



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 102822194 B

(45)授权公告日 2016.10.26

(21)申请号 201080063196.9

(22)申请日 2010.12.07

(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 102822194 A

(43)申请公布日 2012.12.12

(30)优先权数据
61/267316 2009.12.07 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2012.08.06

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2010/059294 2010.12.07

(87)PCT国际申请的公布数据
W02011/071927 EN 2011.06.16

(73)专利权人 硬木药品公司
地址 美国麻萨诸塞州

(72)发明人 M.G.卡里 D.P.齐默 A.弗雷岑
M.克斯勒 B.M.卡利

(74)专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司 72001
代理人 熊玉兰 万雪松

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

(56)对比文件
US 2009/0062207 A1, 2009.03.05,
CN 1795007 A, 2006.06.28,
US 2009/0062207 A1, 2009.03.05,
审查员 郭婷婷

权利要求书2页 说明书32页
序列表46页 附图1页

(54)发明名称

用于胃肠病症的治疗

(57)摘要

本文描述了用于治疗上胃肠病症和病状(例如,消化不良、胃轻瘫、术后胃肠梗阻、功能性食管病症、功能性胃十二指肠病症、胃食管返流疾病(GERD)或十二指肠或胃溃疡)以及本文中描述的其它病状和病症的肽、组合物和相关方法。

1. 肽或其可药用的盐,其中所述肽由以下序列组成:

D-Asp Asp Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr(SEQ ID NO:47);

D-Ala Asp Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr(SEQ ID NO:48);

D-Asn Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr(SEQ ID NO:49);

D-Ala Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr(SEQ ID NO:50);

Asp Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys D-Tyr(SEQ ID NO:51);

Asn Asp Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr(SEQ ID NO:53);

Asp Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr(SEQ ID NO:54);

Asp Asp Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr(SEQ ID NO:55);

Gly Asp Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr(SEQ ID NO:56);

Pro Asp Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr(SEQ ID NO:57);

Ala Asp Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr(SEQ ID NO:58);

Asn Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr(SEQ ID NO:59);

Ala Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr(SEQ ID NO:60);

β -Ala Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr(SEQ ID NO:61);

Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr(SEQ ID NO:62);

Asp Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr(SEQ ID NO:63);

Pro Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr(SEQ ID NO:64);

Gly Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr(SEQ ID NO:65);

Asp Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys(SEQ ID NO:66);或

Glu Glu Glu Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr(SEQ ID NO:67)。

2. 根据权利要求1所述的肽或其可药用的盐,其中所述肽或其可药用的盐是分离的或纯化的。

3. 一种药物组合物,其包含可药用的载体、根据权利要求1所述的肽和进一步选自(i)选自 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Mn^{2+} 、 K^{+} 、 Na^{+} 或 Al^{3+} 的阳离子或(ii)天然氨基酸的一种或多种试剂,其中所述 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Mn^{2+} 、 K^{+} 、 Na^{+} 或 Al^{3+} 提供为醋酸镁、氯化镁、磷酸镁、硫酸镁、醋酸钙、氯化钙、磷酸钙、硫酸钙、醋酸锌、氯化锌、磷酸锌、硫酸锌、醋酸锰、氯化锰、磷酸锰、硫酸锰、醋酸钾、氯化钾、磷酸钾、硫酸钾、醋酸钠、氯化钠、磷酸钠、硫酸钠、醋酸铝、氯化铝、磷酸铝或硫酸铝;

其中所述天然氨基酸为组氨酸、苯丙氨酸、丙氨酸、谷氨酸、天冬氨酸、谷氨酰胺、亮氨酸、甲硫氨酸、天冬酰胺、酪氨酸、苏氨酸、异亮氨酸、色氨酸或缬氨酸。

4. 根据权利要求3所述的药物组合物,其进一步包含可药用的抗氧化剂、粘合剂、添加剂或填充剂,所述可药用的粘合剂或添加剂选自聚乙烯醇、聚乙烯吡咯烷酮(聚维酮)、淀粉、麦芽糖糊精或纤维素醚。

5. 根据权利要求4所述的药物组合物,其中所述可药用的粘合剂或添加剂为纤维素醚,所述纤维素醚选自:甲基纤维素、乙基纤维素、羧甲基纤维素、羟乙基纤维素、羟乙基甲基纤维素、羟丙基纤维素和羟丙基甲基纤维素。

6. 根据权利要求4所述的药物组合物,其中所述可药用的填充剂为纤维素、异麦芽糖醇、甘露醇、乳糖或磷酸氢钙。

7. 根据权利要求6所述的药物组合物,其中所述可药用的填充剂是选自微细纤维素和微晶纤维素的纤维素。

8. 根据权利要求3所述的药物组合物,其进一步包含其它治疗剂,所述其它治疗剂选自镇痛剂、抗抑郁剂、促胃肠动力剂、止呕剂、抗生素、质子泵抑制剂、酸阻滞剂、PDE5抑制剂、酸泵拮抗剂、GABA-B激动剂、胆汁酸螯合剂或粘膜保护剂中的一种或多种。

9. 根据权利要求3-7中任一项所述的药物组合物在制备用于治疗胃肠病症的药物中的应用。

10. 根据权利要求9所述的应用,其中所述胃肠病症为胃轻瘫、术后胃肠梗阻、功能性食管病症、功能性胃十二指肠病症、胃食管返流疾病、乳糜泻、粘膜炎或十二指肠或胃溃疡。

11. 根据权利要求10所述的应用,其中所述胃肠病症为胃轻瘫,所述胃轻瘫选自特发性、糖尿病性或术后胃轻瘫。

12. 根据权利要求10所述的应用,其中所述胃肠病症为功能性食管病症,所述功能性食管病症选自功能性胃灼热、推测食管源性功能性胸痛、功能性吞咽困难或癔球症。

13. 根据权利要求10所述的应用,其中所述胃肠病症为功能性胃十二指肠病症,所述功能性胃十二指肠病症选自功能性消化不良、嗝气症、恶心或呕吐病症或反刍综合征。

用于胃肠病症的治疗

[0001] 优先权声明

[0002] 本申请要求2009年12月7日提交的美国临时申请61/267,316的优先权。上述申请的全部内容以引用方式并入本文。

发明领域

[0003] 本发明涉及用于治疗上胃肠病症的肽、组合物和方法。

[0004] 序列表

[0005] 本申请全部以引用方式并入2010年11月30日创建并且与此同时电子提交的标题为“IW076_ST25.txt”(29.5千字节)的序列表。

[0006] 发明背景

[0007] 功能性消化不良(FD)和胃轻瘫(GP)是上胃肠(GI)病症,其共同特征为包括发胀、上腹部疼痛和/或灼热、恶心、呕吐和早饱的症状。由于现有治疗功效缺乏以及安全状况差,用于FD和GP患者的治疗方案是非常有限的。

[0008] 消化不良定义为在没有任何可能解释所述症状的任何器官、全身性或代谢疾病的情况下,存在被认为是来源于胃十二指肠区域的一种或多种消化不良症状(上腹痛、灼热、餐后饱胀不适和早饱)(参见Drossman, D.A., 编著, Rome III: The Functional Gastrointestinal Disorders, 第三版, McLean, VA: Degnon Associates, Inc., 2006)。FD是指在标准医学研究(包括上内窥镜检查)之后没有结构性解释的消化不良。FD中可能涉及的病理生理学机理包括(除了其它的)胃排空延迟、胃容纳障碍、胃扩张过敏、十二指肠对脂类或酸的敏感性改变以及十二指肠空肠运动异常(abnormal duodenojejunal motility)。在一些FD和GP患者中还观察到十二指肠酸接触延长,并且该接触可能减缓胃排空并引起FD或类GP症状。消化不良是导致胃肠病学家观察到的约30%病例的常见综合征,FD代表所有这些消化不良病例的约60%。

[0009] GP是指在没有机械性梗阻的情况下特征为胃排空延迟的胃运动异常。GP可能是特发性的或可能由多种病状引起,包括I型或II型糖尿病、病毒感染、硬皮病、神经系统病症如帕金森氏病(Parkinson's disease)、代谢失调如甲状腺功能低下、术后肠梗阻以及某些药物,包括麻醉性止痛药、三环抗抑郁药和钙离子通道阻滞剂。癌症的治疗,包括化学治疗药物和对胸部和腹部的放射也可能引起胃轻瘫(暂时或永久性的)。最常见的症状是恶心、呕吐、发胀、上腹痛、体重减轻和早饱。胃轻瘫是可导致频繁的住院治疗、生活质量降低和劳动能力丧失增加和(在严重的情况下)死亡率升高的慢性病状。严重、有症状的GP在患有糖尿病的个体中是常见的,仅在美国就侵害100万总患者群的5-10%糖尿病患者。

[0010] 用于FD和GP以及其它上胃肠病症的常规治疗方案对于许多患者来说功效是有限的。因此,仍需要治疗FD、GP和其它胃肠病症的新化合物和方法。

[0011] 发明概述

[0012] 本发明特征为用于治疗上胃肠病症和病状(例如消化不良、胃轻瘫(GP)、术后胃肠梗阻、功能性食管病症、功能性胃十二指肠病症、胃食管返流疾病(GERD)或十二指肠或胃溃

疡)以及本文中描述的其它病状和病症的肽、组合物和相关方法。所述组合物的特征为在上GI中活化鸟苷酸环化酶C(GC-C)但是在下GI中活化GC-C弱得多或根本不活化GC-C的肽。不受任何特定理论约束,本发明的肽是有用的,因为它们在足以减少上GI症状的剂量水平和给药频率下可以(全部或部分通过增加上GI运动性和/或减少上腹痛/不适和发胀)减轻上GI病症的症状而不在下GI道中引起显著的影响(例如大便习惯的剂量限制改变,包括腹泻)。

[0013] 本发明的一个方面提供包含以下氨基酸序列的肽:

[0014] Xaa₁Xaa₂Xaa₃Xaa₄Cys₅Xaa₆Xaa₇Xaa₈Cys₉Asn₁₀Pro₁₁Ala₁₂Cys₁₃Xaa₁₄Gly₁₅Xaa₁₆Xaa₁₇(SEQ ID NO:1),或其可药用的盐;其中

[0015] Xaa₁为Asn、D-Asn、Gln、D-Gln、Pro、D-Pro、Ala、β-Ala、D-Ala、Val、D-Val、Gly、Thr、D-Thr、Asp、D-Asp、β-羧基化Asp、Glu、D-Glu、γ-羧基化Glu、α-氨基辛二酸(Asu)、α-氨基己二酸(Aad)或α-氨基庚二酸(Apm);

[0016] Xaa₂为Asp、β-羧基化Asp、Glu、γ-羧基化Glu、Asu、Aad、Apm或不存在;

[0017] Xaa₃为Asp、β-羧基化Asp、Glu、γ-羧基化Glu、Asu、Aad、Apm或不存在;

[0018] Xaa₄为Cys或D-Cys;

[0019] Xaa₆为Asp或Glu;

[0020] Xaa₇为Tyr、Leu、Phe或Ile;

[0021] Xaa₈为Cys或D-Cys;

[0022] Xaa₁₄为Thr、Ala或Phe;

[0023] Xaa₁₆为Cys或D-Cys;以及

[0024] Xaa₁₇为Tyr、D-Tyr或不存在;

[0025] 其中:

[0026] Xaa₁可以在其氨基上被甲基、乙二酸、丙二酸、丁二酸、戊二酸、己二酸、庚二酸或辛二酸修饰;并且

[0027] 如果Xaa₂和Xaa₃都不存在,那么Xaa₁必须为β-羧基化Asp或γ-羧基化Glu,或Xaa₁必须为Asp、D-Asp、Glu、D-Glu、Asu、Aad或Apm,并且必须在其氨基上被乙二酸、丙二酸、丁二酸、戊二酸、己二酸、庚二酸或辛二酸修饰。

[0028] 本发明的第二方面提供包含本发明的肽的药物组合物。

[0029] 本发明的第三方面提供用于治疗胃肠病症的方法,所述方法包括施用根据本发明的药物组合物。

[0030] 本发明的一种或多种实施方案的详细内容在随附的说明书中阐述。

[0031] 附图简述

[0032] 图1示出本发明的示例性肽(包括肽1和肽17)在T84细胞cGMP试验中在pH 5和pH 8下的剂量响应。

[0033] 所述附图通过举例方式提供并且不旨在限制本发明的范围。

[0034] 发明详述

[0035] 鸟苷酸环化酶C(GC-C)是位于胃和肠中的上皮细胞顶端表面的跨膜受体。所述受体具有胞外配体结合结构域、单跨膜区域和C-末端鸟苷酰基环化酶结构域。当配体与GC-C的胞外结构域结合时,胞内催化结构域催化cGMP自GTP的产生。在体内,胞内cGMP的这种增

加引发导致氯化物和碳酸氢盐向肠腔分泌增加、鲁米那(luminal)pH升高、鲁米那钠吸收降低、液体分泌增加和肠运输加速的事件级联。此外,cGMP(自上皮向黏膜和管腔双向分泌)还显示抑制传入的C纤维放电(C fiber firing),表明观察到的GC-C激动剂对内脏疼痛的镇痛作用的可能机理。

[0036] 利那洛肽(Linaclotide)是一种口服施用的肽GC-C激动剂,并且目前在临床试验中用于治疗伴有便秘(IBS-c)和慢性便秘(CC)的肠易激综合征,它对下GI生理机能具有许多作用,这些作用包括:(1)减少内脏疼痛,(2)减少发胀和(3)提高GI运输,这可引起大便频率增加和大便稠度改善。口服施用的利那洛肽通过活化GC-C局部作用在鲁米那表面上;以治疗剂量水平口服施用之后未观察到全身性的可检测水平的利那洛肽。因此,来自利那洛肽的临床试验的结果以及用利那洛肽和相关肽进行的临床前研究表明GC-C肽激动剂可在治疗上使用。

[0037] 有一种可用于减轻上GI病症和症状(例如,功能性消化不良(FD)和胃轻瘫(GP))而不促进可能源于在GI道下部中的GC-C刺激的对大便习惯的显著影响将会是有用的。这种GC-C激动剂将降低下GI不良事件(包括大便习惯改变和腹泻)的可能性。本文中描述的GC-C肽激动剂在上GI道(例如胃和十二指肠)中活性较高,并且在下GI道中活性较低。此类激动剂将会通过以下作用有益于患有上GI病症(例如FD和GP)的患者:(1)通过cGMP产生和/或其它机理减轻内脏疼痛,(2)减轻发胀,(3)增加胃排空和/或上小肠运输(例如,十二指肠转运)和(4)通过促进碳酸氢盐分泌中和十二指肠中的酸。重要的是,由于其在上GI中的靶向活性,这些激动剂将能够减轻FD和GP的症状而不引起对大便习惯的显著影响(例如,可能起因于在下小肠中GC-C的刺激)。

