекально, внутрь опухоли, интраназально, местно, трансдермально, подкожно или внутрикожно, либо отдельно, либо в конъюгированной с носителем форме. Предпочтительные NTP-пептиды включают один или более из следующих:

SEQ ID NO. 66 IDQQVLSRIKLEIKRCL Ile-Asp-Gln-Gln-Val-Leu-Ser-Arg-Ile-Lys-Leu-Glu-Ile-Lys-Arg-Cys-Leu

SEQ ID NO. 111 IDQQVLSRI Ile-Asp-Gln-Gln-Val-Leu-Ser-Arg-Ile

SEQ ID NO. 115 VLSRIKLEIKRCL Val-Leu-Ser-Arg-Ile-Lys-Leu-Glu-Ile-Lys-Arg-Cys-Leu

SEQ ID NO. 116 IDQQVLSRIKLEI Ile-Asp-Gln-Gln-Val-Leu-Ser-Arg-Ile-Lys-Leu-Glu-Ile

[0062] От применения настоящего изобретения преимущество может получить любое млекопитающее, в том числе люди, мыши, кролики, собаки, овцы и другой домашний скот, любое млекопитающее, лечение которого осуществляют ветеринар, сотрудник зоопарка или работник заповедника или поддающиеся лечению ими. Предпочтительными млекопитающими являются люди, овцы и собаки. На протяжении всего данного описания млекопитающие и пациенты используются взаимозаменяемо.

[0063] Специалисту в данной области техники будет очевидно, что другие меньшие фрагменты вышеуказанных NTP-пептидов могут быть выбраны таким образом, что эти пептиды будут обладать одинаковой или схожей биологической активностью. Специалист в данной области техники может выбрать другие фрагменты таким образом, чтобы эти пептиды обладали одинаковой или схожей биологической активностью. Пептиды согласно вариантам осуществления охватывают эти другие фрагменты. В общем, пептиды согласно вариантам осуществления имеют по меньшей мере 4 аминокислоты, предпочтительно по меньшей мере 5 аминокислот и более предпочтительно по меньшей мере 6 аминокислот.

[0064] Варианты осуществления также охватывают способы предупреждения возникновения или снижения частоты возникновения острой задержки мочи, предусматривающие введение композиции, содержащей NTP-пептиды, которая содержит два или более соединенных вместе NTP-пептидов совместно с дополнительным активным средством. Поскольку NTP-пептид обладает желаемой биологической активностью, из этого следует, что два таких пептида также будут обладать желаемой биологической активностью.

[0065] NTP-пептиды и фрагменты, варианты, производные, гомологи, слитые белки и их миметики, охватываемые этим вариантом осуществления, могут быть получены с использованием способов, известных специалистам в данной области техники, таких как технология рекомбинантной ДНК, синтез белка и выделение встречающихся в природе пептидов, белков, AD7c-белка и его фрагментов, вариантов, производных и гомологов.

[0066] NTP-пептиды и фрагменты, варианты, производные, гомологи, слитые белки

и их миметики могут быть получены из других пептидов, белков и их фрагментов, вариантов, производных и гомологов с использованием способов, известных специалистам в данной области техники. Такие способы включают (без ограничения) использование протеаз для расщепления пептида или белка до желаемых NTP-пептидов.

[0067] NTP-пептид может быть получен с использованием хорошо известных способов технологии рекомбинантной ДНК, таких как те, которые изложены в Sambrook et al. Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. и/или Ausubel et al., eds., Current Protocols in Molecular Biology, Green Publishers Inc. and Wiley and Sons, N.Y.

[0068] Ген или кДНК, кодирующие NTP-пептид, можно получить, например, путем скрининга геномной библиотеки или библиотеки кДНК или путем ПЦР-амплификации. Зонды или праймеры, пригодные для скрининга библиотеки, могут быть образованы на основе информации о последовательности для других известных генов или фрагментов генов из того же или родственного семейства генов, таких как, например, консервативные мотивы, обнаруженные в других пептидах или белках. Кроме того, если был идентифицирован ген, кодирующий NTP-пептид, весь этот ген или его часть можно использовать в качестве зонда для идентификации гомологичных генов. Зонды или праймеры могут быть использованы для скрининга библиотек кДНК из различных источников тканей, которые, как считается, экспрессируют ген NTP-пептида. Обычно для скрининга используются условия высокой строгости, чтобы свести к минимуму количество ложноположительных результатов, полученных при скрининге.

[0069] Другим способом получения гена, кодирующего NTP-пептид, является применение химического синтеза с использованием способов, хорошо известных специалисту в данной области техники, таких как способы, описанные Engels et al., Angew. Chem. Intl. Ed., 28:716-734 . Эти способы включают, среди прочего, фосфотриэфирный, фосфорамидитный и H-фосфонатный способы синтеза нуклеиновых кислот. Предпочтительным способом такого химического синтеза является синтез на полимерной подложке с использованием стандартной фосфорамидитной химии. Как правило, ДНК, кодирующая пептид или белок, будет иметь длину несколько сотен нуклеотидов. Нуклеиновые кислоты размером более чем приблизительно 100 нуклеотидов могут быть синтезированы в виде нескольких фрагментов с использованием этих способов. Затем фрагменты могут быть лигированы вместе для образования полноразмерных пептида или белка. Обычно фрагмент ДНК, кодирующий аминоконец белка, имеет ATG, который кодирует остаток метионина. Этот метионин может присутствовать или не присутствовать в зрелой форме белка или пептида, в зависимости от того, предназначен ли белок, продуцируемый в клетке-хозяине, для секретирования из этой клетки.

[0070] Ген, кДНК или их фрагмент, кодирующие NTP-пептид, могут быть вставлены в соответствующий вектор экспрессии или амплификации с использованием стандартных методик лигирования. Вектор обычно выбирают так, чтобы он был функциональным в конкретной используемой клетке-хозяине (т. е. вектор совместим с механизмом клетки-хозяина, таким образом, что может происходить амплификация гена и/или экспрессия гена). Ген, кДНК или их фрагмент, кодирующие NTP-пептид, могут быть амплифицированы/экспрессированы в прокариотических клетках, дрожжевых клетках, клетках насекомых (бакуловирусных системах) и/или эукариотических клетках-хозяевах. Выбор клетки-хозяина будет частично зависеть от того, должен ли NTP-пептид быть гликозилированным и/или фосфорилированным. Если это так, предпочтительными являются клетки-хозяева дрожжей, насекомых или млекопитающих.

[0071] Как правило, используемые в любой из клеток-хозяев векторы будут содержать по меньшей мере 5'-фланкирующую последовательность (также называемую промотором), а также другие регуляторные элементы, такие как энхансер(энхансеры), элемент начала репликации, элемент терминации транскрипции, полная последовательность интрона, содержащая донорный и акцепторный сайт сплайсинга, сигнальная пептидная последовательность, элемент сайта связывания рибосомы, последовательность полиаденилирования, область полилинкера для вставки нуклеиновой кислоты, кодирующей полипептид, подлежащий экспрессии, и селектируемый маркерный элемент. Каждый из этих элементов обсуждается ниже. Необязательно, вектор может содержать последовательность метки, т. е. молекулу олигонуклеотида, расположенную на 5'- или 3'-конце кодирующей последовательности белка или пептида; при этом молекула олигонуклеотида кодирует polyHis (такой как hexaHis (SEQ ID NO: 118)) или другую метку, такую как FLAG, HA (гемагглютинин вируса гриппа) или myc, для которой существуют коммерчески доступные антитела. Эта метка обычно сливается с полипептидом при экспрессии полипептида и может служить средством для аффинной очистки белка или пептида из клетки-хозяина. Аффинная очистка может быть выполнена, например, посредством колоночной хроматографии с использованием антител к метке в качестве аффинной матрицы. Необязательно метка может быть впоследствии удалена из очищенного белка или пептида различными способами, такими как использование определенных пептидаз.

[0072] Специалист в данной области техники мог бы осуществить слияние шарнирной области иммуноглобулина человека и Fc-области на N-конце или C-конце NTP-пептида. Последующий Fc-слитый белок может быть очищен с использованием аффинной колонки с белком A. Известно, что Fc проявляет длительный фармакокинетический период полужизни in vivo, и было обнаружено, что слитые с Fc белки проявляют существенно больший период полужизни in vivo, чем неслитый аналог. Кроме того, слияние с Fc-областью обеспечивает димеризацию/мультимеризацию молекулы, что может быть пригодно для биологической активности некоторых молекул.

[0073] 5'-фланкирующая последовательность может быть гомологичной (т. е. из того же вида и/или штамма, что и клетка-хозяин), гетерологичной (т. е. из вида, отличного от вида или штамма клетки-хозяина), гибридной (т. е. комбинация из 5'-фланкирующих последовательностей из более чем одного источника), синтетической, или она может представлять собой 5'-фланкирующую последовательность гена нативного белка или пептида. Таким образом, источником 5'-фланкирующей последовательности может быть любой одноклеточный прокариотический или эукариотический организм, любой организм из позвоночных или беспозвоночных или любое растение при условии, что 5'-фланкирующая последовательность функционирует и может быть активирована аппаратом клетки-хозяина.

[0074] 5'-фланкирующие последовательности, пригодные в векторах этого варианта осуществления, могут быть получены с помощью любого из нескольких способов, хорошо известных из уровня техники. Как правило, 5'-фланкирующие последовательности, пригодные в настоящем документе, отличные от фланкирующей последовательности гена белка или пептида, будут предварительно идентифицированы путем картирования и/или расщепления рестрикционной эндонуклеазой и, таким образом, могут быть выделены из подходящего источника ткани с использованием соответствующих рестрикционных эндонуклеаз. В некоторых случаях может быть известна полная нуклеотидная последовательность 5'-фланкирующей последовательности. В данном случае 5'-фланкирующая последовательность может

быть синтезирована с использованием способов, описанных выше для синтеза или клонирования нуклеиновой кислоты. Если известна вся или только часть 5'-фланкирующей последовательности, ее можно получить с использованием ПЦР и/или скрининга геномной библиотеки с подходящими олигонуклеотидами и/или фрагментами 5'-фланкирующей последовательности того же или другого вида.

[0075] Если 5'-фланкирующая последовательность неизвестна, то фрагмент ДНК, содержащий 5'-фланкирующую последовательность, может быть выделен из большего фрагмента ДНК, который может содержать, например, кодирующую последовательность или даже другой ген или гены. Выделение можно осуществлять путем расщепления рестрикционной эндонуклеазой с использованием одного или более тщательно выбранных ферментов для выделения подходящего фрагмента ДНК. После расщепления необходимый фрагмент можно выделить с помощью очистки в агарозном геле, колонки Qiagen® или других способов, известных специалисту в данной области техники. Выбор подходящих ферментов для достижения этой цели будет очевиден для специалиста в данной области техники.

[0076] Элемент начала репликации обычно является частью прокариотических векторов экспрессии, приобретаемых коммерчески, и способствует амплификации вектора в клетке-хозяине. Амплификация вектора до определенного числа копий может в некоторых случаях быть важной для оптимальной экспрессии белка или пептида. Если выбранный вектор не содержит сайта начала репликации, он может быть химически синтезирован на основе известной последовательности и лигирован в вектор. Элемент терминации транскрипции обычно расположен на 3'-конце кодирующей последовательности белка или пептида и служит для завершения транскрипции белка или пептида. Обычно элементом терминации транскрипции в прокариотических клетках является GC-богатый фрагмент, за которым следует поли-Т-последовательность. Хотя элемент может быть клонирован из библиотеки или приобретен коммерчески как часть вектора, он также может быть легко синтезирован с использованием способов синтеза нуклеиновой кислоты, таких как описанные выше.

[0077] Селектируемый маркерный генный элемент кодирует белок, необходимый для выживания и роста клетки-хозяина, выращенной в селективной культуральной среде. Типичные маркерные гены селекции кодируют белки, которые (а) придают прокариотическим клеткам-хозяевам устойчивость к антибиотикам или другим токсинам, например, ампициллину, тетрациклину или канамицину, (б) дополняют ауксотрофный дефицит клетки или (с) поставляют чрезвычайно важные питательные вещества, недоступные в сложных средах. Предпочтительными селектируемыми маркерами являются ген устойчивости к канамицину, ген устойчивости к ампициллину и ген устойчивости к тетрациклину.

[0078] Элемент связывания рибосомы, обычно называемый последовательностью Шайна-Дальгарно (прокариоты) или последовательностью Козак (эукариоты), обычно необходим для инициации трансляции мРНК. Элемент обычно расположен на 3' от промотора и на 5' от кодирующей последовательности белка или пептида, подлежащих синтезу. Последовательность Шайна-Дальгарно варьирует, но, как правило, представляет собой полипурин (т. е. имеет высокое содержание AG). Было идентифицировано много последовательностей Шайна-Дальгарно, каждая из которых может быть легко синтезирована с использованием способов, изложенных выше, и использована в прокариотическом векторе.

[0079] В тех случаях, когда требуется, чтобы NTP-пептид секретировался из клетки-хозяина, сигнальная последовательность может использоваться для направления

пептида из клетки-хозяина, где он синтезируется, и при этом карбокси-концевая часть белка может быть удалена для предотвращения заякоривания в мембране. Как правило, сигнальная последовательность расположена в кодирующей области гена NTP-пептида или кДНК или непосредственно на 5'-конце кодирующей области гена пептида. Многие сигнальные последовательности были идентифицированы, и любая из них, которые являются функциональными в выбранной клетке-хозяине, может использоваться в сочетании с геном пептида или кДНК. Следовательно, сигнальная последовательность может быть гомологичной или гетерологичной по отношению к гену пептида или кДНК и может быть гомологичной или гетерологичной по отношению к гену пептида или кДНК. Кроме того, сигнальная последовательность может быть химически синтезирована с использованием способов, изложенных выше. В большинстве случаев секреция полипептида из клетки-хозяина посредством присутствия сигнального пептида приведет к удалению аминоконцевого метионина из полипептида.

[0080] Во многих случаях транскрипция гена NTP-пептида или кДНК увеличивается благодаря наличию одного или более интронов в векторе; это особенно верно, если пептид продуцируется в эукариотических клетках-хозяевах, особенно в клетках-хозяевах млекопитающих. Используемые интроны могут встречаться в природе внутри гена пептида, особенно если используемый ген представляет собой полноразмерную геномную последовательность или ее фрагмент. Если интрон не встречается в природе в гене (как для большинства кДНК), интрон(интроны) можно получить из другого источника. Положение интрона относительно фланкирующей последовательности и гена пептида, как правило, является важным, так как интрон должен быть транскрибирован, чтобы быть эффективным. В связи с этим, если ген пептида, вставленный в вектор экспрессии, представляет собой молекулу кДНК, предпочтительным для интрона положением является 3' от сайта инициации транскрипции и 5' от последовательности терминации транскрипции поли-А. Предпочтительно для кДНК пептида интрон или интроны будут располагаться на одной или другой стороне (т. е. 5' или 3') кДНК так, чтобы он не прерывал эту кодирующую последовательность. Любой интрон из любого источника, включая любые вирусные, прокариотические и эукариотические (растительные или животные) организмы, может быть использован для осуществления на практике этого варианта осуществления при условии, что он совместим с клеткой(клетками)-хозяином(хозяинами), в которую он вставлен. Также сюда включены синтетические интроны. Необязательно в векторе может использоваться более одного интрона.

