

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202390358 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2023.05.17(51) Int. Cl. *A61P 1/16* (2006.01)
C07K 7/14 (2006.01)
C07K 7/16 (2006.01)
C07K 7/50 (2006.01)(22) Дата подачи заявки
2021.07.16

(54) ЧАСТИЧНЫЙ АГОНИСТ РЕЦЕПТОРА V1A И СПОСОБ ПРИМЕНЕНИЯ

(31) 63/053,340

(72) Изобретатель:

(32) 2020.07.17

Дзян Хань, Яо Яо, Кастилло
Джерардо М., Нисимото-Ашфилд
Акико, Вентосилла Кристиан,
Болотин Элайджа (US)

(33) US

(86) PCT/US2021/041998

(87) WO 2022/016064 2022.01.20

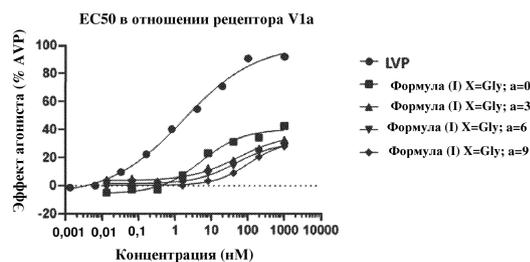
(71) Заявитель:

(74) Представитель:

ФАРМЕЙН КОРПОРЕЙШН (US)

Медведев В.Н. (RU)

(57) Изобретение предусматривает новые частичные агонисты V1a для частичного активирования рецептора V1a. Частичный агонист V1a характеризуется терапевтическим индексом, составляющим по меньшей мере 20 (например, по меньшей мере 30, по меньшей мере 40, по меньшей мере 50, по меньшей мере 60, по меньшей мере 70, по меньшей мере 80, по меньшей мере 90, по меньшей мере 100). Также предусмотрен способ лечения фиброза печени, цирроза, портальной гипертензии, асцита, варикозного расширения вен пищевода, варикозного расширения вен фундального отдела желудка, кровотечения, артериальной гипотензии и/или гепаторенального синдрома, включающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективной дозы композиции, содержащей частичный(е) агонист(ы) V1a по настоящему изобретению необязательно в комбинации с антагонистом V2.



A1

202390358

202390358

A1

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-576637EA/026

ЧАСТИЧНЫЙ АГОНИСТ РЕЦЕПТОРА V1A И СПОСОБ ПРИМЕНЕНИЯ ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННУЮ ЗАЯВКУ

Данная заявка испрашивает приоритет заявки на патент США № 63/053340, поданной 17 июля 2020 года, описание которой включено в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте.

ЗАЯВЛЕНИЕ ОТНОСИТЕЛЬНО ПЕРЕЧНЯ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

Перечень последовательностей, связанный с данной заявкой, предоставлен в текстовом формате вместо бумажной копии и тем самым включен в описание посредством ссылки. Наименование текстового файла, содержащего перечень последовательностей - 3097_P27WO_Seq_List_Final.txt. Текстовый файл размером 18,0 КВ создан 16 июля 2021 года и подается через EFS-Web вместе с подачей описания.

ЗАЯВЛЕНИЕ О ПРАВАХ ГОСУДАРСТВЕННОЙ ЛИЦЕНЗИИ

Данное изобретение было создано при поддержке правительства в соответствии с DK103553, присужденным Национальными институтами здравоохранения. Правительство обладает определенными правами на настоящее изобретение.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

Асцит является серьезным осложнением цирроза, которое возникает у приблизительно 50% пациентов в течение 10 лет после постановки диагноза цирроза и связан с 50% смертностью в течение 2 лет. Асцит является результатом портальной гипертензии из-за блокирования кровотока в печени, в результате чего повышается уровень оксида азота, что приводит к вазодилатации внутренних артерий, что, в свою очередь, увеличивает приток крови, что затем приводит к тому, что большее количество крови задерживается в портальной области, вызывая гипертензию портальной вены. Возникающая в результате вазодилатация, вызванная оксидом азота, воспринимается почкой как гиповолемия, и почка отвечает задержкой соли и воды посредством ренин-ангиотензин-альдостероновой системы (RAAS). Текущее стандартное лечение асцита включает противодействие активности RAAS с помощью диуретиков для уменьшения накопления жидкости и парацентез для устранения асцитической жидкости. Однако данное лечение не оказывает улучшения в отношении лежащей в основе патофизиологии и является эффективным только на ранней стадии заболевания, когда объем периферической крови и общее содержание солей в организме еще поддаются такому лечению. Более того, данное лечение становится неэффективным, когда общее содержание солей и объем крови уменьшаются до настолько низких уровней, что система RAAS гиперактивируется и перекрывает артериальное кровоснабжение почки, что приводит к увеличению вероятности почечной недостаточности и гепаторенального синдрома.

Полагают, что вазоконстрикторы в целом и агонисты V1a в частности оказывают благоприятное влияние на декомпенсированный цирроз, что не сопровождается тяжелой почечной недостаточностью, и представляют собой потенциальное лечение осложнений

цирроза, включая асцит. См. Krag *et al.*, *Hepatology* 2007;46:1863-1871. Без привязки к конкретной теории полагают, что вазоконстрикторы устраняют артериальную вазодилатацию, восстанавливают артериальное давление и уменьшают внутренностное кровоснабжение за счет вазоконстрикции, и, таким образом, понижают портальное давление; вазоконстрикторы могут дополнительно увеличить почечную перфузию и фильтрационное давление и обратить вспять реакцию системы RAAS.

Вазопрессин, также называемый антидиуретическим гормоном (ADH), представляет собой гормон, который одновременно является вазоконстриктором и антидиуретиком благодаря его действию как на рецепторы V1, так и на рецепторы V2. Вазопрессин синтезируется в гипоталамусе и поступает в заднюю долю гипофиза, где высвобождается в кровеносную систему в ответ на гипертонус (гиперосмоляльность) внеклеточной жидкости. У людей вазопрессин в аминокислотной позиции 8 содержит остаток аргинина и называется аргинин-вазопрессином (AVP) или аргипрессином. У свиней вазопрессин в аминокислотной позиции 8 вместо аргинина содержит остаток лизина и называется лизин-вазопрессином (LVP). Терлипессин представлен вазопрессином свиней с тремя дополнительными остатками глицина на N-конце и называется три-глицил[8-лизин]вазопрессином. Считается, что терлипессин является неактивным пролекарством на основе LVP, которое быстро превращается в активный LVP после введения, оказывая действие, подобное AVP. Вазопрессин не связывается с белками и характеризуется объемом распределения 140 мл/кг и периодом полувыведения из плазмы крови, составляющим от 10 до 35 минут, поскольку он быстро метаболизируется вазопрессиназами печени и почек (35%) и, в конечном итоге, выводится через почки (65%). LVP также характеризуется кратковременным периодом полувыведения, составляющим 50 минут. См., Keun Suk Park и Kyung Yeon Yoo, *Korean J Anesthesiol.* 2017 Jun; 70(3): 245-257 и Jayanta K. Mitra *et al.*, *Indian J Crit Care Med.* 2011 Apr-Jun; 15(2): 71-77. Вазопрессин действует на рецепторы V1 (также называемые V1a, присутствующие в основном в кровеносных сосудах), V2, V3 (также называемые V1b, присутствующие в основном в центральной нервной системе (CNS)) и рецепторы окситоцинового типа (OTR). См. *Continuing Education in Anaesthesia Critical Care & Pain* 2008, 8(4): 134-137.

Вазопрессин обладает двумя первичными функциями. Во-первых, вазопрессин активирует рецептор V1 (также называемый V1a) в гладких мышцах, что приводит к вазоконстрикции и снижению синтеза оксида азота (NO); в результате повышается периферическое сосудистое сопротивление, что приводит к повышению артериального давления. Во-вторых, активация рецептора V2 вазопрессином в почке увеличивает реабсорбцию воды, не содержащей растворенных веществ, чтобы обратить вспять гипертонус (*m. e.* экскреция соли больше по сравнению с водой). Однако гиперактивация рецептора V2 может привести к низкой концентрации натрия в крови или гипонатриемии. См. Sima, M. *et al.*, *Prague Medical Report* 2016, 117 (1):68-72; Sola E. *et al.*, *Hepatology* 2010 52(5):1783-90; Krag *et al.*, *Hepatology* 2011,53(1):367-369; Eriksen, P.L., *et al.*, *United European Gastroenterology Journal* 2018, (8):1199-1205.

Поскольку вазопрессин может воздействовать на 3 разных рецептора (V1, V2, V3), изменение баланса активности трех рецепторов может иметь серьезные физиологические последствия. Незначительные структурные модификации вазопрессина могут привести к серьезному и непредсказуемому изменению активности. Например, замена остатка L-аргинина AVP на D-аргинин и дезаминирование N-конца обеспечивает получение десмопрессина, который характеризуется 2-часовым периодом полувыведения и более селективным V2-агонистическим или антидиуретическим эффектом по сравнению с AVP и LVP. Следовательно, десмопрессин является подходящим для применения в лечении полиурии, такой как полиурия, связанная с несахарным диабетом, и ночного энуреза. Как ни странно, несмотря на то, что модифицированные вазопрессины называются антидиуретическими гормонами, не все из них обладают диуретическим эффектом, что зависит от конкретных модификаций пептидной структуры.

Например, терлипрессин обладает ограниченной V2- или антидиуретической активностью (всего 3%, см. www.medicines.org.uk/emc/product/2115/smpc/print) и его прессорный эффект на V1a полезен при лечении кровотечения из варикозно расширенных вен пищевода и гепаторенального синдрома. См. www.medsafe.govt.nz/profs/datasheet/g/Glypressin01mgmlFerringinj.pdf. Однако, применение терлипрессина в настоящее время ограничено обеспечением интенсивной терапии из-за его кратковременного периода полувыведения. Кроме того, большая болюсная доза для компенсации кратковременного периода полувыведения терлипрессина вызывает тяжелую гипертензию и ишемию во многих органах из-за очень высокой C_{max} (максимальная концентрация в крови), что требует небольших и частых внутривенных (IV) болюсных инъекций каждые 4-6 часов во избежание высоких концентраций терлипрессина в крови, вызывающих ишемию. Наряду с этим подкожное введение терлипрессина может привести к высокой локальной концентрации под кожей, что приводит к некрозу в месте инъекции в дополнение к некрозу кожи в других частях тела при длительном применении высоких доз. Таким образом, хотя терлипрессин был доступен в Европе в течение последних двадцати лет, попытки улучшить его фармакокинетические свойства и увеличить его период полувыведения (но с C_{max} , которая не обуславливает ишемию) не увенчались успехом, часто приводя к потере рецепторной специфичности и в некоторых случаях обеспечивая вместо этого получение антагониста или ингибитора целевых рецепторов и нецелевых рецепторов. См., Rihakova, L. *et al.*, VRQ397 (CRAVKY): a novel noncompetitive V2 receptor antagonist. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2009. 297(4): p. R1009-18; Gupta, J. *et al.*, Oxytocin-induced contractions within rat and rabbit ejaculatory tissues are mediated by vasopressin V1a receptors and not oxytocin receptors. *Br J Pharmacol*, 2008. 155(1): p. 118-26; Chan, W.Y. *et al.*, Discovery and design of novel and selective vasopressin and oxytocin agonists and antagonists: the role of bioassays. *Exp Physiol*, 2000. 85 Spec No: p. 7S-18S; Yea, C.M. *et al.*, New benzylureas as a novel series of potent, nonpeptidic vasopressin V2 receptor agonists. *J Med Chem*, 2008. 51(24): p. 8124-34; Saito, M., A. Tahara, and T. Sugimoto, 1-desamino-8-D-arginine vasopressin (DDAVP) as an agonist on V1b vasopressin receptor. *Biochem Pharmacol*, 1997.

53(11): p. 1711-7; Yazawa, H. *et al.*, Oxytocin receptors expressed and coupled to Ca²⁺ signaling in a human vascular smooth muscle cell line. *Br J Pharmacol*, 1996. 117(5): p. 799-804; Tsukamoto, I., Recent patenting activities in the discovery and development of vasopressin V2 receptor agonists. *Expert Opin Ther Pat*, 2012. 22(6): p. 579-86; и Wisniewski, K., *et al.*, Discovery of Potent, Selective, and Short-Acting Peptidic V2 Receptor Agonists. *J Med Chem*, 2019. 62(10): p. 4991-5005.

Ингибитор V2 (толваптан), выполняющий функцию акваретика (*m. e.* диуретика при отсутствии натрийуреза), был одобрен для лечения гиперводемической и эводемической гипонатриемии (*m. e.* содержания сывороточного натрия 125 мэкв/л или менее выраженной гипонатриемии), включая пациентов с сердечной недостаточностью и синдромом неадекватной секреции антидиуретического гормона (SIADH). Поскольку толваптан является гепатотоксичным, он противопоказан пациентам с циррозом печени, гепаторенальной и портальной гипертензией, асцитом. *См. предупредительную метку лекарственного средства толваптана, доступную по адресу www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2018/2044411b1.pdf. Следовательно, любая инновация, которая позволит снизить дозу данного лекарственного препарата, чтобы избежать гепатотоксичности, улучшая при этом эффективность, внесет значительный вклад в долгосрочное стремление улучшить лечение пациентов с циррозом, асцитом и варикозным расширением вен, вызванными гепаторенальной и портальной гипертензией.*

Существует необходимость в агонисте рецептора V1a, который позволяет избежать или свести к минимуму недостатки или ограничения терлипессина. Агонист рецептора V1a должен воздействовать на гидродинамический дисбаланс сосудов в целом, такой как артериальное давление, объем крови и дисбаланс электролитов, наблюдаемый, например, при циррозе, портальной гипертензии, кровотечении, асците, сепсисе и гепаторенальном синдроме. Терапевтическое средство может быть 1) агонистом V1a, который можно повторно вводить подкожно, не вызывая некроза в месте инъекции, 2) агонистом V1a, который ограничивает его активность даже при высокой дозе (*m. e.* частичным агонистом V1a), так что он не будет активировать рецептор до его максимального потенциала, тем самым ограничивая побочные эффекты в виде ишемии органа (и, таким образом, характеризуясь очень высоким терапевтическим индексом), и/или 3) агонистом V1a, который не обладает значительной активностью V2 или антидиуретической активностью *in vivo*. Настоящее изобретение ориентировано на удовлетворение этих потребностей и обеспечивает дополнительные преимущества.

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Данное краткое изложение сущности изобретения предоставлено для ознакомления с рядом концепций в упрощенной форме, которые дополнительно описаны ниже в подробном описании. Данное краткое изложение сущности изобретения не предназначено для определения ключевых характеристик заявленного объекта, а также не предназначено для применения в качестве помощи в определении объема заявленного объекта.

В одном аспекте настоящее изобретение относится к композиции, содержащей

пептид, являющийся частичным агонистом V1a, формулы (A),

[Mpa-Tyr-Phe-Z-Asn-Cys-Pro-B(X)_a-Gly-NH₂] [SEQ ID NO. 1-2]

(A),

или его фармацевтически эффективную соль,

где

остатки Mpa и Cys ковалентно связаны дисульфидной связью,

Z представляет собой Hgn или Gln;

при этом, если Z представляет собой Hgn [SEQ ID NO. 1],

B представляет собой любой из L-Lys, D-Lys, L-Orn, D-Orn, L-Dab, D-Dab, L-Dap или D-Dap, и

X представляет собой аминокислотный остаток, при этом аминокислотный остаток в каждом случае независимо выбран из Gly, L-Ala, D-Ala, L-Lys, D-Lys, L-Orn, D-Orn, L-Glu, D-Glu, L-Asp и D-Asp, и a представляет собой целое число от 0 до 10 (*например*, от 0 до 1, от 1 до 2, от 1 до 3, от 1 до 10, от 1 до 6, от 4 до 10 или от 6 до 10), или

X представляет собой фрагмент, полученный из C₃₋₁₂жирной кислоты (*например*, C₃₋₆-, C₃₋₁₀-, C₄₋₁₂-, C₄₋₆-, C₄₋₁₀-, C₆₋₁₀-, C₈₋₁₀- или C₁₀₋₁₂жирной кислоты), содержащей первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, и a представляет собой целое число от 1 до 3;

при этом, если Z представляет собой Gln [SEQ ID NO. 2],

B представляет собой любой из L-Lys, D-Lys, L-Orn, D-Orn, L-Dab, D-Dab, L-Dap или D-Dap, и

X представляет собой аминокислотный остаток, при этом аминокислотный остаток в каждом случае независимо выбран из Gly, L-Ala, D-Ala, L-Lys, D-Lys, L-Orn, D-Orn, L-Glu, D-Glu, L-Asp и D-Asp, и a представляет собой целое число от 6 до 10, или

X представляет собой фрагмент, полученный из C₃₋₁₂жирной кислоты (*например*, C₃₋₆-, C₃₋₁₀-, C₄₋₁₂-, C₄₋₆-, C₄₋₁₀-, C₆₋₁₀-, C₈₋₁₀- или C₁₀₋₁₂жирной кислоты), содержащей первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, и a представляет собой целое число от 1 до 3; и

где композиция характеризуется терапевтическим индексом, составляющим по меньшей мере 20 (*например*, по меньшей мере 30, по меньшей мере 40, по меньшей мере 50, по меньшей мере 60, по меньшей мере 70, по меньшей мере 80, по меньшей мере 90 или по меньшей мере 100).

В другом аспекте настоящее изобретение относится к способу лечения субъекта, включающему введение субъекту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективной дозы фармацевтической композиции на основе формулы (A), и необязательно в комбинации с антагонистом V2, вводимой в течение 1-8 часов, предпочтительно 1-3 часов, до введения терапевтически эффективной дозы антагониста V2 или после этого, предпочтительно до введения терапевтически эффективной дозы антагониста V2.

В другом аспекте настоящее изобретение относится к способу лечения субъекта, включающему введение субъекту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективной

дозы фармацевтической композиции, содержащей пептид формулы (B), вводимой в течение 1-8 часов, предпочтительно 1-3 часов, до введения терапевтически эффективной дозы антагониста V2 или после этого, предпочтительно после введения терапевтически эффективной дозы антагониста V2, где пептид формулы (B) представляет собой

пептид, являющийся агонистом V1a, формулы (B),

$[X'-\text{Tyr-Phe-Gln-Asn-Cys-Pro-Lys}(Z)_d\text{-Gly-NH}_2]$ [SEQ ID NO. 3-4]

(B),

или его фармацевтически приемлемую соль,

где

X' представляет собой (U)_c-Cys или Mpa,

при этом, если X' представляет собой (U)_c-Cys [SEQ ID NO. 3],

2 остатка Cys ковалентно связаны дисульфидной связью;

U представляет собой аминокислотный остаток и в каждом случае независимо выбран из Gly, L-Ala, D-Ala, L-Lys, D-Lys, L-Orn, D-Orn, L-Glu, D-Glu, L-Asp и D-Asp, и c представляет собой целое число от 0 до 10;

Z отсутствует; и

d представляет собой количество Z и равняется 0, и

при этом, если X' представляет собой Mpa [SEQ ID NO. 4],

остатки Mpa и Cys ковалентно связаны дисульфидной связью,

Z представляет собой аминокислотный остаток и в каждом случае независимо выбран из Gly, D-Ala, L-Ala, D-Lys, L-Lys, D-Orn, L-Orn, D-Glu, L-Glu, D-Asp и L-Asp, и d представляет собой целое число от 0 до 5.

В некоторых вариантах осуществления у субъекта имеется состояние, выбранное из фиброза печени, цирроза, портальной гипертензии, асцита, варикозного расширения вен пищевода, варикозного расширения вен фундального отдела желудка, кровотечения, артериальной гипотензии, гепаторенального синдрома и любой их комбинации; или где у субъекта имеется фиброз печени; или где у субъекта имеется цирроз; или где у субъекта имеется портальная гипертензия; или где у субъекта имеется варикозное расширение вен пищевода; или где у субъекта имеется варикозное расширение вен фундального отдела желудка; или где у субъекта имеется варикозное расширение вен с кровотечением; или где у субъекта имеется артериальная гипотензия; или где у субъекта имеется гепаторенальный синдром.

Описание графических материалов

Вышеизложенные аспекты и многие сопутствующие преимущества настоящего изобретения будут более высоко оценены по мере того, как они станут более понятными при обращении к следующему подробному описанию в сочетании с прилагаемыми графическими материалами, где:

Вышеуказанные аспекты и многие сопутствующие преимущества данного раскрытия будут более высоко оценены по мере того, как они станут более понятными при обращении к следующему подробному описанию в сочетании с прилагаемыми

графическими материалами, где:

ФИГУРА 1 представляет собой иллюстрацию стадий фиброза печени и цирроза.

ФИГУРА 2 представляет собой график, на котором показаны результаты определения EC50 пептидов формулы (I) [Mpa-Tyr-Phe-Hgn-Asn-Cys-Pro-Lys(X)_a-Gly [SEQ ID NO. 5] с дисульфидной связью между Mpa и Cys] в отношении рецептора V1a. Пептид формулы (I), где в "(X)_a" X=Lys, и a=0, 3, 6 или 9, характеризуется EC50, составляющей 5,2, 53,5, 45,9 или 104,8 нМ в отношении рецептора V1a (n=2). Это частичный агонист V1a с наивысшим агонистическим эффектом в 42,8, 32,9, 28,2 или 28,1% по сравнению с аргинин-вазопрессином (AVP), который является 100% контролем (n=2).

ФИГУРА 3 представляет собой график EC50 пептида формулы (II) [Mpa-Tyr-Phe-Gln-Asn-Cys-Pro-Lys(X)_a-Gly [SEQ ID NO. 6] с дисульфидной связью между Mpa и Cys] для рецептора V1a. Пептид формулы (II), где в "(X)_a" X=Gly, и a=6 или 9, характеризуется EC50, составляющей 27,3 нМ или 12,6 нМ в отношении рецептора V1a (n=2). Это частичный агонист V1a с наивысшим агонистическим эффектом в 60,9% или 55,9% по сравнению с аргинин-вазопрессином (AVP), который является 100% контролем (n=2).

Подробное описание

В настоящем изобретении описываются композиции, содержащие пептид, являющийся частичным агонистом V1a, формулы (A),

[Mpa-Tyr-Phe-Z-Asn-Cys-Pro-B(X)_a-Gly-NH₂] [SEQ ID NO. 1-2]

(A),

или его фармацевтически эффективную соль,

где

остатки Mpa и Cys ковалентно связаны дисульфидной связью,

Z представляет собой Hgn или Gln;

при этом, если Z представляет собой Hgn [SEQ ID NO. 1],

B представляет собой любой из L-Lys, D-Lys, L-Orn, D-Orn, L-Dab, D-Dab, L-Dap или D-Dap, и

X представляет собой аминокислотный остаток, при этом аминокислотный остаток в каждом случае независимо выбран из Gly, L-Ala, D-Ala, L-Lys, D-Lys, L-Orn, D-Orn, L-Glu, D-Glu, L-Asp и D-Asp, и a представляет собой количество X и является целым числом от 0 до 10 (*например*, от 0 до 1, от 1 до 2, от 1 до 3, от 1 до 10, от 1 до 6, от 4 до 10 или от 6 до 10), или

X в каждом случае представляет собой фрагмент, полученный из C₃₋₁₂жирной кислоты (*например*, C₃₋₆⁻, C₃₋₁₀⁻, C₄₋₁₂⁻, C₄₋₆⁻, C₄₋₁₀⁻, C₆₋₁₀⁻, C₈₋₁₀⁻ или C₁₀₋₁₂жирной кислоты), содержащей первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, и a представляет собой количество X и является целым числом от 1 до 3;

при этом, если Z представляет собой Gln [SEQ ID NO. 2],

B представляет собой любой из L-Lys, D-Lys, L-Orn, D-Orn, L-Dab, D-Dab, L-Dap или D-Dap, и

X представляет собой аминокислотный остаток, где аминокислотный остаток в

каждом случае независимо выбран из Gly, L-Ala, D-Ala, L-Lys, D-Lys, L-Orn, D-Orn, L-Glu, D-Glu, L-Asp и D-Asp, и а представляет собой количество X и является целым числом от 6 до 10, или

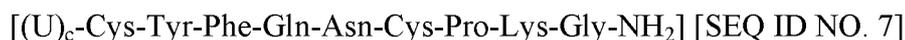
X в каждом случае представляет собой фрагмент, полученный из C₃₋₁₂жирной кислоты (*например*, C₃₋₆-, C₃₋₁₀-, C₄₋₁₂-, C₄₋₆-, C₄₋₁₀-, C₆₋₁₀-, C₈₋₁₀- или C₁₀₋₁₂жирной кислоты), содержащей первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, и а представляет собой количество X и является целым числом от 1 до 3; и

где композиция характеризуется терапевтическим индексом, составляющим по меньшей мере 20 (*например*, по меньшей мере 30, по меньшей мере 40, по меньшей мере 50, по меньшей мере 60, по меньшей мере 70, по меньшей мере 80, по меньшей мере 90 или по меньшей мере 100).

Антагонист V2 можно вводить в течение 1-8 часов, предпочтительно 1-3 часов, до введения пептида(-ов), являющегося(-ихся) частичным(-ыми) агонистом(-ами) V1a, по настоящему изобретению или после этого, предпочтительно до введения пептида(-ов), являющегося(-ихся) частичным(-ыми) агонистом(-ами) V1a.

В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к способу лечения субъекта, включающему введение субъекту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективной дозы фармацевтической композиции (i) или (ii), вводимой в течение 1-8 часов, предпочтительно 1-3 часов, до введения терапевтически эффективной дозы антагониста V2 или после этого, предпочтительно после введения терапевтически эффективной дозы антагониста V2, где (i) и (ii) являются такими, как определено ниже:

(i) терапевтически эффективная доза фармацевтической композиции, содержащей пептид, являющийся агонистом V1a, формулы (III),



(III),

или его фармацевтически эффективную соль,

где

2 остатка Cys ковалентно связаны дисульфидной связью,

U представляет собой аминокислотный остаток и в каждом случае независимо выбран из Gly, L-Ala, D-Ala, L-Lys, D-Lys, L-Orn, D-Orn, L-Glu, D-Glu, L-Asp и D-Asp, и с представляет собой количество U и является целым числом от 0 до 10;

(ii) терапевтически эффективная доза фармацевтической композиции, содержащей пептид, являющийся агонистом V1a, формулы (IV),



(IV),

или его фармацевтически эффективную соль,

где

остатки Mpa и Cys ковалентно связаны дисульфидной связью,

Z представляет собой аминокислотный остаток и в каждом случае независимо выбран из Gly, D-Ala, L-Ala, D-Lys, L-Lys, D-Orn, L-Orn, D-Glu, L-Glu, D-Asp и L-Asp, и

d представляет собой количество Z и является целым числом от 0 до 5,

где у субъекта имеется состояние, выбранное из фиброза печени, цирроза, портальной гипертензии, асцита, варикозного расширения вен пищевода, варикозного расширения вен фундального отдела желудка, кровотечения, артериальной гипотензии, гепаторенального синдрома и любой их комбинации; или

где у субъекта имеется фиброз печени; или

где у субъекта имеется цирроз; или

где у субъекта имеется портальная гипертензия; или

где у субъекта имеется варикозное расширение вен пищевода; или

где у субъекта имеется варикозное расширение вен фундального отдела желудка;

или

где у субъекта имеется варикозное расширение вен с кровотечением; или

где у субъекта имеется артериальная гипотензия; или

где у субъекта имеется гепаторенальный синдром.

Определения

В различных местах в данном описании заместители соединений настоящего изобретения раскрыты в группах или в диапазонах. В частности, предполагается, что описание включает каждую отдельную подкомбинацию членов таких групп и диапазонов. Например, термин "C₁₋₆алкил" специально предназначен для обозначения отдельно метила, этила, C₃алкила, C₄алкила, C₅алкила и C₆алкила.

Применяемый в данном документе термин "полимер" относится к макромолекуле, образованной главным образом или полностью из множества подобных повторяющихся звеньев, ковалентно связанных вместе. Термин "полимер" включает производные целлюлозы, поли(этиленгликоль) (PEG), метоксиполи(этиленгликоль) (MPEG), сополимер молочной и гликолевой кислот и поли(N-винилпирролидон) и их производные. Такие полимеры могут быть разветвленными или линейными. Применяемый в данном документе полимер может быть присоединен к пептидам, белку или линкерной группе посредством амидной, сложноэфирной, простой эфирной, простой тиоэфирной, сложной тиоэфирной или карбаматной связи или посредством линкеров, содержащих одну из этих связей. Полимеры также могут быть привиты друг к другу для получения вспомогательного вещества, представляющего собой защищенный привитый сополимер, которое при смешивании с активным фармацевтическим ингредиентом может улучшать фармакокинетические и фармакодинамические свойства активного фармацевтического ингредиента за счет продления его присутствия в крови или плазме крови после введения *in vivo*.

Термин "аминокислоты", применяемый в данном документе, означает органические соединения с молекулярной массой менее 500 Да, которые содержат функциональные амино- (-NH₂) и карбоксильную (-COOH) группы, а также боковую цепь (R-группу), специфичную для каждой аминокислоты. Ключевыми элементами аминокислоты являются углерод (C), водород (H), кислород (O) и азот (N), хотя в боковых цепях некоторых

аминокислот присутствуют и другие элементы. По состоянию на 1983 г. было известно около 500 встречающихся в природе аминокислот (хотя только 20 встречаются в генетическом коде млекопитающих, причем эти 20 аминокислот также упоминаются в данном документе как "природные аминокислоты"). Аминокислоты могут представлять собой альфа-аминокислоты, где аминогруппа связана непосредственно с альфа-атомом углерода. Аминокислоты могут быть отличными от альфа-аминокислоты, где первичная аминогруппа связана с атомом углерода в положении, отличном от альфа-положения. Альфа-атом углерода представляет собой атом углерода, расположенный непосредственно возле карбоксильной группы. Аминокислоты могут образовывать "строительные блоки" белков и могут обладать хиральными атомами углерода, так что аминокислота может быть представлена оптическим D- или L-изомером.

В данном документе применяются трехбуквенные коды для аминокислот и/или пептидных остатков, за исключением фрагментов жирных кислот, содержащих первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, которые описаны ниже. Например, аланин - Ala, аргинин - Arg, аспарагин - Asn, аспарагиновая кислота - Asp, цистеин - Cys, диаминамасляная кислота - Dab, диаминопимелиновая кислота - Dap, глутаминовая кислота - Glu, глутамин - Gln, глицин - Gly, гистидин - His, гомоглутамин - Hgn, изолейцин - Ile, лейцин - Leu, лизин - Lys, меркаптопропионовая кислота - Mpa, метионин - Met, орнитин - Orn, фенилаланин - Phe, пролин - Pro, серин - Ser, треонин - Thr, триптофан - Trp, тирозин - Tyr, валин - Val. Применяемые в данном документе коды для аминокислот обозначают L-аминокислоты, если посредством "D-" перед кодом не указано иное (*например*, D-Arg и т. д.).

Если в данном документе для аминокислот применяются однобуквенные коды, то аланин - A, аргинин - R, аспарагин - N, аспарагиновая кислота - D, цистеин - C, глутаминовая кислота - E, глутамин - Q, гомоглутамин - homoQ, глицин - G, гистидин - H, изолейцин - I, лейцин - L, лизин - K, метионин - M, фенилаланин - F, пролин - P, серин - S, треонин - T, триптофан - W, тирозин - Y, валин - V. В целях данной заявки однобуквенные коды для аминокислот включают стереоизомеры L- и/или D-аминокислот.

Следует учитывать, что если аминокислоты объединяются с образованием пептида, аминокислоты называют аминокислотными остатками, где удалены элементы воды. Кроме того, когда настоящее изобретение относится к аминокислоте в пептидной последовательности, подразумевается, что это аминокислотный остаток.

Применяемый в данном документе термин "остаток" относится к двухвалентному фрагменту, полученному при удалении водорода из альфа-аминогруппы и гидроксильной группы из карбоксильной группы альфа-аминокислоты.

Термин "производное" или "аналог", применяемый в данном документе, предусматривает соединения, чьи структуры каркаса являются такими же, как структура каркаса исходного соединения, или же очень похожими на нее, но которые характеризуются химической или физической модификацией, такой как другие или дополнительные группы; термин включает сополимеры исходных соединений, которые

могут быть связаны с другими атомами или молекулами. Термин также предусматривает пептид или белок, характеризующийся по меньшей мере 80% (*например*, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% или по меньшей мере 98%) идентичностью последовательности с исходным пептидом или белком. Термин также предусматривает пептид с присоединенными к нему дополнительными группами, такими как дополнительная метка или тег, по сравнению с исходным пептидом. Термин также предусматривает полимер с присоединенной к нему дополнительной группой, такой как алкокси- или метоксигруппа, по сравнению с исходным полимером.

Применяемый в данном документе термин "производное добавления" или "производное расширения" относится к производному пептида, где главная аминокислотная последовательность пептида остается такой же, а добавление дополнительных функциональных групп и/или аминокислотных остатков к главной аминокислотной последовательности с применением одного или нескольких реакционноспособных фрагментов в главной аминокислотной последовательности обеспечивает получение производного добавления или производного расширения. Производное добавления или производное расширения отличается от производного, полученного за счет укорочения и/или замещения пептида, где один или несколько аминокислотных остатков главной аминокислотной последовательности пептида были удалены и/или заменены другими функциональными группами и/или аминокислотами соответственно.

Применяемый в данном документе термин "жирная кислота" означает молекулу с карбоксильной группой, ковалентно связанной с алкильной цепью, при этом жирная кислота содержит 3-16 углеродных звеньев или больше. В некоторых вариантах осуществления жирная кислота включает C_{3-12} -углеродные звенья (*например*, C_{3-6} -, C_{3-10} -, C_{4-12} -, C_{4-6} -, C_{4-10} -, C_{6-10} -, C_{8-10} - или C_{10-12} -углеродные звенья), в том числе атом углерода карбоксильной группы. Жирная кислота может быть функционализирована с помощью первичной аминогруппы при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, при этом функционализированная жирная кислота может быть получена из жирных кислот или карбоксиламинов. Жирная кислота может быть насыщенной или ненасыщенной. Примеры жирных кислот включают каприловую кислоту, каприновую кислоту, лауриновую кислоту, миристиновую кислоту, пальмитиновую кислоту, стеариновую кислоту, арахидиновую кислоту, бегеновую кислоту и/или лигноцериную кислоту.

Применяемый в данном документе термин "жирная кислота, содержащая первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода" означает жирную кислоту, содержащую первичную аминогруппу, присоединенную к атому углерода, находящемуся в положении, отличном от альфа-положения относительно карбоксильной группы, при этом аминогруппа является не ацилированной. Например, бета-аминопропановая (пропионовая) кислота является жирной кислотой, содержащей первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, с 3 углеродными звеньями, 4-аминобутановая (масляная) кислота является жирной кислотой,

содержащей первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, с 4 углеродными звеньями, 5-аминопентановая (валериановая) кислота является жирной кислотой, содержащей первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, с 5 углеродными звеньями, 6-аминогексановая (капроновая) кислота является жирной кислотой, содержащей первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, с 6 углеродными звеньями, 7-аминогептановая (энантовая) кислота является жирной кислотой, содержащей первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, с 7 углеродными звеньями, 8-аминооктановая (каприловая) кислота является жирной кислотой, содержащей первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, с 8 углеродными звеньями, 9-аминононановая (пеларгоновая) кислота является жирной кислотой, содержащей первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, с 9 углеродными звеньями, 10-аминодекановая (каприновая) кислота является жирной кислотой, содержащей первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, с 10 углеродными звеньями, 11-аминоундекановая (ундециловая) кислота является жирной кислотой, содержащей первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, с 11 углеродными звеньями, 12-аминододекановая (лауриновая) кислота является жирной кислотой, содержащей первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, с 12 углеродными звеньями, 13-аминотридекановая (тридециловая) кислота является жирной кислотой, содержащей первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, с 13 углеродными звеньями, 14-аминотетрадекановая (миристиновая) кислота является жирной кислотой, содержащей первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, с 14 углеродными звеньями, 15-аминопентадекановая (пентадециловая) кислота является жирной кислотой, содержащей первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, с 15 углеродными звеньями, 16-аминопальмитиновая кислота является жирной кислотой, содержащей первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, с 16 углеродными звеньями и т. д. Жирная кислота, содержащая первичную аминогруппу, присоединенную к атому углерода, отличному от альфа-атома углерода, может быть ковалентно связана с пептидной последовательностью на ее N-конце посредством карбоксильной группы или на ее C-конце посредством аминогруппы. Ковалентно связанный с пептидной последовательностью или с другой молекулой остаток жирной кислоты, содержащей первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, называется "фрагментом, полученным из жирной кислоты, содержащей первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода".

Применяемый в данном документе термин "сложный эфир жирной кислоты" относится к длинной алифатической цепи (насыщенной или ненасыщенной), содержащей фрагмент $-C(=O)O-$ на конце цепи.

Применяемый в данном документе термин "амид жирной кислоты" относится к длинной алифатической цепи (насыщенной или ненасыщенной), содержащей фрагмент -C(=O)NR- на конце цепи.

Применяемый в данном документе термин "алкил" относится к насыщенной углеводородной группе с прямой (*например*, линейной) или разветвленной цепью. Примеры алкильных групп включают метил (Me), этил (Et), пропил (*например*, н-пропил и изопропил), бутил (*например*, н-бутил, изобутил, трет-бутил), пентил (*например*, н-пентил, изопентил, неопентил) и т. п. Алкильная группа может содержать от 1 до приблизительно 30, от 1 до приблизительно 24, от 2 до приблизительно 24, от 1 до приблизительно 20, от 2 до приблизительно 20, от 1 до приблизительно 10, от 1 до приблизительно 8, от 1 до приблизительно 6, от 1 до приблизительно 4 или от 1 до приблизительно 3 атомов углерода.

Применяемый в данном документе термин "фиброз" или "фиброз печени" относится к рубцеванию печени, а термин "цирроз" относится к обширному рубцеванию или фиброзу печени, при котором значительное количество долек окружено фиброзной коллагенсодержащей рубцовой тканью вследствие сшивания вместе нескольких портальных и центральных зон. Ссылаясь на фигуру 1, фиброз печени при хроническом гепатите классифицируется в соответствии с пятью стадиями (0-4) по системе оценки METAVIR (1994). Согласно данной оценке F0 означает отсутствие фиброза; F1 (легкая степень фиброза) характеризуется фиброзным расширением портальных зон в отсутствие перемычек; F2 (умеренная степень фиброза) - фиброзные перемычки увеличиваются с образованием случайных мостиков между смежными сосудистыми структурами, включающих портально-портальные и/или портально-центральные мостики; F3 (тяжелая степень фиброза) характеризуется многочисленными мостиками или перемычками и отсутствием цирроза (толстый коллагеновый рубец, соединяющий портальную зону и центральную зону); и F4 (цирроз) - в ткани имеются узелки, полностью окруженные фиброзом (*например*, значительное количество долек превратилось в узелки, окруженные фиброзным коллагеновым рубцом). См. Lipid peroxidation in hepatic fibrosis by Ichiro Shimizu *et al.*, Lipid Peroxidation in Hepatic Fibrosis, опубликованный 29 августа 2012 г.; DOI: 10.5772/46180, www.intechopen.com/books/lipid-peroxidation/lipid-peroxidation-in-hepatic-fibrosis, включенный в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте. Без привязки к конкретной теории полагают, что цирроз печени обусловлен многими факторами, включая хроническое употребление алкоголя в больших количествах, хронический гепатит В или гепатит С, отложение жира в печени, отложение железа, муковисцидоз, отложение меди, плохо сформированные желчные протоки, аутоиммунные заболевания печени, травмы желчных протоков, инфекции печени и/или прием конкретных лекарственных препаратов, таких как метотрексат.

Применяемый в данном документе термин "компенсированный цирроз" относится к циррозу, при котором отсутствуют клинические такие симптомы, как варикозное расширение вен и/или асцит, а печень все еще нормально функционирует.

Применяемый в данном документе термин "декомпенсированный цирроз" относится

к циррозу, который находится на поздней стадии, когда рубцевание печени становится настолько серьезным, что печень не может нормально функционировать. С клинической точки зрения он характеризуется одним или несколькими из асцита, варикозного расширения вен с кровотечением и без него, желтухи, повышенной утомляемости, потери веса, легких кровотечения и синяков, асцита, опухших ног, спутанности сознания, неразборчивой речи, сонливости, печеночной энцефалопатии, тошноты и потери аппетита, сосудистой сеточки, покраснения ладоней, сокращения яичек и увеличения груди у мужчин и/или необъяснимого зуда. Сывороточный билирубин, креатинин и международное нормализованное соотношение для протромбинового индекса (INR) применяют для моделирования оценки терминальной стадии заболевания печени (MELD), которая находится в диапазоне от 6 до 40 и является наиболее часто применяемым средством диагностики при заболевании печени на поздней стадии. Оценка $MELD = 3,78 \times \ln[\text{сывороточный билирубин (мг/дл)}] + 11,2 \times \ln[INR] + 9,57 \times \ln[\text{сывороточный креатинин (мг/дл)}] + 6,43$.

Применяемый в данном документе термин "среднее значение артериального давления" или "МАР" относится к 1/3 разности систолического (SBP) и диастолического (DBP) давления плюс DBP (т. е. $МАР = 1/3 (SBP - DBP) + DBP$).

Применяемый в данном документе термин "гипотензия" относится к низкому кровяному давлению, например, когда давление, которое оказывает кровь на стенки артерии является низким, или когда систолическое давление составляет менее 90 мм рт. ст., и/или диастолическое давление составляет менее 60 мм рт. ст. Гипотензия может быть обусловлена расслаблением гладких мышц, окружающих кровеносные сосуды, что приводит к увеличению диаметра сосудов.

Применяемый в данном документе термин "портальная вена" относится к кровеносным сосудам, которые транспортируют кровь, поступающую из пищевода, желудка, селезенки, поджелудочной железы, тонкой кишки и/или толстой кишки, в печень.

Применяемый в данном документе термин "портальная гипертензия" или "гипертензия портальной вены" относится к высокому давлению в портальной вене, например, когда давление, которое оказывает кровь на стенку портальной вены повышается из-за сопротивления кровотоку, проходящему через печень, или его блокады (например, блокада может быть вызвана циррозом печени). Гипертензия портальной вены или портальная гипертензия может проявляться одновременно с пониженным средним значением артериального давления или МАР. Гипертензия портальной вены может быть охарактеризована посредством градиента печеночного венозного давления (HVPG), который превышает 5 мм рт. ст. (*например*, превышает 7 мм рт. ст., превышает 10 мм рт. ст. или превышает 15 мм рт. ст.). Клинически значимая портальная гипертензия (CSPH) определяется значением HVPG 10 мм рт. ст. и выше.

Применяемый в данном документе термин "градиент печеночного венозного давления" или HVPG обозначает клиническое измерение градиента давления между давлением заклинивания в венозной системе печени (WHVP) и свободным давлением в

венозной системе печени (FHVP) и является оценкой градиента давления между портальной веной и нижней полой веной. HVPG определяется путем введения надувного катетера (вводимого через латеральную подкожную вену руки, бедренную или правую яремную вены) в печеночную вену и измерения давления до надувания, которое является FHVP. WHVP измеряется путем раздувания баллонного катетера в правой печеночной вене до перекрытия потока с последующим измерением давления проксимальной статической крови (которое отображает давление в синусоидах). Следовательно, HVPG определяется путем вычитания FHVP из WHVP (*т. е.* $HVPG = WHVP - FHVP$). На самом деле WHVP немного занижает портальное давление из-за синусоидального уравнивания у пациентов без цирроза, но разница между ними двумя является клинически незначительной. У пациентов с цирротической печенью межсинусоидальное сообщение нарушено, так что равновесие синусоидального давления не может поддерживаться, и, таким образом, WHVP является гораздо более точным показателем катетера для измерения давления в портальной вене и является стандартным подходом для оценки портального венозного давления. Значение $HVPG \geq 5$ мм рт. ст. определяет портальную гипертензию, а если измеренное значение превышает 10 мм рт. ст., это называется клинически значимой портальной гипертензией. При давлении выше 12 мм рт. ст. в любой момент может возникнуть кровотечение из варикозно расширенных вен, что может привести к неотложному состоянию, угрожающему жизни.