[0038] 在一个方面,本发明提供用于治疗胃肠病症(特别是上GI病症如FD和GP)的新型GC-C肽激动剂。本文中描述的GC-C肽激动剂具有依赖pH的GC-C激动剂活性。在正常、健康个体中,GI道的pH沿其长度而变化,在胃中最低(pH 1.5-3.5),在上十二指肠中上升至大约pH 6并且在小肠下部进一步增加(pH 7-8)。大肠pH往往自pH 6至pH 8变化。本文中描述的GC-C激动剂肽在较低pH下活性较高并且在较高pH下活性较低。因此,GC-C激动剂肽在上GI(包括食管、胃和上小肠(上十二指肠))中活性较高,但是随着它们经过其余的小肠活性较低。如通过测量结合和/或刺激GC-C能力的体外试验测定,本文中描述的示例性GC-C激动剂肽与其在pH 5的效价相比在pH 8显示10至1000倍降低的效价。一些GC-C肽激动剂,如肽1和2中举例说明的那些,在GC-C的结合和/或激活方面显示很少或没有pH敏感性。一般来讲,本发明中描述的肽显示,添加特定的N-末端氨基酸使GC-C肽激动剂活性对pH的变化更敏感。

[0039] 在一些实施方案中,本发明提供肽或其可药用的盐,其中所述肽包含以下氨基酸序列

[0040] Xaa₁Xaa₂Xaa₃Xaa₄Cys₅Xaa₆Xaa₇Xaa₈Cys₉Asn₁₀Pro₁₁Ala₁₂Cys₁₃Xaa₁₄Gly₁₅Xaa₁₆Xaa₁₇(SEQ ID NO:1),或其可药用的盐;其中

[0041] Xaa₁为Asn、D-Asn、Gln、D-Gln、Pro、D-Pro、Ala、β-Ala、D-Ala、Val、D-Val、Gly、Thr、D-Thr、Asp、D-Asp、β-羧基化Asp、Glu、D-Glu、γ-羧基化Glu、α-氨基辛二酸(Asu)、α-氨基己二酸(Aad)或α-氨基庚二酸(Apm);

[0042] Xaa₂为Asp、β-羧基化Asp、Glu、γ-羧基化Glu、Asu、Aad、Apm或不存在;

[0043] Xaa₃为Asp、β-羧基化Asp、Glu、γ-羧基化Glu、Asu、Aad、Apm或不存在;

- [0044] Xaa₄为Cys或D-Cys;
- [0045] Xaa₆为Asp或Glu;
- [0046] Xaa₇为Tyr、Leu、Phe或Ile;
- [0047] Xaa₈为Cys或D-Cys;
- [0048] Xaa₁₄为Thr、Ala或Phe;
- [0049] Xaa₁₆为Cys或D-Cys;以及
- [0050] Xaa₁₇为Tyr、D-Tyr或不存在;
- [0051] 其中:
- [0052] Xaa₁可以在其氨基上被甲基、乙二酸、丙二酸、丁二酸、戊二酸、己二酸、庚二酸或辛二酸修饰;并且
- [0053] 如果Xaa₂和Xaa₃都不存在,那么Xaa₁必须为 β -羧基化Asp或 γ -羧基化Glu,或Xaa₁必须为Asp、D-Asp、Glu、D-Glu、Asu、Aad或Apm,并且必须在其氨基上被乙二酸、丙二酸、丁二酸、戊二酸、己二酸、庚二酸或辛二酸修饰。
- [0054] 在一些实施方案中,Xaa₁在其氨基上的一个或两个氢原子被甲基、乙二酸、丙二酸、丁二酸、戊二酸、己二酸、庚二酸或辛二酸修饰。
- [0055] 在一些实施方案中,当Xaa₂和Xaa₃之一或两者都存在时Xaa₁在其氨基上不被修饰。
- [0056] 在一些实施方案中,Xaa₂为Asp或Glu。在其它实施方案中,Xaa₂为Asp。
- [0057] 在一些实施方案中,Xaa₂和Xaa₃都存在。在一些实施方案中,Xaa₂存在并且Xaa₃不存在。在一些实施方案中,Xaa₂和Xaa₃都不存在。
- [0058] 在一些实施方案中,Xaa₃为Asp或Glu。在其它实施方案中,Xaa₃为Asp。
- [0059] 在一些实施方案中,Xaa₂和Xaa₃之一或两者都存在并且Xaa₁为Asn、D-Asn、Gln、D-Gln、Pro、D-Pro、Ala、 β -Ala、D-Ala、Val、D-Val、Gly、Thr、D-Thr、Asp、D-Asp、 β -羧基化Asp、Glu、D-Glu、 γ -羧基化Glu、Asu、Aad或Apm。在其它实施方案中,Xaa₁为Asn、D-Asn、Gln、D-Gln、Pro、D-Pro、Ala、 β -Ala、D-Ala、Val、D-Val、Gly、Thr、D-Thr、Asp、D-Asp、Glu或D-Glu。在又一些实施方案中,Xaa₁为Asp、D-Asp、Glu或D-Glu。
- [0060] 在一些实施方案中,Xaa₄为Cys。
- [0061] 在一些实施方案中,Xaa₆为Glu。
- [0062] 在一些实施方案中,Xaa₇为Tyr或Leu。
- [0063] 在一些实施方案中,Xaa₈为Cys。
- [0064] 在一些实施方案中,Xaa₁₄为Thr。
- [0065] 在一些实施方案中,Xaa₁₆为Cys。
- [0066] 在一些实施方案中,Xaa₁₇为Tyr。
- [0067] 在一些实施方案中,Xaa₁₇为不存在。
- [0068] 在一些实施方案中,本发明提供肽或其可药用的盐,其中所述肽包含氨基酸序列Xaa₁Xaa₂Xaa₃Cys₄Cys₅Glu₆Xaa₇Cys₈Cys₉Asn₁₀Pro₁₁Ala₁₂Cys₁₃Thr₁₄Gly₁₅Cys₁₆Xaa₁₇(SEQ ID NO:2);其中
- [0069] Xaa₁为Asn、D-Asn、Gln、D-Gln、Pro、D-Pro、Ala、 β -Ala、D-Ala、Val、D-Val、Gly、Thr、D-Thr、Asp、D-Asp、Glu或D-Glu;
- [0070] Xaa₂为Asp或Glu;

- [0071] Xaa₃为Asp、Glu或不存在;
- [0072] Xaa₇为Tyr或Leu;以及
- [0073] Xaa₁₇为Tyr或不存在。
- [0074] 在一些实施方案中,本发明提供肽或其可药用的盐,其中所述肽包含:
- [0075] Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys(SEQ ID NO:3);
- [0076] Asp Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys(SEQ ID NO:4);
- [0077] Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly CysTyr(SEQ ID NO:5);
- [0078] Asp Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly CysTyr(SEQ ID NO:6);
- [0079] Asn Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys(SEQ ID NO:7);
- [0080] Asn Asp Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys(SEQ ID NO:8);
- [0081] Asn Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys Tyr (SEQ ID NO:9);
- [0082] Asn Asp Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys Tyr (SEQ ID NO:10);
- [0083] Ala Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys(SEQ ID NO:11);
- [0084] Ala Asp Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys(SEQ ID NO:12);
- [0085] β-Ala Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys(SEQ ID NO:13);
- [0086] β-Ala Asp Asp Cys Cys GluTyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys(SEQ ID NO:14);
- [0087] Ala Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys Tyr (SEQ ID NO:15);
- [0088] Ala Asp Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys Tyr (SEQ ID NO:16);
- [0089] β-Ala Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys Tyr (SEQ ID NO:17);
- [0090] β-Ala Asp Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys Tyr (SEQ ID NO:18);
- [0091] Pro Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys(SEQ ID NO:19);
- [0092] Pro Asp Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys(SEQ ID

NO:20);

[0093] Pro Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys Tyr
(SEQ ID NO:21);

[0094] Pro Asp Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys Tyr
(SEQ ID NO:22);

[0095] Thr Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys(SEQ ID
NO:23);

[0096] Thr Asp Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys(SEQ ID
NO:24);

[0097] Thr Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys Tyr
(SEQ ID NO:25);

[0098] Thr Asp Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys Tyr
(SEQ ID NO:26);

[0099] Gly Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys(SEQ ID
NO:27);

[0100] Gly Asp Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys(SEQ ID
NO:28);

[0101] Gly Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys Tyr
(SEQ ID NO:29);

[0102] Gly Asp Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys Tyr
(SEQ ID NO:30);

[0103] Asp Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys(SEQ ID
NO:31);

[0104] Asp Asp Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys(SEQ ID
NO:32);

[0105] Asp Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys Tyr
(SEQ ID NO:33);

[0106] Asp Asp Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys Tyr
(SEQ ID NO:34);

[0107] Glu Glu Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys(SEQ ID
NO:35);

[0108] Glu Glu Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys(SEQ ID
NO:36);

[0109] Glu Glu Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly CysTyr(SEQ ID
NO:37);

[0110] Glu Glu Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr(SEQ
ID NO:38);

[0111] Glu Glu Glu Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys(SEQ ID
NO:39);

[0112] Glu Glu Glu Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys(SEQ ID NO:40);

[0113] Glu Glu Glu Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys Tyr (SEQ ID NO:41);

[0114] Glu Glu Glu Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys Tyr (SEQ ID NO:42);

[0115] Glu Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys(SEQ ID NO:43);

[0116] Glu Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys(SEQ ID NO:44);

[0117] Glu Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly CysTyr(SEQ ID NO:45);或

[0118] Glu Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr(SEQ ID NO:46);

[0119] 其中所述C-末端氨基酸残基可以为L-氨基酸残基或D-氨基酸残基,并且如果所述N-末端氨基酸残基为Asn、Asp、Ala、Pro、Thr或Glu,那么所述N-末端残基可以为L-氨基酸残基或D-氨基酸残基。

[0120] 在其它实施方案中,本发明提供肽或其可药用的盐,其中所述肽包含:

[0121] D-Asp Asp Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys Tyr (SEQ ID NO:47);

[0122] D-Ala Asp Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys Tyr (SEQ ID NO:48);

[0123] D-Asn Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys Tyr (SEQ ID NO:49);

[0124] D-Ala Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys Tyr (SEQ ID NO:50);

[0125] Asp Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys D-Tyr (SEQ ID NO:51);

[0126] D-Asp Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys(SEQ ID NO:52);

[0127] Asn Asp Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys Tyr (SEQ ID NO:53);

[0128] Asp Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly CysTyr(SEQ ID NO:54);

[0129] Asp Asp Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys Tyr (SEQ ID NO:55);

[0130] Gly Asp Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys Tyr (SEQ ID NO:56);

[0131] Pro Asp Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys Tyr

(SEQ ID NO:57);

[0132] Ala Asp Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys Tyr
(SEQ ID NO:58);

[0133] Asn Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys Tyr
(SEQ ID NO:59);

[0134] Ala Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys Tyr
(SEQ ID NO:60);

[0135] β -Ala Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys Tyr
(SEQ ID NO:61);

[0136] Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly CysTyr(SEQ ID
NO:62);

[0137] Asp Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys Tyr
(SEQ ID NO:63);

[0138] Pro Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys Tyr
(SEQ ID NO:64);

[0139] Gly Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys Tyr
(SEQ ID NO:65);

[0140] Asp Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys(SEQ ID
NO:66);或

[0141] Glu Glu Glu Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys Tyr
(SEQ ID NO:67)。

[0142] 在一些实施方案中,本发明提供肽或其可药用的盐,其中所述肽包含以下氨基酸
序列

[0143] Xaa₁Asp₂Xaa₃Cys₄Cys₅Glu₆Xaa₇Cys₈Cys₉Asn₁₀Pro₁₁Ala₁₂Cys₁₃Thr₁₄Gly₁₅Cys₁₆Xaa₁₇
(SEQ ID NO:68);其中

[0144] Xaa₁为Asn、D-Asn、Gln、D-Gln、Pro、D-Pro、Ala、 β -Ala、D-Ala、Val、D-Val、Gly、
Thr、D-Thr、Asp、D-Asp、Glu或D-Glu;

[0145] Xaa₃为Asp或不存在;

[0146] Xaa₇为Tyr或Leu;以及

[0147] Xaa₁₇为Tyr或不存在。

[0148] 在一些实施方案中,所述肽包含以下氨基酸序列:

[0149] Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys(SEQ ID
NO:3);

[0150] Asp Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys(SEQ ID
NO:4);

[0151] Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly CysTyr(SEQ ID
NO:5);

[0152] Asp Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly CysTyr(SEQ ID
NO:6);

- [0153] Asn Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys(SEQ ID NO:7);
- [0154] Asn Asp Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys(SEQ ID NO:8);
- [0155] Asn Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys Tyr (SEQ ID NO:9);
- [0156] Asn Asp Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys Tyr (SEQ ID NO:10);
- [0157] Ala Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys(SEQ ID NO:11);
- [0158] Ala Asp Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys(SEQ ID NO:12);
- [0159] β -Ala Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys(SEQ ID NO:13);
- [0160] β -Ala Asp Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys(SEQ ID NO:14);
- [0161] Ala Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys Tyr (SEQ ID NO:15);
- [0162] Ala Asp Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys Tyr (SEQ ID NO:16);
- [0163] β -Ala Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys Tyr (SEQ ID NO:17);
- [0164] β -Ala Asp Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys Tyr (SEQ ID NO:18);
- [0165] Pro Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys(SEQ ID NO:19);
- [0166] Pro Asp Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys(SEQ ID NO:20);
- [0167] Pro Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys Tyr (SEQ ID NO:21);
- [0168] Pro Asp Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys Tyr (SEQ ID NO:22);
- [0169] Thr Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys(SEQ ID NO:23);
- [0170] Thr Asp Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys(SEQ ID NO:24);
- [0171] Thr Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys Tyr (SEQ ID NO:25);
- [0172] Thr Asp Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys Tyr

(SEQ ID NO:26);

[0173] Gly Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys(SEQ ID NO:27);

[0174] Gly Asp Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys(SEQ ID NO:28);

[0175] Gly Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys Tyr (SEQ ID NO:29);

[0176] Gly Asp Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys Tyr (SEQ ID NO:30);

[0177] Asp Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys(SEQ ID NO:31);

[0178] Asp Asp Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys(SEQ ID NO:32);

[0179] Asp Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys Tyr (SEQ ID NO:33);

[0180] Asp Asp Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys Tyr (SEQ ID NO:34);

[0181] Glu Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys(SEQ ID NO:43);

[0182] Glu Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys(SEQ ID NO:44);

[0183] Glu Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly CysTyr(SEQ ID NO:45);或

[0184] Glu Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr(SEQ ID NO:46);

[0185] 其中所述C-末端氨基酸残基可以为L-氨基酸残基或D-氨基酸残基,并且如果所述N-末端氨基酸残基为Asn、Asp、Ala、Pro、Thr或Glu,那么所述N-末端残基可以为L-氨基酸残基或D-氨基酸残基。