[0081] Если один или более из вышеперечисленных элементов еще не присутствуют в векторе, подлежащем использованию, то они могут быть получены отдельно и лигированы в этот вектор. Способы, используемые для получения каждого из элементов, хорошо известны специалисту в данной области техники и сопоставимы со способами, изложенными выше (т. е. синтез ДНК, скрининг библиотеки и тому подобное).

[0082] Конечные векторы, используемые для осуществления на практике этого варианта осуществления, могут быть сконструированы из начальных векторов, таких как коммерчески доступный вектор. Такие векторы могут содержать или не содержать некоторые элементы, которые должны быть включены в завершенный вектор. Если ни один из необходимых элементов не присутствует в исходном векторе, каждый элемент может быть отдельно лигирован в вектор путем разрезания вектора с помощью соответствующей рестрикционной(рестрикционных) эндонуклеазы(эндонуклеаз) так, чтобы концы элемента, подлежащего лигированию, и концы вектора были совместимы для лигирования. В некоторых случаях может быть необходимо затупить концы,

подлежащие совместному лигированию, чтобы получить удовлетворительное лигирование. Затупление достигается путем первого заполнения «липких концов» с использованием ДНК-полимеразы Кленова или ДНК-полимеразы Т4 в присутствии всех четырех нуклеотидов. Эта процедура хорошо известна из уровня техники и описана, например, в Sambrook et al. выше. В качестве альтернативы, два или более элементов, подлежащие вставке в вектор, могут сначала быть лигированы вместе (если они должны быть расположены рядом друг с другом), а затем лигированы в вектор.

[0083] Дополнительный способ конструирования вектора состоит в том, чтобы проводить все лигирования различных элементов одновременно в одной реакционной смеси. В данном случае будет создаваться множество бессмысленных или нефункциональных векторов из-за неправильного лигирования или вставки элементов, однако функциональный вектор может быть идентифицирован и выбран путем расщепления рестрикционной эндонуклеазой.

[0084] Предпочтительными векторами для осуществления на практике этого варианта осуществления являются векторы, которые совместимы с клетками-хозяевами бактерий, насекомых и млекопитающих. Такие векторы включают, среди прочего, pCRII, pCR3 и pcDNA3.1 (Invitrogen Company, Сан Диего, Калифорния), pBSII (Stratagene Company, Ла-Хойя, Калифорния), pET15b (Novagen, Мэдисон, Висконсин), PGEX (Pharmacia Biotech, Пискатауэй, Нью-Джерси), pEGFP-N2 (Clontech, Пало-Альто, Калифорния), pETL (BlueBachl; Invitrogen) и pFastBacDual (Gibco/BRL, Гранд-Айленд, Нью Йорк).

[0085] После того как вектор был сконструирован и молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая полноразмерные или усеченные белок или пептид, была вставлена в соответствующий сайт вектора, завершенный вектор может быть помещен в подходящую клетку-хозяина для амплификации и/или экспрессии полипептида. Клетки-хозяева могут быть прокариотическими клетками-хозяевами (такими как E.coli) или эукариотическими клетками-хозяевами (такими как дрожжевые клетки, клетки насекомых или клетки позвоночных). Клетка-хозяин, при культивировании в соответствующих условиях, может синтезировать белок или пептид, которые впоследствии могут быть выделены из культуральной среды (если клетка-хозяин секретирует их в среду) или непосредственно из клетки-хозяина, продуцирующей их (если они не секретируются).

[0086] После выделения NTP-пептид может быть очищен с применением таких способов, как хроматография на молекулярных ситах, аффинная хроматография и т. п. Выбор клетки-хозяина для продуцирования белка или пептида будет частично зависеть от того, должен ли пептид быть гликозилированным или фосфорилированным (в этом случае предпочтительными являются эукариотические клетки-хозяева), и от того, каким образом клетка-хозяин способна сворачивать пептид в его нативную третичную структуру (например, правильная ориентация дисульфидных мостиков и т. д.), таким образом, что биологически активный белок получают с помощью пептида, который обладает биологической активностью, пептид может сворачиваться после синтеза с использованием соответствующих химических условий, как обсуждается ниже. Подходящими клетками или линиями клеток могут быть клетки млекопитающих, такие как клетки яичника китайского хомячка (CHO), клетки эмбриональной почки человека (HEK) 293, клетки 293T или клетки 3T3. Выбор подходящих клеток-хозяев млекопитающих и способы трансформации, культивирования, амплификации, скрининга, а также продуцирования и очистки продукта известны из уровня техники. Другими подходящими линиями клеток млекопитающих являются линии клеток обезьян COS-1 и COS-7 и линия клеток CV-1. Другие иллюстративные клетки-хозяева млекопитающих

включают линии клеток приматов и линии клеток грызунов, в том числе трансформированные линии клеток. Нормальные диплоидные клетки, штаммы клеток, полученные из культуры первичной ткани in vitro, а также первичные экспланты, также являются подходящими. Клетки-кандидаты могут быть генотипически дефицитными по селекционному гену или могут содержать доминантно действующий селекционный ген. Другие подходящие линии клеток млекопитающих включают без ограничения клетки нейробластомы мыши N2A, HeLa, клетки мыши L-929, линии 3T3, полученные от мышей Swiss, Balb-c или NIH, линии клеток хомячка BHK или HaK.

[0087] Такими же пригодными в качестве клеток-хозяев, подходящих для вариантов осуществления настоящего изобретения, являются бактериальные клетки. Например, различные штаммы E. coli (например, HB101, DH5.альфа., DH10 и MC1061) являются хорошо известными в качестве клеток-хозяев в области биотехнологии. В этом способе также могут использоваться различные штаммы B. subtilis, Pseudomonas spp., другие Bacillus spp., Streptomyces spp. и т. п. Многие штаммы дрожжевых клеток, известные специалистам в данной области техники, также доступны в качестве клеток-хозяев для экспрессии полипептидов согласно вариантам осуществления настоящего изобретения.

[0088] Кроме того, при необходимости, системы клеток насекомых могут использоваться в способах согласно вариантам осуществления настоящего изобретения. Такие системы описаны, например, в Kitts et al. (Biotechniques, 14:810-817), Lucklow (Curr. Opin. Biotechnol., 4:564-572) и Lucklow et al. (J. Virol., 67:4566-4579). Предпочтительными клетками насекомых являются Sf-9 и Hi5 (Invitrogen, Карлсбад, Калифорния).

[0089] Введение (также называемое трансформацией или трансфекцией) вектора в выбранную клетку-хозяина может быть выполнено с использованием таких способов, как электропорация с использованием хлорида кальция, микроинъекция, липофекция или способ с использованием DEAE-декстрана. Выбранный способ будет частично зависеть от типа используемой клетки-хозяина. Эти способы и другие подходящие способы хорошо известны специалисту в данной области техники и изложены, например, в Sambrook et al. выше.

[0090] Клетки-хозяева, содержащие вектор (т. е. трансформированные или трансфицированные), можно культивировать с использованием стандартных сред, хорошо известных специалисту в данной области техники. Среда обычно содержит все питательные вещества, необходимые для роста и выживания клеток. Подходящими средами для культивирования клеток E.coli являются, например, бульон Лурия (LB) и/или бульон для взбалтывания (TB). Подходящими средами для культивирования эукариотических клеток являются RPMI 1640, MEM, DMEM, все из которых могут быть дополнены сывороткой и/или факторами роста, необходимыми для конкретной культивируемой линии клеток. Подходящей средой для культур насекомых является среда Грейса, дополненная дрожжевым экстрактом, гидролизатом лактальбумина и/или фетальной сывороткой теленка, если необходимо. Как правило, антибиотик или другое соединение, пригодное для селективного роста только трансформированных клеток, добавляют в качестве дополнения к среде. Соединение, подлежащее применению, будет обусловлено селектируемым маркерным элементом, присутствующим на плазмиде, с помощью которой трансформировали клетку-хозяина. Например, если селектируемый маркерный элемент обуславливает устойчивость к канамицину, соединение, добавляемое в культуральную среду, будет представлять собой канамицин.

[0091] Количество NTP-пептида, продуцируемого в клетке-хозяине, можно оценить с использованием стандартных способов, известных из уровня техники. Такие способы включают без ограничения вестерн-блот-анализ, электрофорез в SDS-полиакриламидном

геле, электрофорез в неденатурирующем геле, разделение посредством HPLC, масс-спектроскопию, иммунопреципитацию и/или анализы активности, такие как анализы связывания ДНК по сдвигу в геле.

[0092] Если белок или пептид предназначены для секретирования из клеток-хозяев, то большая часть белка или пептида может быть обнаружена в среде для культивирования клеток. Белки, полученные таким способом, обычно не содержат аминоконцевого метионина, поскольку он удаляется во время секреции из клетки. Однако если белок или пептид не секретируются из клеток-хозяев, они будут присутствовать в цитоплазме и/или ядре (для эукариотических клеток-хозяев) или в цитозоле (для клеток-хозяев грамотрицательных бактерий) и могут иметь аминоконцевой метионин.

[0093] Для NTP-пептида, расположенного в цитоплазме и/или ядре клетки-хозяина, клетки-хозяева обычно сначала разрушают механически или с помощью детергента для высвобождения внутриклеточного содержимого в буферный раствор. Затем пептид можно выделять из этого раствора.

[0094] Очистку NTP-пептидов из раствора можно осуществлять с использованием различных методик. Если NTP-пептид был синтезирован таким образом, что он содержит метку, такую как гексагистидин (SEQ ID NO: 118) (например, пептид/hexaHis (SEQ ID NO: 118)), или другой небольшой пептид, такой как FLAG (Sigma-Aldritch, Сент-Луис, Миссури) или кальмодулин-связывающий пептид (Stratagene, Ла-Холья, Калифорния), на своем либо карбоксильном, либо аминоконце, то он может быть практически очищен посредством одностадийного способа путем пропускания раствора через аффинную колонку, где матрица колонки характеризуется высокой аффинностью к метке или непосредственно к белку (т. е. моноклональному антителу, специфически распознающему пептид). Например, полигистидин связывается с большой аффинностью и специфичностью с никелем, цинком и кобальтом; таким образом, аффинную хроматографию с иммобилизованными ионами металлов, в которой используется аффинная смола на основе никеля (как используется в системе QlAexpress от Qiagen или системе Xpress от Invitrogen), или аффинная смола на основе кобальта (как используется в системе Talon от BD Biosciences-CLONTECH), можно использовать для очистки пептида/поли-His. (См., например, Ausubel et al., eds., Current Protocols in Molecular Biology, Section 10.11.8, John Wiley & Sons, New York).

[0095] Если NTP-пептид получают без прикрепленной метки, и антитела не доступны, то могут использоваться другие хорошо известные процедуры очистки. Такие процедуры включают без ограничения ионообменную хроматографию, гидроксиапатитовую хроматографию, хроматографию гидрофобного взаимодействия, хроматографию на молекулярном сите, HPLC, электрофорез в нативном геле в сочетании с элюированием гелем и препаративную изоэлектрическую фокусировку (Isoprime machine/technique, Hoefer Scientific). В некоторых случаях две или более из этих методик могут быть объединены для достижения повышенной чистоты.

[0096] Если ожидается, что NTP-пептид будет обнаружен главным образом внутриклеточно, то внутриклеточный материал (в том числе тельца включения для грамотрицательных бактерий) может быть извлечен из клетки-хозяина с использованием любой стандартной методики, известной специалисту в данной области техники. Например, клетки-хозяева можно лизировать для высвобождения содержимого периплазмы/цитоплазмы с помощью пресса Френча, гомогенизации и/или обработки ультразвуком с последующим центрифугированием. Если пептид образовал тельца включения в цитозоле, тельца включения могут часто связываться с внутренней и/или

внешней клеточной мембраной и, таким образом, после центрифугирования будут обнаруживаться главным образом в осадочном материале. Материал осадка затем может быть обработан при крайних значениях pH или хаотропным средством, таким как детергент, гуанидин, производные гуанидина, мочевина или производные мочевины, в присутствии восстанавливающего средства, такого как дитиотреитол при щелочном pH или трис-карбоксиэтилфосфин при кислотном pH до высвобождения, разъединения и растворения телец включений. Затем пептид в его уже растворимой форме можно анализировать с помощью гель-электрофореза, иммунопреципитации или тому подобного. Если необходимо выделить пептид, выделение можно осуществить с использованием стандартных способов, таких как изложенные ниже и в Marston et al. Meth. Enz., 182:264-275.

[0097] В некоторых случаях NTP-пептид может не быть биологически активным после выделения. Различные способы рефолдинга или преобразования полипептида в его третичную структуру и образования дисульфидных связей могут быть использованы для восстановления биологической активности. Такие способы включают воздействие на солюбилизированный полипептид pH, обычно выше 7, и в присутствии определенной концентрации хаотропа. Выбор хаотропа очень подобен выбору, используемому для солюбилизации тельца включения, но обычно при более низкой концентрации и не обязательно тот же хаотроп, что и для солюбилизации. В большинстве случаев раствор для рефолдинга/окисления также будет содержать восстанавливающее средство или восстанавливающее средство плюс его окисленную форму в определенном соотношении, чтобы образовать определенный окислительно-восстановительный потенциал, обеспечивающие осуществление дисульфидной перетасовки при образовании цистеинового мостика(мостиков) белка. Некоторые из обычно используемых окислительно-восстановительных пар включают цистеин/цистамин, глутатион (GSH)/дитиобис GSH, хлорид меди, дитиотреитол (DTT)/дитиан DTT, 2-меркаптоэтанол (bME)/дитио-b (ME). Во многих случаях для повышения эффективности рефолдинга необходим сорастворитель, и более распространенные реагенты, используемые для этой цели, включают глицерин, полиэтиленгликоль различной молекулярной массы и аргинин.

[0098] Если тельца включения NTP-пептидов не образуются в значительной степени в клетке-хозяине, NTP-пептид будет обнаруживаться главным образом в супернатанте после центрифугирования гомогената клетки, и NTP-пептид может быть выделен из супернатанта с использованием способов, таких как те, которые приведены ниже.

