



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 108040482 B

(45) 授权公告日 2022. 03. 29

(21) 申请号 201680032088.2	A61K 38/10 (2006.01)
(22) 申请日 2016.04.29	A61P 35/00 (2006.01)
(65) 同一申请的已公布的文献号	A61P 1/10 (2006.01)
申请公布号 CN 108040482 A	A61P 1/14 (2006.01)
(43) 申请公布日 2018.05.15	A61P 1/00 (2006.01)
(30) 优先权数据	A61P 29/00 (2006.01)
62/156077 2015.05.01 US	A61P 15/00 (2006.01)
(85) PCT国际申请进入国家阶段日	A61P 13/08 (2006.01)
2017.12.01	A61P 13/10 (2006.01)
(86) PCT国际申请的申请数据	A61P 15/08 (2006.01)
PCT/US2016/030061 2016.04.29	(56) 对比文件
(87) PCT国际申请的公布数据	CN 102869677 A,2013.01.09
W02016/178979 EN 2016.11.10	WO 2014131024 A2,2014.08.28
(73) 专利权人 硬木药品公司	Mohammed Akhter Hossai等.Solid phase
地址 美国麻萨诸塞州	synthesis and structural analysis of
(72) 发明人 M.G. 卡里 R. 索林加 C. 莱泰泽	novel A-chain dicarba analogs of human
(74) 专利代理机构 中国专利代理 (香港) 有限公	relaxin-3 (INSL7) that exhibit full
司 72001	biological activity.《Organic &
代理人 任晓华 罗文锋	Biomolecular Chemistry》.2009,
(51) Int.Cl.	审查员 王雪
C07K 7/08 (2006.01)	权利要求书3页 说明书41页
	序列表54页 附图26页

(54) 发明名称

用于结肠清洁和胃肠病症治疗的组合物

(57) 摘要

本发明提供可用于治疗胃肠病症或用于结肠清洁的肽和组合物。本发明还提供了治疗胃肠病症的组合物和方法用于实现其的药物组合物。在一些实施方案中,这些药物组合物包括口服剂型。

1. 一种肽或其药学上可接受的盐,其中所述肽由以下氨基酸序列组成:

(SEQ ID NO:65) H-Cys Cth Glu Leu Cys Cys Asn Val Ala Cys Tyr Gly Cys Tyr-NH₂;

(SEQ ID NO:69) Ac-Cys Cth Glu Leu Cys Cys Asn Val Ala Cys Tyr Gly Cys-COOH;

(SEQ ID NO:70) H-Cys Cth Glu Leu Cys Cys Asn Val Ala Cys Tyr Gly Cys-COOH;
或

(SEQ ID NO:78) 4-Mepip-Cys Cth Glu Leu Cys Cys Asn Val Ala Cys Tyr Gly Cys-COOH;

其中4-Mepip是1-甲基-哌啶-4-甲酸,且Cth是胱硫醚。

2. 根据权利要求1所述的肽或其药学上可接受的盐,其中所述肽由以下氨基酸序列组成:

(SEQ ID NO:69) Ac-Cys Cth Glu Leu Cys Cys Asn Val Ala Cys Tyr Gly Cys-COOH;或

(SEQ ID NO:70) H-Cys Cth Glu Leu Cys Cys Asn Val Ala Cys Tyr Gly Cys-COOH。

3. 根据权利要求1所述的肽或其药学上可接受的盐,其中所述肽由以下氨基酸序列组成:

(SEQ ID NO:69) Ac-Cys Cth Glu Leu Cys Cys Asn Val Ala Cys Tyr Gly Cys-COOH,其中Cth是胱硫醚。

4. 一种肽或其药学上可接受的盐,其中所述肽由以下氨基酸序列组成:

(SEQ ID NO:65) H-Cys Cth Glu Leu Cys Cys Asn Val Ala Cys Tyr Gly Cys Tyr-NH₂,其中Cth是胱硫醚。

5. 一种肽或其药学上可接受的盐,其中所述肽由以下氨基酸序列组成:

(SEQ ID NO:69) Ac-Cys Cth Glu Leu Cys Cys Asn Val Ala Cys Tyr Gly Cys-COOH,其中Cth是胱硫醚。

6. 一种肽或其药学上可接受的盐,其中所述肽由以下氨基酸序列组成:

(SEQ ID NO:70) H-Cys Cth Glu Leu Cys Cys Asn Val Ala Cys Tyr Gly Cys-COOH。

7. 一种包含肽或其药学上可接受的盐与至少一种药学上可接受的赋形剂、稀释剂或载体的药物组合物,其中所述肽或其药学上可接受的盐由以下氨基酸序列组成:

(SEQ ID NO:65) H-Cys Cth Glu Leu Cys Cys Asn Val Ala Cys Tyr Gly Cys Tyr-NH₂;

(SEQ ID NO:69) Ac-Cys Cth Glu Leu Cys Cys Asn Val Ala Cys Tyr Gly Cys-COOH;

(SEQ ID NO:70) H-Cys Cth Glu Leu Cys Cys Asn Val Ala Cys Tyr Gly Cys-COOH;
或

(SEQ ID NO:78) 4-Mepip-Cys Cth Glu Leu Cys Cys Asn Val Ala Cys Tyr Gly Cys-COOH;

其中4-Mepip是1-甲基-哌啶-4-甲酸,且Cth是胱硫醚。

8. 根据权利要求7所述的药物组合物,其中所述肽或其药学上可接受的盐由以下氨基

酸序列组成：

(SEQ ID NO:69) Ac-Cys Cth Glu Leu Cys Cys Asn Val Ala Cys Tyr Gly Cys-COOH; 或

(SEQ ID NO:70) H-Cys Cth Glu Leu Cys Cys Asn Val Ala Cys Tyr Gly Cys-COOH。

9. 根据权利要求7所述的药物组合物, 其中所述肽或其药学上可接受的盐由以下氨基酸序列组成：

(SEQ ID NO:69) Ac-Cys Cth Glu Leu Cys Cys Asn Val Ala Cys Tyr Gly Cys-COOH。

10. 根据权利要求7-9中任一项所述的药物组合物, 其中所述药物组合物是固体剂量制剂。

11. 根据权利要求10所述的药物组合物, 其中所述药物组合物被配制为口服固体剂量制剂。

12. 一种用于清洁准备进行结肠镜检查程序的受试者的结肠的结肠清洁组合物, 其中所述结肠镜检查程序包括向所述受试者施用有效剂量的结肠清洁组合物；

其中所述结肠清洁组合物包含药学上可接受的赋形剂、稀释剂或载体, 以及肽或其药学上可接受的盐, 其中所述肽或其药学上可接受的盐由以下氨基酸序列组成：

(SEQ ID NO:65) H-Cys Cth Glu Leu Cys Cys Asn Val Ala Cys Tyr Gly Cys Tyr-NH₂；

(SEQ ID NO:69) Ac-Cys Cth Glu Leu Cys Cys Asn Val Ala Cys Tyr Gly Cys-COOH；

(SEQ ID NO:70) H-Cys Cth Glu Leu Cys Cys Asn Val Ala Cys Tyr Gly Cys-COOH；
或

(SEQ ID NO:78) 4-Mepip-Cys Cth Glu Leu Cys Cys Asn Val Ala Cys Tyr Gly Cys-COOH；

其中4-Mepip是1-甲基-哌啶-4-甲酸, 且Cth是胱硫醚。

13. 根据权利要求12所述使用的结肠清洁组合物, 其中所述结肠镜检查程序还包括：

- a. 向所述受试者口服或经直肠施用有效的第一剂量的所述结肠清洁组合物；和
- b. 向所述受试者施用有效的第二剂量的所述结肠清洁组合物以基本上清洁所述受试者的结肠。

14. 根据权利要求13所述使用的结肠清洁组合物, 其中所述有效的第二剂量是在施用所述有效的第一剂量之后的早晨施用的。

15. 根据权利要求12所述的结肠清洁组合物, 其中所述结肠清洁组合物包含肽或其药学上可接受的盐, 其由以下氨基酸序列组成：

(SEQ ID NO:69) Ac-Cys Cth Glu Leu Cys Cys Asn Val Ala Cys Tyr Gly Cys-COOH; 或

(SEQ ID NO:70) H-Cys Cth Glu Leu Cys Cys Asn Val Ala Cys Tyr Gly Cys-COOH。

16. 根据权利要求12所述使用的结肠清洁组合物, 其中所述结肠清洁组合物包含肽或其药学上可接受的盐, 其由以下氨基酸序列组成：

(SEQ ID NO:69) Ac-Cys Cth Glu Leu Cys Cys AsnVal Ala Cys Tyr Gly Cys-COOH。

17. 一种产生如权利要求1-16中任一项所述的肽的方法,其包括提供具有编码所述多肽的核酸分子的细胞,在表达所述肽的条件下培养所述细胞,以及分离所述表达的肽。

18. 一种产生如权利要求1-16中任一项所述的肽的方法,其包括化学合成所述肽并纯化所述合成的肽。

19. 权利要求1-16中任一项所述的肽在制备用于治疗胃肠或内脏病症的药物中的用途。

20. 权利要求1-16中任一项所述的肽在制备药物中的用途,所述药物用于治疗选自结肠癌、遗传性非息肉性结肠直肠癌(HNPCC)、林奇综合征、胃轻瘫(GP)、息肉、疼痛、一般性腹痛、手术后肠梗阻、阿片样物质诱发的便秘、功能性消化不良、憩室疾病包括但不限于SUDD(症状性无并发症性憩室疾病)和SCAD(与憩室病相关的节段性结肠炎)、憩室病、腹泻型肠易激综合征、与肠易激综合征(IRS)相关的疼痛、溃疡性结肠炎、溃疡性直肠炎、克罗恩氏病、炎性肠病(IRS)、慢性或急性放射性原发病、直肠疼痛、慢性肛痛、痉挛性肛部痛、肛痛、慢性肛裂、术后肛门疼痛、膀胱过度活动综合征、压力性尿失禁、间质性膀胱炎、膀胱疼痛综合征、结肠直肠癌、与癌症相关的疼痛、一般性盆腔疼痛、子宫内膜异位症、睾丸痛、慢性前列腺炎、前列腺痛、外阴疼痛、尿道综合征、阴茎疼痛、肛周疼痛及其它胃肠和内脏病症的病症。

21. 一种药物组合物在制备药物中的用途,所述药物用于清洁准备进行结肠镜检查程序的受试者的结肠,其中所述药物组合物包含药学上可接受的赋形剂、稀释剂或载体,以及肽或其药学上可接受的盐,其中所述肽或其药学上可接受的盐包含氨基酸序列:

(SEQ ID NO:65)H-Cys Cth Glu Leu Cys Cys Asn Val Ala Cys Tyr Gly Cys Tyr-NH₂;

(SEQ ID NO:69)Ac-Cys Cth Glu Leu Cys Cys Asn Val Ala Cys Tyr Gly Cys-COOH;

(SEQ ID NO:70)H-Cys Cth Glu Leu Cys Cys Asn Val Ala Cys Tyr Gly Cys-COOH;
或

(SEQ ID NO:78)4-Mepip-Cys Cth Glu Leu Cys Cys Asn Val Ala Cys Tyr Gly Cys-COOH;

其中4-Mepip是1-甲基-哌啶-4-甲酸,且Cth是胱硫醚。

用于结肠清洁和胃肠病症治疗的组合物

发明领域

[0001] 本发明涉及用于结肠清洁以及胃肠道和其它内脏器官病症治疗的肽、组合物和方法。

[0002] 优先权要求

[0003] 本申请根据35USC§119(e) 要求2015年5月1日提交的美国临时专利申请序列号62/156,077的优先权,其全部内容据此通过引用并入。

[0004] 序列表

[0005] 本申请通过引用整体并入题为“IW154PCT1Sequence_ST25.txt”(45.1千字节)的序列表,该序列表于2016年4月28日创建并以电子形式一起提交。

[0006] 背景

[0007] 在美国每年进行约1500万次结肠镜检查,所有这些都需要充足的结肠准备。约20%的结肠镜检查报告肠道准备不足。肠道准备不足可能导致较低的腺瘤检测、较长的手术时间和较短的检查间隔。因此,需要安全、有效和良好耐受的结肠准备,使得广泛的患者群体能够可靠和有效地进行结肠镜检查,以降低结肠癌的风险。

[0008] 概述

[0009] 本发明的特征在于用于结肠清洁治疗以及如本文所述的其它病状和病症的肽、组合物和相关方法。在一个实施方案中,肽可用于使受试者准备进行结肠镜检查治疗。在一些实施方案中,肽或药学上可接受的盐可用于使受试者准备进行手术,例如肠手术。在其它实施方案中,肽可用于治疗结肠癌、遗传性非息肉性结肠直肠癌(HNPCC),即林奇综合征(Lynch syndrome)、胃轻瘫(GP)、息肉、疼痛、一般性腹痛、手术后肠梗阻、阿片样物质诱发的便秘、功能性消化不良、憩室疾病,包括但不限于SUDD(症状性无并发症性憩室疾病)和SCAD(与憩室病相关的节段性结肠炎)、憩室病、腹泻型肠易激综合征、与肠易激综合征(IRS)相关的疼痛、溃疡性结肠炎、溃疡性直肠炎、克罗恩氏病(Crohn's Disease)、炎性肠病(IBD)、慢性或急性放射性原发病、直肠疼痛、慢性肛痛、痉挛性肛部痛、肛痛、慢性肛裂、术后肛门疼痛、膀胱过度活动综合征、压力性尿失禁、间质性膀胱炎、膀胱疼痛综合征、结肠直肠癌、与癌症相关的疼痛、一般性盆腔疼痛、子宫内膜异位症、睾丸痛、慢性前列腺炎、前列腺痛、外阴疼痛、尿道综合征、阴茎疼痛、肛周疼痛及其它胃肠和内脏病症。

[0010] 本发明的一个方面提供一种肽或其药学上可接受的盐,其中所述肽包含氨基酸序列:

[0011] Xaa₁Xaa₂Xaa₃Xaa₄Xaa₅Xaa₆Xaa₇Xaa₈Xaa₉Xaa₁₀Xaa₁₁Xaa₁₂Xaa₁₃Xaa₁₄Ala₁₅Xaa₁₆Xaa₁₇Gly₁₈Xaa₁₉Xaa₂₀Xaa₂₁(SEQ ID NO:1),或其药学上可接受的盐;其中

[0012] Xaa₁是BE或不存在;

[0013] Xaa₂是BK、Asn或不存在;

[0014] Xaa₃是Asn、Ser或不存在;

[0015] Xaa₄是Ser或不存在;

[0016] Xaa₅是Ser、Asn、Ile、BE或不存在;

- [0017] Xaa₆是Tyr、Asp、4-氟苯丙氨酸((4-F)Phe)、BK或不存在；
- [0018] Xaa₇是Cys、胱硫醚(Cth)、烯丙基甘氨酸(Ag)、Hag或Asp；
- [0019] Xaa₈是Cys、胱硫醚(Cth)、青霉胺(Pen)或烯丙基甘氨酸(Ag)；
- [0020] Xaa₉是Glu、Asp、Ser、Thr或Gln；
- [0021] Xaa₁₀是Leu、环己基丙氨酸(Cha)、Phe或4-氟苯丙氨酸((4-F)Phe)；
- [0022] Xaa₁₁是Cys、Ag或青霉胺(Pen)；
- [0023] Xaa₁₂是Cys、烯丙基甘氨酸(Ag)、Hag、Cth、Dpr或Val；
- [0024] Xaa₁₃是Asn或Leu；
- [0025] Xaa₁₄是Pro、Val、肌氨酸(Sar)、Leu或羟脯氨酸(OH-Pro)；
- [0026] Xaa₁₆是Cys、Ag、Pen或Cth；
- [0027] Xaa₁₇是Tyr、Thr、环己基丙氨酸(Cha)、4-氟苯丙氨酸((4-F)Phe)、Phe、Ser或Ala；
- [0028] Xaa₁₉是Cys、Ag或Pen；
- [0029] Xaa₂₀是Tyr、Leu、4-氟苯丙氨酸((4-F)Phe)、环己基丙氨酸(Cha)、D-Tyr、N-甲基Tyr(Nme-Tyr)或不存在；
- [0030] Xaa₂₁不存在或是Asn；
- [0031] 其中至少一个Xaa是BE、BK、(4-F)Phe、Cth、Ag、Hag、Pen、Cha、Sar、Dpr或OH-Pro；并且
- [0032] 其中所述肽含有Xaa₇和Xaa₁₂、Xaa₈和Xaa₁₆以及Xaa₁₁和Xaa₁₉之间的共价键。
- [0033] 本发明的第二方面提供了包含本发明的肽的药物组合物。
- [0034] 本发明的第三方面提供了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。根据本发明的药物组合物可以用作结肠镜检查的准备，或治疗胃肠病症和疼痛。在一些实施方案中，组合物是固体口服组合物。
- [0035] 本发明的一个或多个实施方案的细节在所附的说明书中阐述。
- [0036] 附图简述
- [0037] 图1说明了代表性肽的活性和稳定性结果。
- [0038] 图2说明了在用于分析SEQ ID NO:3-7的GC-C活性的T84细胞测定中cGMP积累的结果。
- [0039] 图3说明了在用于分析SEQ ID NO 8-10的GC-C活性的T84细胞测定中cGMP积累的结果。
- [0040] 图4显示了在用于分析SEQ ID NO 12-13和23-27的GC-C活性的T84细胞测定中cGMP积累的结果。
- [0041] 图5说明了在用于分析SEQ ID NO 28-34的GC-C活性的T84细胞测定中cGMP积累的结果。
- [0042] 图6说明了在用于分析SEQ ID NO 35-37、39和44的GC-C活性的T84细胞测定中cGMP积累的结果。
- [0043] 图7说明了在用于分析SEQ ID NO 2和40-42的GC-C活性的T84细胞测定中cGMP积累的结果。
- [0044] 图8说明了在用于分析SEQ ID NO 43的GC-C活性的T84细胞测定中cGMP积累的结果。

[0045] 图9说明了在用于分析SEQ ID NO 44-47的GC-C活性的T84细胞测定中cGMP积累的结果。

[0046] 图10说明了在用于分析SEQ ID NO 45、48和51-52的GC-C活性的T84细胞测定中cGMP积累的结果。

[0047] 图11说明了在用于分析SEQ ID NO 12、13、27、47和53的GC-C活性的T84细胞测定中cGMP积累的结果。

[0048] 图12说明了在用于分析在原始试验、原始试验的重复和第二次称重情况下SEQ ID NO 47的GC-C活性的T84细胞测定中cGMP积累的结果。

[0049] 图13说明了在用于分析SEQ ID NO 54-59的GC-C活性的T84细胞测定中cGMP积累的结果。

[0050] 图14说明了在用于分析SEQ ID NO 60-64的GC-C活性的T84细胞测定中cGMP积累的结果。

[0051] 图15示出了SEQ ID NO 62和47的体内大鼠十二指肠袢测定的结果。

[0052] 图16示出了SEQ ID NO 62和47的大鼠十二指肠袢体积试验的结果。

[0053] 图17示出了与ST核心(ST Core)相比较的SEQ ID NO 2和47的小鼠肠转运(mGIT)测定的结果。

[0054] 图18示出了SEQ ID NO 67和69的体内结扎的大鼠袢测定的结果。

[0055] 图19示出了SEQ ID NO 67和69的体内结扎的大鼠袢体积试验的结果。

[0056] 图20显示了SEQ ID NO 2、26、43、47和53的体外大鼠肠液(RIF)测定的结果。

[0057] 图21显示了SEQ ID NO 60-66的体外RIF测定的结果。

[0058] 图22显示了SEQ ID NO 47、62、67和69的体内RIF测定的结果。

[0059] 图23显示了对代表性肽进行的不同测定的结果。

[0060] 图24显示了SEQ ID NO 14-22的T84细胞测定中cGMP积累的结果。

[0061] 图25说明了SEQ ID NO 2、7和11的小鼠肠道转运测定的结果。

[0062] 图26说明了SEQ ID NO 47的小鼠肠道转运测定的结果。

[0063] 图27说明了SEQ ID NO 62、67和69的小鼠肠道转运测定的结果。

[0064] 这些附图是作为示例提供的,并不旨在限制本发明的范围。

[0065] 详述

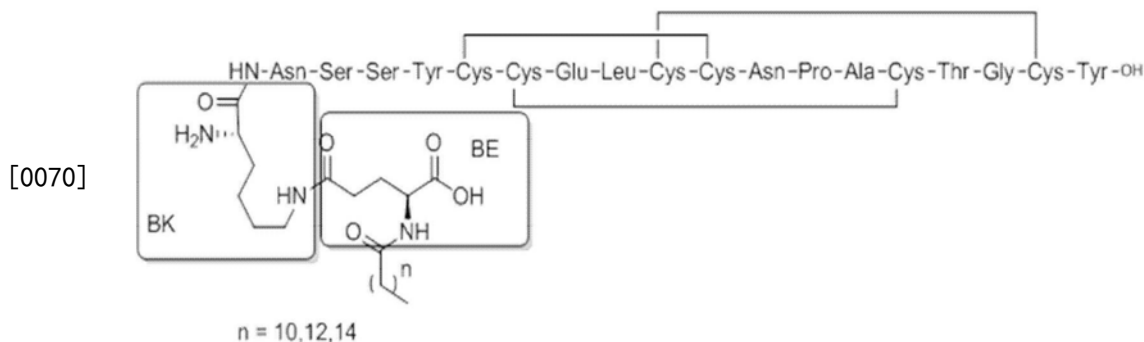
[0066] 鸟苷酸环化酶C(GC-C)是位于胃和肠中的上皮细胞顶端表面的跨膜受体。该受体具有细胞外配体结合结构域、单个跨膜区和C末端鸟苷酰环化酶结构域。当配体结合到GC-C的细胞外结构域时,细胞内催化结构域催化从GTP产生cGMP。在体内,细胞内cGMP的这种增加启动级联事件,这些事件导致分泌到肠腔中的氯化物和碳酸氢盐增加、腔pH升高、腔钠吸收降低、肠液分泌增加和肠转运加快。从上皮双向分泌到粘膜和腔中的cGMP也被证明抑制传入的C纤维放电,这表明观察到的GC-C激动剂对内脏疼痛的镇痛作用的潜在机制。

[0067] 口服施用并目前在美国批准用于治疗便秘型肠易激综合征(IBS-c)和慢性特发性便秘(CIC)的肽GC-C激动剂利那洛肽(Linaclotide)对下部GI生理学具有许多影响,包括:(1)内脏疼痛减轻,(2)腹胀减轻,和(3)GI转运增加,该药可导致粪便频率增加并改善粪便稠度。口服施用的利那洛肽通过在腔表面活化GC-C受体而局部起作用。因此,利那洛肽的临床试验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肽激动剂可用于治疗。

本文所述和要求保护的肽可以结合并活化GC-C受体,或者可以被表征为GC-C肽激动剂。

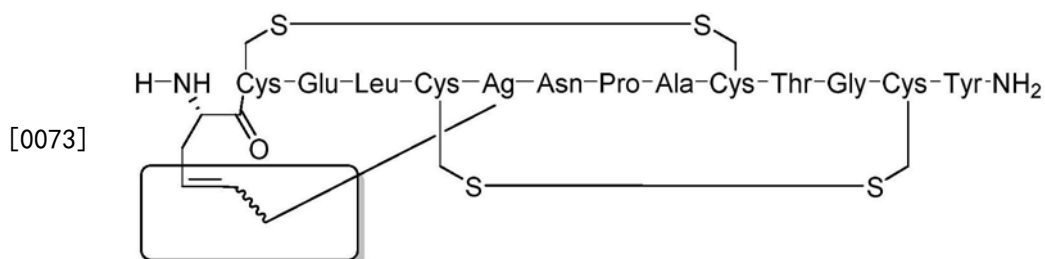
[0068] 定义

[0069] 如本文所用,C12是C12烷基羧酸,C14是C14烷基羧酸,C16是C16烷基羧酸,C18是C18烷基羧酸,(4-F)Phe是4-氟苯丙氨酸,Cth是胱硫醚,Ag是烯丙基甘氨酸,Hag是具有还原的二卡巴键(dicarba bond)的烯丙基甘氨酸,Pen是青霉胺,Cha是环己基丙氨酸,Sar是肌氨酸,OH-Pro是羟脯氨酸,Nme-Tyr是N-甲基酪氨酸,4-Mepip是1-甲基-哌啶-4-甲酸,Dpr是二氨基丙酸,BE是其中侧链羧酸形成肽键的谷氨酸,并且BK是其中侧链胺形成肽键的赖氨酸。BEBK键合模式的一个实例是:

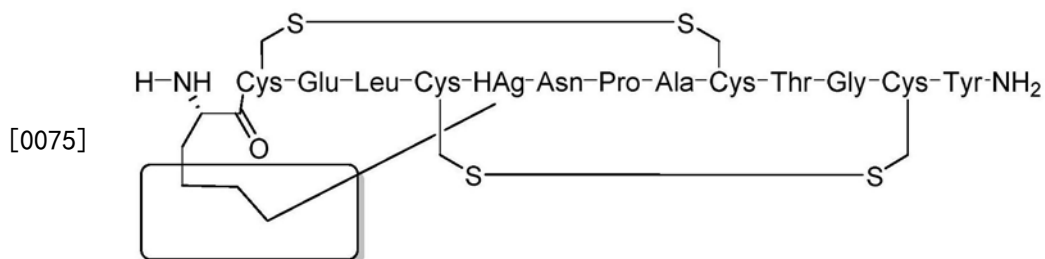


[0071] 肽键合的其它实例包括但不限于:

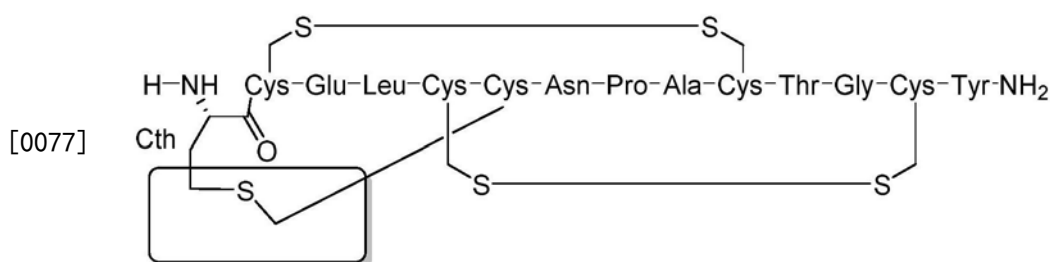
[0072] I. 二卡巴



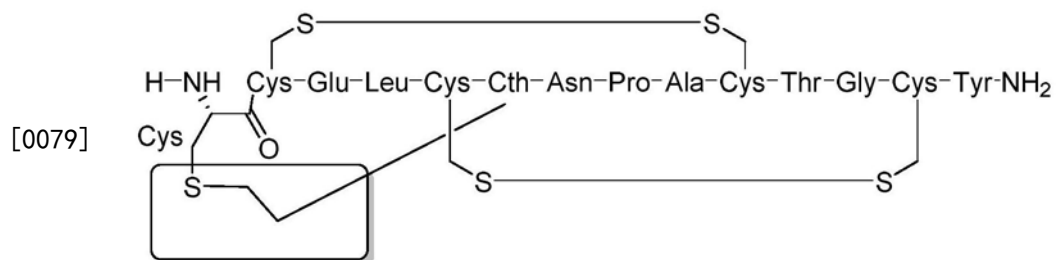
[0074] II. Hag-Hag



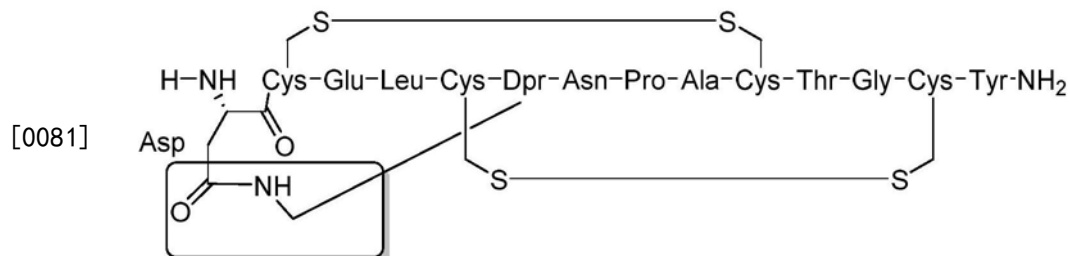
[0076] III. Cth-C



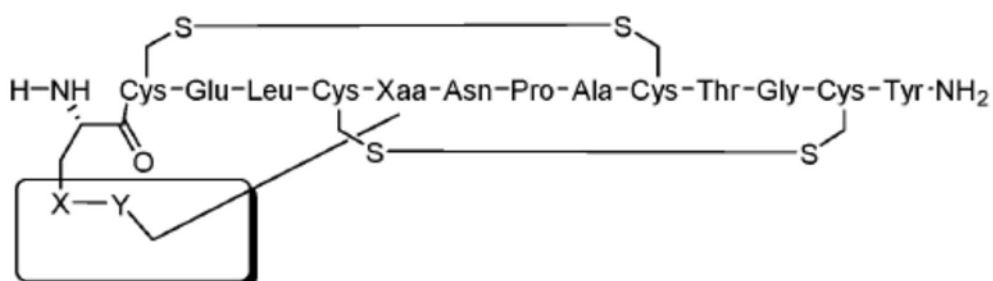
[0078] IV. C-Cth



[0080] V.D-Dpr (内酰胺键)



[0082] VI.



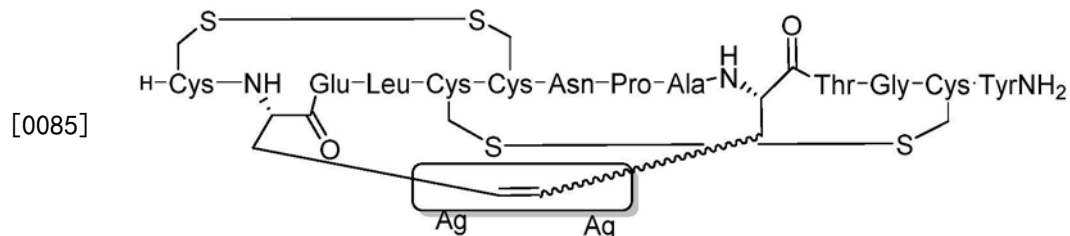
[0083]

X = CH, Y = CH
 X = CH₂, Y = CH₂
 X = CH₂, Y = S
 X = S, Y = CH₂
 X = CO, Y = NH

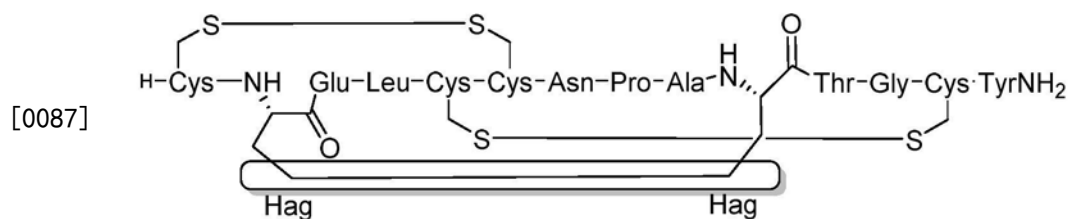
其它

X = Se, Y = Se
 X = CH₂, Y = Se
 X = Se, Y = CH₂
 X = CH₂, Y = O
 X = O, Y = CH₂
 X = NH, Y = CO

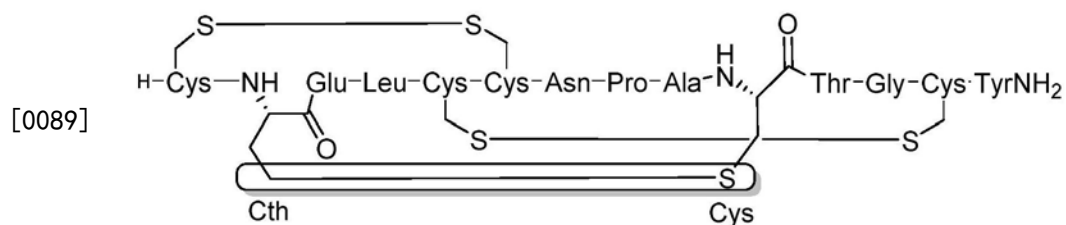
[0084] VII. Ag-Ag (2, -10)



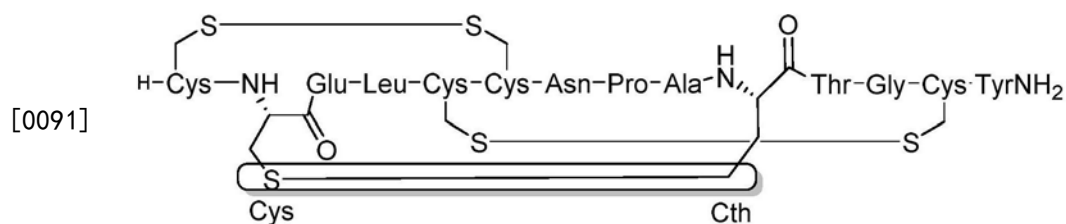
[0086] VIII. Hag-Hag (2, -10)



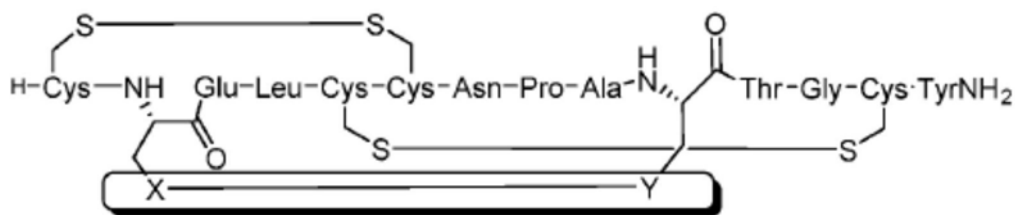
[0088] IX.Cth-C (2, -10)



[0090] X.C-Cth (2, -10)



[0092] XI. (2, -10)



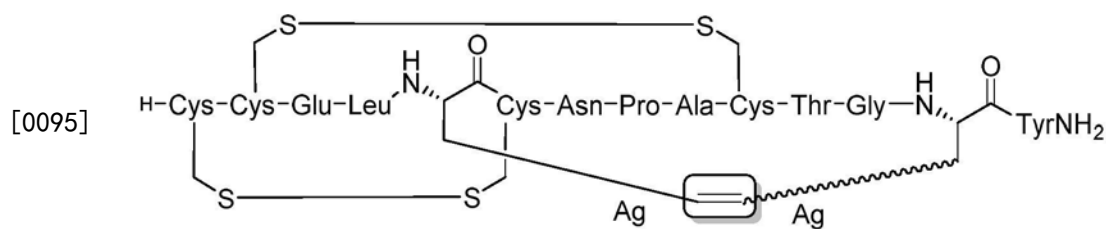
X = CH, Y = CH
 X = CH₂, Y = CH₂
 X = CH₂, Y = S
 X = S, Y = CH₂

[0093]

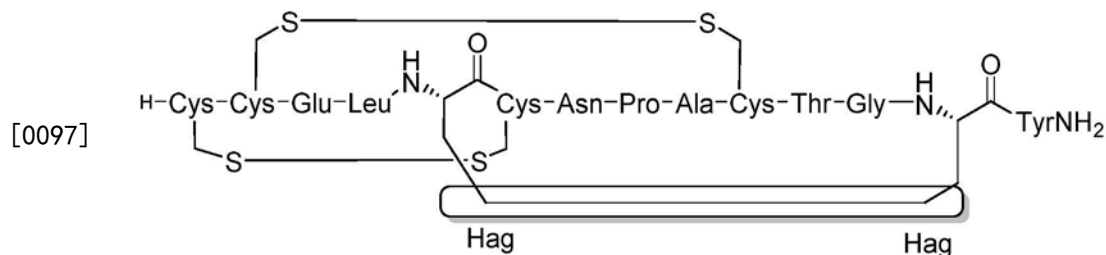
其它

X = Se, Y = Se
 X = CH₂, Y = Se
 X = Se, Y = CH₂
 X = CH₂, Y = O
 X = O, Y = CH₂
 X = CO, Y = NH
 X = NH, Y = CO

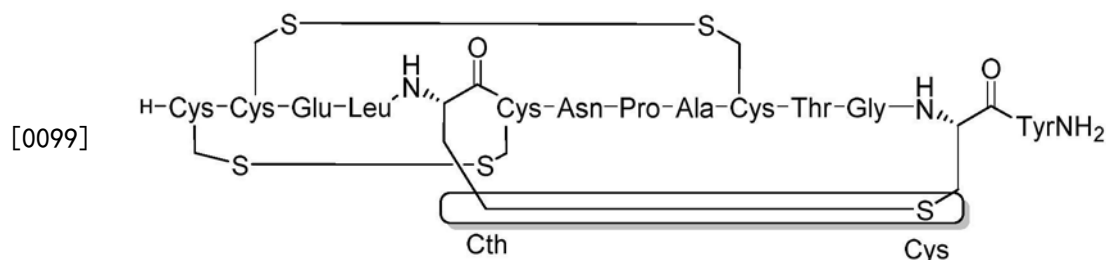
[0094] XII.Ag-Ag (5, -13)



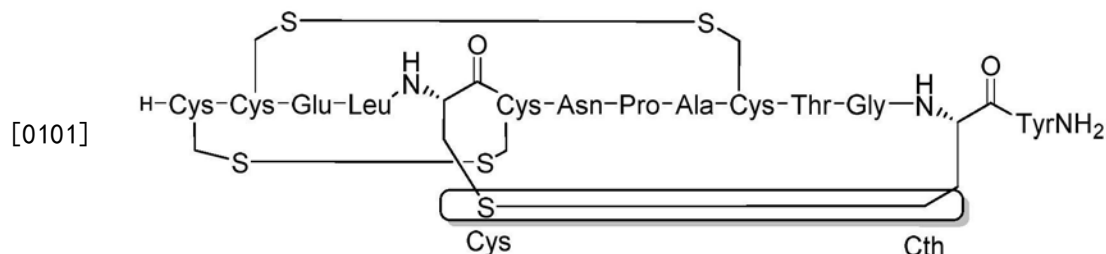
[0096] XIII.Hag-Hag (5, -13)