[0186] 在其它实施方案中,所述肽包含不多于50、40、30或20个氨基酸。例如,所述肽包含不多于19、18、17或16个氨基酸。

[0187] 在一些实施方案中,本发明提供肽或其可药用的盐,其中所述肽由以下氨基酸序列组成:

[0188] Xaa₁Xaa₂Xaa₃Xaa₄Cys₅Xaa₆Xaa₇Xaa₈Cys₉Asn₁₀Pro₁₁Ala₁₂Cys₁₃Xaa₁₄Gly₁₅Xaa₁₆Xaa₁₇(SEQ ID NO:1),或其可药用的盐;其中

[0189] Xaa₁为Asn、D-Asn、Gln、D-Gln、Pro、D-Pro、Ala、β-Ala、D-Ala、Val、D-Val、Gly、Thr、D-Thr、Asp、D-Asp、β-羧基化Asp、Glu、D-Glu、γ-羧基化Glu、α-氨基辛二酸(Asu)、α-氨基己二酸(Aad)或α-氨基庚二酸(Apm);

[0190] Xaa₂为Asp、β-羧基化Asp、Glu、γ-羧基化Glu、Asu、Aad、Apm或不存在;

[0191] Xaa₃为Asp、β-羧基化Asp、Glu、γ-羧基化Glu、Asu、Aad、Apm或不存在;

- [0192] Xaa₄为Cys或D-Cys;
- [0193] Xaa₆为Asp或Glu;
- [0194] Xaa₇为Tyr、Leu、Phe或Ile;
- [0195] Xaa₈为Cys或D-Cys;
- [0196] Xaa₁₄为Thr、Ala或Phe;
- [0197] Xaa₁₆为Cys或D-Cys;以及
- [0198] Xaa₁₇为Tyr、D-Tyr或不存在;
- [0199] 其中:
- [0200] Xaa₁可以在其氨基上被甲基、乙二酸、丙二酸、丁二酸、戊二酸、己二酸、庚二酸或辛二酸修饰;并且
- [0201] 如果Xaa₂和Xaa₃都不存在,那么Xaa₁必须为 β -羧基化Asp或 γ -羧基化Glu,或Xaa₁必须为Asp、D-Asp、Glu、D-Glu、Asu、Aad、Apm,并且必须在其氨基上被乙二酸、丙二酸或丁二酸、戊二酸、己二酸、庚二酸或辛二酸修饰。
- [0202] 在一些实施方案中,Xaa₂为Asp或Glu。在其它实施方案中,Xaa₂为Asp。
- [0203] 在一些实施方案中,Xaa₂和Xaa₃都存在。在一些实施方案中,Xaa₂存在并且Xaa₃不存在。在一些实施方案中,Xaa₂和Xaa₃都不存在。
- [0204] 在一些实施方案中,Xaa₃为Asp或Glu。在其它实施方案中,Xaa₃为Asp。
- [0205] 在一些实施方案中,Xaa₂和Xaa₃之一或两者都存在并且Xaa₁为Asn、D-Asn、Gln、D-Gln、Pro、D-Pro、Ala、 β -Ala、D-Ala、Val、D-Val、Gly、Thr、D-Thr、Asp、D-Asp、 β -羧基化Asp、Glu、D-Glu、 γ -羧基化Glu、Asu、Aad或Apm。在其它实施方案中,Xaa₁为Asn、D-Asn、Gln、D-Gln、Pro、D-Pro、Ala、 β -Ala、D-Ala、Val、D-Val、Gly、Thr、D-Thr、Asp、D-Asp、Glu或D-Glu。在又一些实施方案中,Xaa₁为Asp、D-Asp、Glu或D-Glu。
- [0206] 在一些实施方案中,Xaa₄为Cys。
- [0207] 在一些实施方案中,Xaa₆为Glu。
- [0208] 在一些实施方案中,Xaa₇为Tyr或Leu。
- [0209] 在一些实施方案中,Xaa₈为Cys。
- [0210] 在一些实施方案中,Xaa₁₄为Thr。
- [0211] 在一些实施方案中,Xaa₁₆为Cys。
- [0212] 在一些实施方案中,Xaa₁₇为Tyr。
- [0213] 在一些实施方案中,Xaa₁₇不存在。
- [0214] 在一些实施方案中,本发明提供肽或其可药用的盐,其中所述肽由氨基酸序列Xaa₁Xaa₂Xaa₃Cys₄Cys₅Glu₆Xaa₇Cys₈Cys₉Asn₁₀Pro₁₁Ala₁₂Cys₁₃Thr₁₄Gly₁₅Cys₁₆Xaa₁₇(SEQ ID NO:2)组成;其中
- [0215] Xaa₁为Asn、D-Asn、Gln、D-Gln、Pro、D-Pro、Ala、 β -Ala、D-Ala、Val、D-Val、Gly、Thr、D-Thr、Asp、D-Asp、Glu或D-Glu;
- [0216] Xaa₂为Asp或Glu;
- [0217] Xaa₃为Asp、Glu或不存在;
- [0218] Xaa₇为Tyr或Leu;以及
- [0219] Xaa₁₇为Tyr或不存在。

[0220] 在一些实施方案中,本发明提供肽或其可药用的盐,其中所述肽由以下氨基酸序列组成:

[0221] Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys(SEQ ID NO:3);

[0222] Asp Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys(SEQ ID NO:4);

[0223] Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly CysTyr(SEQ ID NO:5);

[0224] Asp Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly CysTyr(SEQ ID NO:6);

[0225] Asn Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys(SEQ ID NO:7);

[0226] Asn Asp Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys(SEQ ID NO:8);

[0227] Asn Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys Tyr (SEQ ID NO:9);

[0228] Asn Asp Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys Tyr (SEQ ID NO:10);

[0229] Ala Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys(SEQ ID NO:11);

[0230] Ala Asp Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys(SEQ ID NO:12);

[0231] β -Ala Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys(SEQ ID NO:13);

[0232] β -Ala Asp Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys(SEQ ID NO:14);

[0233] Ala Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys Tyr (SEQ ID NO:15);

[0234] Ala Asp Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys Tyr (SEQ ID NO:16);

[0235] β -Ala Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys Tyr (SEQ ID NO:17);

[0236] β -Ala Asp Asp Cys Cys GluTyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys Tyr (SEQ ID NO:18);

[0237] Pro Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys(SEQ ID NO:19);

[0238] Pro Asp Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys(SEQ ID NO:20);

[0239] Pro Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys Tyr

(SEQ ID NO:21);

[0240] Pro Asp Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys Tyr
(SEQ ID NO:22);

[0241] Thr Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys(SEQ ID
NO:23);

[0242] Thr Asp Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys(SEQ ID
NO:24);

[0243] Thr Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys Tyr
(SEQ ID NO:25);

[0244] Thr Asp Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys Tyr
(SEQ ID NO:26);

[0245] Gly Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys(SEQ ID
NO:27);

[0246] Gly Asp Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys(SEQ ID
NO:28);

[0247] Gly Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys Tyr
(SEQ ID NO:29);

[0248] Gly Asp Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys Tyr
(SEQ ID NO:30);

[0249] Asp Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys(SEQ ID
NO:31);

[0250] Asp Asp Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys(SEQ ID
NO:32);

[0251] Asp Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys Tyr
(SEQ ID NO:33);

[0252] Asp Asp Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys Tyr
(SEQ ID NO:34);

[0253] Glu Glu Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys(SEQ ID
NO:35);

[0254] Glu Glu Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys(SEQ ID
NO:36);

[0255] Glu Glu Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly CysTyr(SEQ ID
NO:37);

[0256] Glu Glu Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr(SEQ
ID NO:38);

[0257] Glu Glu Glu Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys(SEQ ID
NO:39);

[0258] Glu Glu Glu Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys(SEQ ID
NO:40);

[0259] Glu Glu Glu Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys Tyr (SEQ ID NO:41);

[0260] Glu Glu Glu Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys Tyr (SEQ ID NO:42);

[0261] Glu Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys (SEQ ID NO:43);

[0262] Glu Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys (SEQ ID NO:44);

[0263] Glu Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly CysTyr (SEQ ID NO:45);或

[0264] Glu Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr (SEQ ID NO:46);

[0265] 其中所述C-末端氨基酸残基可以为L-氨基酸残基或D-氨基酸残基,并且如果所述N-末端氨基酸残基为Asn、Asp、Ala、Pro、Thr或Glu,那么所述N-末端残基可以为L-氨基酸残基或D-氨基酸残基。

[0266] 在其它实施方案中,本发明提供肽或其可药用的盐,其中所述肽由以下氨基酸序列组成:

[0267] D-Asp Asp Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys Tyr (SEQ ID NO:47);

[0268] D-Ala Asp Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys Tyr (SEQ ID NO:48);

[0269] D-Asn Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys Tyr (SEQ ID NO:49);

[0270] D-Ala Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys Tyr (SEQ ID NO:50);

[0271] Asp Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys D-Tyr (SEQ ID NO:51);

[0272] D-Asp Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys (SEQ ID NO:52);

[0273] Asn Asp Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys Tyr (SEQ ID NO:53);

[0274] Asp Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly CysTyr (SEQ ID NO:54);

[0275] Asp Asp Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys Tyr (SEQ ID NO:55);

[0276] Gly Asp Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys Tyr (SEQ ID NO:56);

[0277] Pro Asp Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys Tyr (SEQ ID NO:57);

[0278] Ala Asp Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys Tyr (SEQ ID NO:58);

[0279] Asn Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys Tyr (SEQ ID NO:59);

[0280] Ala Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys Tyr (SEQ ID NO:60);

[0281] β -Ala Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys Tyr (SEQ ID NO:61);

[0282] Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly CysTyr(SEQ ID NO:62);

[0283] Asp Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys Tyr (SEQ ID NO:63);

[0284] Pro Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys Tyr (SEQ ID NO:64);

[0285] Gly Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys Tyr (SEQ ID NO:65);

[0286] Asp Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys(SEQ ID NO:66);或

[0287] Glu Glu Glu Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys Tyr (SEQ ID NO:67);

[0288] 在一些实施方案中,本发明提供肽或其可药用的盐,其中所述肽由以下氨基酸序列组成

[0289] Xaa₁Asp₂Xaa₃Cys₄Cys₅Glu₆Xaa₇Cys₈Cys₉Asn₁₀Pro₁₁Ala₁₂Cys₁₃Thr₁₄Gly₁₅Cys₁₆Xaa₁₇ (SEQ ID NO.68);其中

[0290] Xaa₁为Asn、D-Asn、Gln、D-Gln、Pro、D-Pro、Ala、 β -Ala、D-Ala、Val、D-Val、Gly、Thr、D-Thr、Asp、D-Asp、Glu或D-Glu;

[0291] Xaa₃为Asp或不存在;

[0292] Xaa₇为Tyr或Leu;以及

[0293] Xaa₁₇为Tyr或不存在。

[0294] 在一些实施方案中,所述肽由以下氨基酸序列组成:

[0295] Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys(SEQ ID NO:3);

[0296] Asp Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys(SEQ ID NO:4);

[0297] Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly CysTyr(SEQ ID NO:5);

[0298] Asp Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly CysTyr(SEQ ID NO:6);

[0299] Asn Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys(SEQ ID

NO:7);

[0300] Asn Asp Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys(SEQ ID NO:8);

[0301] Asn Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys Tyr (SEQ ID NO:9);

[0302] Asn Asp Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys Tyr (SEQ ID NO:10);

[0303] Ala Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys(SEQ ID NO:11);

[0304] Ala Asp Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys(SEQ ID NO:12);

[0305] β -Ala Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys(SEQ ID NO:13);

[0306] β -Ala Asp Asp Cys Cys GluTyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys(SEQ ID NO:14);

[0307] Ala Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys Tyr (SEQ ID NO:15);

[0308] Ala Asp Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys Tyr (SEQ ID NO:16);

[0309] β -Ala Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys Tyr (SEQ ID NO:17);

[0310] β -Ala Asp Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys Tyr (SEQ ID NO:18);

[0311] Pro Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys(SEQ ID NO:19);

[0312] Pro Asp Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys(SEQ ID NO:20);

[0313] Pro Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys Tyr (SEQ ID NO:21);

[0314] Pro Asp Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys Tyr (SEQ ID NO:22);

[0315] Thr Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys(SEQ ID NO:23);

[0316] Thr Asp Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys(SEQ ID NO:24);

[0317] Thr Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys Tyr (SEQ ID NO:25);

[0318] Thr Asp Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys Tyr (SEQ ID NO:26);

[0319] Gly Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys(SEQ ID NO:27);

[0320] Gly Asp Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys(SEQ ID NO:28);

[0321] Gly Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys Tyr (SEQ ID NO:29);

[0322] Gly Asp Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys Tyr (SEQ ID NO:30);

[0323] Asp Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys(SEQ ID NO:31);

[0324] Asp Asp Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys(SEQ ID NO:32);

[0325] Asp Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys Tyr (SEQ ID NO:33);

[0326] Asp Asp Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr GlyCys Tyr (SEQ ID NO:34);

[0327] Glu Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys(SEQ ID NO:43);

[0328] Glu Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys(SEQ ID NO:44);

[0329] Glu Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly CysTyr(SEQ ID NO:45);或

[0330] Glu Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr(SEQ ID NO:46);

[0331] 其中所述C-末端氨基酸残基可以为L-氨基酸残基或D-氨基酸残基,并且如果所述N-末端氨基酸残基为Asn、Asp、Ala、Pro、Thr或Glu,那么所述N-末端残基可以为L-氨基酸残基或D-氨基酸残基。

[0332] 在一些情况下,所述肽是分离的。在其它情况下,所述肽是纯化的。

[0333] 在一些实施方案中,提供所述肽的可药用的盐。在一些情况下,所述可药用的盐为氯化物盐。

[0334] 变体肽

[0335] 在一些情况下,可能希望用与肠GC-C受体结合并活化肠GC-C受体的变体肽治疗患者,但是其活性比所述肽的非变体形式更低或更高。活性降低可能是由于对受体的亲和力降低或一旦结合活化受体的能力降低或肽的稳定性降低。活性增加可能是由于对受体的亲和力增加或一旦结合活化受体的能力增加或所述肽的稳定性增加。

[0336] 在一些肽中,通常形成二硫键的一个或两个Cys残基对的一个或两个部分可被同型半胱氨酸、青霉胺、3-巯基脯氨酸(Kolodziej等,1996 Int J Pept Protein Res 48:274); β , β -二甲基半胱氨酸(Hunt等,1993 Int J Pept Protein Res 42:249)或二氨基丙酸(Smith等,1978 J MedChem 21:117)替换以在正常二硫键的位置形成可选的内部交联。在

其它实施方案中,二硫键可被烃交联替换(Schafmeister等,2000 J AmChem Soc 122:5891,Patgiri等,2008Acc Chem Res 41:1289,Henchey等,2008 Curr Opin Chem Biol 12:692)。