[0099] В тех ситуациях, когда предпочтительно частично или полностью выделить NTP-пептид, очистка может быть выполнена с применением стандартных способов, хорошо известных специалисту в данной области техники. Такие способы включают без ограничения разделение посредством электрофореза с последующим электроэлюированием, различные типы хроматографии (иммуноаффинная, на молекулярном сите и/или ионообменная) и/или жидкостной хроматографии высокого давления. В некоторых случаях может быть предпочтительным использовать более одного из этих способов для полной очистки.

[0100] В дополнение к получению и очистке NTP-пептидов с использованием методик рекомбинантной ДНК, NTP-пептиды и их фрагменты, варианты, гомологи, слитые белки, пептидомиметики и производные могут быть получены посредством способов химического синтеза (таких как твердофазный пептидный синтез) с использованием методик, известных из уровня техники, таких как те, что изложены в Merrifield et al., J. Am. Chem. Soc., 85:2149, Houghten et al. Proc Natl Acad. Sci. USA, 82:5132, и Stewart and Young, Solid Phase Peptide Synthesis, Pierce Chemical Co., Rockford, Ill. Такие пептиды могут

быть синтезированы с метионином или без него на аминоконце. Химически синтезированные NTP-пептиды могут быть окислены с использованием способов, изложенных в этих ссылочных материалах, с образованием дисульфидных мостиков. Предполагается, что NTP-пептиды обладают биологической активностью, сопоставимой с пептидами, полученными рекомбинантно или очищенными из природных источников, и, таким образом, могут использоваться взаимозаменяемо с рекомбинантным или природным пептидом.

[0101] Композиции на основе химически модифицированного NTP-пептида, в которых пептид связан с полимером, включены в объем вариантов осуществления настоящего изобретения. Выбранный полимер обычно является водорастворимым, так что белок, к которому он присоединен, не осаждается в водной среде, такой как физиологическая среда. Выбранный полимер обычно модифицируют так, чтобы он имел одну реакционноспособную группу, такую как активный сложный эфир для ацилирования или альдегид для алкилирования, так что степень полимеризации можно контролировать, как предусмотрено в способах по настоящему изобретению. Полимер может иметь любую молекулярную массу и может быть разветвленным или неразветвленным. В объем пептидных полимеров входит смесь полимеров.

[0102] В некоторых случаях может быть необходимо получить варианты нуклеиновой кислоты и/или аминокислоты встречающихся в природе NTP-пептидов. Варианты нуклеиновой кислоты могут быть получены с использованием сайт-направленного мутагенеза, ПЦР-амплификации или других подходящих способов, где праймер (праймеры) имеют необходимые точечные мутации (см. Sambrook et al. выше и Ausubel et al. выше для описания методик мутагенеза). Химический синтез с использованием способов, описанных Engels et al. выше, также может быть использован для получения таких вариантов. Также могут быть использованы другие способы, известные специалисту в данной области техники.

[0103] Предпочтительными вариантами нуклеиновых кислот являются варианты, содержащие нуклеотидные замены, учитывающие предпочтение кодонов в клетке-хозяине, которая подлежит использованию для получения NTP-пептидов. Такая оптимизация кодонов может быть определена с помощью компьютерных алгоритмов, которые включают таблицы частоты кодонов, такие как Ecohigh. Код для предпочтения кодонов высокоэпрессированных бактериальных генов предусмотрен пакетом Университета Висконсина версии 9.0, Genetics Computer Group, Мэдисон, Висконсин. Другие используемые таблицы частоты кодонов включают Celegans_high.cod, Celegans_low.cod, Drosophila_high.cod, Human_high.cod, Maize_high.cod и Yeast_high.cod. Другими предпочтительными вариантами являются те, которые кодируют консервативные аминокислотные замены, как описано выше (например, в которых заряд или полярность встречающейся в природе аминокислотной боковой цепи существенно не изменяется путем замены другой аминокислотой) по сравнению с диким типом, и/или те, которые предназначены для создания нового сайта(сайтов) гликозилирования и/или фосфорилирования, или те, которые предназначены для делеции существующего сайта(сайтов) гликозилирования и/или фосфорилирования.

[0104] NTP-пептиды и фрагменты, гомологи, варианты, слитые белки, пептидомиметики, их производные и соли также могут быть получены с использованием общепринятых методик синтеза пептидов, известных специалисту в данной области техники. Эти методики включают способы химического сочетания (см. Wunsch, E: «Methoden der organischen Chemie», Volume 15, Band 1+2, Synthese von Peptiden, thime Verlag, Stuttgart (1974) и Barrany, G.; Marrifield, R. B.: «The Peptides», eds. E. Gross, J.

Meienhofer, Volume 2, Chapter 1, pp. 1-284, Academic Press (1980)), способы ферментативного сочетания (см. Widmer, F. Johansen, J. T., Carlsberg Res. Commun., Vol. 44, pp. 37-46 (1979); Kullmann, W.: «Enzymatic Peptide Synthesis», CRC Press Inc. Boca Raton, Fla. (1987) и Widmer, F., Johansen, J. T. в «Synthetic Peptides in Biology and Medicines», eds. Alitalo, K., Partanen, P., Vatieri, A., pp.79-86, Elsevier, Amsterdam (1985)), или комбинацию химического и ферментативного способов, если это обеспечивает преимущество для постановки процесса и экономии. Используя приведенные в данном документе руководства, специалисты в данной области техники способны варьировать пептидную последовательность NTP-пептида для получения гомолога, обладающего такой же или сходной биологической активностью (биоактивностью), что и исходный или нативный NTP-пептид.

[0105] Существуют преимущества использования миметика данного NTP-пептида, а не самого пептида. В целом, пептидомиметики являются более биодоступными, имеют более длительную продолжительность действия и могут быть дешевле в производстве, чем нативные белки и пептиды.

[0106] Пептидомиметики NTP-пептидов могут быть разработаны с использованием методик комбинаторной химии и других методик, известных из уровня техники (см., например, Proceedings of the 20th European Peptide Symposium, ed. G. Jung, E. Bayer, pp. 289-336 и ссылки на них). Примеры способов, известных из уровня техники, структурной модификации пептида для создания пептидомиметика, включают инверсию хиральных центров остова, приводящих к структурированию остатка D-аминокислоты, что может, особенно на N-конце, приводить к повышенной стабильности для протеолитического разрушения без неблагоприятного влияния на активность. Пример приведен в статье «Tritriated D-ala.sup.1-Peptide T Binding», Smith C. S. et al., Drug Development Res. 15, pp. 371-379 (1988).

[0107] Второй способ заключается в изменении циклической структуры для стабильности, такой как межцепочечные имиды и лактамы от N до C (Ede et al. в Smith and Rivier (Eds.) «Peptides: Chemistry and Biology», Escom, Leiden (1991), pp. 268-270). Пример этого приведен в конформационно ограниченных тимопентин-подобных соединениях, таких как раскрытые в патенте США № 4457489 (1985), Goldstein, G. et al., раскрытие которого включено посредством ссылки в данный документ во всей своей полноте.

[0108] Третий способ заключается в замене пептидных связей в NTP-пептиде псевдопептидными связями, что придает устойчивость к протеолизу. Был описан ряд псевдопептидных связей, которые в целом не влияют на структуру и биологическую активность пептида. Одним из примеров такого подхода является замена ретроинверсо-псевдопептидных связей («Biologically active retroinverso analogues of thymopentin», Sisto A. et al в Rivier, J. E. и Marshall, G. R. (eds) «Peptides, Chemistry, Structure and Biology», Escom, Leiden (1990), pp. 722-773) и Dalpozzo, et al. (1993), Int. J. Peptide Protein Res., 41: 561-566, включенные в данный документ посредством ссылки). В соответствии с этой модификацией аминокислотные последовательности пептидов могут быть идентичны последовательностям пептидов, описанным выше, за исключением того, что одна или более пептидных связей заменены ретроинверсо-псевдопептидной связью. Предпочтительно, большая часть N-концевой пептидной связи является замещенной, поскольку такая замена будет придавать устойчивость к протеолизу экзопептидазами, действующими на N-конец.

[0109] Синтез пептидов с одной или более восстановленными ретроинверсо-псевдопептидными связями известен из уровня техники (Sisto (1990) и Dalpozzo, et al.

(1993), упомянутые выше). Таким образом, пептидные связи можно заместить непептидными связями, что позволит пептидомиметику принимать структуру, сходную со структурой исходного пептида, и, следовательно, обеспечит ему подобную биологическую активность. Дополнительные модификации также можно осуществлять путем замещения химических групп аминокислот другими химическими группами с подобной структурой. Другой подходящей псевдопептидной связью, которая, как известно, повышает устойчивость к ферментативному расщеплению без потери или с незначительной потерей биологической активности, является уменьшенная изостерная псевдопептидная связь (Couder, et al. (1993), Int. J. Peptide Protein Res., 41:181-184, включено в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте). Таким образом, аминокислотные последовательности этих пептидов могут быть идентичны последовательностям пептида, за исключением того, что одна или более пептидных связей заменены изостерной псевдопептидной связью. Предпочтительно, большая часть N-концевой пептидной связи является замещенной, поскольку такая замена придавала бы устойчивость к протеолизу экзопептидазами, действующими на N-конец. Синтез пептидов с одной или более восстановленными изостерными псевдопептидными связями известен из уровня техники (Couder et al. (1993), упомянуто выше). Другие примеры включают введение кетометиленовых или метилсульфидных связей для замены пептидных связей.

[0110] Пептоидные производные NTP-пептидов представляют собой другой класс пептидомиметиков, которые сохраняют важные структурные детерминанты для биологической активности, но устраняют пептидные связи, за счет чего обеспечивается придание устойчивости к протеолизу (Simon, et al., 1992, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89: 9367-9371, и включенный в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте). Пептоиды являются олигомерами N-замещенных глицинов. Был описан ряд N-алкильных групп, каждая из которых соответствует боковой цепи природной аминокислоты (Simon, et al. (1992), упомянуто выше и включено в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте). Некоторые или все аминокислоты пептида заменены N-замещенным глицином, соответствующим замещенной аминокислоте.

[0111] Разработке пептидомиметиков может способствовать определение третичной структуры исходного пептида с помощью ЯМР-спектроскопии, кристаллографии и/или компьютерного молекулярного моделирования. Эти методики способствуют разработке новых композиций с более высокой эффективностью и/или большей биодоступностью и/или большей стабильностью, чем у исходного пептида (Dean (1994), BioEssays, 16: 683-687; Cohen and Shatzmiller (1993), J. Mol. Graph., 11: 166-173; Wiley and Rich (1993), Med. Res. Rev., 13: 327-384; Moore (1994), Trends Pharmacol. Sci., 15: 124-129; Hruby (1993), Biopolymers, 33: 1073-1082; Bugg et al. (1993), Sci. Am., 269: 92-98, все включены в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте).

[0112] Как только идентифицировано соединение, представляющее собой потенциальный пептидомиметик, оно может быть синтезировано и проанализировано с использованием способов, описанных в примерах ниже, для оценки его активности. Соединения, представляющие собой пептидомиметики, полученные посредством указанных выше способов, имеющие биологическую активность пептидов и схожую трехмерную структуру, охватываются данным вариантом осуществления. Специалисту в данной области техники будет очевидно, что пептидомиметик может быть получен из любого из пептидов, несущих одну или более модификаций, описанных выше. Кроме того, будет очевидно, что пептидомиметики согласно данному варианту осуществления могут быть дополнительно использованы для разработки еще более активных

непептидных соединений в дополнение к их применению в качестве терапевтических соединений.

[0113] В настоящее время существует ряд организаций, способных синтезировать пептиды, описанные в данном документе. Например, учитывая последовательность NTP-пептида, организация может синтезировать пептид и направить синтезированный пептид с сопроводительной документацией и доказательством идентичности пептида.

[0114] Варианты осуществления настоящего изобретения направлены на способы лечения млекопитающих с BPH, которые могут привести к ухудшению или прогрессированию оценок IPSS (например, оценки остаются относительно одинаковыми или увеличиваются). Способы лечения обеспечивают снижение процентной доли млекопитающих, характеризующихся ухудшением или прогрессированием IPSS на более чем 10% от процентной доли млекопитающих, характеризующихся ухудшением или прогрессированием IPSS, которым вводили контроль. Такие способы предусматривают введение млекопитающему, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества NTP-пептида либо отдельно, либо в комбинации с дополнительным активным средством. Нуждающимися млекопитающими могут являться млекопитающие, страдающие доброкачественной гиперплазией предстательной железы, которые могут иметь повышенный риск развития рака предстательной железы или могут не иметь его, или млекопитающие с риском развития рака предстательной железы. Нуждающимися млекопитающими также могут являться любые млекопитающие, которые получат преимущество от уменьшения тяжести или предупреждения ухудшения или прогрессирования симптомов, ассоциированных с BPH.

[0115] Дополнительное активное средство, если оно используется, может представлять собой одно или более активных средств, выбранных из (i) противораковых активных средств (таких как алкилирующие средства, ингибиторы топоизомеразы I, ингибиторы топоизомеразы II, антиметаболиты РНК/ДНК и антимитотические средства); (ii) активных средств для лечения доброкачественных новообразований, таких как активные средства против акне и бородавок (салициловая кислота); (iii) антиандрогенных соединений (ципротеронацетат (1α,2β-метилен-6-хлор-17α-ацетокси-6-дегидропрогестерон)), тамоксифен, ингибиторы ароматазы); (iv) блокаторов альфа1-адренергических рецепторов (тамсулозин, теразозин, доксазозин, празозин, буназозин, индорамин, алфулзозин, силодозин); (v) ингибиторов 5α-редуктазы (финастерид, дутастерид); (vi) ингибиторов фосфодиэстеразы 5 типа (PDE5) (тадалафил) и их комбинаций. Предпочтительно дополнительное активное средство выбрано из группы, состоящей из тамсулозина, финастерида, теразозина, доксазозина, празозина, тадалафила, алфулзозина, силодозина, дутастерида, комбинации дутастерида и тамсулозина, и их смесей и комбинаций.