Применяемый в данном документе термин "асцит" относится к аномальному накоплению жидкости в брюшной полости (*например*, 25 мл или больше), обычно обусловленному циррозом. Жидкость является идеальной средой для размножения бактерий, что приводит к спонтанному бактериальному перитониту.

Применяемый в данном документе термин "рефрактерный асцит" относится к асциту, который не может быть устранен или который рецидивирует вскоре после терапевтического парацентеза, несмотря на ограничение натрия и лечение диуретиками. В настоящее время не существует одобренной медицинской терапии, специально предназначенной для рефрактерного асцита. Применяемый в данном документе термин "парацентез" относится к перфорации (брюшинной) полости тела полой иглой для удаления жидкости (или газа).

Применяемый в данном документе термин "варикозное расширение вен" относится к увеличенным, или опухшим, или расширенным кровеносным сосудам, обусловленным портальной гипертензией, что может представлять угрозу для жизни в случае присутствия в пищеводе или в области дна желудка. Варикозное расширение вен не обуславливает никаких симптомов, за исключением случаев, когда вены разрываются и кровоточат, в этом случае они представляют собой угрожающее жизни явление, которое требует немедленной медицинской помощи. Применяемый в данном документе термин "варикозное расширение вен пищевода" относится к аномально увеличенным венам в пищеводе, что возникает, когда нормальный поток венозной крови к печени блокируется сгустком или циррозом. Такое варикозное расширение вен может быть опасным для жизни, если они вскрываются и

кровоотчат. Пищевод представляет собой трубку, которая соединяет горло с желудком. При появлении увеличенных вен на слизистой оболочке пищевода, они носят название варикозного расширения вен пищевода.

Применяемый в данном документе термин "варикозное расширение вен желудка" относится к расширенным венам подслизистого слоя в желудке, что может быть опасной для жизни причиной кровотечения в верхних отделах желудочно-кишечного тракта. Чаще всего они обнаруживаются у пациентов с портальной гипертензией или повышенным давлением в системе портальной вены, что может быть осложнением цирроза. Применяемый в данном документе термин "варикозное расширение вен фундального отдела желудка" относится к варикозному расширению вен желудка в фундальном отделе желудка.

Применяемый в данном документе термин "гепаторенальный синдром" или "HRS" относится к типу прогрессирующей почечной недостаточности, наблюдаемой у людей с тяжелым поражением печени, чаще всего обусловленной циррозом, и является чрезвычайно серьезным состоянием и практически всегда приводит к летальному исходу. Когда почки прекращают функционировать, в организме начинают накапливаться токсины. В конечном итоге это приводит к печеночной недостаточности. Существует две формы HRS: HRS 1 типа (медиана выживаемости составляет 2 недели со 100% летальностью на 8-10 неделе в отсутствие пересадки печени) связан с быстро прогрессирующей почечной недостаточностью и накоплением креатинина; HRS 2 типа (медиана выживаемости составляет 6 месяцев) связан с более постепенным поражением почек. HRS 2 типа в целом прогрессирует более медленно. Симптомы обычно менее выражены и связаны с портальной гипертензией и развитием асцита или началом развития асцита. HRS 2 типа лечат диуретиками и ограничением соли, но в конечном итоге у таких пациентов развивается резистентный к диуретикам асцит, при котором почки не способны выводить достаточное количество натрия для очищения жидкости, причем даже с применением диуретических лекарственных препаратов. Большинство индивидуумов с HRS 2 типа имеют резистентный к диуретикам асцит до того, как развивается ухудшение функции почек.

Применяемый в данном документе термин "частичный агонист V1a" относится к терапевтическому средству (*например*, пептиду), которое связывается с рецептором V1a, но обладает только частичной эффективностью в отношении рецептора по сравнению с полным агонистом. В целях настоящего изобретения аргинин-вазопрессин является полным агонистом, а также известен в уровне техники как таковой. Частичный агонист проявляет как агонистический, так и антагонистический эффекты и в присутствии полного агониста частичный агонист выполняет функцию антагониста и конкурирует с полным агонистом за тот же рецептор, снижая тем самым способность полного агониста проявлять его максимальный эффект. Частичный агонист V1a вызывает частичную вазоконстрикцию, воздействуя на гладкие мышцы, окружающие периферические артериальные сосуды, что приводит к повышению кровяного давления. Частичная вазоконстрикция минимизирует

риск ишемии, в то же время позволяя повысить кровяное давление; частичная вазоконстрикция также может обеспечить уменьшение поступления крови к внутренностной области, что в дополнение к циррозу содействует портальной гипертензии. *In vivo* полный агонист в высокой дозе обладает более высоким риском полного закрытия сосудов, что приводит к нарушению оксигенации ткани или ишемии ткани. Частичный агонист может быть продемонстрирован путем измерения максимальной активности (такой как приток кальция) исследуемого агониста при концентрации насыщения в культуре клеток и сравнения максимальной активности с активностью аргинин-вазопрессина при тех же условиях. Чтобы удостовериться в том, что во время измерения достигнута концентрация насыщения, применяют несколько концентраций тестируемого агониста до тех пор, пока не будет продемонстрировано насыщение (очевидное из приблизительно S-образной кривой насыщения). Концентрации насыщения полного агониста можно добиться в параллельном исполнении и/или подобным образом. Полный агонист может быть эталонным 100% сигналом при насыщении, а частичный агонист при насыщении имеет сигнал менее 100% (*например*, 80%, 60%, 50%, 40%, 20% или 10%). Данное определение также предусматривает эффективную концентрацию при 50% насыщении или EC50, что является концентрацией, необходимой для полумаксимального связывания с рецептором. Данная процедура хорошо известна в уровне техники и описана в нескольких примерах в настоящей заявке.

Применяемый в данном документе термин "терапевтический индекс" (ТИ; также называемый терапевтическим соотношением) представляет собой количественный показатель относительной безопасности лекарственного средства. В целях настоящего изобретения ТИ представляет собой соотношение, где числитель является самой высокой дозой, которая не вызывает вялости или неблагоприятного эффекта (уровень отсутствия наблюдаемых неблагоприятных эффектов или NOAEL), относительно контроля; а знаменатель является самой высокой дозой, которая не вызывает выраженной периферической вазоконстрикции (уровень отсутствия наблюдаемых эффектов или NOEL), по сравнению с необработанным контролем (*т. е.* ТИ представляет собой соотношение NOAEL/NOEL). В целях настоящей заявки вялость представляет собой отсутствие энергии и/или сонливость, что визуально наблюдается у крыс в виде отсутствия подвижности, например отсутствия подвижности даже при наличии деятельности человека. В целях настоящего описания периферическая вазоконстрикция визуально наблюдается по бледности конечностей (*например*, кожи рук, ступней, ушей и губ). У крыс периферическая вазоконстрикция определяется путем непосредственного сравнения бледности ушей у обработанных субъектов (*например*, у крыс линии Sprague Dawley, белых крыс с легко визуализируемыми изменениями в покраснении/бледности) и необработанных контрольных субъектов. Агонист V1a (или частичный агонист) с высоким терапевтическим индексом будет характеризоваться лучшим профилем безопасности, чем агонист (или частичный агонист) с низким терапевтическим индексом, за счет обеспечения более широкого предела безопасности для дозирования в ходе лечения заболевания. Данное

соотношение NOAEL/NOEL, являясь количественным показателем относительной безопасности, представляет собой сравнительную характеристику количества терапевтического средства, которое вызывает терапевтический эффект (полезный эффект, вазоконстрикция в целях настоящего описания), и количества, которое вызывает токсичность. Агонист V1a, вызывающий сильную вазоконстрикцию, будет влиять не только на периферические сосуды с несколькими слоями гладких мышц, но также и на другие сосуды, присутствующие в других органах (*например*, в сердце, легких, почке, головном мозге), и это приведет к наблюдаемой вялости и, в конечном итоге, атаксии. Частичный агонист с меньшей долей вероятности достигает такого крайне высокого уровня вазоконстрикции и, как полагают, характеризуется более высоким терапевтическим индексом.

Применяемый в данном документе термин "антагонист V2" относится к терапевтическому средству, которое связывается с рецептором V2 и ингибирует его функцию. Поскольку ингибирование рецептора V2 приводит к увеличенной выработке мочи с пониженным содержанием соли, антагонист V2 также называют акваретиком. Одним из примеров антагониста V2 является толваптан, который конкурентно и селективно связывается с рецептором V₂, не активируя рецептор V2, и который снижает вероятность того, что нативный агонист рецептора V2 свяжется с рецептором и активирует его, вызывая реабсорбцию воды из клубочкового фильтрата в кровь. Таким образом, антагонист V2 вызывает снижение содержания воды в крови и, в свою очередь, объема крови.

Применяемые в данном документе термины "индивид", "субъект" или "пациент", используемые взаимозаменяемо, относятся к любому животному, в том числе млекопитающим, предпочтительно мышам, крысам, другим грызунам, кроликам, собакам, кошкам, свиньям, крупному рогатому скоту, овцам, лошадям или приматам и наиболее предпочтительно к людям.

Применяемые в данном документе фразы "терапевтически эффективное количество" или "терапевтически эффективная доза", используемые взаимозаменяемо, относятся к количеству терапевтического средства (т. е. лекарственного средства или композиции на основе терапевтического средства), которое вызывает ожидаемый исследователем, ветеринаром, врачом или другим лечащим персоналом биологический или медицинский ответ в ткани, системе, организме животного, индивида или человека, что предусматривает одно или несколько из следующего:

(1) предупреждение заболевания; например, предупреждение заболевания, состояния или нарушения у индивида, который может быть предрасположен к заболеванию, состоянию или нарушению, но еще не испытывает патологию или симптоматику заболевания или они у него не проявляются;

(2) ингибирование заболевания; например, ингибирование заболевания, состояния или нарушения у индивида, который испытывает патологию или симптоматику заболевания, состояния или нарушения или они у него проявляются; и

(3) облегчение заболевания; например, облегчение заболевания, состояния или

нарушения у индивида, который испытывает патологию или симптоматику заболевания, состояния или нарушения (т. е. реверсию патологии и/или симптоматики), или они у него проявляются, такое как снижение тяжести заболевания, продление время жизни или предотвращение смерти.

Применяемый в данном документе термин "лечение" относится к процедуре, проводимой после диагностики состояния.

Применяемый в данном документе термин "смягчение отрицательных последствий" относится к процедуре, проводимой для предупреждения или снижения вероятности прогнозируемого нарушения функции или заболевания.

Применяемый в данном документе термин "здоровый субъект" относится к индивиду (человеку и/или млекопитающим животным), который является участником в научном исследовании и не имеет значительных проблем со здоровьем.

Применяемые в данном документе термины "болюс", "болюсная доза" или "болюсное введение" относятся к разовой дозе лекарственного средства или другого вещества, применяемой или вводимой за короткий период времени, например, менее 10 минут (*например*, менее 8 минут, менее 5 минут, менее 3 минут или менее 1 минуты). Введение предусматривает одно из следующего: инъекцию в любую часть тела (в том числе без ограничения в кровеносные сосуды, подкожно, интратекально или интрадермально), энтеральное введение (*например*, перорально, в виде дозированной лекарственной формы), ингаляцию (*например*, путем интратрахеального ингаляционного введения, при котором субъект подвергается воздействию высоких концентраций аэрозоля, так что активный фармацевтический ингредиент осаждается непосредственно в нижних дыхательных путях) или назальное введение (*например*, в виде аэрозоля, жидкости или порошка). В целях настоящего изобретения болюсное введение отличается от инфузионного введения, которое обычно занимает 30 минут или больше.

Применяемый в данном документе термин "введение", также называемое "путь введения", относится к месту в организме, в котором субъекту вводят или наносят фармакологическое средство. Примеры: энтеральный/желудочно-кишечный, благодаря которому осуществляется доставка посредством желудочно-кишечного тракта, что включает всю пищеварительную систему от рта до прямой кишки, в том числе пероральный, ректальный, сублингвальный и буккальный. Парентеральный, благодаря которому осуществляется доставка путями, отличными от желудочно-кишечного тракта, как *например*, внутривенный, подкожный, субдермальный, внутримышечный, внутрибрюшинный, интраплевральный, интраназальный и т. п.

Применяемый в данном документе термин "подкожное введение", "s.c.", "s.c. введение", "SC" или "SC введение" относится к доставке лекарственного средства, обычно в жидкой форме, непосредственно в жировые ткани прямо под кожей. Доставку обычно осуществляют путем непосредственной инъекции. Такие инъекции являются менее глубокими, чем инъекции, осуществляемые в мышечные ткани. Медицинские работники часто применяют подкожные инъекции для лекарственных препаратов, которые пригодны

для всасывания в кровоток медленно и непрерывно.

Применяемый в данном документе термин "внутривенное введение", "IV введение" или "IV инъекция" относится к доставке лекарственного средства, как правило в жидкой форме, непосредственно в вену животного или человека. Способы доставки обычно реализуются путем прямой инъекции. Внутривенный путь введения может использоваться как для инъекций, с применением шприца при более высоком давлении, так и для инфузий, например, с применением давления, создаваемого силой тяжести.

Применяемый в данном документе термин "внутримышечное введение", "IM введение" или "IM инъекция" относится к внутримышечной доставке лекарственного средства, обычно в жидкой форме, непосредственно в мышцы животного или человека. Доставка обычно осуществляется путем прямой инъекции. Это позволяет лекарственному препарату быстро всасываться в кровоток. В некоторых случаях человек также может самостоятельно производить IM инъекцию. В некоторых вариантах осуществления IM инъекции могут применяться вместо внутривенных инъекций, например, когда конкретные терапевтические средства раздражают вены или когда подходящую вену невозможно найти.

Применяемый в данном документе термин "назальное введение" относится к доставке терапевтического средства (*например*, в форме геля, жидкости, аэрозоля, газа или порошка) путем местного применения, закапывания в виде жидкости, инсуффляции (либо вдуванием, либо распылением) в нос животного или человека. Данная форма введения может применяться, в зависимости от состава, например, для доставки терапевтического средства в носовую полость или легкие (в зависимости от применяемого устройства), и/или может не всасываться системно (исключительно местное введение), и/или может полностью всасываться системно (исключительно системно) и/или более часто частично всасываться (как локально, так и системно). Назальные спреи могут включать локально действующие лекарственные средства, такие как противоотечные средства, для лечения простуды и аллергии, системные эффекты которых обычно являются минимальными. Примеры лекарственных средств системного действия, доступных в виде назальных спреев, включают, например, лекарственные средства от мигрени, средства никотинозамещающего и гормонального лечения.

Применяемый в данном документе термин "парентеральное введение" или "введение, отличное от желудочно-кишечного" относится к пути введения, который не является энтеральным или желудочно-кишечным путем. Примеры парентерального введения включают подкожное (под кожу), внутривенное (в вену), внутриартериальное (в артерию), внутримышечное (в мышцу), внутрибрюшинное (инфузия или инъекция в брюшную полость), ингаляционное (*например*, путем интратрахеального ингаляционного введения, где субъект подвергается воздействию высоких концентраций активного фармацевтического ингредиента в виде аэрозоля, так что активный фармацевтический ингредиент осаждается непосредственно в нижних дыхательных путях), назальное введение (через нос), сублингвальное и буккальное введение лекарственного препарата,

интратекальное (в спинномозговой канал), интрацеребральное (в большой мозг), интрацеребровентрикулярное (в желудочек мозга), внутридермальное (собственно в кожу) введение или любые другие пути введения, не связанные с желудочно-кишечным трактом. Применяемый в данном документе термин "энтеральное" означает введение в любой отдел пищеварительного тракта, включая рот (перорально), глотку (горло), пищевод, желудок, тонкую кишку, толстую кишку, прямую кишку и анальное отверстие, или через искусственное отверстие в любом из этих отделов.

Применяемый в данном документе термин "энтеральное" относится к введению в любой отдел пищеварительного тракта, включая рот (перорально), глотку (горло), пищевод, желудок, тонкую кишку, толстую кишку, прямую кишку, анальное отверстие, и/или через искусственное отверстие в любом из этих отделов.

Применяемый в данном документе термин "пероральное введение", также сокращаемое как "Р.О.", относится к пути введения, при котором вещество принимают через рот, и который предусматривает питье, проглатывание, сублингвальный (растворение/всасывание под языком), буккальный (растворение/всасывание за щекой) и сублабиальный (растворение/всасывание под губой) пути введения.

Применяемый в данном документе термин "терапевтическое средство", "лекарственное средство" или "активный фармацевтический ингредиент" относится к веществу или молекуле, способным оказывать лечебное действие при болезненном состоянии.

Применяемые в данном документе термины "состав" и "фармацевтический состав" применяются взаимозаменяемо и относятся к готовому лекарственному продукту, содержащему активное(-ые) лекарственное(-ые) средство(-а) вместе с различными неактивными химическими веществами, вспомогательными веществами и/или буфером. В некоторых вариантах осуществления состав можно применять в виде лекарственной формы, такой как таблетка, микстура, мазь или инъекционная жидкость, предназначенной для введения субъекту.

Применяемый в данном документе термин "вспомогательное вещество" относится к веществу или ингредиенту, которые смешивают с активным(и) лекарственным(и) средством(-и) или активным фармацевтическим ингредиентом для обеспечения, например, долговременной стабилизации; для увеличения объема составов (благодаря чему их часто называют "объемообразующими средствами", "наполнителями" или "разбавителями"); и/или для придания терапевтического улучшения активному фармацевтическому ингредиенту в готовой лекарственной форме, как например, для облегчения всасывания лекарственного средства и/или улучшения соотношения эффективность/доза, снижения вязкости, улучшения растворимости и/или продления действия или присутствия активного фармацевтического ингредиента в крови. Выбор подходящих вспомогательных веществ может зависеть от пути введения и лекарственной формы, активного фармацевтического ингредиента и других факторов. Вспомогательное вещество может включать, например, сахар, аминокислоту, буфер, антиоксидант, хелатирующее средство, растворитель или

среду-носитель и/или сложный полимер, который связывает и стабилизирует активный фармацевтический ингредиент *in vitro* и/или *in vivo*. Примеры таких и других добавок можно найти в "Handbook of Pharmaceutical Excipients"; Ed. A.H. Kibbe, 3rd Ed., American Pharmaceutical Association, USA and Pharmaceutical Press UK, 2000, включенном в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте.

Применяемый в данном документе термин "жидкость" представляет собой вещество, которое свободно течет при комнатной температуре, так что его форма изменяется, но его объем остается постоянным, *например*, как вода или масло.

Применяемый в данном документе термин "комнатная температура" обозначает обычную температуру окружающей среды в помещении, составляющую приблизительно 25°C.

Если не указано иное, любая характеристика в пределах любого аспекта или варианта осуществления настоящего изобретения может быть объединена с любой характеристикой в пределах любого другого аспекта или варианта осуществления настоящего изобретения, и такая комбинация охватывается настоящим изобретением. Это также применимо, но не исключительно, к конечным точкам диапазонов, раскрытых в данном документе. Например, если данное вещество раскрыто как присутствующее в композиции в диапазоне концентраций X-Y% или A-B%, настоящее изобретение следует рассматривать как явно раскрывающее не только диапазоны X-Y% и A-B%, но также диапазоны X-B%, A-Y% и, насколько это возможно в числовом выражении, Y-A% и B-X%. Предусмотрены каждое из таких диапазонов и комбинаций диапазонов, и их следует рассматривать как прямо и недвусмысленно раскрытые в настоящей заявке.

Если не указано иное, обозначение диапазона в настоящей заявке с применением дефиса ("-"), разделяющего два заключенных в скобки значения X и Y или два заключенных в скобки соотношения, следует понимать как означающее и раскрывающее указанный диапазон, в который включены оба значения конечных точек X и Y. То же самое относится к диапазону, выраженному как "от X до Y". Соответственно, представления диапазонов в виде "X-Y", "от X до Y", "с X до Y", "от X-Y" и "с X-Y" следует понимать эквивалентно как обозначающие и раскрывающие диапазон, охватывающий конечное значение X, все значения (включая десятичные знаки) между X и Y, а также конечное значение Y.

Применяемый в данном документе термин "приблизительно" в отношении конкретного значения, *например*, конечной точки или конечных точек диапазона, охватывает и раскрывает, в дополнение к собственно конкретно указанному значению, определенное отклонение от этого конкретно указанного значения. Такое отклонение может, например, возникать из-за обычной вариабельности измерений, *например*, при взвешивании или дозировании различных веществ способами, известными специалисту в данной области техники. Термин "приблизительно" следует понимать как охватывающий и раскрывающий диапазон вариабельности выше и ниже от указанного конкретного значения, причем указанные процентные значения относятся к собственно конкретному указанному значению следующим образом. Термин "приблизительно" может охватывать и

раскрывать вариабельность $\pm 5,0\%$. Термин "приблизительно" может охватывать и
 раскрывать вариабельность $\pm 4,5\%$. Термин "приблизительно" может охватывать и
 раскрывать вариабельность $\pm 4,0\%$. Термин "приблизительно" может охватывать и
 раскрывать вариабельность $\pm 3,5\%$. Термин "приблизительно" может охватывать и
 раскрывать вариабельность $\pm 3,0\%$. Термин "приблизительно" может охватывать и
 раскрывать вариабельность $\pm 2,5\%$. Термин "приблизительно" может охватывать и
 раскрывать вариабельность $\pm 2,0\%$. Термин "приблизительно" может охватывать и
 раскрывать вариабельность $\pm 1,5\%$. Термин "приблизительно" может охватывать и
 раскрывать вариабельность $\pm 1,0\%$. Термин "приблизительно" может охватывать и
 раскрывать вариабельность $\pm 0,5\%$. Термин "приблизительно" при ссылке на конкретное
 указанное значение может охватывать и раскрывать собственно данное точное конкретное
 значение, независимо от любого явного упоминания о том, что данное точное конкретное
 значение является включенным; даже при отсутствии явного указания на то, что термин
 "приблизительно" включает конкретное точно указанное значение, данное точное
 конкретное значение все равно включено в диапазон вариаций, создаваемых термином
 "приблизительно", и, следовательно, раскрыто в настоящей заявке. Если не указано иное, в
 том случае, когда термин "приблизительно" указан перед первой конечной точкой
 числового диапазона, но не указан перед второй конечной точкой этого диапазона, данный
 термин и вариативность, которую он привносит в объеме и описании, относится как к
 первой конечной точке диапазона, так и ко второй конечной точке диапазона. Например,
 указанный диапазон "от приблизительно X до Y" следует рассматривать как "от
 приблизительно X до приблизительно Y". То же самое относится к указанному диапазону
 соотношений. Например, указанный диапазон весовых соотношений "приблизительно X:Y
 - A:B" следует рассматривать как весовое соотношение "(приблизительно
 X):(приблизительно Y) - (приблизительно A):(приблизительно B)".

Если не указано иное, все технические и научные термины, используемые в данном
 документе, имеют такое же значение, которое обычно понимает специалист в данной
 области техники. Несмотря на то, что при практическом применении или испытании
 настоящего изобретения можно применять способы и материалы, подобные или
 эквивалентные тем, что раскрыты в данном документе, подходящие способы и материалы
 описаны ниже. Все публикации, заявки на патент, патенты и другие ссылки, упоминаемые
 в данном документе, включены посредством ссылки во всей своей полноте. В случае
 конфликта настоящее описание, включая определения, будет иметь преимущественную
 силу. Кроме того, материалы, способы и примеры носят исключительно иллюстративный
 характер и не предназначены быть ограничивающими.

Вполне очевидно, что аспекты настоящего описания, как в целом описано в данном
 документе и проиллюстрировано на фигурах, могут быть сгруппированы, замещены,
 объединены, разделены и составлены в широком разнообразии разных конфигураций, все
 из которых в явной форме рассматриваются в данном документе.

Кроме того, конкретные группировки, показанные на **ФИГУРАХ**, не следует

рассматривать как ограничивающие. Следует понимать, что другие варианты осуществления могут включать больше или меньше каждого элемента, показанного на данной ФИГУРЕ. Дополнительно, некоторые из проиллюстрированных элементов могут быть объединены или опущены. Более того, пример варианта осуществления может предусматривать элементы, которые не проиллюстрированы на ФИГУРАХ.

Композиции

Настоящее изобретение относится к композиции, содержащей пептид, являющийся частичным агонистом V1a, формулы (A), [Mpa-Tyr-Phe-Z-Asn-Cys-Pro-B(X)_a-Gly-NH₂] [SEQ ID NOS. 1-2] (A),

или его фармацевтически эффективную соль,

где

остатки Mpa и Cys ковалентно связаны дисульфидной связью,

Z представляет собой Hgn или Gln;

при этом, если Z представляет собой Hgn [SEQ ID NO. 1], пептид формулы (A) представляет собой пептид формулы (I),

[Mpa-Tyr-Phe-Hgn-Asn-Cys-Pro-B(X)_a-Gly-NH₂] [SEQ ID NO. 1]

(I),

где

B представляет собой любой из L-Lys, D-Lys, L-Orn, D-Orn, L-Dab, D-Dab, L-Dap или D-Dap, и

X представляет собой аминокислотный остаток, при этом аминокислотный остаток в каждом случае независимо выбран из Gly, L-Ala, D-Ala, L-Lys, D-Lys, L-Orn, D-Orn, L-Glu, D-Glu, L-Asp и D-Asp, и a представляет собой целое число от 0 до 10 (*например*, от 0 до 1, от 1 до 2, от 1 до 3, от 1 до 10, от 1 до 6, от 4 до 10 или от 6 до 10), или

X в каждом случае представляет собой фрагмент, полученный из C₃₋₁₂жирной кислоты (*например*, C₃₋₆-, C₃₋₁₀-, C₄₋₁₂-, C₄₋₆-, C₄₋₁₀-, C₆₋₁₀-, C₈₋₁₀- или C₁₀₋₁₂жирной кислоты), содержащей первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, и a является целым числом от 1 до 3;

при этом, если Z представляет собой Gln [SEQ ID NO. 2], пептид формулы (A) представляет собой пептид формулы (II),

[Mpa-Tyr-Phe-Gln-Asn-Cys-Pro-B(X)_a-Gly-NH₂] [SEQ ID NO. 2]

(II),

где

B представляет собой любой из L-Lys, D-Lys, L-Orn, D-Orn, L-Dab, D-Dab, L-Dap или D-Dap, и

X представляет собой аминокислотный остаток, при этом аминокислотный остаток в каждом случае независимо выбран из Gly, L-Ala, D-Ala, L-Lys, D-Lys, L-Orn, D-Orn, L-Glu, D-Glu, L-Asp и D-Asp, и a представляет собой целое число от 6 до 10, или

X в каждом случае представляет собой фрагмент, полученный из C₃₋₁₂жирной

кислоты (*например*, C₃₋₆-, C₃₋₁₀-, C₄₋₁₂-, C₄₋₆-, C₄₋₁₀-, C₆₋₁₀-, C₈₋₁₀- или C₁₀₋₁₂жирной кислоты), содержащей первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, и *a* является целым числом от 1 до 3; и

где композиция характеризуется терапевтическим индексом, составляющим по меньшей мере 20 (*например*, по меньшей мере 30, по меньшей мере 40, по меньшей мере 50, по меньшей мере 60, по меньшей мере 70, по меньшей мере 80, по меньшей мере 90 или по меньшей мере 100).

В некоторых вариантах осуществления Z представляет собой Hgn, и B представляет собой Lys, X необязательно представляет собой Gly, и *a* равняется 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10. В некоторых вариантах осуществления Z представляет собой Hgn, X представляет собой Gly, и *a* равняется 6, 7, 8, 9 или 10. В некоторых вариантах осуществления Z представляет собой Gln, X представляет собой Gly, и *a* равняется 6, 7, 8, 9 или 10.

В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к пептиду формулы (I),

[Mpa-Tyr-Phe-Hgn-Asn-Cys-Pro-B(X)_a-Gly-NH₂] [SEQ ID NO. 1]

(I),

или его фармацевтически эффективной соли, где

остатки Mpa и Cys ковалентно связаны дисульфидной связью;

B представляет собой любой из L-Lys, D-Lys, L-Orn, D-Orn, L-Dab, D-Dab, L-Dap или D-Dap;

X представляет собой аминокислотный остаток и в каждом случае независимо выбран из Gly, L-Ala, D-Ala, L-Lys, D-Lys, L-Orn, D-Orn, L-Glu, D-Glu, L-Asp и D-Asp, и *a* представляет собой целое число от 0 до 10; или

X представляет собой фрагмент, полученный из C₃₋₁₂жирной кислоты, содержащей первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, и *a* представляет собой целое число от 1 до 3.

В некоторых вариантах осуществления в формуле (A) или формуле (I) X в каждом случае независимо выбран из Gly, Ala, Lys, Orn, Glu и Asp.

В некоторых вариантах осуществления в формуле (A) или формуле (I) X в каждом случае независимо выбран из Gly, Ala, Lys.

В некоторых вариантах осуществления в формуле (I), если X представляет собой аминокислотный остаток, как определено в любом из вариантов осуществления выше, *a* может представлять собой целое число от 0 до 10, от 0 до 1, от 1 до 2, от 2 до 3, от 3 до 4, от 4 до 5, от 1 до 4, от 1 до 6, от 1 до 10, от 2 до 3, от 3 до 4, от 4 до 5, от 4 до 10, от 5 до 6, от 6 до 8, от 6 до 10 или от 8 до 10.

В некоторых вариантах осуществления в формуле (A) или формуле (I), если X в каждом случае представляет собой фрагмент, полученный из жирной кислоты, содержащей первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, жирная кислота представляет собой C₃₋₁₂жирную кислоту, C₃₋₆жирную кислоту, C₃₋₁₀жирную кислоту, C₄₋₁₂жирную кислоту, C₄₋₆жирную кислоту, C₄₋₁₀жирную кислоту, C₆₋₁₀жирную

кислоту, C₈₋₁₀жирную кислоту или C₁₀₋₁₂жирную кислоту.

В некоторых вариантах осуществления, если X в каждом случае представляет собой фрагмент, полученный из C₃₋₁₂жирной кислоты, содержащей первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, а равняется 1, 2 или 3 (*например*, 1 или 2, 2 или 3 или 1 или 3).

В некоторых вариантах осуществления в формуле (I) В представляет собой L-Lys. В некоторых вариантах осуществления в формуле (I) В представляет собой D-Lys. В некоторых вариантах осуществления в формуле (I) В представляет собой L-Orn. В некоторых вариантах осуществления в формуле (I) В представляет собой D-Orn. В некоторых вариантах осуществления в формуле (I) В представляет собой L-Dab. В некоторых вариантах осуществления в формуле (I) В представляет собой D-Dab. В некоторых вариантах осуществления в формуле (I) В представляет собой L-Dap. В некоторых вариантах осуществления в формуле (I) В представляет собой D-Dap.

В некоторых вариантах осуществления в соединении формулы (A) или формулы (I) В представляет собой Lys, и X предусматривает Lys.

В некоторых вариантах осуществления в пептиде формулы (I) В представляет собой L-Lys, X представляет собой Gly, и а равняется 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10.

В некоторых вариантах осуществления в пептиде формулы (I) В представляет собой D-Lys, X представляет собой Gly, и а равняется 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10.

В некоторых вариантах осуществления в пептиде формулы (I) В представляет собой L-Dap, X представляет собой Gly, и а равняется 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10.

В некоторых вариантах осуществления в пептиде формулы (I) В представляет собой D-Dap, X представляет собой Gly, и а равняется 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10.

В некоторых вариантах осуществления в пептиде формулы (I) В представляет собой L-Orn, X представляет собой Gly, и а равняется 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10.

В некоторых вариантах осуществления в пептиде формулы (I) В представляет собой D-Orn, X представляет собой Gly, и а равняется 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10.

В некоторых вариантах осуществления в пептиде формулы (I) В представляет собой L-Dab, X представляет собой Gly, и а равняется 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10.

В некоторых вариантах осуществления в пептиде формулы (I) В представляет собой D-Dab, X представляет собой Gly, и а равняется 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10.

В некоторых вариантах осуществления в пептиде формулы (I) В представляет собой Lys, и а равняется 0.

В некоторых вариантах осуществления в пептиде формулы (I) В представляет собой Lys, X представляет собой Gly, и а равняется 1.

В некоторых вариантах осуществления в пептиде формулы (I) В представляет собой Lys, X представляет собой Gly, и а равняется 2.

В некоторых вариантах осуществления в пептиде формулы (I) В представляет собой Lys, X представляет собой Gly, и а равняется 3.

В некоторых вариантах осуществления в пептиде формулы (I) В представляет собой

кислоты, содержащей первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, и а равняется 2.

В некоторых вариантах осуществления в пептиде формулы (A) или формулы (I) В представляет собой Lys, X представляет собой фрагмент, полученный из C₄жирной кислоты, содержащей первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, и а равняется 3.

В некоторых вариантах осуществления в пептиде формулы (A) или формулы (I) В представляет собой Lys, X представляет собой фрагмент, полученный из C₃жирной кислоты, содержащей первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, и а равняется 1.

В некоторых вариантах осуществления в пептиде формулы (A) или формулы (I) В представляет собой Lys, X представляет собой фрагмент, полученный из C₃жирной кислоты, содержащей первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, и а равняется 2.

В некоторых вариантах осуществления в пептиде формулы (A) или формулы (I) В представляет собой Lys, X представляет собой фрагмент, полученный из C₃жирной кислоты, содержащей первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, и а равняется 3.

В некоторых вариантах осуществления в пептиде формулы (A) или формулы (I) В представляет собой Lys и X представляет собой фрагмент, полученный из жирной кислоты, содержащей первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, выбранной из бета-аминопропановой (пропионовой) кислоты, 4-аминобутановой(масляной) кислоты, 5-аминопентановой (валериановой) кислоты, 6-аминогексановой (капроновой) кислоты, 7-аминогептановой (энантовой) кислоты, 8-аминооктановой(каприловой) кислоты, 9-аминононановой(пеларгоновой) кислоты, 10-аминодекановой (каприновой) кислоты, 11-аминоундекановой(ундециловой) кислоты и 12-аминододекановой (лауриновой) кислоты.

В некоторых вариантах осуществления, если В не определен иначе в вариантах осуществления формулы (A) или формулы (I) выше, В представляет собой Lys.

Пептид формулы (A) или формулы (I) может являться частичным агонистом V1a. Частичный агонист V1a частично активизирует рецептор V1a.

Композиция, содержащая пептид формулы (A) или формулы (I) в любом из вышеуказанных вариантов осуществления может характеризоваться терапевтическим индексом, составляющим по меньшей мере 20 (*например*, по меньшей мере 30, по меньшей мере 40, по меньшей мере 50, по меньшей мере 60, по меньшей мере 70, по меньшей мере 80, по меньшей мере 90 или по меньшей мере 100). Пептид формулы (A) или формулы (I) обладает специфичностью в отношении рецептора V1a.

Аминокислотная последовательность (X)_a может обеспечивать возможность регулировать свойства растворимости и/или стабильности пептида формулы (A) и/или формулы (I) так, чтобы пептид можно было адаптировать для предполагаемого пути

введения и желаемой растворимости при поддержании терапевтического индекса, составляющего по меньшей мере 20 (*например*, по меньшей мере 30, по меньшей мере 40, по меньшей мере 50, по меньшей мере 60, по меньшей мере 70, по меньшей мере 80, по меньшей мере 90, по меньшей мере 100), без изменения свойств частичного агониста V1a. Терапевтический индекс определен в данном документе как соотношение NOAEL/NOEL. Стабильность состава может быть измерена, например, специалистами в данной области техники с применением установленных протоколов хроматографии. Растворимость может быть легко измерена специалистами в данной области техники с помощью центрифугирования или фильтрации данного состава с последующим хроматографическим анализом раствора супернатанта или фильтрата. Чтобы установить свойства частичного агониста V1a, можно измерить частично агонистическую активность, как описано в примерах ниже, причем как *in vitro*, так и *in vivo*. Кроме того, считается, что аминокислотная последовательность для (X)_a может обеспечивать терапевтическое средство, которое медленно распадается с течением времени *in vivo* с высвобождением при этом одинаково активных промежуточных продуктов распада, обладающих активностью частичного агониста. Таким образом, композиции по настоящему изобретению могут обеспечивать пролонгированное присутствие частичного агониста V1a в крови в течение продолжительного периода времени.

В настоящем изобретении также описывается пептид формулы (II),

[Mpa-Tyr-Phe-Gln-Asn-Cys-Pro-B(X)_a-Gly-NH₂] [SEQ ID NO. 2]

(II),

или его фармацевтически эффективная соль, где

остатки Mpa и Cys ковалентно связаны дисульфидной связью,

В представляет собой любой из L-Lys, D-Lys, L-Orn, D-Orn, L-Dab, D-Dab, L-Dap или D-Dap,

X представляет собой аминокислотный остаток и в каждом случае независимо выбран из Gly, L-Ala, D-Ala, L-Lys, D-Lys, L-Orn, D-Orn, L-Glu, D-Glu, L-Asp и D-Asp, и a представляет собой целое число от 6 до 10; или

X в каждом случае представляет собой фрагмент, полученный из C₃₋₁₂жирной кислоты, содержащей первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, и a представляет собой целое число от 1 до 3.

Пептид формулы (II) может характеризоваться терапевтическим индексом, составляющим по меньшей мере 20 (*например*, по меньшей мере 30, по меньшей мере 40, по меньшей мере 50, по меньшей мере 60, по меньшей мере 70, по меньшей мере 80, по меньшей мере 90 или по меньшей мере 100). Пептид может являться частичным агонистом V1a.

В некоторых вариантах осуществления в пептиде формулы (II), если X представляет собой аминокислотный остаток, а может быть целым числом от 3 до 4, от 4 до 6, от 4 до 8, от 4 до 10, от 4 до 12, от 6 до 10, от 8 до 10 или от 10 до 12.

В некоторых вариантах осуществления в пептиде формулы (II) X представляет собой

атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, выбранной из бета-аминопропановой (пропионовой) кислоты, 4-аминобутановой (масляной) кислоты, 5-аминопентановой (валериановой) кислоты, 6-аминогексановой (капроновой) кислоты, 7-аминогептановой (энантовой) кислоты, 8-аминооктановой (каприловой) кислоты, 9-аминононановой (пеларгоновой) кислоты, 10-аминодекановой (каприновой) кислоты, 11-аминоундекановой (ундециловой) кислоты и 12-аминододекановой (лауриновой) кислоты; и а равняется от 1 до 3.

В некоторых вариантах осуществления пептид формулы (II) не включает фрагмент (X)_a, где X представляет собой Gly, и а равняется 1, 2 или 3. В некоторых вариантах осуществления пептид формулы (II) не включает фрагмент (X)_a, где X представляет собой Gly, и а равняется 1, 2, 3, 4 или 5. В некоторых вариантах осуществления пептид формулы (II) не включает фрагмент (X)_a, где X представляет собой Gly, L- или D-Ala, L- или D-Val, L- или D-Leu, L- или D-Pro, L- или D-Trp, L- или D-Tyr и/или L- или D-Phe, и а равняется 1, 2, или 3. В некоторых вариантах осуществления пептид формулы (II) не включает фрагмент (X)_a, где X представляет собой Gly, L-Ala, L-Val, L-Leu, L-Pro, L-Trp, L-Tyr и/или L-Phe, и а равняется 1, 2 или 3. В некоторых вариантах осуществления пептид формулы (II) не включает фрагмент (X)_a, где X представляет собой Gly, L- или D-Ala, L- или D-Val, L- или D-Leu, L- или D-Pro, L- или D-Trp, L- или D-Tyr и/или L- или D-Phe, и а равняется 1, 2, 3, 4 или 5. В некоторых вариантах осуществления пептид формулы (II) не включает фрагмент (X)_a, где X представляет собой Gly, L-Ala, L-Val, L-Leu, L-Pro, L-Trp, L-Tyr и/или L-Phe, и а равняется 1, 2, 3, 4 или 5.

В некоторых вариантах осуществления, если В не определен иначе в вариантах осуществления формулы (II) выше, В представляет собой Lys.

Пептид формулы (II) может являться частичным агонистом V1a. Частичный агонист V1a частично активирует рецептор V1a.

Аминокислотная последовательность для (X)_a может обеспечивать возможность регулировать свойства растворимости и/или стабильности пептида формулы (II) так, чтобы пептид можно было адаптировать для предполагаемого пути введения и желаемой растворимости при поддержании терапевтического индекса, составляющего 20 (например, по меньшей мере 30, по меньшей мере 40, по меньшей мере 50, по меньшей мере 60, по меньшей мере 70, по меньшей мере 80, по меньшей мере 90, по меньшей мере 100), без изменения свойств частичного агониста V1a. Терапевтический индекс определен в данном документе как соотношение NOAEL/NOEL. Стабильность состава и измерения растворимости являются такими, как описано выше. Чтобы установить свойства частичного агониста V1a, можно измерить частично агонистическую активность, как описано в примерах ниже, причем как *in vitro*, так и *in vivo*. Кроме того, считается, что аминокислотная последовательность для (X)_a может обеспечивать терапевтическое средство, которое медленно распадается с течением времени *in vivo* с высвобождением при этом одинаково активных промежуточных продуктов распада, обладающих активностью частичного агониста. При наличии (X)_a, где а равняется 6-10 в формуле II, на удивление, можно

продлить активность частичного агониста V1a. Таким образом, композиции по настоящему изобретению могут обеспечивать пролонгированное присутствие частичного агониста V1a в крови в течение продолжительного периода времени.

В некоторых вариантах осуществления частичный агонист V1a композиций по настоящему изобретению предусматривает пептид формулы (I), где X представляет собой Gly; и/или пептид формулы (II), где B представляет собой Lys, и X представляет собой Gly, и/или их фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления частичный агонист V1a композиций по настоящему изобретению предусматривает пептид формулы (I), где X представляет собой Gly, и a равняется 6; и/или пептид формулы (II), где B представляет собой Lys, X представляет собой Gly, и a равняется 6, и/или их фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления частичный агонист V1a композиций по настоящему изобретению предусматривает пептид формулы (I), где X представляет собой Gly, и a равняется 7; и/или пептид формулы (II), где B представляет собой Lys, X представляет собой Gly, и a равняется 7, и/или их фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления частичный агонист V1a композиций по настоящему изобретению предусматривает пептид формулы (I), где X представляет собой Gly, и a равняется 8; и/или пептид формулы (II), где B представляет собой Lys, X представляет собой Gly, и a равняется 8, и/или их фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления частичный агонист V1a композиций по настоящему изобретению предусматривает пептид формулы (I), где X представляет собой Gly, и a равняется 9; и/или пептид формулы (II), где B представляет собой Lys, X представляет собой Gly, и a равняется 9, и/или их фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления частичный агонист V1a композиций по настоящему изобретению предусматривает пептид формулы (I), где X представляет собой Gly, и a равняется 10; и/или пептид формулы (II), где B представляет собой Lys, X представляет собой Gly, и a равняется 10, и/или их фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция для частичного активирования рецептора V1a содержит вышеуказанный пептид формулы (I), формулы (II) и/или их фармацевтически приемлемую соль, и фармацевтически приемлемое(-ые) вспомогательное(-ые) вещество(-а), и/или буфер. Буфер может обладать оптимальным буферным действием в диапазоне pH от 3,5 до 6,5, как например, цитратный буфер, ацетатный буфер, сукцинатный буфер и/или гистидиновый буфер. Концентрация буфера может составлять менее 100 мМ (*например*, менее 90 мМ, менее 75 мМ, менее 60 мМ, менее 45 мМ, менее 30 мМ, менее 15 мМ, менее 10 мМ или менее 5 мМ).