[0337] 肽的制备

[0338] 在一个实施方案中,本发明的肽或前体肽可以在任何已知的蛋白质表达系统中重组制备,这些系统包括不限于细菌(例如大肠杆菌(*E.coli*)或枯草杆菌(*Bacillus subtilis*))、昆虫细胞系统(例如果蝇Sf9细胞系统)、酵母细胞系统(例如啤酒酵母(*S.cerevisiae*)、酿酒酵母(*S.saccharomyces*))或丝状真菌表达系统或动物细胞表达系统(例如哺乳动物细胞表达系统)。本发明的肽或前体肽还可以化学合成。

[0339] 如果要重组制备(例如大肠杆菌)肽或变体肽,那么编码肽的核酸分子还可以编码允许成熟肽从细胞分泌的前导序列。因此,编码肽的序列可以包括例如天然细菌ST肽的pre序列和pro序列。分泌的成熟肽可以从培养基中纯化。

[0340] 编码本文中描述的肽的序列可被插入能够递送和将核酸分子保持在细菌细胞里的载体中。所述DNA分子可被插入自主复制载体(合适的载体包括例如pGEM3Z和pcDNA3以及其衍生物)。载体核酸可以是细菌或噬菌体DNA如噬菌体 λ 或M13以及其衍生物。含有本文中描述的核酸的载体的构建可在宿主细胞如细菌的转化之后进行。合适的细菌宿主包括但不限于大肠杆菌、枯草杆菌(*B.subtilis*)、假单胞菌(*Pseudomonas*)和沙门氏菌(*Salmonella*)。除了编码核酸分子之外,基因构建体还包括允许表达的元件,如启动子和调控序列。所述表达载体可以含有控制转录起始的转录控制序列,如启动子、增强剂、操纵子和阻遏子序列。多种转录控制序列对本领域技术人员来说是众所周知的。表达载体还可以包括翻译调控序列(例如,未翻译的5'序列、未翻译的3'序列或内部核糖体进入位点)。所述载体能够自主复制或其可整合到宿主DNA中以保证在肽产生期间的稳定性。

[0341] 包括本文中描述的肽的蛋白质编码序列还可与编码肽亲合标记物(例如,谷胱甘肽S-转移酶(GST)、麦芽糖E结合蛋白、蛋白质A、FLAG标记物、六聚组氨酸、myc标记物或流感HA标记物)的核酸融合以便于纯化。亲合标记物或报告基因融合将目标肽的阅读框连接至编码亲合标记物的基因的阅读框因此产生翻译融合物。融合基因的表达导致包括目标肽和亲合标记物的单个肽的翻译。在使用亲合标记物的一些情况下,编码蛋白酶识别位点的DNA序列将被融合在亲合标记物和目标肽的阅读框之间。

[0342] 适于在除了细菌的蛋白质表达系统中制备本文中描述的肽和变体的不成熟和成熟形式,并且对本领域技术人员熟知的基因构建体和方法,还可以用于在生物系统中制备肽。

[0343] 在其它实施方案中,含有通常不通过所述翻译机制并入的氨基酸和以上所述的氨基酸(例如 β -羧基化Asp、 γ -羧基化Glu、Asu、Aad和Apm)的肽可以通过tRNA修饰方法重组制备。用于修饰tRNA的方法(包括但不限于修饰反密码子、氨基酸附着位点和/或接受茎以允许非天然和/或任意的氨基酸并入)在本领域是已知的(Biochem.Biophys.Res.Comm.(2008)372:480-485;Chem.Biol.(2009)16:323-36;Nat.Methods(2007)4:239-44;Nat.Rev.Mol.Cell Biol.(2006)7:775-82;Methods(2005)36:227-238;Methods(2005)36:270-278;Annu.Rev.Biochem.(2004)73:147-176;Nuc.Acids Res.(2004)32:6200-6211;Proc.Natl.Acad.Sci.USA(2003)100:6353-6357;Royal Soc.Chem.(2004)33:422-430)。

[0344] 在一些实施方案中,肽可以化学制备。肽可以通过许多不同方法合成,这些方法包括使用传统的BOC或FMOC保护的溶液和固相合成。例如,肽可以在2-氯三苯甲基或Wang树脂上使用连续的氨基酸偶联合成。可以使用以下保护基:苄氧羰基或叔-丁氧羰基(α -氨基、N-末端);三苯甲基或叔丁基(Cys的硫醇基);叔丁基(谷氨酸的 γ -羧基和苏氨酸的羟基,如果存在);和三苯甲基(天冬酰胺侧链的 β -酰胺官能团和酪氨酸的酚基,如果存在)。偶联可以用DIC和HOBT在叔胺存在下进行,并且肽可以去保护并使用混合物K(三氟乙酸81%,苯酚5%,苯甲硫醚5%,1,2-乙二硫醇2.5%,水3%,二甲硫醚2%,碘化铵1.5%w/w)从固体载体裂解。除去三氟乙酸和其它挥发物之后,可以使用有机溶剂将肽析出。在Cys残基之间的二硫键可以使用二甲亚砜(Tam等,(1991)J. Am. Chem. Soc. 113:6657-62)或使用空气氧化策略形成。所得肽可以通过反相色谱法纯化并冻干。

[0345] 肽可以以碱或其可药用的盐的形式制备、分离或使用。盐的实例包括不限于肽的醋酸盐、盐酸盐、硫酸盐和磷酸盐。

[0346] 肽组合物和GC-C受体激动剂

[0347] 在另一个方面,所提供的组合中肽(单独或组合)可以与任何可药用的载体或介质混合。所述肽可以与对患者施用时无产生有害的、过敏性的或另外不希望的材料组合。使用的载体或介质可以包括溶剂、分散剂、涂层、吸收促进剂、控释剂和一种或多种惰性赋形剂(包括淀粉、多元醇、制粒剂、微细纤维素、微晶纤维素(例如celphere、Celphere beads[®])、稀释剂、润滑剂、粘合剂、崩解剂等)等。如果需要,公开的组合物的片剂剂量可由标准含水或无水技术涂覆。

[0348] 用作可药用的载体和可药用的惰性载体的赋形剂以及上述其它成分的实例包括但不限于粘合剂、填充剂、崩解剂、润滑剂、抗微生物剂和涂层剂。

[0349] 本文中使用的术语“粘合剂”是指可在本发明的实践中使用的任何可药用的粘合剂。可药用的粘合剂的实例包括不限于淀粉(例如,玉米淀粉、马铃薯淀粉和预糊化淀粉(例如,STARCH1500[®]和STARCH1500LM[®],由Colorcon, Ltd. 销售)和其它淀粉)、麦芽糖糊精、凝胶、天然和合成胶如阿拉伯胶、粉末黄芪胶、瓜尔胶、纤维素和其衍生物(例如,甲基纤维素、羟乙基纤维素、羟乙基甲基纤维素、羟丙基纤维素和羟丙基甲基纤维素(羟丙甲纤维素)、乙基纤维素、乙酸纤维素、羧甲基纤维素钙、羧甲基纤维素钠、羧甲基纤维素、粉末纤维素、微粉纤维素、微晶纤维素(例如,AVICEL[™],如AVICEL-PH-101[™]、-103[™]和-105[™],由FMC Corporation, Marcus Hook, PA, USA销售))、聚乙烯醇、聚乙烯吡咯烷酮(例如,聚乙烯吡咯烷酮K30),以及其混合物。

[0350] 在药物组合中尤其可以使用的粘合剂的实例包括聚乙烯醇、聚乙烯吡咯烷酮(聚维酮)、淀粉、麦芽糖糊精或纤维素醚(如甲基纤维素、乙基纤维素、羧甲基纤维素、羟乙基纤维素、羟乙基甲基纤维素、羟丙基纤维素和羟丙基甲基纤维素)。

[0351] 本文中使用的术语“填充剂”是指可在本发明的实践中使用的任何可药用的填充剂。可药用的填充剂的实例包括不限于滑石粉、碳酸钙(例如颗粒或粉末)、磷酸氢钙、磷酸钙、硫酸钙(例如,颗粒或粉末)、微晶纤维素(例如,Avicel PH101或Celphere CP-305)、微细纤维素、粉末纤维素、葡萄糖结合剂(dextrates)、高岭土、甘露醇、硅酸、山梨糖醇、淀粉(例如,Starch 1500)、预糊化淀粉、乳糖、葡萄糖、果糖、半乳糖、海藻糖、蔗糖、麦芽糖、异麦芽酮糖醇、棉籽糖、麦芽糖醇、松三糖、水苏糖、乳糖醇、palatinite、木糖醇、肌醇以及其混

合物。

[0352] 尤其可以用于涂覆所述肽的可药用的填充剂的实例包括而不限于滑石粉、微晶纤维素(例如,Avicel PH101或Celphere CP-305)、粉末纤维素、葡萄糖结合剂、高岭土、甘露醇、硅酸、山梨糖醇、淀粉、预糊化淀粉、乳糖、葡萄糖、果糖、半乳糖、海藻糖、蔗糖、麦芽糖、异麦芽酮糖醇、磷酸氢钙、棉籽糖、麦芽糖醇、松三糖、水苏糖、乳糖醇、palatinite、木糖醇、甘露醇、肌醇以及其混合物。

[0353] 本文中使用的术语“添加剂”是指任何可药用的添加剂。可药用的添加剂包括但不限于崩解剂、分散添加剂、润滑剂、助流剂、抗氧化剂、涂层添加剂、稀释剂、表面活性剂、调味添加剂、湿润剂、吸收促进添加剂、控释添加剂、抗结块添加剂、抗微生物剂(例如,防腐剂)、着色剂、干燥剂、增塑剂和染料。本文中使用的“赋形剂”是任何可药用的添加剂、填充剂、粘合剂或试剂。

[0354] 本发明组合物还可以任选地包括其它治疗成分、抗结块剂、防腐剂、甜味剂、着色剂、调味剂、干燥剂、增塑剂、染料、助流剂、抗粘剂、抗静电剂、表面活性剂(润湿剂)、抗氧化剂、膜涂层剂等。任何这些任选的成分必须是与本文中描述的化合物相容的以确保制剂的稳定性。所述组合物可以按需要含有其它添加剂,包括例如乳糖、葡萄糖、果糖、半乳糖、海藻糖、蔗糖、麦芽糖、棉籽糖、麦芽糖醇、松三糖、水苏糖、乳糖醇、palatinite、淀粉、木糖醇、甘露醇、肌醇等及其水合物,以及氨基酸,例如丙氨酸、甘氨酸和甜菜碱,以及肽和蛋白质,例如白蛋白。

[0355] 所述组合物可以包括例如各种其它溶剂、分散剂、涂层、吸收促进添加剂、控释添加剂和一种或多种惰性添加剂(包括例如淀粉、多元醇、造粒添加剂、微晶纤维素、稀释剂、润滑剂、粘合剂、崩解添加剂等)等。如果需要,公开的组合物的片剂剂量可由标准含水或无水的技术涂覆。组合物还可以包括例如抗结块添加剂、防腐剂、甜味添加剂、着色剂、调味剂、干燥剂、增塑剂、染料等。

[0356] 合适的崩解剂包括例如琼脂、碳酸钙、微晶纤维素、交联羧甲基纤维素钠、交聚维酮、聚维酮、波拉克林钾(polacrillin potassium)、淀粉羟乙酸钠、马铃薯或木薯淀粉、其它淀粉、预糊化淀粉、粘土、其它海藻胶、其它纤维素、胶质以及其混合物。

[0357] 合适的润滑剂包括例如硬脂酸钙、硬脂酸镁、矿物油、轻质矿物油、甘油、山梨糖醇、甘露醇、聚乙二醇、其它二醇、硬脂酸、十二烷基硫酸钠、滑石粉、氢化植物油(例如,花生油、棉籽油、葵花油、芝麻油、橄榄油、玉米油和大豆油)、硬脂酸锌、油酸乙酯、十二烷酸乙酯、琼脂、syloid硅胶(AEROSIL 200,W.R.Grace Co.,Baltimore,MD USA)、合成二氧化硅的凝聚型气溶胶(Evonik Degussa Co.,Plano,TX USA)、热解二氧化硅(CAB-O-SIL,Cabot Co.,Boston,MAUSA),以及其混合物。

[0358] 合适的助流剂包括例如亮氨酸、胶态二氧化硅、三硅酸镁、粉末纤维素、淀粉、滑石粉和磷酸钙。

[0359] 合适的抗结块添加剂包括例如硅酸钙、硅酸镁、二氧化硅、胶态二氧化硅、滑石粉和其混合物。

[0360] 可以使用的合适的抗微生物添加剂(例如,作为肽组合物的防腐剂)包括例如苯扎氯铵、苄索氯铵、苯甲酸、苄醇、对羟基苯甲酸丁酯、西吡氯铵、甲酚、氯丁醇、脱氢乙酸、对羟基苯甲酸乙酯、对羟基苯甲酸甲酯、苯酚、苯乙醇、苯氧乙醇、醋酸苯汞、硝酸苯汞、山梨酸

钾、对羟基苯甲酸丙酯、苯甲酸钠、脱氢醋酸钠、丙酸钠、山梨酸、硫柳汞(thimersol)、thymo 以及其混合物。

[0361] 合适的抗氧化剂包括例如BHA(丁基羟基茴香醚)、BHT(丁基羟基甲苯)、维生素E、没食子酸丙酯、抗坏血酸和其盐或酯、生育酚和其酯、 α -硫辛酸和 β -胡萝卜素。

[0362] 合适的涂层添加剂包括例如羧甲基纤维素钠、醋酸邻苯二甲酸纤维素、乙基纤维素、凝胶、药用油、羟丙基纤维素、羟丙基甲基纤维素、邻苯二甲酸羟丙基甲基纤维素、甲基纤维素、聚乙二醇、聚醋酸乙烯酯酸酯、虫胶、蔗糖、二氧化钛、巴西棕榈蜡、微晶蜡以及其混合物。合适的保护涂层包括Aquacoat(例如, Aquacoat Ethylcellulose Aquaeous Dispersion, 15%w/w, FMC Biopolymer, ECD-30)、Eudragit(例如, Eudragit E PO PE-EL, Roehm Pharma Polymers)和Opadry(例如, Opadry AMB dispersion, 20%w/w, Colorcon)。