[0116] Состояние может представлять собой, необязательно в дополнение к BPH, опухоли легкого, молочной железы, желудка, поджелудочной железы, предстательной железы, мочевого пузыря, кости, яичника, кожи, почки, синуса, толстой кишки, кишечника, желудка, прямой кишки, пищевода, крови, головного мозга и его оболочек, спинного мозга и его оболочек, мышцы, соединительной ткани, надпочечника, паращитовидной железы, щитовидной железы, матки, яичка, гипофиза, репродуктивных органов, печени, желчного пузыря, глаза, уха, носа, горла, миндалин, рта, лимфатических узлов и лимфоидной системы, а также других органов. Другие состояния включают инсульт или застойную сердечную недостаточность, медицинское состояние, такое как простатит или инфекция мочевыводящих путей, прием лекарственных препаратов или лекарственных средств, которые, как известно, провоцируют задержку, например,

гидрохлорид псевдоэфедрина, медикамент от простуды, обезболивающий лекарственный препарат, такой как наркотические, или успокаивающие средства, или бенадрил.

[0117] Используемый в данном документе термин «злокачественная опухоль» предназначен для охвата всех форм карцином, сарком и меланом человека, которые встречаются в слабо дифференцированных, умеренно дифференцированных и хорошо дифференцированных формах.

[0118] Терапевтические композиции на основе NTP-пептидов могут содержать терапевтически эффективное количество NTP-пептида в смеси с фармацевтически приемлемым носителем. В некоторых альтернативных вариантах осуществления дополнительное активное средство можно вводить в той же композиции на основе NTP-пептида, и в других вариантах осуществления при этом композицию, содержащую NTP-пептид, вводят в виде инъекции, тогда как дополнительное активное средство составляют в лекарственный препарат для перорального введения (гель, капсула, таблетка, жидкость и т. д.). Материалом носителя может быть вода для инъекций, предпочтительно дополненная другими материалами, общепринятыми в растворах для введения млекопитающим. Обычно NTP-пептид для терапевтического применения будет вводиться в форме композиции, содержащей очищенный пептид в сочетании с одним или более физиологически приемлемыми носителями, наполнителями или растворителями. Нейтральный буферный солевой раствор или солевой раствор, смешанный с сывороточным альбумином, представляют собой иллюстративные соответствующие носители. Предпочтительно продукт составляют в виде лиофилизата с использованием соответствующих наполнителей (например, сахарозы). Другие стандартные носители, растворители и наполнители могут быть включены по желанию. Композиции согласно вариантам осуществления также могут содержать буферы, известные специалистам в данной области техники, с подходящим диапазоном значений pH, в том числе трис-буфер с pH приблизительно 7,0-8,5 или ацетатный буфер с pH приблизительно 4,0-5,5, который может дополнительно включать сорбитол или подходящую его замену.

[0119] Применение NTP-пептидов, конъюгированных, или присоединенных, или связанных с антителом, фрагментом антитела, антителоподобной молекулой или молекулой с высокой аффинностью к определенному опухолевому маркеру, такому как клеточный рецептор, сигнальный пептид или сверхэкспрессированный фермент, для нацеливания на нежелательные клеточные элементы у не подвергнутого лечению млекопитающего, также охватывается объемом вариантов осуществления. Антитело, фрагмент антитела, антителоподобную молекулу или молекулу с высокой аффинностью к конкретному опухолевому маркеру используют для нацеливания пептидного конъюгата на конкретную клеточную или тканевую мишень. Например, опухоль с характерным поверхностным антигеном или экспрессированным антигеном может быть нацелена антителом, фрагментом антитела или антителоподобной связывающей молекулой, и опухолевые клетки могут быть уничтожены пептидом. Такой подход, использующий нацеливание антителами, обладает ожидаемыми преимуществами снижения дозировки, увеличения вероятности связывания и поглощения клетками-мишенями и повышения пригодности для нацеливания и лечения метастатических опухолей и опухолей микроскопического размера.

[0120] Варианты осуществления также охватывают применение NTP-пептидов, конъюгированных или соединенных или связанных с белком или другой молекулой, для образования композиции, которая после расщепления в или вблизи сайта(сайтов) опухоли или других нежелательных клеток опухоль- или сайт-специфическим ферментом, или протеазой, или конъюгатом антитела, которые целенаправленно воздействуют на

опухоль или другие нежелательные клетки, высвобождают пептид в или вблизи сайта (сайтов) опухоли или других нежелательных клеток.

[0121] Варианты осуществления также охватывают использование NTP-пептидов, конъюгированных или соединенных или связанных с белком или другой молекулой, для образования композиции, которая высвобождает пептид или некоторый биологически активный фрагмент пептида при воздействии на ткань, подлежащую лечению, света (как при способах лазерной терапии или другой фотодинамической или фотоактивированной терапии), других форм электромагнитного излучения, таких как инфракрасное излучение, ультрафиолетового излучения, рентгеновского или гамма-излучения, локализованного тепла, альфа- или бета-излучения, ультразвуковых излучений или других источников локализованной энергии.

[0122] Варианты осуществления также охватывают терапевтические композиции на основе NTP-пептидов, в которых используются дендримеры, фуллерены и другие синтетические молекулы, полимеры и макромолекулы, где пептид и/или его соответствующая молекула ДНК конъюгированы, присоединены или заключены в молекуле, полимере или макромолекуле, либо сами по себе, либо в сочетании с другими видами молекул, такими как опухолеспецифический маркер. Например, в патенте США № 5714166, Биологически активные и/или нацеленные дендримерные конъюгаты, описан способ получения и применения, среди прочего, конъюгатов дендритных полимеров, состоящих из по меньшей мере одного дендримера с целевым основным компонентом (компонентами) и по меньшей мере одним биоактивным средством, конъюгированным с ним. Раскрытие патента США № 5714166 включено посредством ссылки в данный документ во всей своей полноте.

[0123] Варианты осуществления также охватывают способы лечения млекопитающих терапевтическими композициями на основе NTP-пептидов и/или генов и сред-носителей для доставки лекарственных средств, таких как липидные эмульсии, мицеллярные полимеры, полимерные микросферы, электроактивные полимеры, гидрогели и липосомы, в комбинации с дополнительным активным средством.

[0124] Применение NTP-пептидов или родственных генов или эквивалентов генов, перенесенных в нежелательные клетки у млекопитающего, также охватывается вариантами осуществления. Сверхэкспрессия NTP-пептида в опухоли может быть использована, чтобы вызвать гибель клеток в опухоли и, таким образом, уменьшить популяцию опухолевых клеток. Предполагается, что перенос гена или эквивалентного гена NTP-пептида для лечения нежелательных клеточных элементов имеет преимущество в требовании меньшей дозировки и передачи его клеточному потомству целевых клеточных элементов, что требует менее частой терапии и меньшего общего терапевтического количества. Этот вариант осуществления также охватывает перенос генов, которые кодируют слитый белок, содержащий NTP-пептид, в нежелательные клетки или соседние клетки, где после экспрессии гена и продуцирования и/или секреции слитого белка слитый белок расщепляется либо нативными ферментами или протеазами, либо пролекарством для высвобождения NTP-пептида в нежелательных клетках или рядом с ними.

[0125] Также объемом вариантов осуществления охватывается применение клонированных конъюгатов рекомбинантного пептида и антитела; клонированных конъюгатов рекомбинантного пептида и фрагмента антитела; а также клонированных конъюгатов рекомбинантного пептида и антителоподобного белка для введения не подвергнутым лечению млекопитающим. Преимущества клонированного NTP-пептида, комбинированного с нацеливающим конъюгатом (таким как антитело, фрагмент

антитела, антителоподобная молекула или молекула с высокой аффинностью к специфическому для рака рецептору или другому опухолевому маркеру), заключаются в том, что такая молекула объединяет целевые преимущества, описанные выше, в дополнение к преимуществам для изготовления и стандартизированного получения клонированной конъюгированной молекулы.

[0126] Варианты осуществления дополнительно включают применение терапевтических композиций на основе NTP-пептидов, или генов, или эквивалентов генов в качестве компонента покрытия медицинского устройства, такого как стент, для удаления, подавления или предупреждения нежелательной клеточной пролиферации или накопления, в комбинации с дополнительным активным средством.

[0127] Твердые лекарственные формы для перорального введения включают без ограничения капсулы, таблетки, пилюли, порошки и гранулы. В таких твердых лекарственных формах дополнительное активное средство и/или NTP-пептид могут быть смешаны с по меньшей мере одним из следующего: (a) одним или более инертными наполнителями (или носителем), такими как цитрат натрия или дикальцийфосфат; (b) заполнителями или добавками, таким как крахмалы, лактоза, сахароза, глюкоза, маннит и кремниевая кислота; (c) связующими, такими как карбоксиметилцеллюлоза, альгинаты, желатин, поливинилпирролидон, сахароза и аравийская камедь; (d) увлажнителями, такими как глицерин; (e) разрыхлителями, такими как агар-агар, карбонат кальция, картофельный или тапиоковый крахмал, альгиновая кислота, некоторые сложные силикаты и карбонат натрия; (f) замедлителями растворения, такими как парафин; (g) ускорителями абсорбции, такими как четвертичные аммониевые соединения; (h) смачивающими средствами, такими как ацетиловый спирт и глицеролмоностеарат; (i) адсорбентами, такими как каолин и бентонит; и (j) смазывающими веществами, такими как тальк, стеарат кальция, стеарат магния, твердые полиэтиленгликоли, лаурилсульфат натрия или их смеси. Для капсул, таблеток и пилюль лекарственные формы также могут содержать буферные средства.

[0128] Жидкие лекарственные формы для перорального введения включают фармацевтически приемлемые эмульсии, растворы, суспензии, сиропы и настои. Вдобавок к активным соединениям жидкие лекарственные формы могут содержать инертные разбавители, обычно используемые в данной области, такие как вода или другие растворители, солюбилизирующие средства и эмульгаторы. Примерами эмульгаторов являются этиловый спирт, изопропиловый спирт, этилкарбонат, этилацетат, бензиловый спирт, бензилбензоат, пропиленгликоль, 1,3-бутиленгликоль, диметилформамид, масла, такие как хлопковое масло, арахисовое масло, масло из зародышей кукурузы, оливковое масло, касторовое масло и кунжутное масло, глицерин, тетрагидрофурфуриловый спирт, полиэтиленгликоли, сложные эфиры жирных кислот с сорбитаном или смеси этих веществ и тому подобное.

[0129] Помимо таких инертных разбавителей, композиция может также содержать вспомогательные вещества, такие как смачивающие средства, эмульгирующие и суспендирующие средства, подсластители, ароматизаторы и отдушки.

[0130] Фактические уровни дозировки активных ингредиентов в композициях согласно вариантам осуществления могут варьировать для получения количества NTP-пептида и дополнительного активного средства, которое является эффективным для получения требуемого терапевтического ответа для конкретной композиции и способа введения. Следовательно, выбранный уровень дозировки зависит от необходимого терапевтического эффекта, пути введения, необходимой продолжительности лечения и других факторов.

[0131] Для млекопитающих, в том числе людей, эффективные количества можно вводить из расчета площади поверхности тела. Взаимосвязь дозировок для животных различных размеров, видов и людей (в пересчете на мг/м^2 поверхности тела) описана в EJ Freireich et al., Cancer Chemother. Rep., 50 (4):219 (1966). Площадь поверхности тела может быть примерно определена исходя из роста и веса индивидуума (см., например, Scientific Tables, Geigy Pharmaceuticals, Ardsley, NY pp. 537-538 (1970)).

[0132] Общая суточная доза NTP-пептида и дополнительного активного средства, вводимых в организм, может находиться в единичной или разделенной дозах. Единица дозирования композиции может содержать такое количество таких дольных единиц, которое можно использовать, для составления суточной дозы. Однако следует понимать, что конкретный уровень дозы для любого конкретного пациента будет зависеть от множества факторов, включая вес тела, общее состояние здоровья, пол, рацион, время и путь введения, эффективность вводимого лекарственного средства, скорость абсорбции. и экскреции, комбинацию с другими лекарственными средствами и тяжесть конкретного заболевания, лечение которого осуществляют. Предпочтительно, чтобы композицию вводили только один раз в виде инъекции или инфузии, или в другом предпочтительном варианте осуществления композицию вводят дважды. В этом варианте осуществления период времени между введением композиции может варьировать в любое время от 2 месяцев до 10 лет, или от 8 месяцев до 4 лет, или более чем приблизительно один год (например, от 1 до 2 лет).

[0133] Способ введения композиции на основе NTP-пептида в соответствии с вариантами осуществления предусматривает без ограничения введение соединений внутримышечно, перорально, внутривенно, внутрибрюшинно, интрацеребрально (интрапаренхимально), интрацереброventрикулярно, внутрь опухоли, внутриочагово, внутрикожно, интратекально, интраназально, интраокулярно, интраартериально, местно, трансдермально, с помощью аэрозоля, инфузии, болюсной инъекции, имплантационного устройства, устройство замедленного высвобождения и т. д.

[0134] Другой способ введения NTP-пептида согласно вариантам осуществления предусматривает трансдермальный или чрескожный путь. Дополнительное активное средство можно применять вместе с NTP-пептидом или можно вводить отдельно, как обсуждалось выше, или можно вообще не вводить. Одним примером такого варианта осуществления является использование пластыря. В частности, пластырь можно получать с тонкодисперсной суспензией пептида, например, в диметилсульфоксиде (DMSO), или смеси DMSO с хлопковым маслом и приводить в контакте с кожей млекопитающих, несущих опухоль, далеко от места расположения опухоли в кожаном мешке. Другие среды или их смеси с другими растворителями и твердыми носителями будут работать так же. Пластырь может содержать пептидное соединение в форме раствора или суспензии. Затем пластырь можно наносить на кожу пациента, например, путем введения его в кожный мешок пациента, образованный путем складывания и удерживания кожи вместе с помощью швов, зажимов или других удерживающих устройств. Этот мешок следует использовать таким образом, чтобы обеспечить постоянный контакт с кожей без вмешательства млекопитающего. Помимо использования кожного мешка, можно использовать любое устройство, которое обеспечивает надежное размещение пластыря в контакте с кожей. Например, липкопластырная повязка может быть использована для удержания пластыря на коже.

[0135] NTP-пептиды, необязательно в комбинации с дополнительным активным средством, могут вводиться в составе или препарате с замедленным высвобождением. Подходящие примеры препаратов с замедленным высвобождением включают

полупроницаемые полимерные матрицы в форме изделий определенной формы, например, пленок или микрокапсул. Матрицы с замедленным высвобождением включают сложные полиэфиры, гидрогели, полилактиды (патент США № 3773919, EP 58481), сополимеры L-глутаминовой кислоты и гамма-этил-L-глутамата (Sidman et al., Biopolymers, 22: 547-556), поли(2-гидроксиэтилметакрилат) (Langer et al., J. Biomed. Mater. Res., 15: 167-277 и Langer, Chem. Tech., 12: 98-105), этиленвинилацетат (Langer et al., выше) или поли-D(-)-3-гидроксимасляную кислоту (EP 133988). Композиции с замедленным высвобождением также могут включать липосомы, которые могут быть получены любым из нескольких способов, известных из уровня техники (например, Eppstein et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 82: 3688-3692; EP 36676; EP 88046 и EP 143949).