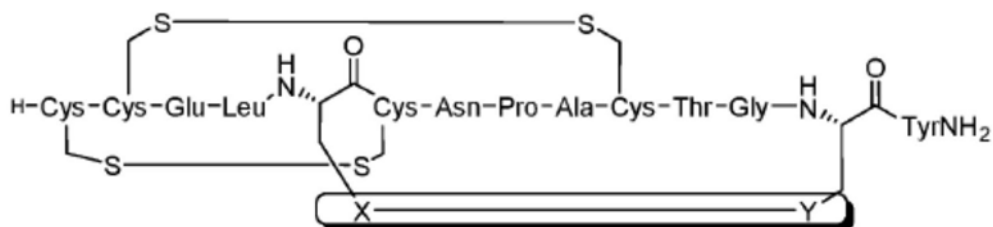
[0098] XIV.Cth-C (5, -13)



[0100] XV.C-Cth (5, -13)



[0102] XVI. (5, -13)



X = CH, Y = CH
 X = CH₂, Y = CH₂
 X = CH₂, Y = S
 X = S, Y = CH₂

其它

X = Se, Y = Se
 X = CH₂, Y = Se
 X = Se, Y = CH₂
 X = CH₂, Y = O
 X = O, Y = CH₂
 X = CO, Y = NH
 X = NH, Y = CO

[0104] 肽

[0105] 一方面,本发明提供用于本文所述方法的一种肽或其药学上可接受的盐,其中所述肽包含氨基酸序列:

[0106] Xaa₁Xaa₂Xaa₃Xaa₄Xaa₅Xaa₆Xaa₇Xaa₈Xaa₉Xaa₁₀Xaa₁₁Xaa₁₂Xaa₁₃Xaa₁₄Ala₁₅Xaa₁₆Xaa₁₇

Gly₁₈Xaa₁₉Xaa₂₀Xaa₂₁ (SEQ ID NO:1), 或其药学上可接受的盐; 其中

- [0107] Xaa₁是BE或不存在;
- [0108] Xaa₂是BK、Asn或不存在;
- [0109] Xaa₃是Asn、Ser或不存在;
- [0110] Xaa₄是Ser或不存在;
- [0111] Xaa₅是Ser、Asn、Ile、BE或不存在;
- [0112] Xaa₆是Tyr、Asp、4-氟苯丙氨酸((4-F)Phe)、BK或不存在;
- [0113] Xaa₇是Cys、胱硫醚(Cth)、烯丙基甘氨酸(Ag)、Hag或Asp;
- [0114] Xaa₈是Cys、胱硫醚(Cth)、青霉胺(Pen)或烯丙基甘氨酸(Ag);
- [0115] Xaa₉是Glu、Asp、Ser、Thr或Gln;
- [0116] Xaa₁₀是Leu、环己基丙氨酸(Cha)、Phe或4-氟苯丙氨酸((4-F)Phe);
- [0117] Xaa₁₁是Cys、Ag或青霉胺(Pen);
- [0118] Xaa₁₂是Cys、烯丙基甘氨酸(Ag)、Hag、Cth、Dpr或Val;
- [0119] Xaa₁₃是Asn或Leu;
- [0120] Xaa₁₄是Pro、Val、肌氨酸(Sar)、Leu或羟脯氨酸(OH-Pro);
- [0121] Xaa₁₆是Cys、Ag、Pen或Cth;
- [0122] Xaa₁₇是Tyr、Thr、环己基丙氨酸(Cha)、4-氟苯丙氨酸((4-F)Phe)、Phe、Ser或Ala;
- [0123] Xaa₁₉是Cys、Ag或Pen;
- [0124] Xaa₂₀是Tyr、Leu、4-氟苯丙氨酸((4-F)Phe)、环己基丙氨酸(Cha)、D-Tyr、N-甲基Tyr(Nme-Tyr)或不存在;
- [0125] Xaa₂₁不存在或是Asn;
- [0126] 其中至少一个Xaa是BE、BK、(4-F)Phe、Cth、Ag、Hag、Pen、Cha、Sar、Dpr或OH-Pro; 并且
- [0127] 其中所述肽含有Xaa₇和Xaa₁₂、Xaa₈和Xaa₁₆以及Xaa₁₁和Xaa₁₉之间的共价键。
- [0128] 在一些实施方案中, 肽的N末端在N末端被乙酰化或修饰以对肽提供增加的稳定性。在其它实施方案中, N末端用戊烯酸、生物素、4-Mepip(1-甲基-4-甲酸)、C12烷基羧酸、C14烷基羧酸、C16烷基羧酸或C18烷基羧酸加帽。在一些实施方案中, 戊烯酸的C=C双键可以与另一个C=C双键环化形成二卡巴键。
- [0129] 在一些实施方案中, 肽的C末端在C末端被酰胺化或修饰以对肽提供增加的稳定性。
- [0130] 在另一个实施方案中, 肽的N末端被乙酰化或加帽并且C末端被酰胺化。
- [0131] 在一些实施方案中, 二卡巴键(CH₂-CH=CH-CH₂)或本文所述的肽残基之间的其它共价键可用于稳定肽。本文所述的二卡巴键和其它共价键在一些情况下可以提供比二硫键更大的肽稳定性。在一些实施方案中, 二卡巴键可以被还原(CH₂-CH₂-CH₂-CH₂)。
- [0132] 在一些实施方案中, 肽的增强的稳定性使得在室温下长时间储存。
- [0133] 在一些实施方案中, Xaa₇和Xaa₁₂均是Ag并且Ag₇和Ag₁₂之间存在二卡巴键; Xaa₇和Xaa₁₂均是Cys并且Cys₇和Cys₁₂之间存在二硫键; Xaa₈和Xaa₁₆均是Cys并且Cys₈和Cys₁₆之间存在二硫键; Xaa₁₁和Xaa₁₉均是Cys并且Cys₁₁和Cys₁₉之间存在二硫键; 或其任何组合。
- [0134] 在其它实施方案中, Xaa₇是Cth, Xaa₁₂是Cys并且Cth₇和Cys₁₂之间存在键; Xaa₈是

Cth, Xaa₁₆是Cys并且Cth₈和Cys₁₆之间存在键;或其任何组合。

[0135] 在一些实施方案中, Xaa₇是烯丙基甘氨酸或Cys。

[0136] 在一些实施方案中, Xaa₈是Cys或胱硫醚。

[0137] 在一些实施方案中, Xaa₉是Glu。

[0138] 在一些实施方案中, Xaa₁₀是Leu。

[0139] 在一些实施方案中, Xaa₁₂是Cys或烯丙基甘氨酸。

[0140] 在一些实施方案中, Xaa₁₄是Val或Pro。

[0141] 在一些实施方案中, Xaa₁₇是Tyr或Thr。

[0142] 在一些实施方案中, Xaa₂₀是Tyr或不存在。

[0143] 在一些实施方案中, Xaa₂₁不存在。

[0144] 在一些实施方案中, Xaa₁不存在; Xaa₂不存在; Xaa₃不存在; Xaa₄不存在; Xaa₅不存在; Xaa₆不存在; Xaa₇是Ag、Cys或Cth; Xaa₈是Cys或Cth; Xaa₉是Glu; Xaa₁₀是Leu; Xaa₁₂是Ag或Cys; Xaa₁₄是Val或Pro; Xaa₁₇是Tyr或Thr; 并且Xaa₂₀是Tyr或不存在。

[0145] 在一些实施方案中, Xaa₁₄不是Pro。

[0146] 在一些实施方案中, Xaa₁₇不是Phe。

[0147] 在一些实施方案中, 提供了肽或其药学上可接受的盐, 其中所述肽包含氨基酸序列:

[0148] (SEQ ID NO:2) H-Ag Cys Glu Leu Cys Ag Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr-NH₂;

[0149] (SEQ ID NO:3) C12-BE BK Asn Ser Ser Tyr Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr-NH₂;

[0150] (SEQ ID NO:4) C16-BE BK Asn Ser Ser Tyr Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr-NH₂;

[0151] (SEQ ID NO:5) C12-BE BK Asn Ser Ser Tyr Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr-COOH;

[0152] (SEQ ID NO:6) C14-BE BK Asn Ser Ser Tyr Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr-COOH;

[0153] (SEQ ID NO:7) C16-BE BK Asn Ser Ser Tyr Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr-COOH;

[0154] (SEQ ID NO:8) H-Cys Ag Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Ag Thr Gly Cys Tyr-NH₂;

[0155] (SEQ ID NO:9) H-Asn Asp Asp Ag Glu Leu Cys Val Asn Val Ala Ag Thr Gly Cys Leu-NH₂;

[0156] (SEQ ID NO:10) H-Asn Asp Asp Cys Glu Leu Ag Val Asn Val Ala Cys Thr Gly Ag Leu-NH₂;

[0157] (SEQ ID NO:11) C18-BE BK Asn Ser Ser Tyr Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr-COOH;

[0158] (SEQ ID NO:12) H-Ag Cys Glu Leu Cys Ag Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys-NH₂;

- [0159] (SEQ ID NO:13) H-Ag Cys Glu Leu Cys Ag Asn Pro Ala Cys Ala Gly Cys-NH₂;
- [0160] (SEQ ID NO:14) H-Ag Cys Glu Phe Cys Ag Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr-NH₂;
- [0161] (SEQ ID NO:15) H-Ag Cys Glu(4-F)Phe Cys Ag Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys-NH₂;
- [0162] (SEQ ID NO:16) H-Ag Cys Glu(4-F)Phe Cys Ag Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr-NH₂;
- [0163] (SEQ ID NO:17) H-Ag Cys Glu(4-F)Phe Cys Ag Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys (4-F)Phe-NH₂;
- [0164] (SEQ ID NO:18) H-Cys Cys Glu Leu Ag Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Ag Tyr-NH₂;
- [0165] (SEQ ID NO:19) H-Ag Cys Glu Phe Cys Ag Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys-NH₂;
- [0166] (SEQ ID NO:20) H-Ag Cys Glu Phe Cys Ag Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys(4-F)Phe-NH₂;
- [0167] (SEQ ID NO:21) H-Cys Cys Glu(4-F)Phe Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr-NH₂;
- [0168] (SEQ ID NO:22) H-Cys Cys Glu(4-F)Phe Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys(4-F)Phe-NH₂;
- [0169] (SEQ ID NO:23) H-Ag Cys Glu Leu Cys Ag Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys(4-F)Phe-NH₂;
- [0170] (SEQ ID NO:24) H-(4-F)Phe Ag Cys Glu Leu Cys Ag Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys(4-F)Phe-NH₂;
- [0171] (SEQ ID NO:25) H-Ag Cys Glu Leu Cys Ag Asn Pro Ala Cys Ala Gly Cys Tyr-NH₂;
- [0172] (SEQ ID NO:26) H-Ag Cys Glu Leu Cys Ag Asn Pro Ala Cys Tyr Gly Cys Tyr-NH₂;
- [0173] (SEQ ID NO:27) H-Ag Cys Glu Leu Cys Ag Asn Pro Ala Cys Phe Gly Cys Tyr-NH₂;
- [0174] (SEQ ID NO:28) H-Ag Cys Glu Leu Cys Ag Ash Pro Ala Cys(4-F)Phe Gly Cys Tyr-NH₂;
- [0175] (SEQ ID NO:29) H-Ag Cys Glu Leu Cys Ag Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Leu-NH₂;
- [0176] (SEQ ID NO:30) H-Ag Cys Glu Leu Cys Ag Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Cha-NH₂;
- [0177] (SEQ ID NO:31) H-Ag Cys Glu Cha Cys Ag Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr-NH₂;
- [0178] (SEQ ID NO:32) H-Ag Cys Glu Leu Cys Ag Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys D-

Tyr-NH₂;

[0179] (SEQ ID NO:33)H-Ag Pen Glu Leu Cys Ag Asn Pro Ala Pen Thr Gly Cys

Tyr-NH₂;

[0180] (SEQ ID NO:34)H-Ag Cys Glu Leu Cys Ag Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Leu

Asn-NH₂;

[0181] (SEQ ID NO:35)H-Ag Cys Glu Leu Cys Ag Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr

Asn-NH₂;

[0182] (SEQ ID NO:36)H-Asp Ag Cys Glu Leu Cys Ag Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys

Tyr-NH₂;

[0183] (SEQ ID NO:37)H-Ile Asp Ag Cys Glu Leu Cys Ag Asn Pro Ala Cys Thr Gly

Cys Tyr-NH₂;

[0184] (SEQ ID NO:38)H-Ag Cys Glu Leu Cys Ag Asn OH-Pro Ala Cys Thr Gly Cys

Tyr-NH₂;

[0185] (SEQ ID NO:39)H-Ag Cys Glu Leu Cys Ag Asn OH-Pro Ala Cys Thr Gly Cys-

NH₂;

[0186] (SEQ ID NO:40)H-Ag Cys Glu Leu Pen Ag Asn Pro Ala Cys Thr Gly Pen

Tyr-NH₂;

[0187] (SEQ ID NO:41)H-Ag Cys Glu Leu Pen Ag Asn Pro Ala Cys Thr Gly Pen

Tyr-NH₂;

[0188] (SEQ ID NO:42)H-Ag Cys Glu Leu Cys Ag Asn Pro Ala Cys Tyr Gly Cys

Nme-Tyr-NH₂;

[0189] (SEQ ID NO:43)H-Ag Cys Glu Leu Cys Ag Asn Pro Ala Cys Tyr Gly Cys-

COOH;

[0190] (SEQ ID NO:44)H-Ag Cys Glu Leu Cys Ag Asn Pro Ala Cys Cha Gly Cys

Tyr-NH₂;

[0191] (SEQ ID NO:45)H-Ag Cys Glu Leu Cys Ag Asn Leu Ala Cys Thr Gly Cys

Tyr-NH₂;

[0192] (SEQ ID NO:46)H-Ag Cys Glu Leu Cys Ag Asn Sar Ala Cys Thr Gly Cys

Tyr-NH₂;

[0193] (SEQ ID NO:47)H-Ag Cys Glu Leu Cys Ag Asn Val Ala Cys Thr Gly Cys

Tyr-NH₂;

[0194] (SEQ ID NO:48)H-Ag Cys Glu Leu Cys Ag Asn Pro Ala Cys Tyr Gly Cys

Nme-Tyr-NH₂;

[0195] (SEQ ID NO:49)H-Ag Cys Glu Leu Cys Ag Leu Pro Ala Cys Tyr Gly Cys-

COOH;

[0196] (SEQ ID NO:50)H-Ag Cys Asp Leu Cys Ag Asn Pro Ala Cys Tyr Gly Cys-

COOH;

[0197] (SEQ ID NO:51)H-Ag Cys Ser Leu Cys Ag Asn Pro Ala Cys Tyr Gly Cys-

COOH;

- [0198] (SEQ ID NO:52) H-Ag Cys Thr Leu Cys Ag Asn Pro Ala Cys Tyr Gly Cys-COOH;
- [0199] (SEQ ID NO:53) H-Hag Cys Glu Leu Cys Hag Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr-NH₂;
- [0200] (SEQ ID NO:54) H-Ag Cys Gln Leu Cys Ag Asn Pro Ala Cys Tyr Gly Cys-COOH;
- [0201] (SEQ ID NO:55) H-Ag Cys Glu Leu Cys Ag Leu Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr-NH₂;
- [0202] (SEQ ID NO:56) Pent-Cys Glu Leu Cys Ag Asn Pro Ala Cys Tyr Gly Cys Tyr-NH₂;
- [0203] (SEQ ID NO:57) H-Cys Cys Glu Leu Cys Ag Ash Pro Ala Cys Tyr Gly Ag-COOH;
- [0204] (SEQ ID NO:58) Pent-Cys Glu Leu Cys Ag Asn Pro Ala Cys Tyr Gly Cys-COOH;
- [0205] (SEQ ID NO:59) H-Hag Cys Glu Leu Cys Hag Asn Pro Ala Cys Tyr Gly Cys-COOH;
- [0206] (SEQ ID NO:60) H-Ag Cys Glu Leu Cys Ag Asn Val Ala Cys Tyr Gly Cys Tyr-NH₂;
- [0207] (SEQ ID NO:61) H-Ag Cys Glu Leu Cys Ag Asn Val Ala Cys Tyr Gly Cys-COOH;
- [0208] (SEQ ID NO:62) H-Cys Cth Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Tyr Gly Cys Tyr-NH₂;
- [0209] (SEQ ID NO:63) H-Cth Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Tyr Gly Cys Tyr-NH₂;
- [0210] (SEQ ID NO:64) H-Cth Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Tyr Gly Cys-COOH;
- [0211] (SEQ ID NO:65) H-Cys Cth Glu Leu Cys Cys Asn Val Ala Cys Tyr Gly Cys Tyr-NH₂;
- [0212] (SEQ ID NO:66) H-Cys Cth Glu Leu Cys Cys Asn Val Ala Cys Thr Gly Cys Tyr-NH₂;
- [0213] (SEQ ID NO:67) Ac-Cys Cth Glu Leu Cys Cys Asn Val Ala Cys Thr Gly Cys Tyr-NH₂;
- [0214] (SEQ ID NO:68) Ac-Cys Cth Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Tyr Gly Cys Tyr-NH₂;
- [0215] (SEQ ID NO:69) Ac-Cys Cth Glu Leu Cys Cys Asn Val Ala Cys Tyr Gly Cys-COOH;
- [0216] (SEQ ID NO:70) H-Cys Cth Glu Leu Cys Cys Asn Val Ala Cys Tyr Gly Cys-COOH;
- [0217] (SEQ ID NO:71) Ac-Cys Cth Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Tyr Gly Cys-

COOH;

[0218] (SEQ ID NO:72) H-Cys Cys Glu Leu Cys Asn Val Ala Cth Tyr Gly Cys-COOH;

[0219] (SEQ ID NO:73) H-Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Val Ala Cth Tyr Gly Cys Tyr-NH₂;

[0220] (SEQ ID NO:74) H-Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Val Ala Cth Thr Gly Cys Tyr-NH₂;

[0221] (SEQ ID NO:75) H-Cys Cys Glu Leu Cys Cth Asn Val Ala Cys Tyr Gly Cys-COOH;

[0222] (SEQ ID NO:76) H-Cys Cys Glu Leu Cys Cth Asn Val Ala Cys Tyr Gly Cys Tyr-NH₂;

[0223] (SEQ ID NO:77) H-Cys Cys Glu Leu Cys Cth Asn Val Ala Cys Thr Gly Cys Tyr-NH₂;

[0224] (SEQ ID NO:78) 4-Mepip-Cys Cth Glu Leu Cys Cys Asn Val Ala Cys Tyr Gly Cys-COOH;

[0225] (SEQ ID NO:79) H-Cys Cth Glu Leu Cys Cys Asn Val Ala Cys Thr Gly Cys-COOH;

[0226] (SEQ ID NO:80) H-Cys Cth Glu Leu Cys Cys Asn Val Ala Cys Thr Gly Cys-NH₂;

[0227] (SEQ ID NO:81) H-Cys Cth Glu Leu Cys Cys Asn Val Ala Cys Phe Gly Cys-COOH;

[0228] (SEQ ID NO:82) H-Ag Ag Glu Leu Ag Ag Asn Pro Ala Ag Thr Gly Ag Tyr-COOH;

[0229] (SEQ ID NO:83) H-Cys Cth Glu Leu Cys Cys Asn Ala Ala Cys Thr Gly Cys Tyr-NH₂;

[0230] (SEQ ID NO:84) H-Asp Cys Glu Leu Cys Dpr Asn Val Ala Cys Thr Gly Cys Tyr-NH₂;

[0231] (SEQ ID NO:85) H-Cys Cth Glu Leu Cys Cys Asn Val Ala Cys Ser Gly Cys Tyr-NH₂;

[0232] (SEQ ID NO:86) H-Cth Glu Leu Cys Ag Asn Val Ala Cys Thr Gly Cys Tyr-NH₂;

[0233] (SEQ ID NO:87) H-Ag Cys Glu Leu Cys Ag Asn Val Ala Cys Thr Gly Cys Tyr-NH₂;

[0234] (SEQ ID NO:88) H-Ag Cys Glu Leu Cys Ag Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr-NH₂;

[0235] (SEQ ID NO:89) H-Cth Cys Glu Leu Cys Cys Asn Val Ala Cys Thr Gly Cys-COOH;

[0236] (SEQ ID NO:90) H-Cth Cys Glu Leu Cys Cys Asn Val Ala Cys Thr Gly Cys Tyr-NH₂;

[0237] (SEQ ID NO:91) H-Cth Cys Glu Leu Cys Cys Asn Val Ala Cys Tyr Gly Cys

Tyr-NH₂;或

[0238] (SEQ ID NO:92) H-Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Val Ala Cth Tyr Gly Cys-COOH,

[0239] 其中Ac-表示乙酰化的N末端,Pent-表示用戊烯酸加帽的N末端,生物素-表示用生物素加帽的N末端,4-Mepip表示用4-Mepip(1-甲基-哌啶-4-甲酸)加帽的N末端,C12-表示用C12烷基羧酸加帽的N末端,C14-表示用C14烷基羧酸加帽的N末端,C16-表示用C16烷基羧酸加帽的N末端,C18-表示用C18烷基羧酸加帽的N末端,H-表示未修饰的N末端,-NH₂表示酰胺化的C末端,并且-COOH表示未修饰的C末端。

[0240] 在另外的实施方案中,两个Ag残基之间的二卡巴键可以是二卡巴键处的顺式或反式异构体。如本文所用,二卡巴键的顺式异构体在C=C双键的同一侧具有两个氢原子,并且二卡巴键的反式异构体在C=C双键的相对侧具有氢原子。

[0241] 在一些实施方案中,提供了肽或其药学上可接受的盐,其中所述肽包含含有不超过50、40、30或20个氨基酸的肽:在另外的实施方案中,肽包含不超过19、18、17、16、15或14个氨基酸。

[0242] 在另一方面,本发明提供一种肽或其药学上可接受的盐,其中所述肽由以下氨基酸序列组成:

[0243] Xaa₁Xaa₂Xaa₃Xaa₄Xaa₅Xaa₆Xaa₇Xaa₈Xaa₉Xaa₁₀Xaa₁₁Xaa₁₂Xaa₁₃Xaa₁₄Ala₁₅Xaa₁₆Xaa₁₇Gly₁₈Xaa₁₉Xaa₂₀Xaa₂₁(SEQ ID NO:1),或其药学上可接受的盐;其中

[0244] Xaa₁是BE或不存在;

[0245] Xaa₂是BK、Asn或不存在;

[0246] Xaa₃是Asn、Ser或不存在;

[0247] Xaa₄是Ser或不存在;

[0248] Xaa₅是Ser、Asn、Ile、BE或不存在;

[0249] Xaa₆是Tyr、Asp、4-氟苯丙氨酸((4-F)Phe)、BK或不存在;

[0250] Xaa₇是Cys、胱硫醚(Cth)、烯丙基甘氨酸(Ag)、Hag或Asp;

[0251] Xaa₈是Cys、胱硫醚(Cth)、青霉胺(Pen)或烯丙基甘氨酸(Ag);

[0252] Xaa₉是Glu、Asp、Ser、Thr或Gln;

[0253] Xaa₁₀是Leu、环己基丙氨酸(Cha)、Phe或4-氟苯丙氨酸((4-F)Phe);

[0254] Xaa₁₁是Cys、Ag或青霉胺(Pen);

[0255] Xaa₁₂是Cys、烯丙基甘氨酸(Ag)、Hag、Cth、Dpr或Val;

[0256] Xaa₁₃是Asn或Leu;

[0257] Xaa₁₄是Pro、Val、肌氨酸(Sar)、Leu或羟脯氨酸(OH-Pro);

[0258] Xaa₁₆是Cys、Ag、Pen或Cth;

[0259] Xaa₁₇是Tyr、Thr、环己基丙氨酸(Cha)、4-氟苯丙氨酸((4-F)Phe)、Phe、Ser或Ala;

[0260] Xaa₁₉是Cys、Ag或Pen;

[0261] Xaa₂₀是Tyr、Leu、4-氟苯丙氨酸((4-F)Phe)、环己基丙氨酸(Cha)、D-Tyr、N-甲基Tyr(Nme-Tyr)或不存在;

[0262] Xaa₂₁不存在或是Asn;

[0263] 其中至少一个Xaa是BE、BK、(4-F)Phe、Cth、Ag、Hag、Pen、Cha、Sar、Dpr或OH-Pro

[0264] 并且其中所述肽含有Xaa₇和Xaa₁₂、Xaa₈和Xaa₁₆以及Xaa₁₁和Xaa₁₉之间的共价键。

[0265] 在一些实施方案中,肽的N末端被乙酰化以对肽提供增加的稳定性。在其它实施方案中,N末端用戊烯酸、生物素、4-Mepip(1-甲基-哌啶-4-甲酸)、C12烷基羧酸、C14烷基羧酸、C16烷基羧酸或C18烷基羧酸加帽。在一些实施方案中,戊烯酸的C=C双键可以与另一个C=C双键环化形成二卡巴键。

[0266] 在一些实施方案中,肽的C末端被乙酰化以对肽提供增加的稳定性。

[0267] 在一些实施方案中,Xaa₇和Xaa₁₂均是Ag并且Ag₇和Ag₁₂之间存在二卡巴键;Xaa₇和Xaa₁₂均是Cys并且Cys₇和Cys₁₂之间存在二硫键;Xaa₈和Xaa₁₆均是Cys并且Cys₈和Cys₁₆之间存在二硫键;Xaa₁₁和Xaa₁₉均是Cys,并且Cys₁₁和Cys₁₉之间存在二硫键;或其任何组合。

[0268] 在一些实施方案中,Xaa₇是烯丙基甘氨酸或Cys。

[0269] 在一些实施方案中,Xaa₈是Cys或胱硫醚。

[0270] 在一些实施方案中,Xaa₉是Glu。

[0271] 在一些实施方案中,Xaa₁₀是Leu。

[0272] 在一些实施方案中,Xaa₁₂是Cys或烯丙基甘氨酸。

[0273] 在一些实施方案中,Xaa₁₄是Val或Pro。

[0274] 在一些实施方案中,Xaa₁₇是Tyr或Thr。

[0275] 在一些实施方案中,Xaa₂₀是Tyr或不存在。

[0276] 在一些实施方案中,Xaa₂₁不存在。

[0277] 在一些实施方案中,Xaa₁不存在;Xaa₂不存在;Xaa₃不存在;Xaa₄不存在;Xaa₅不存在;Xaa₆不存在;Xaa₇是Ag、Cys或Cth;Xaa₈是Cys或Cth;Xaa₉是Glu;Xaa₁₀是Leu;Xaa₁₂是Ag或Cys;Xaa₁₄是Val或Pro;Xaa₁₇是Tyr或Thr;并且Xaa₂₀是Tyr或不存在。

[0278] 在一些实施方案中,提供了肽或其药学上可接受的盐,其中所述肽由以下氨基酸序列组成:

[0279] (SEQ ID NO:2)H-Ag Cys Glu Leu Cys Ag Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr-NH₂;

[0280] (SEQ ID NO:3)C12-BE BK Asn Ser Ser Tyr Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr-NH₂;

[0281] (SEQ ID NO:4)C16-BE BK Asn Ser Ser Tyr Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr-NH₂;

[0282] (SEQ ID NO:5)C12-BE BK Ash Ser Ser Tyr Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr-COOH;

[0283] (SEQ ID NO:6)C14-BE BK Asn Ser Ser Tyr Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr-COOH;

[0284] (SEQ ID NO:7)C16-BE BK Asn Ser Ser Tyr Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr-COOH;

[0285] (SEQ ID NO:8)H-Cys Ag Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Ag Thr Gly Cys Tyr-NH₂;

[0286] (SEQ ID NO:9)H-Asn Asp Asp Ag Glu Leu Cys Val Asn Val Ala Ag Thr Gly Cys Leu-NH₂;

- [0287] (SEQ ID NO:10) H-Asn Asp Asp Cys Glu Leu Ag Val Asn Val Ala Cys Thr Gly Ag Leu-NH₂;
- [0288] (SEQ ID NO:11) C18-BE BK Asn Ser Ser Tyr Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr-COOH;
- [0289] (SEQ ID NO:12) H-Ag Cys Glu Leu Cys Ag Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys-NH₂;
- [0290] (SEQ ID NO:13) H-Ag Cys Glu Leu Cys Ag Asn Pro Ala Cys Ala Gly Cys-NH₂;
- [0291] (SEQ ID NO:14) H-Ag Cys Glu Phe Cys Ag Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr-NH₂;
- [0292] (SEQ ID NO:15) H-Ag Cys Glu(4-F)Phe Cys Ag Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys-NH₂;
- [0293] (SEQ ID NO:16) H-Ag Cys Glu(4-F)Phe Cys Ag Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr-NH₂;
- [0294] (SEQ ID NO:17) H-Ag Cys Glu(4-F)Phe Cys Ag Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys (4-F)Phe-NH₂;
- [0295] (SEQ ID NO:18) H-Cys Cys Glu Leu Ag Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Ag Tyr-NH₂;
- [0296] (SEQ ID NO:19) H-Ag Cys Glu Phe Cys Ag Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys-NH₂;
- [0297] (SEQ ID NO:20) H-Ag Cys Glu Phe Cys Ag Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys(4-F)Phe-NH₂;
- [0298] (SEQ ID NO:21) H-Cys Cys Glu(4-F)Phe Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr-NH₂;
- [0299] (SEQ ID NO:22) H-Cys Cys Glu(4-F)Phe Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys(4-F)Phe-NH₂;
- [0300] (SEQ ID NO:23) H-Ag Cys Glu Leu Cys Ag Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys(4-F)Phe-NH₂;
- [0301] (SEQ ID NO:24) H-(4-F)Phe Ag Cys Glu Leu Cys Ag Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys(4-F)Phe-NH₂;
- [0302] (SEQ ID NO:25) H-Ag Cys Glu Leu Cys Ag Asn Pro Ala Cys Ala Gly Cys Tyr-NH₂;
- [0303] (SEQ ID NO:26) H-Ag Cys Glu Leu Cys Ag Asn Pro Ala Cys Tyr Gly Cys Tyr-NH₂;
- [0304] (SEQ ID NO:27) H-Ag Cys Glu Leu Cys Ag Asn Pro Ala Cys Phe Gly Cys Tyr-NH₂;
- [0305] (SEQ ID NO:28) H-Ag Cys Glu Leu Cys Ag Asn Pro Ala Cys(4-F)Phe Gly Cys Tyr-NH₂;
- [0306] (SEQ ID NO:29) H-Ag Cys Glu Leu Cys Ag Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys

Leu-NH₂;

[0307] (SEQ ID NO:30) H-Ag Cys Glu Leu Cys Ag Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys

Cha-NH₂;

[0308] (SEQ ID NO:31) H-Ag Cys Glu Cha Cys Ag Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys

Tyr-NH₂;

[0309] (SEQ ID NO:32) H-Ag Cys Glu Leu Cys Ag Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys D-

Tyr-NH₂;

[0310] (SEQ ID NO:33) H-Ag Pen Glu Leu Cys Ag Asn Pro Ala Pen Thr Gly Cys

Tyr-NH₂;

[0311] (SEQ ID NO:34) H-Ag Cys Glu Leu Cys Ag Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Leu

Asn-NH₂;

[0312] (SEQ ID NO:35) H-Ag Cys Glu Leu Cys Ag Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr

Asn-NH₂;

[0313] (SEQ ID NO:36) H-Asp Ag Cys Glu Leu Cys Ag Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys

Tyr-NH₂;

[0314] (SEQ ID NO:37) H-Ile Asp Ag Cys Glu Leu Cys Ag Asn Pro Ala Cys Thr Gly

Cys Tyr-NH₂;

[0315] (SEQ ID NO:38) H-Ag Cys Glu Leu Cys Ag Asn OH-Pro Ala Cys Thr Gly Cys

Tyr-NH₂;

[0316] (SEQ ID NO:39) H-Ag Cys Glu Leu Cys Ag Asn OH-Pro Ala Cys Thr Gly Cys-

NH₂;

[0317] (SEQ ID NO:40) H-Ag Cys Glu Leu Pen Ag Asn Pro Ala Cys Thr Gly Pen

Tyr-NH₂;

[0318] (SEQ ID NO:41) H-Ag Cys Glu Leu Pen Ag Asn Pro Ala Cys Thr Gly Pen

Tyr-NH₂;

[0319] (SEQ ID NO:42) H-Ag Cys Glu Leu Cys Ag Asn Pro Ala Cys Tyr Gly Cys

Nme-Tyr-NH₂;

[0320] (SEQ ID NO:43) H-Ag Cys Glu Leu Cys Ag Asn Pro Ala Cys Tyr Gly Cys-

COOH;

[0321] (SEQ ID NO:44) H-Ag Cys Glu Leu Cys Ag Asn Pro Ala Cys Cha Gly Cys

Tyr-NH₂;

[0322] (SEQ ID NO:45) H-Ag Cys Glu Leu Cys Ag Asn Leu Ala Cys Thr Gly Cys

Tyr-NH₂;

[0323] (SEQ ID NO:46) H-Ag Cys Glu Leu Cys Ag Asn Sar Ala Cys Thr Gly Cys

Tyr-NH₂;

[0324] (SEQ ID NO:47) H-Ag Cys Glu Leu Cys Ag Asn Val Ala Cys Thr Gly Cys

Tyr-NH₂;

[0325] (SEQ ID NO:48) H-Ag Cys Glu Leu Cys Ag Asn Pro Ala Cys Tyr Gly Cys

Nme-Tyr-NH₂;

- [0326] (SEQ ID NO:49) H-Ag Cys Glu Leu Cys Ag Leu Pro Ala Cys Tyr Gly Cys-COOH;
- [0327] (SEQ ID NO:50) H-Ag Cys Asp Leu Cys Ag Asn Pro Ala Cys Tyr Gly Cys-COOH;
- [0328] (SEQ ID NO:51) H-Ag Cys Ser Leu Cys Ag Asn Pro Ala Cys Tyr Gly Cys-COOH;
- [0329] (SEQ ID NO:52) H-Ag Cys Thr Leu Cys Ag Asn Pro Ala Cys Tyr Gly Cys-COOH;
- [0330] (SEQ ID NO:53) H-Hag Cys Glu Leu Cys Hag Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr-NH₂;
- [0331] (SEQ ID NO:54) H-Ag Cys Gln Leu Cys Ag Asn Pro Ala Cys Tyr Gly Cys-COOH;
- [0332] (SEQ ID NO:55) H-Ag Cys Glu Leu Cys Ag Leu Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr-NH₂;
- [0333] (SEQ ID NO:56) Pent-Cys Glu Leu Cys Ag Asn Pro Ala Cys Tyr Gly Cys Tyr-NH₂;
- [0334] (SEQ ID NO:57) H-Cys Cys Glu Leu Cys Ag Asn Pro Ala Cys Tyr Gly Ag-COOH;
- [0335] (SEQ ID NO:58) Pent-Cys Glu Leu Cys Ag Asn Pro Ala Cys Tyr Gly Cys-COOH;
- [0336] (SEQ ID NO:59) H-Hag Cys Glu Leu Cys Hag Asn Pro Ala Cys Tyr Gly Cys-COOH;
- [0337] (SEQ ID NO:60) H-Ag Cys Glu Leu Cys Ag Asn Val Ala Cys Tyr Gly Cys Tyr-NH₂;
- [0338] (SEQ ID NO:61) H-Ag Cys Glu Leu Cys Ag Asn Val Ala Cys Tyr Gly Cys-COOH;
- [0339] (SEQ ID NO:62) H-Cys Cth Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Tyr Gly Cys Tyr-NH₂;
- [0340] (SEQ ID NO:63) H-Cth Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Tyr Gly Cys Tyr-NH₂;
- [0341] (SEQ ID NO:64) H-Cth Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Tyr Gly Cys-COOH;
- [0342] (SEQ ID NO:65) H-Cys Cth Glu Leu Cys Cys Asn Val Ala Cys Tyr Gly Cys Tyr-NH₂;
- [0343] (SEQ ID NO:66) H-Cys Cth Glu Leu Cys Cys Asn Val Ala Cys Thr Gly Cys Tyr-NH₂;
- [0344] (SEQ ID NO:67) Ac-Cys Cth Glu Leu Cys Cys Asn Val Ala Cys Thr Gly Cys Tyr-NH₂;
- [0345] (SEQ ID NO:68) Ac-Cys Cth Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Tyr Gly Cys

Tyr-NH₂;

[0346] (SEQ ID NO:69) Ac-Cys Cth Glu Leu Cys Cys Asn Val Ala Cys Tyr Gly Cys-COOH;

[0347] (SEQ ID NO:70) H-Cys Cth Glu Leu Cys Cys Asn Val Ala Cys Tyr Gly Cys-COOH;

[0348] (SEQ ID NO:71) Ac-Cys Cth Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Tyr Gly Cys-COOH;

[0349] (SEQ ID NO:72) H-Cys Cys Glu Leu Cys Asn Val Ala Cth Tyr Gly Cys-COOH;

[0350] (SEQ ID NO:73) H-Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Val Ala Cth Tyr Gly Cys Tyr-NH₂;

[0351] (SEQ ID NO:74) H-Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Val Ala Cth Thr Gly Cys Tyr-NH₂;

[0352] (SEQ ID NO:75) H-Cys Cys Glu Leu Cys Cth Asn Val Ala Cys Tyr Gly Cys-COOH;

[0353] (SEQ ID NO:76) H-Cys Cys Glu Leu Cys Cth Asn Val Ala Cys Tyr Gly Cys Tyr-NH₂;

[0354] (SEQ ID NO:77) H-Cys Cys Glu Leu Cys Cth Asn Val Ala Cys Thr Gly Cys Tyr-NH₂;

[0355] (SEQ ID NO:78) 4-Mepip-Cys Cth Glu Leu Cys Cys Asn Val Ala Cys Tyr Gly Cys-COOH;

[0356] (SEQ ID NO:79) H-Cys Cth Glu Leu Cys Cys Asn Val Ala Cys Thr Gly Cys-COOH;

[0357] (SEQ ID NO:80) H-Cys Cth Glu Leu Cys Cys Asn Val Ala Cys Thr Gly Cys-NH₂;

[0358] (SEQ ID NO:81) H-Cys Cth Glu Leu Cys Cys Asn Val Ala Cys Phe Gly Cys-COOH;

[0359] (SEQ ID NO:82) H-Ag Ag Glu Leu Ag Ag Asn Pro Ala Ag Thr Gly Ag Tyr-COOH;

[0360] (SEQ ID NO:83) H-Cys Cth Glu Leu Cys Cys Asn Ala Ala Cys Thr Gly Cys Tyr-NH₂;

[0361] (SEQ ID NO:84) H-Asp Cys Glu Leu Cys Dpr Asn Val Ala Cys Thr Gly Cys Tyr-NH₂;

[0362] (SEQ ID NO:85) H-Cys Cth Glu Leu Cys Cys Asn Val Ala Cys Set Gly Cys Tyr-NH₂;

[0363] (SEQ ID NO:86) H-Cth Glu Leu Cys Ag Asn Val Ala Cys Thr Gly Cys Tyr-NH₂;

[0364] (SEQ ID NO:87) H-Ag Cys Glu Leu Cys Ag Asn Val Ala Cys Thr Gly Cys Tyr-NH₂;