Настоящее изобретение дополнительно относится к применению пептида формулы (B),

[X'-Tyr-Phe-Gln-Asn-Cys-Pro-Lys(Z)_d-Gly-NH₂] [SEQ ID NO. 7 и 4]

(B),

или его фармацевтически приемлемой соли,

где

X' представляет собой (U)_c-Cys или Mpa,

при этом, если X' представляет собой (U)_c-Cys, и (Z)_d отсутствует [SEQ ID NO. 7], пептид формулы (B) представляет собой пептид формулы (III),

[(U)_c-Cys-Tyr-Phe-Gln-Asn-Cys-Pro-Lys-Gly-NH₂] [SEQ ID NO. 7]

(III),

где

2 остатка Cys ковалентно связаны дисульфидной связью,

U представляет собой аминокислотный остаток и в каждом случае независимо выбран из Gly, L-Ala, D-Ala, L-Lys, D-Lys, L-Orn, D-Orn, L-Glu, D-Glu, L-Asp и D-Asp, и с представляет собой количество U и является целым числом от 0 до 10; и

при этом, если X' представляет собой Mpa [SEQ ID NO. 4], пептид формулы (B) представляет собой пептид формулы (IV),

[Mpa-Tyr-Phe-Gln-Asn-Cys-Pro-Lys(Z)_d-Gly-NH₂] [SEQ ID NO. 4]

(IV),

где

остатки Mpa и Cys ковалентно связаны дисульфидной связью,

Z представляет собой аминокислотный остаток и в каждом случае независимо выбран из Gly, D-Ala, L-Ala, D-Lys, L-Lys, D-Orn, L-Orn, D-Glu, L-Glu, D-Asp и L-Asp, и d представляет собой количество Z и является целым числом от 0 до 5.

В некоторых вариантах осуществления пептиды формулы (III) или (IV) могут являться полными или частичными агонистами V1a, но их активность может быть снижена при использовании с антагонистом V2.

В некоторых вариантах осуществления пептид формулы (B) представляет собой пептид формулы (III),

[(U)_c-Cys-Tyr-Phe-Gln-Asn-Cys-Pro-Lys-Gly-NH₂] [SEQ ID NO. 7]

(III),

или его фармацевтически эффективную соль,

где

2 остатка Cys ковалентно связаны дисульфидной связью,

U представляет собой аминокислотный остаток и в каждом случае независимо выбран из Gly, L-Ala, D-Ala, L-Lys, D-Lys, L-Orn, D-Orn, L-Glu, D-Glu, L-Asp и D-Asp, и

с представляет собой количество аминокислотных остатков U и является целым числом от 0 до 10 (*например*, от 1 до 10, от 4 до 10 или от 6 до 10). Пептид может являться агонистом V1a.

В некоторых вариантах осуществления пептид формулы (III) может функционировать как полный или частичный агонист V1a при использовании с антагонистом V2.

В некоторых вариантах осуществления для пептида формулы (III) с не равняется 0. В некоторых вариантах осуществления один или оба конца пептида формулы (III) не

включают алкильную группу (*например*, алкильную группу, содержащую от 3 до 36 углеродных звеньев). В некоторых вариантах осуществления один или оба конца пептида формулы (III) не включают алкильную группу, содержащую от 3 до 36 углеродных звеньев, нитрилотрехуксусную кислоту, имидодиуксусную кислоту или один или несколько гистидиновых остатков. В некоторых вариантах осуществления пептид формулы (III) не предусматривает пептид, где U представляет собой Gly и/или His, и с представляет собой целое число от 1 до 6, при этом пептид необязательно включает концевую алкильную группу. В некоторых вариантах осуществления (U)_c в пептиде формулы (III) не включает Leu, Phe, Tyr, Trp, Pro, Gly-Gly, Leu-Leu, Gly-Pro, саркозил-Gly и/или Gly-Gly-Gly.

В некоторых вариантах осуществления пептид формулы (B) представляет собой пептид формулы (IV),

[Mpa-Tyr-Phe-Gln-Asn-Cys-Pro-Lys(Z)_d-Gly-NH₂] [SEQ ID NO. 4]

(IV),

или его фармацевтически эффективную соль,

где

остатки Mpa и Cys ковалентно связаны дисульфидной связью,

Z представляет собой аминокислотный остаток и в каждом случае независимо выбран из Gly, D-Ala, L-Ala, D-Lys, L-Lys, D-Orn, L-Orn, D-Glu, L-Glu, D-Asp и L-Asp, и

d представляет собой количество аминокислотных остатков Z и является целым числом от 0 до 5. Пептид может являться агонистом V1a.

В некоторых вариантах осуществления пептид формулы (IV) может функционировать как полный или частичный агонист V1a при использовании с антагонистом V2. В некоторых вариантах осуществления композиции по настоящему изобретению содержат фармацевтически приемлемую соль пептида формулы (I), формулы (II), формулы (III), формулы (IV).

В некоторых вариантах осуществления любая из вышеуказанных композиций может быть представлена в виде фармацевтического состава, при этом фармацевтический состав включает пептид формулы (I), формулы (II), формулы (III), формулы (IV) и/или его фармацевтически приемлемую соль и может дополнительно необязательно включать одно или несколько фармацевтически приемлемых вспомогательных веществ и/или буфер. В качестве примера композиции могут необязательно содержать буфер, обладающий оптимальным буферным действием в диапазоне pH от 3,5 до 6,5, такой как цитратный буфер, ацетатный буфер, сукцинатный буфер и/или гистидиновый буфер. Концентрация буферной соли может составлять менее 100 мМ (*например*, менее 90 мМ, менее 75 мМ, менее 60 мМ, менее 45 мМ, менее 30 мМ, менее 15 мМ, менее 10 мМ или менее 5 мМ).

Способы лечения

В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение предусматривает способ лечения субъекта, имеющего одно или несколько из следующих состояний: фиброз печени, цирроз, портальная гипертензия, асцит, варикозное расширение вен (*например*, варикозное расширение вен пищевода, варикозное расширение вен желудка), кровотечение

(например, кровотечение из варикозно расширенных вен), артериальная гипотензия и/или гепаторенальный синдром, с помощью введения терапевтически эффективной дозы фармацевтической композиции, содержащей пептид по любому из вариантов осуществления формулы (I) или формулы (II), как описано в разделе под названием "Композиции" выше, и/или его фармацевтически приемлемую соль. Например, субъект может иметь гипотензию, при которой среднее значение артериального давления составляет ниже 95 мм рт. ст. (например, ниже 90 мм рт. ст., ниже 85 мм рт. ст., ниже 80 мм рт. ст., ниже 75 мм рт. ст. или ниже 70 мм рт. ст.). В качестве другого примера субъект может иметь цирроз и среднее значение артериального давления, составляющее ниже 95 мм рт. ст. (например, ниже 90 мм рт. ст., ниже 85 мм рт. ст., ниже 80 мм рт. ст., ниже 75 мм рт. ст., ниже 70 мм рт. ст.). В некоторых вариантах осуществления у субъекта имеется фиброз печени. В некоторых вариантах осуществления у субъекта имеется цирроз. В некоторых вариантах осуществления у субъекта имеется портальная гипертензия. В некоторых вариантах осуществления у субъекта имеется асцит. В некоторых вариантах осуществления у субъекта имеется варикозное расширение вен пищевода. В некоторых вариантах осуществления у субъекта имеется варикозное расширение вен желудка. В некоторых вариантах осуществления у субъекта имеется кровотечение из варикозно расширенных вен. В некоторых вариантах осуществления у субъекта среднее значение артериального давления составляет ниже 95 мм рт. ст. (например, ниже 90 мм рт. ст., ниже 85 мм рт. ст., ниже 80 мм рт. ст., ниже 75 мм рт. ст. или ниже 70 мм рт. ст.).

Как рассмотрено выше, фармацевтическая композиция может дополнительно содержать фармацевтически приемлемое(-ые) вспомогательное(-ые) вещество(-а) и/или буфер, обладающий оптимальным буферным действием в диапазоне pH от 3,5 до 6,5, такой как цитратный буфер, ацетатный буфер, сукцинатный буфер и/или гистидиновый буфер. Концентрация буферной соли может составлять менее 100 мМ (например, менее 90 мМ, менее 75 мМ, менее 60 мМ, менее 45 мМ, менее 30 мМ, менее 15 мМ, менее 10 мМ или менее 5 мМ).

В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к способу лечения субъекта, имеющего одно или несколько из следующих состояний: фиброз печени, цирроз, портальная гипертензия, асцит, варикозное расширение вен пищевода, варикозное расширение вен желудка, кровотечение, артериальная гипотензия и/или гепаторенальный синдром, включающему введение терапевтически эффективной дозы фармацевтической композиции, содержащей любой из вышеуказанных вариантов осуществления пептида формулы (I), где В представляет собой Lys, и/или его фармацевтически приемлемую соль и дополнительно необязательно включающей фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество и/или буфер.

В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение предусматривает способ лечения субъекта, имеющего одно или несколько из следующих состояний: фиброз печени, цирроз, портальная гипертензия, асцит, варикозное расширение вен пищевода, варикозное расширение вен желудка, кровотечение, артериальная гипотензия и

гепаторенальный синдром, включающий введение терапевтически эффективной дозы фармацевтической композиции, содержащей вышеуказанные варианты осуществления пептида формулы (I), где В представляет собой Lys, и X представляет собой Gly, и/или его фармацевтически приемлемую соль и дополнительно необязательно включающей фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество и/или буфер.

В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение предусматривает способ лечения субъекта, имеющего одно или несколько из следующих состояний: фиброз печени, цирроз, портальная гипертензия, асцит, варикозное расширение вен пищевода, варикозное расширение вен желудка, кровотечение, артериальная гипотензия и гепаторенальный синдром, включающий введение терапевтически эффективной дозы фармацевтической композиции, содержащей вышеуказанный пептид формулы (I), где В представляет собой Lys, X представляет собой Gly, и а равняется б, и/или его фармацевтически приемлемую соль и дополнительно необязательно включающей фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество и/или буфер.

В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение предусматривает способ лечения субъекта, имеющего одно или несколько из следующих состояний: фиброз печени, цирроз, портальная гипертензия, асцит, варикозное расширение вен пищевода, варикозное расширение вен желудка, кровотечение, артериальная гипотензия и гепаторенальный синдром, включающий введение терапевтически эффективной дозы фармацевтической композиции, содержащей вышеуказанный пептид формулы (I), где В представляет собой Lys, X представляет собой фрагмент, полученный из C₁₂жирной кислоты, содержащей первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, и а равняется 1, и/или его фармацевтически приемлемую соль и дополнительно необязательно включающей фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество и/или буфер.

Например, способ лечения субъекта, имеющего одно или несколько из следующих состояний: фиброз печени, цирроз, портальная гипертензия, асцит, варикозное расширение вен пищевода, варикозное расширение вен желудка, кровотечение, артериальная гипотензия и гепаторенальный синдром, может включать введение терапевтически эффективной дозы фармацевтической композиции, содержащей любой вариант осуществления вышеуказанного пептида формулы (I), например,

где В представляет собой Lys, X представляет собой жирную кислоту с 10 углеродными звеньями, содержащую первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, и а равняется 1, и/или его фармацевтически приемлемую соль,

где В представляет собой Lys, X представляет собой жирную кислоту с 8 углеродными звеньями, содержащую первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, и а равняется 1, и/или его фармацевтически приемлемую соль,

где В представляет собой Lys, X представляет собой жирную кислоту с 6

углеродными звеньями, содержащую первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, и a равняется 1, и/или его фармацевтически приемлемую соль,

где В представляет собой Lys, X представляет собой жирную кислоту с 6 углеродными звеньями, содержащую первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, и a равняется 2, и/или его фармацевтически приемлемую соль,

где В представляет собой Lys, X представляет собой жирную кислоту с 4 углеродными звеньями, содержащую первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, и a равняется 1, и/или его фармацевтически приемлемую соль,

где В представляет собой Lys, X представляет собой жирную кислоту с 4 углеродными звеньями, содержащую первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, и a равняется 2, и/или его фармацевтически приемлемую соль,

где В представляет собой Lys, X представляет собой жирную кислоту с 4 углеродными звеньями, содержащую первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, и a равняется 3, и/или его фармацевтически приемлемую соль,

где В представляет собой Lys, X представляет собой жирную кислоту с 3 углеродными звеньями, содержащую первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, и a равняется 1, и/или его фармацевтически приемлемую соль,

где В представляет собой Lys, X представляет собой жирную кислоту с 3 углеродными звеньями, содержащую первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, и a равняется 2, и/или его фармацевтически приемлемую соль, и/или

где В представляет собой Lys, X представляет собой жирную кислоту с 3 углеродными звеньями, содержащую первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, и a равняется 3, и/или его фармацевтически приемлемую соль, и

каждая фармацевтическая композиция дополнительно необязательно содержит фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество и/или буфер.

В некоторых вариантах осуществления каждый из способа лечения субъекта со средним значением артериального давления, составляющим ниже 95 мм рт. ст. (*например*, ниже 90 мм рт. ст., ниже 85 мм рт. ст., ниже 80 мм рт. ст., ниже 75 мм рт. ст. или ниже 70 мм рт. ст.); способа лечения субъекта с циррозом и средним значением артериального давления, составляющим ниже 95 мм рт. ст. (*например*, ниже 90 мм рт. ст., ниже 85 мм рт. ст., ниже 80 мм рт. ст., ниже 75 мм рт. ст. или ниже 70 мм рт. ст.); способа лечения субъекта с циррозом; субъекта с портальной гипертензией; способа лечения субъекта с асцитом;

способа лечения субъекта с варикозным расширением вен пищевода; способа лечения субъекта с варикозным расширением вен желудка; способа лечения субъекта с кровотечением из варикозно расширенных вен; или способа лечения субъекта с гепаторенальным синдромом может независимо включать введение терапевтически эффективной дозы фармацевтической композиции, содержащей

пептид формулы (I), как описано выше, например, где В представляет собой Lys, и а равняется 0, или X представляет собой Gly, и а представляет собой целое число от 1 до 10 (*например*, предпочтительно а равняется 6), и/или его фармацевтически приемлемую соль; или

пептид формулы (II), как описано выше, например, где В представляет собой Lys, X представляет собой Gly, и а равняется 6, 7, 8, 9 или 10, и/или его фармацевтически приемлемую соль; или

пептид формулы (A), как описано выше, например, где В представляет собой Lys, и X представляет собой фрагмент, полученный из C₁₂жирной кислоты, содержащей первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, и а равняется 1, или

X представляет собой фрагмент, полученный из C₁₀жирной кислоты, содержащей первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, и а равняется 1, или

X представляет собой фрагмент, полученный из C₈жирной кислоты, содержащей первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, и а равняется 1, или

X представляет собой фрагмент, полученный из C₆жирной кислоты, содержащей первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, и а равняется 1, или

X представляет собой фрагмент, полученный из C₆жирной кислоты, содержащей первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, и а равняется 2, или

X представляет собой фрагмент, полученный из C₄жирной кислоты, содержащей первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, и а равняется 1, или

X представляет собой фрагмент, полученный из C₄жирной кислоты, содержащей первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, и а равняется 2, или

X представляет собой фрагмент, полученный из C₄жирной кислоты, содержащей первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, и а равняется 3, или

X представляет собой фрагмент, полученный из C₃жирной кислоты, содержащей первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, и а равняется 1, или

X представляет собой фрагмент, полученный из C₃жирной кислоты, содержащей первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, и *a* равняется 2, или

X представляет собой фрагмент, полученный из C₃жирной кислоты, содержащей первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, и *a* равняется 3; и/или

его фармацевтически приемлемую соль, и

где каждая фармацевтическая композиция дополнительно необязательно содержит фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество и/или буфер.

В некоторых вариантах осуществления способ лечения субъекта с гепаторенальным синдромом включает введение терапевтически эффективной дозы фармацевтической композиции, содержащей вышеуказанный пептид формулы (A), где X представляет собой фрагмент, полученный из 12-аминододекановой (лауриновой) кислоты, и *a* равняется 1, и/или его фармацевтически приемлемую соль, и дополнительно необязательно включающей фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество и/или буфер. В некоторых вариантах осуществления, если пептид формулы (A) представляет собой пептид формулы (II), B дополнительно представляет собой Lys.

В некоторых вариантах осуществления способ лечения субъекта с гепаторенальным синдромом включает введение терапевтически эффективной дозы фармацевтической композиции, содержащей вышеуказанный пептид формулы (A), где X представляет собой фрагмент, полученный из 8-аминооктановой (каприловой) кислоты, и *a* равняется 1, и/или его фармацевтически приемлемую соль, и дополнительно необязательно включающей фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество и/или буфер. В некоторых вариантах осуществления, если пептид формулы (A) представляет собой пептид формулы (II), B дополнительно представляет собой Lys.

В некоторых вариантах осуществления способ лечения субъекта с гепаторенальным синдромом включает введение терапевтически эффективной дозы фармацевтической композиции, содержащей вышеуказанный пептид формулы (A), где X представляет собой фрагмент, полученный из 6-аминогексановой (капроновой) кислоты, и *a* равняется 1, и/или его фармацевтически приемлемую соль, и дополнительно необязательно включающей фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество и/или буфер. В некоторых вариантах осуществления, если пептид формулы (A) представляет собой пептид формулы (II), B дополнительно представляет собой Lys.

В некоторых вариантах осуществления способ лечения субъекта с гепаторенальным синдромом включает введение терапевтически эффективной дозы фармацевтической композиции, содержащей вышеуказанный пептид формулы (A), где X представляет собой фрагмент, полученный из 4-аминобутановой (масляной) кислоты, и *a* равняется 1, и/или его фармацевтически приемлемую соль, и дополнительно необязательно включающей фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество и/или буфер. В некоторых вариантах осуществления, если пептид формулы (A) представляет собой пептид формулы

(II), В дополнительно представляет собой Lys.

В некоторых вариантах осуществления способ лечения субъекта с гепаторенальным синдромом включает введение терапевтически эффективной дозы фармацевтической композиции, содержащей вышеуказанный пептид формулы (A), где X представляет собой фрагмент, полученный из бета-аминопропановой (пропионовой) кислоты, и а равняется 1, и/или его фармацевтически приемлемую соль, и дополнительно необязательно включающей фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество и/или буфер. В некоторых вариантах осуществления, если пептид формулы (A) представляет собой пептид формулы (II), В дополнительно представляет собой Lys.

В некоторых вариантах осуществления в любом из вышеуказанных способов лечения субъекта фармацевтическую композицию вводят энтеральным путем (*например*, перорально, включая питье, глотание, сублингвальным, буккальным, и/или сублабиальным, и/или ректальным/анальным путем).

В некоторых вариантах осуществления в любом из вышеуказанных способов лечения субъекта фармацевтическую композицию вводят парентеральным путем (*например*, внутривенным, подкожным, субдермальным, внутримышечным, внутривентральным, интраплевральным и/или интраназальным путем).

В некоторых вариантах осуществления в любом из вышеуказанных способов лечения субъекта фармацевтическую композицию вводят в виде болюсной дозы. Например, фармацевтическую композицию можно вводить в виде внутривенной болюсной дозы и/или в виде подкожной болюсной дозы. В определенных вариантах осуществления фармацевтическую композицию вводят в виде внутривенной болюсной дозы.

В некоторых вариантах осуществления в любом из вышеуказанных способов лечения субъекта фармацевтическую композицию вводят путем внутривенной инфузии. Например, фармацевтическую композицию можно вводить внутривенно в виде подкожного болюса.

В некоторых вариантах осуществления для любого из вышеуказанных способов лечения субъекта доза составляет менее 500 нмоль/кг/день (*например*, менее 450 нмоль/кг/день, менее 300 нмоль/кг/день, менее 250 нмоль/кг/день, менее 200 нмоль/кг/день, менее 175 нмоль/кг/день, менее 150 нмоль/кг/день, менее 125 нмоль/кг/день или менее 100 нмоль/кг/день); предпочтительно менее 200 нмоль/кг/день (*например*, менее 175 нмоль/кг/день, менее 150 нмоль/кг/день, менее 125 нмоль/кг/день, менее 100 нмоль/кг/день, менее 90 нмоль/кг/день, менее 80 нмоль/кг/день, менее 70 нмоль/кг/день или менее 50 нмоль/кг/день); более предпочтительно менее 100 нмоль/кг/день (*например*, менее 90 нмоль/кг/день, менее 80 нмоль/кг/день, менее 60 нмоль/кг/день, менее 50 нмоль/кг/день, менее 40 нмоль/кг/день, менее 30 нмоль/кг/день, менее 20 нмоль/кг/день или менее 10 нмоль/кг/день). В некоторых вариантах осуществления ограничение дозы может зависеть от того, подвергается ли субъект также лечению другим лекарственным средством по тем же или другим показаниям, среднего артериального давления, лекарственного(-ых) средства(средств), влияющего(-их) на объем сосудов, общую перфузию органов, и/или

наличия ишемии.

В некоторых вариантах осуществления для любого из вышеуказанных способов лечения субъекта доза может составлять менее 150 нмоль/кг/день (*например*, менее 140 нмоль/кг/день, менее 130 нмоль/кг/день, менее 120 нмоль/кг/день, менее 110 нмоль/кг/день, менее 100 нмоль/кг/день, менее 90 нмоль/кг/день, менее 80 нмоль/кг/день, менее 70 нмоль/кг/день или менее 50 нмоль/кг/день).

В некоторых вариантах осуществления для любого из вышеуказанных способов лечения субъекта доза составляет менее 100 нмоль/кг/день (*например*, менее 90 нмоль/кг/день, менее 80 нмоль/кг/день, менее 70 нмоль/кг/день, менее 60 нмоль/кг/день, менее 50 нмоль/кг/день, менее 40 нмоль/кг/день, менее 30 нмоль/кг/день, менее 20 нмоль/кг/день или менее 10 нмоль/кг/день).

В некоторых вариантах осуществления для любого из вышеуказанных способов лечения субъекта частота введения составляет не более трех раз в день (*например*, один раз каждые 8 часов, один раз каждые 12 часов или один раз каждые 24 часа).

В некоторых вариантах осуществления для любого из вышеуказанных способов лечения субъекта введение осуществляют только в дневное время с 6:00 до 18:00 с частотой один раз каждые 4–6 часов и введение не осуществляют в ночное время с 18:00 до 6:00.

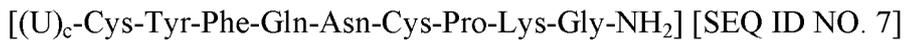
В некоторых вариантах осуществления для любого из вышеуказанных способов лечения субъекта способы могут дополнительно включать введение антагониста/ингибитора V2. Антагонист V2 можно вводить в течение 1-8 часов (предпочтительно в течение 1-3 часов) до или после (предпочтительно до) введения частичного агониста V1a. В некоторых вариантах осуществления антагонист V2 предусматривает, например, мозаваптан, толваптан, сложный фосфатный эфир толваптана, сатаваптан, ликсиваптан, кониваптан, RWJ-351647, VP-343, VP-393, [PmP1, D-Ile2, Ile4, Arg8, Ala9]-вазопрессин, [PmP1, D-Ile2, Ile4, Arg8]-вазопрессин и/или [PmP1, D-Ile2, Ile4, Arg8, Ala9]-вазопрессин-(1-8)-ОН. Частичный агонист V1a можно вводить в дозе от 1 нмоль/кг до 250 нмоль/кг (*например*, от 1 нмоль/кг до 150 нмоль/кг или от 1 нмоль/кг до 75 нмоль/кг). В определенных вариантах осуществления, если антагонистом V2 является толваптан, то толваптан вводят парентерально в дозе от 1 мкг/кг до 300 мкг/кг (*например*, от 1 мкг/кг до 200 мкг/кг или от 1 мкг/кг до 100 мкг/кг).

В некоторых вариантах осуществления в случае любого из вышеуказанных способов лечения субъекта субъект страдает от асцита (*например*, рефрактерного асцита).

В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение предусматривает способ лечения субъекта, у которого имеется фиброз печени, цирроз, портальная гипертензия, асцит, варикозное расширение вен пищевода, варикозное расширение вен фундального отдела желудка, кровотечение, среднее значение артериального давления, составляющее менее 95 мм рт.ст., гепаторенальный синдром или любая их комбинация, или где у субъекта имеется фиброз печени; или где у субъекта имеется цирроз; или где у субъекта имеется портальная гипертензия; или где у субъекта имеется варикозное расширение вен пищевода; или где у субъекта имеется варикозное расширение вен

фундального отдела желудка; или где у субъекта имеется варикозное расширение вен с кровотечением; или где у субъекта имеется цирроз со средним артериальным давлением менее 95 мм рт. ст.; или где у субъекта имеется гепаторенальный синдром; при этом способ включает стадию (i) или стадию (ii) ниже, предусматривающую введение в течение 1-8 часов (*например*, предпочтительно в течение 1-3 часов) до или после (*например*, предпочтительно после) введения терапевтически эффективной дозы антагониста V2, где:

стадия (i) предусматривает введение субъекту терапевтически эффективной дозы фармацевтической композиции, содержащей пептид формулы (III),



(III),

или его фармацевтически эффективную соль,

где 2 остатка Cys ковалентно связаны дисульфидной связью,

U представляет собой аминокислотный остаток и в каждом случае независимо выбран из Gly, L-Ala, D-Ala, L-Lys, D-Lys, L-Orn, D-Orn, L-Glu, D-Glu, L-Asp и D-Asp, и

c представляет собой количество аминокислотных остатков U и является целым числом от 0 до 10;

стадия (ii) предусматривает введение субъекту терапевтически эффективной дозы фармацевтической композиции, содержащей пептид формулы (IV),



(IV),

или его фармацевтически эффективную соль,

где остатки Mpa и Cys ковалентно связаны дисульфидной связью,

Z представляет собой аминокислотный остаток и в каждом случае независимо выбран из Gly, D-Ala, L-Ala, D-Lys, L-Lys, D-Orn, L-Orn, D-Glu, L-Glu, D-Asp и L-Asp, и

d представляет собой количество аминокислотных остатков Z и является целым числом от 0 до 5.

В некоторых вариантах осуществления при введении антагониста V2 антагонистом V2 является мозаваптан, толваптан, сложный фосфатный эфир толваптана, сатаваптан, ликсиваптан, кониваптан, RWJ-351647, VP-343, VP-393, [PmP1, D-Ile2, Ile4, Arg8, Ala9]-вазопрессин, [PmP1, D-Ile2, Ile4, Arg8]-вазопрессин и/или [PmP1, D-Ile2, Ile4, Arg8, Ala9]-вазопрессин-(1-8)-ОН.

В некоторых вариантах осуществления антагонистом V2 является толваптан. Толваптан можно вводить в дозе от 1 до 300 мкг/кг (*например*, от 1 мкг/кг до 200 мкг/кг или от 1 мкг/кг до 100 мкг/кг).

Варианты осуществления пептидов формулы (III) являются такими, как рассмотрено выше. Например, в некоторых вариантах осуществления в случае пептида формулы (III) с не равняется 0. В некоторых вариантах осуществления один или оба конца пептида формулы (III) не включают алкильную группу (*например*, алкильную группу, содержащую от 3 до 36 углеродных звеньев). В некоторых вариантах осуществления один или оба конца пептида формулы (III) не включают алкильную группу, содержащую от 3 до 36 углеродных

звеньев, нитрилотрехуксусную кислоту, имидодиуксусную кислоту или один или несколько гистидиновых остатков. В некоторых вариантах осуществления пептид формулы (III) не предусматривает пептид, где U представляет собой Gly и/или His, и с представляет собой целое число от 1-6, при этом пептид необязательно включает концевую алкильную группу. В некоторых вариантах осуществления (U)_c в пептиде формулы (III) не включает Leu, Phe, Tyr, Trp, Pro, Gly-Gly, Leu-Leu, Gly-Pro, саркозил-Gly и/или Gly-Gly-Gly.

В некоторых вариантах осуществления способ лечения субъекта с фиброзом печени, циррозом, портальной гипертензией, асцитом, варикозным расширением вен пищевода, варикозным расширением вен фундального отдела желудка, кровотечением, средним значением артериального давления, составляющим менее 95 мм рт. ст., гепаторенальным синдромом или любой их комбинацией предусматривает введение терапевтически эффективной дозы фармацевтической композиции, содержащей агонист V1a, вводимой в течение 1-8 часов (*например*, предпочтительно в течение 1-3 часов), либо до, либо после (*например*, предпочтительно после) введения терапевтически эффективной дозы антагониста V2,

где агонист V1a предусматривает пептид формулы (IV),

[Mpa-Tyr-Phe-Gln-Asn-Cys-Pro-Lys(Z)_d-Gly-NH₂] [SEQ ID NO. 4]

(IV),

или его фармацевтически эффективную соль,

где остатки Mpa и Cys ковалентно связаны дисульфидной связью,

Z представляет собой аминокислотный остаток и в каждом случае независимо выбран из Gly, D-Ala, L-Ala, D-Lys, L-Lys, D-Orn, L-Orn, D-Glu, L-Glu, D-Asp и L-Asp, и

d представляет собой количество аминокислотных остатков Z и является целым числом от 0 до 5; и

где антагонистом V2 является мозаваптан, толваптан, сложный фосфатный эфир толваптана, сатаваптан, ликсиваптан, кониваптан, RWJ-351647, VP-343, VP-393, [PmP1, D-Ile2, Ile4, Arg8, Ala9]-вазопрессин, [PmP1, D-Ile2, Ile4, Arg8]-вазопрессин и/или [PmP1, D-Ile2, Ile4, Arg8, Ala9]-вазопрессин-(1-8)-ОН.

В некоторых вариантах осуществления способ лечения субъекта с фиброзом печени, циррозом, портальной гипертензией, асцитом, варикозным расширением вен пищевода, варикозным расширением вен фундального отдела желудка, кровотечением, средним значением артериального давления, составляющим менее 95 мм рт. ст., гепаторенальным синдромом или любой их комбинацией предусматривает введение терапевтически эффективной дозы фармацевтической композиции, содержащей агонист V1a, с последующим введением спустя 2-8 часов терапевтически эффективной дозы антагониста V2,

где агонист V1a предусматривает пептид формулы (III),

[(U)_c-Cys-Tyr-Phe-Gln-Asn-Cys-Pro-Lys-Gly-NH₂] [SEQ ID NO. 7]

(III),

или его фармацевтически эффективную соль,

где 2 остатка Cys ковалентно связаны дисульфидной связью,

U представляет собой аминокислотный остаток и в каждом случае независимо выбран из Gly, L-Ala, D-Ala, L-Lys, D-Lys, L-Orn, D-Orn, L-Glu, D-Glu, L-Asp и D-Asp, и с представляет собой количество аминокислотных остатков U и является целым числом от 0 до 10; и

где антагонистом V2 является мозаваптан, толваптан, сложный фосфатный эфир толваптана, сатаваптан, ликсиваптан, кониваптан, RWJ-351647, VP-343, VP-393, [PmP1, D-Ile2, Ile4, Arg8, Ala9]-вазопрессин, [PmP1, D-Ile2, Ile4, Arg8]-вазопрессин и/или [PmP1, D-Ile2, Ile4, Arg8, Ala9]-вазопрессин-(1-8)-ОН.

В некоторых вариантах осуществления способ лечения субъекта с фиброзом печени, циррозом, портальной гипертензией, асцитом, варикозным расширением вен пищевода, варикозным расширением вен фундального отдела желудка, кровотечением, средним значением артериального давления, составляющим менее 95 мм рт. ст., гепаторенальным синдромом или любой их комбинацией предусматривает введение терапевтически эффективной дозы фармацевтической композиции, содержащей агонист V1a, с последующим парентеральным введением спустя 2-8 часов толваптана в дозе от 1 до 300 мкг/кг (*например*, от 1 мкг/кг до 200 мкг/кг или от 1 мкг/кг до 100 мкг/кг),

где агонист V1a предусматривает пептид формулы (IV),

[Mpa-Tyr-Phe-Gln-Asn-Cys-Pro-Lys(Z)_d-Gly-NH₂] [SEQ ID NO. 4]

(IV),

или его фармацевтически эффективную соль,

где остатки Mpa и Cys ковалентно связаны дисульфидной связью,

Z представляет собой аминокислотный остаток и в каждом случае независимо выбран из Gly, D-Ala, L-Ala, D-Lys, L-Lys, D-Orn, L-Orn, D-Glu, L-Glu, D-Asp и L-Asp, и

d представляет собой количество аминокислотных остатков Z и является целым числом от 0 до 5.

В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение предусматривает способ лечения субъекта с фиброзом печени, циррозом, портальной гипертензией, асцитом, варикозным расширением вен пищевода, варикозным расширением вен фундального отдела желудка, кровотечением, средним значением артериального давления, составляющим менее 95 мм рт. ст., гепаторенальным синдромом или любой их комбинацией, включающий введение терапевтически эффективной дозы фармацевтической композиции, содержащей агонист V1a, с последующим парентеральным введением спустя 2-8 часов толваптана в дозе от 1 до 300 мкг/кг (*например*, от 1 мкг/кг до 200 мкг/кг или от 1 мкг/кг до 100 мкг/кг),

где агонист V1a предусматривает пептид формулы (III),

[(U)_c-Cys-Tyr-Phe-Gln-Asn-Cys-Pro-Lys-Gly-NH₂] [SEQ ID NO. 7]

(III),

или его фармацевтически эффективную соль,

где 2 остатка Cys ковалентно связаны дисульфидной связью,

U представляет собой аминокислотный остаток и в каждом случае независимо выбран из Gly, L-Ala, D-Ala, L-Lys, D-Lys, L-Orn, D-Orn, L-Glu, D-Glu, L-Asp и D-Asp, и с представляет собой количество аминокислотных остатков U и является целым числом от 0 до 10.

В любом из вышеуказанных способов введение может быть пероральным и/или парентеральным. В некоторых вариантах осуществления введение представляет собой парентеральное введение, такое как подкожное или внутривенное введение. В некоторых вариантах осуществления парентеральное введение представляет собой подкожное введение.

Примеры

Пример 1. Пептидный синтез для пептидов формулы (I).

Пептиды формулы (I) синтезировали посредством твердофазного пептидного синтеза (SPPS) с амидной смолой Ринка - ProTide (0,59 ммоль/г) в качестве исходной твердой подложки (СЕМ, Мэтьюз, Северная Каролина) в автоматическом микроволновом синтезаторе пептидов (LibertyBlue HT12, СЕМ, Мэтьюз, Северная Каролина). Применяли аминокислоты, защищенные Fmoc, включая Fmoc-Gly-OH (Combi-Blocks, Сан-Диего, Калифорния), Fmoc-Lys(dde)-OH (Combi-Blocks, Сан-Диего, Калифорния), Fmoc-Pro-OH (Combi-Blocks, Сан-Диего, Калифорния), Fmoc-Cys(Mmt)-OH, Fmoc-Asn(Trt)-OH (Combi-Blocks, Сан-Диего, Калифорния), Fmoc-Homogln(Trt)-OH (BLDPharm, Шанхай, Китай), Fmoc-Phe-OH (Combi-Blocks, Сан-Диего, Калифорния), Fmoc-Tyr(tBu)-OH (Combi-Blocks, Сан-Диего, Калифорния), Fmoc-12-Ado-OH (Combi-Blocks, Сан-Диего, Калифорния), MPA(Mmt)-OH (GL Biochem, Шанхай, Китай), Fmoc-L-Dab(Dde)-OH (BLDPharm, Шанхай, Китай), Fmoc-D-Dab(Dde)-OH (BLDPharm, Шанхай, Китай), Fmoc-L-Dap(Dde)-OH (BLDPharm, Шанхай, Китай), Fmoc-D-Dap(Dde)-OH (BLDPharm, Шанхай, Китай), Fmoc-L-Orn(Dde)-OH (BLDPharm, Шанхай, Китай), Fmoc-D-Orn(Dde)-OH (BLDPharm, Шанхай, Китай), Fmoc-D-Lys(Dde)-OH (BLDPharm, Шанхай, Китай), Fmoc-L-Ala-OH (BLDPharm, Шанхай, Китай), Fmoc-D-Ala-OH (BLDPharm, Шанхай, Китай), Fmoc-L-Glu(OtBu)-OH (BLDPharm, Шанхай, Китай), Fmoc-D-Glu(OtBu)-OH (BLDPharm, Шанхай, Китай), Fmoc-L-Asp(OtBu)-OH (BLDPharm, Шанхай, Китай), Fmoc-D-Asp(OtBu)-OH (BLDPharm, Шанхай, Китай), Fmoc-L-Lys(Boc)-OH (BLDPharm, Шанхай, Китай), Fmoc-D-Lys(Boc)-OH (BLDPharm, Шанхай, Китай), Fmoc-L-Orn(Boc)-OH (BLDPharm, Шанхай, Китай), Fmoc-D-Orn(Boc)-OH (BLDPharm, Шанхай, Китай) и Fmoc-Gly-Gly-OH (BLDPharm, Шанхай, Китай). Каждую аминокислоту последовательно закрепляли на пептидной смоле с применением химии Fmoc, так что получали линейный защищенный пептид на смоле. Затем в Dde-защищенной боковой цепи Lys (или B) селективно удаляли защитную группу в 2% гидразине в DMF, после чего снова проводили химию Fmoc, что приводило к получению защищенного разветвленного пептида на смоле. Затем в Mmt-защищенных боковых цепях цистеина и 3-меркаптопропионовой кислоты селективно удаляли защитную группу в 2% TFA в DCM с последующим образованием дисульфидной связи на смоле с применением N-хлорсукцинимидом. Циклизированный неочищенный пептид получали

посредством ацидолиза с трифторуксусной кислотой в присутствии акцепторов карбокатионов и посредством осаждения простым эфиром. Наконец, пептид очищали и подвергали анализу с помощью HPLC с обращенной фазой (1260 Infinity II Preparative LC Systems, Санта-Клара, Калифорния) с применением следующих способов.

Таблица 1. Параметры препаративной HPLC

Способ: препаративная HPLC		
Параметр	Значение	
Объем введения	4,5 мл	
Скорость потока	35,0 мл/мин.	
Подвижная фаза А	Ацетонитрил (с _{ан}), 0,1% трифторуксусная кислота (TFA)	
Подвижная фаза В	10% ACN, 0,1% TFA в воде	
Колонка	Waters XBridge, Prep C18 5 мкм OBD, 30×150 мм, P/N 186003284	
Держатель защитной колонки	30 мм Prep Guard Holder, P/N 186006912	
Защитная колонка	Waters XBridge, Prep C18 5 мкм, 30×10 мм защитный картридж, P/N 186006893	
Температура колонки	Температура окружающей среды	
Обнаружение	280 нм	
Время анализа	19 минут	
Градиент		
Время (минуты)	%А	%В
0,0	0	100
1,0	0	100
12,8	22	78
13,1	89	11
15,5	89	11
15,6	0	100
19,0	0	100

Затем фракции собирали и лиофилизировали в виде белого порошка. Массу пептида определяли с применением системы Agilent LCMS (6100 Series Single Quadrupole LC/MS, Санта-Клара, Калифорния) при следующих условиях градиента.

Таблица 2А. Параметры аналитической HPLC/MS.

Способ: аналитическая HPLC/MS	
Объем введения	Величина
Скорость потока	1,0 мл/мин.

Подвижная фаза А	Вода, 0,5% уксусная кислота	
Подвижная фаза В	ACN, 0,5% уксусная кислота	
Колонка	Waters XBridge, Prep C18 5 мкм OBD, 4,6×100 мм, P/N 186003115	
Защитная колонка	Waters XBridge C18 VanGuard Cartridge, 130 Å, 5 мкм, 3,9 мм x 5 мм, P/N 186007771	
Температура колонки	Температура окружающей среды	
Обнаружение	220 нм	
Время анализа	11 минут	
Градиент		
Время (минуты)	%А	%В
0,0	90	10
1,0	90	10
6,0	40	60
6,5	10	90
8,0	10	90
8,5	90	10
11,0	90	10
LC-MS		
Параметр	Значение	
Режим	Положительный	
Источник ионов	API-ES	
Капиллярное напряжение	4000 В	
Диапазон масс	От 100 до 2000 D	
Фрагментор	80	
Усиление	1,00	
Скорость	2600 мкл/с	

Таблица 2В. Дополнительные параметры аналитической HPLC/MS.

Способ: аналитическая HPLC	
Объем введения	5 мкл
Скорость потока	0,5 мл/мин.
Подвижная фаза А	Вода, 0,1% трифторуксусная кислота
Подвижная фаза В	ACN, 0,1% трифторуксусная кислота

Колонка	Waters XSelect Peptide CSH C18, 130 A, 3,5 мкм, 2,1 мм x 150 мм, P/N 186006952	
Температура колонки	60°C	
Обнаружение	220 нм	
Время анализа	52 минуты	
Градиент		
Время (минуты)	%А	%В
0,0	95	5
5,0	95	5
35,0	70	30
45,5	10	90
46,0	10	90
46,1	95	5
52,0	95	5

Пептид, имеющий последовательность [Mpa-Tyr-Phe-Hgn-Asn-Cys-Pro-B(X)_a-Gly [SEQ ID NO. 8]; с дисульфидной связью между Mpa и Cys] с солью TFA, где В представляет собой Lys, X представляет собой остаток Gly, и а равняется 1, синтезировали и очищали с применением общего способа, описанного в примере по настоящему изобретению. Анализ данного пептида с помощью HPLC показывает время удерживания 21,615 минуты и чистоту 92%. Эмпирическая формула была C₄₉H₆₉N₁₃O₁₃S₂ и теоретический моноизотопный вес составлял 1111,5. Масса, обнаруженная в LCMS [M+H]⁺ с применением способа, описанного в данном документе, составляла 1112,5.

Пептид, имеющий последовательность [Mpa-Tyr-Phe-Hgn-Asn-Cys-Pro-B(X)_a-Gly [SEQ ID NO. 9]; с дисульфидной связью между Mpa и Cys] с солью TFA, где В представляет собой Lys, где X представляет собой Gly, и а равняется 2, синтезировали и очищали с применением общего способа, описанного в примере по настоящему изобретению. Анализ данного пептида с помощью HPLC показывает пик со временем удерживания 21,515 минуты при 94% чистоте. Эмпирическая формула была C₅₁H₇₂N₁₄O₁₄S₂ и теоретический моноизотопный вес составлял 1168,5. Масса, обнаруженная в LCMS [M+H]⁺ с применением способа, описанного в данном документе, составляла 1169,5.

Пептид, имеющий последовательность [Mpa-Tyr-Phe-Hgn-Asn-Cys-Pro-B(X)_a-Gly [SEQ ID NO. 10], с дисульфидной связью между Mpa и Cys] с солью TFA, где В представляет собой Lys, X представляет собой Gly, и а равняется 3, синтезировали и очищали с применением общего способа, описанного в примере по настоящему изобретению. Анализ данного пептида с помощью HPLC показывает пик со временем удерживания 21,355 минуты при 95% чистоте. Эмпирическая формула была C₅₃H₇₅N₁₅O₁₅S₂ и теоретический моноизотопный вес составлял 1226,4. Масса, обнаруженная в LCMS

[M+H]⁺ с применением способа, описанного в данном документе, составляла 1227,5.

Пептид, имеющий последовательность [Mpa-Tyr-Phe-Hgn-Asn-Cys-Pro-B(X)_a-Gly [SEQ ID NO. 11], с дисульфидной связью между Mpa и Cys] с солью TFA, где B представляет собой Lys, X представляет собой Gly, и a равняется 4, синтезировали и очищали с применением общего способа, описанного в примере по настоящему изобретению. Анализ данного пептида с помощью HPLC показывает время удерживания 21,281 минуты при 91% чистоте. Эмпирическая формула была C₅₅H₇₈N₁₆O₁₆S₂ и теоретический моноизотопный вес составлял 1282,5. Масса, обнаруженная в LCMS [M+H]⁺ с применением способа, описанного в данном документе, составляла 1283,5.

Пептид, имеющий последовательность [Mpa-Tyr-Phe-Hgn-Asn-Cys-Pro-B(X)_a-Gly [SEQ ID NO. 12], с дисульфидной связью между Mpa и Cys] с солью TFA, где B представляет собой Lys, X представляет собой Gly, и a равняется 5, синтезировали и очищали с применением общего способа, описанного в примере по настоящему изобретению. Анализ вышеуказанного пептида с помощью HPLC показывает время удерживания 20,959 минуты при 93% чистоте. Эмпирическая формула была C₅₇H₈₁N₁₇O₁₇S₂ и теоретический моноизотопный вес составлял 1339,5. Масса, обнаруженная в LCMS [M+H]⁺ с применением способа, описанного в данном документе, составляла 1340,5.