[0136] Другим способом введения NTP-пептида согласно вариантам осуществления является прямая или непрямая инфузия NTP-пептида в ткань, подлежащую лечению. Одним примером такого варианта осуществления является прямая инъекция NTP-пептида в ткань, подлежащую лечению. Лечение может состоять из одной инъекции, нескольких инъекций в одном случае или серии инъекций в течение периода времени, составляющего нескольких часов, дней или месяцев, с ухудшением (регрессией) или прогрессированием симптомов с контролем с помощью биопсии, визуализации, IPSS (особенно предпочтительный вариант осуществления) или других способов контроля ухудшения или прогрессирования нарушения. Инъекция в ткань, подлежащую лечению, может осуществляться с помощью устройства, вставленного в отверстие, такое как нос, рот, ухо, влагалище, прямая кишка или уретра, или через разрез, чтобы достичь ткани in vivo, и может выполняться в сочетании с системой визуализации или оптической системой, такой как ультразвуковой или оптоволоконный эндоскоп, чтобы определить подходящее место для инъекции(инъекций). Другим примером такого варианта осуществления является использование устройства, которое может обеспечить постоянную инфузию NTP-пептида в ткань с течением времени.

[0137] Другой способ введения NTP-пептида связан с хирургической или аналогичной процедурой, применяемой для физического иссечения, удаления или иного уничтожения или разрушения опухоли или других тканевых или клеточных элементов, которые необходимо или желательно удалить или разрушить, где NTP-пептид согласно вариантам осуществления вводят в прилегающую(прилегающие) область(области), окружающую (окружающие) область(области), где опухоль или другая ткань были удалены, чтобы уничтожить или препятствовать росту любых опухолевых клеток или других клеточных элементов, не удаленных или не разрушенных в результате процедуры

[0138] Другим способом введения NTP-пептида согласно вариантам осуществления является имплантация устройства в опухоль или другую ткань, подлежащие лечению. В этом варианте дополнительное активное средство обычно будут вводить другим путем введения, чем NTP-пептид. Одним примером такого варианта осуществления является имплантация капсулы-имплантата, содержащей пептид, в опухоль или другую ткань, подлежащие лечению, и введение дополнительного активного средства посредством перорального введения. Капсула-имплантат высвобождает терапевтическую дозу NTP-пептида в ткань с течением времени. В качестве альтернативы или дополнения, композицию можно вводить местно посредством имплантации в пораженный участок мембраны, губки или другого подходящего материала, на котором был абсорбирован NTP-пептид. Если применяют имплантируемое устройство, то устройство можно имплантировать в любую подходящую ткань или орган, и доставка пептида может осуществляться непосредственно с помощью устройства посредством болюса, или посредством непрерывного введения, или посредством катетера с

применением непрерывной инфузии.

[0139] Альтернативный способ введения заключается во введении одной или более копий гена, кодирующего NTP-пептид, в клетку-мишень и, при необходимости, индуцировании начала внутриклеточного продуцирования пептида копией(копиями) гена. В этом варианте дополнительное активное средство обычно будут вводить другим путем введения, чем NTP-пептид. Одним из способов применения генной терапии является использование гена, кодирующего NTP-пептид (либо геномная ДНК, кДНК и/или синтетическая ДНК, кодирующие пептид (или его фрагмент, вариант, гомолог или производное)), который может быть функционально связан с конститутивным или индуцибельным промотором для образования ДНК-конструкции для генной терапии. Промотор может быть гомологичным или гетерологичным гену, кодирующему эндогенный пептид, при условии, что он активен в клетке или типе ткани, в которую будет встроена конструкция. Другие компоненты ДНК-конструкции для генной терапии могут необязательно включать, при необходимости, молекулы ДНК, предназначенные для сайт-специфического встраивания (например, эндогенные фланкирующие последовательности, пригодные для гомологичной рекомбинации), тканеспецифический промотор, энхансер(энхансеры) или сайленсер(сайленсеры), молекулы ДНК, способные обеспечить избирательное преимущество по сравнению с родительской клеткой, молекулы ДНК, пригодные в качестве меток для идентификации трансформированных клеток, системы отрицательного отбора, специфические для клетки связывающие средства (как, например, для нацеливания на клетку), специфические для клетки факторы интернализации и факторы транскрипции для повышения экспрессию с помощью вектора, а также факторы, позволяющие производить вектор.

[0140] Средства доставки генов в клетку или ткань in vivo или ex vivo включают (без ограничения) прямую инъекцию голой ДНК, баллистические способы, липосома-опосредованный перенос, рецептор-опосредованный перенос (комплекс лиганд-ДНК), электропорацию и осаждение фосфата кальция. См. патенты США №№ 4970154, WO 96/40958, патент США № 5679559, патент США № 5676954 и патент США № 5593875, раскрытия каждого из которых включены посредством ссылки в данный документ во всей своей полноте. Они также включают использование вирусного вектора, такого как ретровирус, аденовирус, адено-ассоциированный вирус, вирус оспы, лентивирус, вирус папилломы или вирус простого герпеса, использование конъюгата ДНК и белка и использование липосомы. Использование векторов генной терапии описано, например, в патентах США №№ 5672344, патенте США № 5399346, патенте США № 5631236 и патенте США № 5635399, раскрытия каждого из которых включены посредством ссылки в данный документ во всей своей полноте.

[0141] Ген, кодирующий NTP-пептид, может быть доставлен путем имплантации пациентам определенных клеток, которые были генетически сконструированы ex vivo, с применением способов, таких как описанные в данном документе, для экспрессии и секреции NTP-пептида или его фрагментов, вариантов, гомологов или производных. Такие клетки могут быть клетками животного или человека и могут быть получены из собственной ткани пациента или из другого источника, либо человеческого, либо отличного от человеческого. Необязательно клетки могут быть иммортализированы или быть стволовыми клетками. Однако чтобы уменьшить вероятность иммунологического ответа, предпочтительно, чтобы клетки были инкапсулированы, чтобы избежать инфильтрации окружающих тканей. Инкапсулирующие материалы обычно представляют собой биосовместимые, полупроницаемые полимерные оболочки или мембраны, которые обеспечивают высвобождение белкового продукта(продуктов),

но предупреждают разрушение клеток иммунной системой пациента или другими вредными факторами из окружающих тканей. Способы, используемые для мембранной инкапсуляции клеток, известны специалисту в данной области техники, и получение инкапсулированных клеток и их имплантация пациентам могут быть выполнены без чрезмерных экспериментов. См., например, патенты США №№ 4892538; 5011472 и 5106627, раскрытия каждого из которых включены посредством ссылки в данный документ во всей своей полноте. Система для инкапсулирования живых клеток описана в PCT WO 91/10425. Методики составления множества других средств для замедленной или контролируемой доставки, таких как липосомные носители, биоразлагаемые частицы или гранулы, также известны специалистам в данной области техники и описаны, например, в патенте США №5653975, раскрытие которого включено посредством ссылки в данный документ во всей своей полноте. Клетки с инкапсуляцией или без нее могут быть имплантированы в подходящие ткани организма или органы пациента.

[0142] Вариант осуществления включает способ уменьшения тяжести или предупреждения ухудшения или прогрессирования и/или уменьшения тяжести или предупреждения ухудшения или отсутствия улучшения в отношении симптомов, ассоциированных с ВРН, который предусматривает введение млекопитающему (в том числе млекопитающим, подверженным такому ухудшению или прогрессированию симптомов), по меньшей мере один раз, терапевтически эффективного количества NTP-пептида, в частности выделенного пептида, содержащего аминокислотную последовательность под SEQ ID NO. 66 (Ile-Asp-Gln-Gln-Val-Leu-Ser-Arg-Ile-Lys-Leu-Glu-Ile-Lys-Arg-Cys-Leu). Другой вариант осуществления включает способ уменьшения тяжести или предупреждения ухудшения или прогрессирования и/или уменьшения тяжести или предупреждения ухудшения или отсутствия улучшения в отношении симптомов, ассоциированных с ВРН, который предусматривает введение млекопитающему (в том числе млекопитающим, подверженным такому ухудшению или прогрессированию симптомов) терапевтически эффективного количества NTP-пептида, в частности выделенного пептида, содержащего аминокислотную последовательность под SEQ ID NO. 66 (Ile-Asp-Gln-Gln-Val-Leu-Ser-Arg-Ile-Lys-Leu-Glu-Ile-Lys-Arg-Cys-Leu), сопровождающееся последующим введением одного или более активных ингредиентов. Другой вариант осуществления включает способ уменьшения тяжести или предупреждения ухудшения или прогрессирования и/или уменьшения тяжести или предупреждения ухудшения или отсутствия улучшения в отношении симптомов, ассоциированных с ВРН, посредством лечения млекопитающего, не страдающего ВРН, но которое подвержено ВРН, и в других вариантах осуществления млекопитающее страдает одним или более состояниями, выбранными из группы, состоящей из меатального стеноза, парафимоза, сужения полового члена, фимоза, рака предстательной железы, пролапса органов, выбранного из цистоцеле, ректоцеле и выпадения матки, опухолевидного образования в малом тазу, выбранного из гинекологического злокачественного новообразования, фибромы матки и кист яичника, загнутой назад беременной матки, аневризматической дилатации, камней в мочевом пузыре, новообразования в мочевом пузыре, фекаломы, желудочно-кишечных или забрюшинных злокачественных образований, стриктур уретры, камней, отека, баланита, абсцесса предстательной железы, простатита, острого вульвовагинита, плоского лишая влагалища, склеротического лишая влагалища, вагинальной пузырчатки, бильгарциоза, цистита, эхинококкоза, синдрома Гийена-Барре, вируса простого герпеса; болезни Лайма, периуретрального абсцесса, поперечного миелита, туберкулезного цистита,

уретрита, вируса ветряной оспы, травмы полового члена, перелома полового члена, разрыва полового члена и синдрома Фаулера.

[0143] В определенных вариантах осуществления выделенный пептид, содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO. 66, вводят в комбинации с по меньшей мере одним активным средством, выбранным из группы, состоящей из (1) ингибитора 5α-редуктазы и/или антиэстрогена, (2) ингибитора 5α-редуктазы и/или ингибитора ароматазы, (3) ингибитора 5α-редуктазы и/или ингибитора 17β-HSD, (4) ингибитора 5α-редуктазы, антиэстрогена и ингибитора ароматазы, (5) ингибитора 5α-редуктазы, антиэстрогена и ингибитора 17β-HSD, (6) ингибитора 5α-редуктазы, ингибитора ароматазы, антиэстрогена и ингибитора 17β-HSD, (7) ингибитора 5α-редуктазы, антиандрогена и антиэстрогена, (8) ингибитора 5α-редуктазы, антиандрогена и ингибитора ароматазы, (9) ингибитора 5α-редуктазы, антиандрогена и ингибитора 17β-HSD, (10) ингибитора 5α-редуктазы, антиандрогена, антиэстрогена и ингибитора ароматазы, (11) ингибитора 5α-редуктазы, антиандрогена, ингибитора ароматазы и ингибитора 17β-HSD, (12) ингибитора 5α-редуктазы, антиандрогена, ингибитора ароматазы, антиэстрогена и ингибитора 17β-HSD, (13) ингибитора 17β-HSD и антиэстрогена, (14) ингибитора 17β-HSD и ингибитора ароматазы, (15) ингибитора 17β-HSD, ингибитора ароматазы и антиэстрогена, (16) ингибитора 17β-HSD, антиандрогена и антиэстрогена, (17) ингибитора 17β-HSD, антиандрогена и ингибитора ароматазы, (18) ингибитора 17β-HSD, антиандрогена, антиэстрогена и ингибитора ароматазы, (19) антиэстрогена и ингибитора ароматазы и (20) антиэстрогена, ингибитора ароматазы и антиандрогена, (21) агониста или антагониста LHRH, ингибитора 5α-редуктазы и антиэстрогена, (22) агониста или антагониста LHRH, ингибитора 5α-редуктазы и ингибитора ароматазы, (23) агониста или антагониста LHRH, ингибитора 5α-редуктазы и ингибитора 17β-HSD, (24) агониста или антагониста LHRH, ингибитора 5α-редуктазы, антиэстрогена и ингибитора ароматазы, (25) агониста или антагониста LHRH, ингибитора 5α-редуктазы, антиэстрогена и ингибитора 17β-HSD, (26) агониста или антагониста LHRH, ингибитора 5α-редуктазы, ингибитора ароматазы, антиэстрогена и ингибитора 17β-HSD, (27) агониста или антагониста LHRH, ингибитора 5α-редуктазы, антиандрогена и антиэстрогена, (28) агониста или антагониста LHRH, ингибитора 5α-редуктазы, антиандрогена и ингибитора ароматазы, (29) агониста или антагониста LHRH, ингибитора 5α-редуктазы, антиандрогена и ингибитора 17β-HSD, (30) агониста или антагониста LHRH, ингибитора 5α-редуктазы, антиандрогена, антиэстрогена и ингибитора ароматазы, (31) агониста или антагониста LHRH, ингибитора 5α-редуктазы, антиандрогена, ингибитора ароматазы и ингибитора 17β-HSD, (32) агониста или антагониста LHRH, ингибитора 5α-редуктазы, антиандрогена, ингибитора ароматазы, антиэстрогена и ингибитора 17β-HSD, (33) агониста или антагониста LHRH, ингибитора 17β-HSD и антиэстрогена, (34) агониста или антагониста LHRH, ингибитора 17β-HSD и ингибитора ароматазы, (35) агониста или антагониста LHRH, ингибитора 17β-HSD, ингибитора ароматазы и антиэстрогена, (36) агониста или антагониста LHRH, ингибитора 17β-HSD, антиандрогена и антиэстрогена, (37) агониста или антагониста LHRH, ингибитора 17β-HSD, антиандрогена и ингибитора ароматазы, (38) агониста или антагониста LHRH, ингибитора 17β-HSD, антиандрогена, антиэстрогена и ингибитора ароматазы, (39) агониста или антагониста LHRH, антиэстрогена и ингибитора ароматазы и (40) агониста или антагониста LHRH, антиэстрогена, ингибитора ароматазы и антиандрогена.

[0144] В других вариантах осуществления выделенный пептид, содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO. 66, вводят в комбинации с по

меньшей мере одним активным средством, выбранным из группы, состоящей из альфа-адренергических блокаторов, таких как альфузозин или тамсулозин, дутастерид, тадалафил, теразозин, финастерид, доксазозин, комбинации финастерида и доксазозина и их смесей.