[0363] 在某些实施方案中, 用于肽组合物的合适的添加剂包括蔗糖、滑石粉、硬脂酸镁、交聚维酮或BHA中的一种或多种。

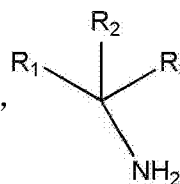
[0364] 本发明组合物还可以包括其它赋形剂、试剂, 并且其类型包括但不限于L-组氨酸、Pluronic[®]、Poloxamers(如Lutrol[®]和Poloxamer 188)、抗坏血酸、谷胱甘肽、渗透率增强剂(例如, 脂质、胆酸钠、酰基肉碱、水杨酸盐、混合胆汁盐、脂肪酸胶束、螯合剂、脂肪酸、表面活性剂、中链甘油酯)、蛋白酶抑制剂(例如, 大豆胰蛋白酶抑制剂、有机酸)、pH降低剂和有效促进生物利用率的吸收增强剂(包括但不限于在美国专利第6,086,918号和第5,912,014号描述的那些)、用于咀嚼片的材料(如葡萄糖、果糖、一水合乳糖、乳糖和阿斯巴甜(aspartame)、乳糖和纤维素、麦芽糖糊精、麦芽糖、甘露醇、微晶纤维素和瓜尔胶、山梨糖醇结晶); 肠胃外药物(如甘露醇和聚维酮); 增塑剂(如癸二酸二丁酯、用于涂层的增塑剂、聚醋酸乙烯酯酸酯); 粉末润滑剂(如甘油二十二烷酸酯); 软胶囊(如山梨糖醇特殊溶液); 用于涂层的丸(如糖丸); 滚圆剂(如甘油二十二烷酸酯和微晶纤维素); 悬浮/胶凝剂(如卡拉胶、结冷胶、甘露醇、微晶纤维素、聚维酮、淀粉羟乙酸钠、黄原胶); 甜味剂(如阿斯巴甜、阿斯巴甜和乳糖、葡萄糖、果糖、蜂蜜、麦芽糖糊精、麦芽糖、甘露醇、糖蜜、山梨糖醇结晶、山梨糖醇特殊溶液、蔗糖); 湿造粒剂(如碳酸钙、无水乳糖、一水合乳糖、麦芽糖糊精、甘露醇、微晶纤维素、聚维酮、淀粉)、焦糖、羧甲基纤维素钠、樱桃奶油香料和樱桃香料、无水柠檬酸、柠檬酸、糖粉(confectioner's sugar)、D&C红33号、D&C黄#10铝色淀、依地酸二钠、乙醇15%、FD&C黄6号铝色淀、FD&C蓝#1铝色淀、FD&C蓝1号、FD&C蓝2号铝色淀、FD&C绿3号、FD&C红40号、FD&C黄6号铝色淀、FD&C黄6号、FD&C黄10号、棕榈酸硬脂酸甘油酯、单硬脂酸甘油酯、靛蓝胭脂红、卵磷脂、甘露醇、对羟基苯甲酸甲酯和对羟基苯甲酸丙酯、甘草酸单铵、天然和人工橙子香料、药用油、泊洛沙姆188、聚葡萄糖、聚山梨醇酯20、聚山梨醇酯80、聚维酮、预胶凝玉米淀粉、预胶凝淀粉、红色氧化铁、糖精钠、羧甲基醚钠、氯化钠、柠檬酸钠、磷酸钠、草莓香料、合成黑色氧化铁、合成红色氧化铁、二氧化钛和白蜡。

[0365] 在一些实施方案中, 提供了包含本文中描述的肽和一种或多种选自 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Mn^{2+} 、 K^{+} 、 Na^{+} 或 Al^{3+} 、其组合和/或空间位阻的伯胺的稳定剂的药物组合物。在其它实施方案中, 所述试剂是 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 或 Zn^{2+} 或其组合。在一些实施方案中, 所述阳离子提供为(不限于)醋酸镁、氯化镁、磷酸镁、硫酸镁、醋酸钙、氯化钙、磷酸钙、硫酸钙、醋酸锌、氯化锌、磷酸锌、硫酸锌、醋酸锰、氯化锰、磷酸锰、硫酸锰、醋酸钾、氯化钾、磷酸钾、硫酸钾、醋酸钠、氯化钠、磷酸钠、硫酸钠、醋酸铝、氯化铝、磷酸铝或硫酸铝。在其它实施方案中, 所述阳离子提供

为氯化镁、氯化钙、磷酸钙、硫酸钙、醋酸锌、氯化锰、氯化钾、氯化钠或氯化铝。在其它实施方案中,所述阳离子提供为氯化钙、氯化镁或醋酸锌。

[0366] 在另一个实施方案中,所述稳定剂是空间位阻的伯胺。在又一个实施方案中,所述空间位阻的伯胺是氨基酸。在又一个实施方案中,所述氨基酸是天然氨基酸。在再一个实施方案中,所述天然氨基酸选自由以下组成的组:组氨酸、苯丙氨酸、丙氨酸、谷氨酸、天冬氨酸、谷氨酰胺、亮氨酸、甲硫氨酸、天冬酰胺、酪氨酸、苏氨酸、异亮氨酸、色氨酸、甘氨酸和缬氨酸;再进一步,所述天然氨基酸是亮氨酸、异亮氨酸、丙氨酸或甲硫氨酸。在再一个实施方案中,所述天然氨基酸是亮氨酸。在另一个实施方案中,所述空间位阻的伯胺是非天然氨基酸(例如,1-氨基环己烷羧酸、lanthanine或茶氨酸)。在又一个实施方案中,所述空间位阻的伯胺是环己胺、2-甲基丁胺或聚合胺如壳聚糖。在另一个实施方案中,在组合物中可以使用一种或多种空间位阻的伯胺。

[0367] 在一些情况下,所述空间位阻的伯胺具有式: , 其中 R_1 、 R_2 和 R_3 独立地



选自: H、C(=O)OH、 C_1 - C_6 烷基、 C_1 - C_6 烷基醚、 C_1 - C_6 烷基硫醚、 C_1 - C_6 烷基羧酸、 C_1 - C_6 烷基羧酰胺和烷基芳基,其中任何基团可以被卤素或氨基单取代或多取代,并且条件是 R_1 、 R_2 和 R_3 中不多于两个为H。在另一个实施方案中, R_1 、 R_2 和 R_3 中不多于一个为H。

[0368] 在其它实施方案中,提供包含可药用的载体、肽、选自 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Mn^{2+} 、 K^+ 、 Na^+ 或 Al^{3+} 或其混合物的阳离子和空间位阻的伯胺的药物组合物。在一个实施方案中,所述阳离子是 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 或 Zn^{2+} 或其混合物。在又一个实施方案中,所述药物组合物进一步包含可药用的粘合剂和/或可药用的助流剂、润滑剂或同时作为助流剂和润滑剂和/或抗氧化剂的添加剂。在一些实施方案中,所述药物组合物被施加于载体上。在一些实施方案中,所述载体是填充剂。

[0369] 在一些情况下,施加到载体上的水溶液中的阳离子:空间位阻的伯胺:肽的摩尔比是5-100:5-50:1。在一些情况下,阳离子:空间位阻的伯胺的摩尔比可以等于或大于2:1(例如,介于5:1和2:1之间)。因此,在一些情况下,施加到载体上的阳离子:空间位阻的伯胺:肽的摩尔比是100:50:1、100:30:1、80:40:1、80:30:1、80:20:1、60:30:1、60:20:1、50:30:1、50:20:1、40:20:1、20:20:1、10:10:1、10:5:1或5:10:1。当在施加到载体上的GC-C激动剂肽溶液中存在粘合剂(例如,甲基纤维素)时,它可以以0.5重量%-2.5重量%存在(例如,0.7%-1.7%或0.7%-1%、1.5%或0.7%)。

[0370] 在又一个实施方案中,所述药物组合物进一步包含可药用的粘合剂或添加剂,和/或可药用的助流剂、润滑剂或同时作为助流剂和润滑剂和/或抗氧化剂的添加剂。

[0371] 根据本发明的合适的药物组合物通常将包括一定量的活性化合物与可药用的稀释剂或赋形剂(如无菌水溶液)以得到最终浓度范围(取决于预期用途)。制备技术通常是本领域熟知的,如Remington's Pharmaceutical Sciences(第18版,Mack Publishing Company,1995)所例证。

[0372] 对于胃肠病症的治疗,本文中描述的肽优选口服施用,例如作为片剂、胶囊、含有预定量的活性成分颗粒、凝胶、软膏、糖浆、丸剂、酏剂(electuary)、浆剂、粉末、冻干粉末、

颗粒的小袋,作为在含水液体或非水液体中的溶液或混悬剂;作为水包油液体乳剂或油包水液体乳剂,通过脂质体制剂(参见,例如,EP 736299)或以一些其它形式。口服施用组合物可以包括粘合剂、润滑剂、惰性稀释剂、润滑剂、表面活性剂或分散剂、调味剂和保湿剂。口服施用制剂如片剂可以任选被涂覆或标记,并且可以配制为便于提供其中活性成分的长释、缓释或控释。所述肽可以与包括但不限于本文中所述药剂的用于治疗胃肠病症的其它药剂一起施用。

[0373] 在另一个方面,合适的药物组合物可以包含一种或多种其它治疗剂。这些治疗剂包括不限于镇痛剂;抗分泌剂,包括质子泵抑制剂、酸泵拮抗剂、H₂受体拮抗剂;PDE5抑制剂;GABA-B拮抗剂;胆汁酸螯合剂;促胃肠动力剂;抗抑郁剂;抗生素;止呕剂;以及粘膜保护剂。

[0374] 治疗方法

[0375] 在本发明的一些实施方案中,提供用于胃肠病症的治疗方法。

[0376] 在一些实施方案中,所述胃肠病症为上GI病症。在又一个实施方案中,所述病症为GP、术后胃肠梗阻、功能性食管病症、功能性胃十二指肠病症、胃食管返流疾病(GERD)、乳糜泻、粘膜炎或十二指肠或胃溃疡。

[0377] 在一些实施方案中,所述胃肠病症为GP。在其它实施方案中,所述GP为特发性、糖尿病或术后GP。

[0378] 在一些实施方案中,所述胃肠病症为术后胃肠梗阻。

[0379] 在一些实施方案中,所述胃肠病症为功能性食管病症。

[0380] 在一些实施方案中,所述功能性食管病症为功能性胃灼热、推测食管源性功能性胸痛、功能性吞咽困难或癔球症。

[0381] 在一些实施方案中,所述胃肠病症为功能性胃十二指肠病症。

[0382] 在一些实施方案中,所述功能性胃十二指肠病症为FD、嗝气症、恶心或呕吐病症或反刍综合征。在又一个实施方案中,所述功能性胃十二指肠病症为FD。在一些实施方案中,所述FD为餐后不适综合征或上腹痛综合征。在一些实施方案中,所述嗝气症为吞气症或未明确的过度嗝气。在一些实施方案中,恶心或呕吐病症为慢性特发性恶心、功能性呕吐或周期性呕吐综合征。

[0383] 在一些实施方案中,所述胃肠病症为胃食管返流疾病(GERD)。

[0384] 在一些实施方案中,所述胃肠病症为乳糜泻。

[0385] 在一些实施方案中,所述胃肠病症为粘膜炎。

[0386] 在一些实施方案中,所述胃肠病症为十二指肠或胃溃疡。

[0387] 本文中描述的肽和激动剂可以单独使用或以在联合疗法中使用,以治疗、预防或减少与胃肠病症相关的内脏疼痛或与如本文所述的另一种病症相关的疼痛。

[0388] 本文中描述的GC-C受体激动剂可以与其它药剂组合施用。例如,所述肽可以与镇痛肽或化合物一起施用。所述镇痛肽或化合物可以共价连接到本文中描述的肽,或其可以是在联合疗法中与本文中描述的肽一起或依次施用的单独的药剂。本文中描述的GC-C受体激动剂还可以与用于治疗上GI病症的其它药剂组合施用,这些药剂包括抗抑郁剂、促胃肠动力剂、止呕剂、抗生素、质子泵抑制剂、酸阻滞剂(例如,组胺H₂受体拮抗剂)、酸泵拮抗剂、PDE5抑制剂、GABA-B激动剂、胆汁酸螯合剂和粘膜保护剂。

[0389] 在一些实施方案中,可以与本文中描述的肽一起使用的有用的镇痛剂包括Ca通道阻滞剂(例如,齐考诺肽(ziconotide))、5HT受体拮抗剂(例如,5HT₃、5HT₄和5HT₁受体拮抗剂)、5HT₄激动剂(例如,替加色罗(tegaserod)[Zelnorm[®]]、莫沙必利(mosapride)、扎考必利(zacopride)、西沙必利(cisapride)、伦扎必利(rezapride)、普卡必利(prucalopride)[Resolor[®]]、苯并咪唑酮衍生物如BIMU 1和BIMU 8,和利沙必利(lirexapride))、5HT₁激动剂(例如,舒马普坦(sumatriptan)和丁螺环酮(buspirone))、阿片样受体激动剂(例如,洛哌丁胺(loperamide)、非多托秦(fedotozine)、脑啡肽五肽、吗啡、草酸二苯酯、氟雷法胺(frakefamide)、曲美布汀(trimebutine)和芬太尼(fentanyl))、CCK受体激动剂(例如,氯谷胺(loxiglumide)和右氯谷胺(dexloxiglumide))、NK₁受体拮抗剂(例如,阿瑞吡坦(aprepitant)、沃伏吡坦(vofopitant)、依洛吡坦(ezlopitant)、R-673(Hoffmann-La Roche Ltd)、SR-48968和SR-14033、(Sanofi Synthelabo)、CP-122,721(Pfizer, Inc.)、GW679769(Glaxo Smith Kline)和TAK-637(Takeda/Abbot))、NK₂受体拮抗剂(例如,奈帕坦特(nepadutant)、沙瑞度坦、GW597599(Glaxo Smith Kline)、SR-144190(Sanofi-Synthelabo)和UK-290795(Pfizer Inc))、NK₃受体拮抗剂(例如,奥沙奈坦(osanetant)(SR-142801; Sanofi-Synthelabo)、SR-241586和他尔奈坦(talnetant)、去甲肾上腺素-血清素再摄取抑制剂(NSRI)(例如,米那普伦(milnacipran))、混合和选择性多巴胺受体拮抗剂(例如,甲氧氯普胺(metoclopramide)、伊托必利(itopride)、多潘立酮(domperidone))、辣椒素(vanilloid)和大麻素受体激动剂、sialorphan和sialorphan相关的肽。各种种类的镇痛剂在文献中描述。

[0390] 在一些实施方案中,一种或多种其它治疗剂可以与本文中描述的肽组合使用。这些药剂包括抗抑郁剂、促胃肠动力剂、止呕剂、抗生素、质子泵抑制剂、酸阻滞剂(例如,组胺H₂受体拮抗剂)、酸泵拮抗剂、PDE5抑制剂、GABA-B激动剂、胆汁酸螯合剂和粘膜保护剂。

[0391] 抗抑郁剂的实例包括不限于三环抗抑郁药如阿米替林(amtiripityline)(Elavil[®])、去甲丙咪嗪(desipramine)(Norpramin[®])、丙咪嗪(imipramine)(Tofranil[®])、阿莫沙平(amoxapine)(Asendin[®])、去甲替林(nortriptyline);选择性血清素再摄取抑制剂(SSRI's)如帕罗西汀(paroxetine)(Paxil[®])、氟西汀(flouxetine)(Prozac[®])、舍曲林(sertraline)(Zoloft[®])和西酞普兰(citalopram)(Celexa[®]);和其它如多塞平(doxepin)(Sinequan[®])和曲唑酮(trazodone)(Desyrel[®])。