Пептид, имеющий последовательность [Mpa-Tyr-Phe-Hgn-Asn-Cys-Pro-B(X)_a-Gly [SEQ ID NO. 13], с дисульфидной связью между Mpa и Cys] с солью TFA, где B представляет собой Lys, X представляет собой Gly, и a равняется 6, синтезировали и очищали с применением общего способа, описанного в примере по настоящему изобретению. Анализ вышеуказанного пептида с помощью HPLC показывает время удерживания 20,73 минуты при 90% чистоте. Эмпирическая формула была C₅₉H₈₄N₁₈O₁₈S₂ и теоретический моноизотопный вес составлял 1396,5. Масса, обнаруженная в LCMS: [M+H]⁺ с применением способа, описанного в данном документе, =1397,5.

Пептид, имеющий последовательность [Mpa-Tyr-Phe-Hgn-Asn-Cys-Pro-B(X)_a-Gly [SEQ ID NO. 14], с дисульфидной связью между Mpa и Cys] с солью TFA, где B представляет собой Lys, X представляет собой Gly, и a равняется 7, синтезировали и очищали с применением общего способа, описанного в примере по настоящему изобретению. Данный анализ вышеуказанного пептида с помощью HPLC показывает время удерживания 20,988 минуты при 89% чистоте. Эмпирическая формула была C₆₁H₈₇N₁₉O₁₉S₂ и теоретический моноизотопный вес составлял 1453,5. Масса, обнаруженная в LCMS [M+H]⁺ с применением способа, описанного в данном документе, составляла 1454,5.

Пептид, имеющий последовательность [Mpa-Tyr-Phe-Hgn-Asn-Cys-Pro-B(X)_a-Gly [SEQ ID NO. 15], с дисульфидной связью между Mpa и Cys] с солью TFA, где B представляет собой Lys, X представляет собой Gly, и a равняется 8, синтезировали и очищали с применением общего способа, описанного в примере по настоящему изобретению. Анализ вышеуказанного пептида с помощью HPLC показывает время удерживания 20,836 минуты при 87% чистоте. Эмпирическая формула была C₆₃H₉₀N₂₀O₂₀S₂ и теоретический моноизотопный вес составлял 1510,6. Масса, обнаруженная в LCMS

$[M+H]^+$ с применением способа, описанного в данном документе, составляла 1511,6.

Пептид, имеющий последовательность [Mpa-Tyr-Phe-Hgn-Asn-Cys-Pro-B(X)_a-Gly [SEQ ID NO. 16], с дисульфидной связью между Mpa и Cys] с солью TFA, где B представляет собой Lys, X представляет собой Gly, и "a" равняется 9, синтезировали и очищали с применением общего способа, описанного в примере по настоящему изобретению. Анализ вышеуказанного пептида с помощью HPLC показывает время удерживания 20,729 минуты при 86% чистоте. Эмпирическая формула была C₆₅H₉₃N₂₁O₂₁S₂ и теоретический моноизотопный вес составлял 1567,6. Масса, обнаруженная в LCMS $[M+H]^+$ с применением способа, описанного в данном документе, составляла 1568,6.

Пептид, имеющий последовательность [Mpa-Tyr-Phe-Hgn-Asn-Cys-Pro-B(X)_a-Gly [SEQ ID NO. 17], с дисульфидной связью между Mpa и Cys] с солью TFA, где B представляет собой Dar, где "a" равняется 0, синтезировали и очищали с применением общего способа, описанного в примере по настоящему изобретению. Анализ вышеуказанного пептида с помощью HPLC показывает время удерживания 20,981 минуты при 86% чистоте. Эмпирическая формула была C₄₄H₆₀N₁₂O₁₂S₂ и теоретический моноизотопный вес составлял 1012,4. Масса, обнаруженная в LCMS $[M+H]^+$ с применением способа, описанного в данном документе, составляла 1013,4.

Пептид, имеющий последовательность [Mpa-Tyr-Phe-Hgn-Asn-Cys-Pro-B(X)_a-Gly [SEQ ID NO. 18], с дисульфидной связью между Mpa и Cys] с солью TFA, где B представляет собой d-Lys, где "a" равняется 0, синтезировали и очищали с применением общего способа, описанного в примере по настоящему изобретению. Анализ вышеуказанного пептида с помощью HPLC показывает время удерживания 21,382 минуты при 91% чистоте. Эмпирическая формула была C₄₇H₆₆N₁₂O₁₂S₂ и теоретический моноизотопный вес составлял 1054,4. Масса, обнаруженная в LCMS $[M+H]^+$ с применением способа, описанного в данном документе, составляла 1055,5.

Пептид, имеющий последовательность [Mpa-Tyr-Phe-Hgn-Asn-Cys-Pro-B(X)_a-Gly [SEQ ID NO. 19], с дисульфидной связью между Mpa и Cys] с солью TFA, где B представляет собой Lys; где "(X)" представляет собой 12-аминододекановую кислоту, и "a" равняется 1, синтезировали и очищали с применением общего способа, описанного в примере по настоящему изобретению. Анализ вышеуказанного пептида с помощью HPLC показывает время удерживания 31,354 минуты при 91% чистоте. Эмпирическая формула была C₅₉H₈₉N₁₃O₁₃S₂ и теоретический моноизотопный вес составлял 1251,6. Масса, обнаруженная в LCMS $[M+H]^+$ с применением способа, описанного в данном документе, составляла 1252,5.

Пример 2. Пептидный синтез для пептидов формулы (II) и (IV).

Пептиды формулы (II) и формулы (IV) синтезировали посредством твердофазного пептидного синтеза (SPPS) с амидной смолой Ринка - ProTide (0,59 ммоль/г) в качестве исходной твердой подложки (СЕМ, Мэтьюз, Северная Каролина) в автоматическом микроволновом синтезаторе пептидов (LibertyBlue HT12, СЕМ, Мэтьюз, Северная Каролина). Применяли аминокислоты, защищенные Fmoc, включая Fmoc-Gly-OH (Combi-

Blocks, Сан-Диего, Калифорния), Fmoc-Lys(dde)-OH (Combi-Blocks, Сан-Диего, Калифорния), Fmoc-Pro-OH (Combi-Blocks, Сан-Диего, Калифорния), Fmoc-Cys(Mmt)-OH (Combi-Blocks, Сан-Диего, Калифорния), Fmoc-Asn(Trt)-OH, (Combi-Blocks, Сан-Диего, Калифорния) Fmoc-Gln(Trt)-OH (Combi-Blocks, Сан-Диего, Калифорния), Fmoc-Phe-OH (Combi-Blocks, Сан-Диего, Калифорния), Fmoc-Tyr(tBu)-OH (Combi-Blocks, Сан-Диего, Калифорния), MPA(Mmt)-OH (GL Biochem, Шанхай, Китай), Fmoc-Gly-Gly-OH (BLDPharm, Шанхай, Китай), Fmoc-L-Orn(Dde)-OH (BLDPharm, Шанхай, Китай), Fmoc-D-Orn(Dde)-OH (BLDPharm, Шанхай, Китай), Fmoc-D-Lys(Dde)-OH (BLDPharm, Шанхай, Китай), Fmoc-L-Ala-OH (BLDPharm, Шанхай, Китай), Fmoc-D-Ala-OH (BLDPharm, Шанхай, Китай), Fmoc-L-Glu(OtBu)-OH (BLDPharm, Шанхай, Китай), Fmoc-D-Glu(OtBu)-OH (BLDPharm, Шанхай, Китай), Fmoc-L-Asp(OtBu)-OH (BLDPharm, Шанхай, Китай), Fmoc-D-Asp(OtBu)-OH (BLDPharm, Шанхай, Китай), Fmoc-L-Lys(Вос)-OH (BLDPharm, Шанхай, Китай), Fmoc-D-Lys(Вос)-OH (BLDPharm, Шанхай, Китай), Fmoc-L-Orn(Вос)-OH (BLDPharm, Шанхай, Китай) и Fmoc-D-Orn(Вос)-OH (BLDPharm, Шанхай, Китай). Каждую аминокислоту последовательно закрепляли на пептидной смоле с применением химии Fmoc, так что получали линейный защищенный пептид на смоле. Затем в боковой цепи Lys селективно удаляли защитную группу в 2% гидразине в DMF, после чего снова проводили химию Fmoc, что приводило к получению защищенного разветвленного пептида на смоле. Затем в боковых цепях цистеина и 3-меркаптопропионовой кислоты селективно удаляли защитную группу в 2% TFA в DCM с последующим образованием дисульфидной связи на смоле с применением N-хлорсукцинимид. Циклизированный неочищенный пептид получали посредством ацидолиза с трифторуксусной кислотой в присутствии акцепторов карбокатионов и посредством осаждения простым эфиром. Наконец, пептид очищали и подвергали анализу с помощью HPLC с обращенной фазой с применением способа в примере 1 и затем лиофилизировали в виде белого порошка. Массу пептида определяли с помощью системы Agilent LCMS с применением того же способа LCMS, что и в примере 1.

Пептид, имеющий последовательность [Mpa-Tyr-Phe-Gln-Asn-Cys-Pro-Lys(X)_a-Gly [SEQ ID NO. 20], с дисульфидной связью между Mpa и Cys] с солью TFA, где X представляет собой Gly, и a равняется 6, синтезировали и очищали с применением общего способа, описанного в примере по настоящему изобретению. Анализ данного пептида с помощью HPLC показывает время удерживания 20,624 минуты при 96% чистоте. Эмпирическая формула была C₅₈H₈₂N₁₈O₁₈S₂ и теоретический моноизотопный вес составлял 1382,5. Масса, обнаруженная в LCMS [M+H]⁺ с применением способа, описанного в примере 1, составляла 1383,5.

Пептид, имеющий последовательность [Mpa-Tyr-Phe-Gln-Asn-Cys-Pro-Lys(X)_a-Gly [SEQ ID NO. 21], с дисульфидной связью между Mpa и Cys] с солью TFA, где X представляет собой Gly, и a равняется 7, синтезировали и очищали с применением общего способа, описанного в примере по настоящему изобретению. Анализ вышеуказанного пептида с помощью HPLC показывает время удерживания 20,495 минуты при 95% чистоте. Эмпирическая формула была C₆₀H₈₅N₁₉O₁₉S₂ и теоретический моноизотопный вес

составлял 1439,6. Масса, обнаруженная в LCMS: $[M+H]^+$ с применением способа, описанного в примере 1, составляла 1440,5.

Пептид, имеющий последовательность [Mpa-Tyr-Phe-Gln-Asn-Cys-Pro-Lys(X)_a-Gly [SEQ ID NO. 22], с дисульфидной связью между Mpa и Cys] с солью TFA, где X представляет собой Gly, и a равняется 8, синтезировали и очищали с применением общего способа, описанного в примере по настоящему изобретению. Анализ вышеуказанного пептида с помощью HPLC показывает время удерживания 21,121 минуты при 90% чистоте. Эмпирическая формула была C₆₂H₈₈N₂₀O₂₀S₂ и теоретический моноизотопный вес составлял 1496,6. Масса, обнаруженная в LCMS $[M+H]^+$ с применением способа, описанного в примере 1, составляла 1497,6.

Пептид, имеющий последовательность [Mpa-Tyr-Phe-Gln-Asn-Cys-Pro-Lys(X)_a-Gly [SEQ ID NO. 23], с дисульфидной связью между Mpa и Cys] с солью TFA, где

X представляет собой Gly, и a равняется 9, синтезировали и очищали с применением общего способа, описанного в примере по настоящему изобретению. Анализ вышеуказанного пептида с помощью HPLC показывает время удерживания 20,409 минуты при 93% чистоте. Эмпирическая формула была C₆₄H₉₁N₂₁O₂₁S₂ и теоретический моноизотопный вес составлял 1553,6. Масса, обнаруженная в LCMS $[M+H]^+$ с применением способа, описанного в примере 1, составляла 1554,6.

Пример 3. Пептиды формулы (I), где (X)_a представляет собой (Gly)₀₋₉ -- частичные агонисты

Пептиды формулы (I) включают Mpa-Tyr-Phe-Hgn-Asn-Cys-Pro-Lys(X)_a-Gly-NH₂ [SEQ ID NO. 24], где (X)_a представляет собой пептид с остатками "a", и каждый остаток X независимо выбран из Gly и D- или L- версии аминокислот Ala, Lys, Orn, Glu и Asp, где "a" равняется 0-10. Анализ потока кальция клеточного агониста V1a вазопрессина человека GPCR проводили в Eurofins Cerep SA (Франция) на платной основе. Рекombинантные клетки CHO, продуцирующие белки человека, экспрессирующие рецепторы V1 человека, распределяли по микропланшетам. Сигнал внутриклеточного кальция определяли с помощью флуориметрии, и сигнал регистрировали до и после добавления известной концентрации агониста. Тестировали следующие концентрации агониста (нМ); 0,0128, 0,064, 0,32, 1,6, 8, 40, 200 и 1000. Результаты выражены в процентах от 1000 нМ ответа агониста AVP. Все анализы проводили в двух повторностях. Изменения интенсивности флуоресценции отражали изменения концентрации свободного цитозольного кальция. Стандартным эталонным агонистом был AVP, и максимальная активность других агонистов выражена в процентах от максимальной активности AVP. Полумаксимальную эффективную концентрацию (EC50) определяли с помощью нелинейного регрессионного анализа кривых концентрация-ответ, полученных со средними повторными значениями с применением уравнения подбора кривой Hill (Cerep, l'Evescault, France). На фигуре 2 продемонстрирован пример графических данных и краткое описание иллюстративных видов формулы (I), также обобщенных в таблице 3. Все виды являются частичными агонистами.

Таблица 3. Свойства пептидов (пептиды формулы (I) являлись частичными агонистами)

Пептиды (все с внутримолекулярной дисульфидной связью)	Расчетное значение EC50 для V1a (нМ); n=2	Наивысший агонистический эффект в отношении V1a (% от AVP); n=2
Аргинин-вазопрессин (AVP)	0,42	100
Лизин-вазопрессин (LVP)	1,65	92,1
Мра-Тур-Фе-Нгн-Асн-Сис-Про-Лис-Гли-NH ₂ [SEQ ID NO. 25]	5,2	42,8
Мра-Тур-Фе-Нгн-Асн-Сис-Про-Лис(X)-Гли-NH ₂ ; X=Gly [SEQ ID NO. 8]	25,3	40,3
Мра-Тур-Фе-Нгн-Асн-Сис-Про-Лис(X) _a -Гли-NH ₂ ; (X) _a =(Gly) ₂ [SEQ ID NO. 9]	38,2	37,0
Мра-Тур-Фе-Нгн-Асн-Сис-Про-Лис(X) _a -Гли-NH ₂ ; (X) _a =(Gly) ₃ [SEQ ID NO. 10]	53,5	32,9
Мра-Тур-Фе-Нгн-Асн-Сис-Про-Лис(X) _a -Гли-NH ₂ ; (X) _a =(Gly) ₄ [SEQ ID NO. 11]	160,8	33,6
Мра-Тур-Фе-Нгн-Асн-Сис-Про-Лис(X) _a -Гли-NH ₂ ; (X) _a =(Gly) ₅ [SEQ ID NO. 12]	50,1	29,6
Мра-Тур-Фе-Нгн-Асн-Сис-Про-Лис(X) _a -Гли-NH ₂ ; (X) _a =(Gly) ₆ [SEQ ID NO. 13]	45,9	28,2
Мра-Тур-Фе-Нгн-Асн-Сис-Про-Лис(X) _a -Гли-NH ₂ ; (X) _a =(Gly) ₇ [SEQ ID NO. 14]	30,9	26,1
Мра-Тур-Фе-Нгн-Асн-Сис-Про-Лис(X) _a -Гли-NH ₂ ; (X) _a =(Gly) ₈ [SEQ ID NO. 15]	225,7	24,8
Мра-Тур-Фе-Нгн-Асн-Сис-Про-Лис(X) _a -Гли-NH ₂ ; (X) _a =(Gly) ₉ [SEQ ID NO. 16]	104,8	28,1
Мра-Тур-Фе-Нгн-Асн-Сис-Про-Лис(X) _a -Гли-NH ₂ ; (X) _a =(Gly) ₉ -Ас [SEQ ID NO. 26]	Низкая эффективность >>10 мкМ*	40
Мра-Тур-Фе-Нгн-Асн-Сис-Про-Лис(X) _a -Гли-NH ₂ ; (X) _a =лауриновая кислота [SEQ ID NO. 27]	Низкая эффективность >>10 мкМ	Неактивный

Mpa-Tyr-Phe-Hgn-Asn-Cys-Pro-Lys(X) _a -Gly-NH ₂ ; (X) _a =Ac [SEQ ID NO. 28]	Низкая эффективность >>10 мкМ*	30
Mpa-Tyr-Phe-Hgn-Asn-Cys-Pro-Lys(X) _a -Gly-NH ₂ ; (X) _a =Dap [SEQ ID NO. 29]	1,34 мкМ	7,5
Mpa-Tyr-Phe-Hgn-Asn-Cys-Pro-Dap-Gly-NH ₂ [SEQ ID NO. 17]	Низкая эффективность >>10 мкМ *	3,5 (неактивный in vitro)
Mpa-Tyr-Phe-Hgn-Asn-Cys-Pro-dLys-Gly-NH ₂ (примечание: dLys=D-Lys) [SEQ ID NO. 18]	Низкая эффективность >>10 мкМ *	0,20 (неактивный in vitro)
Mpa-Tyr-Phe-Hgn-Asn-Cys-Pro-Lys(12- аминододекановая кислота)-Gly-NH ₂ [SEQ ID NO. 19]	Низкая эффективность >>10 мкМ *	2,5 (неактивный in vitro)
*Любая активность ниже 5% при концентрации насыщения (<i>m. e.</i> , >100 нМ) считается неактивной <i>in vitro</i> , но может активироваться <i>in vivo</i> (<i>m. e.</i> , по сути в виде пролекарственного средства).		

Пример 4. Пептиды формулы (II), когда (X)_a представляет собой (Gly)₆ или (Gly)₉; частичный агонист (таблица 4).

Анализ потока кальция клеточного агониста V1a вазопрессина человека GPCR проводили с применением рекомбинантных клеток CHO, продуцирующих белки человека, экспрессирующих рецептор V1 человека. Вкратце, рекомбинантные клетки CHO, продуцирующие белки человека, экспрессирующие рецептор V1 человека, распределяли по микропланшетам по 4,5×10⁴ клеток/лунка. Затем в каждую лунку добавляют флуоресцентный зонд (Fluo4 Direct, Invitrogen), смешанный с пробеницидом в HBSS буфере (Invitrogen), дополненный 20 мМ HEPES (Invitrogen) (pH 7,4) и уравнивают с клетками в течение 60 минут при 37°C, затем 15 минут при 22°C. После этого аналитические планшеты помещают в микропланшет-ридер (CellLux, PerkinElmer), который применяют для добавления тестируемого соединения, эталонного агониста или HBSS буфера (основной контроль) и измерений изменений интенсивности флуоресценции, которая меняется пропорционально концентрации свободного цитозольного иона Ca²⁺. Тестировали следующие концентрации агониста (нМ), 0,0128, 0,064, 0,32, 1,6, 8, 40, 200 и 1000. Результаты выражали в процентах от 1000 нМ ответа агониста AVP. Все анализы проводили в двух повторностях. Изменения интенсивности флуоресценции отражали изменения концентрации свободного цитозольного кальция. Стандартным эталонным агонистом был AVP, и максимальную активность других агонистов выражали в процентах от максимальной активности AVP. Ссылаясь на фигуру 3 и таблицу 4, полумаксимальную

эффективную концентрацию (EC50) определяли с помощью нелинейного регрессионного анализа кривых концентрация-ответ, полученных со средними повторными значениями с применением уравнения подбора кривой Хилла (Cerep, l'Evescault, France).

Таблица 4. Свойства пептида

Пептиды	Расчетное значение EC50 для V1a (нМ); n=2	Наивысший агонистический эффект в отношении V1a (% от AVP); n=2
Аргинин-вазопрессин (AVP)	0,42	100
Лизин-вазопрессин (LVP)	1,65	92,1
Мра-Тур-Рhe-Gln-Asn-Cys-Pro-Lys(X) _a -Gly-NH ₂ ; (X) _a =(Gly) ₆ [SEQ ID NO. 20]	27,3	60,9
Мра-Тур-Рhe-Gln-Asn-Cys-Pro-Lys(X) _a -Gly-NH ₂ ; (X) _a =(Gly) ₉ [SEQ ID NO. 23]	12,6	55,9

Пример 5. Комбинированная терапия толваптаном и терлипрессинном при острой диуретической активности у крыс линии Wistar (таблица 5)

В данном исследовании крыс-самцов линии Wistar (~8 недель; Envigo; Сомерсет, Нью-Джерси) не кормили в течение ночи (18 часов; свободный доступ к воде) с последующей обработкой солевым раствором в дозе 20 мл/кг через желудочный зонд для равномерной гидратации всех животных. Затем животных обрабатывали терлипрессинном (Bachem, Торранс, Калифорния), толваптаном (Fisher Scientific, Уолтем, Массачусетс) и комбинацией этих двух соединений в разных концентрациях, вводимых подкожно (n=4). Тестируемые образцы: терлипрессин 0,05 мг/кг и 0,15 мг/кг, толваптан 0,3 мг/кг и 1,0 мг/кг, терлипрессин 0,05 мг/кг+толваптан 0,3 мг/кг, терлипрессин 0,05 мг/кг+толваптан 1,0 мг/кг, терлипрессин 0,15 мг/кг+толваптан 0,3 мг/кг и терлипрессин 0,15 мг/кг+1,0 мг/кг. Фуросемид (Fisher Scientific, Уолтем, Массачусетс) применяли в качестве положительного контроля и вводили в дозе 20 мг/кг через желудочный зонд. Включали группу с контрольной дозой среды-носителя (9% tween 80; Fisher Scientific, Уолтем, Массачусетс), вводимой подкожно, и полученные данные вычитали из данных отдельных тестируемых образцов. После введения дозы животных помещали в метаболические клетки (Tecniplast; Провинция Варезе, Италия) и собирали мочу и проводили измерение через 2, 4 и 8 часов после введения дозы тестируемых образцов. Объемы мочи делили на вес тела (до введения дозы), умноженный на 100, чтобы выразить в мл/100 г веса тела. В таблице 4 показано, что при низкой подкожной дозе толваптана (0,3 мг/кг) соотношения массы терлипрессина к массе толваптана от 1:2 до 1:6 комбинаций являются предпочтительными и оказывают аддитивный эффект на общий объем мочи и сравнимы с объединенным общим объемом мочи при введении независимо. Высокая доза толваптана и соотношение от 1:7 до 1: 20 обладают вычитающим эффектом на общий объем мочи и меньше чем объединенный

общий объем при введении независимо. Однако, при любом соотношении доза толваптана приблизительно 0,3 мг/кг (т. е., 0,3+0,05 мг/кг), вводимая крысам (аллометрически эквивалентная приблизительно 2-5 мг/человек в зависимости от веса), является идеальной дозой, которая при объединении с композицией по настоящему изобретению обеспечивает более 50% суммарного отдельного диуретического эффекта при введении отдельно. Считается, что низкая доза 0,3 мг/кг подкожного толваптана в 13 раз ниже эффективной безопасной дозы для человека, что обеспечивает дополнительное преимущество для пациентов с заболеванием печени. Это может увеличить среднее артериальное кровяное давление (МАР), что является эффектом V1a, обусловленным композицией по настоящему изобретению, при этом поддерживая значительный (по меньшей мере 50% суммарного отдельного диуретического эффекта при введении отдельно) эффект обоих.

Таблица 5. Весовые соотношения терлипессина и толваптана от 1:2 до 1:6 (но не другие соотношения) оказывают аддитивный эффект на общий объем мочи и сравнимы с объединенным общим объемом при введении независимо, что позволяет снизить гепатотоксичную дозу толваптана.

Тестируемые образцы	Толваптан: соотношение тестируемых образцов вес:вес	Среднее количество мл мочи на 100 граммов веса тела за 8 часов, совокупно (n=4) минус 0,92 мл группы со средой- носителем (Tween 80) (0,15; SEM; n=4)
Терлипессин 0,05	N/A	0,70(0,17)
Терлипессин 0,15	N/A	1,32 (0,23)
Толваптан 0,3	N/A	0,65 (0,16)
Толваптан 1,0	N/A	7,29 (0,46)
Терлипессин 0,05: Толваптан 0,3 вес/вес 1:6	1:6	1,41 (0,21)
Терлипессин 0,05: Толваптан 1,0 вес/вес 1:20	1:20	3,01 (0,19)
Терлипессин 0,15: Толваптан 0,3 вес/вес 1:2	1:2	1,84 (0,09)
Терлипессин 0,15: Толваптан 1,0 вес/вес 1:7	1:7	2,61 (0,09)
Фуросемид 20 (пероральный)	N/A	1,73 (0,22)

Пример 6. Комбинированная терапия толваптаном и пептидами формулы (II) и (IV) при острой диуретической активности у крыс линии Wistar (таблица 6)

В данном исследовании крыс-самцов линии Wistar (~8 недель; Envigo; Сомерсет,

Нью-Джерси) не кормили в течение ночи (18 часов; свободный доступ к воде) с последующей обработкой солевым раствором в дозе 20 мл/кг через желудочный зонд для равномерной гидратации всех животных. Затем животных обрабатывали разными концентрациями тестируемых образцов, вводимых подкожно (n=4) (таблица 5). Включали группу с контрольной дозой среды-носителя (9% tween 80; Fisher Scientific, Уолтем, Массачусетс), вводимой подкожно, и полученные данные вычитали из данных отдельных тестируемых образцов. После введения дозы животных помещали в метаболические клетки (Tecniplast; Провинция Варезе, Италия) и собирали мочу и проводили измерение через 2, 4 и 8 часов после введения дозы тестируемых образцов. Объемы мочи делили на вес тела (до введения дозы), умноженный на 100, чтобы выразить в мл/100 г веса тела. В таблице 4 показано, что при низкой подкожной дозе толваптана (0,3 мг/кг) соотношения массы терлипессина к массе толваптана от 1:2 до 1:6 комбинаций являются предпочтительными и оказывают аддитивный эффект на общий объем мочи и сравнимы с объединенным общим объемом мочи при введении независимо. Высокая доза толваптана и соотношение от 1:7 до 1:20 обладают вычитающим эффектом на общий объем мочи и меньше чем объединенный общий объем при введении независимо. Однако, при любом соотношении доза толваптана приблизительно 0,3 мг/кг (*m. e.*, 0,3+0,05 мг/кг), вводимая крысам (аллометрически эквивалентная приблизительно 2-7 мг/человек в зависимости от веса человека), является идеальной дозой, которая при объединении с композицией по настоящему изобретению обеспечивает более 50% суммарного отдельного диуретического эффекта при введении отдельно. Считается, что низкая доза 0,3 мг/кг подкожного толваптана в 13 раз ниже эффективной безопасной дозы для человека, что обеспечивает дополнительное преимущество для пациентов с заболеванием печени. Это может увеличить среднее артериальное кровяное давление (МАР), что является эффектом V1a, обусловленным композицией по настоящему изобретению, при этом поддерживая значительный (по меньшей мере 50% суммарного отдельного диуретического эффекта при введении отдельно) эффект обоих.

Таблица 6. Толваптан в дозе 0,3 мг/кг у крыс и несколько пептидов формулы (II) и (IV) при острой диуретической активности у крыс линии Wistar.

Тестируемые образцы	Толваптан: соотношени е формулы II вес:вес	Средний совокупный объем мочи за 8 часов: мл на 100 граммов веса тела (SEM; n=4) минус группа со средой- носителем Tween 80
Толваптан; 0,3 мг/кг	N/A	0,65 (0,16)
Мра-Тур-Phe-Gln-Asn-Cys-Pro-Lys-Gly- NH ₂ [SEQ ID NO. 32]; 0,005 мг/кг	N/A	0,80 (0,50)
Мра-Тур-Phe-Gln-Asn-Cys-Pro-Lys-Gly-	N/A	0,86 (0,28)

NH ₂ [SEQ ID NO. 32]; 0,015 мг/кг		
Мра-Тур-Фе-Глн-Асн-Сис-Про-Лис-Гли- NH ₂ [SEQ ID NO. 32]; 0,05 мг/кг	N/A	0,74 (0,55)
Мра-Тур-Фе-Глн-Асн-Сис-Про-Лис(X) _a - Гли-NH ₂ ; (X) _a =(Gly) ₅ [SEQ ID NO. 33]; 0,015 мг/кг	N/A	1,11 (0,11)
Мра-Тур-Фе-Глн-Асн-Сис-Про-Лис(X) _a - Гли-NH ₂ ; (X) _a =(Gly) ₅ [SEQ ID NO. 33]; 0,05 мг/кг	N/A	1,32 (0,09)
Мра-Тур-Фе-Глн-Асн-Сис-Про-Лис(X) _a - Гли-NH ₂ ; (X) _a =(Gly) ₅ [SEQ ID NO. 33]; 0,15 мг/кг	N/A	1,85 (0,20)
Толваптан: 0,3 мг/кг+Мра-Тур-Фе-Глн- Асн-Сис-Про-Лис-Гли-NH ₂ [SEQ ID NO. 32]: 0,005 мг/кг	1:60	0,97 (0,29)
Толваптан: 0,3 мг/кг+Мра-Тур-Фе-Глн- Асн-Сис-Про-Лис-Гли-NH ₂ [SEQ ID NO. 32]: 0,015 мг/кг	1:20	1,43 (0,14)
Толваптан: 0,3 мг/кг+Мра-Тур-Фе-Глн- Асн-Сис-Про-Лис-Гли-NH ₂ [SEQ ID NO. 32]: 0,05 мг/кг	1:6	0,48 (0,31)
Толваптан: 0,3 мг/кг+Мра-Тур-Фе-Глн- Асн-Сис-Про-Лис(X) _a -Гли-NH ₂ ; (X) _a =(Gly) ₅ [SEQ ID NO. 33]: 0,015 мг/кг	1:20	0,88 (0,04)
Толваптан: 0,3 мг/кг+Мра-Тур-Фе-Глн- Асн-Сис-Про-Лис(X) _a -Гли-NH ₂ ; (X) _a =(Gly) ₅ [SEQ ID NO. 33]: 0,05 мг/кг	1:6	1,66 (0,18)
Толваптан: 0,3 мг/кг+Мра-Тур-Фе-Глн- Асн-Сис-Про-Лис(X) _a -Гли-NH ₂ ; (X) _a =(Gly) ₅ [SEQ ID NO. 33]: 0,15 мг/кг	1:2	1,52 (0,04)

Пример 7. Композиции по настоящему изобретению характеризуются гораздо более высоким терапевтическим индексом, чем другие известные агонисты VIa.

В данном исследовании самцам крыс линии Sprague-Dawley (Charles River; Уилмингтон, Массачусетс) в возрасте от 8 до 10 недель под анестезией изофлураном (n=3 или 6) внутривенно (IV) или подкожно (SC) инъекцировали или вводили различные

тестируемые образцы. До введения тестируемых образцов область инъекции освобождали от шерсти, чтобы обеспечить четкую визуализацию места введения дозы, и измеряли и записывали вес животного. Животных содержали по двое на клетку. После каждой инъекции животных наблюдали по меньшей мере каждые 30 минут не более 8 часов и проверяли их на следующий день. Время начала и окончания проявления симптомов записывали и обобщенно приводили в таблице 6. Определение уровня, не дающего наблюдаемого эффекта (NOEL), представляет собой наивысшую дозу тестируемого образца, где у животного не проявлялись никаких симптомов в течение 24 ч. после инъекции по сравнению с контрольной группой, не получавшей обработки. Определение уровня воздействия, при котором не наблюдается вредный эффект (NOAEL), представляет собой наивысшую дозу тестируемого образца, где у животного наблюдалась бледность ушей после инъекции, но не наблюдалась вялость по сравнению с контрольной группой, не получавшей обработки. Определение легкого побочного эффекта представляет собой самую низкую дозу, где у животного проявлялась вялость в дополнение к бледности ушей по сравнению с контрольной группой, не получавшей обработки. Определение выраженного побочного эффекта представляет собой самую низкую дозу, где у животного проявлялась атаксия в дополнение к вялости и бледности ушей по сравнению с контрольной группой, не получавшей обработки. Вялость - это когда глаза животного не могут полностью открыться и сопровождается глубоким дыханием и ограничением движения даже в присутствии человека. Атаксия - это когда у животного наблюдается нарушение подвижности, что проявляется в том, что животное ложится на бок. Через 24 ч. не наблюдали ни одного из симптомов четырех классификаций, что указывает на то, что тестируемые образцы и/или активные единицы лекарственного средства, выводились/метаболизировались/распадались из системы/организма.

Таблица 7. Композиции по настоящему изобретению характеризуются гораздо более высоким терапевтическим индексом, чем другие известные агонисты V1a (* последний момент для наблюдения 24 часа спустя, клинические признаки вернулись к норме).

Терлипрессин (n=3)	Доза мг/кг I. V.	Бледность (Продолжительность, ч.; SD)	Вялость (продолжительность, ч.; SD)	Атаксия (продолжительность, ч.; SD)	NOAEL/NOEL
Наивысшая доза с уровнем, не дающим наблюдаемого эффекта или бледности	0,005	Не наблюдается	Не наблюдается	Не наблюдается	10

(NOEL)					
Наивысшая доза с уровнем воздействия, при котором не наблюдается вредный эффект (NOAEL), без вялости	0,05	Наблюдается (1,3 ± 0,05)	Не наблюдается	Не наблюдается	
Легкий побочный эффект (при самой низкой дозе сначала наблюдалась вялость)	0,15	Наблюдается (2,82± 0,03)	Наблюдается (0,66± 0,02)	Не наблюдается	
Выраженный побочный эффект (при самой низкой дозе сначала наблюдалась атаксия)	1,5	Наблюдается (3,56 ± 0,06)	Наблюдается (1,16 ± 0,06)	Наблюдается (0,58 ± 0,06)	
Мра-Тур-Phe-Hgn-Asn-Cys-Pro-Lys-Gly-NH2 [SEQ ID NO. 25]; (n=3)	Доза мг/кг S.C.	Бледность (Продолжительность, ч.; SD)	Вялость (продолжительность, ч.; SD)	Атаксия (продолжительность, ч.; SD)	NOAEL/NOEL
Наивысшая доза с уровнем, не дающим наблюдаемого эффекта или бледности	0,0015	Не наблюдается	Не наблюдается	Не наблюдается	10 (Более сильный и обладает биологической)

(NOEL)					активностью
Наивысшая доза с уровнем воздействия, при котором не наблюдается вредный эффект (NOAEL), без вялости	0,015	Наблюдается (3,78 ± 0,05)	Не наблюдается	Не наблюдается	в 3 раза дольше, чем терлипресси н)
Легкий побочный эффект (при самой низкой дозе сначала наблюдалась вялость)	0,05	Наблюдается (5,66± 0,83)	Наблюдается (1,49±0,37)	Не наблюдается	
Выраженный побочный эффект (при самой низкой дозе сначала наблюдалась атаксия)	0,15	Наблюдается (4,9 ± 0,05)	Наблюдается (2,98 ± 0,07)	Наблюдается (0,62 ± 0,04)	
Мра-Тур-Phe-Hgn-Asn-Cys-Pro-Lys(X) _a -Gly-NH ₂ ; (X) _a =(Gly) ₁ [SEQ ID NO. 8]; (n=3)	Доза мг/кг S.C.	Бледность (Продолжительность, ч.; SD)	Вялость (продолжительность, ч.; SD)	Атаксия (продолжительность, ч.; SD)	NOAEL/NOEL
Наивысшая доза с уровнем, не дающим	0,0015	Не наблюдается	Не наблюдается	Не наблюдается	10

наблюдаемого эффекта или бледности (NOEL)					
Наивысшая доза с уровнем воздействия, при котором не наблюдается вредный эффект (NOAEL), без вялости	0,15	Наблюдается (6,20 ± 0,28)	Не наблюдается	Не наблюдается	
Легкий побочный эффект (при самой низкой дозе сначала наблюдалась вялость)	0,5	Наблюдается (>6,12)*	Наблюдается (1,64 ± 0,10)	Не наблюдается	
Выраженный побочный эффект (при самой низкой дозе сначала наблюдалась атаксия)	1,5	Наблюдается (>6,12)*	Наблюдается (1,78 ± 0,21)	Наблюдается (0,48 ± 0,06)	
Мра-Тур-Phe-Hgn-Asn-Cys-Pro-Lys(X) _a -Gly-NH ₂ ; (X) _a =(Gly) ₂ [SEQ ID NO. 9]; (n=3)	Доза мг/кг S.C.	Бледность (Продолжительность, ч.; SD)	Вялость (продолжительность, ч.; SD)	Атаксия (продолжительность, ч.; SD)	NOAEL/NOEL
Наивысшая доза с уровнем, не	0,0015	Не наблюдается	Не наблюдается	Не наблюдается	100

дающим наблюдаемого эффекта или бледности (NOEL)					
Наивысшая доза с уровнем воздействия, при котором не наблюдается вредный эффект (NOAEL), без вялости	0,15	Наблюдается (5,74 ± 0,45)	Не наблюдается	Не наблюдается	
Легкий побочный эффект (при самой низкой дозе сначала наблюдалась вялость)	0,5	Наблюдается (>6,04)*	Наблюдается (1,70 ± 0,13)	Не наблюдается	
Выраженный побочный эффект (при самой низкой дозе сначала наблюдалась атаксия)	1,5	Наблюдается (>5,99)*	Наблюдается (1,79 ± 0,18)	Наблюдается (0,43 ± 0,07)	
Мра-Туг-Phe-Hgn-Asn-Cys-Pro-Lys(X) _a -Gly-NH ₂ ; (X) _a =(Gly) ₃ [SEQ ID NO. 10]; (n=3)	Доза мг/кг S.C.	Бледность (Продолжительность, ч.; SD)	Вялость (продолжительность, ч.; SD)	Атаксия (продолжительность, ч.; SD)	NOAEL/NOEL
Наивысшая доза	0,0015	Не	Не	Не	100

с уровнем, не дающим наблюдаемого эффекта или бледности (NOEL)		наблюдается	наблюдается	наблюдается	
Наивысшая доза с уровнем воздействия, при котором не наблюдается вредный эффект (NOAEL), без вялости	0,15	Наблюдается (5,65 ± 0,4)	Не наблюдается	Не наблюдается	
Легкий побочный эффект (при самой низкой дозе сначала наблюдалась вялость)	0,5	Наблюдается (6,27± 0,13)	Наблюдается (2,07±0,07)	Не наблюдается	
Выраженный побочный эффект (при самой низкой дозе сначала наблюдалась атаксия)	1,5	Наблюдается (6,4 ± 0,07)	Наблюдается (0,25 ± 0,1)	Наблюдается (0,33± 0,11)	
Мра-Тур-Phe- Hgn-Asn-Cys- Pro-Lys(X) _a -Gly- NH ₂ ; (X) _a =(Gly) ₄ [SEQ ID NO. 11]; (n=3)	Доза мг/кг S.C.	Бледность (Продолжительность, ч.; SD)	Вялость (продолжительность, ч.; SD)	Атаксия (продолжительность, ч.; SD)	NOAEL/NOEL

Наивысшая доза с уровнем, не дающим наблюдаемого эффекта или бледности (NOEL)	0,0015	Не наблюдается	Не наблюдается	Не наблюдается	100
Наивысшая доза с уровнем воздействия, при котором не наблюдается вредный эффект (NOAEL), без вялости	0,15	Наблюдается (6,02 ± 0,06)	Не наблюдается	Не наблюдается	
Легкий побочный эффект (при самой низкой дозе сначала наблюдалась вялость)	0,5	Наблюдается (>6,85)*	Наблюдается (1,49 ± 0,02)	Не наблюдается	
Выраженный побочный эффект (при самой низкой дозе сначала наблюдалась атаксия)	1,5	Наблюдается (>6,93)*	Наблюдается (1,11 ± 0,07)	Наблюдается (0,41 ± 0,08)	
Мра-Тур-Phe-Hgn-Asn-Cys-Pro-Lys(X) _a -Gly-NH ₂ ; (X) _a =(Gly) ₅ [SEQ ID NO. 12];	Доза мг/кг S.C.	Бледность (Продолжительность, ч.; SD)	Вялость (продолжительность, ч.; SD)	Атаксия (продолжительность, ч.; SD)	NOAEL/NOEL

(n=3)					
Наивысшая доза с уровнем, не дающим наблюдаемого эффекта или бледности (NOEL)	0,0015	Не наблюдается	Не наблюдается	Не наблюдается	
Наивысшая доза с уровнем воздействия, при котором не наблюдается вредный эффект (NOAEL), без вялости	0,15	Наблюдается (5,79 ± 0,08)	Не наблюдается	Не наблюдается	100
Легкий побочный эффект (при самой низкой дозе сначала наблюдалась вялость)	0,5	Наблюдается (>6,65)*	Наблюдается (1,37 ± 0,11)	Не наблюдается	
Выраженный побочный эффект (при самой низкой дозе сначала наблюдалась атаксия)	1,5	Наблюдается (>6,69)*	Наблюдается (1,20 ± 0,06)	Наблюдается (0,49 ± 0,06)	
Мра-Тур-Phe-Hgn-Asn-Cys-Pro-Lys(X) _a -Gly-NH ₂ ; (X) _a =(Gly) ₆	Доза мг/кг S.C.	Бледность (Продолжительность, ч.; SD)	Вялость (продолжительность, ч.; SD)	Атаксия (продолжительность, ч.; SD)	NOAEL/NOEL

[SEQ ID NO. 13]; (n=6)					
Наивысшая доза с уровнем, не дающим наблюдаемого эффекта или бледности (NOEL)	0,003	Не наблюдается	Не наблюдается	Не наблюдается	100
Наивысшая доза с уровнем воздействия, при котором не наблюдается вредный эффект (NOAEL), без вялости	0,3	Наблюдается (6,07 ± 0,08)	Не наблюдается	Не наблюдается	
Легкий побочный эффект (при самой низкой дозе сначала наблюдалась вялость)	0,5	Наблюдается (6,23 ± 0,06)	Наблюдается (0,95±0,23)	Не наблюдается	
Выраженный побочный эффект (при самой низкой дозе сначала наблюдалась атаксия)	5,0	Наблюдается (>5,6*)	Наблюдается (2,65 ±0,45)	Наблюдается (0,74 ± 0,16)	
Мра-Тур-Phe- Hgn-Asn-Cys- Pro-Lys(X) _a -Gly-	Доза мг/кг S.C.	Бледность (Продолжительность, ч.; SD)	Вялость (продолжительность, ч.;	Атаксия (продолжительность, ч.;	NOAEL/NO EL

NH ₂ ; (X) _a =(Gly) ₇ [SEQ ID NO. 14]; (n=3)			SD)	SD)	
Наивысшая доза с уровнем, не дающим наблюдаемого эффекта или бледности (NOEL)	0,0015	Не наблюдается	Не наблюдается	Не наблюдается	100
Наивысшая доза с уровнем воздействия, при котором не наблюдается вредный эффект (NOAEL), без вялости	0,15	Наблюдается (5,86 ± 0,13)	Не наблюдается	Не наблюдается	
Легкий побочный эффект (при самой низкой дозе сначала наблюдалась вялость)	0,5	Наблюдается (>6,39)*	Наблюдается (0,80 ± 0,14)	Не наблюдается	
Выраженный побочный эффект (при самой низкой дозе сначала наблюдалась атаксия)	1,5	Наблюдается (>6,44)*	Наблюдается (1,27 ± 0,02)	Наблюдается (0,26 ± 0,23)	
Мра-Тур-Phe- Hgn-Asn-Cys-	Доза мг/кг	Бледность (Продолжител	Вялость (продолжите	Атаксия (продолжите	NOAEL/NO EL