[0145] Следующие примеры предоставлены для иллюстрации вариантов осуществления настоящего изобретения. Однако следует понимать, что варианты осуществления не должны быть ограничены конкретными условиями или деталями, описанными в этих примерах. Во всем описании любые и все ссылки на общедоступный документ, включая патент США, специально включены посредством ссылки. В частности, варианты осуществления прямо включают посредством ссылки примеры, содержащиеся в находящейся на рассмотрении заявке на патент США № 14/808713, поданной 24 июля 2015 года, под названием СПОСОБЫ СНИЖЕНИЯ ПОТРЕБНОСТИ В ХИРУРГИЧЕСКОМ ВМЕШАТЕЛЬСТВЕ У ПАЦИЕНТОВ, СТРАДАЮЩИХ ДОБРОКАЧЕСТВЕННОЙ ГИПЕРПЛАЗИЕЙ ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ; заявке на патент США № 14/606683, поданной 27 января, 2015 года, под названием СПОСОБ ЛЕЧЕНИЯ НАРУШЕНИЙ, ТРЕБУЮЩИХ РАЗРУШЕНИЯ ИЛИ УДАЛЕНИЯ КЛЕТОК, заявке на патент США № 14/738551, поданной 12 июня, 2015 года, под названием КОМБИНИРОВАННЫЕ КОМПОЗИЦИИ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ НАРУШЕНИЙ, ТРЕБУЮЩИХ УДАЛЕНИЯ ИЛИ РАЗРУШЕНИЯ НЕЖЕЛАТЕЛЬНЫХ КЛЕТОЧНЫХ ПРОЛИФЕРАЦИЙ, заявках на патент США №№ 2007/0237780 (в настоящее время приостановлена); 2003/0054990 (теперь патент США № 7172893); 2003/0096350 (теперь патент США № 6924266); 2003/0096756 (теперь патент США № 7192929); 2003/0109437 (теперь патент США № 7241738); 2003/0166569 (теперь патент США № 7317077); 2005/0032704 (теперь патент США № 7408021) и 2015/0148303 (теперь патент США № 9243035), в каждом из которых показано, что определенные пептиды, указанные в них, являются эффективными средствами, вызывающими гибель клеток in vivo в нормальной мышечной ткани грызунов, подкожной соединительной ткани, дерме и других тканях.

Пример 1

[0146] Пациентам с BPH интрапростатическую инъекцию либо a) SEQ ID NO. 66 (Ile-Asp-Gln-Gln-Val-Leu-Ser-Arg-Ile-Lys-Leu-Glu-Ile-Lys-Arg-Cys-Leu) в фосфатно-солевом буферном растворе с pH 7,2 («PBS»), либо b) только PBS при двойных слепых условиях вводил уролог в учреждении под ультразвуковым контролем. Пациенты наблюдались в течение от 1 до 6 лет с регулярными физическими осмотрами, лабораторными исследованиями и оценкой симптомов. Симптоматическую оценку осуществляли с помощью Международной шкалы оценки простатических симптомов (IPSS), которая представляет собой количественную шкалу, используемую для оценивания симптоматического улучшения или ухудшения в отношении простаты. IPSS количественно определяет следующее: 1) неполное опорожнение мочевого пузыря после мочеиспускания; 2) учащенное мочеиспускание; 3) остановку и продолжение во время мочеиспускания; 4) острую необходимость в мочеиспускании; 5) слабость мочевого потока; 6) необходимость в давлении или напряжении во время мочеиспускания; 7) необходимость в мочеиспускании после отхода ко сну ночью (ноктурия). Отличие от исходного показателя IPSS сравнивали у всех пациентов, которым вводили интрапростатическую инъекцию SEQ ID NO. 66, с отличием от исходного показателя IPSS у пациентов, которые получали только PBS. Неожиданно, в дополнение к большему улучшению у пациентов, которых лечили с помощью SEQ ID NO. 66, также наблюдали неожиданное снижение частоты ухудшения и

прогрессирования симптомов у пациентов, которых лечили с помощью SEQ ID NO. 66. Результаты можно найти в таблице 1 ниже.

Таблица 1

Лечение	Количество пациентов	Процентная доля ухудшения IPSS
SEQ ID NO: 66[1]	290	13,1%*
Контроль[2]	214	21%

1. Пациенты, которые получали SEQ ID NO: 66.

2. Пациенты, которым не вводили только PBS.

* p < ,02

[0147] Основываясь на результатах этих исследований, введение NTP-пептидов по настоящему изобретению является пригодным в лечении популяции пациентов, в том числе популяции пациентов, отличных от только тех, которые страдают BPH, и является пригодным в уменьшении тяжести или предупреждении ухудшения или прогрессирования симптомов BPH. По сравнению с контролями, композиции и способы способны обеспечить снижение ухудшения или прогрессирования симптомов BPH на количество, приблизительно составляющее 37,6%.

Пример 2

[0148] Пациентам с BPH интрапростатическую инъекцию либо a) SEQ ID NO. 66 в фосфатно-солевом буферном растворе с pH 7,2 («PBS»), либо b) только PBS при двойных слепых условиях вводил уролог в учреждении под ультразвуковым контролем. Впоследствии 326 субъектам, которым вводили плацебо и SEQ ID NO. 66, вводили интрапростатическую инъекцию SEQ ID NO. 66 (2,5 мг). Пациенты наблюдались в течение от 1 до 6 лет с физическими осмотрами, лабораторными исследованиями и оценкой симптомов. Симптоматическую оценку осуществляли с помощью Международной шкалы оценки простатических симптомов (IPSS), которая представляет собой количественную шкалу, используемую для оценивания симптоматического улучшения или ухудшения в отношении простаты. IPSS количественно определяет следующее: 1) неполное опорожнение мочевого пузыря после мочеиспускания; 2) учащенное мочеиспускание; 3) остановку и продолжение во время мочеиспускания; 4) острую необходимость в мочеиспускании; 5) слабость мочевого потока; 6) необходимость в давлении или напряжении во время мочеиспускания; 7) необходимость в мочеиспускании после отхода ко сну ночью (ноктурия). Отличие от исходного показателя IPSS сравнивали у пациентов, которым вводили плацебо, и которые впоследствии получали SEQ ID NO. 66, относительно результатов пациентов, которые получали только PBS. Неожиданно, в дополнение к большему улучшению у пациентов, которых лечили с помощью SEQ ID NO. 66, также наблюдали неожиданное снижение частоты ухудшения или отсутствия улучшения в отношении симптомов у пациентов, которых лечили с помощью SEQ ID NO. 66. Результаты можно найти в таблице 2 ниже.

Таблица 2

Лечение	Количество пациентов	Процентная доля ухудшения IPSS или отсутствия улучшения в IPSS
Плацебо плюс SEQ ID NO: 66	133	17,3%*
Контроль	214	50%

* p<0,0001

[0149] Основываясь на результатах этих исследований, введение NTP-пептидов по настоящему изобретению является пригодным в лечении популяции пациентов, в том числе популяции пациентов, отличных от только тех, которые страдают BPH, и является

пригодным в уменьшении тяжести или предупреждении ухудшения или прогрессирования симптомов BPH. По сравнению с контролями, композиции и способы способны обеспечить снижение ухудшения или отсутствия улучшения в отношении симптомов BPH на количество, приблизительно составляющее 65,4%.

Пример 3

[0150] Пациентам с BPH интрапростатическую инъекцию либо a) SEQ ID NO. 66 в фосфатно-солевом буферном растворе с pH 7,2 («PBS»), либо b) только PBS при двойных слепых условиях вводил уролог в учреждении под ультразвуковым контролем. Впоследствии 326 субъектам вводили интрапростатическую инъекцию SEQ ID NO. 66 (2,5 мг). Симптоматическую оценку осуществляли с помощью Международной шкалы оценки простатических симптомов (IPSS), которая представляет собой количественную шкалу, используемую для оценивания симптоматического улучшения или ухудшения в отношении простаты. IPSS количественно определяет следующее: 1) неполное опорожнение мочевого пузыря после мочеиспускания; 2) учащенное мочеиспускание; 3) остановку и продолжение во время мочеиспускания; 4) острую необходимость в мочеиспускании; 5) слабость мочевого потока; 6) необходимость в давлении или напряжении во время мочеиспускания; 7) необходимость в мочеиспускании после отхода ко сну ночью (ноктурия). Отличие от исходного показателя IPSS сравнивали у пациентов SEQ ID NO. 66, которым вводили две инъекции SEQ ID NO. 66, с результатами у пациентов, которые получали только PBS. Неожиданно, в дополнение к большему улучшению у пациентов, которых лечили с помощью SEQ ID NO. 66, также наблюдали неожиданное снижение частоты ухудшения или отсутствия улучшения в отношении симптомов у пациентов, которых лечили с помощью SEQ ID NO. 66. Результаты можно найти в таблице 3 ниже.

Таблица 3

Лечение	Количество пациентов	Процентная доля ухудшения IPSS или отсутствия улучшения в IPSS
SEQ ID NO. плюс SEQ ID NO: 66	193	17,6%*
Контроль	214	50%

* $p<0,0001$

[0151] Основываясь на результатах этих исследований, введение NTP-пептидов по настоящему изобретению является пригодным в лечении популяции пациентов, в том числе популяции пациентов, отличных от только тех, которые страдают BPH, и является пригодным в уменьшении тяжести или предупреждении ухудшения или прогрессирования симптомов BPH. По сравнению с контролями, композиции и способы способны обеспечить снижение ухудшения или отсутствия улучшения в отношении симптомов BPH на количество, приблизительно составляющее 64,8%.

Пример 4

[0152] Пациентам с BPH интрапростатическую инъекцию либо a) SEQ ID NO. 66 в фосфатно-солевом буферном растворе с pH 7,2 («PBS»), либо b) только PBS при двойных слепых условиях вводил уролог в учреждении под ультразвуковым контролем. Пациентам (n=326) впоследствии вводили интрапростатическую инъекцию SEQ ID NO. 66 (2,5 мг). Пациенты наблюдались в течение от 1 до 6 лет с физическими осмотрами, лабораторными исследованиями и оценкой симптомов. Симптоматическую оценку осуществляли с помощью Международной шкалы оценки простатических симптомов (IPSS), которая представляет собой количественную шкалу, используемую для оценивания симптоматического улучшения или ухудшения в отношении простаты. Отличие от исходного показателя IPSS сравнивали у всех пациентов с плацебо и SEQ

ID NO. 66, которые получали SEQ ID NO. 66, с результатами у пациентов, которые получали только PBS. Неожиданно, в дополнение к большему улучшению у пациентов, которых лечили с помощью SEQ ID NO. 66, также наблюдали неожиданное снижение частоты ухудшения или отсутствия улучшения в отношении симптомов у пациентов, которых лечили с помощью SEQ ID NO. 66. Результаты можно найти в таблице 4 ниже.

Таблица 4

Лечение	Количество пациентов	Процентная доля ухудшения IPSS или отсутствия улучшения IPSS
Пациенты PBS и SEQ ID NO: 66, которых впоследствии лечили с помощью SEQ ID NO. 66	326	17,5%*
Контроль	214	50%

* p < ,0001

[0153] Основываясь на результатах этих исследований, введение NTP-пептидов по настоящему изобретению является пригодным в лечении популяции пациентов, в том числе популяции пациентов, отличных от только тех, которые страдают BPH, и является пригодным в уменьшении тяжести или предупреждении ухудшения или прогрессирования симптомов BPH. По сравнению с контролями, композиции и способы способны обеспечить снижение ухудшения или отсутствия улучшения в отношении симптомов BPH на количество, приблизительно составляющее 65%.

Пример 5

[0154] Пациентам с BPH интрапростатическую инъекцию либо a) SEQ ID NO. 66 в фосфатно-солевом буферном растворе с pH 7,2 («PBS»), либо b) только PBS при двойных слепых условиях вводил уролог в учреждении под ультразвуковым контролем. Впоследствии 326 пациентам вводили интрапростатическую инъекцию SEQ ID NO. 66 (2,5 мг). Пациенты наблюдались в течение от 1 до 6 лет с физическими осмотрами, лабораторными исследованиями и оценкой симптомов. Симптоматическую оценку осуществляли с помощью Международной шкалы оценки простатических симптомов (IPSS), которая представляет собой количественную шкалу, используемую для оценивания симптоматического улучшения или ухудшения в отношении простаты. Отличие от исходного показателя IPSS сравнивали у пациентов, которым вводили плацебо, и которые получали SEQ ID NO. 66, с результатами у пациентов, которые получали только PBS. Неожиданно, в дополнение к большему улучшению у пациентов, которым вводили плацебо, и которых впоследствии лечили с помощью SEQ ID NO. 66, также наблюдали неожиданное снижение частоты ухудшения и прогрессирования симптомов у пациентов, которых впоследствии лечили с помощью SEQ ID NO. 66. Результаты можно найти в таблице 5 ниже.

Таблица 5

Лечение	Количество пациентов	Процентная доля ухудшения IPSS
Плацебо плюс SEQ ID NO: 66	133	9,0%*
Контроль	214	21%

* p<0,0001

[0155] Основываясь на результатах этих исследований, введение NTP-пептидов по настоящему изобретению является пригодным в лечении популяции пациентов, в том числе популяции пациентов, отличных от только тех, которые страдают BPH, и является пригодным в уменьшении тяжести или предупреждении ухудшения или прогрессирования симптомов BPH. По сравнению с контролями, композиции и способы способны обеспечить снижение ухудшения или прогрессирования симптомов BPH на количество,

приблизительно составляющее 57%.

Пример 6

[0156] Пациентам с BPH интрапростатическую инъекцию либо a) SEQ ID NO. 66 в фосфатно-солевом буферном растворе с pH 7,2 («PBS»), либо b) только PBS при двойных слепых условиях вводил уролог в учреждении под ультразвуковым контролем. Впоследствии 326 пациентам вводили интрапростатическую инъекцию SEQ ID NO. 66 (2,5 мг). Пациенты наблюдались в течение от 1 до 6 лет с физическими осмотрами, лабораторными исследованиями и оценкой симптомов. Симптоматическую оценку осуществляли с помощью Международной шкалы оценки простатических симптомов (IPSS). Отличие от исходного показателя IPSS сравнивали у пациентов, которые получали SEQ ID NO. 66, и которые впоследствии получали SEQ ID NO. 66, с результатами у пациентов, которые получали только PBS. Неожиданно, в дополнение к большему улучшению у пациентов, которых лечили с помощью SEQ ID NO. 66, которых впоследствии лечили с помощью SEQ ID NO. 66, также наблюдали неожиданное снижение частоты ухудшения и прогрессирования симптомов у пациентов, которых впоследствии лечили с помощью SEQ ID NO. 66. Результаты можно найти в таблице 6 ниже.