[0392] 促胃肠动力剂的实例包括不限于伊托必利(itopride)、奥曲肽(octreotide)、氨甲酰甲胆碱(bethanechol)、甲氧氯普胺(Reglan[®])、多潘立酮(Motilium[®])、红霉素(和其衍生物)和西沙必利(Propulsid[®])。止呕剂的实例包括不限于丙氯拉嗪(prochlorperazine)。

[0393] 可以使用的抗生素的实例包括可以用于治疗幽门螺杆菌(Heliobacter pylori)感染的那些,如阿莫西林(amoxicillin)、四环素、甲硝哒唑(metronidazole)或克拉霉素(clarithromycin)。其它抗生素如红霉素和其衍生物也可以与本文中描述的肽组合使用。

[0394] 质子泵抑制剂的实例包括不限于奥美拉唑(omeprazole)(Prilosec[®])、埃索美拉唑(esomeprazole)(Nexium[®])、兰素拉唑(lansoprazole)(Prevacid[®])、泮托拉唑

(pantoprazole)(Protonix[®])和雷贝拉唑(rabeprazole)(Aciphex[®])。H₂受体阻滞剂的实例包括但不限于西咪替丁(cimetidine)、雷尼替丁(ranitidine)、法莫替丁(famotidine)和尼扎替丁(nizatidine)。酸泵拮抗剂的实例包括但不限于瑞伐拉赞(revaprazan)、CS-526(J.Pharmacol.Exp.Ther.(2007)323:308-317)、PF-03716556(J.Pharmacol.Exp.Ther.(2009)328(2):671-9)和YH1885(Drug Metab.Dispos.(2001)29(1):54-9)。

[0395] PDE5抑制剂的实例包括但不限于阿伐那非(avanafil)、罗地那非(lodenafil)、米罗那非(miroadenafil)、西地那非(sildenafil)柠檬酸盐、他达拉非(tadalafil)、伐地那非(vardenafil)和优地那非(udenafil)。GABA-B激动剂包括但不限于巴氯芬(baclofen)和XP19986(CAS登记号847353-30-4)。胆汁酸螯合剂的实例包括但不限于GT102-279、考来烯胺(cholestyramine)、考来维仑(colesevelam)、考来维仑盐酸盐、熊去氧胆酸、考来替泊(colestipol)、考来替兰(colestilan)、司维拉姆(sevelamer)、与环氧氯丙烷交联的聚二烯丙基胺、交联葡聚糖的二烷基氨基烷基衍生物和N-(环烷基)烷基胺。粘膜保护剂的实例包括但不限于硫糖铝(Carafate)、替普瑞酮(teprenone)、聚普瑞锌(polaprezinc)、西曲酸酯(cetraxate)和水杨酸铋(bismuth subsalicylate)。

[0396] 联合疗法可通过施用两种或两种以上药剂来实现,例如本文描述的GC-C受体激动剂和另一种治疗肽或化合物,其中每种单独地配制和施用,或通过在一个制剂中施用两种或两种以上药剂来实现。组合治疗还涵盖其它组合物。例如,两种药剂可以一起配制并且与含有第三药剂的单独的制剂一起施用。虽然在联合疗法中的两种或两种以上药剂可以同时施用,但是没有必要。例如,第一药剂(或药剂的组合)的施用可以先于第二药剂(或药剂的组合)施用的几分钟、几小时、几天或几周。因此,所述两种或两种以上药剂可以在彼此相差几分钟内;1、2、3、6、9、12、15、18或24小时内;1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、12或14天内;或2、3、4、5、6、7、8、9或10周内施用。在一些情况下甚至可能更长的间隔。虽然多数情况下希望在联合疗法中使用的两种或两种以上药剂可同时存在于患者体内,但是没有必要这样。

[0397] 剂量

[0398] 用于成年人的剂量范围通常可以为口服施用本文中描述的GC-C肽激动剂5μg至100mg/天。片剂、胶囊或以离散单位提供的其它外观形式可以便利地含有一定量的在这些剂量有效的本文中描述的化合物或作为多个相同(例如)含有25μg至2mg或约100μg至1mg的单位。对患者所开处方的化合物的精确量应遵照护理医师。然而,使用的剂量将取决于许多因素,包括患者的年龄和性别、所治疗的准确病症以及其严重程度。

[0399] 在各种实施方案中,剂量单位如下施用:在当天任何时间伴随食物施用、在当天任何时间不伴随食物施用,过夜禁食之后伴随食物施用(例如,伴随早餐施用)、在睡前低脂肪点心之后施用。在一个特定实施方案中,剂量单位在进食(例如,进餐)之前或之后施用。在又一个实施方案中,剂量单位在进食之前大约15分钟至1小时施用。在各种实施方案中,剂量单位每天一次施用、每天两次施用、每天三次施用、每天四次施用、每天五次施用或每天六次施用。在某些实施方案中,剂量单位和日剂量是等价的。

[0400] 在本发明的联合疗法实施方案中,在剂量单位中的两种或两种以上活性成分的各个精确量将取决于各个组分所希望的剂量。因此,制造应根据特定剂量计划表(例如,指定某些单位和特定施用时间的剂量计划表)施用时将递送与如果患者正在只用单一组分治疗所施用的相同剂量的各种组分的剂量单位可能是有用的。在其它情况下,可能希望制造将

递送小于如果患者正在只用单一组分治疗所施用剂量的一种或多种组分的剂量的剂量单位。最后,可能希望制造将递送大于如果患者正在只用单一组分治疗所施用剂量的一种或多种组分的剂量的剂量单位。

[0401] 药物组合物可能包括其它成分,包括但不限于本文中描述的活性成分和赋形剂。在某些实施方案中,所述剂量单位的一种或多种治疗剂可以存在于缓释或控释制剂中并且其它治疗剂可以不存在于缓释制剂中。例如,本文中描述的肽或激动剂可以存在于与可以在或不在控释或缓释制剂中另一种药剂的相同剂量单位中的控释制剂或缓释制剂中。因此,在某些实施方案中,可能希望提供一种或多种本文中描述的药剂的速释,以及一种或多种其它药剂的控释。

[0402] 已经参考其某些示例性实施方案描述了本发明。然而,对本领域技术人员容易显而易见的是,除了上述那些示例性实施方案还可能以特定的形式实施本发明。这可以不脱离本发明的精神而实现。所述示例性实施方案仅仅是说明性的并且都不应该认为是以任何方式限制性的。本发明的范围由附加的权利要求和其等价物来界定,而非由前述说明书界定。

实施例

[0403] 如本文所述的GC-C激动剂肽或其可药用的盐由American Peptide Company (Sunnyvale, CA)通过固相化学合成和自然折叠(空气氧化)制备。所述肽和其序列示于如下(其中所述氨基酸序列是标准的一字母编码并且“dD”是指D-Asp,“dA”是指D-Ala,“dY”是指D-Tyr,“dN”是指D-Asn以及“βA”是指β-Ala):

[0404]

肽名称	氨基酸序列	ID
肽1	CCELCCNPACTGCY	(SEQ ID NO:69)
肽2	CCEFCCNPACTGCY	(SEQ ID NO:70)
肽3	NDDCCEYCCNPACTGCY	(SEQ ID NO:53)
肽4	DDCCEYCCNPACTGCY	(SEQ ID NO:54)
肽5	DDDCCEYCCNPACTGCY	(SEQ ID NO:55)
肽6	dDDDCCEYCCNPACTGCY	(SEQ ID NO:47)
肽7	GDDCCEYCCNPACTGCY	(SEQ ID NO:56)
肽8	PDDCCEYCCNPACTGCY	(SEQ ID NO:57)
肽9	ADDCCCEYCCNPACTGCY	(SEQ ID NO:58)
肽10	dADDCCCEYCCNPACTGCY	(SEQ ID NO:48)
肽11	NDDCCELCCNPACTGCY	(SEQ ID NO:59)
肽12	dNDDCCELCCNPACTGCY	(SEQ ID NO:49)
肽13	ADDCCCELCCNPACTGCY	(SEQ ID NO:60)
肽14	dADDCCCELCCNPACTGCY	(SEQ ID NO:50)
肽15	βADDCCCELCCNPACTGCY	(SEQ ID NO:61)
肽16	DDCCCELCCNPACTGCY	(SEQ ID NO:62)
肽17	DDDCCELCCNPACTGCY	(SEQ ID NO:63)

肽18	PDDCCELCCNPACTGCY	(SEQ ID NO:64)
肽19	GDDCCELCCNPACTGCY	(SEQ ID NO:65)
肽20	DDDCCELCCNPACTGC	(SEQ ID NO:66)
肽21	DDDCCELCCNPACTGCdY	(SEQ ID NO:51)
肽22	EEECCEYCCNPACTGCY	(SEQ ID NO:67)
肽23	dDDDCCELCCNPACTGC	(SEQ ID NO:52)

[0405] 实施例1:用于GC-C活性分析的T84细胞中cGMP的累积

[0406] 分析了T84细胞中的cGMP累积的GC-C活性。为了进行cGMP试验,使 4.5×10^5 细胞/mL的T84细胞在24孔组织培养平板中生长过夜。次日,用1mL的DMEM+20mM MES(pH 5)或DMEM+50mM碳酸氢钠(NaBicarb,pH 8)将T84细胞洗涤两次,其中这些缓冲液不含血清。第二次洗涤之后,使细胞与450 μ L在pH 5或pH 8缓冲液中的1mM异丁基甲基黄嘌呤(IBMx)在37 $^{\circ}$ C下孵育10分钟以抑制任何磷酸二酯酶活性。随后将肽在pH 5或pH 8缓冲液中稀释至10x浓度。将50 μ L肽溶液用T84细胞稀释至500 μ L的最终体积,使各个肽浓度为1x。对在各个试验中检测的在最终肽浓度的各种肽进行十一点曲线分析(以nM计):10000、3000、1000、300、100、30、10、3、1、0.3、0.1。

[0407] 没有用于测定cGMP的内源性水平的肽对照。将肽在37 $^{\circ}$ C下孵育30分钟。30分钟之后,除去上清液并且用0.1M HCl在冰上裂解细胞30min。

[0408] 30分钟之后,用滴管吸取裂解物并且放入96孔HPLC平板并在10,000g下离心10分钟以除去任何细胞碎片。从上述离心物除去上清液并且放入新的96孔HPLC平板中。用等体积1M醋酸铵(pH 7)稀释样品以中和样品用于更好地进行色谱法。在0.1M HCl中制备2 $\times$ cGMP标准曲线并且随后用等体积1M醋酸铵稀释,最终浓度如下(以nM计):1024、512、256、128、64、32、16、8、4、2、1。

[0409] 使用LC/MS参数(以下表1)和计算的标准曲线确定各样品的cGMP浓度。EC₅₀值由用GraphPad Prism Software产生的浓度-响应曲线计算。

[0410] 表1:LC/MS参数

[0411]

MS:	热量子论					
离子模式:	ESI ⁺					
扫描类型:	MRM					
化合物:	转变	驻留时间 (msec)	碰撞能量 (V)	管状透镜	保留时间 (min)	
cGMP	346 > 152	100	28	139	1.0	
HPLC:	Agilent Technologies 1200系列, 带有CTC Analytics HTS PAL					
色谱柱:	Thermo Hypersil Gold 2.1 x 50 mm 5 微米粒径					
流速:	400 uL/min					
柱温:	RT					
自动进样器温度:	6 °C					
注射体积:	20 uL					
流动相:	A = 98:2 水:乙腈+ 0.1%甲酸 B = 2:98 水:乙腈+ 0.1%甲酸					
梯度:	时间 (min)	% A	% B			
	0	100	0			
	0.3	30	70			
	2.00	30	70			
	2.01	100	0			
	4	100	0			

[0412] pH对cGMP产生的影响

[0413] 比较了在pH 5和pH 8下GC-C激动剂肽刺激人T84细胞中cGMP合成的能力。图1示出对于肽1和肽17对T84cGMP剂量响应的影响。表2列出检测的本发明的示例性肽,总结了各种肽在pH 5和pH 8的EC₅₀值。还提供了各种肽在pH 8和pH 5的EC₅₀比率。

[0414] 表2:T84细胞中的cGMP响应

[0415]

肽	EC ₅₀ nM		
	pH 5	pH 8	比率 EC ₅₀ pH 8/EC ₅₀ pH 5
肽 1	13.4	114	8.5
肽 2	74.4	982	13.2
肽 3	170	4310	25.3
肽 4	50.4	2417	48.0
肽 5	66.5	17030	256
肽 6	73.4	10740	146
肽 7	51.3	19670	383

[0416]	肽 8	83.4	4858	58.2
	肽 9	124	9893	79.8
	肽 10	72.2	5513	76.4
	肽 11	154	424	2.7
	肽 12	8.9	855	96.1
	肽 13	10.7	669	62.5
	肽 14	6.9	1147	166.2
	肽 15	6	661	110.2
	肽 16	9.9	266	26.9
	肽 17	12.9	4983	386.2
	肽 18	8.9	1826	205.2
	肽 19	13.7	842	61.5
	肽 20	31	2790	90
	肽 21	26.7	1134	42.4
	肽 22	269	*	**

[0417] *在pH 8的EC₅₀不能定量,但是大于1mM。

[0418] **因为在pH 8的EC₅₀不能定量,所以不能计算EC₅₀pH 8/EC₅₀pH 5的比率。

[0419] 实例2:在T84细胞上的竞争性放射性配体结合

[0420] 使用来自American Type Culture Collection(ATCC;Manassas,VA)的完整人T84细胞进行竞争性放射性配体结合试验。使T84细胞在达尔伯克氏改良伊格尔氏培养基(Dulbecco's Modified Eagle Medium):Ham's F-12 50/50培养基(DMEM/F12)+5%胎牛血清(FBS)中在T-150塑料瓶上以单细胞层生长至60-70%汇合。通过用细胞刮刀轻微刮取收获细胞并且通过在4℃下在2000g离心10分钟收集细胞。通过轻轻地再悬浮在磷酸盐缓冲盐水(PBS)中洗涤细胞两次并且如上所述通过离心收集细胞。

[0421] 通过在0.5mL水中溶解100μg NTFYCCCLCCNPACAGCY(SEQID NO:71)(Enterotoxin STp;Bachem H-6248),将其送到Perkin-Elmer Life and Analytical Sciences(N.Billerica,MA)使用在Marchanalis,J.J.,“An enzymic method for the trace iodination of immunoglobulins and other proteins”,Biochem.J.(1969)113,299-305中讲述的乳过氧化物酶方法来制备[¹²⁵I]-STp放射性配体。Perkin-Elmer通过使用预先用10mM醋酸铵(pH 5.8)平衡的Waters C-18μBondapak柱(25cm)的HPLC纯化了标记的示踪物。在60min内对色谱柱施加0至25%乙腈梯度,随后再进行20min的25%乙腈等梯度洗脱。该方法从彼此和未标记的前体中分离出两种单碘化形式。第二单碘化峰(峰2,其在64min之后洗脱并且对应于第四酪氨酸的碘化)用作试验中的标记的示踪物。所述标记的示踪物具有2200Ci/mmol的比活性。自Perkin-Elmer到来所述示踪物就以小份储存在-20℃下。