Pro-Lys(X) _a -Gly-NH ₂ ; (X) _a =(Gly) ₈ [SEQ ID NO. 15]; (n=3)	S.C.	ьность, ч.; SD)	льность, ч.; SD)	льность, ч.; SD)	
Наивысшая доза с уровнем, не дающим наблюдаемого эффекта или бледности (NOEL)	0,0015	Не наблюдается	Не наблюдается	Не наблюдается	100
Наивысшая доза с уровнем воздействия, при котором не наблюдается вредный эффект (NOAEL), без вялости	0,15	Наблюдается (5,68 ± 0,06)	Не наблюдается	Не наблюдается	
Легкий побочный эффект (при самой низкой дозе сначала наблюдалась вялость)	0,5	Наблюдается (>6,17)*	Наблюдается (0,60 ± 0,10)	Не наблюдается	
Выраженный побочный эффект (при самой низкой дозе сначала наблюдалась атаксия)	1,5	Наблюдается (>6,19)*	Наблюдается (1,17 ± 0,08)	Наблюдается (0,22 ± 0,06)	
Мра-Туг-Phe-	Доза	Бледность	Вялость	Атаксия	NOAEL/NO

Hgn-Asn-Cys-Pro-Lys(X) _a -Gly-NH ₂ ; (X) _a =(Gly) ₉ [SEQ ID NO. 16]; (n=3)	мг/кг S.C.	(Продолжительность, ч.; SD)	(продолжительность, ч.; SD)	(продолжительность, ч.; SD)	EL
Наивысшая доза с уровнем, не дающим наблюдаемого эффекта или бледности (NOEL)	0,005	Не наблюдается	Не наблюдается	Не наблюдается	100
Наивысшая доза с уровнем воздействия, при котором не наблюдается вредный эффект (NOAEL), без вялости	0,5	Наблюдается (7,14 ± 0,11)	Не наблюдается	Не наблюдается	
Легкий побочный эффект (при самой низкой дозе сначала наблюдалась вялость)	1,5	Наблюдается (>6,14)*	Наблюдается (0,72±0,10)	Не наблюдается	
Выраженный побочный эффект (при самой низкой дозе сначала наблюдалась атаксия)	5,0	Наблюдается (>6,99)*	Наблюдается (1,39 ± 0,21)	Наблюдается (0,42 ± 0,19)	

Мра-Тур-Phe- Hgn-Asn-Cys- Pro-Lys(X) _a -Gly- NH ₂ [SEQ ID NO. 28]; (X) _a =Ac или ацетил; (n=3)	Доза мг/кг S.C.	Бледность (Продолжитель- ность, ч.; SD)	Вялость (продолжите льность, ч.; SD)	Атаксия (продолжите льность, ч.; SD)	NOAEL/NO EL
Наивысшая доза с уровнем, не дающим наблюдаемого эффекта или бледности (NOEL)	0,1	Не наблюдается	Не наблюдается	Не наблюдается	
Наивысшая доза с уровнем воздействия, при котором не наблюдается вредный эффект (NOAEL), без вялости	0,33	Наблюдается (2,83 ± 0,08)	Не наблюдается	Не наблюдается	3
Легкий побочный эффект (при самой низкой дозе сначала наблюдалась вялость)	1	Наблюдается (4,83 ± 0,06)	Наблюдаетс я (0,29 ± 0,18)	Нет данных	
Выраженный побочный эффект (при самой низкой дозе сначала наблюдалась атаксия)	3	Наблюдается (>6,64)*	Наблюдаетс я (2,42 ± 0)	Наблюдается (0,19 ± 0,05)	

Мра-Тур-Phe- Hgn-Asn-Cys- Pro-D-Lys-Gly- NH ₂ [SEQ ID NO. 18]; (n=3)	Доза мг/кг S.C.	Бледность (Продолжитель- ность, ч.; SD)	Вялость (продолжите льность, ч.; SD)	Атаксия (продолжите льность, ч.; SD)	NOAEL/NO EL
Наивысшая доза с уровнем, не дающим наблюдаемого эффекта или бледности (NOEL)	0,005	Не наблюдается	Не наблюдается	Не наблюдается	30
Наивысшая доза с уровнем воздействия, при котором не наблюдается вредный эффект (NOAEL), без вялости	0,15	Наблюдается (5,38 ± 0,79)	Не Наблюдаетс я	Не наблюдается	
Легкий побочный эффект (при самой низкой дозе сначала наблюдалась вялость)	0,5	Наблюдается (>5,84)*	Наблюдаетс я (0,29 ± 0,05)	Не наблюдается	
Выраженный побочный эффект (при самой низкой дозе сначала наблюдалась атаксия)	1,5	Наблюдается (>6,17)*	Наблюдаетс я (2,11 ± 0,03)	Наблюдается (0,14 ± 0,04)	

Мра-Тур-Phe- Hgn-Asn-Cys- Pro-Dap-Gly- NH ₂ (дисульфидная связь) [SEQ ID NO. 17]; (n=3)	Доза мг/кг S.C.	Бледность (Продолжитель- ность, ч.; SD)	Вялость (продолжите льность, ч.; SD)	Атаксия (продолжите льность, ч.; SD)	NOAEL/NO EL
Наивысшая доза с уровнем, не дающим наблюдаемого эффекта или бледности (NOEL)	0,014	Не наблюдается	Не наблюдается	Не наблюдается	34
Наивысшая доза с уровнем воздействия, при котором не наблюдается вредный эффект (NOAEL), без вялости	0,478	Наблюдается (6,11 ± 0,07)	Не наблюдается	Не наблюдается	
Легкий побочный эффект (при самой низкой дозе сначала наблюдалась вялость)	4,78	Наблюдается (>5,92)*	Наблюдаетс я (0,68 ± 0,10)	Не наблюдается	
Выраженный побочный эффект (при самой низкой дозе сначала	>9,95	Наблюдается (>6,18)*	Наблюдаетс я (1,73 ± 0)	Не сделано	

наблюдалась атаксия)					
Мра-Тур-Phe- Hgn-Asn-Cys- Pro-Orn-Gly- NH ₂ (дисульфид ная связь) [SEQ ID NO. 30]; (n=3)	Доза мг/кг S.C.	Бледность (Продолжитель ность, ч.; SD)	Вялость (продолжите льность, ч.; SD)	Атаксия (продолжите льность, ч.; SD)	NOAEL/NO EL
Наивысшая доза с уровнем, не дающим наблюдаемого эффекта или бледности (NOEL)	0,0005	Не наблюдается	Не наблюдается	Не наблюдается	Между 10 и 30 (Только 12 минутная вялость при 30-кратной дозе)
Наивысшая доза с уровнем воздействия, при котором не наблюдается вредный эффект (NOAEL), без вялости	0,005	Наблюдается (5,91 ± 0,08)	Не наблюдается	Не наблюдается	
Легкий побочный эффект (при самой низкой дозе сначала наблюдалась вялость)	0,015	Наблюдается (>4,82)*	Наблюдаетс я (0,19 ± 0,05)	Не наблюдается	
Выраженный побочный эффект (при	0,044	Наблюдается (>4,68)*	Наблюдаетс я (0,78 ± 0,08)	Наблюдается (0,26 ± 0,02)	

самой низкой дозе сначала наблюдалась атаксия)					
Мра-Тур-Phe-Hgn-Asn-Cys-Pro-Dab-Gly-NH ₂ (дисульфидная связь [SEQ ID NO. 31]; (n=3)	Доза мг/кг S.C.	Бледность (Продолжительность, ч.; SD)	Вялость (продолжительность, ч.; SD)	Атаксия (продолжительность, ч.; SD)	NOAEL/NOEL
Наивысшая доза с уровнем, не дающим наблюдаемого эффекта или бледности (NOEL)	0,0005	Не наблюдается	Не наблюдается	Не наблюдается	Между 10 и 30 (Только 12 минутная вялость при 30-кратной дозе)
Наивысшая доза с уровнем воздействия, при котором не наблюдается вредный эффект (NOAEL), без вялости	0,005	Наблюдается (>5,87)*	Не наблюдается	Не наблюдается	
Легкий побочный эффект (при самой низкой дозе сначала наблюдалась вялость)	0,015	Наблюдается (>4,57)*	Наблюдается (0,20 ± 0,08)	Не наблюдается	
Выраженный	0,045	Наблюдается		Наблюдается	

побочный эффект (при самой низкой дозе сначала наблюдалась атаксия)		(>4,39)*	Наблюдается (1,30 ± 0,03)	(0,36 ± 0,08)	
Мра-Тур-Phe-Hgn-Asn-Cys-Pro-Lys(X) _a -Gly-NH ₂ ; (X) _a =Ac или ацетил [SEQ ID NO. 28]; (n=3)	Доза мг/кг S.C.	Бледность (Продолжительность, ч.; SD)	Вялость (продолжительность, ч.; SD)	Атаксия (продолжительность, ч.; SD)	NOAEL/NOEL
Наивысшая доза с уровнем, не дающим наблюдаемого эффекта или бледности (NOEL)	0,1	Не наблюдается	Не наблюдается	Не наблюдается	
Наивысшая доза с уровнем воздействия, при котором не наблюдается вредный эффект (NOAEL), без вялости	0,33	Наблюдается (2,83 ± 0,08)	Не наблюдается	Не наблюдается	3
Легкий побочный эффект (при самой низкой дозе сначала наблюдалась вялость)	1	Наблюдается (4,83 ± 0,06)	Наблюдается (0,29 ± 0,18)	Нет данных	

Выраженный побочный эффект (при самой низкой дозе сначала наблюдалась атаксия)	3	Наблюдается (>6,64)*	Наблюдается (2,42 ± 0)	Наблюдается (0,19 ± 0,05)	
Мра-Тур-Phe-Hgn-Asn-Cys-Pro-Lys(X) _a -Gly-NH ₂ ; (X) _a =лауриновая кислота [SEQ ID NO. 27]; (n=3)	Доза мг/кг S.C.	Бледность (Продолжительность, ч.; SD)	Вялость (продолжительность, ч.; SD)	Атаксия (продолжительность, ч.; SD)	NOAEL/NOEL
Наивысшая доза с уровнем, не дающим наблюдаемого эффекта или бледности (NOEL)	0,1	Не наблюдается	Не наблюдается	Не наблюдается	90 (слишком высокая доза означает низкую эффективность)
Наивысшая доза с уровнем воздействия, при котором не наблюдается вредный эффект (NOAEL), без вялости	9	Наблюдается (<4,25)*	Не наблюдается	Не наблюдается	
Легкий побочный эффект (при самой низкой	>9	Не сделано	Не сделано	Не сделано	

дозе сначала наблюдалась вялость)					
Выраженный побочный эффект (при самой низкой дозе сначала наблюдалась атаксия)	>9	Не сделано	Не сделано	Не сделано	
Мра-Тур-Phe- Hgn-Asn-Cys- Pro-Lys(12- аминододеканов ая кислота)-Gly- NH2 [SEQ ID NO. 19]; (n=3)	Доза мг/кг S.C.	Бледность (Продолжител ьность, ч.; SD)	Вялость (продолжите льность, ч.; SD)	Атаксия (продолжите льность, ч.; SD)	NOAEL/NO EL
Наивысшая доза с уровнем, не дающим наблюдаемого эффекта или бледности (NOEL)	0,014	Не наблюдается	Не наблюдается	Не наблюдается	649 (Слишком высокая
Наивысшая доза с уровнем воздействия, при котором не наблюдается вредный эффект (NOAEL), без вялости	9,08	Наблюдается (>5,83)*	Не наблюдается	Не наблюдается	доза означает низкую эффективно сть)
Легкий	>9,08	Не сделано	Не сделано	Не сделано	

побочный эффект (при самой низкой дозе сначала наблюдалась вялость)					
Выраженный побочный эффект (при самой низкой дозе сначала наблюдалась атаксия)	>9,08	Не сделано	Не сделано	Не сделано	
Мра-Тур-Phe-Gln-Asn-Cys-Pro-Lys-Gly-NH ₂ [SEQ ID NO. 32];(n=3)	Доза мг/кг S.C.	Бледность (Продолжительность, ч.; SD)	Вялость (продолжительность, ч.; SD)	Атаксия (продолжительность, ч.; SD)	NOAEL/NOEL
Наивысшая доза с уровнем, не дающим наблюдаемого эффекта или бледности (NOEL)	0,0005	Не наблюдается	Не наблюдается	Не наблюдается	20
Наивысшая доза с уровнем воздействия, при котором не наблюдается вредный эффект или вялость (NOAEL)	0,01	Наблюдается (3,54±0,11)	Не наблюдается	Не наблюдается	
Легкий	0,03	Наблюдается	Наблюдается	Не	

побочный эффект (при самой низкой дозе сначала наблюдалась вялость)		(4,45±0,26)	я (0,37±0,08)	наблюдается	
Выраженный побочный эффект (при самой низкой дозе сначала наблюдалась атаксия)	0,1	Наблюдается (4,79±0,08)	Наблюдается (0,33±0,07)	Наблюдается (0,22±0,02)	
Мра-Тур-Phe-Gln-Asn-Cys-Pro-Lys(X) _a -Gly-NH ₂ ; (X) _a =(Gly) ₆ [SEQ ID NO. 20]; (n=3)	Доза мг/кг S.C.	Бледность (Продолжительность, ч.; SD)	Вялость (продолжительность, ч.; SD)	Атаксия (продолжительность, ч.; SD)	NOAEL/NOEL
Наивысшая доза с уровнем, не дающим наблюдаемого эффекта или бледности (NOEL)	0,0015	Не наблюдается	Не наблюдается	Не наблюдается	
Наивысшая доза с уровнем воздействия, при котором не наблюдается вредный эффект (NOAEL), без вялости	0,15	Наблюдается (6,11±0,09)	Не наблюдается	Не наблюдается	100

Легкий побочный эффект (при самой низкой дозе сначала наблюдалась вялость)	0,5	Наблюдается ($>5,46$)*	Наблюдаетс я ($0,27\pm 0,06$)	Не наблюдается	
Выраженный побочный эффект (при самой низкой дозе сначала наблюдалась атаксия)	5,0	Наблюдается ($>6,76$)*	Наблюдаетс я ($0,91\pm 0,11$)	Наблюдается ($0,21\pm 0,06$)	
Мра-Тур-Phe- Gln-Asn-Cys- Pro-Lys(X) _a -Gly- NH ₂ ; (X) _a =(Gly) ₉ [SEQ ID NO. 23]; (n=3)	Доза мг/кг S.C.	Бледность (Продолжител ьность, ч.; SD)	Вялость (продолжите льность, ч.; SD)	Атаксия (продолжите льность, ч.; SD)	NOAEL/NO EL
Наивысшая доза с уровнем, не дающим наблюдаемого эффекта или бледности (NOEL)	0,0015	Не наблюдается	Не наблюдается	Не наблюдается	333
Наивысшая доза с уровнем воздействия, при котором не наблюдается вредный эффект (NOAEL), без	0,5	Наблюдается ($>5,09$)*	Не наблюдается	Не наблюдается	

вялости					
Легкий побочный эффект (при самой низкой дозе сначала наблюдалась вялость)	1,5	Наблюдается (6,23±0,05)	Наблюдается я (0,29±0,02)	Не наблюдается	
Выраженный побочный эффект (при самой низкой дозе сначала наблюдалась атаксия)	5,0	Наблюдается (>6,46)*	Наблюдается я (1,08±0,03)	Наблюдается (0,28±0,01)	

ПРИМЕР 8. Острая диуретическая активность комбинации пептида формулы (I) и толваптана при подкожной инъекции крысам линии Wistar (таблица 8).

Ссылка на таблицу 8. Данное исследование продемонстрировало, что через 4 и 8 часов комбинация антагониста V2, такого как толваптан (Tol), с пептидом формулы (I) (Mpa-YFhomoQNCPK(GGGGGG)G-NH2 [SEQ ID NO. 13]; Mpa и C связаны дисульфидной связью; представлены в виде TA-1), введенная через 2 часа, продемонстрировала значительное повышение объема мочи по сравнению с группой среды-носителя, и комбинация продемонстрировала синергический/аддитивный эффект двух лекарственных средств. Введение доз лекарственных средств по отдельности и особенно введение доз толваптана первым было бы лучшим способом комбинирования пептида формулы (I) и толваптана в более низкой дозе, чем применяют или назначают в настоящее время, для достижения такой же или более высокой терапевтической эффективности. Такая более низкая терапевтическая доза толваптана снизит известный риск гепатотоксичности для многих пациентов.

Для данного исследования температуру в помещении для животных установили на уровне от 20 до 22°C. Реализовывали 14-часовой световой и 10-часовой цикл темноты, кроме тех случаев, когда он был прерван процедурами исследования. Примерно за 45 минут до испытания диуретических эффектов разных тестируемых образцов самцам крыс линии Wistar (~8 недель из лаборатории Charles River; n=4 в группе) вводили солевой раствор в дозе 20 мл/кг через желудочный зонд (PO) для нормализации содержания воды между животными. Следующие тестируемые образцы и комбинации вводили подкожно. Группа 1-среда-носитель (9% Tween 80); группа 2-TA-1 отдельно; группа 3-толваптан (Tol) отдельно; группа 4-TA-1 0,08 мг/кг+Tol 0,3 мг/кг вводили вместе; группа 5-TA-1 0,08 мг/кг

в момент времени 0, затем Tol 0,3 мг/кг через 2 ч.; группа 6- Tol 0,3 мг/кг в момент времени 0, затем ТА-1 0,08 мг/кг через 2 ч. Мочу собирали и измеряли совокупный объем в разные моменты времени после введения дозы.

Таблица 8. Введение доз формулы 1, представленной ТА-1, после антагониста V2 (Tol) продемонстрировало диуретический синергизм при введении антагониста V2 первым.

Тестируемые образцы	4 ч. совокупно на 100 г веса тела (SEM)	8 ч. совокупно на 100 г веса тела (SEM)
Среда-носитель (9% Tween 80)	0,3 (0,1)	0,7 (0,1)
ТА-1 0,08 мг/кг отдельно	0,9 (0,2)	1,2 (0,2)
Tol 0,3 мг/кг отдельно	1,2 (0,3)	2,2 *(0,3)
ТА-1 0,08 мг/кг+Tol 0,3 мг/кг вместе	1,0 (0,2)	1,2 (0,2)
ТА-1 0,08 мг/кг+Tol 0,3 мг/кг через 2 ч.	1,1 (0,2)	1,3 (0,3)
Tol 0,3 мг/кг+ТА-1 0,08 мг/кг через 2 ч.	3,4 ****(0,7)	3,7 ****(0,7)

Статистический анализ проводили с помощью однофакторного ANOVA в GraphPad Prism 8 по сравнению с группой, получавшей среду-носитель (* P<0,05, ** P<0,01, *** P<0,001, **** P<0,0001).

ПРИМЕР 9. Телеметрическая оценка эффекта Mpa-YFhomoQNCРK(GGGGGG)G-NH2 [SEQ ID NO. 13] и терлипрессина на давление в портальной вене у крыс с лигированием желчных протоков.

Ссылаясь на таблицу 9, пептид формулы (I) (в дозе 12 мкг/кг) является более эффективным в обеспечении устойчивого снижения портального давления по сравнению с терлипрессином (в дозе 41 мкг/кг). Для данного исследования животных (крыс линии Sprague Dawley (весом 240-300 г после хирургического вмешательства из лаборатории Charles River) содержали при комнатной температуре (от 20 до 22°C) с 14-часовым световым циклом и 10-часовым циклом темноты, когда не выполнялись процедуры исследования. Эффективность снижения среднего давления в портальной вене (MPVP) пептидом формулы (I) (Mpa-YFhomoQNCРK(GGGGGG)G-NH2 [SEQ ID NO. 13]; Mpa и C связаны дисульфидной связью; представлены в виде ТА-1) по сравнению с терлипрессином у телеметрированных самцов с лигированием желчных протоков (BDL) и плацебо-хирургией. В день 1 исследования крысам делали операцию по лигированию желчных протоков и осуществляли телеметрию с помощью имплантации. Группе с BDL (n=4) наложили два ряда затянутых шелковых швов и перевязали их, чтобы закупорить желчный проток; в группе с плацебо-хирургией (n=3) швы были свободно перевязаны вокруг желчного протока, так что закупоривание не происходило. После восстановления после операции у всех крыс непрерывно контролировали давление в портальной вене с помощью телеметрии до 22-го дня. Носитель вводили подкожно на 14 день; пептид формулы (I) вводили в различных концентрациях подкожно на 15-19 и на 23 день;

терлипрессин вводили внутривенно болюсно в латеральную хвостовую вену на 20 и 21 день. Всем животным вводили дозу при ручном обездвиживании. Систолическое давление в портальной вене и диастолическое давление в портальной вене измеряли для расчета среднего давления в портальной вене (MPVP); MPVP анализировали путем усреднения 5-минутных интервалов в течение первых 4 часов после дозы и после этого усреднения 1-часовых интервалов после дозы до 24 часов. Нулевой момент времени (T0) рассчитывали с применением среднего значения за период от 45 минут до 15 минут до введения дозы.

Телеметрическая оценка Mpa-YFhomoQNCPK(GGGGGG)G-NH2 [SEQ ID NO. 13] и терлипрессина на давление в портальной вене у крыс с лигированием желчных протоков. Температуру в помещении для животных установили на уровне от 20 до 22°C. Реализовывали 14-часовой световой и 10-часовой цикл темноты, кроме тех случаев, когда он был прерван процедурами исследования. Эффективность оценивали путем оценки среднего давления в портальной вене (MPVP) при разных концентрациях соединения формулы 1 и терлипрессина у телеметрированных самцов крыс линии Sprague Dawley (весом 240-300 г после хирургического вмешательства из лаборатории Charles River) с лигированием желчных протоков (BDL) и плацебо-хирургией В день 1 исследования крысам делали операцию по лигированию желчных протоков и осуществляли телеметрию с помощью имплантации. Группе с BDL (n=4) наложили два ряда затянутых шелковых швов и перевязали их, чтобы закупорить желчный проток; в группе с плацебо-хирургией (n=3) швы были свободно перевязаны вокруг желчного протока, так что закупоривание не происходило. После восстановления после операции у всех крыс непрерывно контролировали давление в портальной вене с помощью телеметрии до 22-го дня. Носитель вводили подкожно на 14 день; соединение формулы 1 вводили в различных концентрациях подкожно на 15-19 и на 23 день; терлипрессин вводили внутривенно болюсно в латеральную хвостовую вену на 20 и 21 день. Всем животным вводили дозу при ручном обездвиживании. Систолическое давление в портальной вене и диастолическое давление в портальной вене измеряли для расчета среднего давления в портальной вене (MPVP); MPVP анализировали путем усреднения 5-минутных интервалов в течение первых 4 часов после дозы и после этого усреднения 1-часовых интервалов после дозы до 24 часов. Нулевой момент времени (T0) рассчитывали с применением среднего значения за период от 45 минут до 15 минут до введения дозы.

Таблица 9. Соединение формулы 1 (12 мкг/кг) является более эффективным в обеспечении устойчивого снижения портального давления по сравнению с терлипсином (41 мкг/кг)

Процентное снижение (%) среднего давления в портальной вене (MPVP) от исходного уровня BDL до обработки						
Тестируемые образцы	Концентрация (мкг/кг)	Время (ч.)				
		0	1	4	7	20
BDL, формула 1	12	0	5 (7,39)	-30,5	-10,5	-29,75

n=4				(7,12)	(14,79)	(5,0)
BDL, терлипрессин n=4	41	0	-23 (21,0)	11,3 (20,3)	10,8 (7,7)	7,3 (13,03)

Данные отображены в виде процентного изменения (SEM)

MPVP на 13 день. Портальное давление у животных с BDL=22,2 мм рт.ст. (SEM:6,45);
портальное давление животных с плацебо-хирургией=14,08 мм рт.ст. (SEM:1,51)

Пример 10. Анализы на связывание/активность в отношении различных рецепторов и/или мишеней для оценки специфичности и безопасности.

Анализ ингибирования связывания рецептора, поглощающей активности каналов и активности ферментов (Safetyscreen87) проводили на платной основе в лаборатории Eurofins Serap SA (Франция) с различными условиями, подходящими для каждого рецептора/фермента/канала. В каждом эксперименте и, если применимо, соответствующее эталонное соединение тестировали одновременно с тестируемыми соединениями, и данные сравнивали с ранее зафиксированными значениями, определенными в Eurofins. Эксперимент принимали в соответствии со стандартной операционной процедурой валидации Eurofins. Каждое тестируемое соединение тестировали в двух повторностях и указывали среднее значение. Связывание соединения рассчитывали в виде % ингибирования связывания радиоактивно меченого лиганда, специфичного для каждой мишени. Эффект ингибирования фермента соединением рассчитывали в виде % ингибирования активности контрольного фермента (результат для каждого рецептора здесь не показан). Считается, что результаты, демонстрирующие ингибирование или стимуляцию более 50%, отражают значительные эффекты тестируемых соединений. Пятьдесят процентов является наиболее распространенным пороговым значением и любые тестируемые образцы, которые не превышают 50% порога в любом из 87 нецелевых белков, которые имеют решающее значение для безопасности лекарственного средства, считаются безопасными.

В целом, для анализа конкурентного связывания гомогенаты клеточных мембран получали из подходящих клеточных линий. Меченый радиоактивным изотопом лиганд добавляли к гомогенату в отсутствие или в присутствии тестируемых соединений (10 мкМ) и инкубировали в течение подходящего периода времени при подходящей температуре. Неспецифическое связывание определяли с подходящим контролем. После инкубации образцы быстро фильтровали под вакуумом через фильтры из стекловолокна (Perkin Elmer; Уолтем, Массачусетс) и несколько раз промывали ледяным буфером с применением харвестера клеток на 96 образцов (Perkin Elmer; Уолтем, Массачусетс). Фильтры сушат, затем подсчитывают радиоактивность в сцинтилляционном счетчике с применением сцинтилляционной смеси (Perkin Elmer; Уолтем, Массачусетс). Результаты выражены в процентах ингибирования специфического связывания контрольного радиолиганда.

Для анализа фермента и поглощения тестируемые соединения (10 мкМ), эталонное соединение или воду (в качестве контроля) смешивают с ферментом в буфере. Реакцию инициируют добавлением подходящих растворов субстрата, затем смесь инкубировали в течение подходящей для соединения продолжительности при подходящей температуре. Флуоресценцию (связанную активностью с фермента) измеряли с применением микропланшет-ридера (Envision, Perkin Elmer; Уолтем, Массачусетс). В то же время готовили идентичный планшет без фермента для проверки фоновой флуоресценции или интерференции соединения с помощью способа флуорометрического обнаружения при соответствующих длинах волн. Активность фермента определяют путем вычитания сигнала, измеренного без фермента, из сигнала, измеренного с ферментом. Результаты выражены в процентах ингибирования активности контрольного фермента.

Пептиды формулы (I), где (X)_a представляет собой (Gly)₀₋₉ продемонстрировали профиль безопасности, подобный лизин-вазопрессину (LVP) при применении 10 мкМ, что в 280 раз выше, чем прогнозируемый максимальный уровень в плазме (50 нг/мл) для терапевтической эффективности в отношении связанных рецепторов. Как и ожидалось, пептиды формулы (I) не продемонстрировал значительных эффектов (>50% ингибирование будет значительным) на такие рецепторы, за исключением рецептора V1a. Список панелей Safetyscreens⁸⁷ включает: mGluR5 (h) (радиолиганд агониста), транспортер 5-НТ (h) (радиолиганд антагониста), 5-НТ1А (h) (радиолиганд агониста), 5-НТ1В (h) (радиолиганд антагониста), 5-НТ2А (h) (радиолиганд агониста), 5-НТ2В (h) (радиолиганд агониста), 5-НТ2С (h) (радиолиганд антагониста), 5-НТ3 (h) (радиолиганд антагониста), А1 (h) (радиолиганд антагониста), А2А (h) (радиолиганд агониста), АСЕ (h), ацетилхолинэстеразу (h), транспортер аденозина (радиолиганд антагониста), альфа 1А (h) (радиолиганд антагониста), альфа 1В (h) (радиолиганд антагониста), альфа 1D (h) (радиолиганд антагониста), альфа 2А (h) (радиолиганд антагониста), альфа 2В (h) (радиолиганд антагониста), АМРА (радиолиганд агониста), AR(h) (радиолиганд агониста), АТ1 (h) (радиолиганд антагониста), АТФазу (Na⁺/K⁺), В2 (h) (радиолиганд агониста), бета 1 (h) (радиолиганд агониста), бета 2 (h) (радиолиганд антагониста), ВZD (центральный) (радиолиганд агониста), канал Ca²⁺, (L, дигидропиридиновый сайт) (радиолиганд антагониста), канал Ca²⁺ (L, дилтиаземовый сайт) (бензотиазепины) (радиолиганд антагониста), канал Ca²⁺ (L, верапамиловый сайт) (фенилалкиламин) (радиолиганд антагониста), канал Ca²⁺ (N) (радиолиганд антагониста), катепсин G (h), СВ1 (h) (радиолиганд агониста), СВ2 (h) (радиолиганд агониста), ССК1 (ССКА) (h) (радиолиганд агониста), ССК2 (ССКВ) (h) (радиолиганд агониста), ССР1 (h) (радиолиганд агониста), канал Cl⁻ (GABA-гейтированный) (ТВОВ сайт) (радиолиганд антагониста), СОХ1(h), СОХ2(h), СХСР2 (IL-8В) (h) (радиолиганд агониста), CysLT1 (LTD4) (h) (радиолиганд агониста), D1 (h) (радиолиганд антагониста), D2L (h) (радиолиганд антагониста), D2S (h) (радиолиганд агониста), дельта (DOP) (h) (радиолиганд агониста), переносчик допамина (h) (радиолиганд антагониста), эстроген ER альфа (h) (радиолиганд агониста), ЕТА (h) (радиолиганд агониста), переносчик GABA (радиолиганд антагониста), GABAА1 (h) (альфа

1, бета 2, гамма 2) (радиолиганд агониста), глицин (не чувствительный к стрихнину) (радиолиганд антагониста), глицин (чувствительный к стрихнину) (радиолиганд антагониста), GR (h) (радиолиганд агониста), H1 (h) (радиолиганд антагониста), H2 (h) (радиолиганд антагониста), IRK (h) (InsR), каинат (радиолиганд агониста), каппа (h) (КОР) (радиолиганд агониста), KV-канал (радиолиганд антагониста), Lck киназа (h), M1 (h) (радиолиганд антагониста), M2 (h) (радиолиганд антагониста), M3 (h) (радиолиганд антагониста), M4 (h) (радиолиганд антагониста), MAO-A (радиолиганд антагониста), рекомбинантный фермент MAO-B (h), MC1 (радиолиганд агониста), MC4 (h) (радиолиганд агониста), mu (MOP) (h) (радиолиганд агониста), N мышечного типа (h) (радиолиганд антагониста), нейронный N-рецептор альфа-4-бета 2 (h) (радиолиганд агониста), Na⁺ канал (сайт 2) (радиолиганд антагониста), NK1 (h) (радиолиганд агониста), NMDA (радиолиганд антагониста), переносчик норэпинефрина (h) (радиолиганд антагониста), PAF (h) (радиолиганд агониста), PCP (радиолиганд антагониста), PDE3A (h), PDE4D2 (h), PKC-альфа (h), калиевый канал hERG (человека)- [3H] дофетилид, PPAR-гамма (h) (радиолиганд агониста), PR (h) (радиолиганд агониста), RAR-альфа (h) (радиолиганд агониста), V1a (h) (радиолиганд агониста) и Y1 (h) (радиолиганд агониста).

В качестве примера и без ограничения варианты осуществления раскрыты в соответствии со следующими пронумерованными пунктами.

A1. Композиция, содержащая

пептид, являющийся частичным агонистом V1a, формулы (A),
[Mpa-Tyr-Phe-Z-Asn-Cys-Pro-B(X)_a-Gly-NH₂] [SEQ ID NOS. 1-2]
(A),

или его фармацевтически эффективную соль,

где

остатки Mpa и Cys ковалентно связаны дисульфидной связью,

Z представляет собой Hgn или Gln;

при этом, если Z представляет собой Hgn [SEQ ID NO. 1],

B представляет собой любой из L-Lys, D-Lys, L-Orn, D-Orn, L-Dab, D-Dab, L-Dap или D-Dap, и

X представляет собой аминокислотный остаток, при этом аминокислотный остаток в каждом случае независимо выбран из Gly, L-Ala, D-Ala, L-Lys, D-Lys, L-Orn, D-Orn, L-Glu, D-Glu, L-Asp и D-Asp, и a представляет собой целое число от 0 до 10 (*например*, от 0 до 1, от 1 до 2, от 1 до 3, от 1 до 10, от 1 до 6, от 4 до 10 или от 6 до 10), или

X представляет собой фрагмент, полученный из C₃₋₁₂жирной кислоты (*например*, C₃₋₆, C₃₋₁₀, C₄₋₁₂, C₄₋₆, C₄₋₁₀, C₆₋₁₀, C₈₋₁₀ или C₁₀₋₁₂жирной кислоты), содержащей первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, и a представляет собой целое число от 1 до 3;

при этом, если Z представляет собой Gln [SEQ ID NO. 2],

B представляет собой любой из L-Lys, D-Lys, L-Orn, D-Orn, L-Dab, D-Dab, L-Dap или D-Dap, и

X представляет собой аминокислотный остаток, при этом аминокислотный остаток в каждом случае независимо выбран из Gly, L-Ala, D-Ala, L-Lys, D-Lys, L-Orn, D-Orn, L-Glu, D-Glu, L-Asp и D-Asp, и а представляет собой целое число от 6 до 10, или

X представляет собой фрагмент, полученный из C₃₋₁₂жирной кислоты (*например*, C₃₋₆-, C₃₋₁₀-, C₄₋₁₂-, C₄₋₆-, C₄₋₁₀-, C₆₋₁₀-, C₈₋₁₀- или C₁₀₋₁₂жирной кислоты), содержащей первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, и а представляет собой целое число от 1 до 3; и

где композиция характеризуется терапевтическим индексом, составляющим по меньшей мере 20 (*например*, по меньшей мере 30, по меньшей мере 40, по меньшей мере 50, по меньшей мере 60, по меньшей мере 70, по меньшей мере 80, по меньшей мере 90 или по меньшей мере 100).

A2. Композиция по пункту A1, где Z представляет собой Hgn и B представляет собой Lys.

A3. Композиция по пункту A1 или п. A2, где Z представляет собой Hgn, X представляет собой Gly, и а равняется 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10.

A4. Композиция по любому из предыдущих пунктов, где Z представляет собой Hgn, X представляет собой Gly, и а равняется 6, 7, 8, 9 или 10.

A5. Композиция по пункту A1, где Z представляет собой Gln, и B представляет собой L-Lys.

A6. Композиция по пунктам A1 или A5, где Z представляет собой Gln, B представляет собой L-Lys, X представляет собой Gly, и а равняется 6, 7, 8, 9 или 10.

A7. Композиция по пункту A1, где Z представляет собой Hgn, и B представляет собой D-Lys.

A8. Композиция по пункту A1, где Z представляет собой Hgn, и B представляет собой L-Orn.

A9. Композиция по пункту A1, где Z представляет собой Hgn, и B представляет собой D-Orn.

A10. Композиция по пункту A1, где Z представляет собой Hgn, и B представляет собой L-Dab.

A11. Композиция по пункту A1, где Z представляет собой Hgn, и B представляет собой D-Dab.

A12. Композиция по пункту A1, где Z представляет собой Hgn, и B представляет собой L-Dap.

A13. Композиция по пункту A1, где Z представляет собой Hgn, и B представляет собой D-Dap.

A14. Композиция по любому из предыдущих пунктов, дополнительно содержащая фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество,

где фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество необязательно содержит буфер, проявляющий буферное действие в диапазоне рН от 3,5 до 6,5, и

где буфер необязательно выбран из ацетатного буфера, цитратного буфера,

сукцинатного буфера, гистидинового буфера или любой их комбинации.

A15. Способ лечения субъекта, включающий

введение субъекту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективной дозы композиции по любому из предыдущих пунктов,

где у субъекта имеется состояние, выбранное из фиброза печени, цирроза, портальной гипертензии, асцита, варикозного расширения вен пищевода, варикозного расширения вен фундального отдела желудка, кровотечения, артериальной гипотензии, гепаторенального синдрома и любой их комбинации, или

где у субъекта имеется фиброз печени; или

где у субъекта имеется цирроз; или

где у субъекта имеется портальная гипертензия; или

где у субъекта имеется асцит; или

где у субъекта имеется рефрактерный асцит; или

где у субъекта имеется варикозное расширение вен пищевода; или

где у субъекта имеется варикозное расширение вен желудка в фундальном отделе;

или

где у субъекта имеется варикозное расширение вен с кровотечением; или

где у субъекта имеется артериальная гипотензия; или

где у субъекта имеется гепаторенальный синдром.

A16. Способ по пункту A15, включающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективной дозы композиции по любому из пунктов A2-A6.

A17. Способ по пункту A15, где Z представляет собой Hgn, B представляет собой L-Lys, и X представляет собой Gly.

A18. Способ по пункту A17, где a равняется b.

A19. Способ по пункту A15, где Z представляет собой Gln, и B представляет собой L-Lys.

A20. Способ по любому из пунктов A15-A19, где у субъекта имеется цирроз и портальная гипертензия.

A21. Способ по любому из пунктов A15-A20, где у субъекта имеется портальная гипертензия, характеризующаяся градиентом печеночного венозного давления 5 мм рт. ст. и больше.

A22. Способ по любому из пунктов A15-A21, где у субъекта имеется клинически значимая портальная гипертензия, характеризующаяся градиентом печеночного венозного давления 10 мм рт. ст. и больше.

A23. Способ по любому из пунктов A15-A22, где у субъекта имеется асцит.

A24. Способ по любому из пунктов A15-A23, где у субъекта имеется рефрактерный асцит.

A25. Способ по любому из пунктов A15-A24, где у субъекта имеется варикозное расширение вен.

A26. Способ по любому из пунктов A15-A25, где у субъекта имеется кровотечение

из варикозно расширенных вен.

A27. Способ по любому из пунктов A15-A26, где у субъекта среднее значение артериального давления составляет ниже 95 мм рт. ст. (*например*, ниже 90 мм рт. ст., ниже 85 мм рт. ст., ниже 80 мм рт. ст., ниже 75 мм рт. ст. или ниже 70 мм рт. ст.).

A28. Способ по любому из пунктов A15-A27, где способ введения включает парентеральное введение.

A29. Способ по любому из пунктов A15 - A28, где способ введения включает внутривенное введение.

A30. Способ по любому из пунктов A15-A28, где способ введения включает подкожное введение.

A31. Способ по любому из пунктов A15-A28, где способ введения включает медленную инфузию.

A32. Способ по любому из пунктов A15-A30, где способ введения включает болюсное введение.

A33. Способ по любому из пунктов A15-A30 и пункту A32, где способ введения включает введение три раза или меньше в день (*например*, введение один раз каждые 8 часов, введение один раз каждые 12 часов или введение один раз каждые 24 часа).

A34. Способ по пункту A33, где введение осуществляют только в дневное время с 6:00 до 18:00 (24-часовой формат) с частотой один раз каждые 4-6 часов, и где введение не осуществляют в ночное время с 18:00 до 6:00 (24-часовой формат).

A35. Способ по любому из пунктов A15-A34, дополнительно включающий введение антагониста V2.

A36. Способ по пункту A35, где антагонист V2 вводят в течение 1-8 часов, предпочтительно 1-3 часов, до введения частичного агониста V1a или после этого, предпочтительно до введения частичного агониста V1a.

A37. Способ лечения субъекта, включающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективной дозы фармацевтической композиции, содержащей пептид формулы (B), вводимой в течение 1-8 часов, предпочтительно 1-3 часов, до введения терапевтически эффективной дозы антагониста V2 или после этого, предпочтительно после введения терапевтически эффективной дозы антагониста V2, где пептид формулы (B) представляет собой

пептид, являющийся агонистом V1a, формулы (B),

$[X'-\text{Tyr-Phe-Gln-Asn-Cys-Pro-Lys}(Z)_d\text{-Gly-NH}_2]$ [SEQ ID NOS. 3-4]

(B),

или его фармацевтически приемлемую соль,

где

X' представляет собой $(U)_c\text{-Cys}$ или Mpa ,

при этом, если X' представляет собой $(U)_c\text{-Cys}$, и $(Z)_d$ отсутствует [SEQ ID NO. 3],

2 остатка Cys ковалентно связаны дисульфидной связью;

U представляет собой аминокислотный остаток и в каждом случае независимо

выбран из Gly, L-Ala, D-Ala, L-Lys, D-Lys, L-Orn, D-Orn, L-Glu, D-Glu, L-Asp и D-Asp, и с представляет собой целое число от 0 до 10; и

при этом, если X' представляет собой Mpa [SEQ ID NO. 4],

остатки Mpa и Cys ковалентно связаны дисульфидной связью,

Z представляет собой аминокислотный остаток и в каждом случае независимо выбран из Gly, D-Ala, L-Ala, D-Lys, L-Lys, D-Orn, L-Orn, D-Glu, L-Glu, D-Asp и L-Asp, и d представляет собой целое число от 0 до 5,

где у субъекта имеется состояние, выбранное из фиброза печени, цирроза, портальной гипертензии, асцита, варикозного расширения вен пищевода, варикозного расширения вен фундального отдела желудка, кровотечения, артериальной гипотензии, гепаторенального синдрома и любой их комбинации; или

где у субъекта имеется фиброз печени; или

где у субъекта имеется цирроз; или

где у субъекта имеется портальная гипертензия; или

где у субъекта имеется варикозное расширение вен пищевода; или

где у субъекта имеется варикозное расширение вен фундального отдела желудка;

или

где у субъекта имеется варикозное расширение вен с кровотечением; или

где у субъекта имеется артериальная гипотензия; или

где у субъекта имеется гепаторенальный синдром.

A38. Способ по пункту A37, где пептид, являющийся агонистом V1a, формулы (B) представляет собой пептид, являющийся агонистом V1a, формулы (III),

$[(U)_c\text{-Cys-Tyr-Phe-Gln-Asn-Cys-Pro-Lys-Gly-NH}_2]$ [SEQ ID NO. 7]

(III),

или его фармацевтически эффективную соль,

где

2 остатка Cys ковалентно связаны дисульфидной связью,

U представляет собой аминокислотный остаток и в каждом случае независимо выбран из Gly, L-Ala, D-Ala, L-Lys, D-Lys, L-Orn, D-Orn, L-Glu, D-Glu, L-Asp и D-Asp, и с представляет собой целое число от 0 до 10.

A39. Способ по пункту A37, где пептид, являющийся агонистом V1a, формулы (B) представляет собой пептид, являющийся агонистом V1a, формулы (IV),

$[Mpa\text{-Tyr-Phe-Gln-Asn-Cys-Pro-Lys}(Z)_d\text{-Gly-NH}_2]$ [SEQ ID NO. 4]

(IV),

или его фармацевтически эффективную соль,

где

остатки Mpa и Cys ковалентно связаны дисульфидной связью,

Z представляет собой аминокислотный остаток и в каждом случае независимо выбран из Gly, D-Ala, L-Ala, D-Lys, L-Lys, D-Orn, L-Orn, D-Glu, L-Glu, D-Asp и L-Asp, и d представляет собой целое число от 0 до 5.

A40. Способ по любому из пунктов A35-A39, где антагонист V2 предусматривает мозаваптан, толваптан, сложный эфир толваптана, сатаваптан, ликсиваптан, кониваптан, RWJ-351647, VP-343, VP-393, [PmP1, D-Ile2, Ile4, Arg8, Ala9]-вазопрессин, [PmP1, D-Ile2, Ile4, Arg8]-вазопрессин, [PmP1, D-Ile2, Ile4, Arg8, Ala9]-вазопрессин-(1-8)-ОН или любую их комбинацию.

A41. Способ по любому из пунктов A35-A40, где антагонистом V2 является толваптан, необязательно вводимый парентерально в дозе от 1 мкг/кг до 300 мкг/кг (*например*, от 1 мкг/кг до 200 мкг/кг или от 1 мкг/кг до 100 мкг/кг).

A42. Способ по любому из пунктов A35-A41, где субъектом является человек, и антагонистом V2 является толваптан, необязательно вводимый парентерально в дозе от 2 мг до 7 мг.