[0365] (SEQ ID NO:88) H-Ag Cys Glu Leu Cys Ag Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys

Tyr-NH₂;

[0366] (SEQ ID NO:89) H-Cth Cys Glu Leu Cys Cys Asn Val Ala Cys Thr Gly Cys-COOH;

[0367] (SEQ ID NO:90) H-Cth Cys Glu Leu Cys Cys Asn Val Ala Cys Thr Gly Cys Tyr-NH₂;

[0368] (SEQ ID NO:91) H-Cth Cys Glu Leu Cys Cys Asn Val Ala Cys Tyr Gly Cys Tyr-NH₂;或

[0369] (SEQ ID NO:92) H-Cys Cys Glu Leu Cys Cys Ash Val Ala Cth Tyr Gly Cys-COOH。

[0370] 在另一个实施方案中,本发明提供用于本文所述方法的一种肽或其药学上可接受的盐,其中所述肽包含以下氨基酸序列或由以下氨基酸序列组成:

[0371] Xaa₁Xaa₂Xaa₃Xaa₄Xaa₅Xaa₆Xaa₇Xaa₈Xaa₉Xaa₁₀Cys₁₁Xaa₁₂Asn₁₃Xaa₁₄Ala₁₅Cys₁₆Xaa₁₇Gly₁₈Cys₁₉Xaa₂₀Xaa₂₁(SEQ ID NO:93),或其药学上可接受的盐;其中

[0372] Xaa₁是BE或不存在;

[0373] Xaa₂是BK或不存在;

[0374] Xaa₃是Asn或不存在;

[0375] Xaa₄是Ser或不存在;

[0376] Xaa₅是Ser、Asn、Ile或不存在;

[0377] Xaa₆是Tyr、Asp、4-氟苯丙氨酸((4-F)Phe)或不存在;

[0378] Xaa₇是Cys、胱硫醚(Cth)、烯丙基甘氨酸(Ag)、Hag或Asp;

[0379] Xaa₈是Cys、胱硫醚(Cth)、青霉胺(Pen)或烯丙基甘氨酸(Ag);

[0380] Xaa₉是Glu、Asp、Ser、Thr或Gln;

[0381] Xaa₁₀是Leu、环己基丙氨酸(Cha)、Phe或4-氟苯丙氨酸((4-F)Phe);

[0382] Xaa₁₂是Cys、烯丙基甘氨酸(Ag)、Hag或Val;

[0383] Xaa₁₄是Pro、Val、肌氨酸(Sar)、Leu或羟脯氨酸(OH-Pro);

[0384] Xaa₁₇是Tyr、Thr、环己基丙氨酸(Cha)、4-氟苯丙氨酸((4-F)Phe)、Phe或Ala;

[0385] Xaa₂₀是Tyr、Leu、4-氟苯丙氨酸((4-F)Phe)、环己基丙氨酸(Cha)、D-Tyr、N-甲基Tyr(Nme-Tyr)或不存在;

[0386] Xaa₂₁不存在或是Asn;

[0387] 其中至少一个Xaa是BE、BK、(4-F)Phe、Cth、Ag、Hag、Pen、Cha、Sar或OH-Pro;并且

[0388] 其中所述肽在Xaa₇和Xaa₁₂、Xaa₈和Cys₁₆以及Cys₁₁和Cys₁₉之间含有共价键。

[0389] 在另外的实施方案中,肽或其药学上可接受的盐,其中所述肽包含以下氨基酸序列或由以下氨基酸序列组成:

[0390] Xaa₁Xaa₂Xaa₃Xaa₄Xaa₅Xaa₆Xaa₇Xaa₈Xaa₉Xaa₁₀Cys₁₁Xaa₁₂Asn₁₃Xaa₁₄Ala₁₅Cys₁₆Xaa₁₇Gly₁₈Cys₁₉Xaa₂₀Xaa₂₁(SEQ ID NO:93),或其药学上可接受的盐;其中

[0391] Xaa₁是BE或不存在;

[0392] Xaa₂是BK或不存在;

[0393] Xaa₃是Asn或不存在;

[0394] Xaa₄是Ser或不存在;

- [0395] Xaa₅是Ser、Asn、Ile或不存在；
- [0396] Xaa₆是Tyr、Asp、4-氟苯丙氨酸((4-F)Phe)或不存在；
- [0397] Xaa₇是Cys、胱硫醚(Cth)、烯丙基甘氨酸(Ag)、Hag或Asp；
- [0398] Xaa₈是Cys、胱硫醚(Cth)、青霉胺(Pen)或烯丙基甘氨酸(Ag)；
- [0399] Xaa₉是Glu、Asp、Ser、Thr或Gln；
- [0400] Xaa₁₀是Leu、环己基丙氨酸(Cha)、Phe或4-氟苯丙氨酸((4-F)Phe)；
- [0401] Xaa₁₂是Cys、烯丙基甘氨酸(Ag)、Hag或Val；
- [0402] Xaa₁₄是Pro、Val、肌氨酸(Sar)、Leu或羟脯氨酸(OH-Pro)；
- [0403] Xaa₁₇是Tyr、Thr、环己基丙氨酸(Cha)、4-氟苯丙氨酸((4-F)Phe)、Phe或Ala；
- [0404] Xaa₂₀是Tyr、Leu、4-氟苯丙氨酸((4-F)Phe)、环己基丙氨酸(Cha)、D-Tyr、N-甲基Tyr(Nme-Tyr)或不存在；
- [0405] Xaa₂₁不存在或是Asn；
- [0406] 其中至少一个Xaa是BE、BK、(4-F)Phe、Cth、Ag、Hag、Pen、Cha、Sar或OH-Pro；并且
- [0407] 其中Xaa₇和Xaa₁₂均是Ag，并且Ag₇和Ag₁₂之间存在二卡巴键；
- [0408] Xaa₇和Xaa₁₂均是Cys，并且Cys₇和Cys₁₂之间存在二硫键；
- [0409] Xaa₈是Cys，并且Cys₈和Cys₁₆之间存在二硫键；
- [0410] Xaa₇是Cth，并且Cth₇和Cys₁₂之间存在键；
- [0411] Xaa₈是Cth，并且Cth₈和Cys₁₆之间存在键；
- [0412] Cys₁₁和Cys₁₉之间存在二硫键；或
- [0413] 其任何组合。
- [0414] 在一些实施方案中，肽是分离的。在其它实施方案中，肽是纯化的。
- [0415] 在一些实施方案中，提供了肽的药理学上可接受的盐。在一些情况下，药理学上可接受的盐是氯化物、乙酸盐、磷酸盐或硫酸盐。
- [0416] 在一些实施方案中，本文所述的肽的N末端被乙酰化或加帽。该修饰可以对肽提供增强的稳定性。在其它实施方案中，N末端肽是已被修饰成咪唑啉酮衍生物的半胱氨酸残基。
- [0417] 本文公开的肽还可用于检测几率或结肠癌治疗。在检测情况下使用肽的情况下，将接头与N末端缀合。然后将接头与染料缀合，或者可以在与肽键合之前与染料缀合。本领域技术人员将认识到与染料缀合的肽可用于检测肽结合相互作用。
- [0418] 另一个实施方案包括通过接头将本文公开的肽与毒素缀合。缀合并用如本文所述的肽或药理学上可接受的盐包被的毒素可用作结肠癌治疗。这种制剂将导致长效治疗的全身循环。本领域技术人员将认识到如本文所述的长效肽或其药理学上可接受的盐在治疗结肠癌中的用途。

[0419] 肽的产生

[0420] 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产生，所述系统包括但不限于细菌(例如，大肠杆菌(E.coli)或枯草芽孢杆菌(Bacillus subtilis))、昆虫细胞系统(例如，果蝇(Drosophila) Sf9细胞系统)、酵母细胞系统(例如，酿酒酵母(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)。如果重组产生肽或变体肽，例如，大肠杆菌，则编

码该肽的核酸分子还可以编码允许成熟肽从细胞中分泌的前导序列。因此,编码肽的序列可以包括例如天然存在的细菌热稳定的肠毒素(ST)肽的前序列(pre sequence)和原序列(pro sequence)。分泌的成熟肽可以从培养基中纯化。

[0421] 编码本文所述的肽的序列可以插入能够将核酸分子递送和维持在细菌细胞中的载体中。DNA分子可插入自主复制载体(合适的载体包括例如pGEM3Z和pcDNA3及其衍生物)。载体核酸可以是细菌或噬菌体DNA,例如噬菌体 λ 或M13及其衍生物。在含有本文所述的核酸的载体的构建之后可以进行宿主细胞(如细菌)的转化。合适的细菌宿主包括但不限于大肠杆菌、枯草芽孢杆菌、假单胞菌属(*Pseudomonas*)和沙门氏菌属(*Salmonella*)。除了编码核酸分子之外,遗传构建体还包括允许表达的元件,例如启动子和调节序列。表达载体可以含有控制转录起始的转录控制序列,例如启动子、增强子、操纵子和阻遏物序列。各种转录控制序列是本领域技术人员熟知的。表达载体还可以包括翻译调节序列(例如,非翻译的5'序列、非翻译的3'序列或内部核糖体进入位点)。载体能够自主复制,或者它可以整合到宿主DNA中,以确保肽生产过程中的稳定性。

[0422] 包括本文所述的肽的蛋白质编码序列还可以与编码肽亲和标签的核酸融合以促进纯化,所述标签例如谷胱甘肽S-转移酶(GST)、麦芽糖E结合蛋白、蛋白A、FLAG标签、六组氨酸、myc标签或流感HA标签。亲和标签或报告子融合物将目标肽的阅读框连接到编码亲和标签的基因的阅读框上,从而产生翻译融合。融合基因的表达导致包括目标肽和亲和标签的单个肽的翻译。在使用亲和标签的一些情况下,编码蛋白酶识别位点的DNA序列将融合在亲和标签和目标肽的阅读框之间。

[0423] 适于在蛋白质表达系统(除细菌以外)中产生本文所述的肽和变体的未成熟和成熟形式并且为本领域技术人员熟知的遗传构建体和方法也可用于在生物系统中产生肽。

[0424] 在一些实施方案中,可用化学法生产肽。肽可以通过许多不同的方法合成,包括使用传统的BOC或FMOC保护的溶液和固相合成。例如,可以使用连续的氨基酸偶联在2-氯三苯甲基氯或王树脂(Wang resin)上合成肽。可以使用各种保护基团,包括但不限于以下保护基团:苄基甲氧基羰基或叔丁氧基羰基(α -氨基,N-末端);三苯甲基或叔丁基(Cys的硫醇基团);叔丁基(谷氨酸的 γ -羧基和苏氨酸的羟基,如果存在);三苯甲基(天冬酰胺侧链和酪氨酸酚基团的 β -酰胺(β -amid)功能,如果存在);三苯甲基或叔丁基二甲基甲硅烷基(丝氨酸的羟基,如果存在)和叔丁氧基羰基(在随后的侧链修饰之前的N末端)。偶联、脱保护和切割可以通过各种方法进行。在一些实施方案中,在叔胺存在下用DIC和HOBt进行偶联,并且可以使用混合物K(三氟乙酸81%、苯酚5%、苯甲硫醚5%、1,2-乙二硫醇2.5%、水3%、二甲基硫化物2%、碘化铵1.5%w/w)将肽去保护并从固体支持物上切割。肽可以通过各种方法分离。在一个实施方案中,在除去三氟乙酸和其它挥发物后,可以使用有机溶剂沉淀该肽。可以使用各种方法形成Cys残基之间的二硫键。在一个实施方案中,可以使用二甲基亚砷(Tam等人,(1991) *J. Am. Chem. Soc.* 113:6657-62)或使用空气氧化策略来形成Cys残基之间的二硫键。所得到的肽可以通过各种方法纯化,包括但不限于反相色谱和冻干。

[0425] 肽可以以游离碱形式或作为其药学上可接受的盐制备、分离或使用。盐的实例包括但不限于肽的乙酸盐、氯化物、硫酸盐和磷酸盐。

[0426] 肽和GC-C受体激动剂的组合物

[0427] 在另一方面,提供了组合物,其中单独或组合的肽可以与任何药学上可接受的载

体或介质组合。在一些实施方案中,肽或其药学上可接受的盐可以配制成药学上可接受的组合物。在其它实施方案中,肽或其药学上可接受的盐可以配制成非药学上可接受的组合物。肽可以与在施用于患者时不产生不利的、过敏的或其它不期望的反应的物质组合。使用的载体或介质可以包括溶剂、分散剂、涂层、吸收促进剂、控制释放剂和一种或多种惰性赋形剂(包括淀粉、多元醇、造粒剂、微晶纤维素(例如,微晶纤维素球(celphere)、Celphere beads®)、稀释剂、润滑剂、粘合剂、崩解剂等)等。如果需要,所公开的组合物的片剂剂量可以通过标准的水性或非水性技术进行包衣。

[0428] 用作药学上可接受的载体和药学上可接受的惰性载体和上述另外的成分的赋形剂的实例包括但不限于粘合剂、填充剂、崩解剂、润滑剂、抗微生物剂和包衣剂。

[0429] 如本文所用,术语“粘合剂”是指可用于实施本发明的任何药学上可接受的粘合剂。药学上可接受的粘合剂的实例包括但不限于淀粉(例如,玉米淀粉、马铃薯淀粉和预胶化淀粉(例如,由Colorcon,Ltd.出售的STARCH1500®和STARCH 1500LM®)和其它淀粉)、麦芽糖糊精、明胶、天然和合成树胶,诸如阿拉伯胶、粉状黄蓍胶、瓜尔胶、纤维素及其衍生物(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、醋酸纤维素、羧甲基纤维素钙、羧甲基纤维素钠、羧甲基纤维素、粉状纤维素、微细纤维素、微晶纤维素(例如由FMC Corporation,Marcus Hook,PA,USA出售的AVICEL™,如AVICEL-PH-101™、-103™和-105™))、聚乙烯醇、聚乙烯吡咯烷酮(例如,聚乙烯吡咯烷酮K30)及其混合物。

[0430] 可以特别用于药物组合物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(诸如例如,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)。

[0431] 如本文所用,术语“填充剂”是指可用于实践本发明的任何药学上可接受的填充剂。药学上可接受的填充剂的实例包括但不限于滑石、碳酸钙(例如,颗粒或粉末)、磷酸氢钙、磷酸三钙、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、粉状纤维素、葡萄糖结合剂(dextrates)、高岭土、甘露糖醇、硅酸、山梨醇、淀粉(例如,Starch 1500)、预胶化淀粉、乳糖、葡萄糖、果糖、半乳糖、海藻糖、蔗糖、麦芽糖、异麦芽酮糖醇、棉子糖、麦芽糖醇、松三糖、水苏糖、乳糖醇、异麦芽酮糖(palatinite)、木糖醇、肌醇及其混合物。

[0432] 可特别用于将肽包衣的药学上可接受的填充剂的实例包括但不限于滑石、微晶纤维素(例如,Avicel PH101或Celphere CP-305)、粉状纤维素、葡萄糖结合剂、高岭土、甘露糖醇、硅酸、山梨醇、淀粉、预胶化淀粉、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、棉子糖、麦芽糖醇、松三糖、水苏糖、乳糖醇、异麦芽酮糖、木糖醇、甘露醇、肌醇及其混合物。

[0433] 如本文所用,术语“添加剂”是指任何药学上可接受的添加剂。药学上可接受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、包衣添加剂、稀释剂、表面活性剂、调味添加剂、保湿剂、吸收促进添加剂、控制释放添加剂、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。如本文所用,“赋形剂”是任何药学上可接受的添加剂、填充剂、粘合剂或试剂。

[0434] 本发明的组合物还可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、薄膜包衣剂等。任何这样的任选成分必须与本文所述的化合物相容以确保制剂的稳定性。组合物可根据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、棉子糖、麦芽糖醇、松三糖、水苏糖、乳糖醇、异麦芽酮糖、淀粉、木糖醇、甘露糖醇、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,例如清蛋白。

[0435] 组合物可以包括例如各种其它溶剂、分散剂、包衣剂、吸收促进添加剂、控制释放添加剂和一种或多种惰性添加剂(其包括例如淀粉、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,所公开的组合物的片剂剂量可以通过标准的水性或非水性技术进行包衣。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。

[0436] 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、交联聚维酮、聚维酮、波拉克林钾(polacrillin potassium)、羟基乙酸淀粉钠、马铃薯或木薯淀粉、其它淀粉、预胶化淀粉、粘土、其它藻类、其它纤维素、树胶及其混合物。

[0437] 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、山梨醇、甘露糖醇、聚乙二醇、其它二醇、硬脂酸、月桂基硫酸钠、滑石、氢化植物油(例如,花生油、棉籽油、向日葵油、芝麻油、橄榄油、玉米油和大豆油)、硬脂酸锌、油酸乙酯、月桂酸乙酯、琼脂、syloid硅胶(AEROSIL 200,W.R.Grace Co.,Baltimore,MD USA)、合成二氧化硅的凝结气溶胶(Evonik Degussa Co.,Plano,TX USA)、热解二氧化硅(CAB-O-SIL,Cabot Co.,Boston,MAUSA)及其混合物。

[0438] 合适的助流剂包括(例如)亮氨酸、胶态二氧化硅、三硅酸镁、粉状纤维素、淀粉、滑石和磷酸三钙。

[0439] 合适的抗结块添加剂包括例如硅酸钙、硅酸镁、二氧化硅、胶体二氧化硅、滑石及其混合物。

[0440] 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、氯化十六烷基吡啶、甲酚、氯丁醇、脱氢乙酸、羟苯乙酯、对羟基苯甲酸甲酯、对羟基苯甲酸甲酯、苯酚、苯乙醇、苯氧基乙醇、乙酸苯汞、硝酸苯汞、山梨酸钾、对羟基苯甲酸丙酯、苯甲酸钠、脱氢乙酸钠、丙酸钠、山梨酸、硫柳汞、百里香酚(thymo)及其混合物。

[0441] 合适的抗氧化剂包括(例如)BHA(丁基化羟基苯甲醚)、BHT(丁基化羟基甲苯)、维生素E、没食子酸丙酯、抗坏血酸及其盐或酯、生育酚及其酯、 α -硫辛酸和 β -胡萝卜素。

[0442] 合适的包衣添加剂包括例如羧甲基纤维素钠、乙酸邻苯二甲酸纤维素、乙基纤维素、明胶、药用油料、羟丙基纤维素、羟丙基甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素邻苯二甲酸酯、甲基纤维素、聚乙二醇、聚乙酸乙烯酯邻苯二甲酸酯、虫胶、蔗糖、二氧化钛、巴西棕榈蜡、微晶蜡及其混合物。合适的保护包衣包括Aquacoat(例如,Aquacoat乙基纤维素水性分散体(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分散体,20%w/w,Colorcon)。

[0443] 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、硬脂酸镁、交

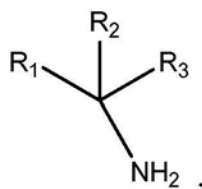
联聚维酮或BHA中的一种或多种。

[0444] 本发明的组合物还可以包括其它赋形剂、试剂及其类别,包括但不限于L-组氨酸、Pluronic®、泊洛沙姆(如Lutrol®和泊洛沙姆188)、抗坏血酸、谷胱甘肽、通透性增强剂(例如,脂类、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降低剂和促进生物利用度的吸收增强剂(包括但不限于US 6086918和US 5912014中描述的那些)、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、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、山梨醇结晶);肠胃外(如甘露糖醇和聚维酮);增塑剂(如癸二酸二丁酯、包衣增塑剂、邻苯二甲酸聚乙酸乙烯酯(polyvinylacetate phthalate));粉末润滑剂(如山嵛酸甘油酯);软明胶胶囊(如山梨醇专用溶液(special solution));用于包衣的球体(如糖球);球形化剂(如山嵛酸甘油酯和微晶纤维素);助悬/胶凝剂(如角叉菜胶、结冷胶、甘露醇、微晶纤维素、聚维酮、羟基乙酸淀粉钠、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、山梨醇结晶、山梨醇专用溶液、蔗糖);湿法制粒剂(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、柠檬酸无水、柠檬酸、糖果糖、D&C Red 33号、D&C Yellow 10号铝色淀、依地酸二钠、乙醇15%、FD&C Yellow 6号铝色淀、FD&C Blue 1号铝色淀、FD&C Blue 1号、FD&C blue 2号铝色淀、FD&C Green 3号、FD&C Red 40号、FD&C Yellow 6号铝色淀、FD&C Yellow 6号、FD&C Yellow 10号、棕榈硬脂酸甘油酯、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、天然和人造橘子香料、药用釉料、泊洛沙姆188、聚右旋糖、聚山梨醇酯20、聚山梨醇酯80、聚维酮、预胶化玉米淀粉、预胶化淀粉、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。

[0445] 在一些实施方案中,提供了包含本文所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。在另外的实施方案中,试剂是 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 或 Zn^{2+} 或其组合。在一些实施方案中,阳离子以以下形式提供,但不限于以下:乙酸镁、氯化镁、磷酸镁、硫酸镁、乙酸钙、氯化钙、磷酸钙、硫酸钙、乙酸锌、氯化锌、磷酸锌、硫酸锌、乙酸锰、氯化锰、磷酸锰、硫酸锰、乙酸钾、氯化钾、磷酸钾、硫酸钾、乙酸钠、氯化钠、磷酸钠、硫酸钠、乙酸铝、氯化铝、磷酸铝或硫酸铝。在另外的实施方案中,阳离子以以下形式提供:氯化镁、氯化钙、磷酸钙、硫酸钙、乙酸锌、氯化锰、氯化钾、氯化钠或氯化铝。在其它实施方案中,阳离子以以下形式提供:氯化钙、氯化镁或乙酸锌。

[0446] 在另一个实施方案中,稳定剂是空间位阻的伯胺。在另外的实施方案中,空间位阻的伯胺是氨基酸。在又一个实施方案中,氨基酸是天然存在的氨基酸。在另一个实施方案中,天然存在的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;此外,天然存在的氨基酸是亮氨酸、异亮氨酸、丙氨酸或甲硫氨酸。在另一个实施方案中,空间位阻的伯胺是非天然存在的氨基酸(例如,1-氨基环己烷羧酸)。在另一个实施方案中,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,一种或多种空间位阻的伯胺可用于组合物中。

[0447] 在一些情况下,空间位阻的伯胺具有下式:



其中 R_1 、 R_2 和 R_3 独立地选

自: H 、 $C(0)OH$ 、 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单取代或多取代为:卤素或氨基,并且条件是 R_1 、 R_2 和 R_3 中不超过两个是 H 。在另一个实施方案中, R_1 、 R_2 和 R_3 中不超过一个是 H 。

[0448] 在其它实施方案中,提供了包含药学上可接受的载体、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,阳离子是 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 或 Zn^{2+} 或其混合物。在另一个实施方案中,药物组合物还包含药学上可接受的粘合剂和/或药学上可接受的助流剂、润滑剂或同时用作助流剂和润滑剂的添加剂和/或抗氧化剂。在一些实施方案中,将药物组合物施加于载体。在一些实施方案中,载体是填充剂。

[0449] 在一些情况下,施加到载体的水溶液中阳离子:空间位阻的伯胺:肽的摩尔比为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,在5:1和2:1之间)。因此在一些情况下,施加到载体的阳离子:空间位阻的伯胺:肽的摩尔比为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。当粘合剂(例如甲基纤维素)存在于施加到载体的GC-C激动剂肽溶液中时,它可以按重量计以0.5%-2.5%(例如,0.7%-1.7%或0.7%-1%或1.5%或0.7%)存在。

[0450] 已经发现,选自 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Mn^{2+} 、 K^+ 、 Na^+ 和 Al^{3+} 的阳离子可用于在储存期间抑制GC-C受体激动剂多肽的氧化产物的形成。还已经发现空间位阻的伯胺可用于在储存期间抑制GC-C受体激动剂多肽的甲醛亚胺加合物(“甲醛亚胺产物”)的形成。因此,包含选自 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Mn^{2+} 、 K^+ 、 Na^+ 或 Al^{3+} 的阳离子,例如选自 Zn^{2+} 、 Mg^{2+} 和 Ca^{2+} 的二价阳离子,和/或空间位阻的伯胺(如氨基酸)的GC-C受体激动剂多肽制剂具有用于制造、储存和分配药物的足够的保质期(如通过色谱纯度和/或通过重量/重量测定法测量)。此外,虽然空间位阻胺的单独存在可以在储存期间增加GC-C受体激动剂多肽的水解产物的形成,但是空间位阻的伯胺和阳离子的组合,例如但不限于亮氨酸和 Ca^{2+} 的组合,在储存期间抑制GC-C受体激动剂多肽的水解产物以及GC-C受体激动剂多肽的氧化产物的形成,导致由重量/重量测定法和/或由色谱纯度确定的甚至更大的总体稳定性。

[0451] 在另一个实施方案中,药物组合物还包含药学上可接受的粘合剂或添加剂,和/或药学上可接受的助流剂、润滑剂或同时用作助流剂和润滑剂的添加剂和/或抗氧化剂。

[0452] 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接受的药物稀释剂或赋形剂,例如无菌水溶液,以得到一定范围的最终浓度,这取决于预期用途。制备技术通常在本领域中是众所周知的,如Remington's Pharmaceutical Sciences(第18版,Mack Publishing Company,1995)所例示。

[0453] 为了治疗胃肠病症,将本文所述的肽口服或经直肠施用,例如作为片剂、胶囊剂、含有预定量的活性成分丸剂的药囊、凝胶剂、糊剂、糖浆剂、大丸剂、药糖剂、浆液、粉剂、冻干粉剂、颗粒剂,作为在水性液体或非水性液体中的溶液剂或混悬剂;作为水包油液体乳剂

或油包水液体乳剂,经由脂质体制剂(参见例如EP 736299)或呈一些其它形式。口服施用的组合物可包括粘合剂、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。口服施用的制剂如片剂可以任选地被包衣或刻痕,并且可以被配制以便提供其中活性成分的持续、延迟或控制释放。肽可以与用于治疗胃肠病症的其它药剂(包括但不限于本文所述的药剂)共同施用。

[0454] 在另一方面,合适的药物组合物可以包含一种或多种其它治疗剂。此类治疗剂包括但不限于止痛剂;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;ODC抑制剂;GABA-B拮抗剂;胆汁酸螯合剂;促动力剂和促进剂;抗抑郁药;抗生素;止吐药;阿片样物质;和粘膜保护剂。

[0455] 治疗方法

[0456] 在各种实施方案中,肽或其药学上可接受的盐可用于结肠清洁治疗或治疗胃肠病症的方法中。在一些实施方案中,肽或其药学上可接受的盐可用于在结肠镜检查或外科手术前清洁结肠的方法。在另外的实施方案中,肽可以用于使受试者准备进行结肠镜检查治疗。在一些实施方案中,肽或药学上可接受的盐可用于使受试者准备进行手术,例如肠手术。在其它实施方案中,肽可用于治疗结肠癌、遗传性非息肉性结肠直肠癌(HNPCC),即林奇综合征、胃轻瘫(GP)、息肉、疼痛、一般性腹痛、手术后肠梗阻、阿片样物质诱发的便秘、功能性消化不良、憩室疾病,包括但不限于SUDD(症状性无并发症性憩室疾病)和SCAD(与憩室病相关的节段性结肠炎)、憩室病、腹泻型肠易激综合征、与肠易激综合征(IBS)相关的疼痛、溃疡性结肠炎、溃疡性直肠炎、克罗恩氏病、炎性肠病(IBD)、慢性或急性放射性原发病、直肠疼痛、慢性肛痛、痉挛性肛部痛、肛痛、慢性肛裂、术后肛门疼痛、膀胱过度活动综合征、压力性尿失禁、间质性膀胱炎、膀胱疼痛综合征、结肠直肠癌、与癌症相关的疼痛、一般性盆腔疼痛、子宫内膜异位症、睾丸痛、慢性前列腺炎、前列腺痛、外阴疼痛、尿道综合征、阴茎疼痛、肛周疼痛及其它胃肠和内脏病症。在本发明的一些实施方案中,为胃肠病症提供治疗方法。在一个实施方案中,胃肠病症是结肠癌或息肉。在另一个实施方案中,胃肠病症是遗传性非息肉性结肠直肠癌(HNPCC),即林奇综合征。在另一个实施方案中,胃肠病症是胃肠道疼痛。在另一个实施方案中,胃肠病症是内脏或腹部疼痛或与癌症相关的疼痛。在另一个实施方案中,胃肠病症是直肠癌。在另一个实施方案中,胃肠病症是功能性消化不良。

[0457] 在一个实施方案中,提供了一种用于清洁准备进行结肠镜检查程序的受试者的结肠的方法,所述方法包括向所述受试者施用有效剂量的结肠清洁组合物,其中所述结肠清洁组合物包含药学上可接受的赋形剂、稀释剂或载体,和肽或其药学上可接受的盐,其中所述肽或其药学上可接受的盐包含以下氨基酸序列:

[0458] Xaa₁Xaa₂Xaa₃Xaa₄Xaa₅Xaa₆Xaa₇Xaa₈Xaa₉Xaa₁₀Xaa₁₁Xaa₁₂Xaa₁₃Xaa₁₄Ala₁₅Xaa₁₆Xaa₁₇Gly₁₈Xaa₁₉Xaa₂₀Xaa₂₁(SEQ ID NO:1),或其药学上可接受的盐;其中

[0459] Xaa₁是BE或不存在;

[0460] Xaa₂是BK、Asn或不存在;

[0461] Xaa₃是Asn、Ser或不存在;

[0462] Xaa₄是Ser或不存在;

[0463] Xaa₅是Ser、Asn、Ile、BE或不存在;

[0464] Xaa₆是Tyr、Asp、4-氟苯丙氨酸((4-F)Phe)、BK或不存在;

- [0465] Xaa₇是Cys、胱硫醚 (Cth)、烯丙基甘氨酸 (Ag)、Hag或Asp;
- [0466] Xaa₈是Cys、胱硫醚 (Cth)、青霉胺 (Pen) 或烯丙基甘氨酸 (Ag);
- [0467] Xaa₉是Glu、Asp、Ser、Thr或Gln;
- [0468] Xaa₁₀是Leu、环己基丙氨酸 (Cha)、Phe或4-氟苯丙氨酸 ((4-F) Phe);
- [0469] Xaa₁₁是Cys、Ag或青霉胺 (Pen);
- [0470] Xaa₁₂是Cys、烯丙基甘氨酸 (Ag)、Hag、Cth、Dpr或Val;
- [0471] Xaa₁₃是Asn或Leu;
- [0472] Xaa₁₄是Pro、Val、肌氨酸 (Sar)、Leu或羟脯氨酸 (OH-Pro);
- [0473] Xaa₁₆是Cys、Ag、Pen或Cth;
- [0474] Xaa₁₇是Tyr、Thr、环己基丙氨酸 (Cha)、4-氟苯丙氨酸 ((4-F) Phe)、Phe、Ser或Ala;
- [0475] Xaa₁₉是Cys、Ag或Pen;
- [0476] Xaa₂₀是Tyr、Leu、4-氟苯丙氨酸 ((4-F) Phe)、环己基丙氨酸 (Cha)、D-Tyr、N-甲基 Tyr (Nme-Tyr) 或不存在;
- [0477] Xaa₂₁不存在或是Asn;
- [0478] 其中至少一个Xaa是BE、BK、(4-F) Phe、Cth、Ag、Hag、Pen、Cha、Sar、Dpr或OH-Pro
- [0479] 并且其中所述肽含有Xaa₇和Xaa₁₂、Xaa₈和Xaa₁₆以及Xaa₁₁和Xaa₁₉之间的共价键。
- [0480] 在另一个实施方案中,提供了一种用于清洁准备进行结肠镜检查程序的受试者的结肠的方法,所述方法包括向所述受试者施用有效剂量的结肠清洁组合物,其中所述结肠清洁组合物包含药学上可接受的赋形剂、稀释剂或载体,和肽或其药学上可接受的盐,其中所述肽或其药学上可接受的盐包含以下氨基酸序列:
- [0481] (SEQ ID NO:2) H-Ag Cys Glu Leu Cys Ag Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr-NH₂;
- [0482] (SEQ ID NO:3) C12-BE BK Asn Ser Ser Tyr Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr-NH₂;
- [0483] (SEQ ID NO:4) C16-BE BK Asn Ser Ser Tyr Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr-NH₂;
- [0484] (SEQ ID NO:5) C12-BE BK Asn Ser Ser Tyr Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr-COOH;
- [0485] (SEQ ID NO:6) C14-BE BK Asn Ser Ser Tyr Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr-COOH;
- [0486] (SEQ ID NO:7) C16-BE BK Asn Ser Ser Tyr Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr-COOH;
- [0487] (SEQ ID NO:8) H-Cys Ag Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Ag Thr Gly Cys Tyr-NH₂;
- [0488] (SEQ ID NO:9) H-Asn Asp Asp Ag Glu Leu Cys Val Asn Val Ala Ag Thr Gly Cys Leu-NH₂;
- [0489] (SEQ ID NO:10) H-Asn Asp Asp Cys Glu Leu Ag Val Asn Val Ala Cys Thr Gly Ag Leu-NH₂;
- [0490] (SEQ ID NO:11) C18-BE BK Asn Ser Ser Tyr Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn

Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr-COOH;

[0491] (SEQ ID NO:12) H-Ag Cys Glu Leu Cys Ag Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys-NH₂;

[0492] (SEQ ID NO:13) H-Ag Cys Glu Leu Cys Ag Asn Pro Ala Cys Ala Gly Cys-NH₂;

[0493] (SEQ ID NO:14) H-Ag Cys Glu Phe Cys Ag Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr-NH₂;

[0494] (SEQ ID NO:15) H-Ag Cys Glu(4-F)Phe Cys Ag Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys-NH₂;

[0495] (SEQ ID NO:16) H-Ag Cys Glu(4-F)Phe Cys Ag Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr-NH₂;

[0496] (SEQ ID NO:17) H-Ag Cys Glu(4-F)Phe Cys Ag Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys (4-F)Phe-NH₂;

[0497] (SEQ ID NO:18) H-Cys Cys Glu Leu Ag Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Ag Tyr-NH₂;

[0498] (SEQ ID NO:19) H-Ag Cys Glu Phe Cys Ag Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys-NH₂;

[0499] (SEQ ID NO:20) H-Ag Cys Glu Phe Cys Ag Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys(4-F)Phe-NH₂;

[0500] (SEQ ID NO:21) H-Cys Cys Glu(4-F)Phe Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr-NH₂;

[0501] (SEQ ID NO:22) H-Cys Cys Glu(4-F)Phe Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys(4-F)Phe-NH₂;

[0502] (SEQ ID NO:23) H-Ag Cys Glu Leu Cys Ag Ash Pro Ala Cys Thr Gly Cys(4-F)Phe-NH₂;

[0503] (SEQ ID NO:24) H-(4-F)Phe Ag Cys Glu Leu Cys Ag Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys(4-F)Phe-NH₂;

[0504] (SEQ ID NO:25) H-Ag Cys Glu Leu Cys Ag Asn Pro Ala Cys Ala Gly Cys Tyr-NH₂;

[0505] (SEQ ID NO:26) H-Ag Cys Glu Leu Cys Ag Asn Pro Ala Cys Tyr Gly Cys Tyr-NH₂;

[0506] (SEQ ID NO:27) H-Ag Cys Glu Leu Cys Ag Asn Pro Ala Cys Phe Gly Cys Tyr-NH₂;

[0507] (SEQ ID NO:28) H-Ag Cys Glu Leu Cys Ag Asn Pro Ala Cys(4-F)Phe Gly Cys Tyr-NH₂;

[0508] (SEQ ID NO:29) H-Ag Cys Glu Leu Cys Ag Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Leu-NH₂;

[0509] (SEQ ID NO:30) H-Ag Cys Glu Leu Cys Ag Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Cha-NH₂;

- [0510] (SEQ ID NO:31) H-Ag Cys Glu Cha Cys Ag Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr-NH₂;
- [0511] (SEQ ID NO:32) H-Ag Cys Glu Leu Cys Ag Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys D-Tyr-NH₂;
- [0512] (SEQ ID NO:33) H-Ag Pen Glu Leu Cys Ag Asn Pro Ala Pen Thr Gly Cys Tyr-NH₂;
- [0513] (SEQ ID NO:34) H-Ag Cys Glu Leu Cys Ag Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Leu Asn-NH₂;
- [0514] (SEQ ID NO:35) H-Ag Cys Glu Leu Cys Ag Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr Asn-NH₂;
- [0515] (SEQ ID NO:36) H-Asp Ag Cys Glu Leu Cys Ag Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr-NH₂;
- [0516] (SEQ ID NO:37) H-Ile Asp Ag Cys Glu Leu Cys Ag Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr-NH₂;
- [0517] (SEQ ID NO:38) H-Ag Cys Glu Leu Cys Ag Asn OH-Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr-NH₂;
- [0518] (SEQ ID NO:39) H-Ag Cys Glu Leu Cys Ag Asn OH-Pro Ala Cys Thr Gly Cys-NH₂;
- [0519] (SEQ ID NO:40) H-Ag Cys Glu Leu Pen Ag Asn Pro Ala Cys Thr Gly Pen Tyr-NH₂;
- [0520] (SEQ ID NO:41) H-Ag Cys Glu Leu Pen Ag Asn Pro Ala Cys Thr Gly Pen Tyr-NH₂;
- [0521] (SEQ ID NO:42) H-Ag Cys Glu Leu Cys Ag Asn Pro Ala Cys Tyr Gly Cys Nme-Tyr-NH₂;
- [0522] (SEQ ID NO:43) H-Ag Cys Glu Leu Cys Ag Asn Pro Ala Cys Tyr Gly Cys-COOH;
- [0523] (SEQ ID NO:44) H-Ag Cys Glu Leu Cys Ag Asn Pro Ala Cys Cha Gly Cys Tyr-NH₂;
- [0524] (SEQ ID NO:45) H-Ag Cys Glu Leu Cys Ag Asn Leu Ala Cys Thr Gly Cys Tyr-NH₂;
- [0525] (SEQ ID NO:46) H-Ag Cys Glu Leu Cys Ag Asn Sar Ala Cys Thr Gly Cys Tyr-NH₂;
- [0526] (SEQ ID NO:47) H-Ag Cys Glu Leu Cys Ag Asn Val Ala Cys Thr Gly Cys Tyr-NH₂;
- [0527] (SEQ ID NO:48) H-Ag Cys Glu Leu Cys Ag Asn Pro Ala Cys Tyr Gly Cys Nme-Tyr-NH₂;
- [0528] (SEQ ID NO:49) H-Ag Cys Glu Leu Cys Ag Leu Pro Ala Cys Tyr Gly Cys-COOH;
- [0529] (SEQ ID NO:50) H-Ag Cys Asp Leu Cys Ag Asn Pro Ala Cys Tyr Gly Cys-