[0422] 结合反应在0.2mL含有 2.5×10^5 T84细胞(0.25mg蛋白质)、200,000cpm[¹²⁵I]-STp(41fmol,200pM)、0.1至3,000nM竞争剂和0.5%牛血清白蛋白(BSA)中一式两份地组合。在pH 5.0的结合试验在DMEM/20mM 2-(N-吗啉基)乙烷磺酸(MES)中进行。在pH 8.0的结合试验在DMEM/20mM N-2-羟基乙基哌嗪-N'-2-乙烷磺酸(HEPES)/50mM碳酸氢钠中进行。对照反应不含竞争剂(总)或无细胞。

[0423] 首先制备缓冲溶液,并且随后将无蛋白酶BSA加至0.5%。将放射性配体加至0.001

$\mu\text{Ci}/\mu\text{L}$ 的最终浓度。通过在50mM磷酸钠pH 6.0中将肽溶解至1mg/mL制备竞争剂肽储备溶液。由分析报告提供的肽分子量计算浓度。在含有在结合反应中待检测的肽的20倍最终浓度(20X竞争剂)的50mM磷酸钠(pH 6.0)制备竞争剂稀释物。

[0424] 结合反应按以下顺序组合：

[0425] i. 在缓冲溶液中的放射性配体和BSA。

[0426] ii. 10 μL 的20X竞争剂。

[0427] iii. T84细胞。

[0428] 将结合反应物轻微地混合并在37℃下孵育1小时。通过使用真空抽滤将结合反应物施加到2.5cm Whatman GF/C玻璃纤维过滤器(用在PBS中的1%聚乙烯吡咯烷酮预处理)上使膜结合与游离放射性配体分离。将过滤器用5mL冰冷的PBS缓冲液冲洗两次并且在闪烁计数器中对截留的放射性配体进行测量。特异性结合的测定通过各种样品的结合放射性扣除来自含有过量竞争剂(1 μM)的反应的结合放射性来进行。竞争性放射性配体-结合曲线使用GraphPadPrism(GraphPad Software, San Diego, CA)产生,并且用非线性回归分析数据以计算导致50%放射性配体结合(IC_{50})的竞争剂的浓度。各种竞争剂的表观解离平衡常数(K_i)由 IC_{50} 值和使用Cheng和Prusoff(1973)Biochem. Pharmacol. 22(23):3099-3108的方法获得的预先确定的放射性配体解离常数的估值($K_d \approx 15 \text{ nM}$)来获得。在试验中使用的200pM的放射性配体浓度与其解离常数相比非常小,因此计算的 IC_{50} 和 K_i 值(表3)实际上是相同的。

[0429] 表3:结合亲和力比较

	肽	对 GC-C 的结合亲和力		
		K_i (nM)		比率 K_i pH 8/ K_i pH 5
		pH 5	pH 8	
[0430]	肽 1	2.9	2.0	0.69
	肽 2	5.9	5.7	0.97
	肽 3	14.8	259	17.5
	肽 4	13.5	71.2	5.27
	肽 5	29.3	162	5.52
	肽 6	10.7	70.5	6.59
	肽 9	20.9	26.9	1.29
	肽 10	12.4	48	3.87
	肽 11	2.24	14.4	6.43
	肽 12	2.30	6.2	2.70
	肽 14	4.4	2.3	0.52
	肽 17	4.30	27.3	6.35
	肽 20	8.5	30.6	3.6
	肽 21	7.7	39.4	5.1

[0431] 实施例3:小鼠中的胃肠运输

[0432] 该试验的目的是检测鸟苷酸环化酶C肽对小鼠活体内胃肠运输的影响。已经证明口服施用剂量的鸟苷酸环化酶C激动剂增加小鼠中炭餐的行程%。所述试验可能是所描述

的鸟苷酸环化酶C肽提高患者的小肠中的上GI转运的活性的标志。

[0433] 对于所述试验,使重25-30g的雌性CD-1小鼠(每组n=10)禁食过夜并且给予不限量的水。将活性炭(20g;100目;Sigmacat#242276)悬浮在200mL阿拉伯胶中(100mg/mL)并且搅拌至少一小时。在20mM Tris(pH 6.9)煤介物中制备检测肽。

[0434] 通过经口灌胃施用200μL剂量的检测肽和煤介物。施用所述检测肽七分钟之后,通过经口灌胃施用200μL炭/阿拉伯胶混悬剂。15分钟之后,通过超剂量CO₂处死小鼠。自食管至盲肠除去胃肠道。自幽门接合处至回盲肠接合处测量小肠的总长。自幽门接合处至炭前沿测量炭的行程。按(炭行程/小肠总长)×100确定行程(%)。将数据输入GraphPad Prism软件程序并使用Bonferroni事后多重比较检验通过ANOVA分析。同样使用GraphPad Prism软件包确定数据图和ED₅₀。

[0435] 在雌性CD小鼠中确定急性剂量的示例性肽对GI运输的剂量依赖性影响。表示为小肠总长的百分比的七分钟之后的炭前沿的行程用于计算ED₅₀值(表4)。

[0436] 表4:示例性肽在小鼠胃肠运输试验中的效价。

[0437]

肽	ED ₅₀ μg/kg
肽1	0.43
肽2	2.06
肽4	6.3
肽5	7.54
肽10	13.7
肽14	3.04
肽17	2.9

[0438] 实施例4:对啮齿类动物结扎肠环(ligated intestinal loops)中cGMP水平和分泌的影响

[0439] 通过直接向野生型大鼠的分离的环(isolated loop)注射本文中描述的GC-C激动剂肽来研究GC-C激动剂肽对分泌的影响。这通过外科手术结扎各个大鼠的小肠中的三个环完成。结扎环形成的方法与在London等,(1997)Am J Physiol,p.G93-105中描述的相似。所述环大致居中并且长度为1-3cm。对所述环注射200μL肽/GC-C激动剂(0.1-5μg)或煤介物(20mM Tris,pH 7.5或Krebs Ringer,10mM Glucose,HEPES缓冲液(KRGH))。最多90分钟的恢复时间之后切除所述环。除去各个环中含有的液体前后记录各个环的重量。也记录各个环的长度。计算各个环的重量与长度的比率(W/L)以确定本文中描述的GC-C激动剂肽对分泌的影响。也确定环液体体积。显示来自每个环注射2.5μg肽之后的大鼠结扎十二指肠环的液体和碳酸氢钠分泌增加的数据在表5中提供。

[0440] 表5:大鼠肠环中液体和十二指肠碳酸氢钠的分泌

[0441]	肽	液体累积速率 $\mu\text{L}/\text{min}/\text{cm}$	HCO_3^- 累积速率 $\text{neq}/\text{min}/\text{cm}$
	媒介物	0.5	10
	肽 1	2.0	80
	肽 2	2.0	80
	肽 4	2.0	80
	肽 17	1.8	NA

[0442] 其它实施例

[0443] 在本公开中引用的所有公布和专利均以引用方式并入本文,其程度如同特定地和个别地指出各个单独的公布或专利申请以引用方式并入。如若在以引用方式并入的任何专利或公布中的术语的含义与本公开中使用的术语的含义有冲突,则希望以本公开中的术语的含义为准。此外,上述讨论仅公开和描述本发明的示例性实施方案。本领域技术人员将容易地从这些讨论以及附图和权利要求书中认识到,可以在不脱离在以下权利要求书中界定的本发明的精神和范围情况下而进行各种改变、修改和变化。

序列表

<110> IRONWOOD PHARMACEUTICALS, INC.

Currie, Mark G.

Zimmer, Daniel P.

Fretzen, Angelika

Kessler, Marco

Cali, Brian M.

<120> 用于胃肠病症的治疗

<130> 223355-076PCT1-305639

<140> PCT/US2010/xxxxxx

<141> 2010-12-02

<150> US 61/267,316

<151> 2009-12-07

<160> 71

<170> PatentIn 3.5 版

<210> 1

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Xaa1为Asn、D-Asn、Gln、D-Gln、Pro、D-Pro、Ala、 β -Ala、
D-Ala、Val、D-Val、Gly、Thr、D-Thr、Asp、D-Asp、 β -羧基化
Asp、Glu、D-Glu、 γ -羧基化Glu、 α -氨基辛二酸

(Asu)、 α -氨基己二酸(Aad)或 α -氨基庚二酸

<220>

<221> 变体

<222> (1)..(1)

<223> Xaa1可以在其氨基上被甲基、乙二酸、丙二酸、丁二酸、戊二酸、己二酸、庚二酸或辛二酸修饰

<220>

<221> 变体

<222> (1)..(1)

<223> 如果Xaa2和Xaa3都不存在,那么Xaa1必须为 β -羧基化Asp或 γ -羧基化Glu,或Xaa1必须为Asp、D-Asp、Glu、D-Glu、Asu、Aad或Apm,并且必须在其氨基上被...<接下>

<220>

<221> 变体

<222> (1)..(1)

<223> <接上>...乙二酸、丙二酸、丁二酸、戊二酸、己二酸、庚二酸或辛二酸修饰。

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(3)

<223> Xaa2和Xaa 3独立地是Asp、 β -羧基化Asp、Glu、 γ -羧基化Glu、Asu、Aad、Apm或不存在

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (4)..(4)

<223> Xaa4为Cys或D-Cys

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (6)..(6)

<223> Xaa6为Asp或Glu

<220>

<221> MISC_FEATURE
<222> (7)..(7)
<223> Xaa7为Tyr、Leu、Phe或Ile

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (8)..(8)
<223> Xaa8为Cys或D-Cys

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (14)..(14)
<223> Xaa14为Thr、Ala或Phe

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (16)..(16)
<223> Xaa16为Cys或D-Cys

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (17)..(17)
<223> Xaa17为Tyr、D-Tyr或不存在

<400> 1

Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Cys	Xaa	Xaa	Xaa	Cys	Asn	Pro	Ala	Cys	Xaa	Gly	Xaa
1				5					10					15	

Xaa

<210> 2
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Xaa1为Asn、D-Asn、Gln、D-Gln、Pro、D-Pro、Ala、 β -Ala、D-Ala、
Val、D-Val、Gly、Thr、D-Thr、Asp、D-Asp、Glu或D-Glu

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> Xaa2为Asp或Glu

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (3)..(3)

<223> Xaa3为Asp或Glu或不存在

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (7)..(7)

<223> Xaa7为Tyr或Leu

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (17)..(17)

<223> Xaa17为Tyr或不存在

<400> 2

Xaa	Xaa	Xaa	Cys	Cys	Glu	Xaa	Cys	Cys	Asn	Pro	Ala	Cys	Thr	Gly	Cys
1				5					10					15	

Xaa

<210> 3
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> L-氨基酸残基或D-氨基酸残基

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (15)..(15)
<223> L-氨基酸残基或D-氨基酸残基

<400> 3

Asp	Asp	Cys	Cys	Glu	Leu	Cys	Cys	Asn	Pro	Ala	Cys	Thr	Gly	Cys
1				5					10					15

<210> 4
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> L-氨基酸残基或D-氨基酸残基

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (15)..(15)

<223> L-氨基酸残基或D-氨基酸残基

<400> 4

Asp	Asp	Cys	Cys	Glu	Tyr	Cys	Cys	Asn	Pro	Ala	Cys	Thr	Gly	Cys
1				5				10					15	

<210> 5

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> L-氨基酸残基或D-氨基酸残基

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (16)..(16)

<223> L-氨基酸残基或D-氨基酸残基

<400> 5

Asp	Asp	Cys	Cys	Glu	Leu	Cys	Cys	Asn	Pro	Ala	Cys	Thr	Gly	Cys	Tyr
1				5				10					15		

<210> 6

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> L-氨基酸残基或D-氨基酸残基

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (16)..(16)

<223> L-氨基酸残基或D-氨基酸残基

<400> 6

Asp Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr

1

5

10

15

<210> 7

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> L-氨基酸残基或D-氨基酸残基

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (16)..(16)

<223> L-氨基酸残基或D-氨基酸残基

<400> 7

Asn	Asp	Asp	Cys	Cys	Glu	Leu	Cys	Cys	Asn	Pro	Ala	Cys	Thr	Gly	Cys
1				5					10					15	

<210> 8

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> L-氨基酸残基或D-氨基酸残基

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (16)..(16)

<223> L-氨基酸残基或D-氨基酸残基

<400> 8

Asn	Asp	Asp	Cys	Cys	Glu	Tyr	Cys	Cys	Asn	Pro	Ala	Cys	Thr	Gly	Cys
1				5					10					15	

<210> 9

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> L-氨基酸残基或D-氨基酸残基

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (17)..(17)

<223> L-氨基酸残基或D-氨基酸残基

<400> 9

Asn Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys

1

5

10

15

Tyr

<210> 10

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> L-氨基酸残基或D-氨基酸残基

<220>

<221> MISC_FEATURE
<222> (17)..(17)
<223> L-氨基酸残基或D-氨基酸残基

<400> 10

Asn Asp Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys
1 5 10 15

Tyr

<210> 11
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> L-氨基酸残基或D-氨基酸残基

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (16)..(16)
<223> L-氨基酸残基或D-氨基酸残基

<400> 11

Ala Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys
1 5 10 15

<210> 12
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> L-氨基酸残基或D-氨基酸残基

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (16)..(16)
<223> L-氨基酸残基或D-氨基酸残基

<400> 12

Ala	Asp	Asp	Cys	Cys	Glu	Tyr	Cys	Cys	Asn	Pro	Ala	Cys	Thr	Gly	Cys
1			5					10						15	

<210> 13
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列

<220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
<223> bAla

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (16)..(16)

<223> L-氨基酸残基或D-氨基酸残基

<400> 13

Ala	Asp	Asp	Cys	Cys	Glu	Leu	Cys	Cys	Asn	Pro	Ala	Cys	Thr	Gly	Cys
1				5					10					15	

<210> 14

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<220>

<221> MOD_RES

<222> (1)..(1)

<223> bAla

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (16)..(16)

<223> L-氨基酸残基或D-氨基酸残基

<400> 14

Ala	Asp	Asp	Cys	Cys	Glu	Tyr	Cys	Cys	Asn	Pro	Ala	Cys	Thr	Gly	Cys
1				5					10					15	

<210> 15

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> L-氨基酸残基或D-氨基酸残基

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (17)..(17)

<223> L-氨基酸残基或D-氨基酸残基

<400> 15

Ala Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys
1 5 10 15

Tyr

<210> 16

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> L-氨基酸残基或D-氨基酸残基

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (17)..(17)