A43. Способ по любому из пункта A38 и пунктов A40-A42, где фармацевтическая композиция содержит пептид, являющийся агонистом V1a, формулы (III) или его фармацевтически приемлемую соль, где U представляет собой Gly и с равняется 3;

где антагонист V2 предусматривает толваптан; и

где весовое соотношение дозы пептида, являющегося агонистом V1a, и толваптана составляет от 1:6 до 1:2.

A44. Способ по любому из пунктов A15-A43, где частичный агонист V1a или агонист V1a вводят в дозе менее 150 нмоль/доза/кг (*например*, менее 140 нмоль/доза/кг, менее 130 нмоль/доза/кг, менее 120 нмоль/доза/кг, менее 110 нмоль/доза/кг, менее 100 нмоль/доза/кг, менее 90 нмоль/доза/кг, менее 80 нмоль/доза/кг, менее 70 нмоль/доза/кг или менее 50 нмоль/доза/кг).

Хотя иллюстративные варианты осуществления были проиллюстрированы и описаны, следует понимать, что в них могут быть внесены различные изменения без отступления от сущности и объема настоящего изобретения.

ИЗМЕНЕННОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-576637EA/026

ЧАСТИЧНЫЙ АГОНИСТ РЕЦЕПТОРА V1A И СПОСОБ ПРИМЕНЕНИЯ ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННУЮ ЗАЯВКУ

Данная заявка испрашивает приоритет заявки на патент США № 63/053340, поданной 17 июля 2020 года, описание которой включено в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте.

ЗАЯВЛЕНИЕ ОТНОСИТЕЛЬНО ПЕРЕЧНЯ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

Перечень последовательностей, связанный с данной заявкой, предоставлен в текстовом формате вместо бумажной копии и тем самым включен в описание посредством ссылки. Наименование текстового файла, содержащего перечень последовательностей - 3097_P27WO_Seq_List_Final.txt. Текстовый файл размером 18,0 КВ создан 16 июля 2021 года и подается через EFS-Web вместе с подачей описания.

ЗАЯВЛЕНИЕ О ПРАВАХ ГОСУДАРСТВЕННОЙ ЛИЦЕНЗИИ

Данное изобретение было создано при поддержке правительства в соответствии с DK103553, присужденным Национальными институтами здравоохранения. Правительство обладает определенными правами на настоящее изобретение.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

Асцит является серьезным осложнением цирроза, которое возникает у приблизительно 50% пациентов в течение 10 лет после постановки диагноза цирроза и связан с 50% смертностью в течение 2 лет. Асцит является результатом портальной гипертензии из-за блокирования кровотока в печени, в результате чего повышается уровень оксида азота, что приводит к вазодилатации внутренних артерий, что, в свою очередь, увеличивает приток крови, что затем приводит к тому, что большее количество крови задерживается в портальной области, вызывая гипертензию портальной вены. Возникающая в результате вазодилатация, вызванная оксидом азота, воспринимается почкой как гиповолемия, и почка отвечает задержкой соли и воды посредством ренин-ангиотензин-альдостероновой системы (RAAS). Текущее стандартное лечение асцита включает противодействие активности RAAS с помощью диуретиков для уменьшения накопления жидкости и парацентез для устранения асцитической жидкости. Однако данное лечение не оказывает улучшения в отношении лежащей в основе патофизиологии и является эффективным только на ранней стадии заболевания, когда объем периферической крови и общее содержание солей в организме еще поддаются такому лечению. Более того, данное лечение становится неэффективным, когда общее содержание солей и объем крови уменьшаются до настолько низких уровней, что система RAAS гиперактивируется и перекрывает артериальное кровоснабжение почки, что приводит к увеличению вероятности почечной недостаточности и гепаторенального синдрома.

Полагают, что вазоконстрикторы в целом и агонисты V1a в частности оказывают благоприятное влияние на декомпенсированный цирроз, что не сопровождается тяжелой почечной недостаточностью, и представляют собой потенциальное лечение осложнений

цирроза, включая асцит. См. Krag *et al.*, *Hepatology* 2007;46:1863-1871. Без привязки к конкретной теории полагают, что вазоконстрикторы устраняют артериальную вазодилатацию, восстанавливают артериальное давление и уменьшают внутренностное кровоснабжение за счет вазоконстрикции, и, таким образом, понижают портальное давление; вазоконстрикторы могут дополнительно увеличить почечную перфузию и фильтрационное давление и обратить вспять реакцию системы RAAS.

Вазопрессин, также называемый антидиуретическим гормоном (ADH), представляет собой гормон, который одновременно является вазоконстриктором и антидиуретиком благодаря его действию как на рецепторы V1, так и на рецепторы V2. Вазопрессин синтезируется в гипоталамусе и поступает в заднюю долю гипофиза, где высвобождается в кровеносную систему в ответ на гипертонус (гиперосмоляльность) внеклеточной жидкости. У людей вазопрессин в аминокислотной позиции 8 содержит остаток аргинина и называется аргинин-вазопрессином (AVP) или аргипрессином. У свиней вазопрессин в аминокислотной позиции 8 вместо аргинина содержит остаток лизина и называется лизин-вазопрессином (LVP). Терлипессин представлен вазопрессином свиней с тремя дополнительными остатками глицина на N-конце и называется три-глицил[8-лизин]вазопрессином. Считается, что терлипессин является неактивным пролекарством на основе LVP, которое быстро превращается в активный LVP после введения, оказывая действие, подобное AVP. Вазопрессин не связывается с белками и характеризуется объемом распределения 140 мл/кг и периодом полувыведения из плазмы крови, составляющим от 10 до 35 минут, поскольку он быстро метаболизируется вазопрессиназами печени и почек (35%) и, в конечном итоге, выводится через почки (65%). LVP также характеризуется кратковременным периодом полувыведения, составляющим 50 минут. См., Keun Suk Park и Kyung Yeon Yoo, *Korean J Anesthesiol.* 2017 Jun; 70(3): 245-257 и Jayanta K. Mitra *et al.*, *Indian J Crit Care Med.* 2011 Apr-Jun; 15(2): 71-77. Вазопрессин действует на рецепторы V1 (также называемые V1a, присутствующие в основном в кровеносных сосудах), V2, V3 (также называемые V1b, присутствующие в основном в центральной нервной системе (CNS)) и рецепторы окситоцинового типа (OTR). См. *Continuing Education in Anaesthesia Critical Care & Pain* 2008, 8(4): 134-137.

Вазопрессин обладает двумя первичными функциями. Во-первых, вазопрессин активирует рецептор V1 (также называемый V1a) в гладких мышцах, что приводит к вазоконстрикции и снижению синтеза оксида азота (NO); в результате повышается периферическое сосудистое сопротивление, что приводит к повышению артериального давления. Во-вторых, активация рецептора V2 вазопрессином в почке увеличивает реабсорбцию воды, не содержащей растворенных веществ, чтобы обратить вспять гипертонус (*m. e.* экскреция соли больше по сравнению с водой). Однако гиперактивация рецептора V2 может привести к низкой концентрации натрия в крови или гипонатриемии. См. Sima, M. *et al.*, *Prague Medical Report* 2016, 117 (1):68-72; Sola E. *et al.*, *Hepatology* 2010 52(5):1783-90; Krag *et al.*, *Hepatology* 2011,53(1):367-369; Eriksen, P.L., *et al.*, *United European Gastroenterology Journal* 2018, (8):1199-1205.

Поскольку вазопрессин может воздействовать на 3 разных рецептора (V1, V2, V3), изменение баланса активности трех рецепторов может иметь серьезные физиологические последствия. Незначительные структурные модификации вазопрессина могут привести к серьезному и непредсказуемому изменению активности. Например, замена остатка L-аргинина AVP на D-аргинин и дезаминирование N-конца обеспечивает получение десмопрессина, который характеризуется 2-часовым периодом полувыведения и более селективным V2-агонистическим или антидиуретическим эффектом по сравнению с AVP и LVP. Следовательно, десмопрессин является подходящим для применения в лечении полиурии, такой как полиурия, связанная с несахарным диабетом, и ночного энуреза. Как ни странно, несмотря на то, что модифицированные вазопрессины называются антидиуретическими гормонами, не все из них обладают диуретическим эффектом, что зависит от конкретных модификаций пептидной структуры.

Например, терлипрессин обладает ограниченной V2- или антидиуретической активностью (всего 3%, см. www.medicines.org.uk/emc/product/2115/smpc/print) и его прессорный эффект на V1a полезен при лечении кровотечения из варикозно расширенных вен пищевода и гепаторенального синдрома. См. www.medsafe.govt.nz/profs/datasheet/g/Glypressin01mgmlFerringinj.pdf. Однако, применение терлипрессина в настоящее время ограничено обеспечением интенсивной терапии из-за его кратковременного периода полувыведения. Кроме того, большая болюсная доза для компенсации кратковременного периода полувыведения терлипрессина вызывает тяжелую гипертензию и ишемию во многих органах из-за очень высокой C_{max} (максимальная концентрация в крови), что требует небольших и частых внутривенных (IV) болюсных инъекций каждые 4-6 часов во избежание высоких концентраций терлипрессина в крови, вызывающих ишемию. Наряду с этим подкожное введение терлипрессина может привести к высокой локальной концентрации под кожей, что приводит к некрозу в месте инъекции в дополнение к некрозу кожи в других частях тела при длительном применении высоких доз. Таким образом, хотя терлипрессин был доступен в Европе в течение последних двадцати лет, попытки улучшить его фармакокинетические свойства и увеличить его период полувыведения (но с C_{max} , которая не обуславливает ишемию) не увенчались успехом, часто приводя к потере рецепторной специфичности и в некоторых случаях обеспечивая вместо этого получение антагониста или ингибитора целевых рецепторов и нецелевых рецепторов. См., Rihakova, L. *et al.*, VRQ397 (CRAVKY): a novel noncompetitive V2 receptor antagonist. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2009. 297(4): p. R1009-18 (SEQ ID NO: 34); Gupta, J. *et al.*, Oxytocin-induced contractions within rat and rabbit ejaculatory tissues are mediated by vasopressin V1a receptors and not oxytocin receptors. *Br J Pharmacol*, 2008. 155(1): p. 118-26; Chan, W.Y. *et al.*, Discovery and design of novel and selective vasopressin and oxytocin agonists and antagonists: the role of bioassays. *Exp Physiol*, 2000. 85 Spec No: p. 7S-18S; Yea, C.M. *et al.*, New benzylureas as a novel series of potent, nonpeptidic vasopressin V2 receptor agonists. *J Med Chem*, 2008. 51(24): p. 8124-34; Saito, M., A. Tahara, and T. Sugimoto, 1-desamino-8-D-arginine vasopressin (DDAVP) as an agonist on V1b vasopressin receptor. *Biochem Pharmacol*,

1997. 53(11): p. 1711-7 (SEQ ID NO: 35); Yazawa, H. *et al.*, Oxytocin receptors expressed and coupled to Ca²⁺ signaling in a human vascular smooth muscle cell line. *Br J Pharmacol*, 1996. 117(5): p. 799-804; Tsukamoto, I., Recent patenting activities in the discovery and development of vasopressin V2 receptor agonists. *Expert Opin Ther Pat*, 2012. 22(6): p. 579-86; и Wisniewski, K., *et al.*, Discovery of Potent, Selective, and Short-Acting Peptidic V2 Receptor Agonists. *J Med Chem*, 2019. 62(10): p. 4991-5005.

Ингибитор V2 (толваптан), выполняющий функцию акваретика (*m. e.* диуретика при отсутствии натрийуреза), был одобрен для лечения гиперводемической и эводемической гипонатриемии (*m. e.* содержания сывороточного натрия 125 мэкв/л или менее выраженной гипонатриемии), включая пациентов с сердечной недостаточностью и синдромом неадекватной секреции антидиуретического гормона (SIADH). Поскольку толваптан является гепатотоксичным, он противопоказан пациентам с циррозом печени, гепаторенальной и портальной гипертензией, асцитом. *См. предупредительную метку лекарственного средства толваптана, доступную по адресу www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2018/2044411b1.pdf. Следовательно, любая инновация, которая позволит снизить дозу данного лекарственного препарата, чтобы избежать гепатотоксичности, улучшая при этом эффективность, внесет значительный вклад в долгосрочное стремление улучшить лечение пациентов с циррозом, асцитом и варикозным расширением вен, вызванными гепаторенальной и портальной гипертензией.*

Существует необходимость в агонисте рецептора V1a, который позволяет избежать или свести к минимуму недостатки или ограничения терлипессина. Агонист рецептора V1a должен воздействовать на гидродинамический дисбаланс сосудов в целом, такой как артериальное давление, объем крови и дисбаланс электролитов, наблюдаемый, например, при циррозе, портальной гипертензии, кровотечении, асците, сепсисе и гепаторенальном синдроме. Терапевтическое средство может быть 1) агонистом V1a, который можно повторно вводить подкожно, не вызывая некроза в месте инъекции, 2) агонистом V1a, который ограничивает его активность даже при высокой дозе (*m. e.* частичным агонистом V1a), так что он не будет активировать рецептор до его максимального потенциала, тем самым ограничивая побочные эффекты в виде ишемии органа (и, таким образом, характеризуясь очень высоким терапевтическим индексом), и/или 3) агонистом V1a, который не обладает значительной активностью V2 или антидиуретической активностью *in vivo*. Настоящее изобретение ориентировано на удовлетворение этих потребностей и обеспечивает дополнительные преимущества.

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Данное краткое изложение сущности изобретения предоставлено для ознакомления с рядом концепций в упрощенной форме, которые дополнительно описаны ниже в подробном описании. Данное краткое изложение сущности изобретения не предназначено для определения ключевых характеристик заявленного объекта, а также не предназначено для применения в качестве помощи в определении объема заявленного объекта.

В одном аспекте настоящее изобретение относится к композиции, содержащей

пептид, являющийся частичным агонистом V1a, формулы (A),

[Mpa-Tyr-Phe-Z-Asn-Cys-Pro-B(X)_a-Gly-NH₂] [SEQ ID NO. 1-2]

(A),

или его фармацевтически эффективную соль,

где

остатки Mpa и Cys ковалентно связаны дисульфидной связью,

Z представляет собой Hgn или Gln;

при этом, если Z представляет собой Hgn [SEQ ID NO. 1],

B представляет собой любой из L-Lys, D-Lys, L-Orn, D-Orn, L-Dab, D-Dab, L-Dap или D-Dap, и

X представляет собой аминокислотный остаток, при этом аминокислотный остаток в каждом случае независимо выбран из Gly, L-Ala, D-Ala, L-Lys, D-Lys, L-Orn, D-Orn, L-Glu, D-Glu, L-Asp и D-Asp, и a представляет собой целое число от 0 до 10 (*например*, от 0 до 1, от 1 до 2, от 1 до 3, от 1 до 10, от 1 до 6, от 4 до 10 или от 6 до 10), или

X представляет собой фрагмент, полученный из C₃₋₁₂жирной кислоты (*например*, C₃₋₆-, C₃₋₁₀-, C₄₋₁₂-, C₄₋₆-, C₄₋₁₀-, C₆₋₁₀-, C₈₋₁₀- или C₁₀₋₁₂жирной кислоты), содержащей первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, и a представляет собой целое число от 1 до 3;

при этом, если Z представляет собой Gln [SEQ ID NO. 2],

B представляет собой любой из L-Lys, D-Lys, L-Orn, D-Orn, L-Dab, D-Dab, L-Dap или D-Dap, и

X представляет собой аминокислотный остаток, при этом аминокислотный остаток в каждом случае независимо выбран из Gly, L-Ala, D-Ala, L-Lys, D-Lys, L-Orn, D-Orn, L-Glu, D-Glu, L-Asp и D-Asp, и a представляет собой целое число от 6 до 10, или

X представляет собой фрагмент, полученный из C₃₋₁₂жирной кислоты (*например*, C₃₋₆-, C₃₋₁₀-, C₄₋₁₂-, C₄₋₆-, C₄₋₁₀-, C₆₋₁₀-, C₈₋₁₀- или C₁₀₋₁₂жирной кислоты), содержащей первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, и a представляет собой целое число от 1 до 3; и

где композиция характеризуется терапевтическим индексом, составляющим по меньшей мере 20 (*например*, по меньшей мере 30, по меньшей мере 40, по меньшей мере 50, по меньшей мере 60, по меньшей мере 70, по меньшей мере 80, по меньшей мере 90 или по меньшей мере 100).

В другом аспекте настоящее изобретение относится к способу лечения субъекта, включающему введение субъекту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективной дозы фармацевтической композиции на основе формулы (A), и необязательно в комбинации с антагонистом V2, вводимой в течение 1-8 часов, предпочтительно 1-3 часов, до введения терапевтически эффективной дозы антагониста V2 или после этого, предпочтительно до введения терапевтически эффективной дозы антагониста V2.

В другом аспекте настоящее изобретение относится к способу лечения субъекта, включающему введение субъекту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективной

дозы фармацевтической композиции, содержащей пептид формулы (B), вводимой в течение 1-8 часов, предпочтительно 1-3 часов, до введения терапевтически эффективной дозы антагониста V2 или после этого, предпочтительно после введения терапевтически эффективной дозы антагониста V2, где пептид формулы (B) представляет собой

пептид, являющийся агонистом V1a, формулы (B),

$[X'-\text{Tyr-Phe-Gln-Asn-Cys-Pro-Lys}(Z)_d\text{-Gly-NH}_2]$ [SEQ ID NO. 3-4]

(B),

или его фармацевтически приемлемую соль,

где

X' представляет собой (U)_c-Cys или Mpa,

при этом, если X' представляет собой (U)_c-Cys [SEQ ID NO. 3],

2 остатка Cys ковалентно связаны дисульфидной связью;

U представляет собой аминокислотный остаток и в каждом случае независимо выбран из Gly, L-Ala, D-Ala, L-Lys, D-Lys, L-Orn, D-Orn, L-Glu, D-Glu, L-Asp и D-Asp, и c представляет собой целое число от 0 до 10;

Z отсутствует; и

d представляет собой количество Z и равняется 0, и

при этом, если X' представляет собой Mpa [SEQ ID NO. 4],

остатки Mpa и Cys ковалентно связаны дисульфидной связью,

Z представляет собой аминокислотный остаток и в каждом случае независимо выбран из Gly, D-Ala, L-Ala, D-Lys, L-Lys, D-Orn, L-Orn, D-Glu, L-Glu, D-Asp и L-Asp, и

d представляет собой целое число от 0 до 5.

В некоторых вариантах осуществления у субъекта имеется состояние, выбранное из фиброза печени, цирроза, портальной гипертензии, асцита, варикозного расширения вен пищевода, варикозного расширения вен фундального отдела желудка, кровотечения, артериальной гипотензии, гепаторенального синдрома и любой их комбинации; или где у субъекта имеется фиброз печени; или где у субъекта имеется цирроз; или где у субъекта имеется портальная гипертензия; или где у субъекта имеется варикозное расширение вен пищевода; или где у субъекта имеется варикозное расширение вен фундального отдела желудка; или где у субъекта имеется варикозное расширение вен с кровотечением; или где у субъекта имеется артериальная гипотензия; или где у субъекта имеется гепаторенальный синдром.

Описание графических материалов

Вышеизложенные аспекты и многие сопутствующие преимущества настоящего изобретения будут более высоко оценены по мере того, как они станут более понятными при обращении к следующему подробному описанию в сочетании с прилагаемыми графическими материалами, где:

Вышеуказанные аспекты и многие сопутствующие преимущества данного раскрытия будут более высоко оценены по мере того, как они станут более понятными при обращении к следующему подробному описанию в сочетании с прилагаемыми

графическими материалами, где:

ФИГУРА 1 представляет собой иллюстрацию стадий фиброза печени и цирроза.

ФИГУРА 2 представляет собой график, на котором показаны результаты определения EC50 пептидов формулы (I) [Mpa-Tyr-Phe-Hgn-Asn-Cys-Pro-Lys(X)_a-Gly [SEQ ID NO. 5] с дисульфидной связью между Mpa и Cys] в отношении рецептора V1a. Пептид формулы (I), где в "(X)_a" X=Gly, и a=0, 3, 6 или 9, характеризуется EC50, составляющей 5,2, 53,5, 45,9 или 104,8 нМ в отношении рецептора V1a (n=2). Это частичный агонист V1a с наивысшим агонистическим эффектом в 42,8, 32,9, 28,2 или 28,1% по сравнению с аргинин-вазопрессином (AVP), который является 100% контролем (n=2).

ФИГУРА 3 представляет собой график EC50 пептида формулы (II) [Mpa-Tyr-Phe-Gln-Asn-Cys-Pro-Lys(X)_a-Gly [SEQ ID NO. 6] с дисульфидной связью между Mpa и Cys] для рецептора V1a. Пептид формулы (II), где в "(X)_a" X=Gly, и a=6 или 9, характеризуется EC50, составляющей 27,3 нМ или 12,6 нМ в отношении рецептора V1a (n=2). Это частичный агонист V1a с наивысшим агонистическим эффектом в 60,9% или 55,9% по сравнению с аргинин-вазопрессином (AVP), который является 100% контролем (n=2).

Подробное описание

В настоящем изобретении описываются композиции, содержащие пептид, являющийся частичным агонистом V1a, формулы (A),

[Mpa-Tyr-Phe-Z-Asn-Cys-Pro-B(X)_a-Gly-NH₂] [SEQ ID NO. 1-2]

(A),

или его фармацевтически эффективную соль,

где

остатки Mpa и Cys ковалентно связаны дисульфидной связью,

Z представляет собой Hgn или Gln;

при этом, если Z представляет собой Hgn [SEQ ID NO. 1],

B представляет собой любой из L-Lys, D-Lys, L-Orn, D-Orn, L-Dab, D-Dab, L-Dap или D-Dap, и

X представляет собой аминокислотный остаток, при этом аминокислотный остаток в каждом случае независимо выбран из Gly, L-Ala, D-Ala, L-Lys, D-Lys, L-Orn, D-Orn, L-Glu, D-Glu, L-Asp и D-Asp, и a представляет собой количество X и является целым числом от 0 до 10 (*например*, от 0 до 1, от 1 до 2, от 1 до 3, от 1 до 10, от 1 до 6, от 4 до 10 или от 6 до 10), или

X в каждом случае представляет собой фрагмент, полученный из C₃₋₁₂жирной кислоты (*например*, C₃₋₆⁻, C₃₋₁₀⁻, C₄₋₁₂⁻, C₄₋₆⁻, C₄₋₁₀⁻, C₆₋₁₀⁻, C₈₋₁₀⁻ или C₁₀₋₁₂жирной кислоты), содержащей первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, и a представляет собой количество X и является целым числом от 1 до 3;

при этом, если Z представляет собой Gln [SEQ ID NO. 2],

B представляет собой любой из L-Lys, D-Lys, L-Orn, D-Orn, L-Dab, D-Dab, L-Dap или D-Dap, и

X представляет собой аминокислотный остаток, где аминокислотный остаток в

каждом случае независимо выбран из Gly, L-Ala, D-Ala, L-Lys, D-Lys, L-Orn, D-Orn, L-Glu, D-Glu, L-Asp и D-Asp, и а представляет собой количество X и является целым числом от 6 до 10, или

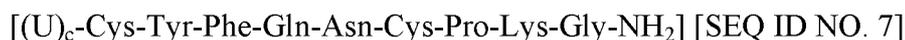
X в каждом случае представляет собой фрагмент, полученный из C₃₋₁₂жирной кислоты (*например*, C₃₋₆-, C₃₋₁₀-, C₄₋₁₂-, C₄₋₆-, C₄₋₁₀-, C₆₋₁₀-, C₈₋₁₀- или C₁₀₋₁₂жирной кислоты), содержащей первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, и а представляет собой количество X и является целым числом от 1 до 3; и

где композиция характеризуется терапевтическим индексом, составляющим по меньшей мере 20 (*например*, по меньшей мере 30, по меньшей мере 40, по меньшей мере 50, по меньшей мере 60, по меньшей мере 70, по меньшей мере 80, по меньшей мере 90 или по меньшей мере 100).

Антагонист V2 можно вводить в течение 1-8 часов, предпочтительно 1-3 часов, до введения пептида(-ов), являющегося(-ихся) частичным(-ыми) агонистом(-ами) V1a, по настоящему изобретению или после этого, предпочтительно до введения пептида(-ов), являющегося(-ихся) частичным(-ыми) агонистом(-ами) V1a.

В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к способу лечения субъекта, включающему введение субъекту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективной дозы фармацевтической композиции (i) или (ii), вводимой в течение 1-8 часов, предпочтительно 1-3 часов, до введения терапевтически эффективной дозы антагониста V2 или после этого, предпочтительно после введения терапевтически эффективной дозы антагониста V2, где (i) и (ii) являются такими, как определено ниже:

(i) терапевтически эффективная доза фармацевтической композиции, содержащей пептид, являющийся агонистом V1a, формулы (III),



(III),

или его фармацевтически эффективную соль,

где

2 остатка Cys ковалентно связаны дисульфидной связью,

U представляет собой аминокислотный остаток и в каждом случае независимо выбран из Gly, L-Ala, D-Ala, L-Lys, D-Lys, L-Orn, D-Orn, L-Glu, D-Glu, L-Asp и D-Asp, и с представляет собой количество U и является целым числом от 0 до 10;

(ii) терапевтически эффективная доза фармацевтической композиции, содержащей пептид, являющийся агонистом V1a, формулы (IV),



(IV),

или его фармацевтически эффективную соль,

где

остатки Mpa и Cys ковалентно связаны дисульфидной связью,

Z представляет собой аминокислотный остаток и в каждом случае независимо выбран из Gly, D-Ala, L-Ala, D-Lys, L-Lys, D-Orn, L-Orn, D-Glu, L-Glu, D-Asp и L-Asp, и

d представляет собой количество Z и является целым числом от 0 до 5,

где у субъекта имеется состояние, выбранное из фиброза печени, цирроза, портальной гипертензии, асцита, варикозного расширения вен пищевода, варикозного расширения вен фундального отдела желудка, кровотечения, артериальной гипотензии, гепаторенального синдрома и любой их комбинации; или

где у субъекта имеется фиброз печени; или

где у субъекта имеется цирроз; или

где у субъекта имеется портальная гипертензия; или

где у субъекта имеется варикозное расширение вен пищевода; или

где у субъекта имеется варикозное расширение вен фундального отдела желудка;

или

где у субъекта имеется варикозное расширение вен с кровотечением; или

где у субъекта имеется артериальная гипотензия; или

где у субъекта имеется гепаторенальный синдром.

Определения

В различных местах в данном описании заместители соединений настоящего изобретения раскрыты в группах или в диапазонах. В частности, предполагается, что описание включает каждую отдельную подкомбинацию членов таких групп и диапазонов. Например, термин "C₁₋₆алкил" специально предназначен для обозначения отдельно метила, этила, C₃алкила, C₄алкила, C₅алкила и C₆алкила.

Применяемый в данном документе термин "полимер" относится к макромолекуле, образованной главным образом или полностью из множества подобных повторяющихся звеньев, ковалентно связанных вместе. Термин "полимер" включает производные целлюлозы, поли(этиленгликоль) (PEG), метоксиполи(этиленгликоль) (MPEG), сополимер молочной и гликолевой кислот и поли(N-винилпирролидон) и их производные. Такие полимеры могут быть разветвленными или линейными. Применяемый в данном документе полимер может быть присоединен к пептидам, белку или линкерной группе посредством амидной, сложноэфирной, простой эфирной, простой тиоэфирной, сложной тиоэфирной или карбаматной связи или посредством линкеров, содержащих одну из этих связей. Полимеры также могут быть привиты друг к другу для получения вспомогательного вещества, представляющего собой защищенный привитый сополимер, которое при смешивании с активным фармацевтическим ингредиентом может улучшать фармакокинетические и фармакодинамические свойства активного фармацевтического ингредиента за счет продления его присутствия в крови или плазме крови после введения *in vivo*.

Термин "аминокислоты", применяемый в данном документе, означает органические соединения с молекулярной массой менее 500 Да, которые содержат функциональные амино- (-NH₂) и карбоксильную (-COOH) группы, а также боковую цепь (R-группу), специфичную для каждой аминокислоты. Ключевыми элементами аминокислоты являются углерод (C), водород (H), кислород (O) и азот (N), хотя в боковых цепях некоторых

аминокислот присутствуют и другие элементы. По состоянию на 1983 г. было известно около 500 встречающихся в природе аминокислот (хотя только 20 встречаются в генетическом коде млекопитающих, причем эти 20 аминокислот также упоминаются в данном документе как "природные аминокислоты"). Аминокислоты могут представлять собой альфа-аминокислоты, где аминогруппа связана непосредственно с альфа-атомом углерода. Аминокислоты могут быть отличными от альфа-аминокислоты, где первичная аминогруппа связана с атомом углерода в положении, отличном от альфа-положения. Альфа-атом углерода представляет собой атом углерода, расположенный непосредственно возле карбоксильной группы. Аминокислоты могут образовывать "строительные блоки" белков и могут обладать хиральными атомами углерода, так что аминокислота может быть представлена оптическим D- или L-изомером.

В данном документе применяются трехбуквенные коды для аминокислот и/или пептидных остатков, за исключением фрагментов жирных кислот, содержащих первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, которые описаны ниже. Например, аланин - Ala, аргинин - Arg, аспарагин - Asn, аспарагиновая кислота - Asp, цистеин - Cys, диаминамасляная кислота - Dab, диаминопимелиновая кислота - Dap, глутаминовая кислота - Glu, глутамин - Gln, глицин - Gly, гистидин - His, гомоглутамин - Hgn, изолейцин - Ile, лейцин - Leu, лизин - Lys, меркаптопропионовая кислота - Mpa, метионин - Met, орнитин - Orn, фенилаланин - Phe, пролин - Pro, серин - Ser, треонин - Thr, триптофан - Trp, тирозин - Tyr, валин - Val. Применяемые в данном документе коды для аминокислот обозначают L-аминокислоты, если посредством "D-" перед кодом не указано иное (*например*, D-Arg и т. д.).

Если в данном документе для аминокислот применяются однобуквенные коды, то аланин - A, аргинин - R, аспарагин - N, аспарагиновая кислота - D, цистеин - C, глутаминовая кислота - E, глутамин - Q, гомоглутамин - homoQ, глицин - G, гистидин - H, изолейцин - I, лейцин - L, лизин - K, метионин - M, фенилаланин - F, пролин - P, серин - S, треонин - T, триптофан - W, тирозин - Y, валин - V. В целях данной заявки однобуквенные коды для аминокислот включают стереоизомеры L- и/или D-аминокислот.

Следует учитывать, что если аминокислоты объединяются с образованием пептида, аминокислоты называют аминокислотными остатками, где удалены элементы воды. Кроме того, когда настоящее изобретение относится к аминокислоте в пептидной последовательности, подразумевается, что это аминокислотный остаток.

Применяемый в данном документе термин "остаток" относится к двухвалентному фрагменту, полученному при удалении водорода из альфа-аминогруппы и гидроксильной группы из карбоксильной группы альфа-аминокислоты.

Термин "производное" или "аналог", применяемый в данном документе, предусматривает соединения, чьи структуры каркаса являются такими же, как структура каркаса исходного соединения, или же очень похожими на нее, но которые характеризуются химической или физической модификацией, такой как другие или дополнительные группы; термин включает сополимеры исходных соединений, которые

могут быть связаны с другими атомами или молекулами. Термин также предусматривает пептид или белок, характеризующийся по меньшей мере 80% (*например*, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% или по меньшей мере 98%) идентичностью последовательности с исходным пептидом или белком. Термин также предусматривает пептид с присоединенными к нему дополнительными группами, такими как дополнительная метка или тег, по сравнению с исходным пептидом. Термин также предусматривает полимер с присоединенной к нему дополнительной группой, такой как алкокси- или метоксигруппа, по сравнению с исходным полимером.

Применяемый в данном документе термин "производное добавления" или "производное расширения" относится к производному пептида, где главная аминокислотная последовательность пептида остается такой же, а добавление дополнительных функциональных групп и/или аминокислотных остатков к главной аминокислотной последовательности с применением одного или нескольких реакционноспособных фрагментов в главной аминокислотной последовательности обеспечивает получение производного добавления или производного расширения. Производное добавления или производное расширения отличается от производного, полученного за счет укорочения и/или замещения пептида, где один или несколько аминокислотных остатков главной аминокислотной последовательности пептида были удалены и/или заменены другими функциональными группами и/или аминокислотами соответственно.

Применяемый в данном документе термин "жирная кислота" означает молекулу с карбоксильной группой, ковалентно связанной с алкильной цепью, при этом жирная кислота содержит 3-16 углеродных звеньев или больше. В некоторых вариантах осуществления жирная кислота включает C_{3-12} -углеродные звенья (*например*, C_{3-6} -, C_{3-10} -, C_{4-12} -, C_{4-6} -, C_{4-10} -, C_{6-10} -, C_{8-10} - или C_{10-12} -углеродные звенья), в том числе атом углерода карбоксильной группы. Жирная кислота может быть функционализована с помощью первичной аминогруппы при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, при этом функционализованная жирная кислота может быть получена из жирных кислот или карбоксиламинов. Жирная кислота может быть насыщенной или ненасыщенной. Примеры жирных кислот включают каприловую кислоту, каприновую кислоту, лауриновую кислоту, миристиновую кислоту, пальмитиновую кислоту, стеариновую кислоту, арахидиновую кислоту, бегеновую кислоту и/или лигноцериную кислоту.

Применяемый в данном документе термин "жирная кислота, содержащая первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода" означает жирную кислоту, содержащую первичную аминогруппу, присоединенную к атому углерода, находящемуся в положении, отличном от альфа-положения относительно карбоксильной группы, при этом аминогруппа является не ацилированной. Например, бета-аминопропановая (пропионовая) кислота является жирной кислотой, содержащей первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, с 3 углеродными звеньями, 4-аминобутановая (масляная) кислота является жирной кислотой,

содержащей первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, с 4 углеродными звеньями, 5-аминопентановая (валериановая) кислота является жирной кислотой, содержащей первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, с 5 углеродными звеньями, 6-аминогексановая (капроновая) кислота является жирной кислотой, содержащей первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, с 6 углеродными звеньями, 7-аминогептановая (энантовая) кислота является жирной кислотой, содержащей первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, с 7 углеродными звеньями, 8-аминооктановая (каприловая) кислота является жирной кислотой, содержащей первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, с 8 углеродными звеньями, 9-аминононановая (пеларгоновая) кислота является жирной кислотой, содержащей первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, с 9 углеродными звеньями, 10-аминодекановая (каприновая) кислота является жирной кислотой, содержащей первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, с 10 углеродными звеньями, 11-аминоундекановая (ундециловая) кислота является жирной кислотой, содержащей первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, с 11 углеродными звеньями, 12-аминододекановая (лауриновая) кислота является жирной кислотой, содержащей первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, с 12 углеродными звеньями, 13-аминотридекановая (тридециловая) кислота является жирной кислотой, содержащей первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, с 13 углеродными звеньями, 14-аминотетрадекановая (миристиновая) кислота является жирной кислотой, содержащей первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, с 14 углеродными звеньями, 15-аминопентадекановая (пентадециловая) кислота является жирной кислотой, содержащей первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, с 15 углеродными звеньями, 16-аминопальмитиновая кислота является жирной кислотой, содержащей первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, с 16 углеродными звеньями и т. д. Жирная кислота, содержащая первичную аминогруппу, присоединенную к атому углерода, отличному от альфа-атома углерода, может быть ковалентно связана с пептидной последовательностью на ее N-конце посредством карбоксильной группы или на ее C-конце посредством аминогруппы. Ковалентно связанный с пептидной последовательностью или с другой молекулой остаток жирной кислоты, содержащей первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, называется "фрагментом, полученным из жирной кислоты, содержащей первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода".

Применяемый в данном документе термин "сложный эфир жирной кислоты" относится к длинной алифатической цепи (насыщенной или ненасыщенной), содержащей фрагмент $-C(=O)O-$ на конце цепи.

Применяемый в данном документе термин "амид жирной кислоты" относится к длинной алифатической цепи (насыщенной или ненасыщенной), содержащей фрагмент -C(=O)NR- на конце цепи.

Применяемый в данном документе термин "алкил" относится к насыщенной углеводородной группе с прямой (*например*, линейной) или разветвленной цепью. Примеры алкильных групп включают метил (Me), этил (Et), пропил (*например*, н-пропил и изопропил), бутил (*например*, н-бутил, изобутил, трет-бутил), пентил (*например*, н-пентил, изопентил, неопентил) и т. п. Алкильная группа может содержать от 1 до приблизительно 30, от 1 до приблизительно 24, от 2 до приблизительно 24, от 1 до приблизительно 20, от 2 до приблизительно 20, от 1 до приблизительно 10, от 1 до приблизительно 8, от 1 до приблизительно 6, от 1 до приблизительно 4 или от 1 до приблизительно 3 атомов углерода.

Применяемый в данном документе термин "фиброз" или "фиброз печени" относится к рубцеванию печени, а термин "цирроз" относится к обширному рубцеванию или фиброзу печени, при котором значительное количество долек окружено фиброзной коллагенсодержащей рубцовой тканью вследствие сшивания вместе нескольких портальных и центральных зон. Ссылаясь на фигуру 1, фиброз печени при хроническом гепатите классифицируется в соответствии с пятью стадиями (0-4) по системе оценки METAVIR (1994). Согласно данной оценке F0 означает отсутствие фиброза; F1 (легкая степень фиброза) характеризуется фиброзным расширением портальных зон в отсутствие перемычек; F2 (умеренная степень фиброза) - фиброзные перемычки увеличиваются с образованием случайных мостиков между смежными сосудистыми структурами, включающих портально-портальные и/или портально-центральные мостики; F3 (тяжелая степень фиброза) характеризуется многочисленными мостиками или перемычками и отсутствием цирроза (толстый коллагеновый рубец, соединяющий портальную зону и центральную зону); и F4 (цирроз) - в ткани имеются узелки, полностью окруженные фиброзом (*например*, значительное количество долек превратилось в узелки, окруженные фиброзным коллагеновым рубцом). См. Lipid peroxidation in hepatic fibrosis by Ichiro Shimizu *et al.*, Lipid Peroxidation in Hepatic Fibrosis, опубликованный 29 августа 2012 г.; DOI: 10.5772/46180, www.intechopen.com/books/lipid-peroxidation/lipid-peroxidation-in-hepatic-fibrosis, включенный в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте. Без привязки к конкретной теории полагают, что цирроз печени обусловлен многими факторами, включая хроническое употребление алкоголя в больших количествах, хронический гепатит В или гепатит С, отложение жира в печени, отложение железа, муковисцидоз, отложение меди, плохо сформированные желчные протоки, аутоиммунные заболевания печени, травмы желчных протоков, инфекции печени и/или прием конкретных лекарственных препаратов, таких как метотрексат.

Применяемый в данном документе термин "компенсированный цирроз" относится к циррозу, при котором отсутствуют клинические такие симптомы, как варикозное расширение вен и/или асцит, а печень все еще нормально функционирует.

Применяемый в данном документе термин "декомпенсированный цирроз" относится

к циррозу, который находится на поздней стадии, когда рубцевание печени становится настолько серьезным, что печень не может нормально функционировать. С клинической точки зрения он характеризуется одним или несколькими из асцита, варикозного расширения вен с кровотечением и без него, желтухи, повышенной утомляемости, потери веса, легких кровотечения и синяков, асцита, опухших ног, спутанности сознания, неразборчивой речи, сонливости, печеночной энцефалопатии, тошноты и потери аппетита, сосудистой сеточки, покраснения ладоней, сокращения яичек и увеличения груди у мужчин и/или необъяснимого зуда. Сывороточный билирубин, креатинин и международное нормализованное соотношение для протромбинового индекса (INR) применяют для моделирования оценки терминальной стадии заболевания печени (MELD), которая находится в диапазоне от 6 до 40 и является наиболее часто применяемым средством диагностики при заболевании печени на поздней стадии. Оценка $MELD = 3,78 \times \ln[\text{сывороточный билирубин (мг/дл)}] + 11,2 \times \ln[INR] + 9,57 \times \ln[\text{сывороточный креатинин (мг/дл)}] + 6,43$.

Применяемый в данном документе термин "среднее значение артериального давления" или "МАР" относится к 1/3 разности систолического (SBP) и диастолического (DBP) давления плюс DBP (т. е. $MAP = 1/3 (SBP - DBP) + DBP$).

Применяемый в данном документе термин "гипотензия" относится к низкому кровяному давлению, например, когда давление, которое оказывает кровь на стенки артерии является низким, или когда систолическое давление составляет менее 90 мм рт. ст., и/или диастолическое давление составляет менее 60 мм рт. ст. Гипотензия может быть обусловлена расслаблением гладких мышц, окружающих кровеносные сосуды, что приводит к увеличению диаметра сосудов.

Применяемый в данном документе термин "портальная вена" относится к кровеносным сосудам, которые транспортируют кровь, поступающую из пищевода, желудка, селезенки, поджелудочной железы, тонкой кишки и/или толстой кишки, в печень.

Применяемый в данном документе термин "портальная гипертензия" или "гипертензия портальной вены" относится к высокому давлению в портальной вене, например, когда давление, которое оказывает кровь на стенку портальной вены повышается из-за сопротивления кровотоку, проходящему через печень, или его блокады (например, блокада может быть вызвана циррозом печени). Гипертензия портальной вены или портальная гипертензия может проявляться одновременно с пониженным средним значением артериального давления или МАР. Гипертензия портальной вены может быть охарактеризована посредством градиента печеночного венозного давления (HVPG), который превышает 5 мм рт. ст. (*например*, превышает 7 мм рт. ст., превышает 10 мм рт. ст. или превышает 15 мм рт. ст.). Клинически значимая портальная гипертензия (CSPH) определяется значением HVPG 10 мм рт. ст. и выше.

Применяемый в данном документе термин "градиент печеночного венозного давления" или HVPG обозначает клиническое измерение градиента давления между давлением заклинивания в венозной системе печени (WHVP) и свободным давлением в

венозной системе печени (FHVP) и является оценкой градиента давления между портальной веной и нижней полой веной. HVPG определяется путем введения надувного катетера (вводимого через латеральную подкожную вену руки, бедренную или правую яремную вены) в печеночную вену и измерения давления до надувания, которое является FHVP. WHVP измеряется путем раздувания баллонного катетера в правой печеночной вене до перекрытия потока с последующим измерением давления проксимальной статической крови (которое отображает давление в синусоидах). Следовательно, HVPG определяется путем вычитания FHVP из WHVP (*т. е.* $HVPG = WHVP - FHVP$). На самом деле WHVP немного занижает портальное давление из-за синусоидального уравнивания у пациентов без цирроза, но разница между ними двумя является клинически незначительной. У пациентов с цирротической печенью межсинусоидальное сообщение нарушено, так что равновесие синусоидального давления не может поддерживаться, и, таким образом, WHVP является гораздо более точным показателем катетера для измерения давления в портальной вене и является стандартным подходом для оценки портального венозного давления. Значение $HVPG \geq 5$ мм рт. ст. определяет портальную гипертензию, а если измеренное значение превышает 10 мм рт. ст., это называется клинически значимой портальной гипертензией. При давлении выше 12 мм рт. ст. в любой момент может возникнуть кровотечение из варикозно расширенных вен, что может привести к неотложному состоянию, угрожающему жизни.

Применяемый в данном документе термин "асцит" относится к аномальному накоплению жидкости в брюшной полости (*например*, 25 мл или больше), обычно обусловленному циррозом. Жидкость является идеальной средой для размножения бактерий, что приводит к спонтанному бактериальному перитониту.

Применяемый в данном документе термин "рефрактерный асцит" относится к асциту, который не может быть устранен или который рецидивирует вскоре после терапевтического парацентеза, несмотря на ограничение натрия и лечение диуретиками. В настоящее время не существует одобренной медицинской терапии, специально предназначенной для рефрактерного асцита. Применяемый в данном документе термин "парацентез" относится к перфорации (брюшинной) полости тела полой иглой для удаления жидкости (или газа).