COOH;

[0530] (SEQ ID NO:51) H-Ag Cys Ser Leu Cys Ag Asn Pro Ala Cys Tyr Gly Cys-COOH;

[0531] (SEQ ID NO:52) H-Ag Cys Thr Leu Cys Ag Asn Pro Ala Cys Tyr Gly Cys-COOH;

[0532] (SEQ ID NO:53) H-Hag Cys Glu Leu Cys Hag Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr-NH₂;

[0533] (SEQ ID NO:54) H-Ag Cys Gln Leu Cys Ag Asn Pro Ala Cys Tyr Gly Cys-COOH;

[0534] (SEQ ID NO:55) H-Ag Cys Glu Leu Cys Ag Leu Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr-NH₂;

[0535] (SEQ ID NO:56) Pent-Cys Glu Leu Cys Ag Asn Pro Ala Cys Tyr Gly Cys Tyr-NH₂;

[0536] (SEQ ID NO:57) H-Cys Cys Glu Leu Cys Ag Asn Pro Ala Cys Tyr Gly Ag-COOH;

[0537] (SEQ ID NO:58) Pent-Cys Glu Leu Cys Ag Asn Pro Ala Cys Tyr Gly Cys-COOH;

[0538] (SEQ ID NO:59) H-Hag Cys Glu Leu Cys Hag Asn Pro Ala Cys Tyr Gly Cys-COOH;

[0539] (SEQ ID NO:60) H-Ag Cys Glu Leu Cys Ag Asn Val Ala Cys Tyr Gly Cys Tyr-NH₂;

[0540] (SEQ ID NO:61) H-Ag Cys Glu Leu Cys Ag Asn Val Ala Cys Tyr Gly Cys-COOH;

[0541] (SEQ ID NO:62) H-Cys Cth Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Tyr Gly Cys Tyr-NH₂;

[0542] (SEQ ID NO:63) H-Cth Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Tyr Gly Cys Tyr-NH₂;

[0543] (SEQ ID NO:64) H-Cth Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Tyr Gly Cys-COOH;

[0544] (SEQ ID NO:65) H-Cys Cth Glu Leu Cys Cys Asn Val Ala Cys Tyr Gly Cys Tyr-NH₂;

[0545] (SEQ ID NO:66) H-Cys Cth Glu Leu Cys Cys Asn Val Ala Cys Thr Gly Cys Tyr-NH₂;

[0546] (SEQ ID NO:67) Ac-Cys Cth Glu Leu Cys Cys Asn Val Ala Cys Thr Gly Cys Tyr-NH₂;

[0547] (SEQ ID NO:68) Ac-Cys Cth Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Tyr Gly Cys Tyr-NH₂;

[0548] (SEQ ID NO:69) Ac-Cys Cth Glu Leu Cys Cys Asn Val Ala Cys Tyr Gly Cys-COOH;

- [0549] (SEQ ID NO:70) H-Cys Cth Glu Leu Cys Cys Asn Val Ala Cys Tyr Gly Cys-COOH;
- [0550] (SEQ ID NO:71) Ac-Cys Cth Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Tyr Gly Cys-COOH;
- [0551] (SEQ ID NO:72) H-Cys Cys Glu Leu Cys Asn Val Ala Cth Tyr Gly Cys-COOH;
- [0552] (SEQ ID NO:73) H-Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Val Ala Cth Tyr Gly Cys Tyr-NH₂;
- [0553] (SEQ ID NO:74) H-Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Val Ala Cth Thr Gly Cys Tyr-NH₂;
- [0554] (SEQ ID NO:75) H-Cys Cys Glu Leu Cys Cth Asn Val Ala Cys Tyr Gly Cys-COOH;
- [0555] (SEQ ID NO:76) H-Cys Cys Glu Leu Cys Cth Asn Val Ala Cys Tyr Gly Cys Tyr-NH₂;
- [0556] (SEQ ID NO:77) H-Cys Cys Glu Leu Cys Cth Asn Val Ala Cys Thr Gly Cys Tyr-NH₂;
- [0557] (SEQ ID NO:78) 4-Mepip-Cys Cth Glu Leu Cys Cys Asn Val Ala Cys Tyr Gly Cys-COOH;
- [0558] (SEQ ID NO:79) H-Cys Cth Glu Leu Cys Cys Asn Val Ala Cys Thr Gly Cys-COOH;
- [0559] (SEQ ID NO:80) H-Cys Cth Glu Leu Cys Cys Asn Val Ala Cys Thr Gly Cys-NH₂;
- [0560] (SEQ ID NO:81) H-Cys Cth Glu Leu Cys Cys Asn Val Ala Cys Phe Gly Cys-COOH;
- [0561] (SEQ ID NO:82) H-Ag Ag Glu Leu Ag Ag Asn Pro Ala Ag Thr Glr Ag Tyr-COOH;
- [0562] (SEQ ID NO:83) H-Cys Cth Glu Leu Cys Cys Ash Ala Ala Cys Thr Gly Cys Tyr-NH₂;
- [0563] (SEQ ID NO:84) H-Asp Cys Glu Leu Cys Dpr Asn Val Ala Cys Thr Gly Cys Tyr-NH₂;
- [0564] (SEQ ID NO:85) H-Cys Cth Glu Leu Cys Cys Asn Val Ala Cys Ser Gly Cys Tyr-NH₂;
- [0565] (SEQ ID NO:86) H-Cth Glu Leu Cys Ag Asn Val Ala Cys Thr Gly Cys Tyr-NH₂;
- [0566] (SEQ ID NO:87) H-Ag Cys Glu Leu Cys Ag Asn Val Ala Cys Thr Gly Cys Tyr-NH₂;
- [0567] (SEQ ID NO:88) H-Ag Cys Glu Leu Cys Ag Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr-NH₂;
- [0568] (SEQ ID NO:89) H-Cth Cys Glu Leu Cys Cys Asn Val Ala Cys Thr Gly Cys-COOH;

[0569] (SEQ ID NO:90) H-Cth Cys Glu Leu Cys Cys Asn Val Ala Cys Thr Gly Cys Tyr-NH₂;

[0570] (SEQ ID NO:91) H-Cth Cys Glu Leu Cys Cys Asn Val Ala Cys Tyr Gly Cys Tyr-NH₂;或

[0571] (SEQ ID NO:92) H-Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Val Ala Cth Tyr Gly Cys-COOH。

[0572] 在一个实施方案中,本文所述的肽和组合物提供了在结肠镜检查之前使患者准备的治疗。

[0573] 在一些实施方案中,本文所述的肽和药学上可接受的盐可用作在准备进行结肠镜检查程序中用于结肠清洁的方法。在一些实施方案中,用于结肠清洁的方法包括施用有效第一剂量,例如5μg至100mg之间的肽或药学上可接受的盐。在第二天早上,施用有效第二剂量,例如5μg至100mg之间的肽或药学上可接受的盐,以基本上清洁结肠。在其它实施方案中,肽或其药学上可接受的盐以5μg至200mg之间的单剂量施用。

[0574] 本文所述的肽和药学上可接受的盐可以单独使用或组合疗法用于治疗、预防或减少与胃肠病症相关的内脏疼痛、癌症、一般性盆腔疼痛、膀胱疼痛、膀胱过度活动症、子宫内膜异位症、睾丸痛、慢性前列腺炎、前列腺痛、外阴痛、尿道综合征、阴茎疼痛和肛周疼痛或与本文所述的另一种病症相关的疼痛。

[0575] 本文所述的肽和药学上可接受的盐可以与其它药剂组合施用。例如,肽可以与止痛肽、可溶性鸟苷酸环化酶(sGC)刺激剂或化合物一起施用。止痛肽或化合物可以共价连接到本文所述的肽上,或者它可以是在组合疗法中与本文所述的肽一起施用或依次施用的分开的药剂。本文所述的肽和药学上可接受的盐还可以与用于治疗GI病症的其它药剂组合施用,所述其它药剂包括抗抑郁药、促进剂或促动力剂、止吐药、抗生素、质子泵抑制剂、酸阻断剂(例如,组胺H₂受体拮抗剂)、酸泵拮抗剂、PDE5抑制剂、ODC抑制剂、GABA-B激动剂、胆汁酸螯合剂、COX-2抑制剂、NSAIDs、皮质类固醇、阿片样物质、β-3肾上腺素能受体激动剂、抗胆碱能剂,包括但不限于毒蕈碱受体拮抗剂、三环抗抑郁药和粘膜保护剂。

[0576] 在其它实施方案中,肽的治疗组合包括塞来昔布、其它非甾体抗炎药(NSAIDs),包括舒林酸(Sulidac)和异构体,和用于散发性结肠息肉和林奇综合征的磷酸二酯酶(PDE)抑制剂和鸟氨酸脱羧酶(ODC)抑制剂(例如d, l-α-二氟甲基鸟氨酸DFM0);美沙拉嗪(Mesalamine)或5-氨基水杨酸(5-asa)或类固醇、用于炎性肠病(例如克罗恩病和溃疡性结肠炎)的布地奈德;用于慢性疼痛(包括癌症疼痛)的阿片样物质、曲马多和曲马多异构体和类似物;或艾沙度林(Eluxalodine)。

[0577] 在一些实施方案中,可与本文所述的肽一起使用的有用的止痛剂包括Ca通道阻断剂(例如,齐考诺肽)、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(Zelnorm®)、莫沙必利、甲氧氯普胺、扎可必利、西沙必利、伦扎必利、诸如BIMU1和BIMU 8的苯并咪唑烷酮衍生物和利沙必利)、5HT₁激动剂(例如,舒马曲坦和丁螺环酮)、阿片样物质受体激动剂(例如,洛哌丁胺、非多托秦(fedotozine)、脑啡肽五肽、吗啡、苯乙哌啶(diphenyloxyate)、氟雷法胺(frakefamide)、曲美布汀和芬太尼)、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)、沃氟匹坦(vofopitant)、依洛匹坦(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(saredutant)、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和他奈坦(talnetant))、去甲肾上腺素5-羟色胺再摄取抑制剂(NSRI) (例如米那普仑)、香草酸和大麻素受体激动剂、希乐吩(sialorphin) 和希乐吩相关肽。文献中描述了各种类型的止痛剂。

[0578] 在一些实施方案中, 一种或多种其它治疗剂可以与本文所述的肽组合使用。此类药剂包括抗抑郁药、促进剂或促动力剂、止吐药、抗生素、质子泵抑制剂、酸阻断剂(例如, 组胺H₂受体拮抗剂)、酸泵拮抗剂、PDE5抑制剂、ODC抑制剂、GABA-B激动剂、胆汁酸多价螯合剂、阿片样物质和粘膜保护剂。

[0579] 抗抑郁药的实例包括但不限于三环抗抑郁药如阿米替林(Elavil®)、地昔帕明(Norpramin®)、丙咪嗪(Tofranil®)、阿莫沙平(Asendin®)、去甲替林; 选择性5-羟色胺再摄取抑制剂(SSRI's) 如帕罗西汀(Paxil®)、氟西汀(Prozac®)、舍曲林(Zoloft®) 和西酞普兰(citalopram)(Celexa®); 和其它如多塞平(Sinequan®) 和曲唑酮(Desyrel®)。

[0580] 促进剂和促动力剂的实例包括但不限于伊托必利(itopride)、奥曲肽、贝胆碱(bethanechol)、甲氧氯普胺(Reglan®)、多潘立酮(Motilium®)、红霉素(及其衍生物) 和西沙必利(Propulsid®)。止吐药的实例包括但不限于丙氯拉嗪(prochlorperazine)。

[0581] 可以使用的抗生素的实例包括可用于治疗幽门螺杆菌(Heliobacter pylori) 感染的抗生素, 如阿莫西林、四环素、甲硝唑或克拉霉素。其它抗生素如红霉素及其衍生物也可与本文所述的肽组合使用。

[0582] 质子泵抑制剂的实例包括但不限于奥美拉唑(Prilosec®)、埃索美拉唑(Nexium®)、兰索拉唑(Prevacid®)、泮托拉唑(Protonix®) 和雷贝拉唑(Aciphex®)。H₂受体阻断剂的实例包括但不限于包括西咪替丁、雷尼替丁、法莫替丁和尼札替丁。酸泵拮抗剂的实例包括但不限于盐酸(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)。

[0583] 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)、柠檬酸西地那非、他达拉非、伐地那非和乌地那非(udenafil)。GABA-B激动剂包括但不限于巴氯芬和XP19986 (CAS登记号:847353-30-4)。胆汁酸多价螯合剂的实例包括但不限于GT102-279、考来烯胺、考来司维纶、盐酸考来司维纶、熊去氧胆酸、考来替泊、考来替兰、司维拉姆、与表氯醇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、聚普瑞锌(polaprezinc)、西曲酸酯(cetraxate) 和次水杨酸铋(bismuth subsalicylate)。

[0584] 组合疗法可以通过施用两种或更多种活性剂, 例如本文所述的肽或药学上可接受的盐和另一种治疗性肽或化合物来实现, 每种活性剂分别配制和施用, 或者通过在单个制

剂中施用两种或更多种活性剂。组合疗法也包括其它组合。例如,可以将两种活性剂配制在一起,并与含有第三种活性剂的单独制剂联合施用。虽然组合疗法中的两种或更多种活性剂可以同时施用,但它们不是必需的。例如,施用第一种活性剂(或活性剂的组合)可以在施用第二药剂(或药剂组合)之前数分钟、数小时、数天或数周。因此,两种或更多种活性剂可以在彼此的数分钟内或在彼此的1、2、3、6、9、12、15、18或24小时内或在彼此的1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、12、14天内或在彼此的2、3、4、5、6、7、8、9或10周内施用。在某些情况下,甚至更长的间隔是可能的。虽然在许多情况下希望在组合疗法中使用的两种或更多种活性剂同时存在于患者体内,但不必如此。

[0585] 剂量

[0586] 用于本文所述的肽和药学上可接受的盐的成人剂量范围可一般为口服或经直肠5 μg 至100mg/天。以离散单位提供的片剂、胶囊剂或其它呈递形式可以方便地包含一定量的本文所述的化合物,其以例如含有25 μg 至2mg或约100 μg 至1mg的单位的剂量或多个这样的剂量有效。给患者开具的化合物的精确量将由主治医师负责。然而,所用的剂量将取决于许多因素,包括患者的年龄和性别、正在治疗的精确病症及其严重程度。

[0587] 在各种实施方案中,剂量单位在一天中的任何时间与食物一起施用,在一天中的任何时间不与食物一起施用,在过夜禁食之后与食物一起施用(例如与早餐一起),在低脂肪小吃之后的睡前施用。在一个具体实施方案中,剂量单位在食物消耗(例如,膳食)之前或之后施用。在另一个实施方案中,在食物消耗之前大约15分钟至1小时施用剂量单位。在各种实施方案中,剂量单位每天施用一次、每天两次、每天三次、每天四次、每天五次或每天六次。在某些实施方案中,剂量单位和日剂量是相等的。

[0588] 在一些实施方案中,以分割剂量提供含有本文所述肽的组合物。分割剂量在结肠镜检查前一天晚上和结肠镜检查当天施用。在其它实施方案中,在结肠镜检查前一天晚上或白天或结肠镜检查当天以单剂量提供剂量。

[0589] 在本发明的组合疗法实施方案中,剂量单位中两种或更多种活性成分中的每一种的精确量将取决于每种组分的期望剂量。因此,当根据特定的剂量方案(例如,指定一定数量的单位和施用的特定时机的剂量方案)施用时,产生将递送相同剂量的每种组分的剂量单位,如同患者仅用单一成分治疗一样进行施用是有用的。在其它情况下,可能需要产生将递送一种或多种组分的剂量的剂量单位,其小于在患者仅用单一组分治疗的情况下将施用的组分的剂量。最后,可能需要产生将递送一种或多种组分的剂量的剂量单位,其大于在患者仅用单一组分治疗的情况下将施用的组分的剂量。

[0590] 药物组合物可以包括另外的成分,包括但不限于本文所述的活性成分和赋形剂。在某些实施方案中,剂量单位的一种或多种治疗剂可以存在于延长释放或控制释放制剂中,并且在延长释放制剂中可能不存在另外的治疗剂。例如,本文所述的肽或激动剂可以以与可以在或可以不在控制释放或延长释放制剂中的另一种药剂相同的剂量单位存在于控制释放制剂或延长释放制剂中。因此,在某些实施方案中,可能需要提供本文所述的一种或多种药剂的立即释放以及一种或多种其它药剂的控制释放。

[0591] 已经参照本发明的某些示例性实施方案描述了本发明。然而,对于本领域技术人员容易显而易见的是,可以以除了上述示例性实施方案的那些以外的具体形式来体现本发明。这可以在不脱离本发明的精神的情况下进行。示例性实施方案仅仅是说明性的,并且不

应以任何方式被认为是限制性的。本发明的范围由所附权利要求及其等同物定义,而不是由前述描述定义。

实施例

[0592] 实施例1:用于分析GC-C活性的T84细胞中的cGMP积累

[0593] 对于cGMP测定,将 2.0×10^5 个细胞/mL的T84细胞在96孔组织培养板中生长过夜。第二天,用200 μ L DMEM+20mM MES (pH 5) 或DMEM+50mM碳酸氢钠 (pH8) 或不含添加剂的pH 7的DMEM将T84细胞洗涤两次。这些缓冲液不含血清。第二次洗涤后,在37 $^{\circ}$ C将细胞与180 μ L 1mM异丁基甲基黄嘌呤 (IBMX) 在pH 5、7或8的缓冲液中一起孵育10分钟以抑制任何磷酸二酯酶活性。然后将肽在pH 5、7或8的缓冲液中稀释至10倍浓度。用T84细胞将20 μ L的肽溶液稀释至200 μ L的最终体积,使每种肽浓度为 $1 \times$ 。对每种肽进行十一点曲线分析,每个测定中测试最终的肽浓度,以nM计:10000、3000、1000、300、100、30、10、3、1、0.3、0.1。

[0594] 没有用于确定cGMP的内源性水平的肽对照。将肽在37 $^{\circ}$ C下孵育30分钟。30分钟后,除去上清液,并将细胞用200 μ L 0.1M HCl裂解。将细胞在冰上裂解30分钟。30分钟后,将裂解物用移液管去除并置于96孔HPLC板中,并以10,000x G旋转10分钟以除去任何细胞碎片。除去来自先前旋转的上清液并置于新鲜的96孔HPLC板中。将样品用等体积的1M乙酸铵 (pH 7) 稀释以中和样品以进行更好的色谱。在0.1M HCl中制备 $2 \times$ cGMP标准曲线,然后用等体积的1M乙酸铵稀释,以下最终浓度以ng/mL计:1000、500、250、125、50、25、5、2.5、0.5。ST核心肽(以下称为ST核心)具有氨基酸序列:Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr (SEQ ID NO:94)。

[0595] 使用表4中的LC/MS条件和计算的标准曲线来测定每个样品的cGMP浓度。 EC_{50} 值由使用GraphPad Prism Software生成的浓度-响应曲线计算。所选肽的结果可以在图1-14、23和24中找到。

[0596] 表1:LC/MS条件:

[0597]

MS:	Thermo Quantum 或 Vantage					
离子模式:	电喷雾, 正离子模式(ESI ⁺)					
扫描类型:	多重反应监测(MRM)					
化合物: cGMP	过渡	驻留时间 (msec)	碰撞能量 (V)	管镜	保留时间(min)	LLOQ (ng/mL)
	346 > 152	100	37	139	0.6	0.5
(+3) cGMP	349 >155	100	37	139	0.6	-
HPLC:	Waters Acquity UPLC					
柱:	Hypersil Gold C18, 2.1 x 50 mm, 1.9 um					
保护柱:	Hypersil Gold, 2.1 x 10 mm, 5 um					
流速:	750 uL/min					
柱温:	室内温度					

[0598]	自动进样器温度:	6 °C		
	注射体积:	20 uL		
	流动相:	A = 0.1%甲酸在 100%水中		
		B = 0.1%甲酸在 100%乙腈中		
	梯度:	时间(min)	% A	% B
		0	100	0
		0.2	100	0
		0.3	50	50
		0.7	50	50
		0.8	100	0

[0599] 实施例2:GC-C结合测定

[0600] 所有GC-C结合在最终体积为200μL的pH 5、7或8的培养基中进行。使用DMEM和0.5%BSA和20mM的2-(N-吗啉代)乙磺酸(MES)制备pH5的培养基。使用DMEM和0.5%BSA制备pH7的培养基。使用DMEM和含有20mM碳酸氢钠的0.5%BSA制备pH8的培养基。

[0601] 以每个反应250,000个细胞的速率使用T84细胞。使用DMEM-F1250/50培养基和5mM L-谷氨酰胺和5%FBS使细胞生长至在T-150烧瓶上汇合。使用DMEM和0.5%BSA刮落细胞,并计数以确定在200μL的最终体积中每个反应添加多少体积以得到25万个细胞。然后依次I125-STp、冷肽竞争剂和T84细胞每个反应200,000CPM开始反应。然后将样品在37°C下孵育1小时。1小时后,将全部样品加至预封闭的GF-C板中并抽吸穿过。然后将每个孔用200μL冷PBS洗涤两次。除去滤板的底部,并将96孔板置于50度干燥。干燥后,向每个孔中加入100μL闪烁液,并在计数前轻轻涡旋。所选肽的结果可见于图1和23中。

[0602] 实施例3:大鼠肠液(RIF)体外代谢孵育

[0603] 通过向结扎的大鼠空肠祥中加入PBS 30分钟获得大鼠肠液。然后收集肠液、汇集并保持在冰上,然后在4°C离心。除去上清液并迅速冷冻。然后将60μM肽(100μg/mL)与PBS和0.5%BSA一起加至大鼠肠液中。在PBS中进行对照孵育。然后在0、10、30和60分钟从所有样品一式两份取出50μL等分试样,并用含有内标的12%三氯乙酸停止。

[0604] 旋转样品,并除去上清液用于通过LC-MS使用每种肽(或预测的代谢物)的经计算的精确质量进行分析以产生提取的离子色谱图。每种样品的相对响应因子(分析物峰面积/内标峰面积)用于构建相对于时间=0的剩余百分比。所选肽的结果可见于图1、20、21和23中。

[0605] 实施例4:体内结扎的大鼠祥

[0606] 在200μLPBS中制备前60μM肽。将该溶液注入长度大约3-5cm的结扎的大鼠十二指肠祥。每个时间点每种肽使用三只动物。在30分钟和60分钟时,将祥切除、测量并称重。然后将肠液收集并在Eppendorf管中快速冷冻,并将祥重新称重以确定它们的空重量。然后将样品解冻并旋转,并从每个样品中除去上清液。然后除去50μL等分试样,并加至含有内标的12%三氯乙酸中。

[0607] 通过LC-MS使用每种肽(或预测的代谢物)的经计算的精确质量进行分析以产生提

取的离子色谱图。每种样品的相对响应因子(分析物峰面积/内标峰面积)用于构建相对于时间=0的剩余百分比。孵育期间的肠液分泌量通过公式(肠液分泌=(完整样-空样)/长度)来确定。该公式用于计算在每个时间点有多少肠液被拉入所述样。所选肽的结果可见于图15、16、18、19、22和23中。

[0608] 实施例5:二卡巴肽的制备

[0609] 使用标准的Fmoc-/Trt/Otbu保护的氨基酸制备二卡巴肽。在Protein Technologies Symphony X®上合成二卡巴肽,其中以0.5M的浓度将氨基酸溶解于二甲基甲酰胺(DMF)中。将Fmoc-Cys(Trt)-OH溶解于含有于DMF中的0.5M oxyma pure的溶液中。然后将HCTU溶解于NMP中至0.5M,并且还使用1.0M于NMP中的DIPEA。将DIC溶解于NMP中至0.5M。使用含有于DMF中的20%哌啶的溶液进行Fmoc去保护。

[0610] 使用20%于DMF中的哌啶(3x6mL, 3min, 1x6mL, 10min)处理Fmoc-Cys(Trt)-O-Wang树脂(0.2mmol, 0.29mmol/g)。将所得树脂用DMF(6x10mL, 30s)洗涤。加入已预先混合30秒的含有于NMP中的Fmoc-Xaa-OH、HCTU和DIPEA的溶液,并将混合物搅拌30分钟。将树脂过滤并用DMF洗涤一次。加入已预先混合30秒的含有于NMP中的Fmoc-Xaa-OH、HCTU和DIPEA的第二溶液,并将混合物再次搅拌30分钟。在Fmoc-Cys(Trt)-OH的情况下,将氨基酸/oxyma溶液与NMP中的DIC混合5min,加至树脂中并搅拌45分钟。将树脂过滤并用DMF洗涤一次。将所得树脂过滤并用DMF(6x10mL)洗涤。该材料将经受上述方案,并且将肽延伸至完整序列。为了在复分解之前干燥树脂,将树脂用CH₂Cl₂(3x10mL)和己烷(3x10mL)洗涤,并在减压下干燥过夜。将该材料进行上述方案,并且将肽延伸直到大环化。

[0611] 为了对肽进行复分解,使用以下程序。向500mg(0.1mmol)受保护的树脂结合的肽中加入在5mL 4:1的1,2-二氯乙烷-0.4M LiCl的DMA溶液中的6mg/mL的HGII溶液。将所得悬浮液在200W下在微波中加热至160℃保持5分钟。将悬浮液冷却、过滤并用二氯甲烷(3x10mL)和NMP(3x10mL)洗涤。一小部分被切割以确定复分解是否完全。将树脂浸入10%在NMP溶液中的DMSO(10mL)中过夜,以清除过量的HGII催化剂。将所得树脂用NMP(3x10mL)洗涤,并用20%在DMF中的哌啶(3x15mL, 10min)处理。将树脂用DMF(5x10mL)、CH₂Cl₂(3x10mL)和己烷(3x10mL)洗涤,并在减压下干燥。

[0612] 为了从树脂上切割肽,将树脂用含有90:5:5TFA-TIPS-H₂O(20mL)的溶液处理。2小时后,将树脂过滤,用TFA(3mL)洗涤并浓缩50%。将冷(-78℃)醚加至溶液(50mL)中,并将所得混合物在3500rpm下离心10分钟。倾出醚,将固体再进行2次洗涤并用冷(-78℃)醚离心。将所得固体在减压下干燥,溶解于1:1H₂O-ACN中,冷冻并冻干。

[0613] 在Waters Autopure®系统上使用0.1%TFA的水溶液和0.1%TFA的乙腈溶液在Waters PST C18 RP柱(250x30mm, 10μ, 130 Å)上以40mL/min的流速纯化肽。在40或60分钟内使用5-45%乙腈的线性梯度。将含有所需产物的级分汇集并氧化。

[0614] 为了氧化用于二硫键形成的半胱氨酸残基,使用以下程序。向含有于9:1水-乙腈中的100mL 0.05N NH₄HCO₃(pH~8)的溶液中加入5mLDMSO。72小时后,氧化似乎完成(通过HPLC),并将所述材料用乙酸酸化、冷冻并冻干。在Waters Autopure系统上使用于水和乙腈中的0.1%TFA在Waters PST C18 RP柱(250x30mm, 10μ, 130 Å)上以40mL/min的流速纯化肽。在60分钟内使用5-40%乙腈的线性梯度。将含有所需产物的级分汇集并冻干。

[0615] 实施例6:含有胱硫醚的肽的制备

[0616] 将该材料在Protein Technologies Symphony X[®]上合成,其中氨基酸以0.5M溶解于DMF中。将Fmoc-Cys(Trt)-OH溶解于含有于DMF中的0.5M oxymapure的溶液中。将HCTU溶解于NMP中至0.5M,并且还使用1.0M于NMP中的DIPEA。将DIC溶解于NMP中至0.5M。使用含有于DMF中的20%哌啶的溶液进行Fmoc去保护。

[0617] 为了将肽偶联到树脂上,使用20%于DMF中的哌啶(3x6mL,3min,1x6mL,10min)处理Rink amide树脂(0.2mmol,0.24mmol/g)。将所得树脂用DMF(6x10mL,30s)洗涤。加入已预先混合30秒的含有于NMP中的Fmoc-Xaa-OH、HCTU和DIPEA的溶液,并将混合物搅拌30分钟。将树脂过滤并用NMP洗涤一次。加入已预先混合30秒的含有于NMP中的Fmoc-Xaa-OH、HCTU和DIPEA的第二溶液,并将混合物再次搅拌30分钟。在Fmoc-Cys(Trt)-OH的情况下,将氨基酸/oxymapure溶液与NMP中的DIC混合5分钟,加至树脂中并搅拌45分钟。将树脂过滤并用DMF洗涤一次。将所得树脂过滤并用DMF(6x10mL)洗涤。将该材料进行上述方案,并且将肽延伸直到大环化。

[0618] 为了偶联二氨基酸,使用20%于DMF中的哌啶(3x6mL,3min,1x6mL,10min)处理树脂。将所得树脂用DMF(6x10mL,30s)洗涤。将含有于5mLNMP中的alloc-HCys((Fmoc-Ala-OH)-3-yl)-all(227mg,0.4mmol)、PyAOP(209mg 0.4mmol)和DIPEA(139μl,125mg,0.8mmol)的溶液加至树脂中。90分钟后,将树脂过滤并用DMF(6x10mL)洗涤。然后使用上述方案将肽延伸。

[0619] 为了进行烯丙基-Alloc脱保护,将树脂(0.2mmol)悬浮于10mL DMF中,并加入含有于10mL CH₂Cl₂中的Pd(PPh₃)₄(300mg,0.26mmol)的溶液,然后加入0.25mL(2mmol)苯基硅烷。将所得混合物在不存在光的情况下振荡2小时。切割少量样品以确保完全去保护。将所得树脂过滤并用CH₂Cl₂(3x10mL)和DMF(3x10mL)洗涤。将树脂用含有于DMF中的0.5%二乙基二硫代氨基甲酸钠的溶液(10mL,4x15min)处理,并用DMF(3x10mL)洗涤。

[0620] 为了进行大环化,将树脂用20%在DMF溶液中的哌啶处理(2x5min,1x10min,15mL),并用DMF(6x15mL)洗涤。加入含有于15mL DMF中的521mg(1mmol)PyAOP的溶液,并且1分钟后加入0.35mL(2mmol)DIPEA并振荡60分钟。取少量样品进行分析。将所得树脂用DMF(3x15mL)洗涤并放回到SymphonyX上以完成合成。

[0621] 为了从树脂上切割肽,将树脂用含有90:5:3:2TFA-TIPS-DODT-H₂O(20mL)的溶液处理。2小时后,将树脂过滤,用TFA(3mL)洗涤并浓缩50%。将冷(-78℃)醚加至溶液(50mL)中,并将所得混合物在3500rpm下离心10分钟。倾出醚,并且将固体再经历2次洗涤并用冷(-78℃)醚离心。将所得固体在减压下干燥,溶解于1:1H₂O-ACN中,冷冻并冻干。然后在Waters autopure系统上使用于水中的0.1%TFA和于乙腈中的0.1%TFA在Waters PST C18 RP柱(250x30mm,10μ,130 Å)上以40mL/min的流速纯化肽。在40或60分钟内使用5-45%乙腈的线性梯度。将含有所需产物的级分汇集并氧化。

[0622] 向含有于9:1水-乙腈中的100mL 0.05N NH₄HCO₃(pH~8)的溶液中加入5mLDMSO进行氧化。72小时后,通过HPLC确认氧化似乎完成,并将所述材料用乙酸酸化、冷冻并冻干。在Waters Autopure[®]系统上使用于水中的0.1%TFA和于乙腈中的0.1%TFA在Waters PST C18RP柱(250x30mm,10μ,130 Å)上以40mL/min的流速纯化肽。在60分钟内使用5-40%乙腈

的线性梯度。将含有所需产物的级分汇集并冻干。

[0623] 实施例7. 含有内酰胺键的肽的生产

[0624] 使用标准的Fmoc-/Trt/Otbu保护的氨基酸合成肽。将该材料在Protein Technologies Symphony X®上合成,其中氨基酸以0.5M溶解于DMF中。将Fmoc-Cys(Trt)-OH溶解于含有于DMF中的0.5M oxyma pure的溶液中。将HCTU溶解于NMP中至0.5M,并且还使用1.0M于NMP中的DIEA。将DIC溶解于NMP中至0.5M。使用含有于DMF中的20%哌啶的溶液进行Fmoc去保护。如下所述手动偶联不常见的氨基酸。

[0625] 为了掺入Fmoc-Dpr(ivDde)-OH,将含有于6mL DMF中的533mg(1.0mmol) Fmoc-Dpr(ivDde)-OH、521mg(1.0mmol) PyAOP和348μL(258mg, 2.0mmol) DIPEA的溶液加至去保护的树脂(0.2mmol)中。90分钟后,将树脂过滤,用DMF(3x10mL)、CH₂Cl₂(3x10mL)并再次用DMF(3x10mL)洗涤。将树脂放回到合成仪上以继续合成。

[0626] 为了掺入Fmoc-Asp(Odmab)-OH,将含有于6mL DMF中的667mg(1.0mmol) Fmoc-Asp(Odmab)-OH、521mg(1.0mmol) PyAOP和348μL(258mg, 2.0mmol) DIPEA的溶液加至去保护的树脂(0.2mmol)中。90分钟后,将树脂过滤,用DMF(3x10mL)、CH₂Cl₂(3x10mL)并再次用DMF(3x10mL)洗涤。将树脂放回到合成仪上以最终去保护。

[0627] 为了Boc保护N末端,用在5mL DMF中的218mg(1.0mmol) 二碳酸二叔丁酯处理树脂。4小时后,除去少量样品(~10mg),用10μL乙酸酐和30μL DIPEA在DMF中进行乙酰化以检查完成。将所得树脂用DMF(5x10mL)洗涤,并用100μL乙酸酐和300μL在DMF中的DIPEA处理50分钟。将所得树脂用DMF(6x10mL)洗涤。

[0628] 为了除去ivDDE和Dmab,将受保护的树脂用含有于DMF中的2%一水合肼的溶液处理(5x5mL, 5min)。将所得树脂用DMF(6x10mL)洗涤。

[0629] 为了形成内酰胺,将树脂用5mL DMF中的521mg(1.0mmol) PyAOP和348μL(258mg, 2.0mmol) DIPEA处理。经由微波加热(200W)将所得混合物加热至100℃保持10分钟。将所得树脂冷却、过滤并用DMF(6x10mL)和CH₂Cl₂(6x10mL)洗涤,并在减压下干燥。

[0630] 为了从树脂上切割肽,将树脂用含有90:5:3:2TFA-TIPS-DODT-H₂O(20mL)的溶液处理。2小时后,将树脂过滤,用TFA(3mL)洗涤并浓缩50%。将冷(-78℃)醚加至溶液(50mL)中,并将所得混合物以3500rpm离心10分钟。倾出醚,并将固体再进行2次洗涤/用冷(-78℃)醚离心。将所得固体在减压下干燥,溶解于1:1H₂O-ACN中,冷冻并冻干。

[0631] 为了将肽氧化,将粗肽(280mg)溶解于水中,并用固体NH₄HCO₃处理该混合物以调节pH>7。然后加入20mL乙腈,然后加入10mL DMSO。24小时后,通过HPLC确认氧化似乎完成,并用三氟乙酸将所述材料酸化至pH约2、过滤、冷冻并冻干。

[0632] 在Waters Autopure®系统上使用于水中的0.1%TFA和于乙腈中的0.1%TFA在Waters PST C18 RP柱(250x30mm, 5μ, 130 Å)上以40mL/min的流速纯化肽。在40分钟内使用于乙腈中的5%0.1%TFA至于乙腈中的25%0.1%TFA的线性梯度。将含有所需产物的级分汇集、冷冻并冻干。将所述材料进行第二次通过纯化。

[0633] 在Waters Autopure®系统上使用于水中的0.1%TFA和于乙腈中的0.1%TFA在Waters PST C18 RP柱(250x19mm, 5μ, 130Å)上以20mL/min的流速纯化肽。在60分钟内使用于乙腈中的15%0.1%TFA至于乙腈中的25%0.1%TFA的线性梯度。将含有所需产物的级分

汇集、冷冻并冻干以得到无色固体。

[0634] 实施例8:小鼠中的胃肠转运

[0635] 该测定的目的是测试鸟苷酸环化酶C激动剂肽对小鼠体内胃肠转运的作用。口服给药的鸟苷酸环化酶C激动剂已经被证明可以增加小鼠中炭餐(charcoal meal)的行进距离%。

[0636] 对于该测定,将体重25-30g的雌性CD-1小鼠(每组n=10)禁食过夜并随意进食水。将活性炭(20g;100目;Sigma cat#242276)悬浮于200mL阿拉伯胶(100mg/mL)中,并搅拌至少1小时。在20mM Tris pH 6.9媒介物中制备测试肽。

[0637] 通过口服管饲法以200μL剂量施用测试肽和媒介物。将测试肽给药后7分钟,通过口服管饲法给予200μL炭/阿拉伯胶悬浮液。15分钟后,通过服用过量CO₂处死小鼠。将胃肠道从食道移至盲肠。小肠的总长度从幽门结到回肠结进行测量。从幽门结到炭前端测量炭的行进距离。行进距离(%)被确定为(炭的行进距离/小肠总长度)×100。将数据输入到GraphPadPrism软件程序中,并使用Bonferroni多重比较检验事后通过ANOVA分析。数据图和ED₅₀也使用GraphPad Prism软件包进行确定。所选肽的结果可见于图17、25、26和27中。

[0638] 其它实施方案

[0639] 本公开中提及的所有出版物和专利通过引用并入本文,其程度如同每个单独的出版物或专利申请被具体和单独地指明通过引用并入。如果通过引用并入的任何专利或出版物中的术语的含义与本公开中使用的术语的含义相冲突,则旨在以本公开中的术语的含义为主。此外,上述讨论仅公开并描述了本发明的示例性实施方案。本领域技术人员将容易地从这样的讨论和附图和权利要求中认识到,在不脱离如所附权利要求所限定的本发明的精神和范围的情况下,可以在其中进行各种改变、修改和变化。