<223> L-氨基酸残基或D-氨基酸残基

<400> 16

Ala	Asp	Asp	Cys	Cys	Glu	Tyr	Cys	Cys	Asn	Pro	Ala	Cys	Thr	Gly	Cys
1			5					10						15	

Tyr

<210> 17

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<220>

<221> MOD_RES

<222> (1)..(1)

<223> bAla

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (17)..(17)

<223> L-氨基酸残基或D-氨基酸残基

<400> 17

Ala	Asp	Asp	Cys	Cys	Glu	Leu	Cys	Cys	Asn	Pro	Ala	Cys	Thr	Gly	Cys
1			5					10						15	

Tyr

<210> 18

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<220>

<221> MOD_RES

<222> (1)..(1)

<223> bAla

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (17)..(17)

<223> L-氨基酸残基或D-氨基酸残基

<400> 18

Ala Asp Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys

1

5

10

15

Tyr

<210> 19

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> L-氨基酸残基或D-氨基酸残基

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (16)..(16)

<223> L-氨基酸残基或D-氨基酸残基

<400> 19

Pro	Asp	Asp	Cys	Cys	Glu	Leu	Cys	Cys	Asn	Pro	Ala	Cys	Thr	Gly	Cys
1				5					10					15	

<210> 20

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> L-氨基酸残基或D-氨基酸残基

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (16)..(16)

<223> L-氨基酸残基或D-氨基酸残基

<400> 20

Pro	Asp	Asp	Cys	Cys	Glu	Tyr	Cys	Cys	Asn	Pro	Ala	Cys	Thr	Gly	Cys
1				5					10					15	

<210> 21

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> L-氨基酸残基或D-氨基酸残基

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (17)..(17)

<223> L-氨基酸残基或D-氨基酸残基

<400> 21

Pro	Asp	Asp	Cys	Cys	Glu	Leu	Cys	Cys	Asn	Pro	Ala	Cys	Thr	Gly	Cys
1				5					10					15	

Tyr

<210> 22

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> L-氨基酸残基或D-氨基酸残基

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (17)..(17)

<223> L-氨基酸残基或D-氨基酸残基

<400> 22

Pro Asp Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys
1 5 10 15

Tyr

<210> 23

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> L-氨基酸残基或D-氨基酸残基

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (16)..(16)

<223> L-氨基酸残基或D-氨基酸残基

<400> 23

Thr	Asp	Asp	Cys	Cys	Glu	Leu	Cys	Cys	Asn	Pro	Ala	Cys	Thr	Gly	Cys
1				5					10					15	

<210> 24

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> L-氨基酸残基或D-氨基酸残基

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (16)..(16)

<223> L-氨基酸残基或D-氨基酸残基

<400> 24

Thr	Asp	Asp	Cys	Cys	Glu	Tyr	Cys	Cys	Asn	Pro	Ala	Cys	Thr	Gly	Cys
1				5					10					15	

<210> 25

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> L-氨基酸残基或D-氨基酸残基

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (17)..(17)

<223> L-氨基酸残基或D-氨基酸残基

<400> 25

Thr Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys

1

5

10

15

Tyr

<210> 26

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> L-氨基酸残基或D-氨基酸残基

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (17)..(17)

<223> L-氨基酸残基或D-氨基酸残基

<400> 26

Thr	Asp	Asp	Cys	Cys	Glu	Tyr	Cys	Cys	Asn	Pro	Ala	Cys	Thr	Gly	Cys
1			5						10					15	

Tyr

<210> 27

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (16)..(16)

<223> L-氨基酸残基或D-氨基酸残基

<400> 27

Gly	Asp	Asp	Cys	Cys	Glu	Leu	Cys	Cys	Asn	Pro	Ala	Cys	Thr	Gly	Cys
1			5						10					15	

<210> 28

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (16)..(16)

<223> L-氨基酸残基或D-氨基酸残基

<400> 28

Gly	Asp	Asp	Cys	Cys	Glu	Tyr	Cys	Cys	Asn	Pro	Ala	Cys	Thr	Gly	Cys
1				5					10					15	

<210> 29

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (17)..(17)

<223> L-氨基酸残基或D-氨基酸残基

<400> 29

Gly	Asp	Asp	Cys	Cys	Glu	Leu	Cys	Cys	Asn	Pro	Ala	Cys	Thr	Gly	Cys
1				5					10					15	

Tyr

<210> 30
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (17)..(17)
<223> L-氨基酸残基或D-氨基酸残基

<400> 30

Gly Asp Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys
1 5 10 15

Tyr

<210> 31
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)

<223> L-氨基酸残基或D-氨基酸残基

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (16)..(16)

<223> L-氨基酸残基或D-氨基酸残基

<400> 31

Asp	Asp	Asp	Cys	Cys	Glu	Leu	Cys	Cys	Asn	Pro	Ala	Cys	Thr	Gly	Cys
1			5						10					15	

<210> 32

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> L-氨基酸残基或D-氨基酸残基

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (16)..(16)

<223> L-氨基酸残基或D-氨基酸残基

<400> 32

Asp	Asp	Asp	Cys	Cys	Glu	Tyr	Cys	Cys	Asn	Pro	Ala	Cys	Thr	Gly	Cys
1			5						10					15	

<210> 33

<211> 17
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(1)
 <223> L-氨基酸残基或D-氨基酸残基

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (17)..(17)
 <223> L-氨基酸残基或D-氨基酸残基

<400> 33

Asp	Asp	Asp	Cys	Cys	Glu	Leu	Cys	Cys	Asn	Pro	Ala	Cys	Thr	Gly	Cys
1				5					10					15	

Tyr

<210> 34
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列

<220>
 <221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> L-氨基酸残基或D-氨基酸残基

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (17)..(17)

<223> L-氨基酸残基或D-氨基酸残基

<400> 34

Asp	Asp	Asp	Cys	Cys	Glu	Tyr	Cys	Cys	Asn	Pro	Ala	Cys	Thr	Gly	Cys
1				5					10					15	

Tyr

<210> 35

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (15)..(15)

<223> L-氨基酸残基或D-氨基酸残基

<400> 35

Glu	Glu	Cys	Cys	Glu	Leu	Cys	Cys	Asn	Pro	Ala	Cys	Thr	Gly	Cys
1				5				10					15	

<210> 36

<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> L-氨基酸残基或D-氨基酸残基

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (15)..(15)
<223> L-氨基酸残基或D-氨基酸残基

<400> 36

Glu Glu Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys
1 5 10 15

<210> 37
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> L-氨基酸残基或D-氨基酸残基

<220>

<221> MISC_FEATURE
<222> (16)..(16)
<223> L-氨基酸残基或D-氨基酸残基

<400> 37

Glu	Glu	Cys	Cys	Glu	Leu	Cys	Cys	Asn	Pro	Ala	Cys	Thr	Gly	Cys	Tyr
1				5					10					15	

<210> 38
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> L-氨基酸残基或D-氨基酸残基

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (16)..(16)
<223> L-氨基酸残基或D-氨基酸残基

<400> 38

Glu	Glu	Cys	Cys	Glu	Tyr	Cys	Cys	Asn	Pro	Ala	Cys	Thr	Gly	Cys	Tyr
1				5					10					15	

<210> 39
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> L-氨基酸残基或D-氨基酸残基

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (16)..(16)

<223> L-氨基酸残基或D-氨基酸残基

<400> 39

Glu	Glu	Glu	Cys	Cys	Glu	Leu	Cys	Cys	Asn	Pro	Ala	Cys	Thr	Gly	Cys
1				5					10					15	

<210> 40

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> L-氨基酸残基或D-氨基酸残基

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (16)..(16)

<223> L-氨基酸残基或D-氨基酸残基

<400> 40

Glu Glu Glu Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys
1 5 10 15

<210> 41

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> L-氨基酸残基或D-氨基酸残基

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (17)..(17)

<223> L-氨基酸残基或D-氨基酸残基

<400> 41

Glu Glu Glu Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys
1 5 10 15

Tyr

<210> 42

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> L-氨基酸残基或D-氨基酸残基

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (17)..(17)

<223> L-氨基酸残基或D-氨基酸残基

<400> 42

Glu Glu Glu Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys
1 5 10 15

Tyr

<210> 43

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> L-氨基酸残基或D-氨基酸残基

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (15)..(15)

<223> L-氨基酸残基或D-氨基酸残基

<400> 43

Glu Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys
1 5 10 15

<210> 44

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> L-氨基酸残基或D-氨基酸残基

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (15)..(15)

<223> L-氨基酸残基或D-氨基酸残基

<400> 44

Glu Asp Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys
1 5 10 15

<210> 45

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> L-氨基酸残基或D-氨基酸残基

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (16)..(16)

<223> L-氨基酸残基或D-氨基酸残基

<400> 45

Glu Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr

1

5

10

15

<210> 46

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> L-氨基酸残基或D-氨基酸残基

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (16)..(16)

<223> L-氨基酸残基或D-氨基酸残基

<400> 46

Glu	Asp	Cys	Cys	Glu	Tyr	Cys	Cys	Asn	Pro	Ala	Cys	Thr	Gly	Cys	Tyr
1				5					10					15	

<210> 47

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> D氨基酸

<400> 47

Asp	Asp	Asp	Cys	Cys	Glu	Tyr	Cys	Cys	Asn	Pro	Ala	Cys	Thr	Gly	Cys
1					5					10					15

Tyr

<210> 48

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> D氨基酸

<400> 48

Ala	Asp	Asp	Cys	Cys	Glu	Tyr	Cys	Cys	Asn	Pro	Ala	Cys	Thr	Gly	Cys
1				5					10					15	

Tyr

<210> 49

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> D氨基酸

<400> 49

Asn	Asp	Asp	Cys	Cys	Glu	Leu	Cys	Cys	Asn	Pro	Ala	Cys	Thr	Gly	Cys
1				5					10					15	

Tyr

<210> 50
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> D氨基酸

<400> 50

Ala	Asp	Asp	Cys	Cys	Glu	Leu	Cys	Cys	Asn	Pro	Ala	Cys	Thr	Gly	Cys
1			5				10						15		

Tyr

<210> 51
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (17)..(17)

<223> D氨基酸

<400> 51

Asp	Asp	Asp	Cys	Cys	Glu	Leu	Cys	Cys	Asn	Pro	Ala	Cys	Thr	Gly	Cys
1			5						10					15	

Tyr

<210> 52

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> D氨基酸

<400> 52

Asp	Asp	Asp	Cys	Cys	Glu	Leu	Cys	Cys	Asn	Pro	Ala	Cys	Thr	Gly	Cys
1			5						10					15	

<210> 53

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<400> 53

Asn	Asp	Asp	Cys	Cys	Glu	Tyr	Cys	Cys	Asn	Pro	Ala	Cys	Thr	Gly	Cys
1				5					10					15	

Tyr

<210> 54

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<400> 54

Asp	Asp	Cys	Cys	Glu	Tyr	Cys	Cys	Asn	Pro	Ala	Cys	Thr	Gly	Cys	Tyr
1				5				10						15	

<210> 55

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<400> 55

Asp	Asp	Asp	Cys	Cys	Glu	Tyr	Cys	Cys	Asn	Pro	Ala	Cys	Thr	Gly	Cys
1				5					10					15	

Tyr

<210> 56

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<400> 56

Gly	Asp	Asp	Cys	Cys	Glu	Tyr	Cys	Cys	Asn	Pro	Ala	Cys	Thr	Gly	Cys
1			5						10					15	

Tyr

<210> 57

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<400> 57

Pro	Asp	Asp	Cys	Cys	Glu	Tyr	Cys	Cys	Asn	Pro	Ala	Cys	Thr	Gly	Cys
1			5						10					15	

Tyr

<210> 58
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列

<400> 58

Ala	Asp	Asp	Cys	Cys	Glu	Tyr	Cys	Cys	Asn	Pro	Ala	Cys	Thr	Gly	Cys
1				5					10					15	

Tyr

<210> 59
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列

<400> 59

Asn	Asp	Asp	Cys	Cys	Glu	Leu	Cys	Cys	Asn	Pro	Ala	Cys	Thr	Gly	Cys
1				5					10					15	

Tyr

<210> 60
<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<400> 60

Ala	Asp	Asp	Cys	Cys	Glu	Leu	Cys	Cys	Asn	Pro	Ala	Cys	Thr	Gly	Cys
1			5				10					15			

Tyr

<210> 61

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<220>

<221> MOD_RES

<222> (1)..(1)

<223> bAla

<400> 61

Ala	Asp	Asp	Cys	Cys	Glu	Leu	Cys	Cys	Asn	Pro	Ala	Cys	Thr	Gly	Cys
1			5				10					15			

Tyr

<210> 62
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列

<400> 62

Asp	Asp	Cys	Cys	Glu	Leu	Cys	Cys	Asn	Pro	Ala	Cys	Thr	Gly	Cys	Tyr
1				5					10					15	

<210> 63
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列

<400> 63

Asp	Asp	Asp	Cys	Cys	Glu	Leu	Cys	Cys	Asn	Pro	Ala	Cys	Thr	Gly	Cys
1				5					10					15	

Tyr

<210> 64
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<400> 64

Pro	Asp	Asp	Cys	Cys	Glu	Leu	Cys	Cys	Asn	Pro	Ala	Cys	Thr	Gly	Cys
1				5					10					15	

Tyr

<210> 65

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<400> 65

Gly	Asp	Asp	Cys	Cys	Glu	Leu	Cys	Cys	Asn	Pro	Ala	Cys	Thr	Gly	Cys
1				5					10					15	

Tyr

<210> 66

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<400> 66

Asp Asp Asp Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys
1 5 10 15

<210> 67

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<400> 67

Glu Glu Glu Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys
1 5 10 15

Tyr

<210> 68

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Xaa1为Asn、D-Asn、Gln、D-Gln、Pro、D-Pro、Ala、β-Ala、D-Ala、
Val、D-Val、Gly、Thr、D-Thr、Asp、D-Asp、Glu或D-Glu

<220>

<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> Xaa3为Asp或不存在

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (7)..(7)
<223> Xaa7为Tyr或Leu

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (17)..(17)
<223> Xaa17为Tyr或不存在

<400> 68

Xaa	Asp	Xaa	Cys	Cys	Glu	Xaa	Cys	Cys	Asn	Pro	Ala	Cys	Thr	Gly	Cys
1			5						10					15	

Xaa

<210> 69
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> (肽1)

<400> 69

Cys	Cys	Glu	Leu	Cys	Cys	Asn	Pro	Ala	Cys	Thr	Gly	Cys	Tyr
1			5						10				

<210> 70

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> (肽2)

<400> 70

Cys Cys Glu Phe Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr

1 5 10

<210> 71

<211> 18

<212> PRT

<213> 大肠杆菌(Escherichia coli)

<400> 71

Asn Thr Phe Tyr Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Ala Gly

1 5 10 15

Cys Tyr

图 1. 肽1和肽17在T84 cGMP试验中在pH 5和pH 8下的剂量响应