Применяемый в данном документе термин "варикозное расширение вен" относится к увеличенным, или опухшим, или расширенным кровеносным сосудам, обусловленным портальной гипертензией, что может представлять угрозу для жизни в случае присутствия в пищеводе или в области дна желудка. Варикозное расширение вен не обуславливает никаких симптомов, за исключением случаев, когда вены разрываются и кровоточат, в этом случае они представляют собой угрожающее жизни явление, которое требует немедленной медицинской помощи. Применяемый в данном документе термин "варикозное расширение вен пищевода" относится к аномально увеличенным венам в пищеводе, что возникает, когда нормальный поток венозной крови к печени блокируется сгустком или циррозом. Такое варикозное расширение вен может быть опасным для жизни, если они вскрываются и

кровоотчат. Пищевод представляет собой трубку, которая соединяет горло с желудком. При появлении увеличенных вен на слизистой оболочке пищевода, они носят название варикозного расширения вен пищевода.

Применяемый в данном документе термин "варикозное расширение вен желудка" относится к расширенным венам подслизистого слоя в желудке, что может быть опасной для жизни причиной кровотечения в верхних отделах желудочно-кишечного тракта. Чаще всего они обнаруживаются у пациентов с портальной гипертензией или повышенным давлением в системе портальной вены, что может быть осложнением цирроза. Применяемый в данном документе термин "варикозное расширение вен фундального отдела желудка" относится к варикозному расширению вен желудка в фундальном отделе желудка.

Применяемый в данном документе термин "гепаторенальный синдром" или "HRS" относится к типу прогрессирующей почечной недостаточности, наблюдаемой у людей с тяжелым поражением печени, чаще всего обусловленной циррозом, и является чрезвычайно серьезным состоянием и практически всегда приводит к летальному исходу. Когда почки прекращают функционировать, в организме начинают накапливаться токсины. В конечном итоге это приводит к печеночной недостаточности. Существует две формы HRS: HRS 1 типа (медиана выживаемости составляет 2 недели со 100% летальностью на 8-10 неделе в отсутствие пересадки печени) связан с быстро прогрессирующей почечной недостаточностью и накоплением креатинина; HRS 2 типа (медиана выживаемости составляет 6 месяцев) связан с более постепенным поражением почек. HRS 2 типа в целом прогрессирует более медленно. Симптомы обычно менее выражены и связаны с портальной гипертензией и развитием асцита или началом развития асцита. HRS 2 типа лечат диуретиками и ограничением соли, но в конечном итоге у таких пациентов развивается резистентный к диуретикам асцит, при котором почки не способны выводить достаточное количество натрия для очищения жидкости, причем даже с применением диуретических лекарственных препаратов. Большинство индивидуумов с HRS 2 типа имеют резистентный к диуретикам асцит до того, как развивается ухудшение функции почек.

Применяемый в данном документе термин "частичный агонист V1a" относится к терапевтическому средству (*например*, пептиду), которое связывается с рецептором V1a, но обладает только частичной эффективностью в отношении рецептора по сравнению с полным агонистом. В целях настоящего изобретения аргинин-вазопрессин является полным агонистом, а также известен в уровне техники как таковой. Частичный агонист проявляет как агонистический, так и антагонистический эффекты и в присутствии полного агониста частичный агонист выполняет функцию антагониста и конкурирует с полным агонистом за тот же рецептор, снижая тем самым способность полного агониста проявлять его максимальный эффект. Частичный агонист V1a вызывает частичную вазоконстрикцию, воздействуя на гладкие мышцы, окружающие периферические артериальные сосуды, что приводит к повышению кровяного давления. Частичная вазоконстрикция минимизирует

риск ишемии, в то же время позволяя повысить кровяное давление; частичная вазоконстрикция также может обеспечить уменьшение поступления крови к внутренностной области, что в дополнение к циррозу содействует портальной гипертензии. *In vivo* полный агонист в высокой дозе обладает более высоким риском полного закрытия сосудов, что приводит к нарушению оксигенации ткани или ишемии ткани. Частичный агонист может быть продемонстрирован путем измерения максимальной активности (такой как приток кальция) исследуемого агониста при концентрации насыщения в культуре клеток и сравнения максимальной активности с активностью аргинин-вазопрессина при тех же условиях. Чтобы удостовериться в том, что во время измерения достигнута концентрация насыщения, применяют несколько концентраций тестируемого агониста до тех пор, пока не будет продемонстрировано насыщение (очевидное из приблизительно S-образной кривой насыщения). Концентрации насыщения полного агониста можно добиться в параллельном исполнении и/или подобным образом. Полный агонист может быть эталонным 100% сигналом при насыщении, а частичный агонист при насыщении имеет сигнал менее 100% (например, 80%, 60%, 50%, 40%, 20% или 10%). Данное определение также предусматривает эффективную концентрацию при 50% насыщении или EC50, что является концентрацией, необходимой для полумаксимального связывания с рецептором. Данная процедура хорошо известна в уровне техники и описана в нескольких примерах в настоящей заявке.

Применяемый в данном документе термин "терапевтический индекс" (ТИ; также называемый терапевтическим соотношением) представляет собой количественный показатель относительной безопасности лекарственного средства. В целях настоящего изобретения ТИ представляет собой соотношение, где числитель является самой высокой дозой, которая не вызывает вялости или неблагоприятного эффекта (уровень отсутствия наблюдаемых неблагоприятных эффектов или NOAEL), относительно контроля; а знаменатель является самой высокой дозой, которая не вызывает выраженной периферической вазоконстрикции (уровень отсутствия наблюдаемых эффектов или NOEL), по сравнению с необработанным контролем (*m. e.* ТИ представляет собой соотношение NOAEL/NOEL). В целях настоящей заявки вялость представляет собой отсутствие энергии и/или сонливость, что визуально наблюдается у крыс в виде отсутствия подвижности, например отсутствия подвижности даже при наличии деятельности человека. В целях настоящего описания периферическая вазоконстрикция визуально наблюдается по бледности конечностей (например, кожи рук, ступней, ушей и губ). У крыс периферическая вазоконстрикция определяется путем непосредственного сравнения бледности ушей у обработанных субъектов (например, у крыс линии Sprague Dawley, белых крыс с легко визуализируемыми изменениями в покраснении/бледности) и необработанных контрольных субъектов. Агонист V1a (или частичный агонист) с высоким терапевтическим индексом будет характеризоваться лучшим профилем безопасности, чем агонист (или частичный агонист) с низким терапевтическим индексом, за счет обеспечения более широкого предела безопасности для дозирования в ходе лечения заболевания. Данное

соотношение NOAEL/NOEL, являясь количественным показателем относительной безопасности, представляет собой сравнительную характеристику количества терапевтического средства, которое вызывает терапевтический эффект (полезный эффект, вазоконстрикция в целях настоящего описания), и количества, которое вызывает токсичность. Агонист V1a, вызывающий сильную вазоконстрикцию, будет влиять не только на периферические сосуды с несколькими слоями гладких мышц, но также и на другие сосуды, присутствующие в других органах (*например*, в сердце, легких, почке, головном мозге), и это приведет к наблюдаемой вялости и, в конечном итоге, атаксии. Частичный агонист с меньшей долей вероятности достигает такого крайне высокого уровня вазоконстрикции и, как полагают, характеризуется более высоким терапевтическим индексом.

Применяемый в данном документе термин "антагонист V2" относится к терапевтическому средству, которое связывается с рецептором V2 и ингибирует его функцию. Поскольку ингибирование рецептора V2 приводит к увеличенной выработке мочи с пониженным содержанием соли, антагонист V2 также называют акваретиком. Одним из примеров антагониста V2 является толваптан, который конкурентно и селективно связывается с рецептором V₂, не активируя рецептор V2, и который снижает вероятность того, что нативный агонист рецептора V2 свяжется с рецептором и активирует его, вызывая реабсорбцию воды из клубочкового фильтрата в кровь. Таким образом, антагонист V2 вызывает снижение содержания воды в крови и, в свою очередь, объема крови.

Применяемые в данном документе термины "индивид", "субъект" или "пациент", используемые взаимозаменяемо, относятся к любому животному, в том числе млекопитающим, предпочтительно мышам, крысам, другим грызунам, кроликам, собакам, кошкам, свиньям, крупному рогатому скоту, овцам, лошадям или приматам и наиболее предпочтительно к людям.

Применяемые в данном документе фразы "терапевтически эффективное количество" или "терапевтически эффективная доза", используемые взаимозаменяемо, относятся к количеству терапевтического средства (т. е. лекарственного средства или композиции на основе терапевтического средства), которое вызывает ожидаемый исследователем, ветеринаром, врачом или другим лечащим персоналом биологический или медицинский ответ в ткани, системе, организме животного, индивида или человека, что предусматривает одно или несколько из следующего:

(1) предупреждение заболевания; например, предупреждение заболевания, состояния или нарушения у индивида, который может быть предрасположен к заболеванию, состоянию или нарушению, но еще не испытывает патологию или симптоматику заболевания или они у него не проявляются;

(2) ингибирование заболевания; например, ингибирование заболевания, состояния или нарушения у индивида, который испытывает патологию или симптоматику заболевания, состояния или нарушения или они у него проявляются; и

(3) облегчение заболевания; например, облегчение заболевания, состояния или

нарушения у индивида, который испытывает патологию или симптоматику заболевания, состояния или нарушения (т. е. реверсию патологии и/или симптоматики), или они у него проявляются, такое как снижение тяжести заболевания, продление время жизни или предотвращение смерти.

Применяемый в данном документе термин "лечение" относится к процедуре, проводимой после диагностики состояния.

Применяемый в данном документе термин "смягчение отрицательных последствий" относится к процедуре, проводимой для предупреждения или снижения вероятности прогнозируемого нарушения функции или заболевания.

Применяемый в данном документе термин "здоровый субъект" относится к индивиду (человеку и/или млекопитающим животным), который является участником в научном исследовании и не имеет значительных проблем со здоровьем.

Применяемые в данном документе термины "болюс", "болюсная доза" или "болюсное введение" относятся к разовой дозе лекарственного средства или другого вещества, применяемой или вводимой за короткий период времени, например, менее 10 минут (*например*, менее 8 минут, менее 5 минут, менее 3 минут или менее 1 минуты). Введение предусматривает одно из следующего: инъекцию в любую часть тела (в том числе без ограничения в кровеносные сосуды, подкожно, интратекально или интрадермально), энтеральное введение (*например*, перорально, в виде дозированной лекарственной формы), ингаляцию (*например*, путем интратрахеального ингаляционного введения, при котором субъект подвергается воздействию высоких концентраций аэрозоля, так что активный фармацевтический ингредиент осаждается непосредственно в нижних дыхательных путях) или назальное введение (*например*, в виде аэрозоля, жидкости или порошка). В целях настоящего изобретения болюсное введение отличается от инфузионного введения, которое обычно занимает 30 минут или больше.

Применяемый в данном документе термин "введение", также называемое "путь введения", относится к месту в организме, в котором субъекту вводят или наносят фармакологическое средство. Примеры: энтеральный/желудочно-кишечный, благодаря которому осуществляется доставка посредством желудочно-кишечного тракта, что включает всю пищеварительную систему от рта до прямой кишки, в том числе пероральный, ректальный, сублингвальный и буккальный. Парентеральный, благодаря которому осуществляется доставка путями, отличными от желудочно-кишечного тракта, как *например*, внутривенный, подкожный, субдермальный, внутримышечный, внутрибрюшинный, интраплевральный, интраназальный и т. п.

Применяемый в данном документе термин "подкожное введение", "s.c.", "s.c. введение", "SC" или "SC введение" относится к доставке лекарственного средства, обычно в жидкой форме, непосредственно в жировые ткани прямо под кожей. Доставку обычно осуществляют путем непосредственной инъекции. Такие инъекции являются менее глубокими, чем инъекции, осуществляемые в мышечные ткани. Медицинские работники часто применяют подкожные инъекции для лекарственных препаратов, которые пригодны

для всасывания в кровоток медленно и непрерывно.

Применяемый в данном документе термин "внутривенное введение", "IV введение" или "IV инъекция" относится к доставке лекарственного средства, как правило в жидкой форме, непосредственно в вену животного или человека. Способы доставки обычно реализуются путем прямой инъекции. Внутривенный путь введения может использоваться как для инъекций, с применением шприца при более высоком давлении, так и для инфузий, например, с применением давления, создаваемого силой тяжести.

Применяемый в данном документе термин "внутримышечное введение", "IM введение" или "IM инъекция" относится к внутримышечной доставке лекарственного средства, обычно в жидкой форме, непосредственно в мышцы животного или человека. Доставка обычно осуществляется путем прямой инъекции. Это позволяет лекарственному препарату быстро всасываться в кровоток. В некоторых случаях человек также может самостоятельно производить IM инъекцию. В некоторых вариантах осуществления IM инъекции могут применяться вместо внутривенных инъекций, например, когда конкретные терапевтические средства раздражают вены или когда подходящую вену невозможно найти.

Применяемый в данном документе термин "назальное введение" относится к доставке терапевтического средства (*например*, в форме геля, жидкости, аэрозоля, газа или порошка) путем местного применения, закапывания в виде жидкости, инсуффляции (либо вдуванием, либо распылением) в нос животного или человека. Данная форма введения может применяться, в зависимости от состава, например, для доставки терапевтического средства в носовую полость или легкие (в зависимости от применяемого устройства), и/или может не всасываться системно (исключительно местное введение), и/или может полностью всасываться системно (исключительно системно) и/или более часто частично всасываться (как локально, так и системно). Назальные спреи могут включать локально действующие лекарственные средства, такие как противоотечные средства, для лечения простуды и аллергии, системные эффекты которых обычно являются минимальными. Примеры лекарственных средств системного действия, доступных в виде назальных спреев, включают, например, лекарственные средства от мигрени, средства никотинозамещающего и гормонального лечения.

Применяемый в данном документе термин "парентеральное введение" или "введение, отличное от желудочно-кишечного" относится к пути введения, который не является энтеральным или желудочно-кишечным путем. Примеры парентерального введения включают подкожное (под кожу), внутривенное (в вену), внутриартериальное (в артерию), внутримышечное (в мышцу), внутрибрюшинное (инфузия или инъекция в брюшную полость), ингаляционное (*например*, путем интратрахеального ингаляционного введения, где субъект подвергается воздействию высоких концентраций активного фармацевтического ингредиента в виде аэрозоля, так что активный фармацевтический ингредиент осаждается непосредственно в нижних дыхательных путях), назальное введение (через нос), сублингвальное и буккальное введение лекарственного препарата,

интратекальное (в спинномозговой канал), интрацеребральное (в большой мозг), интрацеребровентрикулярное (в желудочек мозга), внутридермальное (собственно в кожу) введение или любые другие пути введения, не связанные с желудочно-кишечным трактом. Применяемый в данном документе термин "энтеральное" означает введение в любой отдел пищеварительного тракта, включая рот (перорально), глотку (горло), пищевод, желудок, тонкую кишку, толстую кишку, прямую кишку и анальное отверстие, или через искусственное отверстие в любом из этих отделов.

Применяемый в данном документе термин "энтеральное" относится к введению в любой отдел пищеварительного тракта, включая рот (перорально), глотку (горло), пищевод, желудок, тонкую кишку, толстую кишку, прямую кишку, анальное отверстие, и/или через искусственное отверстие в любом из этих отделов.

Применяемый в данном документе термин "пероральное введение", также сокращаемое как "Р.О.", относится к пути введения, при котором вещество принимают через рот, и который предусматривает питье, проглатывание, сублингвальный (растворение/всасывание под языком), буккальный (растворение/всасывание за щекой) и сублабиальный (растворение/всасывание под губой) пути введения.

Применяемый в данном документе термин "терапевтическое средство", "лекарственное средство" или "активный фармацевтический ингредиент" относится к веществу или молекуле, способным оказывать лечебное действие при болезненном состоянии.

Применяемые в данном документе термины "состав" и "фармацевтический состав" применяются взаимозаменяемо и относятся к готовому лекарственному продукту, содержащему активное(-ые) лекарственное(-ые) средство(-а) вместе с различными неактивными химическими веществами, вспомогательными веществами и/или буфером. В некоторых вариантах осуществления состав можно применять в виде лекарственной формы, такой как таблетка, микстура, мазь или инъекционная жидкость, предназначенной для введения субъекту.

Применяемый в данном документе термин "вспомогательное вещество" относится к веществу или ингредиенту, которые смешивают с активным(и) лекарственным(и) средством(-и) или активным фармацевтическим ингредиентом для обеспечения, например, долговременной стабилизации; для увеличения объема составов (благодаря чему их часто называют "объемообразующими средствами", "наполнителями" или "разбавителями"); и/или для придания терапевтического улучшения активному фармацевтическому ингредиенту в готовой лекарственной форме, как например, для облегчения всасывания лекарственного средства и/или улучшения соотношения эффективность/доза, снижения вязкости, улучшения растворимости и/или продления действия или присутствия активного фармацевтического ингредиента в крови. Выбор подходящих вспомогательных веществ может зависеть от пути введения и лекарственной формы, активного фармацевтического ингредиента и других факторов. Вспомогательное вещество может включать, например, сахар, аминокислоту, буфер, антиоксидант, хелатирующее средство, растворитель или

среду-носитель и/или сложный полимер, который связывает и стабилизирует активный фармацевтический ингредиент *in vitro* и/или *in vivo*. Примеры таких и других добавок можно найти в "Handbook of Pharmaceutical Excipients"; Ed. A.H. Kibbe, 3rd Ed., American Pharmaceutical Association, USA and Pharmaceutical Press UK, 2000, включенном в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте.

Применяемый в данном документе термин "жидкость" представляет собой вещество, которое свободно течет при комнатной температуре, так что его форма изменяется, но его объем остается постоянным, *например*, как вода или масло.

Применяемый в данном документе термин "комнатная температура" обозначает обычную температуру окружающей среды в помещении, составляющую приблизительно 25°C.

Если не указано иное, любая характеристика в пределах любого аспекта или варианта осуществления настоящего изобретения может быть объединена с любой характеристикой в пределах любого другого аспекта или варианта осуществления настоящего изобретения, и такая комбинация охватывается настоящим изобретением. Это также применимо, но не исключительно, к конечным точкам диапазонов, раскрытых в данном документе. Например, если данное вещество раскрыто как присутствующее в композиции в диапазоне концентраций X-Y% или A-B%, настоящее изобретение следует рассматривать как явно раскрывающее не только диапазоны X-Y% и A-B%, но также диапазоны X-B%, A-Y% и, насколько это возможно в числовом выражении, Y-A% и B-X%. Предусмотрены каждое из таких диапазонов и комбинаций диапазонов, и их следует рассматривать как прямо и недвусмысленно раскрытые в настоящей заявке.

Если не указано иное, обозначение диапазона в настоящей заявке с применением дефиса ("-"), разделяющего два заключенных в скобки значения X и Y или два заключенных в скобки соотношения, следует понимать как означающее и раскрывающее указанный диапазон, в который включены оба значения конечных точек X и Y. То же самое относится к диапазону, выраженному как "от X до Y". Соответственно, представления диапазонов в виде "X-Y", "от X до Y", "с X до Y", "от X-Y" и "с X-Y" следует понимать эквивалентно как обозначающие и раскрывающие диапазон, охватывающий конечное значение X, все значения (включая десятичные знаки) между X и Y, а также конечное значение Y.

Применяемый в данном документе термин "приблизительно" в отношении конкретного значения, *например*, конечной точки или конечных точек диапазона, охватывает и раскрывает, в дополнение к собственно конкретно указанному значению, определенное отклонение от этого конкретно указанного значения. Такое отклонение может, например, возникать из-за обычной вариабельности измерений, *например*, при взвешивании или дозировании различных веществ способами, известными специалисту в данной области техники. Термин "приблизительно" следует понимать как охватывающий и раскрывающий диапазон вариабельности выше и ниже от указанного конкретного значения, причем указанные процентные значения относятся к собственно конкретному указанному значению следующим образом. Термин "приблизительно" может охватывать и

раскрывать вариабельность $\pm 5,0\%$. Термин "приблизительно" может охватывать и
 раскрывать вариабельность $\pm 4,5\%$. Термин "приблизительно" может охватывать и
 раскрывать вариабельность $\pm 4,0\%$. Термин "приблизительно" может охватывать и
 раскрывать вариабельность $\pm 3,5\%$. Термин "приблизительно" может охватывать и
 раскрывать вариабельность $\pm 3,0\%$. Термин "приблизительно" может охватывать и
 раскрывать вариабельность $\pm 2,5\%$. Термин "приблизительно" может охватывать и
 раскрывать вариабельность $\pm 2,0\%$. Термин "приблизительно" может охватывать и
 раскрывать вариабельность $\pm 1,5\%$. Термин "приблизительно" может охватывать и
 раскрывать вариабельность $\pm 1,0\%$. Термин "приблизительно" может охватывать и
 раскрывать вариабельность $\pm 0,5\%$. Термин "приблизительно" при ссылке на конкретное
 указанное значение может охватывать и раскрывать собственно данное точное конкретное
 значение, независимо от любого явного упоминания о том, что данное точное конкретное
 значение является включенным; даже при отсутствии явного указания на то, что термин
 "приблизительно" включает конкретное точно указанное значение, данное точное
 конкретное значение все равно включено в диапазон вариаций, создаваемых термином
 "приблизительно", и, следовательно, раскрыто в настоящей заявке. Если не указано иное, в
 том случае, когда термин "приблизительно" указан перед первой конечной точкой
 числового диапазона, но не указан перед второй конечной точкой этого диапазона, данный
 термин и вариативность, которую он привносит в объеме и описании, относится как к
 первой конечной точке диапазона, так и ко второй конечной точке диапазона. Например,
 указанный диапазон "от приблизительно X до Y" следует рассматривать как "от
 приблизительно X до приблизительно Y". То же самое относится к указанному диапазону
 соотношений. Например, указанный диапазон весовых соотношений "приблизительно X:Y
 - A:B" следует рассматривать как весовое соотношение "(приблизительно X):(приблизительно Y) - (приблизительно A):(приблизительно B)".

Если не указано иное, все технические и научные термины, используемые в данном документе, имеют такое же значение, которое обычно понимает специалист в данной области техники. Несмотря на то, что при практическом применении или испытании настоящего изобретения можно применять способы и материалы, подобные или эквивалентные тем, что раскрыты в данном документе, подходящие способы и материалы описаны ниже. Все публикации, заявки на патент, патенты и другие ссылки, упоминаемые в данном документе, включены посредством ссылки во всей своей полноте. В случае конфликта настоящее описание, включая определения, будет иметь преимущественную силу. Кроме того, материалы, способы и примеры носят исключительно иллюстративный характер и не предназначены быть ограничивающими.

Вполне очевидно, что аспекты настоящего описания, как в целом описано в данном документе и проиллюстрировано на фигурах, могут быть сгруппированы, замещены, объединены, разделены и составлены в широком разнообразии разных конфигураций, все из которых в явной форме рассматриваются в данном документе.

Кроме того, конкретные группировки, показанные на **ФИГУРАХ**, не следует

рассматривать как ограничивающие. Следует понимать, что другие варианты осуществления могут включать больше или меньше каждого элемента, показанного на данной ФИГУРЕ. Дополнительно, некоторые из проиллюстрированных элементов могут быть объединены или опущены. Более того, пример варианта осуществления может предусматривать элементы, которые не проиллюстрированы на ФИГУРАХ.

Композиции

Настоящее изобретение относится к композиции, содержащей пептид, являющийся частичным агонистом V1a, формулы (A), [Mpa-Tyr-Phe-Z-Asn-Cys-Pro-B(X)_a-Gly-NH₂] [SEQ ID NOS. 1-2] (A),

или его фармацевтически эффективную соль,

где

остатки Mpa и Cys ковалентно связаны дисульфидной связью,

Z представляет собой Hgn или Gln;

при этом, если Z представляет собой Hgn [SEQ ID NO. 1], пептид формулы (A) представляет собой пептид формулы (I),

[Mpa-Tyr-Phe-Hgn-Asn-Cys-Pro-B(X)_a-Gly-NH₂] [SEQ ID NO. 1]

(I),

где

B представляет собой любой из L-Lys, D-Lys, L-Orn, D-Orn, L-Dab, D-Dab, L-Dap или D-Dap, и

X представляет собой аминокислотный остаток, при этом аминокислотный остаток в каждом случае независимо выбран из Gly, L-Ala, D-Ala, L-Lys, D-Lys, L-Orn, D-Orn, L-Glu, D-Glu, L-Asp и D-Asp, и a представляет собой целое число от 0 до 10 (*например*, от 0 до 1, от 1 до 2, от 1 до 3, от 1 до 10, от 1 до 6, от 4 до 10 или от 6 до 10), или

X в каждом случае представляет собой фрагмент, полученный из C₃₋₁₂жирной кислоты (*например*, C₃₋₆-, C₃₋₁₀-, C₄₋₁₂-, C₄₋₆-, C₄₋₁₀-, C₆₋₁₀-, C₈₋₁₀- или C₁₀₋₁₂жирной кислоты), содержащей первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, и a является целым числом от 1 до 3;

при этом, если Z представляет собой Gln [SEQ ID NO. 2], пептид формулы (A) представляет собой пептид формулы (II),

[Mpa-Tyr-Phe-Gln-Asn-Cys-Pro-B(X)_a-Gly-NH₂] [SEQ ID NO. 2]

(II),

где

B представляет собой любой из L-Lys, D-Lys, L-Orn, D-Orn, L-Dab, D-Dab, L-Dap или D-Dap, и

X представляет собой аминокислотный остаток, при этом аминокислотный остаток в каждом случае независимо выбран из Gly, L-Ala, D-Ala, L-Lys, D-Lys, L-Orn, D-Orn, L-Glu, D-Glu, L-Asp и D-Asp, и a представляет собой целое число от 6 до 10, или

X в каждом случае представляет собой фрагмент, полученный из C₃₋₁₂жирной

кислоты (*например*, C₃₋₆-, C₃₋₁₀-, C₄₋₁₂-, C₄₋₆-, C₄₋₁₀-, C₆₋₁₀-, C₈₋₁₀- или C₁₀₋₁₂жирной кислоты), содержащей первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, и *a* является целым числом от 1 до 3; и

где композиция характеризуется терапевтическим индексом, составляющим по меньшей мере 20 (*например*, по меньшей мере 30, по меньшей мере 40, по меньшей мере 50, по меньшей мере 60, по меньшей мере 70, по меньшей мере 80, по меньшей мере 90 или по меньшей мере 100).

В некоторых вариантах осуществления Z представляет собой Hgn, и B представляет собой Lys, X необязательно представляет собой Gly, и *a* равняется 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10. В некоторых вариантах осуществления Z представляет собой Hgn, X представляет собой Gly, и *a* равняется 6, 7, 8, 9 или 10. В некоторых вариантах осуществления Z представляет собой Gln, X представляет собой Gly, и *a* равняется 6, 7, 8, 9 или 10.

В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к пептиду формулы (I),

[Mpa-Tyr-Phe-Hgn-Asn-Cys-Pro-B(X)_a-Gly-NH₂] [SEQ ID NO. 1]

(I),

или его фармацевтически эффективной соли, где

остатки Mpa и Cys ковалентно связаны дисульфидной связью;

B представляет собой любой из L-Lys, D-Lys, L-Orn, D-Orn, L-Dab, D-Dab, L-Dap или D-Dap;

X представляет собой аминокислотный остаток и в каждом случае независимо выбран из Gly, L-Ala, D-Ala, L-Lys, D-Lys, L-Orn, D-Orn, L-Glu, D-Glu, L-Asp и D-Asp, и *a* представляет собой целое число от 0 до 10; или

X представляет собой фрагмент, полученный из C₃₋₁₂жирной кислоты, содержащей первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, и *a* представляет собой целое число от 1 до 3.

В некоторых вариантах осуществления в формуле (A) или формуле (I) X в каждом случае независимо выбран из Gly, Ala, Lys, Orn, Glu и Asp.

В некоторых вариантах осуществления в формуле (A) или формуле (I) X в каждом случае независимо выбран из Gly, Ala, Lys.

В некоторых вариантах осуществления в формуле (I), если X представляет собой аминокислотный остаток, как определено в любом из вариантов осуществления выше, *a* может представлять собой целое число от 0 до 10, от 0 до 1, от 1 до 2, от 2 до 3, от 3 до 4, от 4 до 5, от 1 до 4, от 1 до 6, от 1 до 10, от 2 до 3, от 3 до 4, от 4 до 5, от 4 до 10, от 5 до 6, от 6 до 8, от 6 до 10 или от 8 до 10.

В некоторых вариантах осуществления в формуле (A) или формуле (I), если X в каждом случае представляет собой фрагмент, полученный из жирной кислоты, содержащей первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, жирная кислота представляет собой C₃₋₁₂жирную кислоту, C₃₋₆жирную кислоту, C₃₋₁₀жирную кислоту, C₄₋₁₂жирную кислоту, C₄₋₆жирную кислоту, C₄₋₁₀жирную кислоту, C₆₋₁₀жирную

кислоту, C₈₋₁₀жирную кислоту или C₁₀₋₁₂жирную кислоту.

В некоторых вариантах осуществления, если X в каждом случае представляет собой фрагмент, полученный из C₃₋₁₂жирной кислоты, содержащей первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, а равняется 1, 2 или 3 (*например*, 1 или 2, 2 или 3 или 1 или 3).

В некоторых вариантах осуществления в формуле (I) В представляет собой L-Lys. В некоторых вариантах осуществления в формуле (I) В представляет собой D-Lys. В некоторых вариантах осуществления в формуле (I) В представляет собой L-Orn. В некоторых вариантах осуществления в формуле (I) В представляет собой D-Orn. В некоторых вариантах осуществления в формуле (I) В представляет собой L-Dab. В некоторых вариантах осуществления в формуле (I) В представляет собой D-Dab. В некоторых вариантах осуществления в формуле (I) В представляет собой L-Dap. В некоторых вариантах осуществления в формуле (I) В представляет собой D-Dap.

В некоторых вариантах осуществления в соединении формулы (A) или формулы (I) В представляет собой Lys, и X предусматривает Lys.

В некоторых вариантах осуществления в пептиде формулы (I) В представляет собой L-Lys, X представляет собой Gly, и а равняется 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10.

В некоторых вариантах осуществления в пептиде формулы (I) В представляет собой D-Lys, X представляет собой Gly, и а равняется 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10.

В некоторых вариантах осуществления в пептиде формулы (I) В представляет собой L-Dap, X представляет собой Gly, и а равняется 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10.

В некоторых вариантах осуществления в пептиде формулы (I) В представляет собой D-Dap, X представляет собой Gly, и а равняется 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10.

В некоторых вариантах осуществления в пептиде формулы (I) В представляет собой L-Orn, X представляет собой Gly, и а равняется 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10.

В некоторых вариантах осуществления в пептиде формулы (I) В представляет собой D-Orn, X представляет собой Gly, и а равняется 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10.

В некоторых вариантах осуществления в пептиде формулы (I) В представляет собой L-Dab, X представляет собой Gly, и а равняется 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10.

В некоторых вариантах осуществления в пептиде формулы (I) В представляет собой D-Dab, X представляет собой Gly, и а равняется 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10.

В некоторых вариантах осуществления в пептиде формулы (I) В представляет собой Lys, и а равняется 0.

В некоторых вариантах осуществления в пептиде формулы (I) В представляет собой Lys, X представляет собой Gly, и а равняется 1.

В некоторых вариантах осуществления в пептиде формулы (I) В представляет собой Lys, X представляет собой Gly, и а равняется 2.

В некоторых вариантах осуществления в пептиде формулы (I) В представляет собой Lys, X представляет собой Gly, и а равняется 3.

В некоторых вариантах осуществления в пептиде формулы (I) В представляет собой

кислоты, содержащей первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, и а равняется 2.

В некоторых вариантах осуществления в пептиде формулы (A) или формулы (I) В представляет собой Lys, X представляет собой фрагмент, полученный из C₄жирной кислоты, содержащей первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, и а равняется 3.

В некоторых вариантах осуществления в пептиде формулы (A) или формулы (I) В представляет собой Lys, X представляет собой фрагмент, полученный из C₃жирной кислоты, содержащей первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, и а равняется 1.

В некоторых вариантах осуществления в пептиде формулы (A) или формулы (I) В представляет собой Lys, X представляет собой фрагмент, полученный из C₃жирной кислоты, содержащей первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, и а равняется 2.

В некоторых вариантах осуществления в пептиде формулы (A) или формулы (I) В представляет собой Lys, X представляет собой фрагмент, полученный из C₃жирной кислоты, содержащей первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, и а равняется 3.

В некоторых вариантах осуществления в пептиде формулы (A) или формулы (I) В представляет собой Lys и X представляет собой фрагмент, полученный из жирной кислоты, содержащей первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, выбранной из бета-аминопропановой (пропионовой) кислоты, 4-аминобутановой(масляной) кислоты, 5-аминопентановой (валериановой) кислоты, 6-аминогексановой (капроновой) кислоты, 7-аминогептановой (энантовой) кислоты, 8-аминооктановой(каприловой) кислоты, 9-аминононановой(пеларгоновой) кислоты, 10-аминодекановой (каприновой) кислоты, 11-аминоундекановой(ундециловой) кислоты и 12-аминододекановой (лауриновой) кислоты.

В некоторых вариантах осуществления, если В не определен иначе в вариантах осуществления формулы (A) или формулы (I) выше, В представляет собой Lys.

Пептид формулы (A) или формулы (I) может являться частичным агонистом V1a. Частичный агонист V1a частично активизирует рецептор V1a.

Композиция, содержащая пептид формулы (A) или формулы (I) в любом из вышеуказанных вариантов осуществления может характеризоваться терапевтическим индексом, составляющим по меньшей мере 20 (*например*, по меньшей мере 30, по меньшей мере 40, по меньшей мере 50, по меньшей мере 60, по меньшей мере 70, по меньшей мере 80, по меньшей мере 90 или по меньшей мере 100). Пептид формулы (A) или формулы (I) обладает специфичностью в отношении рецептора V1a.

Аминокислотная последовательность (X)_a может обеспечивать возможность регулировать свойства растворимости и/или стабильности пептида формулы (A) и/или формулы (I) так, чтобы пептид можно было адаптировать для предполагаемого пути

введения и желаемой растворимости при поддержании терапевтического индекса, составляющего по меньшей мере 20 (*например*, по меньшей мере 30, по меньшей мере 40, по меньшей мере 50, по меньшей мере 60, по меньшей мере 70, по меньшей мере 80, по меньшей мере 90, по меньшей мере 100), без изменения свойств частичного агониста V1a. Терапевтический индекс определен в данном документе как соотношение NOAEL/NOEL. Стабильность состава может быть измерена, например, специалистами в данной области техники с применением установленных протоколов хроматографии. Растворимость может быть легко измерена специалистами в данной области техники с помощью центрифугирования или фильтрации данного состава с последующим хроматографическим анализом раствора супернатанта или фильтрата. Чтобы установить свойства частичного агониста V1a, можно измерить частично агонистическую активность, как описано в примерах ниже, причем как *in vitro*, так и *in vivo*. Кроме того, считается, что аминокислотная последовательность для (X)_a может обеспечивать терапевтическое средство, которое медленно распадается с течением времени *in vivo* с высвобождением при этом одинаково активных промежуточных продуктов распада, обладающих активностью частичного агониста. Таким образом, композиции по настоящему изобретению могут обеспечивать пролонгированное присутствие частичного агониста V1a в крови в течение продолжительного периода времени.

В настоящем изобретении также описывается пептид формулы (II),

[Mpa-Tyr-Phe-Gln-Asn-Cys-Pro-B(X)_a-Gly-NH₂] [SEQ ID NO. 2]

(II),

или его фармацевтически эффективная соль, где

остатки Mpa и Cys ковалентно связаны дисульфидной связью,

В представляет собой любой из L-Lys, D-Lys, L-Orn, D-Orn, L-Dab, D-Dab, L-Dap или D-Dap,

X представляет собой аминокислотный остаток и в каждом случае независимо выбран из Gly, L-Ala, D-Ala, L-Lys, D-Lys, L-Orn, D-Orn, L-Glu, D-Glu, L-Asp и D-Asp, и a представляет собой целое число от 6 до 10; или

X в каждом случае представляет собой фрагмент, полученный из C₃₋₁₂жирной кислоты, содержащей первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, и a представляет собой целое число от 1 до 3.

Пептид формулы (II) может характеризоваться терапевтическим индексом, составляющим по меньшей мере 20 (*например*, по меньшей мере 30, по меньшей мере 40, по меньшей мере 50, по меньшей мере 60, по меньшей мере 70, по меньшей мере 80, по меньшей мере 90 или по меньшей мере 100). Пептид может являться частичным агонистом V1a.

В некоторых вариантах осуществления в пептиде формулы (II), если X представляет собой аминокислотный остаток, а может быть целым числом от 3 до 4, от 4 до 6, от 4 до 8, от 4 до 10, от 4 до 12, от 6 до 10, от 8 до 10 или от 10 до 12.

В некоторых вариантах осуществления в пептиде формулы (II) X представляет собой

атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, выбранной из бета-аминопропановой (пропионовой) кислоты, 4-аминобутановой (масляной) кислоты, 5-аминопентановой (валериановой) кислоты, 6-аминогексановой (капроновой) кислоты, 7-аминогептановой (энантовой) кислоты, 8-аминооктановой (каприловой) кислоты, 9-аминононановой (пеларгоновой) кислоты, 10-аминодекановой (каприновой) кислоты, 11-аминоундекановой (ундециловой) кислоты и 12-аминододекановой (лауриновой) кислоты; и *a* равняется от 1 до 3.

В некоторых вариантах осуществления пептид формулы (II) не включает фрагмент (X)_a, где X представляет собой Gly, и *a* равняется 1, 2 или 3. В некоторых вариантах осуществления пептид формулы (II) не включает фрагмент (X)_a, где X представляет собой Gly, и *a* равняется 1, 2, 3, 4 или 5. В некоторых вариантах осуществления пептид формулы (II) не включает фрагмент (X)_a, где X представляет собой Gly, L- или D-Ala, L- или D-Val, L- или D-Leu, L- или D-Pro, L- или D-Trp, L- или D-Tyr и/или L- или D-Phe, и *a* равняется 1, 2, или 3. В некоторых вариантах осуществления пептид формулы (II) не включает фрагмент (X)_a, где X представляет собой Gly, L-Ala, L-Val, L-Leu, L-Pro, L-Trp, L-Tyr и/или L-Phe, и *a* равняется 1, 2 или 3. В некоторых вариантах осуществления пептид формулы (II) не включает фрагмент (X)_a, где X представляет собой Gly, L- или D-Ala, L- или D-Val, L- или D-Leu, L- или D-Pro, L- или D-Trp, L- или D-Tyr и/или L- или D-Phe, и *a* равняется 1, 2, 3, 4 или 5. В некоторых вариантах осуществления пептид формулы (II) не включает фрагмент (X)_a, где X представляет собой Gly, L-Ala, L-Val, L-Leu, L-Pro, L-Trp, L-Tyr и/или L-Phe, и *a* равняется 1, 2, 3, 4 или 5.

В некоторых вариантах осуществления, если В не определен иначе в вариантах осуществления формулы (II) выше, В представляет собой Lys.

Пептид формулы (II) может являться частичным агонистом V1a. Частичный агонист V1a частично активирует рецептор V1a.

Аминокислотная последовательность для (X)_a может обеспечивать возможность регулировать свойства растворимости и/или стабильности пептида формулы (II) так, чтобы пептид можно было адаптировать для предполагаемого пути введения и желаемой растворимости при поддержании терапевтического индекса, составляющего 20 (например, по меньшей мере 30, по меньшей мере 40, по меньшей мере 50, по меньшей мере 60, по меньшей мере 70, по меньшей мере 80, по меньшей мере 90, по меньшей мере 100), без изменения свойств частичного агониста V1a. Терапевтический индекс определен в данном документе как соотношение NOAEL/NOEL. Стабильность состава и измерения растворимости являются такими, как описано выше. Чтобы установить свойства частичного агониста V1a, можно измерить частично агонистическую активность, как описано в примерах ниже, причем как *in vitro*, так и *in vivo*. Кроме того, считается, что аминокислотная последовательность для (X)_a может обеспечивать терапевтическое средство, которое медленно распадается с течением времени *in vivo* с высвобождением при этом одинаково активных промежуточных продуктов распада, обладающих активностью частичного агониста. При наличии (X)_a, где *a* равняется 6-10 в формуле II, на удивление, можно

продлить активность частичного агониста V1a. Таким образом, композиции по настоящему изобретению могут обеспечивать пролонгированное присутствие частичного агониста V1a в крови в течение продолжительного периода времени.

В некоторых вариантах осуществления частичный агонист V1a композиций по настоящему изобретению предусматривает пептид формулы (I), где X представляет собой Gly; и/или пептид формулы (II), где B представляет собой Lys, и X представляет собой Gly, и/или их фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления частичный агонист V1a композиций по настоящему изобретению предусматривает пептид формулы (I), где X представляет собой Gly, и a равняется 6; и/или пептид формулы (II), где B представляет собой Lys, X представляет собой Gly, и a равняется 6, и/или их фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления частичный агонист V1a композиций по настоящему изобретению предусматривает пептид формулы (I), где X представляет собой Gly, и a равняется 7; и/или пептид формулы (II), где B представляет собой Lys, X представляет собой Gly, и a равняется 7, и/или их фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления частичный агонист V1a композиций по настоящему изобретению предусматривает пептид формулы (I), где X представляет собой Gly, и a равняется 8; и/или пептид формулы (II), где B представляет собой Lys, X представляет собой Gly, и a равняется 8, и/или их фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления частичный агонист V1a композиций по настоящему изобретению предусматривает пептид формулы (I), где X представляет собой Gly, и a равняется 9; и/или пептид формулы (II), где B представляет собой Lys, X представляет собой Gly, и a равняется 9, и/или их фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления частичный агонист V1a композиций по настоящему изобретению предусматривает пептид формулы (I), где X представляет собой Gly, и a равняется 10; и/или пептид формулы (II), где B представляет собой Lys, X представляет собой Gly, и a равняется 10, и/или их фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция для частичного активирования рецептора V1a содержит вышеуказанный пептид формулы (I), формулы (II) и/или их фармацевтически приемлемую соль, и фармацевтически приемлемое(-ые) вспомогательное(-ые) вещество(-а), и/или буфер. Буфер может обладать оптимальным буферным действием в диапазоне pH от 3,5 до 6,5, как например, цитратный буфер, ацетатный буфер, сукцинатный буфер и/или гистидиновый буфер. Концентрация буфера может составлять менее 100 мМ (*например*, менее 90 мМ, менее 75 мМ, менее 60 мМ, менее 45 мМ, менее 30 мМ, менее 15 мМ, менее 10 мМ или менее 5 мМ).

Настоящее изобретение дополнительно относится к применению пептида формулы (B),

[X'-Tyr-Phe-Gln-Asn-Cys-Pro-Lys(Z)_d-Gly-NH₂] [SEQ ID NO. 7 и 4]

(B),

или его фармацевтически приемлемой соли,

где

X' представляет собой (U)_c-Cys или Mpa,

при этом, если X' представляет собой (U)_c-Cys, и (Z)_d отсутствует [SEQ ID NO. 7], пептид формулы (B) представляет собой пептид формулы (III),

[(U)_c-Cys-Tyr-Phe-Gln-Asn-Cys-Pro-Lys-Gly-NH₂] [SEQ ID NO. 7]

(III),

где

2 остатка Cys ковалентно связаны дисульфидной связью,

U представляет собой аминокислотный остаток и в каждом случае независимо выбран из Gly, L-Ala, D-Ala, L-Lys, D-Lys, L-Orn, D-Orn, L-Glu, D-Glu, L-Asp и D-Asp, и с представляет собой количество U и является целым числом от 0 до 10; и

при этом, если X' представляет собой Mpa [SEQ ID NO. 4], пептид формулы (B) представляет собой пептид формулы (IV),

[Mpa-Tyr-Phe-Gln-Asn-Cys-Pro-Lys(Z)_d-Gly-NH₂] [SEQ ID NO. 4]

(IV),

где

остатки Mpa и Cys ковалентно связаны дисульфидной связью,

Z представляет собой аминокислотный остаток и в каждом случае независимо выбран из Gly, D-Ala, L-Ala, D-Lys, L-Lys, D-Orn, L-Orn, D-Glu, L-Glu, D-Asp и L-Asp, и d представляет собой количество Z и является целым числом от 0 до 5.