[0001]		序列表
[0002]	<110>	Ironwood Pharmaceuticals, Inc.
[0003]	<120>	用于结肠清洁和胃肠病症治疗的组合物
[0004]	<130>	223355/154PCT1/394162
[0005]	<150>	US 62/156,077
[0006]	<151>	2015-05-01
[0007]	<160>	94
[0008]	<170>	PatentIn 3.5版
[0009]	<210>	1
[0010]	<211>	21
[0011]	<212>	PRT
[0012]	<213>	人工序列
[0013]	<220>	
[0014]	<223>	合成产生的肽
[0015]	<220>	
[0016]	<221>	变体
[0017]	<222>	(1) .. (1)
[0018]	<223>	Xaa1是谷氨酸其中侧链羧酸
[0019]		形成肽键或不存在
[0020]	<220>	
[0021]	<221>	变体
[0022]	<222>	(2) .. (2)
[0023]	<223>	Xaa2是赖氨酸其中侧链胺形成肽
[0024]		键、Asn或不存在
[0025]	<220>	
[0026]	<221>	变体
[0027]	<222>	(3) .. (3)
[0028]	<223>	Xaa3是Asn、Ser或不存在
[0029]	<220>	
[0030]	<221>	变体
[0031]	<222>	(4) .. (4)
[0032]	<223>	Xaa4是Ser或不存在
[0033]	<220>	
[0034]	<221>	变体
[0035]	<222>	(5) .. (5)
[0036]	<223>	Xaa5是Ser、Asn、Ile、谷氨酸其中侧链
[0037]		羧酸形成肽键或不存在
[0038]	<220>	

- [0039] <221> 变体
- [0040] <222> (6) .. (6)
- [0041] <223> Xaa6是Tyr、Asp、4-氟苯丙氨酸 ((4-F) Phe)、赖氨酸
- [0042] 其中侧链胺形成肽键或不存在
- [0043] <220>
- [0044] <221> 变体
- [0045] <222> (7) .. (7)
- [0046] <223> Xaa7是Cys、胱硫醚 (Cth)、烯丙基甘氨酸 (Ag)、具有还原的
- [0047] 二卡巴键的烯丙基甘氨酸 (Hag) 或Asp
- [0048] <220>
- [0049] <221> 尚未归类的特征
- [0050] <222> (7) .. (12)
- [0051] <223> Xaa7和Xaa12之间的共价键
- [0052] <220>
- [0053] <221> 变体
- [0054] <222> (8) .. (8)
- [0055] <223> Xaa8是Cys、胱硫醚 (Cth)、青霉胺 (Pen) 或
- [0056] 烯丙基甘氨酸 (Ag)
- [0057] <220>
- [0058] <221> 尚未归类的特征
- [0059] <222> (8) .. (16)
- [0060] <223> Xaa8和Xaa16之间的共价键
- [0061] <220>
- [0062] <221> 变体
- [0063] <222> (9) .. (9)
- [0064] <223> Xaa9是Glu、Asp、Ser、Thr或Gln
- [0065] <220>
- [0066] <221> 变体
- [0067] <222> (10) .. (10)
- [0068] <223> Xaa10是Leu、环己基丙氨酸 (Cha)、Phe或
- [0069] 4-氟苯丙氨酸 ((4-F) Phe)
- [0070] <220>
- [0071] <221> 变体
- [0072] <222> (11) .. (11)
- [0073] <223> Xaa11是Cys、烯丙基甘氨酸 (Ag) 或青霉胺 (Pen)
- [0074] <220>
- [0075] <221> 尚未归类的特征
- [0076] <222> (11) .. (19)
- [0077] <223> Xaa11和Xaa19之间的共价键

[0078]	<220>	
[0079]	<221>	变体
[0080]	<222>	(12) .. (12)
[0081]	<223>	Xaa12是Cys、烯丙基甘氨酸 (Ag)、具有还原的
[0082]		二卡巴键的烯丙基甘氨酸 (Hag)、胱硫醚 (Cth)、二氨基丙酸
[0083]		(Dpr) 或Val
[0084]	<220>	
[0085]	<221>	变体
[0086]	<222>	(13) .. (13)
[0087]	<223>	Xaa13是Asn或Leu
[0088]	<220>	
[0089]	<221>	变体
[0090]	<222>	(14) .. (14)
[0091]	<223>	Xaa14是Pro、Val、肌氨酸 (Sar)、Leu或羟脯氨酸
[0092]		(OH-Pro)
[0093]	<220>	
[0094]	<221>	变体
[0095]	<222>	(16) .. (16)
[0096]	<223>	Xaa16是Cys、烯丙基甘氨酸 (Ag)、青霉胺 (Pen) 或
[0097]		胱硫醚 (Cth)
[0098]	<220>	
[0099]	<221>	变体
[0100]	<222>	(17) .. (17)
[0101]	<223>	Xaa17是Tyr、Thr、环己基丙氨酸 (Cha)、4-氟苯丙氨酸
[0102]		((4-F) Phe)、Phe、Ser或Ala
[0103]	<220>	
[0104]	<221>	变体
[0105]	<222>	(19) .. (19)
[0106]	<223>	Xaa19是Cys、Ag或Pen
[0107]	<220>	
[0108]	<221>	变体
[0109]	<222>	(20) .. (20)
[0110]	<223>	Xaa20是Tyr、Leu、4-氟苯丙氨酸 ((4-F) Phe)、
[0111]		环己基丙氨酸 (Cha)、D-Tyr、N-甲基Tyr (Nme-Tyr) 或
[0112]		不存在
[0113]	<220>	
[0114]	<221>	变体
[0115]	<222>	(21) .. (21)
[0116]	<223>	Xaa21不存在或是Asn

[0117]	<400>	1
[0118]	Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Ala Xaa	
[0119]	1	5 10 15
[0120]	Xaa Gly Xaa Xaa Xaa	
[0121]		20
[0122]	<210>	2
[0123]	<211>	14
[0124]	<212>	PRT
[0125]	<213>	人工序列
[0126]	<220>	
[0127]	<223>	合成产生的肽
[0128]	<220>	
[0129]	<221>	MOD_RES
[0130]	<222>	(1) .. (1)
[0131]	<223>	烯丙基甘氨酸
[0132]	<220>	
[0133]	<221>	MOD_RES
[0134]	<222>	(6) .. (6)
[0135]	<223>	烯丙基甘氨酸
[0136]	<220>	
[0137]	<221>	MOD_RES
[0138]	<222>	(14) .. (14)
[0139]	<223>	酰胺化
[0140]	<400>	2
[0141]	Gly Cys Glu Leu Cys Gly Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr	
[0142]	1	5 10
[0143]	<210>	3
[0144]	<211>	20
[0145]	<212>	PRT
[0146]	<213>	人工序列
[0147]	<220>	
[0148]	<223>	合成产生的肽
[0149]	<220>	
[0150]	<221>	MOD_RES
[0151]	<222>	(1) .. (1)
[0152]	<223>	用C12烷基羧酸加帽的N-末端
[0153]	<220>	
[0154]	<221>	MOD_RES
[0155]	<222>	(1) .. (1)

[0156]	<223>	谷氨酸其中侧链羧酸形成
[0157]		肽键
[0158]	<220>	
[0159]	<221>	MOD_RES
[0160]	<222>	(2) .. (2)
[0161]	<223>	赖氨酸其中侧链胺形成肽键
[0162]	<220>	
[0163]	<221>	MOD_RES
[0164]	<222>	(20) .. (20)
[0165]	<223>	酰胺化
[0166]	<400>	3
[0167]		Glu Lys Asn Ser Ser Tyr Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys
[0168]		1 5 10 15
[0169]		Thr Gly Cys Tyr
[0170]		20
[0171]	<210>	4
[0172]	<211>	20
[0173]	<212>	PRT
[0174]	<213>	人工序列
[0175]	<220>	
[0176]	<223>	合成产生的肽
[0177]	<220>	
[0178]	<221>	MOD_RES
[0179]	<222>	(1) .. (1)
[0180]	<223>	用C16烷基羧酸加帽的N-末端
[0181]	<220>	
[0182]	<221>	MOD_RES
[0183]	<222>	(1) .. (1)
[0184]	<223>	谷氨酸其中侧链羧酸形成
[0185]		肽键
[0186]	<220>	
[0187]	<221>	MOD_RES
[0188]	<222>	(2) .. (2)
[0189]	<223>	赖氨酸其中侧链胺形成肽键
[0190]	<220>	
[0191]	<221>	MOD_RES
[0192]	<222>	(20) .. (20)
[0193]	<223>	酰胺化
[0194]	<400>	4

[0195]	Glu Lys Asn Ser Ser Tyr Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys
[0196]	1 5 10 15
[0197]	Thr Gly Cys Tyr
[0198]	20
[0199]	<210> 5
[0200]	<211> 20
[0201]	<212> PRT
[0202]	<213> 人工序列
[0203]	<220>
[0204]	<223> 合成产生的肽
[0205]	<220>
[0206]	<221> MOD_RES
[0207]	<222> (1) .. (1)
[0208]	<223> 用C12烷基羧酸加帽的N-末端
[0209]	<220>
[0210]	<221> MOD_RES
[0211]	<222> (1) .. (1)
[0212]	<223> 谷氨酸其中侧链羧酸形成
[0213]	肽键
[0214]	<220>
[0215]	<221> MOD_RES
[0216]	<222> (2) .. (2)
[0217]	<223> 赖氨酸其中侧链胺形成肽键
[0218]	<400> 5
[0219]	Glu Lys Asn Ser Ser Tyr Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys
[0220]	1 5 10 15
[0221]	Thr Gly Cys Tyr
[0222]	20
[0223]	<210> 6
[0224]	<211> 20
[0225]	<212> PRT
[0226]	<213> 人工序列
[0227]	<220>
[0228]	<223> 合成产生的肽
[0229]	<220>
[0230]	<221> MOD_RES
[0231]	<222> (1) .. (1)
[0232]	<223> 用C14烷基羧酸加帽的N-末端
[0233]	<220>

[0234]	<221>	MOD_RES
[0235]	<222>	(1) .. (1)
[0236]	<223>	谷氨酸其中侧链羧酸形成
[0237]		肽键
[0238]	<220>	
[0239]	<221>	MOD_RES
[0240]	<222>	(2) .. (2)
[0241]	<223>	赖氨酸其中侧链胺形成肽键
[0242]	<400>	6
[0243]	Glu Lys Asn Ser Ser Tyr Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys	
[0244]	1	5 10 15
[0245]	Thr Gly Cys Tyr	
[0246]		20
[0247]	<210>	7
[0248]	<211>	20
[0249]	<212>	PRT
[0250]	<213>	人工序列
[0251]	<220>	
[0252]	<223>	合成产生的肽
[0253]	<220>	
[0254]	<221>	MOD_RES
[0255]	<222>	(1) .. (1)
[0256]	<223>	用C16烷基羧酸加帽的N-末端
[0257]	<220>	
[0258]	<221>	MOD_RES
[0259]	<222>	(1) .. (1)
[0260]	<223>	谷氨酸其中侧链羧酸形成
[0261]		肽键
[0262]	<220>	
[0263]	<221>	MOD_RES
[0264]	<222>	(2) .. (2)
[0265]	<223>	赖氨酸其中侧链胺形成肽键
[0266]	<400>	7
[0267]	Glu Lys Asn Ser Ser Tyr Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys	
[0268]	1	5 10 15
[0269]	Thr Gly Cys Tyr	
[0270]		20
[0271]	<210>	8
[0272]	<211>	14

[0273]	<212>	PRT
[0274]	<213>	人工序列
[0275]	<220>	
[0276]	<223>	合成产生的肽
[0277]	<220>	
[0278]	<221>	MOD_RES
[0279]	<222>	(2) .. (2)
[0280]	<223>	烯丙基甘氨酸
[0281]	<220>	
[0282]	<221>	MOD_RES
[0283]	<222>	(10) .. (10)
[0284]	<223>	烯丙基甘氨酸
[0285]	<220>	
[0286]	<221>	MOD_RES
[0287]	<222>	(14) .. (14)
[0288]	<223>	酰胺化
[0289]	<400>	8
[0290]	Cys Gly Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Gly Thr Gly Cys Tyr	
[0291]	1	5 10
[0292]	<210>	9
[0293]	<211>	16
[0294]	<212>	PRT
[0295]	<213>	人工序列
[0296]	<220>	
[0297]	<223>	合成产生的肽
[0298]	<220>	
[0299]	<221>	MOD_RES
[0300]	<222>	(4) .. (4)
[0301]	<223>	烯丙基甘氨酸
[0302]	<220>	
[0303]	<221>	MOD_RES
[0304]	<222>	(12) .. (12)
[0305]	<223>	烯丙基甘氨酸
[0306]	<220>	
[0307]	<221>	MOD_RES
[0308]	<222>	(16) .. (16)
[0309]	<223>	酰胺化
[0310]	<400>	9
[0311]	Asn Asp Asp Gly Glu Leu Cys Val Asn Val Ala Gly Thr Gly Cys Leu	

[0312]	1	5	10	15
[0313]	<210>	10		
[0314]	<211>	16		
[0315]	<212>	PRT		
[0316]	<213>	人工序列		
[0317]	<220>			
[0318]	<223>	合成产生的肽		
[0319]	<220>			
[0320]	<221>	MOD_RES		
[0321]	<222>	(7) .. (7)		
[0322]	<223>	烯丙基甘氨酸		
[0323]	<220>			
[0324]	<221>	MOD_RES		
[0325]	<222>	(15) .. (15)		
[0326]	<223>	烯丙基甘氨酸		
[0327]	<220>			
[0328]	<221>	MOD_RES		
[0329]	<222>	(16) .. (16)		
[0330]	<223>	酰胺化		
[0331]	<400>	10		
[0332]	Asn Asp Asp Cys Glu Leu Gly Val Asn Val Ala Cys Thr Gly Gly Leu			
[0333]	1	5	10	15
[0334]	<210>	11		
[0335]	<211>	20		
[0336]	<212>	PRT		
[0337]	<213>	人工序列		
[0338]	<220>			
[0339]	<223>	合成产生的肽		
[0340]	<220>			
[0341]	<221>	MOD_RES		
[0342]	<222>	(1) .. (1)		
[0343]	<223>	用C18烷基羧酸加帽的N-末端		
[0344]	<220>			
[0345]	<221>	MOD_RES		
[0346]	<222>	(1) .. (1)		
[0347]	<223>	谷氨酸其中侧链羧酸形成		
[0348]		肽键		
[0349]	<220>			
[0350]	<221>	MOD_RES		

[0351]	<222>	(2) .. (2)
[0352]	<223>	赖氨酸其中侧链胺形成肽键
[0353]	<400>	11
[0354]		Glu Lys Asn Ser Ser Tyr Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys
[0355]	1	5 10 15
[0356]		Thr Gly Cys Tyr
[0357]		20
[0358]	<210>	12
[0359]	<211>	13
[0360]	<212>	PRT
[0361]	<213>	人工序列
[0362]	<220>	
[0363]	<223>	合成产生的肽
[0364]	<220>	
[0365]	<221>	MOD_RES
[0366]	<222>	(1) .. (1)
[0367]	<223>	烯丙基甘氨酸
[0368]	<220>	
[0369]	<221>	MOD_RES
[0370]	<222>	(6) .. (6)
[0371]	<223>	烯丙基甘氨酸
[0372]	<220>	
[0373]	<221>	MOD_RES
[0374]	<222>	(13) .. (13)
[0375]	<223>	酰胺化
[0376]	<400>	12
[0377]		Gly Cys Glu Leu Cys Gly Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys
[0378]	1	5 10
[0379]	<210>	13
[0380]	<211>	13
[0381]	<212>	PRT
[0382]	<213>	人工序列
[0383]	<220>	
[0384]	<223>	合成产生的肽
[0385]	<220>	
[0386]	<221>	MOD_RES
[0387]	<222>	(1) .. (1)
[0388]	<223>	烯丙基甘氨酸
[0389]	<220>	

[0390]	<221>	MOD_RES
[0391]	<222>	(6) .. (6)
[0392]	<223>	烯丙基甘氨酸
[0393]	<220>	
[0394]	<221>	MOD_RES
[0395]	<222>	(13) .. (13)
[0396]	<223>	酰胺化
[0397]	<400>	13
[0398]	Gly Cys Glu Leu Cys Gly Asn Pro Ala Cys Ala Gly Cys	
[0399]	1	5 10
[0400]	<210>	14
[0401]	<211>	14
[0402]	<212>	PRT
[0403]	<213>	人工序列
[0404]	<220>	
[0405]	<223>	合成产生的肽
[0406]	<220>	
[0407]	<221>	MOD_RES
[0408]	<222>	(1) .. (1)
[0409]	<223>	烯丙基甘氨酸
[0410]	<220>	
[0411]	<221>	MOD_RES
[0412]	<222>	(6) .. (6)
[0413]	<223>	烯丙基甘氨酸
[0414]	<220>	
[0415]	<221>	MOD_RES
[0416]	<222>	(14) .. (14)
[0417]	<223>	酰胺化
[0418]	<400>	14
[0419]	Gly Cys Glu Phe Cys Gly Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr	
[0420]	1	5 10
[0421]	<210>	15
[0422]	<211>	13
[0423]	<212>	PRT
[0424]	<213>	人工序列
[0425]	<220>	
[0426]	<223>	合成产生的肽
[0427]	<220>	
[0428]	<221>	MOD_RES

[0429] <222> (1) .. (1)
[0430] <223> 烯丙基甘氨酸
[0431] <220>
[0432] <221> MOD_RES
[0433] <222> (4) .. (4)
[0434] <223> 4-氟苯丙氨酸
[0435] <220>
[0436] <221> MOD_RES
[0437] <222> (6) .. (6)
[0438] <223> 烯丙基甘氨酸
[0439] <220>
[0440] <221> MOD_RES
[0441] <222> (13) .. (13)
[0442] <223> 酰胺化
[0443] <400> 15
[0444] Gly Cys Glu Phe Cys Gly Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys
[0445] 1 5 10
[0446] <210> 16
[0447] <211> 14
[0448] <212> PRT
[0449] <213> 人工序列
[0450] <220>
[0451] <223> 合成产生的肽
[0452] <220>
[0453] <221> MOD_RES
[0454] <222> (1) .. (1)
[0455] <223> 烯丙基甘氨酸
[0456] <220>
[0457] <221> MOD_RES
[0458] <222> (4) .. (4)
[0459] <223> 4-氟苯丙氨酸
[0460] <220>
[0461] <221> MOD_RES
[0462] <222> (6) .. (6)
[0463] <223> 烯丙基甘氨酸
[0464] <220>
[0465] <221> MOD_RES
[0466] <222> (14) .. (14)
[0467] <223> 酰胺化

[0468]	<400>	16
[0469]	Gly Cys Glu Phe Cys Gly Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr	
[0470]	1	5 10
[0471]	<210>	17
[0472]	<211>	14
[0473]	<212>	PRT
[0474]	<213>	人工序列
[0475]	<220>	
[0476]	<223>	合成产生的肽
[0477]	<220>	
[0478]	<221>	MOD_RES
[0479]	<222>	(1) .. (1)
[0480]	<223>	烯丙基甘氨酸
[0481]	<220>	
[0482]	<221>	MOD_RES
[0483]	<222>	(4) .. (4)
[0484]	<223>	4-氟苯丙氨酸
[0485]	<220>	
[0486]	<221>	MOD_RES
[0487]	<222>	(6) .. (6)
[0488]	<223>	烯丙基甘氨酸
[0489]	<220>	
[0490]	<221>	MOD_RES
[0491]	<222>	(14) .. (14)
[0492]	<223>	4-氟苯丙氨酸
[0493]	<220>	
[0494]	<221>	MOD_RES
[0495]	<222>	(14) .. (14)
[0496]	<223>	酰胺化
[0497]	<400>	17
[0498]	Gly Cys Glu Phe Cys Gly Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Phe	
[0499]	1	5 10
[0500]	<210>	18
[0501]	<211>	14
[0502]	<212>	PRT
[0503]	<213>	人工序列
[0504]	<220>	
[0505]	<223>	合成产生的肽
[0506]	<220>	

[0507]	<221>	MOD_RES
[0508]	<222>	(5) .. (5)
[0509]	<223>	烯丙基甘氨酸
[0510]	<220>	
[0511]	<221>	MOD_RES
[0512]	<222>	(13) .. (13)
[0513]	<223>	烯丙基甘氨酸
[0514]	<220>	
[0515]	<221>	MOD_RES
[0516]	<222>	(14) .. (14)
[0517]	<223>	酰胺化
[0518]	<400>	18
[0519]	Cys Cys Glu Leu Gly Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Gly Tyr	
[0520]	1	5 10
[0521]	<210>	19
[0522]	<211>	13
[0523]	<212>	PRT
[0524]	<213>	人工序列
[0525]	<220>	
[0526]	<223>	合成产生的肽
[0527]	<220>	
[0528]	<221>	MOD_RES
[0529]	<222>	(1) .. (1)
[0530]	<223>	烯丙基甘氨酸
[0531]	<220>	
[0532]	<221>	MOD_RES
[0533]	<222>	(6) .. (6)
[0534]	<223>	烯丙基甘氨酸
[0535]	<220>	
[0536]	<221>	MOD_RES
[0537]	<222>	(13) .. (13)
[0538]	<223>	酰胺化
[0539]	<400>	19
[0540]	Gly Cys Glu Phe Cys Gly Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys	
[0541]	1	5 10
[0542]	<210>	20
[0543]	<211>	14
[0544]	<212>	PRT
[0545]	<213>	人工序列

[0546]	<220>	
[0547]	<223>	合成产生的肽
[0548]	<220>	
[0549]	<221>	MOD_RES
[0550]	<222>	(1) .. (1)
[0551]	<223>	烯丙基甘氨酸
[0552]	<220>	
[0553]	<221>	MOD_RES
[0554]	<222>	(6) .. (6)
[0555]	<223>	烯丙基甘氨酸
[0556]	<220>	
[0557]	<221>	MOD_RES
[0558]	<222>	(14) .. (14)
[0559]	<223>	4-氟苯丙氨酸
[0560]	<220>	
[0561]	<221>	MOD_RES
[0562]	<222>	(14) .. (14)
[0563]	<223>	酰胺化
[0564]	<400>	20
[0565]	Gly Cys Glu Phe Cys Gly Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Phe	
[0566]	1	5 10
[0567]	<210>	21
[0568]	<211>	14
[0569]	<212>	PRT
[0570]	<213>	人工序列
[0571]	<220>	
[0572]	<223>	合成产生的肽
[0573]	<220>	
[0574]	<221>	MOD_RES
[0575]	<222>	(4) .. (4)
[0576]	<223>	4-氟苯丙氨酸
[0577]	<220>	
[0578]	<221>	MOD_RES
[0579]	<222>	(14) .. (14)
[0580]	<223>	酰胺化
[0581]	<400>	21
[0582]	Cys Cys Glu Phe Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr	
[0583]	1	5 10
[0584]	<210>	22

[0585]	<211>	14	
[0586]	<212>	PRT	
[0587]	<213>	人工序列	
[0588]	<220>		
[0589]	<223>	合成产生的肽	
[0590]	<220>		
[0591]	<221>	MOD_RES	
[0592]	<222>	(4) .. (4)	
[0593]	<223>	4-氟苯丙氨酸	
[0594]	<220>		
[0595]	<221>	MOD_RES	
[0596]	<222>	(14) .. (14)	
[0597]	<223>	4-氟苯丙氨酸	
[0598]	<220>		
[0599]	<221>	MOD_RES	
[0600]	<222>	(14) .. (14)	
[0601]	<223>	酰胺化	
[0602]	<400>	22	
[0603]		Cys Cys Glu Phe Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Phe	
[0604]	1	5	10
[0605]	<210>	23	
[0606]	<211>	14	
[0607]	<212>	PRT	
[0608]	<213>	人工序列	
[0609]	<220>		
[0610]	<223>	合成产生的肽	
[0611]	<220>		
[0612]	<221>	MOD_RES	
[0613]	<222>	(1) .. (1)	
[0614]	<223>	烯丙基甘氨酸	
[0615]	<220>		
[0616]	<221>	MOD_RES	
[0617]	<222>	(6) .. (6)	
[0618]	<223>	烯丙基甘氨酸	
[0619]	<220>		
[0620]	<221>	MOD_RES	
[0621]	<222>	(14) .. (14)	
[0622]	<223>	4-氟苯丙氨酸	
[0623]	<220>		

[0624]	<221>	MOD_RES
[0625]	<222>	(14) .. (14)
[0626]	<223>	酰胺化
[0627]	<400>	23
[0628]	Gly Cys Glu Leu Cys Gly Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Phe	
[0629]	1	5 10
[0630]	<210>	24
[0631]	<211>	15
[0632]	<212>	PRT
[0633]	<213>	人工序列
[0634]	<220>	
[0635]	<223>	合成产生的肽
[0636]	<220>	
[0637]	<221>	MOD_RES
[0638]	<222>	(1) .. (1)
[0639]	<223>	4-氟苯丙氨酸
[0640]	<220>	
[0641]	<221>	MOD_RES
[0642]	<222>	(2) .. (2)
[0643]	<223>	烯丙基甘氨酸
[0644]	<220>	
[0645]	<221>	MOD_RES
[0646]	<222>	(7) .. (7)
[0647]	<223>	烯丙基甘氨酸
[0648]	<220>	
[0649]	<221>	MOD_RES
[0650]	<222>	(15) .. (15)
[0651]	<223>	4-氟苯丙氨酸
[0652]	<220>	
[0653]	<221>	MOD_RES
[0654]	<222>	(15) .. (15)
[0655]	<223>	酰胺化
[0656]	<400>	24
[0657]	Phe Gly Cys Glu Leu Cys Gly Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Phe	
[0658]	1	5 10 15
[0659]	<210>	25
[0660]	<211>	14
[0661]	<212>	PRT
[0662]	<213>	人工序列

[0663]	<220>	
[0664]	<223>	合成产生的肽
[0665]	<220>	
[0666]	<221>	MOD_RES
[0667]	<222>	(1) .. (1)
[0668]	<223>	烯丙基甘氨酸
[0669]	<220>	
[0670]	<221>	MOD_RES
[0671]	<222>	(6) .. (6)
[0672]	<223>	烯丙基甘氨酸
[0673]	<220>	
[0674]	<221>	MOD_RES
[0675]	<222>	(14) .. (14)
[0676]	<223>	酰胺化
[0677]	<400>	25
[0678]	Gly Cys Glu Leu Cys Gly Asn Pro Ala Cys Ala Gly Cys Tyr	
[0679]	1	5 10
[0680]	<210>	26
[0681]	<211>	14
[0682]	<212>	PRT
[0683]	<213>	人工序列
[0684]	<220>	
[0685]	<223>	合成产生的肽
[0686]	<220>	
[0687]	<221>	MOD_RES
[0688]	<222>	(1) .. (1)
[0689]	<223>	烯丙基甘氨酸
[0690]	<220>	
[0691]	<221>	MOD_RES
[0692]	<222>	(6) .. (6)
[0693]	<223>	烯丙基甘氨酸
[0694]	<220>	
[0695]	<221>	MOD_RES
[0696]	<222>	(14) .. (14)
[0697]	<223>	酰胺化
[0698]	<400>	26
[0699]	Gly Cys Glu Leu Cys Gly Asn Pro Ala Cys Tyr Gly Cys Tyr	
[0700]	1	5 10
[0701]	<210>	27

[0702]	<211>	14
[0703]	<212>	PRT
[0704]	<213>	人工序列
[0705]	<220>	
[0706]	<223>	合成产生的肽
[0707]	<220>	
[0708]	<221>	MOD_RES
[0709]	<222>	(1) .. (1)
[0710]	<223>	烯丙基甘氨酸
[0711]	<220>	
[0712]	<221>	MOD_RES
[0713]	<222>	(6) .. (6)
[0714]	<223>	烯丙基甘氨酸
[0715]	<220>	
[0716]	<221>	MOD_RES
[0717]	<222>	(14) .. (14)
[0718]	<223>	酰胺化
[0719]	<400>	27
[0720]	Gly Cys Glu Leu Cys Gly Asn Pro Ala Cys Phe Gly Cys Tyr	
[0721]	1	5 10
[0722]	<210>	28
[0723]	<211>	14
[0724]	<212>	PRT
[0725]	<213>	人工序列
[0726]	<220>	
[0727]	<223>	合成产生的肽
[0728]	<220>	
[0729]	<221>	MOD_RES
[0730]	<222>	(1) .. (1)
[0731]	<223>	烯丙基甘氨酸
[0732]	<220>	
[0733]	<221>	MOD_RES
[0734]	<222>	(6) .. (6)
[0735]	<223>	烯丙基甘氨酸
[0736]	<220>	
[0737]	<221>	MOD_RES
[0738]	<222>	(11) .. (11)
[0739]	<223>	4-氟苯丙氨酸
[0740]	<220>	

[0741]	<221>	MOD_RES
[0742]	<222>	(14) .. (14)
[0743]	<223>	酰胺化
[0744]	<400>	28
[0745]	Gly Cys Glu Leu Cys Gly Asn Pro Ala Cys Phe Gly Cys Tyr	
[0746]	1	5 10
[0747]	<210>	29
[0748]	<211>	14
[0749]	<212>	PRT
[0750]	<213>	人工序列
[0751]	<220>	
[0752]	<223>	合成产生的肽
[0753]	<220>	
[0754]	<221>	MOD_RES
[0755]	<222>	(1) .. (1)
[0756]	<223>	烯丙基甘氨酸
[0757]	<220>	
[0758]	<221>	MOD_RES
[0759]	<222>	(6) .. (6)
[0760]	<223>	烯丙基甘氨酸
[0761]	<220>	
[0762]	<221>	MOD_RES
[0763]	<222>	(14) .. (14)
[0764]	<223>	酰胺化
[0765]	<400>	29
[0766]	Gly Cys Glu Leu Cys Gly Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Leu	
[0767]	1	5 10
[0768]	<210>	30
[0769]	<211>	14
[0770]	<212>	PRT
[0771]	<213>	人工序列
[0772]	<220>	
[0773]	<223>	合成产生的肽
[0774]	<220>	
[0775]	<221>	MOD_RES
[0776]	<222>	(1) .. (1)
[0777]	<223>	烯丙基甘氨酸
[0778]	<220>	
[0779]	<221>	MOD_RES

[0780]	<222>	(6) .. (6)
[0781]	<223>	烯丙基甘氨酸
[0782]	<220>	
[0783]	<221>	MOD_RES
[0784]	<222>	(14) .. (14)
[0785]	<223>	环己基丙氨酸
[0786]	<220>	
[0787]	<221>	MOD_RES
[0788]	<222>	(14) .. (14)
[0789]	<223>	酰胺化
[0790]	<400>	30
[0791]		Gly Cys Glu Leu Cys Gly Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Ala
[0792]	1	5 10
[0793]	<210>	31
[0794]	<211>	14
[0795]	<212>	PRT
[0796]	<213>	人工序列
[0797]	<220>	
[0798]	<223>	合成产生的肽
[0799]	<220>	
[0800]	<221>	MOD_RES
[0801]	<222>	(1) .. (1)
[0802]	<223>	烯丙基甘氨酸
[0803]	<220>	
[0804]	<221>	MOD_RES
[0805]	<222>	(4) .. (4)
[0806]	<223>	环己基丙氨酸
[0807]	<220>	
[0808]	<221>	MOD_RES
[0809]	<222>	(6) .. (6)
[0810]	<223>	烯丙基甘氨酸
[0811]	<220>	
[0812]	<221>	MOD_RES
[0813]	<222>	(14) .. (14)
[0814]	<223>	酰胺化
[0815]	<400>	31
[0816]		Gly Cys Glu Ala Cys Gly Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr
[0817]	1	5 10
[0818]	<210>	32

[0819]	<211>	14
[0820]	<212>	PRT
[0821]	<213>	人工序列
[0822]	<220>	
[0823]	<223>	合成产生的肽
[0824]	<220>	
[0825]	<221>	MOD_RES
[0826]	<222>	(1) .. (1)
[0827]	<223>	烯丙基甘氨酸
[0828]	<220>	
[0829]	<221>	MOD_RES
[0830]	<222>	(6) .. (6)
[0831]	<223>	烯丙基甘氨酸
[0832]	<220>	
[0833]	<221>	MOD_RES
[0834]	<222>	(14) .. (14)
[0835]	<223>	D-Tyr
[0836]	<220>	
[0837]	<221>	MOD_RES
[0838]	<222>	(14) .. (14)
[0839]	<223>	酰胺化
[0840]	<400>	32
[0841]	Gly Cys Glu Leu Cys Gly Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr	
[0842]	1	5 10
[0843]	<210>	33
[0844]	<211>	14
[0845]	<212>	PRT
[0846]	<213>	人工序列
[0847]	<220>	
[0848]	<223>	合成产生的肽
[0849]	<220>	
[0850]	<221>	MOD_RES
[0851]	<222>	(1) .. (1)
[0852]	<223>	烯丙基甘氨酸
[0853]	<220>	
[0854]	<221>	变体
[0855]	<222>	(2) .. (2)
[0856]	<223>	青霉胺
[0857]	<220>	

[0858]	<221>	MOD_RES
[0859]	<222>	(6) .. (6)
[0860]	<223>	烯丙基甘氨酸
[0861]	<220>	
[0862]	<221>	变体
[0863]	<222>	(10) .. (10)
[0864]	<223>	青霉胺
[0865]	<220>	
[0866]	<221>	MOD_RES
[0867]	<222>	(14) .. (14)
[0868]	<223>	酰胺化
[0869]	<400>	33
[0870]	Gly Xaa Glu Leu Cys Gly Asn Pro Ala Xaa Thr Gly Cys Tyr	
[0871]	1	5 10
[0872]	<210>	34
[0873]	<211>	15
[0874]	<212>	PRT
[0875]	<213>	人工序列
[0876]	<220>	
[0877]	<223>	合成产生的肽
[0878]	<220>	
[0879]	<221>	MOD_RES
[0880]	<222>	(1) .. (1)
[0881]	<223>	烯丙基甘氨酸
[0882]	<220>	
[0883]	<221>	MOD_RES
[0884]	<222>	(6) .. (6)
[0885]	<223>	烯丙基甘氨酸
[0886]	<220>	
[0887]	<221>	MOD_RES
[0888]	<222>	(15) .. (15)
[0889]	<223>	酰胺化
[0890]	<400>	34
[0891]	Gly Cys Glu Leu Cys Gly Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Leu Asn	
[0892]	1	5 10 15
[0893]	<210>	35
[0894]	<211>	15
[0895]	<212>	PRT
[0896]	<213>	人工序列

[0897]	<220>	
[0898]	<223>	合成产生的肽
[0899]	<220>	
[0900]	<221>	MOD_RES
[0901]	<222>	(1) .. (1)
[0902]	<223>	烯丙基甘氨酸
[0903]	<220>	
[0904]	<221>	MOD_RES
[0905]	<222>	(6) .. (6)
[0906]	<223>	烯丙基甘氨酸
[0907]	<220>	
[0908]	<221>	MOD_RES
[0909]	<222>	(15) .. (15)
[0910]	<223>	酰胺化
[0911]	<400>	35
[0912]	Gly Cys Glu Leu Cys Gly Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr Asn	
[0913]	1	5 10 15
[0914]	<210>	36
[0915]	<211>	15
[0916]	<212>	PRT
[0917]	<213>	人工序列
[0918]	<220>	
[0919]	<223>	合成产生的肽
[0920]	<220>	
[0921]	<221>	MOD_RES
[0922]	<222>	(2) .. (2)
[0923]	<223>	烯丙基甘氨酸
[0924]	<220>	
[0925]	<221>	MOD_RES
[0926]	<222>	(7) .. (7)
[0927]	<223>	烯丙基甘氨酸
[0928]	<220>	
[0929]	<221>	MOD_RES
[0930]	<222>	(15) .. (15)
[0931]	<223>	酰胺化
[0932]	<400>	36
[0933]	Asp Gly Cys Glu Leu Cys Gly Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr	
[0934]	1	5 10 15
[0935]	<210>	37

[0975]	<221>	MOD_RES
[0976]	<222>	(14) .. (14)
[0977]	<223>	酰胺化
[0978]	<400>	38
[0979]	Gly Cys Glu Leu Cys Gly Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr	
[0980]	1	5 10
[0981]	<210>	39
[0982]	<211>	13
[0983]	<212>	PRT
[0984]	<213>	人工序列
[0985]	<220>	
[0986]	<223>	合成产生的肽
[0987]	<220>	
[0988]	<221>	MOD_RES
[0989]	<222>	(1) .. (1)
[0990]	<223>	烯丙基甘氨酸
[0991]	<220>	
[0992]	<221>	MOD_RES
[0993]	<222>	(6) .. (6)
[0994]	<223>	烯丙基甘氨酸
[0995]	<220>	
[0996]	<221>	MOD_RES
[0997]	<222>	(8) .. (8)
[0998]	<223>	羟脯氨酸
[0999]	<220>	
[1000]	<221>	MOD_RES
[1001]	<222>	(13) .. (13)
[1002]	<223>	酰胺化
[1003]	<400>	39
[1004]	Gly Cys Glu Leu Cys Gly Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys	
[1005]	1	5 10
[1006]	<210>	40
[1007]	<211>	14
[1008]	<212>	PRT
[1009]	<213>	人工序列
[1010]	<220>	
[1011]	<223>	合成产生的肽
[1012]	<220>	
[1013]	<221>	MOD_RES

[1014]	<222>	(1) .. (1)
[1015]	<223>	烯丙基甘氨酸
[1016]	<220>	
[1017]	<221>	变体
[1018]	<222>	(5) .. (5)
[1019]	<223>	青霉胺
[1020]	<220>	
[1021]	<221>	MOD_RES
[1022]	<222>	(6) .. (6)
[1023]	<223>	烯丙基甘氨酸
[1024]	<220>	
[1025]	<221>	变体
[1026]	<222>	(13) .. (13)
[1027]	<223>	青霉胺
[1028]	<220>	
[1029]	<221>	MOD_RES
[1030]	<222>	(14) .. (14)
[1031]	<223>	酰胺化
[1032]	<400>	40
[1033]	Gly Cys Glu Leu Xaa Gly Asn Pro Ala Cys Thr Gly Xaa Tyr	
[1034]	1	5 10
[1035]	<210>	41
[1036]	<211>	14
[1037]	<212>	PRT
[1038]	<213>	人工序列
[1039]	<220>	
[1040]	<223>	合成产生的肽
[1041]	<220>	
[1042]	<221>	MOD_RES
[1043]	<222>	(1) .. (1)
[1044]	<223>	烯丙基甘氨酸
[1045]	<220>	
[1046]	<221>	变体
[1047]	<222>	(5) .. (5)
[1048]	<223>	青霉胺
[1049]	<220>	
[1050]	<221>	MOD_RES
[1051]	<222>	(6) .. (6)
[1052]	<223>	烯丙基甘氨酸