Таблица 6

Лечение	Количество пациентов	Процентная доля ухудшения IPSS
SEQ ID NO. 66 плюс SEQ ID NO: 66	193	13,5%*
Контроль	214	21%

* $p<0,05$

[0157] Основываясь на результатах этих исследований, введение NTP-пептидов по настоящему изобретению является пригодным в лечении популяции пациентов, в том числе популяции пациентов, отличных от только тех, которые страдают BPH, и является пригодным в уменьшении тяжести или предупреждении ухудшения или прогрессирования симптомов BPH. По сравнению с контролями, композиции и способы способны обеспечить снижение ухудшения или прогрессирования симптомов BPH на количество, приблизительно составляющее 35,7%.

Пример 7

[0158] Пациентам с BPH интрапростатическую инъекцию либо a) SEQ ID NO. 66 (Ile-Asp-Gln-Gln-Val-Leu-Ser-Arg-Ile-Lys-Leu-Glu-Ile-Lys-Arg-Cys-Leu) в фосфатно-солевом буферном растворе с pH 7,2 («PBS»), либо b) только PBS при двойных слепых условиях вводил уролог в учреждении под ультразвуковым контролем. Впоследствии некоторым пациентам (как плацебо (только PBS), так и тем, которых лечили с помощью SEQ ID NO. 66) вводили интрапростатическую инъекцию SEQ ID NO. 66, 2,5 мг. Пациенты наблюдались в течение от 1 до 6 лет с регулярными физическими осмотрами, лабораторными исследованиями и оценкой симптомов. Симптоматическую оценку осуществляли с помощью Международной шкалы оценки простатических симптомов (IPSS). Отличие от исходного показателя IPSS сравнивали у всех пациентов с плацебо и SEQ ID NO. 66, которые впоследствии получали SEQ ID NO. 66, с отличием от исходного показателя IPSS у пациентов, которые получали только PBS. Неожиданно, в дополнение к большему улучшению у всех пациентов, которых лечили с помощью плацебо и SEQ ID NO. 66, которых впоследствии лечили с помощью SEQ ID NO. 66, также наблюдали неожиданное снижение частоты ухудшения и прогрессирования симптомов у всех пациентов, которых впоследствии лечили с помощью SEQ ID NO. 66. Результаты показаны в таблице 7 ниже.

Таблица 7

Лечение	Количество пациентов	Процентная доля ухудшения IPSS
Пациенты PBS и SEQ ID NO: 66, которых впоследствии лечили с помощью SEQ ID NO. 66	326	11,7%*
Контроль	214	21%

* p < ,0001

[0159] Основываясь на результатах этих исследований, введение NTP-пептидов по настоящему изобретению является пригодным в лечении популяции пациентов, в том числе популяции пациентов, отличных от только тех, которые страдают BPH, и является пригодным в уменьшении тяжести или предупреждении ухудшения или прогрессирования симптомов BPH. По сравнению с контролями, композиции и способы способны обеспечить снижение ухудшения или прогрессирования симптомов BPH на количество, приблизительно составляющее 44,3%.

Пример 8

[0160] Пациентам с BPH интрапростатическую инъекцию либо a) SEQ ID NO. 66 в фосфатно-солевом буферном растворе с pH 7,2 («PBS»), либо b) только PBS при двойных слепых условиях вводил уролог в учреждении под ультразвуковым контролем. Пациенты наблюдались в течение от 1 до 6 лет с физическими осмотрами, лабораторными исследованиями и оценкой симптомов. Симптоматическую оценку осуществляли с помощью Международной шкалы оценки простатических симптомов (IPSS). Отличие от исходного показателя IPSS сравнивали у пациентов, которые получали SEQ ID NO. 66, с результатами у пациентов, которые получали только PBS. Неожиданно, в дополнение к большему улучшению у пациентов, которых лечили с помощью SEQ ID NO. 66, также наблюдалось неожиданное снижение частоты ухудшения или отсутствия улучшения в отношении симптомов у пациентов, которых лечили с помощью SEQ ID NO. 66. Результаты можно найти в таблице 8 ниже.

Таблица 8

Лечение	Количество пациентов	Процентная доля ухудшения IPSS или отсутствия улучшения IPSS
SEQ ID NO: 66	290	36,4%*
Контроль	214	50%

* p < ,003

[0161] Основываясь на результатах этих исследований, введение NTP-пептидов по настоящему изобретению является пригодным в лечении популяции пациентов, в том числе популяции пациентов, отличных от только тех, которые страдают BPH, и является пригодным в уменьшении тяжести или предупреждении ухудшения или прогрессирования симптомов BPH. По сравнению с контролями, композиции и способы способны обеспечить снижение ухудшения или отсутствия улучшения в отношении симптомов BPH на количество, приблизительно составляющее 27%.

ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

<110> НИМОКС КОРПОРЕЙШН

<120> СПОСОБ УМЕНЬШЕНИЯ ТЯЖЕСТИ ИЛИ ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ УХУДШЕНИЯ ИЛИ ПРОГРЕССИРОВАНИЯ СИМПТОМОВ BPH

<130> 063307-0447520

<140> 15/258786

<141> 2016-09-07

<160> 118

<170> PatentIn версия 3.5
<210> 1
<211> 15
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 1
Met Glu Phe Ser Leu Leu Leu Pro Arg Leu Glu Cys Asn Gly Ala
1 5 10 15
<210> 2
<211> 15
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 2
Gly Ala Ile Ser Ala His Arg Asn Leu Arg Leu Pro Gly Ser Ser
1 5 10 15
<210> 3
<211> 17
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 3
Asp Ser Pro Ala Ser Ala Ser Pro Val Ala Gly Ile Thr Gly Met Cys
1 5 10 15
Thr
<210> 4
<211> 16
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 4
Met Cys Thr His Ala Arg Leu Ile Leu Tyr Phe Phe Leu Val Glu Met
1 5 10 15
<210> 5
<211> 11
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический

пептид
<400> 5
Tyr Phe Phe Leu Val Glu Met Glu Phe Leu His
1 5 10
<210> 6
<211> 11
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 6
Val Gly Gln Ala Gly Leu Glu Leu Pro Thr Ser
1 5 10
<210> 7
<211> 17
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 7
Asp Asp Pro Ser Val Ser Ala Ser Gln Ser Ala Arg Tyr Arg Thr Gly
1 5 10 15
His
<210> 8
<211> 14
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 8
Thr Gly His His Ala Arg Leu Cys Leu Ala Asn Phe Cys Gly
1 5 10
<210> 9
<211> 17
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 9
Ala Asn Phe Cys Gly Arg Asn Arg Val Ser Leu Met Cys Pro Ser Trp
1 5 10 15
Ser
<210> 10
<211> 19

<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 10
Pro Glu Leu Lys Gln Ser Thr Cys Leu Ser Leu Pro Lys Cys Trp Asp
1 5 10 15
Tyr Arg Arg
<210> 11
<211> 17
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 11
Leu Lys Gln Ser Thr Cys Leu Ser Leu Pro Lys Cys Trp Asp Tyr Arg
1 5 10 15
Arg
<210> 12
<211> 14
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности синтетический пептид
<400> 12
Ser Thr Cys Leu Ser Leu Pro Lys Cys Trp Asp Tyr Arg Arg
1 5 10
<210> 13
<211> 11
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 13
Leu Ser Leu Pro Lys Cys Trp Asp Tyr Arg Arg
1 5 10
<210> 14
<211> 13
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 14

Lys Cys Trp Asp Tyr Arg Arg Ala Ala Val Pro Gly Leu
1 5 10

<210> 15
<211> 19
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 15
Lys Cys Trp Asp Tyr Arg Arg Ala Ala Val Pro Gly Leu Phe Ile Leu
1 5 10 15
Phe Phe Leu

<210> 16
<211> 24
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 16
Lys Cys Trp Asp Tyr Arg Arg Ala Ala Val Pro Gly Leu Phe Ile Leu
1 5 10 15
Phe Phe Leu Arg His Arg Cys Pro
20

<210> 17
<211> 38
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 17
Lys Cys Trp Asp Tyr Arg Arg Ala Ala Val Pro Gly Leu Phe Ile Leu
1 5 10 15
Phe Phe Leu Arg His Arg Cys Pro Thr Leu Thr Gln Asp Glu Val Gln
20 25 30
Trp Cys Asp His Ser Ser
35

<210> 18
<211> 5
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 18
Trp Asp Tyr Arg Arg

1 5

<210> 19

<211> 13

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 19

Phe Ile Leu Phe Phe Leu Arg His Arg Cys Pro Thr Leu

1 5 10

<210> 20

<211> 25

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 20

Phe Ile Leu Phe Phe Leu Arg His Arg Cys Pro Thr Leu Thr Gln Asp

1 5 10 15

Glu Val Gln Trp Cys Asp His Ser Ser

20 25

<210> 21

<211> 29

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 21

His Arg Cys Pro Thr Leu Thr Gln Asp Glu Val Gln Trp Cys Asp His

1 5 10 15

Ser Ser Leu Gln Pro Ser Thr Pro Glu Ile Lys His Pro

20 25

<210> 22

<211> 14

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 22

Pro Ala Ser Ala Ser Gln Val Ala Gly Thr Lys Asp Met His

1 5 10

<210> 23

<211> 18

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 23
Asp Met His His Tyr Thr Trp Leu Ile Phe Ile Phe Ile Phe Asn Phe
1 5 10 15
Leu Arg
<210> 24
<211> 19
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 24
His Tyr Thr Trp Leu Ile Phe Ile Phe Ile Phe Asn Phe Leu Arg Gln
1 5 10 15
Ser Leu Asn
<210> 25
<211> 45
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 25
Ser Val Thr Gln Ala Gly Val Gln Trp Arg Asn Leu Gly Ser Leu Gln
1 5 10 15
Pro Leu Pro Pro Gly Phe Lys Leu Phe Ser Cys Pro Ser Leu Leu Ser
20 25 30
Ser Trp Asp Tyr Arg Arg Pro Pro Arg Leu Ala Asn Phe
35 40 45
<210> 26
<211> 19
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 26
Pro Gly Phe Lys Leu Phe Ser Cys Pro Ser Leu Leu Ser Ser Trp Asp
1 5 10 15
Tyr Arg Arg
<210> 27
<211> 24
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 27
Phe Lys Leu Phe Ser Cys Pro Ser Leu Leu Ser Ser Trp Asp Tyr Arg
1 5 10 15
Arg Pro Pro Arg Leu Ala Asn Phe
20
<210> 28
<211> 14
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 28
Phe Ser Cys Pro Ser Leu Leu Ser Ser Trp Asp Tyr Arg Arg
1 5 10
<210> 29
<211> 10
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 29
Ser Leu Leu Ser Ser Trp Asp Tyr Arg Arg
1 5 10
<210> 30
<211> 5
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 30
Ser Ser Trp Asp Tyr
1 5
<210> 31
<211> 7
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 31
Ser Ser Trp Asp Tyr Arg Arg
1 5

<210> 32
<211> 25
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 32
Ser Ser Trp Asp Tyr Arg Arg Pro Pro Arg Leu Ala Asn Phe Phe Val
1 5 10 15
Phe Leu Val Glu Met Gly Phe Thr Met
20 25
<210> 33
<211> 11
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 33
Phe Val Phe Leu Val Glu Met Gly Phe Thr Met
1 5 10
<210> 34
<211> 23
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 34
Met Gly Phe Thr Met Phe Ala Arg Leu Ile Leu Ile Ser Gly Pro Cys
1 5 10 15
Asp Leu Pro Ala Ser Ala Ser
20
<210> 35
<211> 5
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 35
Ile Ser Gly Pro Cys
1 5
<210> 36
<211> 17
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 36

Asp Leu Pro Ala Ser Ala Ser Gln Ser Ala Gly Ile Thr Gly Val Ser
1 5 10 15
His

<210> 37

<211> 17

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 37

Gly Val Ser His His Ala Arg Leu Ile Phe Asn Phe Cys Leu Phe Glu
1 5 10 15
Met

<210> 38

<211> 10

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 38

Asn Phe Cys Leu Phe Glu Met Glu Ser His
1 5 10

<210> 39

<211> 46

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 39

Ser Val Thr Gln Ala Gly Val Gln Trp Pro Asn Leu Gly Ser Leu Gln
1 5 10 15
Pro Leu Pro Pro Gly Leu Lys Arg Phe Ser Cys Leu Ser Leu Pro Ser
20 25 30
Ser Trp Asp Tyr Gly His Leu Pro Pro His Pro Ala Asn Phe
35 40 45

<210> 40

<211> 19

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 40
Pro Pro Gly Leu Lys Arg Phe Ser Cys Leu Ser Leu Pro Ser Ser Trp
1 5 10 15
Asp Tyr Gly
<210> 41
<211> 14
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 41
Phe Ser Cys Leu Ser Leu Pro Ser Ser Trp Asp Tyr Gly His
1 5 10
<210> 42
<211> 9
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 42
Leu Ser Leu Pro Ser Ser Trp Asp Tyr
1 5
<210> 43
<211> 37
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 43
Ser Ser Trp Asp Tyr Gly His Leu Pro Pro His Pro Ala Asn Phe Cys
1 5 10 15
Ile Phe Ile Arg Gly Gly Val Ser Pro Tyr Leu Ser Gly Trp Ser Gln
20 25 30
Thr Pro Asp Leu Arg
35
<210> 44
<211> 20
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 44
Pro Gly Phe Phe Lys Leu Phe Ser Cys Pro Ser Leu Leu Ser Ser Trp
1 5 10 15

Asp Tyr Arg Arg
20

<210> 45
<211> 19
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 45
Pro Glu Leu Lys Gln Ser Thr Cys Leu Ser Leu Pro Lys Cys Trp Asp
1 5 10 15
Tyr Arg Arg
<210> 46
<211> 19
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 46
Pro Pro Gly Leu Lys Arg Phe Ser Cys Leu Ser Leu Pro Ser Ser Trp
1 5 10 15
Asp Tyr Gly
<210> 47
<211> 14
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 47
Phe Ser Cys Leu Ser Leu Pro Ser Ser Trp Asp Tyr Gly His
1 5 10
<210> 48
<211> 14
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 48
Ser Thr Cys Leu Ser Leu Pro Lys Cys Trp Asp Tyr Arg Arg
1 5 10
<210> 49
<211> 14
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 49
Phe Ser Cys Pro Ser Leu Leu Ser Ser Trp Asp Tyr Arg Arg
1 5 10
<210> 50
<211> 9
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 50
Leu Ser Leu Pro Ser Ser Trp Asp Tyr
1 5
<210> 51
<211> 11
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 51
Leu Ser Leu Pro Lys Cys Trp Asp Tyr Arg Arg
1 5 10
<210> 52
<211> 10
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 52
Ser Leu Leu Ser Ser Trp Asp Tyr Arg Arg
1 5 10
<210> 53
<211> 9
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 53
Leu Pro Ser Ser Trp Asp Tyr Arg Arg
1 5
<210> 54
<211> 7