[1053]	<220>	
[1054]	<221>	变体
[1055]	<222>	(13) .. (13)
[1056]	<223>	青霉胺
[1057]	<220>	
[1058]	<221>	MOD_RES
[1059]	<222>	(14) .. (14)
[1060]	<223>	酰胺化
[1061]	<400>	41
[1062]	Gly Cys Glu Leu Xaa Gly Asn Pro Ala Cys Thr Gly Xaa Tyr	
[1063]	1	5 10
[1064]	<210>	42
[1065]	<211>	14
[1066]	<212>	PRT
[1067]	<213>	人工序列
[1068]	<220>	
[1069]	<223>	合成产生的肽
[1070]	<220>	
[1071]	<221>	MOD_RES
[1072]	<222>	(1) .. (1)
[1073]	<223>	烯丙基甘氨酸
[1074]	<220>	
[1075]	<221>	MOD_RES
[1076]	<222>	(6) .. (6)
[1077]	<223>	烯丙基甘氨酸
[1078]	<220>	
[1079]	<221>	MOD_RES
[1080]	<222>	(14) .. (14)
[1081]	<223>	N-甲基酪氨酸
[1082]	<220>	
[1083]	<221>	MOD_RES
[1084]	<222>	(14) .. (14)
[1085]	<223>	酰胺化
[1086]	<400>	42
[1087]	Gly Cys Glu Leu Cys Gly Asn Pro Ala Cys Tyr Gly Cys Tyr	
[1088]	1	5 10
[1089]	<210>	43
[1090]	<211>	13
[1091]	<212>	PRT

[1092]	<213>	人工序列
[1093]	<220>	
[1094]	<223>	合成产生的肽
[1095]	<220>	
[1096]	<221>	MOD_RES
[1097]	<222>	(1) .. (1)
[1098]	<223>	烯丙基甘氨酸
[1099]	<220>	
[1100]	<221>	MOD_RES
[1101]	<222>	(6) .. (6)
[1102]	<223>	烯丙基甘氨酸
[1103]	<400>	43
[1104]	Gly Cys Glu Leu Cys Gly Asn Pro Ala Cys Tyr Gly Cys	
[1105]	1	5 10
[1106]	<210>	44
[1107]	<211>	14
[1108]	<212>	PRT
[1109]	<213>	人工序列
[1110]	<220>	
[1111]	<223>	合成产生的肽
[1112]	<220>	
[1113]	<221>	MOD_RES
[1114]	<222>	(1) .. (1)
[1115]	<223>	烯丙基甘氨酸
[1116]	<220>	
[1117]	<221>	MOD_RES
[1118]	<222>	(6) .. (6)
[1119]	<223>	烯丙基甘氨酸
[1120]	<220>	
[1121]	<221>	MOD_RES
[1122]	<222>	(11) .. (11)
[1123]	<223>	环己基丙氨酸
[1124]	<220>	
[1125]	<221>	MOD_RES
[1126]	<222>	(14) .. (14)
[1127]	<223>	酰胺化
[1128]	<400>	44
[1129]	Gly Cys Glu Leu Cys Gly Asn Pro Ala Cys Ala Gly Cys Tyr	
[1130]	1	5 10

[1131]	<210>	45
[1132]	<211>	14
[1133]	<212>	PRT
[1134]	<213>	人工序列
[1135]	<220>	
[1136]	<223>	合成产生的肽
[1137]	<220>	
[1138]	<221>	MOD_RES
[1139]	<222>	(1) .. (1)
[1140]	<223>	烯丙基甘氨酸
[1141]	<220>	
[1142]	<221>	MOD_RES
[1143]	<222>	(6) .. (6)
[1144]	<223>	烯丙基甘氨酸
[1145]	<220>	
[1146]	<221>	MOD_RES
[1147]	<222>	(14) .. (14)
[1148]	<223>	酰胺化
[1149]	<400>	45
[1150]	Gly Cys Glu Leu Cys Gly Asn Leu Ala Cys Thr Gly Cys Tyr	
[1151]	1	5 10
[1152]	<210>	46
[1153]	<211>	14
[1154]	<212>	PRT
[1155]	<213>	人工序列
[1156]	<220>	
[1157]	<223>	合成产生的肽
[1158]	<220>	
[1159]	<221>	MOD_RES
[1160]	<222>	(1) .. (1)
[1161]	<223>	烯丙基甘氨酸
[1162]	<220>	
[1163]	<221>	MOD_RES
[1164]	<222>	(6) .. (6)
[1165]	<223>	烯丙基甘氨酸
[1166]	<220>	
[1167]	<221>	变体
[1168]	<222>	(8) .. (8)
[1169]	<223>	肌氨酸

[1170]	<220>	
[1171]	<221>	MOD_RES
[1172]	<222>	(14) .. (14)
[1173]	<223>	酰胺化
[1174]	<400>	46
[1175]	Gly Cys Glu Leu Cys Gly Asn Xaa Ala Cys Thr Gly Cys Tyr	
[1176]	1	5 10
[1177]	<210>	47
[1178]	<211>	14
[1179]	<212>	PRT
[1180]	<213>	人工序列
[1181]	<220>	
[1182]	<223>	合成产生的肽
[1183]	<220>	
[1184]	<221>	MOD_RES
[1185]	<222>	(1) .. (1)
[1186]	<223>	烯丙基甘氨酸
[1187]	<220>	
[1188]	<221>	MOD_RES
[1189]	<222>	(6) .. (6)
[1190]	<223>	烯丙基甘氨酸
[1191]	<220>	
[1192]	<221>	MOD_RES
[1193]	<222>	(14) .. (14)
[1194]	<223>	酰胺化
[1195]	<400>	47
[1196]	Gly Cys Glu Leu Cys Gly Asn Val Ala Cys Thr Gly Cys Tyr	
[1197]	1	5 10
[1198]	<210>	48
[1199]	<211>	14
[1200]	<212>	PRT
[1201]	<213>	人工序列
[1202]	<220>	
[1203]	<223>	合成产生的肽
[1204]	<220>	
[1205]	<221>	MOD_RES
[1206]	<222>	(1) .. (1)
[1207]	<223>	烯丙基甘氨酸
[1208]	<220>	

[1209]	<221>	MOD_RES
[1210]	<222>	(6) .. (6)
[1211]	<223>	烯丙基甘氨酸
[1212]	<220>	
[1213]	<221>	MOD_RES
[1214]	<222>	(14) .. (14)
[1215]	<223>	N-甲基酪氨酸
[1216]	<220>	
[1217]	<221>	MOD_RES
[1218]	<222>	(14) .. (14)
[1219]	<223>	酰胺化
[1220]	<400>	48
[1221]	Gly Cys Glu Leu Cys Gly Asn Pro Ala Cys Tyr Gly Cys Tyr	
[1222]	1	5 10
[1223]	<210>	49
[1224]	<211>	13
[1225]	<212>	PRT
[1226]	<213>	人工序列
[1227]	<220>	
[1228]	<223>	合成产生的肽
[1229]	<220>	
[1230]	<221>	MOD_RES
[1231]	<222>	(1) .. (1)
[1232]	<223>	烯丙基甘氨酸
[1233]	<220>	
[1234]	<221>	MOD_RES
[1235]	<222>	(6) .. (6)
[1236]	<223>	烯丙基甘氨酸
[1237]	<400>	49
[1238]	Gly Cys Glu Leu Cys Gly Leu Pro Ala Cys Tyr Gly Cys	
[1239]	1	5 10
[1240]	<210>	50
[1241]	<211>	13
[1242]	<212>	PRT
[1243]	<213>	人工序列
[1244]	<220>	
[1245]	<223>	合成产生的肽
[1246]	<220>	
[1247]	<221>	MOD_RES

[1248]	<222>	(1) .. (1)
[1249]	<223>	烯丙基甘氨酸
[1250]	<220>	
[1251]	<221>	MOD_RES
[1252]	<222>	(6) .. (6)
[1253]	<223>	烯丙基甘氨酸
[1254]	<400>	50
[1255]	Gly Cys Asp Leu Cys Gly Asn Pro Ala Cys Tyr Gly Cys	
[1256]	1	5 10
[1257]	<210>	51
[1258]	<211>	13
[1259]	<212>	PRT
[1260]	<213>	人工序列
[1261]	<220>	
[1262]	<223>	合成产生的肽
[1263]	<220>	
[1264]	<221>	MOD_RES
[1265]	<222>	(1) .. (1)
[1266]	<223>	烯丙基甘氨酸
[1267]	<220>	
[1268]	<221>	MOD_RES
[1269]	<222>	(6) .. (6)
[1270]	<223>	烯丙基甘氨酸
[1271]	<400>	51
[1272]	Gly Cys Ser Leu Cys Gly Asn Pro Ala Cys Tyr Gly Cys	
[1273]	1	5 10
[1274]	<210>	52
[1275]	<211>	13
[1276]	<212>	PRT
[1277]	<213>	人工序列
[1278]	<220>	
[1279]	<223>	合成产生的肽
[1280]	<220>	
[1281]	<221>	MOD_RES
[1282]	<222>	(1) .. (1)
[1283]	<223>	烯丙基甘氨酸
[1284]	<220>	
[1285]	<221>	MOD_RES
[1286]	<222>	(6) .. (6)

[1287]	<223>	烯丙基甘氨酸
[1288]	<400>	52
[1289]	Gly Cys Thr Leu Cys Gly Asn Pro Ala Cys Tyr Gly Cys	
[1290]	1	5 10
[1291]	<210>	53
[1292]	<211>	14
[1293]	<212>	PRT
[1294]	<213>	人工序列
[1295]	<220>	
[1296]	<223>	合成产生的肽
[1297]	<220>	
[1298]	<221>	MOD_RES
[1299]	<222>	(1) .. (1)
[1300]	<223>	具有还原的二卡巴键的烯丙基甘氨酸
[1301]	<220>	
[1302]	<221>	MOD_RES
[1303]	<222>	(6) .. (6)
[1304]	<223>	具有还原的二卡巴键的烯丙基甘氨酸
[1305]	<220>	
[1306]	<221>	MOD_RES
[1307]	<222>	(14) .. (14)
[1308]	<223>	酰胺化
[1309]	<400>	53
[1310]	Gly Cys Glu Leu Cys Gly Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr	
[1311]	1	5 10
[1312]	<210>	54
[1313]	<211>	13
[1314]	<212>	PRT
[1315]	<213>	人工序列
[1316]	<220>	
[1317]	<223>	合成产生的肽
[1318]	<220>	
[1319]	<221>	MOD_RES
[1320]	<222>	(1) .. (1)
[1321]	<223>	烯丙基甘氨酸
[1322]	<220>	
[1323]	<221>	MOD_RES
[1324]	<222>	(6) .. (6)
[1325]	<223>	烯丙基甘氨酸

[1326]	<400>	54
[1327]	Gly Cys Gln Leu Cys Gly Asn Pro Ala Cys Tyr Gly Cys	
[1328]	1	5 10
[1329]	<210>	55
[1330]	<211>	14
[1331]	<212>	PRT
[1332]	<213>	人工序列
[1333]	<220>	
[1334]	<223>	合成产生的肽
[1335]	<220>	
[1336]	<221>	MOD_RES
[1337]	<222>	(1) .. (1)
[1338]	<223>	烯丙基甘氨酸
[1339]	<220>	
[1340]	<221>	MOD_RES
[1341]	<222>	(6) .. (6)
[1342]	<223>	烯丙基甘氨酸
[1343]	<220>	
[1344]	<221>	MOD_RES
[1345]	<222>	(14) .. (14)
[1346]	<223>	酰胺化
[1347]	<400>	55
[1348]	Gly Cys Glu Leu Cys Gly Leu Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr	
[1349]	1	5 10
[1350]	<210>	56
[1351]	<211>	13
[1352]	<212>	PRT
[1353]	<213>	人工序列
[1354]	<220>	
[1355]	<223>	合成产生的肽
[1356]	<220>	
[1357]	<221>	MOD_RES
[1358]	<222>	(1) .. (1)
[1359]	<223>	用戊烯酸加帽的N-末端
[1360]	<220>	
[1361]	<221>	MOD_RES
[1362]	<222>	(5) .. (5)
[1363]	<223>	烯丙基甘氨酸
[1364]	<220>	

[1365]	<221>	MOD_RES
[1366]	<222>	(13) .. (13)
[1367]	<223>	酰胺化
[1368]	<400>	56
[1369]	Cys Glu Leu Cys Gly Asn Pro Ala Cys Tyr Gly Cys Tyr	
[1370]	1	5 10
[1371]	<210>	57
[1372]	<211>	13
[1373]	<212>	PRT
[1374]	<213>	人工序列
[1375]	<220>	
[1376]	<223>	合成产生的肽
[1377]	<220>	
[1378]	<221>	MOD_RES
[1379]	<222>	(6) .. (6)
[1380]	<223>	烯丙基甘氨酸
[1381]	<220>	
[1382]	<221>	MOD_RES
[1383]	<222>	(13) .. (13)
[1384]	<223>	烯丙基甘氨酸
[1385]	<400>	57
[1386]	Cys Cys Glu Leu Cys Gly Asn Pro Ala Cys Tyr Gly Gly	
[1387]	1	5 10
[1388]	<210>	58
[1389]	<211>	12
[1390]	<212>	PRT
[1391]	<213>	人工序列
[1392]	<220>	
[1393]	<223>	合成产生的肽
[1394]	<220>	
[1395]	<221>	MOD_RES
[1396]	<222>	(1) .. (1)
[1397]	<223>	用戊烯酸加帽的N-末端
[1398]	<220>	
[1399]	<221>	MOD_RES
[1400]	<222>	(5) .. (5)
[1401]	<223>	烯丙基甘氨酸
[1402]	<400>	58
[1403]	Cys Glu Leu Cys Gly Asn Pro Ala Cys Tyr Gly Cys	

[1404]	1	5	10
[1405]	<210>	59	
[1406]	<211>	13	
[1407]	<212>	PRT	
[1408]	<213>	人工序列	
[1409]	<220>		
[1410]	<223>	合成产生的肽	
[1411]	<220>		
[1412]	<221>	MOD_RES	
[1413]	<222>	(1) .. (1)	
[1414]	<223>	具有还原的二卡巴键的烯丙基甘氨酸	
[1415]	<220>		
[1416]	<221>	MOD_RES	
[1417]	<222>	(6) .. (6)	
[1418]	<223>	具有还原的二卡巴键的烯丙基甘氨酸	
[1419]	<400>	59	
[1420]	Gly Cys Glu Leu Cys Gly Asn Pro Ala Cys Tyr Gly Cys		
[1421]	1	5	10
[1422]	<210>	60	
[1423]	<211>	14	
[1424]	<212>	PRT	
[1425]	<213>	人工序列	
[1426]	<220>		
[1427]	<223>	合成产生的肽	
[1428]	<220>		
[1429]	<221>	MOD_RES	
[1430]	<222>	(1) .. (1)	
[1431]	<223>	烯丙基甘氨酸	
[1432]	<220>		
[1433]	<221>	MOD_RES	
[1434]	<222>	(6) .. (6)	
[1435]	<223>	烯丙基甘氨酸	
[1436]	<220>		
[1437]	<221>	MOD_RES	
[1438]	<222>	(14) .. (14)	
[1439]	<223>	酰胺化	
[1440]	<400>	60	
[1441]	Gly Cys Glu Leu Cys Gly Asn Val Ala Cys Tyr Gly Cys Tyr		
[1442]	1	5	10

[1443]	<210>	61
[1444]	<211>	13
[1445]	<212>	PRT
[1446]	<213>	人工序列
[1447]	<220>	
[1448]	<223>	合成产生的肽
[1449]	<220>	
[1450]	<221>	MOD_RES
[1451]	<222>	(1) .. (1)
[1452]	<223>	烯丙基甘氨酸
[1453]	<220>	
[1454]	<221>	MOD_RES
[1455]	<222>	(6) .. (6)
[1456]	<223>	烯丙基甘氨酸
[1457]	<400>	61
[1458]	Gly Cys Glu Leu Cys Gly Asn Val Ala Cys Tyr Gly Cys	
[1459]	1	5 10
[1460]	<210>	62
[1461]	<211>	14
[1462]	<212>	PRT
[1463]	<213>	人工序列
[1464]	<220>	
[1465]	<223>	合成产生的肽
[1466]	<220>	
[1467]	<221>	变体
[1468]	<222>	(2) .. (2)
[1469]	<223>	胱硫醚
[1470]	<220>	
[1471]	<221>	MOD_RES
[1472]	<222>	(14) .. (14)
[1473]	<223>	酰胺化
[1474]	<400>	62
[1475]	Cys Xaa Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Tyr Gly Cys Tyr	
[1476]	1	5 10
[1477]	<210>	63
[1478]	<211>	14
[1479]	<212>	PRT
[1480]	<213>	人工序列
[1481]	<220>	

[1482]	<223>	合成产生的肽
[1483]	<220>	
[1484]	<221>	变体
[1485]	<222>	(1) .. (1)
[1486]	<223>	胱硫醚
[1487]	<220>	
[1488]	<221>	MOD_RES
[1489]	<222>	(14) .. (14)
[1490]	<223>	酰胺化
[1491]	<400>	63
[1492]	Xaa Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Tyr Gly Cys Tyr	
[1493]	1	5 10
[1494]	<210>	64
[1495]	<211>	14
[1496]	<212>	PRT
[1497]	<213>	人工序列
[1498]	<220>	
[1499]	<223>	合成产生的肽
[1500]	<220>	
[1501]	<221>	变体
[1502]	<222>	(1) .. (1)
[1503]	<223>	胱硫醚
[1504]	<400>	64
[1505]	Xaa Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Tyr Gly Cys Tyr	
[1506]	1	5 10
[1507]	<210>	65
[1508]	<211>	14
[1509]	<212>	PRT
[1510]	<213>	人工序列
[1511]	<220>	
[1512]	<223>	合成产生的肽
[1513]	<220>	
[1514]	<221>	变体
[1515]	<222>	(2) .. (2)
[1516]	<223>	胱硫醚
[1517]	<220>	
[1518]	<221>	MOD_RES
[1519]	<222>	(14) .. (14)
[1520]	<223>	酰胺化

[1521]	<400>	65
[1522]	Cys Xaa Glu Leu Cys Cys Asn Val Ala Cys Tyr Gly Cys Tyr	
[1523]	1	5 10
[1524]	<210>	66
[1525]	<211>	14
[1526]	<212>	PRT
[1527]	<213>	人工序列
[1528]	<220>	
[1529]	<223>	合成产生的肽
[1530]	<220>	
[1531]	<221>	变体
[1532]	<222>	(2) .. (2)
[1533]	<223>	胱硫醚
[1534]	<220>	
[1535]	<221>	MOD_RES
[1536]	<222>	(14) .. (14)
[1537]	<223>	酰胺化
[1538]	<400>	66
[1539]	Cys Xaa Glu Leu Cys Cys Asn Val Ala Cys Thr Gly Cys Tyr	
[1540]	1	5 10
[1541]	<210>	67
[1542]	<211>	14
[1543]	<212>	PRT
[1544]	<213>	人工序列
[1545]	<220>	
[1546]	<223>	合成产生的肽
[1547]	<220>	
[1548]	<221>	MOD_RES
[1549]	<222>	(1) .. (1)
[1550]	<223>	乙酰化的N-末端
[1551]	<220>	
[1552]	<221>	MOD_RES
[1553]	<222>	(2) .. (2)
[1554]	<223>	胱硫醚
[1555]	<220>	
[1556]	<221>	MOD_RES
[1557]	<222>	(14) .. (14)
[1558]	<223>	酰胺化
[1559]	<400>	67

[1560]	Cys Xaa Glu Leu Cys Cys Asn Val Ala Cys Thr Gly Cys Tyr
[1561]	1 5 10
[1562]	<210> 68
[1563]	<211> 14
[1564]	<212> PRT
[1565]	<213> 人工序列
[1566]	<220>
[1567]	<223> 合成产生的肽
[1568]	<220>
[1569]	<221> MOD_RES
[1570]	<222> (1) .. (1)
[1571]	<223> 乙酰化的N-末端
[1572]	<220>
[1573]	<221> 变体
[1574]	<222> (2) .. (2)
[1575]	<223> 胱硫醚
[1576]	<220>
[1577]	<221> MOD_RES
[1578]	<222> (14) .. (14)
[1579]	<223> 乙酰化
[1580]	<400> 68
[1581]	Cys Xaa Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Tyr Gly Cys Tyr
[1582]	1 5 10
[1583]	<210> 69
[1584]	<211> 13
[1585]	<212> PRT
[1586]	<213> 人工序列
[1587]	<220>
[1588]	<223> 合成产生的肽
[1589]	<220>
[1590]	<221> MOD_RES
[1591]	<222> (1) .. (1)
[1592]	<223> 乙酰化的N-末端
[1593]	<220>
[1594]	<221> 变体
[1595]	<222> (2) .. (2)
[1596]	<223> 胱硫醚
[1597]	<400> 69
[1598]	Cys Xaa Glu Leu Cys Cys Asn Val Ala Cys Tyr Gly Cys

[1599]	1	5	10
[1600]	<210>	70	
[1601]	<211>	13	
[1602]	<212>	PRT	
[1603]	<213>	人工序列	
[1604]	<220>		
[1605]	<223>	合成产生的肽	
[1606]	<220>		
[1607]	<221>	变体	
[1608]	<222>	(2) .. (2)	
[1609]	<223>	胱硫醚	
[1610]	<400>	70	
[1611]	Cys Xaa Glu Leu Cys Cys Asn Val Ala Cys Tyr Gly Cys		
[1612]	1	5	10
[1613]	<210>	71	
[1614]	<211>	13	
[1615]	<212>	PRT	
[1616]	<213>	人工序列	
[1617]	<220>		
[1618]	<223>	合成产生的肽	
[1619]	<220>		
[1620]	<221>	MOD_RES	
[1621]	<222>	(1) .. (1)	
[1622]	<223>	乙酰化的N-末端	
[1623]	<220>		
[1624]	<221>	变体	
[1625]	<222>	(2) .. (2)	
[1626]	<223>	胱硫醚	
[1627]	<400>	71	
[1628]	Cys Xaa Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Tyr Gly Cys		
[1629]	1	5	10
[1630]	<210>	72	
[1631]	<211>	12	
[1632]	<212>	PRT	
[1633]	<213>	人工序列	
[1634]	<220>		
[1635]	<223>	合成产生的肽	
[1636]	<220>		
[1637]	<221>	变体	

[1638]	<222>	(9) .. (9)
[1639]	<223>	胱硫醚
[1640]	<400>	72
[1641]	Cys Cys Glu Leu Cys Asn Val Ala Xaa Tyr Gly Cys	
[1642]	1	5 10
[1643]	<210>	73
[1644]	<211>	14
[1645]	<212>	PRT
[1646]	<213>	人工序列
[1647]	<220>	
[1648]	<223>	合成产生的肽
[1649]	<220>	
[1650]	<221>	变体
[1651]	<222>	(10) .. (10)
[1652]	<223>	胱硫醚
[1653]	<220>	
[1654]	<221>	MOD_RES
[1655]	<222>	(14) .. (14)
[1656]	<223>	酰胺化
[1657]	<400>	73
[1658]	Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Val Ala Xaa Tyr Gly Cys Tyr	
[1659]	1	5 10
[1660]	<210>	74
[1661]	<211>	14
[1662]	<212>	PRT
[1663]	<213>	人工序列
[1664]	<220>	
[1665]	<223>	合成产生的肽
[1666]	<220>	
[1667]	<221>	变体
[1668]	<222>	(10) .. (10)
[1669]	<223>	胱硫醚
[1670]	<220>	
[1671]	<221>	MOD_RES
[1672]	<222>	(14) .. (14)
[1673]	<223>	酰胺化
[1674]	<400>	74
[1675]	Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Val Ala Xaa Thr Gly Cys Tyr	
[1676]	1	5 10

[1677]	<210>	75
[1678]	<211>	13
[1679]	<212>	PRT
[1680]	<213>	人工序列
[1681]	<220>	
[1682]	<223>	合成产生的肽
[1683]	<220>	
[1684]	<221>	变体
[1685]	<222>	(6) .. (6)
[1686]	<223>	胱硫醚
[1687]	<400>	75
[1688]	Cys Cys Glu Leu Cys Xaa Asn Val Ala Cys Tyr Gly Cys	
[1689]	1	5 10
[1690]	<210>	76
[1691]	<211>	14
[1692]	<212>	PRT
[1693]	<213>	人工序列
[1694]	<220>	
[1695]	<223>	合成产生的肽
[1696]	<220>	
[1697]	<221>	变体
[1698]	<222>	(6) .. (6)
[1699]	<223>	胱硫醚
[1700]	<220>	
[1701]	<221>	MOD_RES
[1702]	<222>	(14) .. (14)
[1703]	<223>	酰胺化
[1704]	<400>	76
[1705]	Cys Cys Glu Leu Cys Xaa Asn Val Ala Cys Tyr Gly Cys Tyr	
[1706]	1	5 10
[1707]	<210>	77
[1708]	<211>	14
[1709]	<212>	PRT
[1710]	<213>	人工序列
[1711]	<220>	
[1712]	<223>	合成产生的肽
[1713]	<220>	
[1714]	<221>	变体
[1715]	<222>	(6) .. (6)

[1716]	<223>	胱硫醚
[1717]	<220>	
[1718]	<221>	MOD_RES
[1719]	<222>	(14) .. (14)
[1720]	<223>	酰胺化
[1721]	<400>	77
[1722]	Cys Cys Glu Leu Cys Xaa Asn Val Ala Cys Thr Gly Cys Tyr	
[1723]	1	5 10
[1724]	<210>	78
[1725]	<211>	13
[1726]	<212>	PRT
[1727]	<213>	人工序列
[1728]	<220>	
[1729]	<223>	合成产生的肽
[1730]	<220>	
[1731]	<221>	MOD_RES
[1732]	<222>	(1) .. (1)
[1733]	<223>	用4-Mepip (1-甲基-哌啶-4-甲酸)加帽的N-末端
[1734]	<220>	
[1735]	<221>	变体
[1736]	<222>	(2) .. (2)
[1737]	<223>	胱硫醚
[1738]	<400>	78
[1739]	Cys Xaa Glu Leu Cys Cys Asn Val Ala Cys Tyr Gly Cys	
[1740]	1	5 10
[1741]	<210>	79
[1742]	<211>	13
[1743]	<212>	PRT
[1744]	<213>	人工序列
[1745]	<220>	
[1746]	<223>	合成产生的肽
[1747]	<220>	
[1748]	<221>	变体
[1749]	<222>	(2) .. (2)
[1750]	<223>	胱硫醚
[1751]	<400>	79
[1752]	Cys Xaa Glu Leu Cys Cys Asn Val Ala Cys Thr Gly Cys	
[1753]	1	5 10
[1754]	<210>	80

[1755]	<211>	13
[1756]	<212>	PRT
[1757]	<213>	人工序列
[1758]	<220>	
[1759]	<223>	合成产生的肽
[1760]	<220>	
[1761]	<221>	变体
[1762]	<222>	(2) .. (2)
[1763]	<223>	胱硫醚
[1764]	<220>	
[1765]	<221>	MOD_RES
[1766]	<222>	(13) .. (13)
[1767]	<223>	酰胺化
[1768]	<400>	80
[1769]	Cys Xaa Glu Leu Cys Cys Asn Val Ala Cys Thr Gly Cys	
[1770]	1	5 10
[1771]	<210>	81
[1772]	<211>	13
[1773]	<212>	PRT
[1774]	<213>	人工序列
[1775]	<220>	
[1776]	<223>	合成产生的肽
[1777]	<220>	
[1778]	<221>	变体
[1779]	<222>	(2) .. (2)
[1780]	<223>	胱硫醚
[1781]	<400>	81
[1782]	Cys Xaa Glu Leu Cys Cys Asn Val Ala Cys Phe Gly Cys	
[1783]	1	5 10
[1784]	<210>	82
[1785]	<211>	14
[1786]	<212>	PRT
[1787]	<213>	人工序列
[1788]	<220>	
[1789]	<223>	合成产生的肽
[1790]	<220>	
[1791]	<221>	MOD_RES
[1792]	<222>	(1) .. (1)
[1793]	<223>	烯丙基甘氨酸

[1794]	<220>	
[1795]	<221>	MOD_RES
[1796]	<222>	(2) .. (2)
[1797]	<223>	烯丙基甘氨酸
[1798]	<220>	
[1799]	<221>	MOD_RES
[1800]	<222>	(5) .. (5)
[1801]	<223>	烯丙基甘氨酸
[1802]	<220>	
[1803]	<221>	MOD_RES
[1804]	<222>	(6) .. (6)
[1805]	<223>	烯丙基甘氨酸
[1806]	<220>	
[1807]	<221>	MOD_RES
[1808]	<222>	(10) .. (10)
[1809]	<223>	烯丙基甘氨酸
[1810]	<220>	
[1811]	<221>	MOD_RES
[1812]	<222>	(13) .. (13)
[1813]	<223>	烯丙基甘氨酸
[1814]	<400>	82
[1815]	Gly Gly Glu Leu Gly Gly Asn Pro Ala Gly Thr Gly Gly Tyr	
[1816]	1	5 10
[1817]	<210>	83
[1818]	<211>	14
[1819]	<212>	PRT
[1820]	<213>	人工序列
[1821]	<220>	
[1822]	<223>	合成产生的肽
[1823]	<220>	
[1824]	<221>	变体
[1825]	<222>	(2) .. (2)
[1826]	<223>	胱硫醚
[1827]	<220>	
[1828]	<221>	MOD_RES
[1829]	<222>	(14) .. (14)
[1830]	<223>	酰胺化
[1831]	<400>	83
[1832]	Cys Xaa Glu Leu Cys Cys Asn Ala Ala Cys Thr Gly Cys Tyr	

[1833]	1	5	10
[1834]	<210>	84	
[1835]	<211>	14	
[1836]	<212>	PRT	
[1837]	<213>	人工序列	
[1838]	<220>		
[1839]	<223>	合成产生的肽	
[1840]	<220>		
[1841]	<221>	变体	
[1842]	<222>	(6) .. (6)	
[1843]	<223>	二氨基丙酸	
[1844]	<220>		
[1845]	<221>	MOD_RES	
[1846]	<222>	(14) .. (14)	
[1847]	<223>	酰胺化	
[1848]	<400>	84	
[1849]	Asp Cys Glu Leu Cys Xaa Asn Val Ala Cys Thr Gly Cys Tyr		
[1850]	1	5	10
[1851]	<210>	85	
[1852]	<211>	14	
[1853]	<212>	PRT	
[1854]	<213>	人工序列	
[1855]	<220>		
[1856]	<223>	合成产生的肽	
[1857]	<220>		
[1858]	<221>	变体	
[1859]	<222>	(2) .. (2)	
[1860]	<223>	胱硫醚	
[1861]	<220>		
[1862]	<221>	MOD_RES	
[1863]	<222>	(14) .. (14)	
[1864]	<223>	酰胺化	
[1865]	<400>	85	
[1866]	Cys Xaa Glu Leu Cys Cys Asn Val Ala Cys Ser Gly Cys Tyr		
[1867]	1	5	10
[1868]	<210>	86	
[1869]	<211>	13	
[1870]	<212>	PRT	
[1871]	<213>	人工序列	

[1872]	<220>	
[1873]	<223>	合成产生的肽
[1874]	<220>	
[1875]	<221>	变体
[1876]	<222>	(1) .. (1)
[1877]	<223>	胱硫醚
[1878]	<220>	
[1879]	<221>	MOD_RES
[1880]	<222>	(5) .. (5)
[1881]	<223>	烯丙基甘氨酸
[1882]	<220>	
[1883]	<221>	MOD_RES
[1884]	<222>	(13) .. (13)
[1885]	<223>	酰胺化
[1886]	<400>	86
[1887]	Xaa Glu Leu Cys Gly Asn Val Ala Cys Thr Gly Cys Tyr	
[1888]	1	5 10
[1889]	<210>	87
[1890]	<211>	14
[1891]	<212>	PRT
[1892]	<213>	人工序列
[1893]	<220>	
[1894]	<223>	合成产生的肽
[1895]	<220>	
[1896]	<221>	MOD_RES
[1897]	<222>	(1) .. (1)
[1898]	<223>	烯丙基甘氨酸
[1899]	<220>	
[1900]	<221>	MOD_RES
[1901]	<222>	(6) .. (6)
[1902]	<223>	烯丙基甘氨酸
[1903]	<220>	
[1904]	<221>	MOD_RES
[1905]	<222>	(14) .. (14)
[1906]	<223>	酰胺化
[1907]	<400>	87
[1908]	Gly Cys Glu Leu Cys Gly Asn Val Ala Cys Thr Gly Cys Tyr	
[1909]	1	5 10
[1910]	<210>	88

[1911]	<211>	14
[1912]	<212>	PRT
[1913]	<213>	人工序列
[1914]	<220>	
[1915]	<223>	合成产生的肽
[1916]	<220>	
[1917]	<221>	MOD_RES
[1918]	<222>	(1) .. (1)
[1919]	<223>	烯丙基甘氨酸
[1920]	<220>	
[1921]	<221>	MOD_RES
[1922]	<222>	(6) .. (6)
[1923]	<223>	烯丙基甘氨酸
[1924]	<220>	
[1925]	<221>	MOD_RES
[1926]	<222>	(14) .. (14)
[1927]	<223>	酰胺化
[1928]	<400>	88
[1929]	Gly Cys Glu Leu Cys Gly Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr	
[1930]	1	5 10
[1931]	<210>	89
[1932]	<211>	13
[1933]	<212>	PRT
[1934]	<213>	人工序列
[1935]	<220>	
[1936]	<223>	合成产生的肽
[1937]	<220>	
[1938]	<221>	变体
[1939]	<222>	(1) .. (1)
[1940]	<223>	胱硫醚
[1941]	<400>	89
[1942]	Xaa Cys Glu Leu Cys Cys Asn Val Ala Cys Thr Gly Cys	
[1943]	1	5 10
[1944]	<210>	90
[1945]	<211>	14
[1946]	<212>	PRT
[1947]	<213>	人工序列
[1948]	<220>	
[1949]	<223>	合成产生的肽

[1950]	<220>	
[1951]	<221>	变体
[1952]	<222>	(1) .. (1)
[1953]	<223>	胱硫醚
[1954]	<220>	
[1955]	<221>	MOD_RES
[1956]	<222>	(14) .. (14)
[1957]	<223>	酰胺化
[1958]	<400>	90
[1959]	Xaa Cys Glu Leu Cys Cys Asn Val Ala Cys Thr Gly Cys Tyr	
[1960]	1	5 10
[1961]	<210>	91
[1962]	<211>	14
[1963]	<212>	PRT
[1964]	<213>	人工序列
[1965]	<220>	
[1966]	<223>	合成产生的肽
[1967]	<220>	
[1968]	<221>	变体
[1969]	<222>	(1) .. (1)
[1970]	<223>	胱硫醚
[1971]	<220>	
[1972]	<221>	MOD_RES
[1973]	<222>	(14) .. (14)
[1974]	<223>	酰胺化
[1975]	<400>	91
[1976]	Xaa Cys Glu Leu Cys Cys Asn Val Ala Cys Tyr Gly Cys Tyr	
[1977]	1	5 10
[1978]	<210>	92
[1979]	<211>	13
[1980]	<212>	PRT
[1981]	<213>	人工序列
[1982]	<220>	
[1983]	<223>	合成产生的肽
[1984]	<220>	
[1985]	<221>	尚未归类的特征
[1986]	<222>	(10) .. (10)
[1987]	<223>	Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
[1988]	<220>	

[1989]	<221>	变体
[1990]	<222>	(13) .. (13)
[1991]	<223>	胱硫醚
[1992]	<400>	92
[1993]	Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Val Ala Xaa Tyr Gly Cys	
[1994]	1	5 10
[1995]	<210>	93
[1996]	<211>	21
[1997]	<212>	PRT
[1998]	<213>	人工序列
[1999]	<220>	
[2000]	<223>	合成产生的肽
[2001]	<220>	
[2002]	<221>	变体
[2003]	<222>	(1) .. (1)
[2004]	<223>	Xaa1是谷氨酸其中侧链羧酸
[2005]		形成肽键或不存在
[2006]	<220>	
[2007]	<221>	变体
[2008]	<222>	(2) .. (2)
[2009]	<223>	Xaa1是赖氨酸其中侧链胺形成肽
[2010]		键或不存在
[2011]	<220>	
[2012]	<221>	变体
[2013]	<222>	(3) .. (3)
[2014]	<223>	Xaa3是Asn或不存在
[2015]	<220>	
[2016]	<221>	变体
[2017]	<222>	(4) .. (4)
[2018]	<223>	Xaa4是Ser或不存在
[2019]	<220>	
[2020]	<221>	变体
[2021]	<222>	(5) .. (5)
[2022]	<223>	Xaa5是Ser、Asn、Ile或不存在
[2023]	<220>	
[2024]	<221>	变体
[2025]	<222>	(6) .. (6)
[2026]	<223>	Xaa6是Tyr、Asp、4-氟苯丙氨酸((4-F) Phe) 或不存在
[2027]	<220>	

- [2028] <221> 变体
- [2029] <222> (7) .. (7)
- [2030] <223> Xaa7是Cys、胱硫醚(Cth)、烯丙基甘氨酸(Ag)、具有
- [2031] 还原的二卡巴键的烯丙基甘氨酸(Hag)或Asp
- [2032] <220>
- [2033] <221> 变体
- [2034] <222> (8) .. (8)
- [2035] <223> Xaa8是Cys、胱硫醚(Cth)、青霉胺(Pen)或
- [2036] 烯丙基甘氨酸(Ag)
- [2037] <220>
- [2038] <221> 变体
- [2039] <222> (9) .. (9)
- [2040] <223> Xaa9是Glu、Asp、Ser、Thr或Gln
- [2041] <220>
- [2042] <221> 变体
- [2043] <222> (10) .. (10)
- [2044] <223> Xaa10是Leu、环己基丙氨酸(Cha)、Phe或
- [2045] 4-氟苯丙氨酸((4-F)Phe)
- [2046] <220>
- [2047] <221> 变体
- [2048] <222> (12) .. (12)
- [2049] <223> Xaa12是Cys、烯丙基甘氨酸(Ag)、Hag或Val
- [2050] <220>
- [2051] <221> 变体
- [2052] <222> (14) .. (14)
- [2053] <223> Xaa14是Pro、Val、肌氨酸(Sar)、Leu或羟脯氨酸
- [2054] (OH-Pro)
- [2055] <220>
- [2056] <221> 变体
- [2057] <222> (17) .. (17)
- [2058] <223> Xaa17是Tyr、Thr、环己基丙氨酸(Cha)、4-氟苯丙氨酸
- [2059] ((4-F)Phe)、Phe或Ala
- [2060] <220>
- [2061] <221> 变体
- [2062] <222> (20) .. (20)
- [2063] <223> Xaa20是Tyr、Leu、4-氟苯丙氨酸((4-F)Phe)、
- [2064] 环己基丙氨酸(Cha)、D-Tyr、N-甲基Tyr(Nme-Tyr)或不存在
- [2065] <220>
- [2066] <221> 变体

[2067]	<222>	(21) .. (21)
[2068]	<223>	Xaa21不存在或是Asnt
[2069]	<400>	93
[2070]	Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Asn Xaa Ala Cys	
[2071]	1	5 10 15
[2072]	Xaa Gly Cys Xaa Xaa	
[2073]		20
[2074]	<210>	94
[2075]	<211>	14
[2076]	<212>	PRT
[2077]	<213>	人工序列
[2078]	<220>	
[2079]	<223>	合成产生的肽
[2080]	<400>	94
[2081]	Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr	
[2082]	1	5 10

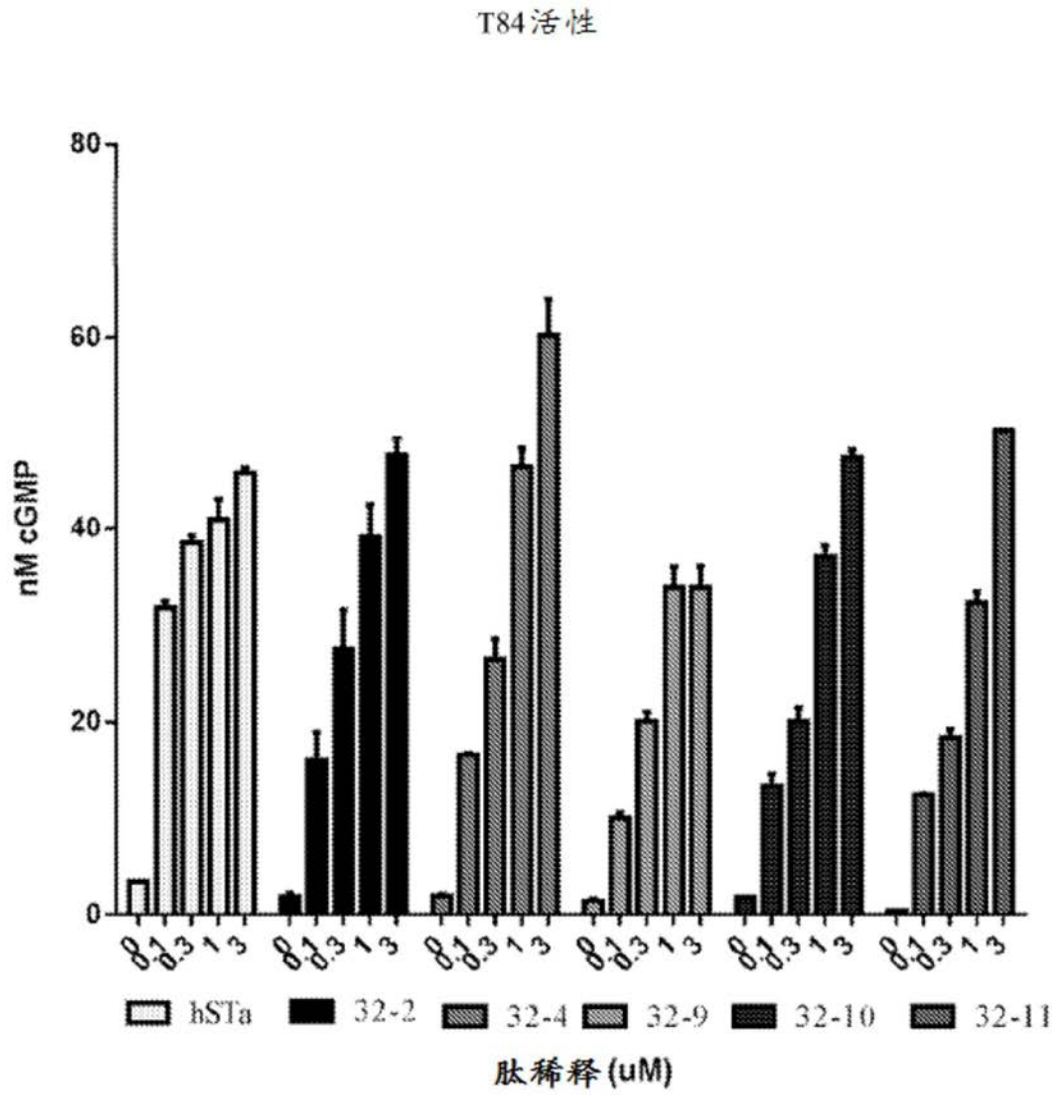
代表性肽的活性和稳定性数据

	<u>活性/效力</u>		<u>代谢稳定性</u>
	T84 中的 cGMP	GCCA结合	在RIF中稀释
SEQ ID NO:43	++	++	++
SEQ ID NO:47	+++	++	+
SEQ ID NO:62	++	++	+++
SEQ ID NO:64	++	++	++

关键 (ST=ST核心)

类别	参数	一般 (+)	良好 (++)	优异 (+++)
活性/效力	T84 中的 cGMP (EC ₅₀ pH 7)	> 150nM	50-150nM	<50nM
	GCCA结合 (平均 IC ₅₀ , pH 5-8)	较ST差	与ST相似	优于ST
	体内药理学	较ST差	与ST相似	优于ST
稳定性	代谢:稀释的大鼠肠液 (1小时时 剩余%)	< 50%	50-75%	75-100%

图1



hSTa=NSSNY-ST核心
32-2=SEQ ID NO: 3
32-4=SEQ ID NO: 4
32-9=SEQ ID NO: 5
32-10=SEQ ID NO: 6
32-11=SEQ ID NO: 7

图2

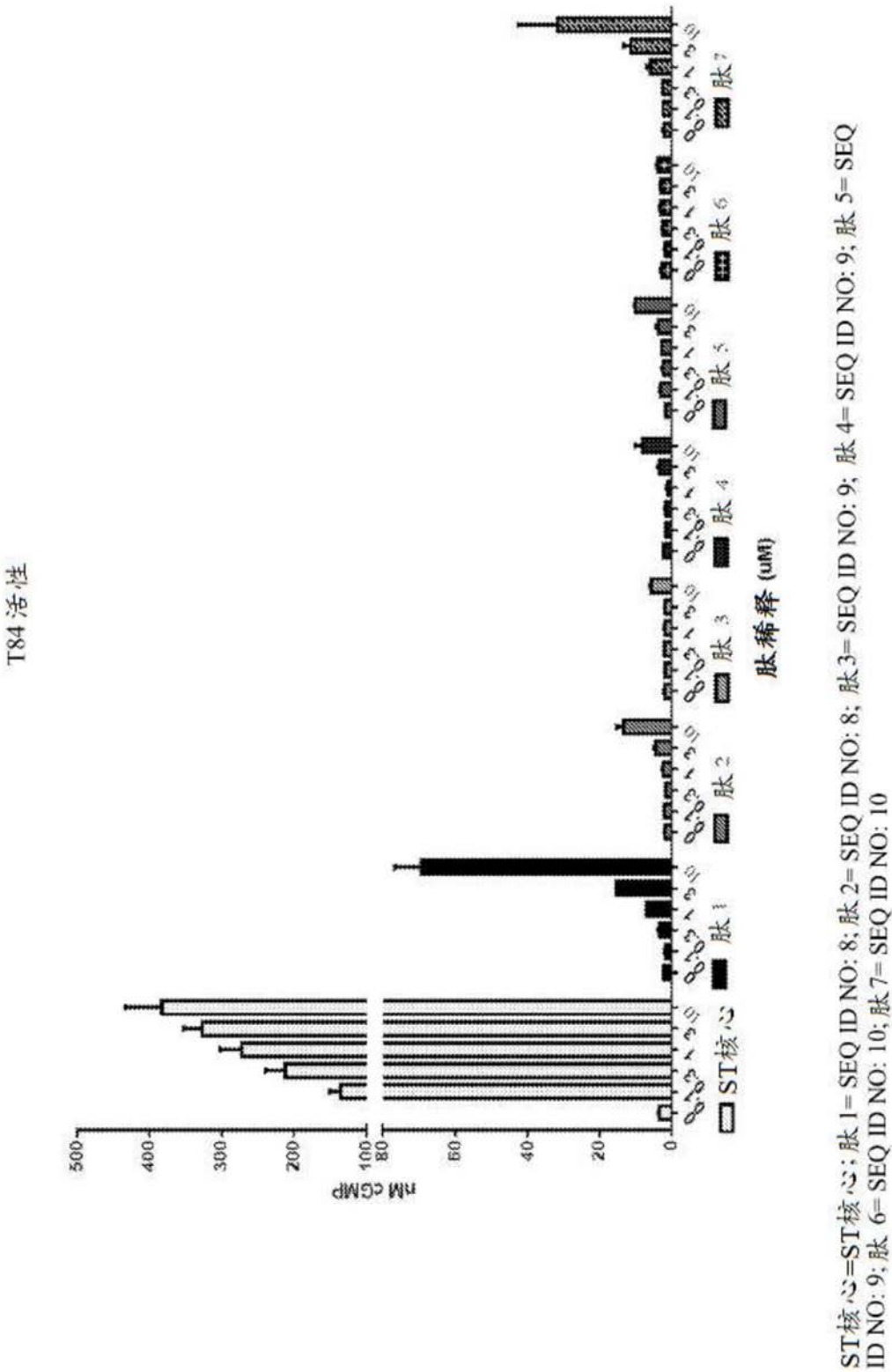


图3

T84 活性

肽浓度 (uM)	nM cGMP					
	SEQ ID NO: 23		SEQ ID NO: 23		SEQ ID NO: 24	
0		1.4	1.4	4.8	0.5	3.2
0.1	65.7	53.3	18.4	21.9	2.0	1.7
0.3	80.4	88.5	75.6	80.1	11.2	24.9
1	121.3	104.0	97.9	98.0	55.1	58.7
3	116.8	102.7	143.1	118.5	99.3	108.2
10	133.2	112.0	133.6	139.9	135.7	134.5

肽浓度 (uM)	nM cGMP							
	SEQ ID NO: 25		SEQ ID NO: 26		SEQ ID NO: 27		ST核心	
0	1.1	2.0	1.1	1.0	1.7	1.2	0.7	0.8
0.1	90.5	80.5	76.8	76.3	1.7	1.3	80.5	95.3
0.3	126.5	128.5	120.4	120.0	4.7	1.0	109.5	134.1
1	153.2	143.2	144.3	137.1	7.5	1.6	114.6	122.4
3	168.6	184.3	182.7	167.6	9.8	1.1	149.4	147.3
10	191.3	181.3	164.2	141.9	6.9	0.2	164.0	134.2

肽浓度 (uM)	nM cGMP			
	SEQ ID NO: 12		SEQ ID NO: 13	
0.1	3.2	2.3	2.0	0.3
0.3	8.9	6.4	4.8	2.3
1	18.8	13.5	8.5	4.5
3	32.5	26.8	19.0	17.6
10	87.0	67.0	28.0	24.3

图4

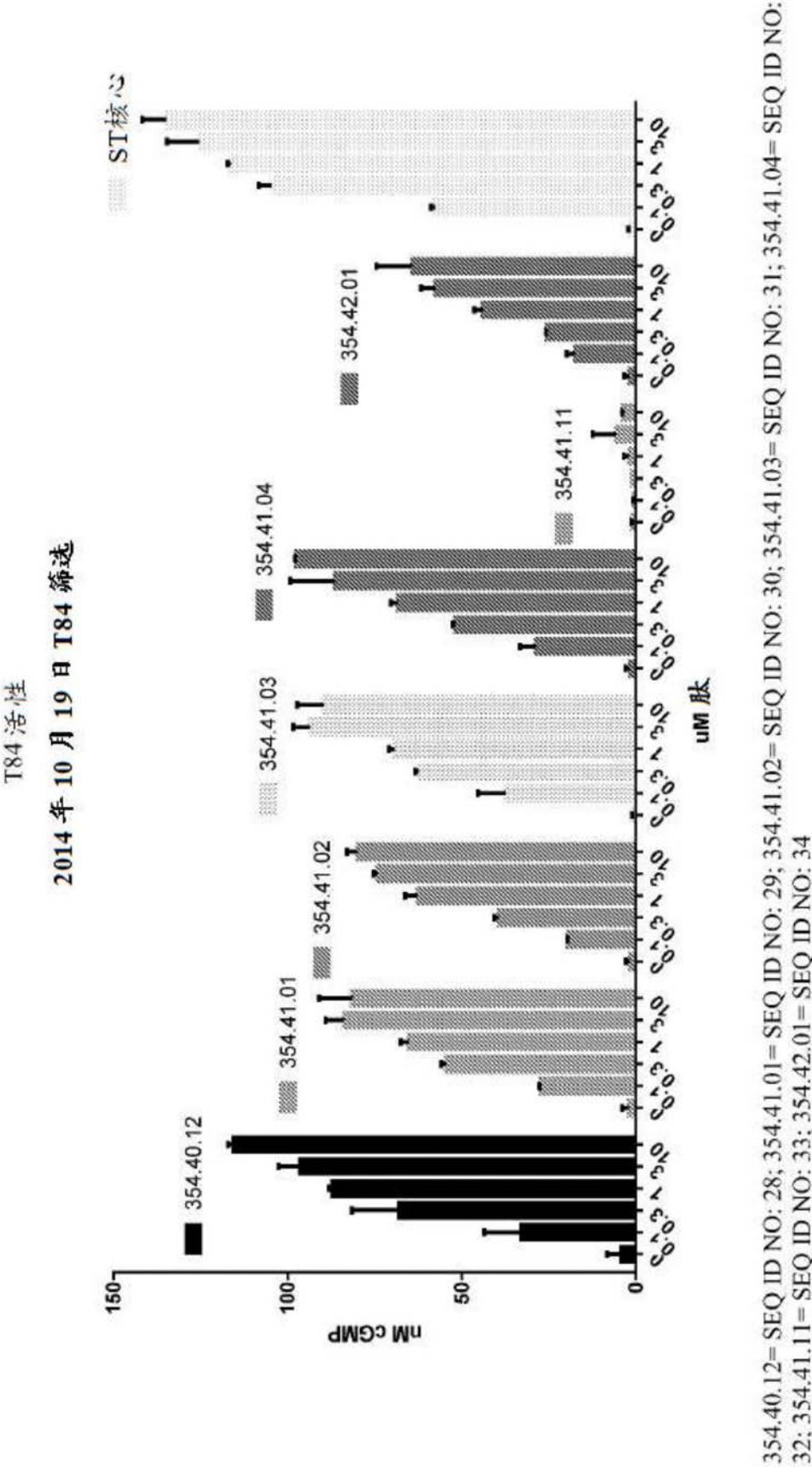
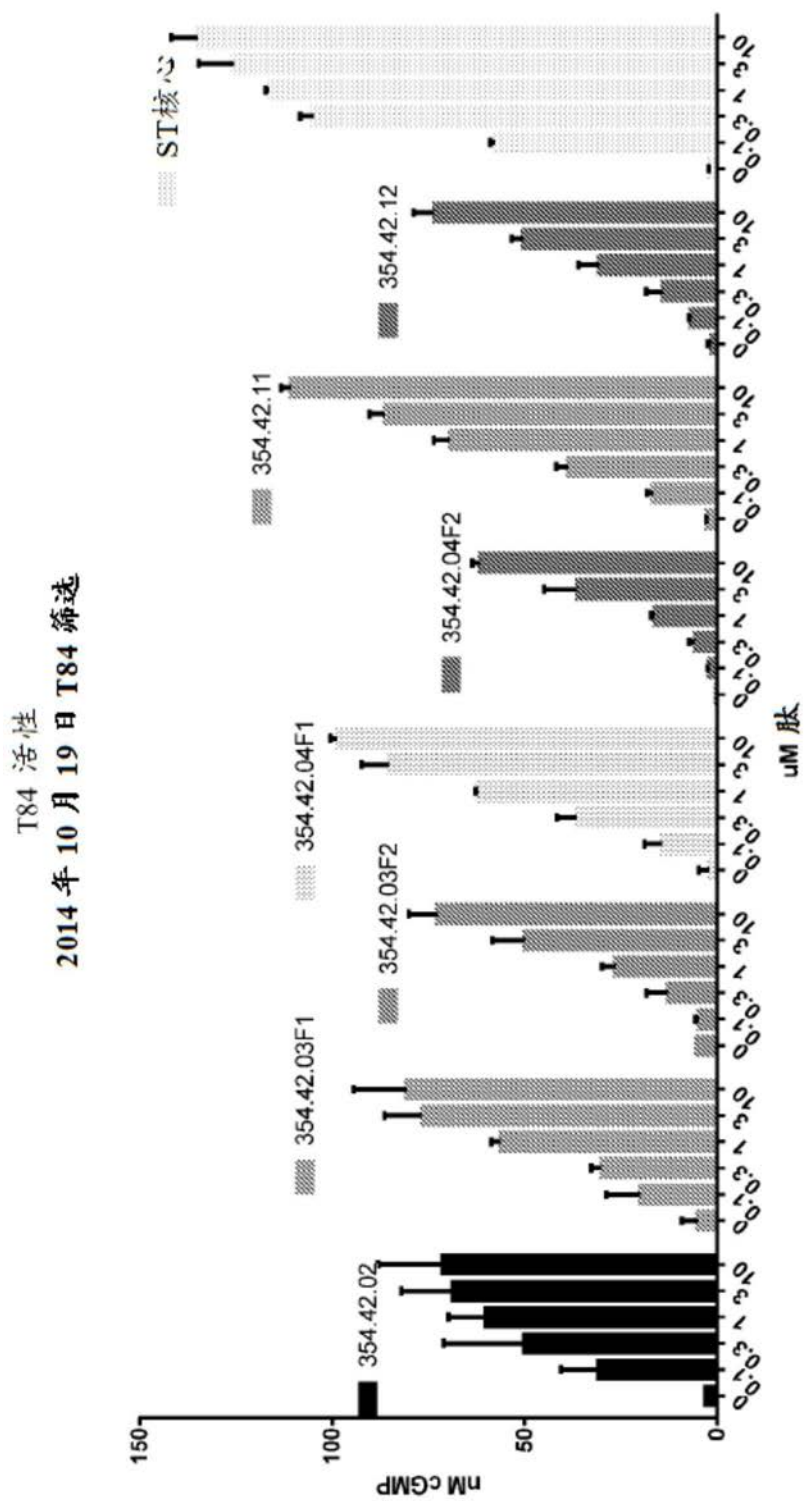
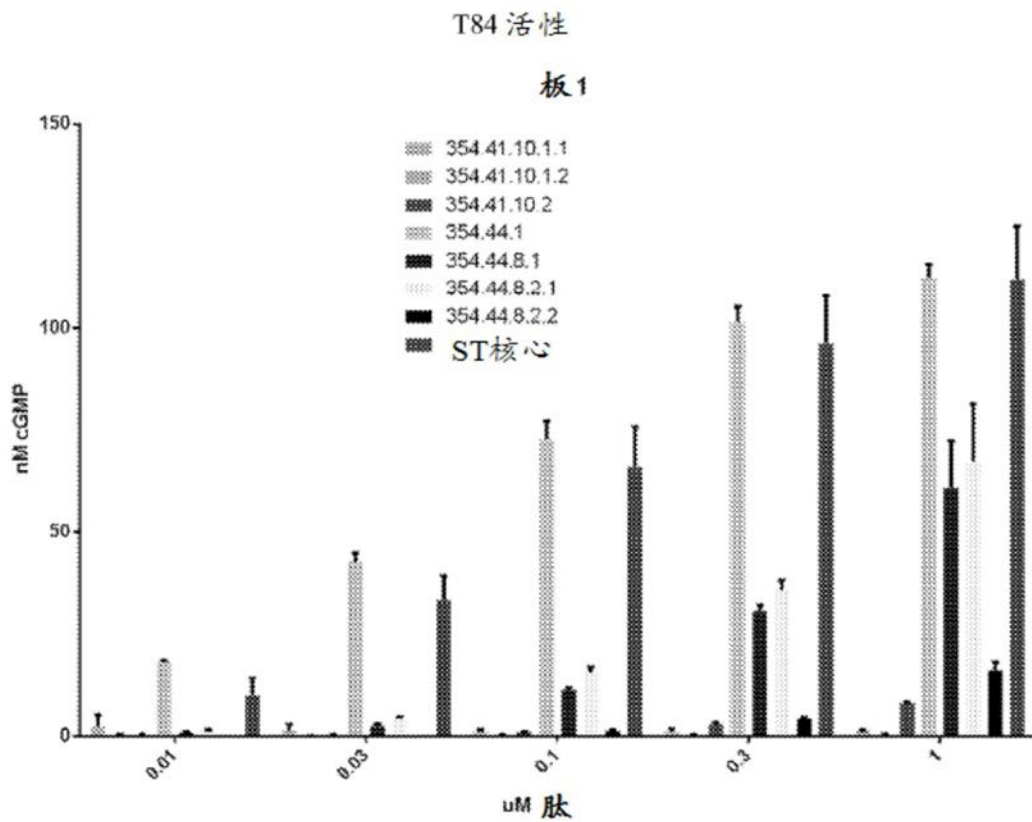


图5



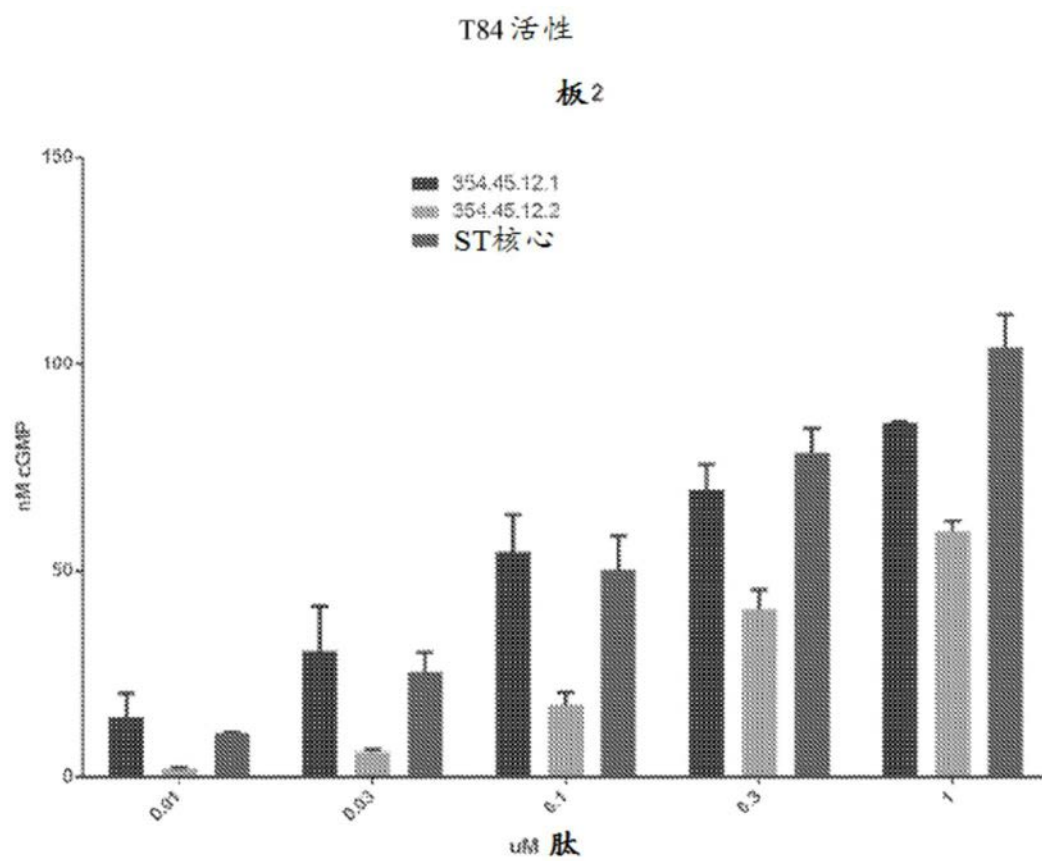
354.42.02= SEQ ID NO: 35; 354.42.03F1= SEQ ID NO: 36; 354.42.03F2= SEQ ID NO: 36; 354.42.04F1= SEQ ID NO: 37; 354.42.04F2= SEQ ID NO: 37; 354.42.11= SEQ ID NO: 44; 354.42.12= SEQ ID NO: 39

图6



354.41.10.1.1= SEQ ID NO: 40
354.41.10.1.2= SEQ ID NO: 40
354.41.10.2= SEQ ID NO: 41
354.44.1= SEQ ID NO: 2
354.44.8.1= SEQ ID NO: 42
354.44.8.2.1= SEQ ID NO: 42
354.44.8.2.2= SEQ ID NO: 42

图7



354.45.12.1= SEQ ID NO: 43

354.45.12.2= SEQ ID NO: 43

图8

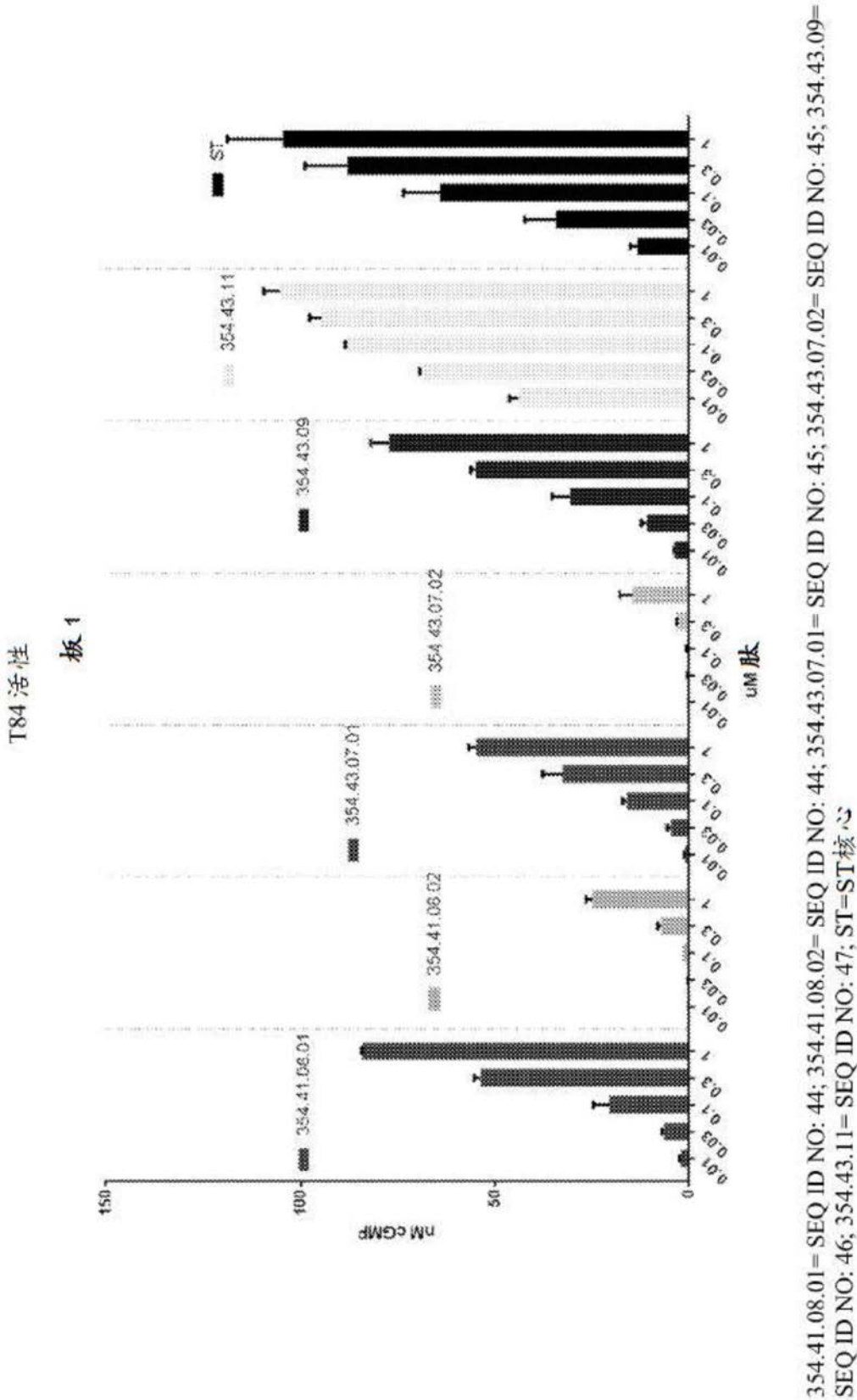
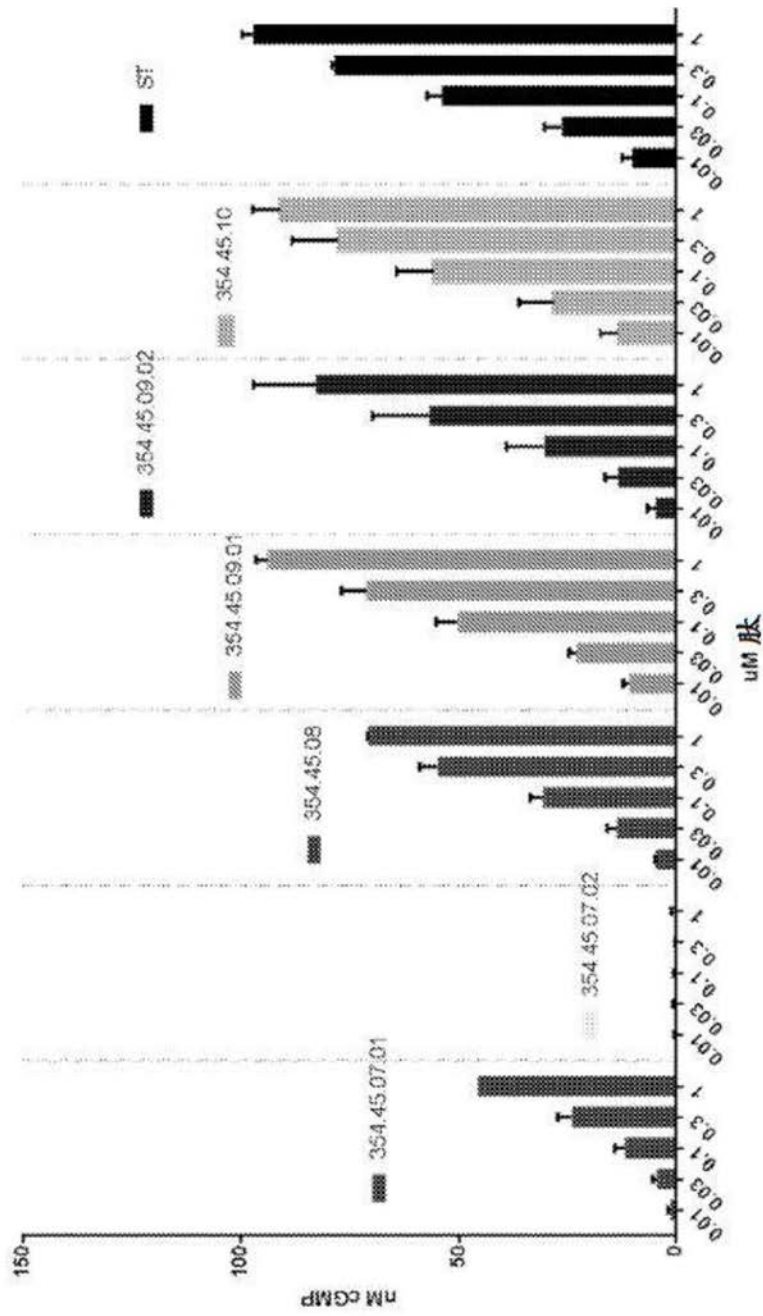


图9

T84 活性
板 2



354.45.07.01= SEQ ID NO: 45; 354.45.07.02= SEQ ID NO: 45; 354.45.08= SEQ ID NO: 48; 354.45.09.01= SEQ ID NO: 51; 354.45.09.02= SEQ ID NO: 51; 354.45.10= SEQ ID NO: 52; ST= ST核心

图10

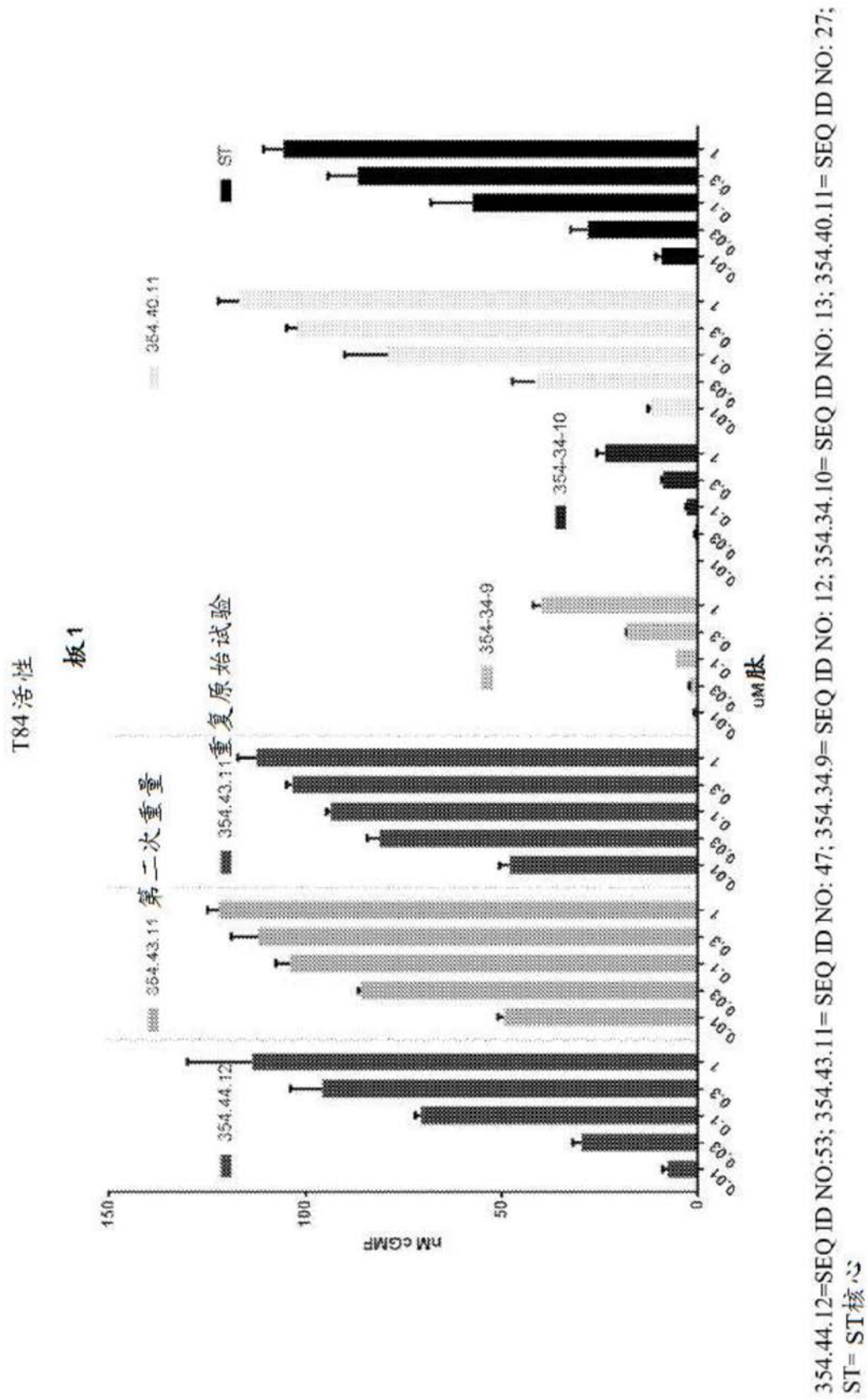


图11

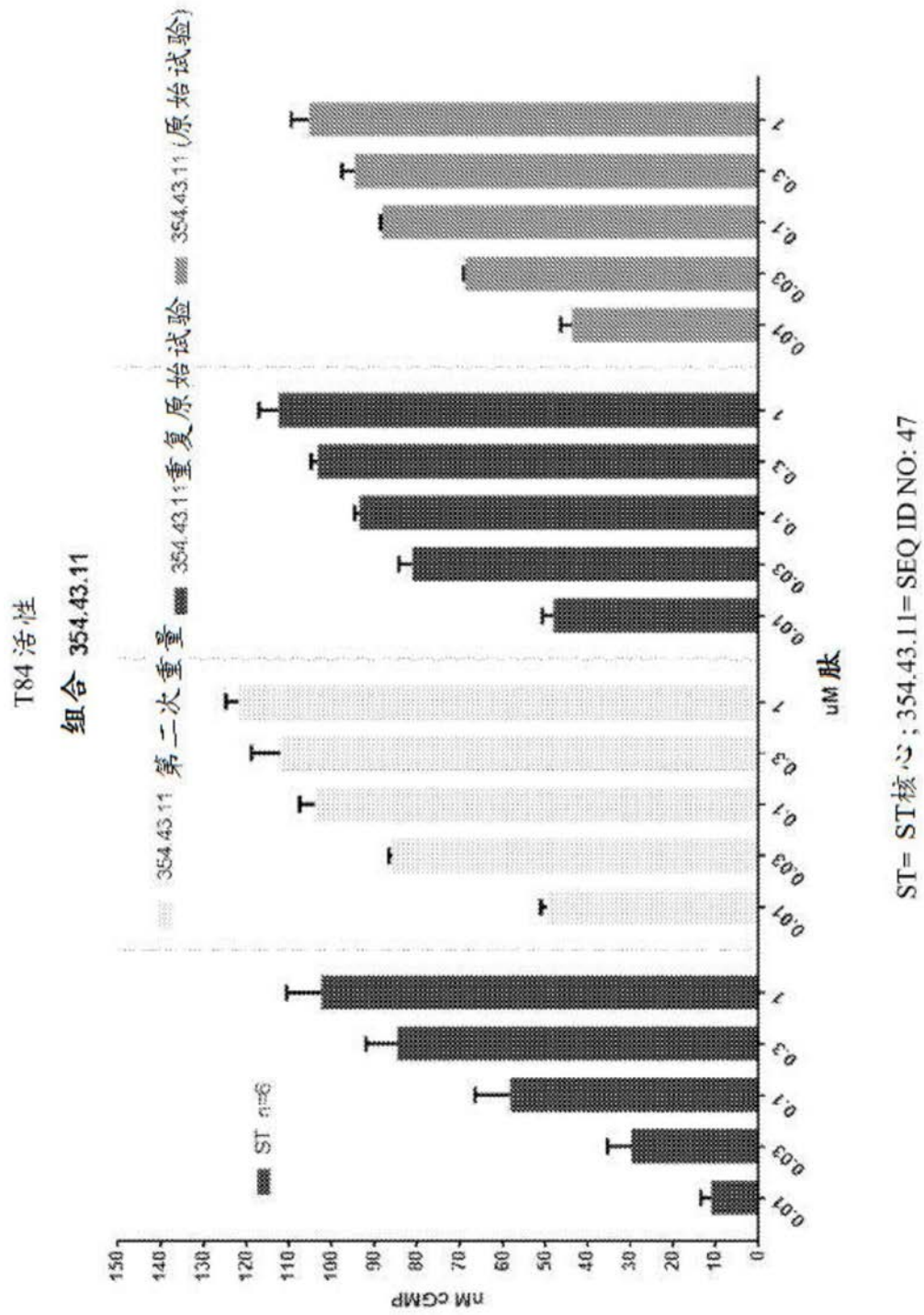
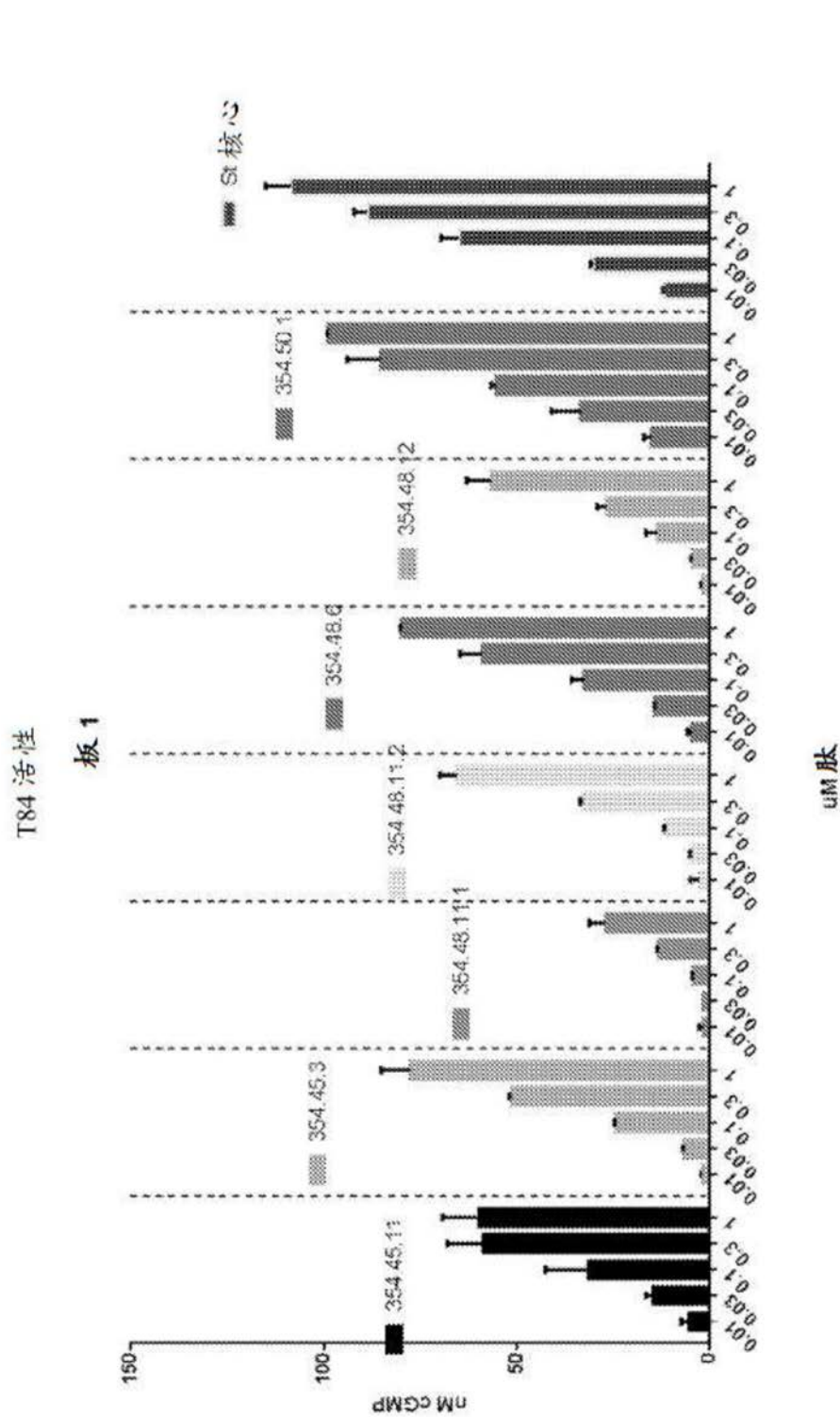