<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 54
Ser Ser Trp Asp Tyr Arg Arg
1 5
<210> 55
<211> 5
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 55
Ser Ser Trp Asp Tyr
1 5
<210> 56
<211> 13
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 56
Ser Ser Trp Asp Tyr Arg Arg Phe Ile Leu Phe Phe Leu
1 5 10
<210> 57
<211> 11
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 57
Trp Asp Tyr Arg Arg Phe Ile Phe Asn Phe Leu
1 5 10
<210> 58
<211> 6
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 58
Phe Asn Phe Cys Leu Phe
1 5

<210> 59
<211> 6
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 59
Phe Ile Phe Asn Phe Leu
1 5
<210> 60
<211> 13
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 60
Pro Ala Ser Ala Ser Pro Val Ala Gly Ile Thr Gly Met
1 5 10
<210> 61
<211> 13
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 61
Pro Ala Ser Ala Ser Gln Val Ala Gly Thr Lys Asp Met
1 5 10
<210> 62
<211> 13
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 62
Pro Ala Ser Ala Ser Gln Ser Ala Gly Ile Thr Gly Val
1 5 10
<210> 63
<211> 9
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 63

Pro Ala Ser Ala Ser Pro Val Ala Gly
1 5
<210> 64
<211> 6
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 64
Phe Phe Leu Val Glu Met
1 5
<210> 65
<211> 9
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 65
Ser Val Thr Gln Ala Gly Val Gln Trp
1 5
<210> 66
<211> 17
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 66
Ile Asp Gln Gln Val Leu Ser Arg Ile Lys Leu Glu Ile Lys Arg Cys
1 5 10 15
Leu
<210> 67
<211> 9
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 67
Leu Ser Arg Ile Lys Leu Glu Ile Lys
1 5
<210> 68
<211> 22
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 68
Gly Asp His Gly Arg Pro Asn Leu Ser Arg Leu Lys Leu Ala Ile Lys
1 5 10 15
Tyr Glu Val Lys Lys Met
20
<210> 69
<211> 16
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 69
Gln Gln Ser Ile Ala Val Lys Phe Leu Ala Val Phe Gly Val Ser Ile
1 5 10 15
<210> 70
<211> 21
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 70
Gly Leu Leu Phe Pro Val Phe Ser Val Cys Tyr Leu Ile Ala Pro Lys
1 5 10 15
Ser Pro Leu Gly Leu
20
<210> 71
<211> 15
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 71
Met Met Val Cys Trp Asn Arg Phe Gly Lys Trp Val Tyr Phe Ile
1 5 10 15
<210> 72
<211> 15
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 72
Ser Ala Ile Phe Asn Phe Gly Pro Arg Tyr Leu Tyr His Gly Val

1 5 10 15

<210> 73
<211> 15
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 73
Pro Phe Tyr Phe Leu Ile Leu Val Arg Ile Ile Ser Phe Leu Ile
1 5 10 15

<210> 74
<211> 15
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 74
Gly Asp Met Glu Asp Val Leu Leu Asn Cys Thr Leu Leu Lys Arg
1 5 10 15

<210> 75
<211> 15
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 75
Ser Ser Arg Phe Arg Phe Trp Gly Ala Leu Val Cys Ser Met Asp
1 5 10 15

<210> 76
<211> 15
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 76
Ser Cys Arg Phe Ser Arg Val Ala Val Thr Tyr Arg Phe Ile Thr
1 5 10 15

<210> 77
<211> 15
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 77
Leu Leu Asn Ile Pro Ser Pro Ala Val Trp Met Ala Arg Asn Thr
1 5 10 15
<210> 78
<211> 15
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 78
Met Ala Gln Ser Arg Leu Thr Ala Thr Ser Ala Ser Arg Val Gln
1 5 10 15
<210> 79
<211> 15
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 79
Ala Ile Leu Leu Ser Gln Pro Pro Lys Gln Leu Gly Leu Arg Ala
1 5 10 15
<210> 80
<211> 15
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 80
Pro Ala Asn Thr Pro Leu Ile Phe Val Phe Ser Leu Glu Ala Gly
1 5 10 15
<210> 81
<211> 15
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 81
Phe His His Ile Cys Gln Ala Gly Leu Lys Leu Leu Thr Ser Gly
1 5 10 15
<210> 82
<211> 15
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 82
Asp Pro Pro Ala Ser Ala Phe Gln Ser Ala Gly Ile Thr Gly Val
1 5 10 15
<210> 83
<211> 15
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 83
Ser His Leu Thr Gln Pro Ala Asn Leu Asp Lys Lys Ile Cys Ser
1 5 10 15
<210> 84
<211> 22
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 84
Asn Gly Gly Ser Cys Tyr Val Ala Gln Ala Gly Leu Lys Leu Leu Ala
1 5 10 15
Ser Cys Asn Pro Ser Lys
20
<210> 85
<211> 15
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 85
Met Trp Thr Leu Lys Ser Ser Leu Val Leu Leu Leu Cys Leu Thr
1 5 10 15
<210> 86
<211> 15
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 86
Cys Ser Tyr Ala Phe Met Phe Ser Ser Leu Arg Gln Lys Thr Ser
1 5 10 15
<210> 87

<211> 15
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 87
Glu Pro Gln Gly Lys Val Pro Cys Gly Glu His Phe Arg Ile Arg
1 5 10 15
<210> 88
<211> 15
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 88
Gln Asn Leu Pro Glu His Thr Gln Gly Trp Leu Gly Ser Lys Trp
1 5 10 15
<210> 89
<211> 15
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 89
Leu Trp Leu Leu Phe Ala Val Val Pro Phe Val Ile Leu Lys Cys
1 5 10 15
<210> 90
<211> 15
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 90
Gln Arg Asp Ser Glu Lys Asn Lys Val Arg Met Ala Pro Phe Phe
1 5 10 15
<210> 91
<211> 16
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 91
Leu His His Ile Asp Ser Ile Ser Gly Val Ser Gly Lys Arg Met Phe

1 5 10 15

<210> 92
<211> 15
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 92
Glu Ala Tyr Tyr Thr Met Leu His Leu Pro Thr Thr Asn Arg Pro
1 5 10 15

<210> 93
<211> 15
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 93
Lys Ile Ala His Cys Ile Leu Phe Asn Gln Pro His Ser Pro Arg
1 5 10 15

<210> 94
<211> 15
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 94
Ser Asn Ser His Ser His Pro Asn Pro Leu Lys Leu His Arg Arg
1 5 10 15

<210> 95
<211> 15
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 95
Ser His Ser His Asn Arg Pro Arg Ala Tyr Ile Leu Ile Thr Ile
1 5 10 15

<210> 96
<211> 15
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 96
Leu Pro Ser Lys Leu Lys Leu Arg Thr His Ser Gln Ser His His
1 5 10 15
<210> 97
<211> 23
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 97
Asn Pro Leu Ser Arg Thr Ser Asn Ser Thr Pro Thr Asn Ser Phe Leu
1 5 10 15
Met Thr Ser Ser Lys Pro Arg
20
<210> 98
<211> 15
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 98
Ser Ser Ser Leu Gly Leu Pro Lys Cys Trp Asp Tyr Arg His Glu
1 5 10 15
<210> 99
<211> 15
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 99
Leu Leu Ser Leu Ala Leu Met Ile Asn Phe Arg Val Met Ala Cys
1 5 10 15
<210> 100
<211> 15
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 100
Thr Phe Lys Gln His Ile Glu Leu Arg Gln Lys Ile Ser Ile Val
1 5 10 15
<210> 101
<211> 15
<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 101
Pro Arg Lys Leu Cys Cys Met Gly Pro Val Cys Pro Val Lys Ile
1 5 10 15
<210> 102
<211> 15
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 102
Ala Leu Leu Thr Ile Asn Gly His Cys Thr Trp Leu Pro Ala Ser
1 5 10 15
<210> 103
<211> 15
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 103
Met Phe Val Phe Cys Leu Ile Leu Asn Arg Glu Lys Ile Lys Gly
1 5 10 15
<210> 104
<211> 15
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 104
Gly Asn Ser Ser Phe Phe Leu Leu Ser Phe Phe Phe Ser Phe Gln
1 5 10 15
<210> 105
<211> 15
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 105
Asn Cys Cys Gln Cys Phe Gln Cys Arg Thr Thr Glu Gly Tyr Ala
1 5 10 15
<210> 106

<211> 23
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 106
Val Glu Cys Phe Tyr Cys Leu Val Asp Lys Ala Ala Phe Glu Cys Trp
1 5 10 15
Trp Phe Tyr Ser Phe Asp Thr
20
<210> 107
<211> 15
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 107
Met Glu Pro His Thr Val Ala Gln Ala Gly Val Pro Gln His Asp
1 5 10 15
<210> 108
<211> 15
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 108
Leu Gly Ser Leu Gln Ser Leu Leu Pro Arg Phe Lys Arg Phe Ser
1 5 10 15
<210> 109
<211> 15
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 109
Cys Leu Ile Leu Pro Lys Ile Trp Asp Tyr Arg Asn Met Asn Thr
1 5 10 15
<210> 110
<211> 16
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 110
Ala Leu Ile Lys Arg Asn Arg Tyr Thr Pro Glu Thr Gly Arg Lys Ser
1 5 10 15
<210> 111
<211> 9
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 111
Ile Asp Gln Gln Val Leu Ser Arg Ile
1 5
<210> 112
<211> 8
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 112
Lys Leu Glu Ile Lys Arg Cys Leu
1 5
<210> 113
<211> 6
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 113
Val Leu Ser Arg Ile Lys
1 5
<210> 114
<211> 7
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 114
Arg Ile Lys Leu Glu Ile Lys
1 5
<210> 115
<211> 13
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 115
Val Leu Ser Arg Ile Lys Leu Glu Ile Lys Arg Cys Leu
1 5 10
<210> 116
<211> 13
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 116
Ile Asp Gln Gln Val Leu Ser Arg Ile Lys Leu Glu Ile
1 5 10
<210> 117
<211> 5
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид
<400> 117
Glu Thr Glu Ser His
1 5
<210> 118
<211> 6
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетическая метка 6xHis
<400> 118
His His His His His His
1 5

(57) Формула изобретения

1. Способ снижения или предупреждения ухудшения или прогрессирования симптомов доброкачественной гиперплазии предстательной железы (BPH) у млекопитающего, предусматривающий введение млекопитающему терапевтически эффективного количества пептида, содержащего аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 66 (Ile–Asp–Gln–Gln–Val–Leu–Ser–Arg–Ile–Lys–Leu–Glu–Ile–Lys–Arg–Cys–Leu), где способ снижает ухудшение или прогрессирование симптомов BPH, как измерено согласно Международной шкале оценки простатических симптомов (IPSS), на более чем 10% по сравнению с введением контроля, представляющего собой плацебо.

2. Способ по п. 1, где пептид вводится с носителем.

3. Способ по п. 1, где пептид вводят более одного раза.

4. Способ по п. 1, где пептид имеет одну и вплоть до 25 дополнительных аминокислот,

фланкирующих либо N–конец, либо C–конец SEQ ID NO: 66.

5. Способ по п. 1, где пептид вводят способом, выбранным из группы, состоящей из перорального, подкожного, внутрикожного, интраназального, внутривенного, интрапростатического, внутримышечного, интратекального, интраназального, внутриопухолевого, местного и трансдермального введения.

6. Способ по п. 1, где способ снижает ухудшение или прогрессирование симптомов BPH, как измерено согласно Международной шкале оценки простатических симптомов (IPSS), на значение, составляющее от приблизительно 20% до приблизительно 65%, по сравнению с введением контроля, представляющего собой плацебо.

7. Способ по п. 6, где способ снижает ухудшение или прогрессирование симптомов BPH, как измерено согласно Международной шкале оценки простатических симптомов (IPSS), на значение, составляющее от приблизительно 30% до приблизительно 60%, по сравнению с введением контроля, представляющего собой плацебо.

8. Способ по п. 6, где способ обеспечивает снижение процентной доли млекопитающих, характеризующихся ухудшением или прогрессированием симптомов BPH, как измерено согласно Международной шкале оценки простатических симптомов (IPSS), на значение, составляющее от приблизительно 35% до приблизительно 60%, по сравнению с введением контроля, представляющего собой плацебо.

9. Способ снижения или предупреждения ухудшения или отсутствия улучшения в отношении симптомов доброкачественной гиперплазии предстательной железы (BPH) у млекопитающего, предусматривающий введение млекопитающему терапевтически эффективного количества пептида, содержащего аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 66
(Ile–Asp–Gln–Gln–Val–Leu–Ser–Arg–Ile–Lys–Leu–Glu–Ile–Lys–Arg–Cys–Leu), где способ снижает отсутствие улучшения симптомов BPH, как измерено согласно Международной шкале оценки простатических симптомов (IPSS), на более чем 10% по сравнению с введением контроля, представляющего собой плацебо.

10. Способ по п. 9, где пептид вводится с носителем.

11. Способ по п. 9, где пептид вводят более одного раза.

12. Способ по п. 9, где пептид имеет одну и вплоть до 25 дополнительных аминокислот, фланкирующих либо N–конец, либо C–конец SEQ ID NO: 66.

13. Способ по п. 9, где пептид вводят способом, выбранным из группы, состоящей из перорального, подкожного, внутрикожного, интраназального, внутривенного, интрапростатического, внутримышечного, интратекального, интраназального, внутриопухолевого, местного и трансдермального введения.

14. Способ по п. 9, где способ снижает отсутствие улучшения симптомов BPH, как измерено согласно Международной шкале оценки простатических симптомов (IPSS), на значение, составляющее от приблизительно 10% до приблизительно 80%, по сравнению с введением контроля, представляющего собой плацебо.

15. Способ по п. 14, где способ снижает отсутствие улучшения симптомов BPH, как измерено согласно Международной шкале оценки простатических симптомов (IPSS), на значение, составляющее от приблизительно 20% до приблизительно 75%, по сравнению с введением контроля, представляющего собой плацебо.

16. Способ по п. 15, где способ снижает отсутствие улучшения симптомов BPH, как измерено согласно Международной шкале оценки простатических симптомов (IPSS), на значение, составляющее от приблизительно 25% до приблизительно 70%, по сравнению с введением контроля, представляющего собой плацебо.