图12



354.45.11= SEQ ID NO: 54; 354.45.3= SEQ ID NO: 55; 354.48.11.1= SEQ ID NO: 56; 354.48.11.2= SEQ ID NO: 56; 354.48.6= SEQ ID NO: 57; 354.48.12= SEQ ID NO: 58; 354.50.1= SEQ ID NO: 59

图13

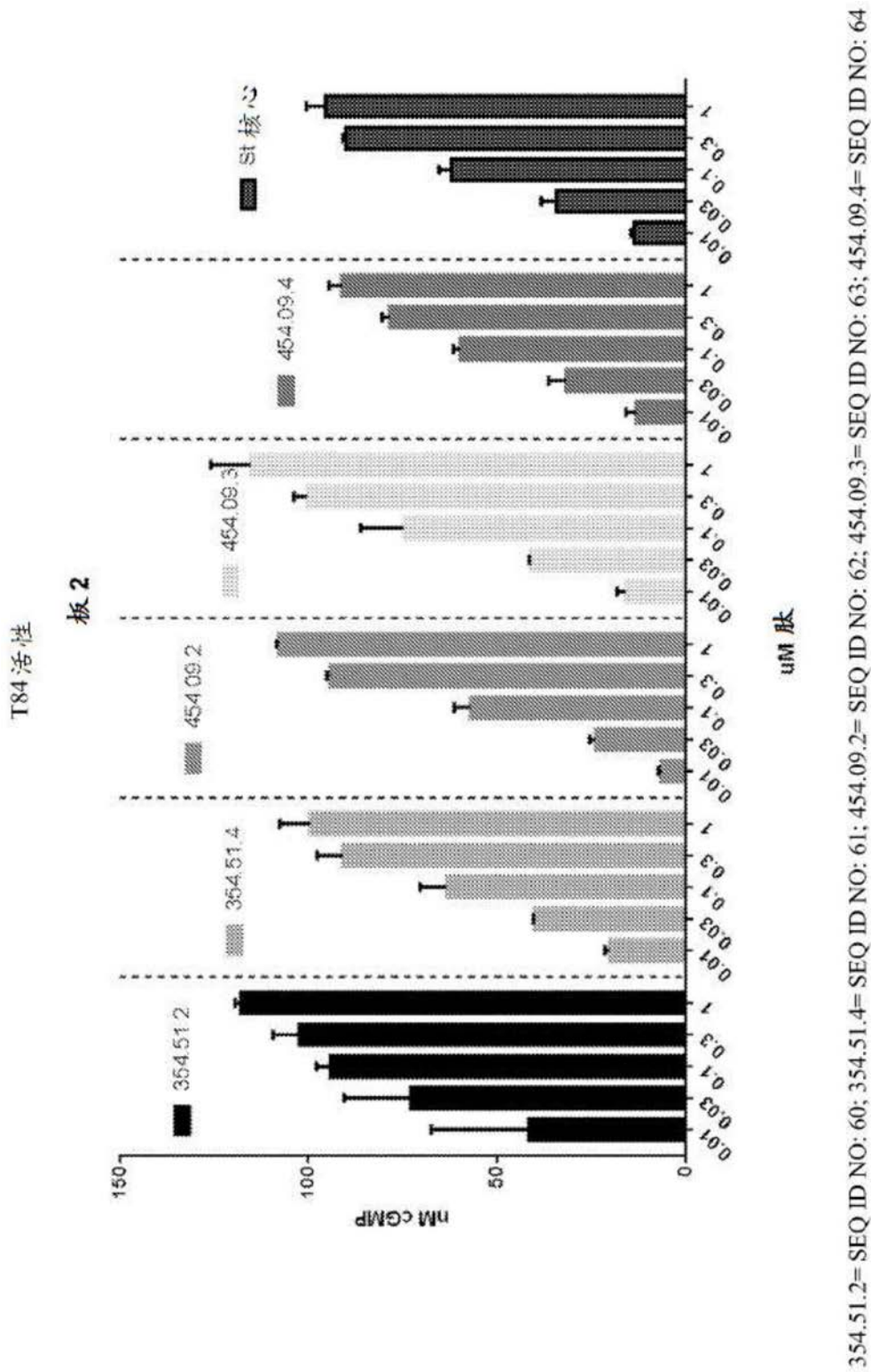


图14

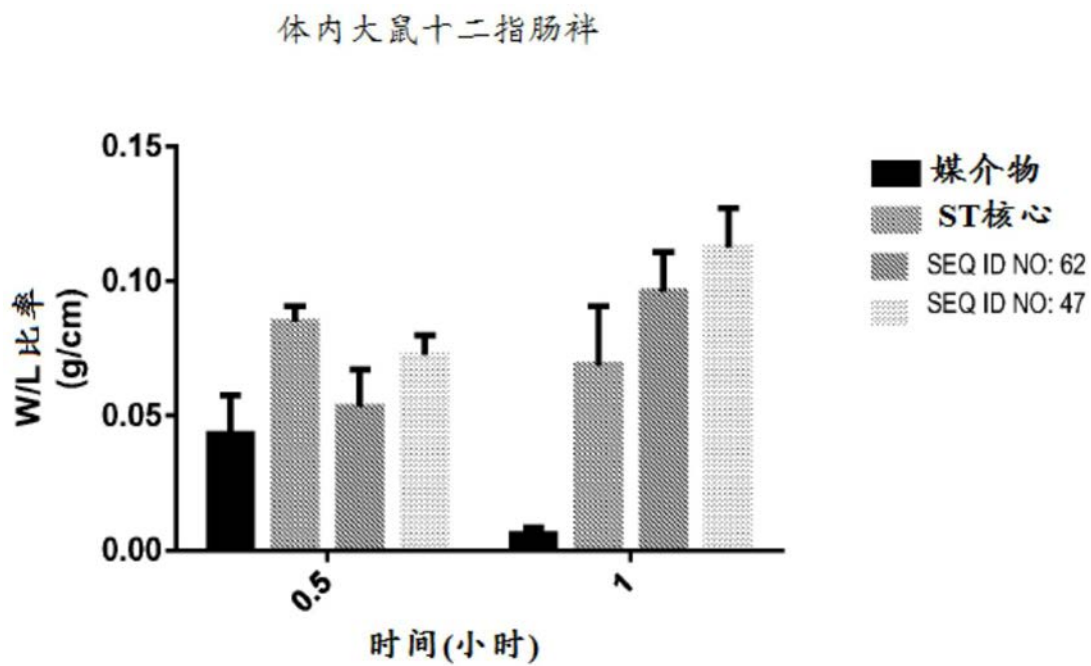
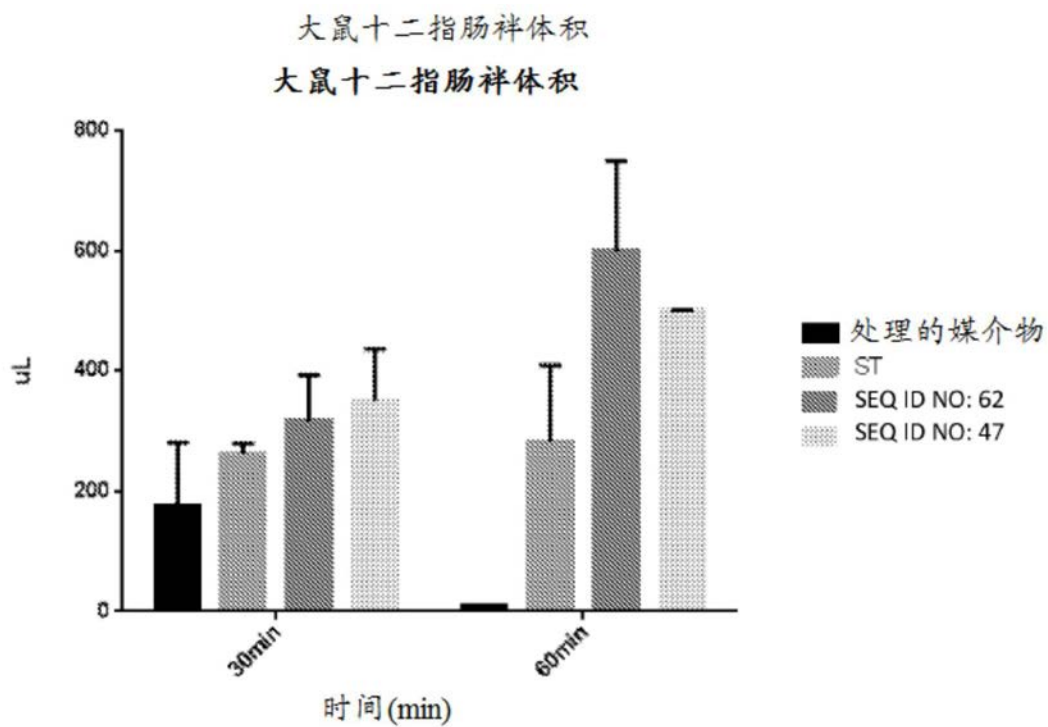


图15



ST= ST核心

图16

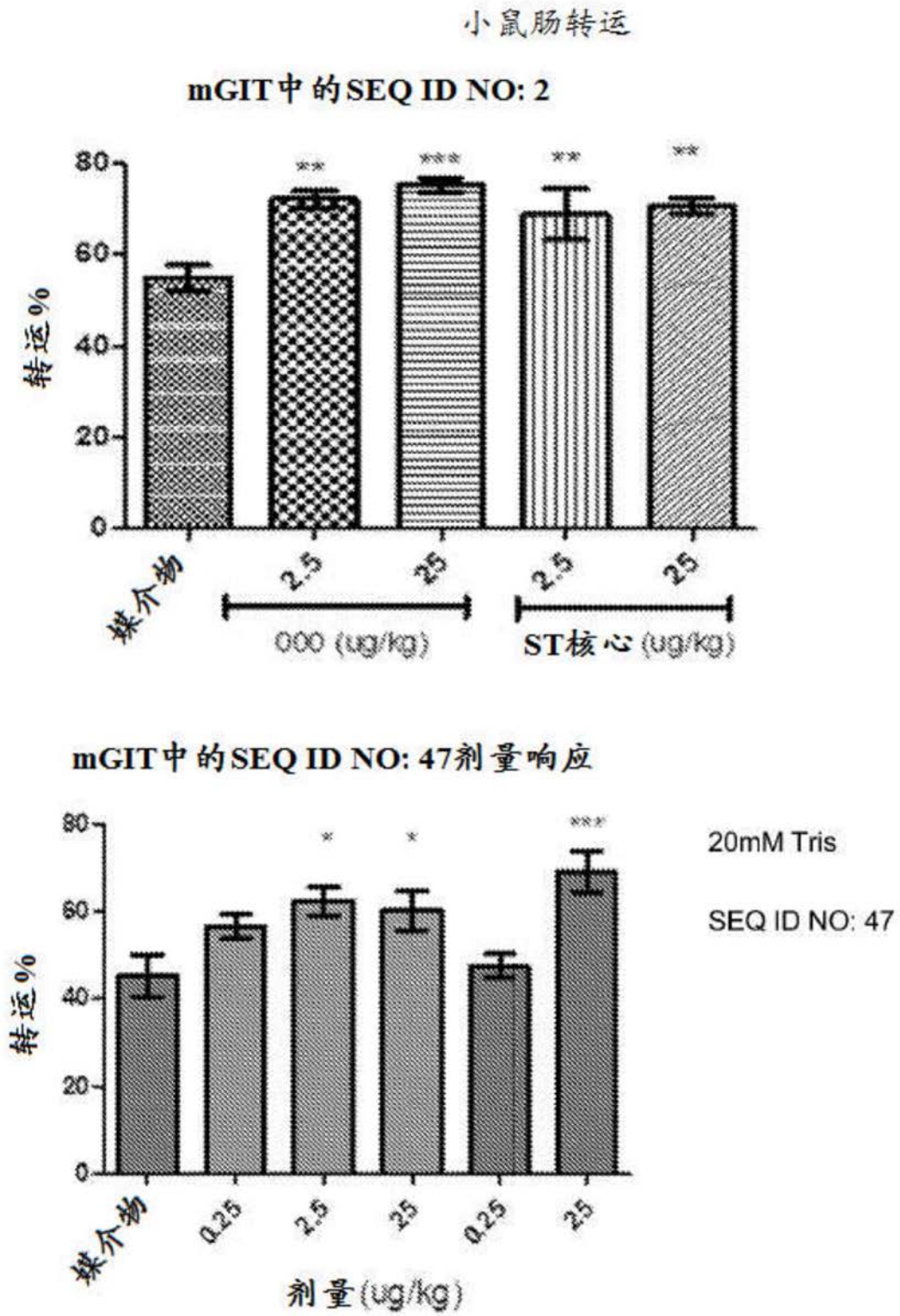
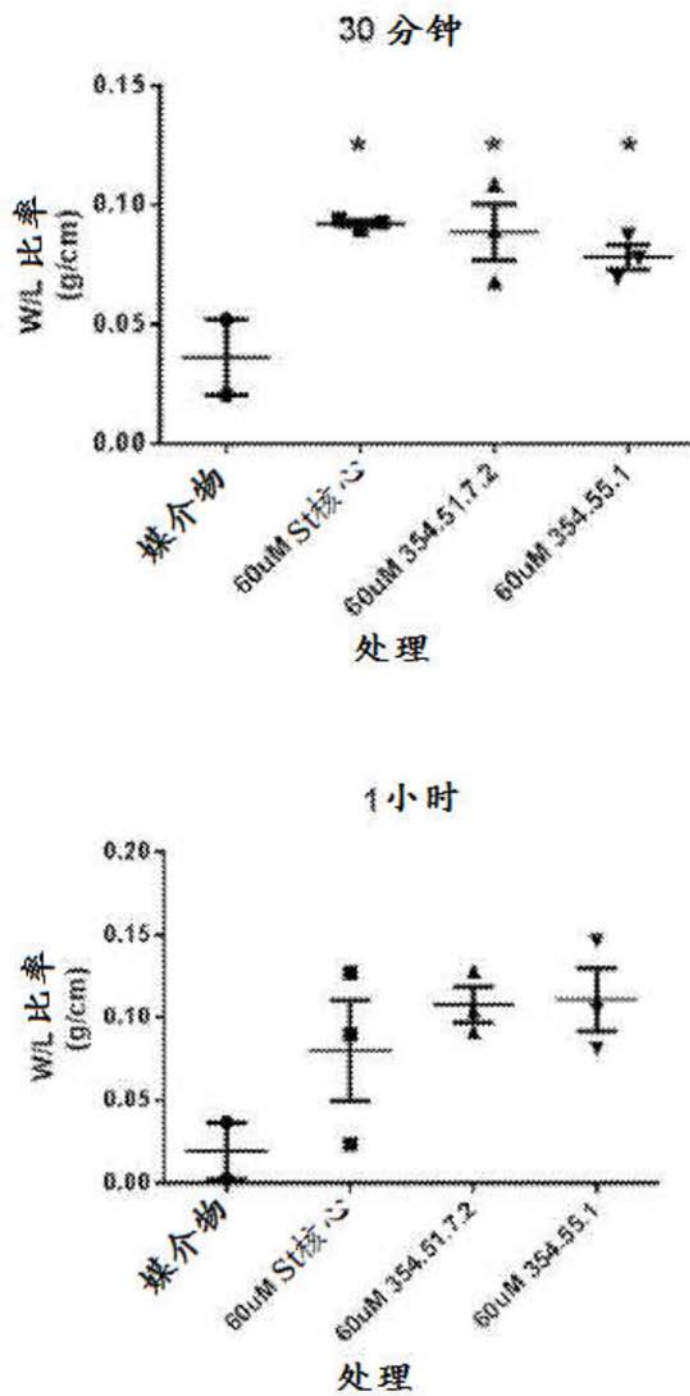


图17

体内结扎的大鼠群



354.51.7.2= SEQ ID NO: 69

351.55.1= SEQ ID NO: 67

图18

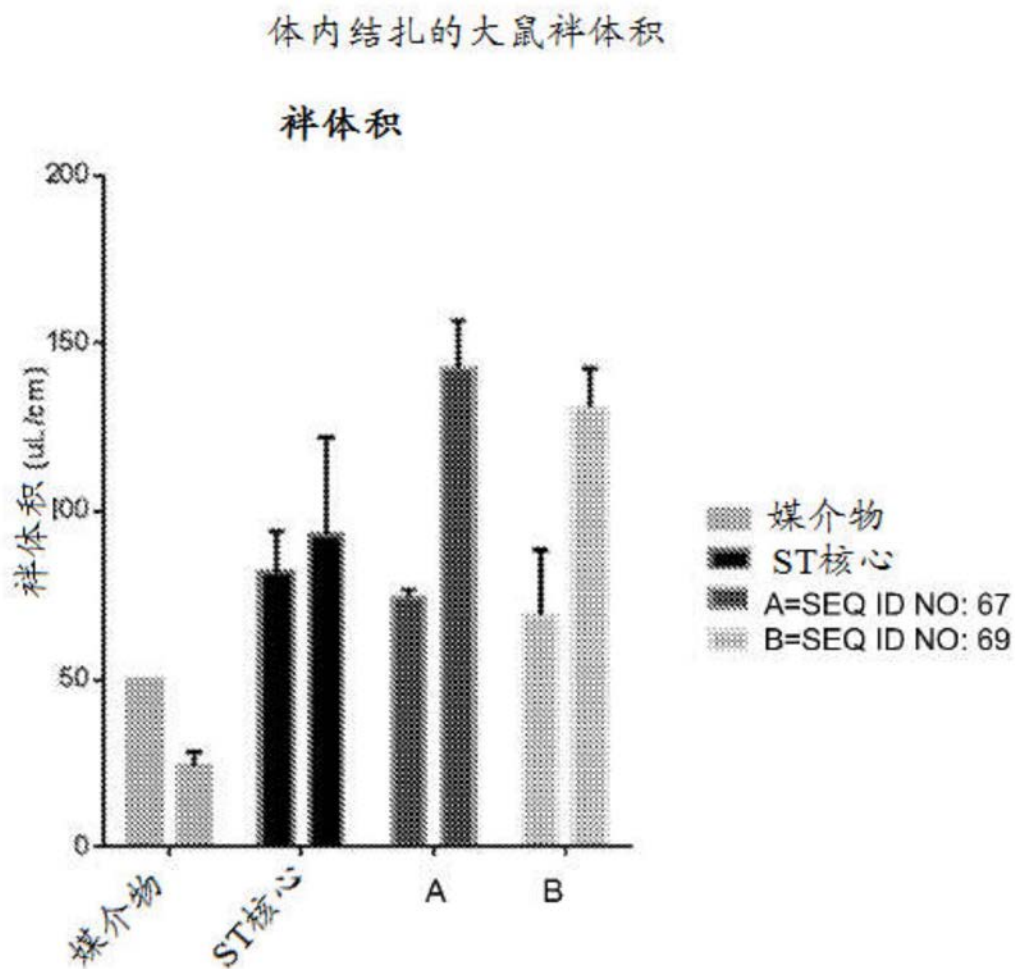


图19

体外大鼠肠液代谢
1小时时剩余%

SEQ ID NO:	[M+2H] ²⁺	[M + 2H] ²⁺ 代谢物	母体 剩余%
ST核心	738.7135	657.1815	2%
SEQ ID NO: 26	750.2642	669.2245	21%
SEQ ID NO: 43	669.2245	--	74%
SEQ ID NO: 53	720.2642	669.2245	3.5%
SEQ ID NO: 47	720.2642	669.2245	17%
SEQ ID NO: 2	719.2563	638.2167	30%

图20

体外大鼠肠液代谢
1小时时剩余%

SEQ ID NO:	[M +H] ²⁺	[M +2H] ²⁺ 代谢物	60min时 母体 剩余%
ST核心	738.7135	657.1815	3.5%
SEQ ID NO: 60	751.2725	670.2329	21%
SEQ ID NO: 61	670.2329		33%
SEQ ID NO: 62	760.7547	679.7150	93%
SEQ ID NO: 63	760.2508	679.2111	26%
SEQ ID NO: 64	679.2111	--	70%

SEQ ID NO:	[M +H] ²⁺	60min时 母体 剩余%
ST核心	738.7135	3.0%
SEQ ID NO: 65	761.2580	110%
SEQ ID NO: 66	730.2502	86%
SEQ ID NO: 62	760.2504	97%

图21

体内大鼠十二指肠代谢

SEQ ID NO:	[M +H] ²⁺	[M +2H] ²⁺ 代谢物	60min时 母体 剩余%	60min时 代谢物 剩余%
ST核心	738.7135	657.1815	0%	0%
SEQ ID NO: 47	750.2642	669.2245	0%	0%
SEQ ID NO: 62	760.2504	679.2106	8.4%	16.2%

SEQ ID NO:	[M +H] ²⁺	60min时 母体 剩余%	60min时 代谢物 剩余%
ST核心	738.7135	0%	0%
SEQ ID NO: 67	751.2555	1.8%	0.7%
SEQ ID NO: 69	701.2237	16.8%	--

图22

页 23/27

SEQ ID NO:	T84活性(nM) EC50 ± SEM pH7 (除非另外说明)	T84结合(pH5、7、8) Ki ± SEM	1小时 时代谢 (RIF)	代谢(祥)
2	101 ± 14	pH 5: 3.7 ± 2.0 pH 8: 4.2 ± 2.2	30%	
11	709 ± 143			
23			63%	
26	62 ± 5		21%	
43	52 ± 7	pH5: 2.9 ± 1.6, pH7: 3.1 ± 0.27 pH8: 1.1 ± 0.5	74%	
47	10 ± 1.1	pH5: 3.4 ± 1.2 pH7: 2.1 ± 0.2 pH8: 1.9 ± 0.7	17%	0%
53	110 ± 31		3.50%	
60	46 ± 5	pH 5: 8.6 ± 1.3 pH 8: 1.0 ± 0.8	21%	
61			33%	
62	147 ± 11, 87 ± 8	pH 5: 26.1 ± 15.5 pH8: 4.5 ± 3.7	93%, 97.1%	25%
63			26%	
64	87.5 ± 11	pH 5: 19.2 ± 6.2 pH8: 2.1 ± 0.9	70%	
65	141 ± 17		111%	
66	30 ± 4		86%	
67	pH5: 26 ± 8 pH 7: 89 ± 13 pH8: 101 ± 17	pH 5: 1.6 ± 0.1 pH 8: 1.6 ± 0.5	88%	2.50%
68	439 ± 37		85%	
69	pH 5: 126 ± 32 pH7: 440 ± 146 pH8: 896 ± 99	pH 5: 4.1 ± 0.4 pH 8: 6.4 ± 1.7	101%	16.8%
70	137 ± 33		100%	
71	342 ± 27			
75	90			
76	26			
77	27			
78	2400, 6400			
79	64.4			
80	360			
81	55			
82	NA			
83	574			
84	540			
85	107			
86	766			

图23

T84 活性

	nM cGMP							
肽 (uM)	SEQ ID NO:14		SEQ ID NO: 14		SEQ ID NO: 15		SEQ ID NO: 16	
0	3.52		3.02		2.45		2.85	
0.1	13.37	12.43	4.40	3.61	5.81	7.41	9.03	12.99
0.3	28.87	24.09	7.71	6.59	10.74	8.60	22.59	22.42
1	40.13	39.44	15.49	10.24	21.67	20.30	35.49	37.21
3	47.53	49.01	25.45	23.83	31.87	30.48	44.99	42.44
10	55.38	50.56	37.33	38.77	40.63	39.99	49.03	48.85

	nM cGMP							
肽 (uM)	SEQ ID NO: 17		SEQ ID NO: 17		SEQ ID NO: 18		SEQ ID NO: 18	
0	2.64		2.71		3.78		3.17	
0.1	9.48	5.98	2.91	1.97	15.37	18.81	6.46	5.99
0.3	20.12	12.87	3.88	3.10	20.56	27.13	13.01	9.81
1	21.98	26.53	6.03	7.16	26.61	35.53	21.09	21.52
3	34.72	32.38	12.07	10.07	34.46	35.25	32.35	29.64
10	39.75	41.77	19.17	22.82	34.04	43.14	36.78	27.50

	nM cGMP							
肽 (uM)	SEQ ID NO: 19		SEQ ID NO: 19		SEQ ID NO: 20		SEQ ID NO: 20	
0	2.44		0.36		1.39		1.70	
0.1	6.49	5.78	1.41	1.44	4.49	4.45	2.26	3.26
0.3	14.41	13.44	1.72	1.97	12.81	12.63	4.63	4.84
1	20.46	26.43	4.02	3.83	24.47	24.71	9.63	11.92
3	26.52	36.77	11.32	8.76	32.01	32.42	21.21	14.73
10	41.07	46.15	23.18	19.98	42.60	46.61	35.77	32.19

	nM cGMP					
肽 (uM)	SEQ ID NO: 20		SEQ ID NO: 21		SEQ ID NO: 22	
0	1.76		2.14		5.06	
0.1	1.66	3.26	6.82	8.03	8.04	12.81
0.3	2.43	3.37	11.73	16.26	12.90	19.38
1	3.54	5.96	18.91	24.68	19.03	27.11
3	7.85	10.86	23.26	31.74	23.19	36.75
10	16.59	20.28	27.10	40.11	29.16	47.18

图24

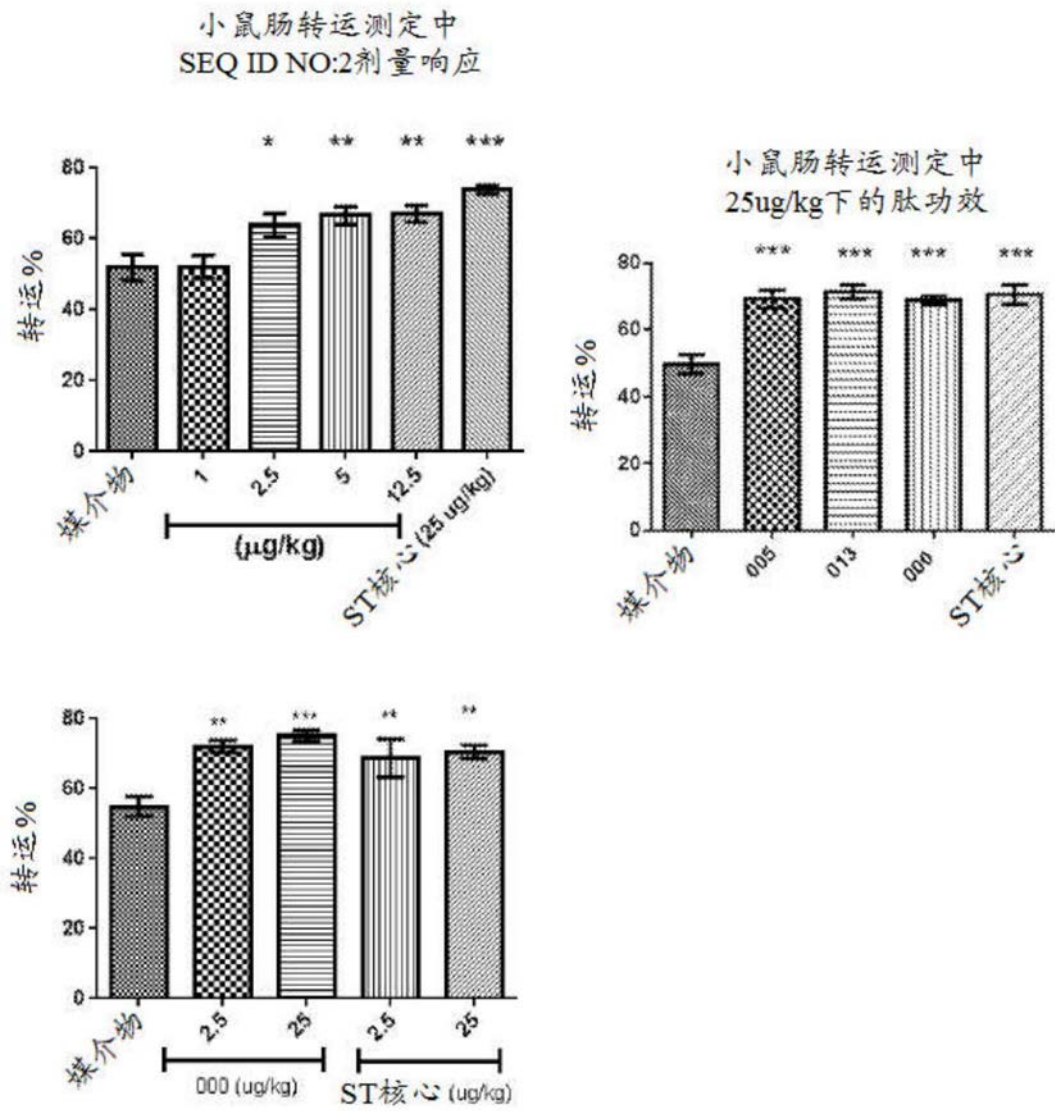


图25

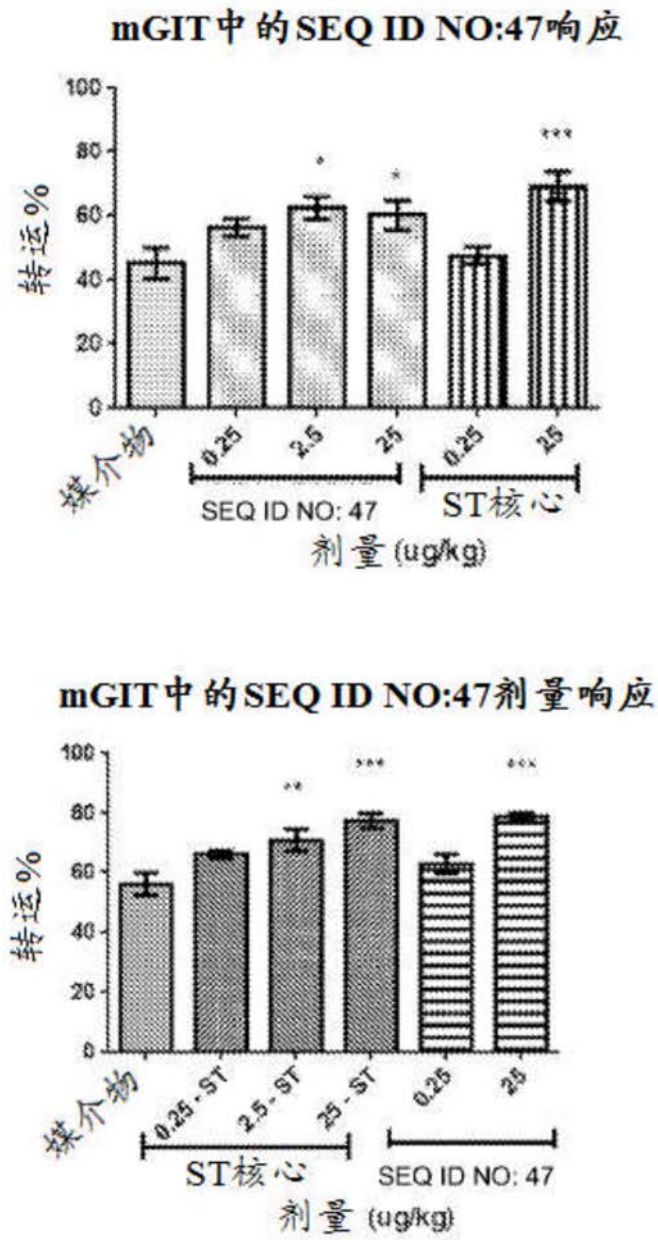


图26

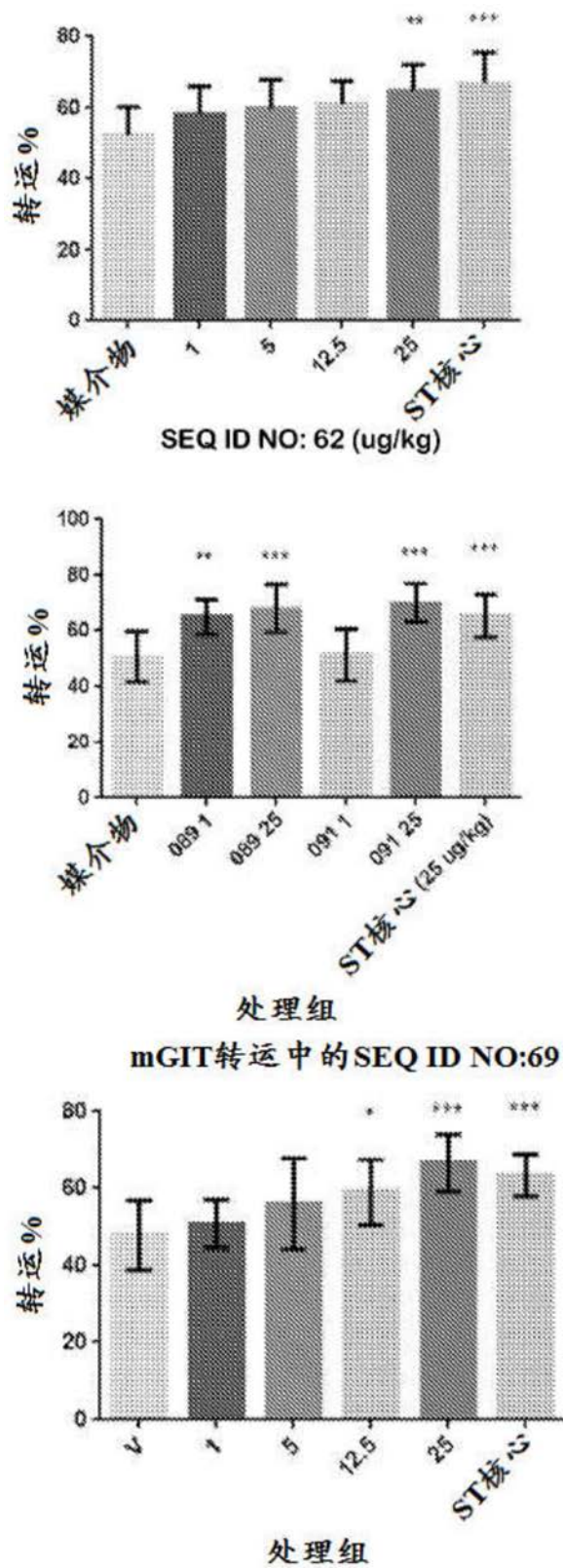


图27