В некоторых вариантах осуществления пептиды формулы (III) или (IV) могут являться полными или частичными агонистами V1a, но их активность может быть снижена при использовании с антагонистом V2.

В некоторых вариантах осуществления пептид формулы (B) представляет собой пептид формулы (III),

[(U)_c-Cys-Tyr-Phe-Gln-Asn-Cys-Pro-Lys-Gly-NH₂] [SEQ ID NO. 7]

(III),

или его фармацевтически эффективную соль,

где

2 остатка Cys ковалентно связаны дисульфидной связью,

U представляет собой аминокислотный остаток и в каждом случае независимо выбран из Gly, L-Ala, D-Ala, L-Lys, D-Lys, L-Orn, D-Orn, L-Glu, D-Glu, L-Asp и D-Asp, и

с представляет собой количество аминокислотных остатков U и является целым числом от 0 до 10 (*например*, от 1 до 10, от 4 до 10 или от 6 до 10). Пептид может являться агонистом V1a.

В некоторых вариантах осуществления пептид формулы (III) может функционировать как полный или частичный агонист V1a при использовании с антагонистом V2.

В некоторых вариантах осуществления для пептида формулы (III) с не равняется 0. В некоторых вариантах осуществления один или оба конца пептида формулы (III) не

включают алкильную группу (*например*, алкильную группу, содержащую от 3 до 36 углеродных звеньев). В некоторых вариантах осуществления один или оба конца пептида формулы (III) не включают алкильную группу, содержащую от 3 до 36 углеродных звеньев, нитрилотрехуксусную кислоту, имидодиуксусную кислоту или один или несколько гистидиновых остатков. В некоторых вариантах осуществления пептид формулы (III) не предусматривает пептид, где U представляет собой Gly и/или His, и с представляет собой целое число от 1 до 6, при этом пептид необязательно включает концевую алкильную группу. В некоторых вариантах осуществления (U)_c в пептиде формулы (III) не включает Leu, Phe, Tyr, Trp, Pro, Gly-Gly, Leu-Leu, Gly-Pro, саркозил-Gly и/или Gly-Gly-Gly.

В некоторых вариантах осуществления пептид формулы (B) представляет собой пептид формулы (IV),

[Mpa-Tyr-Phe-Gln-Asn-Cys-Pro-Lys(Z)_d-Gly-NH₂] [SEQ ID NO. 4]

(IV),

или его фармацевтически эффективную соль,

где

остатки Mpa и Cys ковалентно связаны дисульфидной связью,

Z представляет собой аминокислотный остаток и в каждом случае независимо выбран из Gly, D-Ala, L-Ala, D-Lys, L-Lys, D-Orn, L-Orn, D-Glu, L-Glu, D-Asp и L-Asp, и

d представляет собой количество аминокислотных остатков Z и является целым числом от 0 до 5. Пептид может являться агонистом V1a.

В некоторых вариантах осуществления пептид формулы (IV) может функционировать как полный или частичный агонист V1a при использовании с антагонистом V2. В некоторых вариантах осуществления композиции по настоящему изобретению содержат фармацевтически приемлемую соль пептида формулы (I), формулы (II), формулы (III), формулы (IV).

В некоторых вариантах осуществления любая из вышеуказанных композиций может быть представлена в виде фармацевтического состава, при этом фармацевтический состав включает пептид формулы (I), формулы (II), формулы (III), формулы (IV) и/или его фармацевтически приемлемую соль и может дополнительно необязательно включать одно или несколько фармацевтически приемлемых вспомогательных веществ и/или буфер. В качестве примера композиции могут необязательно содержать буфер, обладающий оптимальным буферным действием в диапазоне pH от 3,5 до 6,5, такой как цитратный буфер, ацетатный буфер, сукцинатный буфер и/или гистидиновый буфер. Концентрация буферной соли может составлять менее 100 мМ (*например*, менее 90 мМ, менее 75 мМ, менее 60 мМ, менее 45 мМ, менее 30 мМ, менее 15 мМ, менее 10 мМ или менее 5 мМ).

Способы лечения

В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение предусматривает способ лечения субъекта, имеющего одно или несколько из следующих состояний: фиброз печени, цирроз, портальная гипертензия, асцит, варикозное расширение вен (*например*, варикозное расширение вен пищевода, варикозное расширение вен желудка), кровотечение

(например, кровотечение из варикозно расширенных вен), артериальная гипотензия и/или гепаторенальный синдром, с помощью введения терапевтически эффективной дозы фармацевтической композиции, содержащей пептид по любому из вариантов осуществления формулы (I) или формулы (II), как описано в разделе под названием "Композиции" выше, и/или его фармацевтически приемлемую соль. Например, субъект может иметь гипотензию, при которой среднее значение артериального давления составляет ниже 95 мм рт. ст. (например, ниже 90 мм рт. ст., ниже 85 мм рт. ст., ниже 80 мм рт. ст., ниже 75 мм рт. ст. или ниже 70 мм рт. ст.). В качестве другого примера субъект может иметь цирроз и среднее значение артериального давления, составляющее ниже 95 мм рт. ст. (например, ниже 90 мм рт. ст., ниже 85 мм рт. ст., ниже 80 мм рт. ст., ниже 75 мм рт. ст., ниже 70 мм рт. ст.). В некоторых вариантах осуществления у субъекта имеется фиброз печени. В некоторых вариантах осуществления у субъекта имеется цирроз. В некоторых вариантах осуществления у субъекта имеется портальная гипертензия. В некоторых вариантах осуществления у субъекта имеется асцит. В некоторых вариантах осуществления у субъекта имеется варикозное расширение вен пищевода. В некоторых вариантах осуществления у субъекта имеется варикозное расширение вен желудка. В некоторых вариантах осуществления у субъекта имеется кровотечение из варикозно расширенных вен. В некоторых вариантах осуществления у субъекта среднее значение артериального давления составляет ниже 95 мм рт. ст. (например, ниже 90 мм рт. ст., ниже 85 мм рт. ст., ниже 80 мм рт. ст., ниже 75 мм рт. ст. или ниже 70 мм рт. ст.).

Как рассмотрено выше, фармацевтическая композиция может дополнительно содержать фармацевтически приемлемое(-ые) вспомогательное(-ые) вещество(-а) и/или буфер, обладающий оптимальным буферным действием в диапазоне pH от 3,5 до 6,5, такой как цитратный буфер, ацетатный буфер, сукцинатный буфер и/или гистидиновый буфер. Концентрация буферной соли может составлять менее 100 мМ (например, менее 90 мМ, менее 75 мМ, менее 60 мМ, менее 45 мМ, менее 30 мМ, менее 15 мМ, менее 10 мМ или менее 5 мМ).

В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к способу лечения субъекта, имеющего одно или несколько из следующих состояний: фиброз печени, цирроз, портальная гипертензия, асцит, варикозное расширение вен пищевода, варикозное расширение вен желудка, кровотечение, артериальная гипотензия и/или гепаторенальный синдром, включающему введение терапевтически эффективной дозы фармацевтической композиции, содержащей любой из вышеуказанных вариантов осуществления пептида формулы (I), где В представляет собой Lys, и/или его фармацевтически приемлемую соль и дополнительно необязательно включающей фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество и/или буфер.

В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение предусматривает способ лечения субъекта, имеющего одно или несколько из следующих состояний: фиброз печени, цирроз, портальная гипертензия, асцит, варикозное расширение вен пищевода, варикозное расширение вен желудка, кровотечение, артериальная гипотензия и

гепаторенальный синдром, включающий введение терапевтически эффективной дозы фармацевтической композиции, содержащей вышеуказанные варианты осуществления пептида формулы (I), где В представляет собой Lys, и X представляет собой Gly, и/или его фармацевтически приемлемую соль и дополнительно необязательно включающей фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество и/или буфер.

В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение предусматривает способ лечения субъекта, имеющего одно или несколько из следующих состояний: фиброз печени, цирроз, портальная гипертензия, асцит, варикозное расширение вен пищевода, варикозное расширение вен желудка, кровотечение, артериальная гипотензия и гепаторенальный синдром, включающий введение терапевтически эффективной дозы фармацевтической композиции, содержащей вышеуказанный пептид формулы (I), где В представляет собой Lys, X представляет собой Gly, и а равняется б, и/или его фармацевтически приемлемую соль и дополнительно необязательно включающей фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество и/или буфер.

В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение предусматривает способ лечения субъекта, имеющего одно или несколько из следующих состояний: фиброз печени, цирроз, портальная гипертензия, асцит, варикозное расширение вен пищевода, варикозное расширение вен желудка, кровотечение, артериальная гипотензия и гепаторенальный синдром, включающий введение терапевтически эффективной дозы фармацевтической композиции, содержащей вышеуказанный пептид формулы (I), где В представляет собой Lys, X представляет собой фрагмент, полученный из C₁₂жирной кислоты, содержащей первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, и а равняется 1, и/или его фармацевтически приемлемую соль и дополнительно необязательно включающей фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество и/или буфер.

Например, способ лечения субъекта, имеющего одно или несколько из следующих состояний: фиброз печени, цирроз, портальная гипертензия, асцит, варикозное расширение вен пищевода, варикозное расширение вен желудка, кровотечение, артериальная гипотензия и гепаторенальный синдром, может включать введение терапевтически эффективной дозы фармацевтической композиции, содержащей любой вариант осуществления вышеуказанного пептида формулы (I), например,

где В представляет собой Lys, X представляет собой жирную кислоту с 10 углеродными звеньями, содержащую первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, и а равняется 1, и/или его фармацевтически приемлемую соль,

где В представляет собой Lys, X представляет собой жирную кислоту с 8 углеродными звеньями, содержащую первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, и а равняется 1, и/или его фармацевтически приемлемую соль,

где В представляет собой Lys, X представляет собой жирную кислоту с 6

углеродными звеньями, содержащую первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, и a равняется 1, и/или его фармацевтически приемлемую соль,

где В представляет собой Lys, X представляет собой жирную кислоту с 6 углеродными звеньями, содержащую первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, и a равняется 2, и/или его фармацевтически приемлемую соль,

где В представляет собой Lys, X представляет собой жирную кислоту с 4 углеродными звеньями, содержащую первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, и a равняется 1, и/или его фармацевтически приемлемую соль,

где В представляет собой Lys, X представляет собой жирную кислоту с 4 углеродными звеньями, содержащую первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, и a равняется 2, и/или его фармацевтически приемлемую соль,

где В представляет собой Lys, X представляет собой жирную кислоту с 4 углеродными звеньями, содержащую первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, и a равняется 3, и/или его фармацевтически приемлемую соль,

где В представляет собой Lys, X представляет собой жирную кислоту с 3 углеродными звеньями, содержащую первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, и a равняется 1, и/или его фармацевтически приемлемую соль,

где В представляет собой Lys, X представляет собой жирную кислоту с 3 углеродными звеньями, содержащую первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, и a равняется 2, и/или его фармацевтически приемлемую соль, и/или

где В представляет собой Lys, X представляет собой жирную кислоту с 3 углеродными звеньями, содержащую первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, и a равняется 3, и/или его фармацевтически приемлемую соль, и

каждая фармацевтическая композиция дополнительно необязательно содержит фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество и/или буфер.

В некоторых вариантах осуществления каждый из способа лечения субъекта со средним значением артериального давления, составляющим ниже 95 мм рт. ст. (*например*, ниже 90 мм рт. ст., ниже 85 мм рт. ст., ниже 80 мм рт. ст., ниже 75 мм рт. ст. или ниже 70 мм рт. ст.); способа лечения субъекта с циррозом и средним значением артериального давления, составляющим ниже 95 мм рт. ст. (*например*, ниже 90 мм рт. ст., ниже 85 мм рт. ст., ниже 80 мм рт. ст., ниже 75 мм рт. ст. или ниже 70 мм рт. ст.); способа лечения субъекта с циррозом; субъекта с портальной гипертензией; способа лечения субъекта с асцитом;

способа лечения субъекта с варикозным расширением вен пищевода; способа лечения субъекта с варикозным расширением вен желудка; способа лечения субъекта с кровотечением из варикозно расширенных вен; или способа лечения субъекта с гепаторенальным синдромом может независимо включать введение терапевтически эффективной дозы фармацевтической композиции, содержащей

пептид формулы (I), как описано выше, например, где В представляет собой Lys, и а равняется 0, или X представляет собой Gly, и а представляет собой целое число от 1 до 10 (*например*, предпочтительно а равняется 6), и/или его фармацевтически приемлемую соль; или

пептид формулы (II), как описано выше, например, где В представляет собой Lys, X представляет собой Gly, и а равняется 6, 7, 8, 9 или 10, и/или его фармацевтически приемлемую соль; или

пептид формулы (A), как описано выше, например, где В представляет собой Lys, и X представляет собой фрагмент, полученный из C₁₂жирной кислоты, содержащей первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, и а равняется 1, или

X представляет собой фрагмент, полученный из C₁₀жирной кислоты, содержащей первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, и а равняется 1, или

X представляет собой фрагмент, полученный из C₈жирной кислоты, содержащей первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, и а равняется 1, или

X представляет собой фрагмент, полученный из C₆жирной кислоты, содержащей первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, и а равняется 1, или

X представляет собой фрагмент, полученный из C₆жирной кислоты, содержащей первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, и а равняется 2, или

X представляет собой фрагмент, полученный из C₄жирной кислоты, содержащей первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, и а равняется 1, или

X представляет собой фрагмент, полученный из C₄жирной кислоты, содержащей первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, и а равняется 2, или

X представляет собой фрагмент, полученный из C₄жирной кислоты, содержащей первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, и а равняется 3, или

X представляет собой фрагмент, полученный из C₃жирной кислоты, содержащей первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, и а равняется 1, или

X представляет собой фрагмент, полученный из C₃жирной кислоты, содержащей первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, и α равняется 2, или

X представляет собой фрагмент, полученный из C₃жирной кислоты, содержащей первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, и α равняется 3; и/или

его фармацевтически приемлемую соль, и

где каждая фармацевтическая композиция дополнительно необязательно содержит фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество и/или буфер.

В некоторых вариантах осуществления способ лечения субъекта с гепаторенальным синдромом включает введение терапевтически эффективной дозы фармацевтической композиции, содержащей вышеуказанный пептид формулы (A), где X представляет собой фрагмент, полученный из 12-аминододекановой (лауриновой) кислоты, и α равняется 1, и/или его фармацевтически приемлемую соль, и дополнительно необязательно включающей фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество и/или буфер. В некоторых вариантах осуществления, если пептид формулы (A) представляет собой пептид формулы (II), B дополнительно представляет собой Lys.

В некоторых вариантах осуществления способ лечения субъекта с гепаторенальным синдромом включает введение терапевтически эффективной дозы фармацевтической композиции, содержащей вышеуказанный пептид формулы (A), где X представляет собой фрагмент, полученный из 8-аминооктановой (каприловой) кислоты, и α равняется 1, и/или его фармацевтически приемлемую соль, и дополнительно необязательно включающей фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество и/или буфер. В некоторых вариантах осуществления, если пептид формулы (A) представляет собой пептид формулы (II), B дополнительно представляет собой Lys.

В некоторых вариантах осуществления способ лечения субъекта с гепаторенальным синдромом включает введение терапевтически эффективной дозы фармацевтической композиции, содержащей вышеуказанный пептид формулы (A), где X представляет собой фрагмент, полученный из 6-аминогексановой (капроновой) кислоты, и α равняется 1, и/или его фармацевтически приемлемую соль, и дополнительно необязательно включающей фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество и/или буфер. В некоторых вариантах осуществления, если пептид формулы (A) представляет собой пептид формулы (II), B дополнительно представляет собой Lys.

В некоторых вариантах осуществления способ лечения субъекта с гепаторенальным синдромом включает введение терапевтически эффективной дозы фармацевтической композиции, содержащей вышеуказанный пептид формулы (A), где X представляет собой фрагмент, полученный из 4-аминобутановой (масляной) кислоты, и α равняется 1, и/или его фармацевтически приемлемую соль, и дополнительно необязательно включающей фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество и/или буфер. В некоторых вариантах осуществления, если пептид формулы (A) представляет собой пептид формулы

(II), В дополнительно представляет собой Lys.

В некоторых вариантах осуществления способ лечения субъекта с гепаторенальным синдромом включает введение терапевтически эффективной дозы фармацевтической композиции, содержащей вышеуказанный пептид формулы (A), где X представляет собой фрагмент, полученный из бета-аминопропановой (пропионовой) кислоты, и а равняется 1, и/или его фармацевтически приемлемую соль, и дополнительно необязательно включающей фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество и/или буфер. В некоторых вариантах осуществления, если пептид формулы (A) представляет собой пептид формулы (II), В дополнительно представляет собой Lys.

В некоторых вариантах осуществления в любом из вышеуказанных способов лечения субъекта фармацевтическую композицию вводят энтеральным путем (*например*, перорально, включая питье, глотание, сублингвальным, буккальным, и/или сублабиальным, и/или ректальным/анальным путем).

В некоторых вариантах осуществления в любом из вышеуказанных способов лечения субъекта фармацевтическую композицию вводят парентеральным путем (*например*, внутривенным, подкожным, субдермальным, внутримышечным, внутривентральным, интраплевральным и/или интраназальным путем).

В некоторых вариантах осуществления в любом из вышеуказанных способов лечения субъекта фармацевтическую композицию вводят в виде болюсной дозы. Например, фармацевтическую композицию можно вводить в виде внутривенной болюсной дозы и/или в виде подкожной болюсной дозы. В определенных вариантах осуществления фармацевтическую композицию вводят в виде внутривенной болюсной дозы.

В некоторых вариантах осуществления в любом из вышеуказанных способов лечения субъекта фармацевтическую композицию вводят путем внутривенной инфузии. Например, фармацевтическую композицию можно вводить внутривенно в виде подкожного болюса.

В некоторых вариантах осуществления для любого из вышеуказанных способов лечения субъекта доза составляет менее 500 нмоль/кг/день (*например*, менее 450 нмоль/кг/день, менее 300 нмоль/кг/день, менее 250 нмоль/кг/день, менее 200 нмоль/кг/день, менее 175 нмоль/кг/день, менее 150 нмоль/кг/день, менее 125 нмоль/кг/день или менее 100 нмоль/кг/день); предпочтительно менее 200 нмоль/кг/день (*например*, менее 175 нмоль/кг/день, менее 150 нмоль/кг/день, менее 125 нмоль/кг/день, менее 100 нмоль/кг/день, менее 90 нмоль/кг/день, менее 80 нмоль/кг/день, менее 70 нмоль/кг/день или менее 50 нмоль/кг/день); более предпочтительно менее 100 нмоль/кг/день (*например*, менее 90 нмоль/кг/день, менее 80 нмоль/кг/день, менее 60 нмоль/кг/день, менее 50 нмоль/кг/день, менее 40 нмоль/кг/день, менее 30 нмоль/кг/день, менее 20 нмоль/кг/день или менее 10 нмоль/кг/день). В некоторых вариантах осуществления ограничение дозы может зависеть от того, подвергается ли субъект также лечению другим лекарственным средством по тем же или другим показаниям, среднего артериального давления, лекарственного(-ых) средства(средств), влияющего(-их) на объем сосудов, общую перфузию органов, и/или

наличия ишемии.

В некоторых вариантах осуществления для любого из вышеуказанных способов лечения субъекта доза может составлять менее 150 нмоль/кг/день (*например*, менее 140 нмоль/кг/день, менее 130 нмоль/кг/день, менее 120 нмоль/кг/день, менее 110 нмоль/кг/день, менее 100 нмоль/кг/день, менее 90 нмоль/кг/день, менее 80 нмоль/кг/день, менее 70 нмоль/кг/день или менее 50 нмоль/кг/день).

В некоторых вариантах осуществления для любого из вышеуказанных способов лечения субъекта доза составляет менее 100 нмоль/кг/день (*например*, менее 90 нмоль/кг/день, менее 80 нмоль/кг/день, менее 70 нмоль/кг/день, менее 60 нмоль/кг/день, менее 50 нмоль/кг/день, менее 40 нмоль/кг/день, менее 30 нмоль/кг/день, менее 20 нмоль/кг/день или менее 10 нмоль/кг/день).

В некоторых вариантах осуществления для любого из вышеуказанных способов лечения субъекта частота введения составляет не более трех раз в день (*например*, один раз каждые 8 часов, один раз каждые 12 часов или один раз каждые 24 часа).

В некоторых вариантах осуществления для любого из вышеуказанных способов лечения субъекта введение осуществляют только в дневное время с 6:00 до 18:00 с частотой один раз каждые 4–6 часов и введение не осуществляют в ночное время с 18:00 до 6:00.

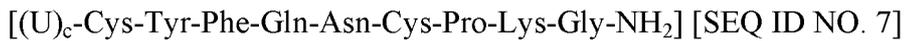
В некоторых вариантах осуществления для любого из вышеуказанных способов лечения субъекта способы могут дополнительно включать введение антагониста/ингибитора V2. Антагонист V2 можно вводить в течение 1-8 часов (предпочтительно в течение 1-3 часов) до или после (предпочтительно до) введения частичного агониста V1a. В некоторых вариантах осуществления антагонист V2 предусматривает, например, мозаваптан, толваптан, сложный фосфатный эфир толваптана, сатаваптан, ликсиваптан, кониваптан, RWJ-351647, VP-343, VP-393, [PmP1, D-Ile2, Ile4, Arg8, Ala9]-вазопрессин, [PmP1, D-Ile2, Ile4, Arg8]-вазопрессин и/или [PmP1, D-Ile2, Ile4, Arg8, Ala9]-вазопрессин-(1-8)-ОН. Частичный агонист V1a можно вводить в дозе от 1 нмоль/кг до 250 нмоль/кг (*например*, от 1 нмоль/кг до 150 нмоль/кг или от 1 нмоль/кг до 75 нмоль/кг). В определенных вариантах осуществления, если антагонистом V2 является толваптан, то толваптан вводят парентерально в дозе от 1 мкг/кг до 300 мкг/кг (*например*, от 1 мкг/кг до 200 мкг/кг или от 1 мкг/кг до 100 мкг/кг).

В некоторых вариантах осуществления в случае любого из вышеуказанных способов лечения субъекта субъект страдает от асцита (*например*, рефрактерного асцита).

В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение предусматривает способ лечения субъекта, у которого имеется фиброз печени, цирроз, портальная гипертензия, асцит, варикозное расширение вен пищевода, варикозное расширение вен фундального отдела желудка, кровотечение, среднее значение артериального давления, составляющее менее 95 мм рт.ст., гепаторенальный синдром или любая их комбинация, или где у субъекта имеется фиброз печени; или где у субъекта имеется цирроз; или где у субъекта имеется портальная гипертензия; или где у субъекта имеется варикозное расширение вен пищевода; или где у субъекта имеется варикозное расширение вен

фундального отдела желудка; или где у субъекта имеется варикозное расширение вен с кровотечением; или где у субъекта имеется цирроз со средним артериальным давлением менее 95 мм рт. ст.; или где у субъекта имеется гепаторенальный синдром; при этом способ включает стадию (i) или стадию (ii) ниже, предусматривающую введение в течение 1-8 часов (*например*, предпочтительно в течение 1-3 часов) до или после (*например*, предпочтительно после) введения терапевтически эффективной дозы антагониста V2, где:

стадия (i) предусматривает введение субъекту терапевтически эффективной дозы фармацевтической композиции, содержащей пептид формулы (III),



(III),

или его фармацевтически эффективную соль,

где 2 остатка Cys ковалентно связаны дисульфидной связью,

U представляет собой аминокислотный остаток и в каждом случае независимо выбран из Gly, L-Ala, D-Ala, L-Lys, D-Lys, L-Orn, D-Orn, L-Glu, D-Glu, L-Asp и D-Asp, и

c представляет собой количество аминокислотных остатков U и является целым числом от 0 до 10;

стадия (ii) предусматривает введение субъекту терапевтически эффективной дозы фармацевтической композиции, содержащей пептид формулы (IV),



(IV),

или его фармацевтически эффективную соль,

где остатки Mpa и Cys ковалентно связаны дисульфидной связью,

Z представляет собой аминокислотный остаток и в каждом случае независимо выбран из Gly, D-Ala, L-Ala, D-Lys, L-Lys, D-Orn, L-Orn, D-Glu, L-Glu, D-Asp и L-Asp, и

d представляет собой количество аминокислотных остатков Z и является целым числом от 0 до 5.

В некоторых вариантах осуществления при введении антагониста V2 антагонистом V2 является мозаваптан, толваптан, сложный фосфатный эфир толваптана, сатаваптан, ликсиваптан, кониваптан, RWJ-351647, VP-343, VP-393, [PmP1, D-Ile2, Ile4, Arg8, Ala9]-вазопрессин, [PmP1, D-Ile2, Ile4, Arg8]-вазопрессин и/или [PmP1, D-Ile2, Ile4, Arg8, Ala9]-вазопрессин-(1-8)-ОН.

В некоторых вариантах осуществления антагонистом V2 является толваптан. Толваптан можно вводить в дозе от 1 до 300 мкг/кг (*например*, от 1 мкг/кг до 200 мкг/кг или от 1 мкг/кг до 100 мкг/кг).

Варианты осуществления пептидов формулы (III) являются такими, как рассмотрено выше. Например, в некоторых вариантах осуществления в случае пептида формулы (III) с не равняется 0. В некоторых вариантах осуществления один или оба конца пептида формулы (III) не включают алкильную группу (*например*, алкильную группу, содержащую от 3 до 36 углеродных звеньев). В некоторых вариантах осуществления один или оба конца пептида формулы (III) не включают алкильную группу, содержащую от 3 до 36 углеродных

звеньев, нитрилотрехуксусную кислоту, имидодиуксусную кислоту или один или несколько гистидиновых остатков. В некоторых вариантах осуществления пептид формулы (III) не предусматривает пептид, где U представляет собой Gly и/или His, и с представляет собой целое число от 1-6, при этом пептид необязательно включает концевую алкильную группу. В некоторых вариантах осуществления (U)_c в пептиде формулы (III) не включает Leu, Phe, Tyr, Trp, Pro, Gly-Gly, Leu-Leu, Gly-Pro, саркозил-Gly и/или Gly-Gly-Gly.

В некоторых вариантах осуществления способ лечения субъекта с фиброзом печени, циррозом, портальной гипертензией, асцитом, варикозным расширением вен пищевода, варикозным расширением вен фундального отдела желудка, кровотечением, средним значением артериального давления, составляющим менее 95 мм рт. ст., гепаторенальным синдромом или любой их комбинацией предусматривает введение терапевтически эффективной дозы фармацевтической композиции, содержащей агонист V1a, вводимой в течение 1-8 часов (*например*, предпочтительно в течение 1-3 часов), либо до, либо после (*например*, предпочтительно после) введения терапевтически эффективной дозы антагониста V2,

где агонист V1a предусматривает пептид формулы (IV),

[Mpa-Tyr-Phe-Gln-Asn-Cys-Pro-Lys(Z)_d-Gly-NH₂] [SEQ ID NO. 4]

(IV),

или его фармацевтически эффективную соль,

где остатки Mpa и Cys ковалентно связаны дисульфидной связью,

Z представляет собой аминокислотный остаток и в каждом случае независимо выбран из Gly, D-Ala, L-Ala, D-Lys, L-Lys, D-Orn, L-Orn, D-Glu, L-Glu, D-Asp и L-Asp, и

d представляет собой количество аминокислотных остатков Z и является целым числом от 0 до 5; и

где антагонистом V2 является мозаваптан, толваптан, сложный фосфатный эфир толваптана, сатаваптан, ликсиваптан, кониваптан, RWJ-351647, VP-343, VP-393, [PmP1, D-Ile2, Ile4, Arg8, Ala9]-вазопрессин, [PmP1, D-Ile2, Ile4, Arg8]-вазопрессин и/или [PmP1, D-Ile2, Ile4, Arg8, Ala9]-вазопрессин-(1-8)-ОН.

В некоторых вариантах осуществления способ лечения субъекта с фиброзом печени, циррозом, портальной гипертензией, асцитом, варикозным расширением вен пищевода, варикозным расширением вен фундального отдела желудка, кровотечением, средним значением артериального давления, составляющим менее 95 мм рт. ст., гепаторенальным синдромом или любой их комбинацией предусматривает введение терапевтически эффективной дозы фармацевтической композиции, содержащей агонист V1a, с последующим введением спустя 2-8 часов терапевтически эффективной дозы антагониста V2,

где агонист V1a предусматривает пептид формулы (III),

[(U)_c-Cys-Tyr-Phe-Gln-Asn-Cys-Pro-Lys-Gly-NH₂] [SEQ ID NO. 7]

(III),

или его фармацевтически эффективную соль,

где 2 остатка Cys ковалентно связаны дисульфидной связью,

U представляет собой аминокислотный остаток и в каждом случае независимо выбран из Gly, L-Ala, D-Ala, L-Lys, D-Lys, L-Orn, D-Orn, L-Glu, D-Glu, L-Asp и D-Asp, и с представляет собой количество аминокислотных остатков U и является целым числом от 0 до 10; и

где антагонистом V2 является мозаваптан, толваптан, сложный фосфатный эфир толваптана, сатаваптан, ликсиваптан, кониваптан, RWJ-351647, VP-343, VP-393, [PmP1, D-Ile2, Ile4, Arg8, Ala9]-вазопрессин, [PmP1, D-Ile2, Ile4, Arg8]-вазопрессин и/или [PmP1, D-Ile2, Ile4, Arg8, Ala9]-вазопрессин-(1-8)-ОН.

В некоторых вариантах осуществления способ лечения субъекта с фиброзом печени, циррозом, портальной гипертензией, асцитом, варикозным расширением вен пищевода, варикозным расширением вен фундального отдела желудка, кровотечением, средним значением артериального давления, составляющим менее 95 мм рт. ст., гепаторенальным синдромом или любой их комбинацией предусматривает введение терапевтически эффективной дозы фармацевтической композиции, содержащей агонист V1a, с последующим парентеральным введением спустя 2-8 часов толваптана в дозе от 1 до 300 мкг/кг (*например*, от 1 мкг/кг до 200 мкг/кг или от 1 мкг/кг до 100 мкг/кг),

где агонист V1a предусматривает пептид формулы (IV),

[Mpa-Tyr-Phe-Gln-Asn-Cys-Pro-Lys(Z)_d-Gly-NH₂] [SEQ ID NO. 4]

(IV),

или его фармацевтически эффективную соль,

где остатки Mpa и Cys ковалентно связаны дисульфидной связью,

Z представляет собой аминокислотный остаток и в каждом случае независимо выбран из Gly, D-Ala, L-Ala, D-Lys, L-Lys, D-Orn, L-Orn, D-Glu, L-Glu, D-Asp и L-Asp, и

d представляет собой количество аминокислотных остатков Z и является целым числом от 0 до 5.

В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение предусматривает способ лечения субъекта с фиброзом печени, циррозом, портальной гипертензией, асцитом, варикозным расширением вен пищевода, варикозным расширением вен фундального отдела желудка, кровотечением, средним значением артериального давления, составляющим менее 95 мм рт. ст., гепаторенальным синдромом или любой их комбинацией, включающий введение терапевтически эффективной дозы фармацевтической композиции, содержащей агонист V1a, с последующим парентеральным введением спустя 2-8 часов толваптана в дозе от 1 до 300 мкг/кг (*например*, от 1 мкг/кг до 200 мкг/кг или от 1 мкг/кг до 100 мкг/кг),

где агонист V1a предусматривает пептид формулы (III),

[(U)_c-Cys-Tyr-Phe-Gln-Asn-Cys-Pro-Lys-Gly-NH₂] [SEQ ID NO. 7]

(III),

или его фармацевтически эффективную соль,

где 2 остатка Cys ковалентно связаны дисульфидной связью,

U представляет собой аминокислотный остаток и в каждом случае независимо выбран из Gly, L-Ala, D-Ala, L-Lys, D-Lys, L-Orn, D-Orn, L-Glu, D-Glu, L-Asp и D-Asp, и с представляет собой количество аминокислотных остатков U и является целым числом от 0 до 10.

В любом из вышеуказанных способов введение может быть пероральным и/или парентеральным. В некоторых вариантах осуществления введение представляет собой парентеральное введение, такое как подкожное или внутривенное введение. В некоторых вариантах осуществления парентеральное введение представляет собой подкожное введение.

Примеры

Пример 1. Пептидный синтез для пептидов формулы (I).

Пептиды формулы (I) синтезировали посредством твердофазного пептидного синтеза (SPPS) с амидной смолой Ринка - ProTide (0,59 ммоль/г) в качестве исходной твердой подложки (СЕМ, Мэтьюз, Северная Каролина) в автоматическом микроволновом синтезаторе пептидов (LibertyBlue HT12, СЕМ, Мэтьюз, Северная Каролина). Применяли аминокислоты, защищенные Fmoc, включая Fmoc-Gly-OH (Combi-Blocks, Сан-Диего, Калифорния), Fmoc-Lys(dde)-OH (Combi-Blocks, Сан-Диего, Калифорния), Fmoc-Pro-OH (Combi-Blocks, Сан-Диего, Калифорния), Fmoc-Cys(Mmt)-OH, Fmoc-Asn(Trt)-OH (Combi-Blocks, Сан-Диего, Калифорния), Fmoc-Homogln(Trt)-OH (BLDPharm, Шанхай, Китай), Fmoc-Phe-OH (Combi-Blocks, Сан-Диего, Калифорния), Fmoc-Tyr(tBu)-OH (Combi-Blocks, Сан-Диего, Калифорния), Fmoc-12-Ado-OH (Combi-Blocks, Сан-Диего, Калифорния), MPA(Mmt)-OH (GL Biochem, Шанхай, Китай), Fmoc-L-Dab(Dde)-OH (BLDPharm, Шанхай, Китай), Fmoc-D-Dab(Dde)-OH (BLDPharm, Шанхай, Китай), Fmoc-L-Dap(Dde)-OH (BLDPharm, Шанхай, Китай), Fmoc-D-Dap(Dde)-OH (BLDPharm, Шанхай, Китай), Fmoc-L-Orn(Dde)-OH (BLDPharm, Шанхай, Китай), Fmoc-D-Orn(Dde)-OH (BLDPharm, Шанхай, Китай), Fmoc-D-Lys(Dde)-OH (BLDPharm, Шанхай, Китай), Fmoc-L-Ala-OH (BLDPharm, Шанхай, Китай), Fmoc-D-Ala-OH (BLDPharm, Шанхай, Китай), Fmoc-L-Glu(OtBu)-OH (BLDPharm, Шанхай, Китай), Fmoc-D-Glu(OtBu)-OH (BLDPharm, Шанхай, Китай), Fmoc-L-Asp(OtBu)-OH (BLDPharm, Шанхай, Китай), Fmoc-D-Asp(OtBu)-OH (BLDPharm, Шанхай, Китай), Fmoc-L-Lys(Boc)-OH (BLDPharm, Шанхай, Китай), Fmoc-D-Lys(Boc)-OH (BLDPharm, Шанхай, Китай), Fmoc-L-Orn(Boc)-OH (BLDPharm, Шанхай, Китай), Fmoc-D-Orn(Boc)-OH (BLDPharm, Шанхай, Китай) и Fmoc-Gly-Gly-OH (BLDPharm, Шанхай, Китай). Каждую аминокислоту последовательно закрепляли на пептидной смоле с применением химии Fmoc, так что получали линейный защищенный пептид на смоле. Затем в Dde-защищенной боковой цепи Lys (или B) селективно удаляли защитную группу в 2% гидразине в DMF, после чего снова проводили химию Fmoc, что приводило к получению защищенного разветвленного пептида на смоле. Затем в Mmt-защищенных боковых цепях цистеина и 3-меркаптопропионовой кислоты селективно удаляли защитную группу в 2% TFA в DCM с последующим образованием дисульфидной связи на смоле с применением N-хлорсукцинимиды. Циклизированный неочищенный пептид получали

посредством ацидолиза с трифторуксусной кислотой в присутствии акцепторов карбокатионов и посредством осаждения простым эфиром. Наконец, пептид очищали и подвергали анализу с помощью HPLC с обращенной фазой (1260 Infinity II Preparative LC Systems, Санта-Клара, Калифорния) с применением следующих способов.

Таблица 1. Параметры препаративной HPLC

Способ: препаративная HPLC		
Параметр	Значение	
Объем введения	4,5 мл	
Скорость потока	35,0 мл/мин.	
Подвижная фаза А	Ацетонитрил (can), 0,1% трифторуксусная кислота (TFA)	
Подвижная фаза В	10% ACN, 0,1% TFA в воде	
Колонка	Waters XBridge, Prep C18 5 мкм OBD, 30×150 мм, P/N 186003284	
Держатель защитной колонки	30 мм Prep Guard Holder, P/N 186006912	
Защитная колонка	Waters XBridge, Prep C18 5 мкм, 30×10 мм защитный картридж, P/N 186006893	
Температура колонки	Температура окружающей среды	
Обнаружение	280 нм	
Время анализа	19 минут	
Градиент		
Время (минуты)	%А	%В
0,0	0	100
1,0	0	100
12,8	22	78
13,1	89	11
15,5	89	11
15,6	0	100
19,0	0	100

Затем фракции собирали и лиофилизировали в виде белого порошка. Массу пептида определяли с применением системы Agilent LCMS (6100 Series Single Quadrupole LC/MS, Санта-Клара, Калифорния) при следующих условиях градиента.

Таблица 2А. Параметры аналитической HPLC/MS.

Способ: аналитическая HPLC/MS	
Объем введения	Величина
Скорость потока	1,0 мл/мин.

Подвижная фаза А	Вода, 0,5% уксусная кислота	
Подвижная фаза В	ACN, 0,5% уксусная кислота	
Колонка	Waters XBridge, Prep C18 5 мкм OBD, 4,6×100 мм, P/N 186003115	
Защитная колонка	Waters XBridge C18 VanGuard Cartridge, 130 Å, 5 мкм, 3,9 мм x 5 мм, P/N 186007771	
Температура колонки	Температура окружающей среды	
Обнаружение	220 нм	
Время анализа	11 минут	
Градиент		
Время (минуты)	%А	%В
0,0	90	10
1,0	90	10
6,0	40	60
6,5	10	90
8,0	10	90
8,5	90	10
11,0	90	10
LC-MS		
Параметр	Значение	
Режим	Положительный	
Источник ионов	API-ES	
Капиллярное напряжение	4000 В	
Диапазон масс	От 100 до 2000 D	
Фрагментор	80	
Усиление	1,00	
Скорость	2600 мкл/с	

Таблица 2В. Дополнительные параметры аналитической HPLC/MS.

Способ: аналитическая HPLC	
Объем введения	5 мкл
Скорость потока	0,5 мл/мин.
Подвижная фаза А	Вода, 0,1% трифторуксусная кислота
Подвижная фаза В	ACN, 0,1% трифторуксусная кислота

Колонка	Waters XSelect Peptide CSH C18, 130 A, 3,5 мкм, 2,1 мм x 150 мм, P/N 186006952	
Температура колонки	60°C	
Обнаружение	220 нм	
Время анализа	52 минуты	
Градиент		
Время (минуты)	%А	%В
0,0	95	5
5,0	95	5
35,0	70	30
45,5	10	90
46,0	10	90
46,1	95	5
52,0	95	5

Пептид, имеющий последовательность [Mpa-Tyr-Phe-Hgn-Asn-Cys-Pro-B(X)_a-Gly [SEQ ID NO. 8]; с дисульфидной связью между Mpa и Cys] с солью TFA, где В представляет собой Lys, X представляет собой остаток Gly, и а равняется 1, синтезировали и очищали с применением общего способа, описанного в примере по настоящему изобретению. Анализ данного пептида с помощью HPLC показывает время удерживания 21,615 минуты и чистоту 92%. Эмпирическая формула была C₄₉H₆₉N₁₃O₁₃S₂ и теоретический моноизотопный вес составлял 1111,5. Масса, обнаруженная в LCMS [M+H]⁺ с применением способа, описанного в данном документе, составляла 1112,5.

Пептид, имеющий последовательность [Mpa-Tyr-Phe-Hgn-Asn-Cys-Pro-B(X)_a-Gly [SEQ ID NO. 9]; с дисульфидной связью между Mpa и Cys] с солью TFA, где В представляет собой Lys, где X представляет собой Gly, и а равняется 2, синтезировали и очищали с применением общего способа, описанного в примере по настоящему изобретению. Анализ данного пептида с помощью HPLC показывает пик со временем удерживания 21,515 минуты при 94% чистоте. Эмпирическая формула была C₅₁H₇₂N₁₄O₁₄S₂ и теоретический моноизотопный вес составлял 1168,5. Масса, обнаруженная в LCMS [M+H]⁺ с применением способа, описанного в данном документе, составляла 1169,5.

Пептид, имеющий последовательность [Mpa-Tyr-Phe-Hgn-Asn-Cys-Pro-B(X)_a-Gly [SEQ ID NO. 10], с дисульфидной связью между Mpa и Cys] с солью TFA, где В представляет собой Lys, X представляет собой Gly, и а равняется 3, синтезировали и очищали с применением общего способа, описанного в примере по настоящему изобретению. Анализ данного пептида с помощью HPLC показывает пик со временем удерживания 21,355 минуты при 95% чистоте. Эмпирическая формула была C₅₃H₇₅N₁₅O₁₅S₂ и теоретический моноизотопный вес составлял 1226,4. Масса, обнаруженная в LCMS

[M+H]⁺ с применением способа, описанного в данном документе, составляла 1227,5.

Пептид, имеющий последовательность [Mpa-Tyr-Phe-Hgn-Asn-Cys-Pro-B(X)_a-Gly [SEQ ID NO. 11], с дисульфидной связью между Mpa и Cys] с солью TFA, где B представляет собой Lys, X представляет собой Gly, и a равняется 4, синтезировали и очищали с применением общего способа, описанного в примере по настоящему изобретению. Анализ данного пептида с помощью HPLC показывает время удерживания 21,281 минуты при 91% чистоте. Эмпирическая формула была C₅₅H₇₈N₁₆O₁₆S₂ и теоретический моноизотопный вес составлял 1282,5. Масса, обнаруженная в LCMS [M+H]⁺ с применением способа, описанного в данном документе, составляла 1283,5.

Пептид, имеющий последовательность [Mpa-Tyr-Phe-Hgn-Asn-Cys-Pro-B(X)_a-Gly [SEQ ID NO. 12], с дисульфидной связью между Mpa и Cys] с солью TFA, где B представляет собой Lys, X представляет собой Gly, и a равняется 5, синтезировали и очищали с применением общего способа, описанного в примере по настоящему изобретению. Анализ вышеуказанного пептида с помощью HPLC показывает время удерживания 20,959 минуты при 93% чистоте. Эмпирическая формула была C₅₇H₈₁N₁₇O₁₇S₂ и теоретический моноизотопный вес составлял 1339,5. Масса, обнаруженная в LCMS [M+H]⁺ с применением способа, описанного в данном документе, составляла 1340,5.

Пептид, имеющий последовательность [Mpa-Tyr-Phe-Hgn-Asn-Cys-Pro-B(X)_a-Gly [SEQ ID NO. 13], с дисульфидной связью между Mpa и Cys] с солью TFA, где B представляет собой Lys, X представляет собой Gly, и a равняется 6, синтезировали и очищали с применением общего способа, описанного в примере по настоящему изобретению. Анализ вышеуказанного пептида с помощью HPLC показывает время удерживания 20,73 минуты при 90% чистоте. Эмпирическая формула была C₅₉H₈₄N₁₈O₁₈S₂ и теоретический моноизотопный вес составлял 1396,5. Масса, обнаруженная в LCMS: [M+H]⁺ с применением способа, описанного в данном документе, =1397,5.

Пептид, имеющий последовательность [Mpa-Tyr-Phe-Hgn-Asn-Cys-Pro-B(X)_a-Gly [SEQ ID NO. 14], с дисульфидной связью между Mpa и Cys] с солью TFA, где B представляет собой Lys, X представляет собой Gly, и a равняется 7, синтезировали и очищали с применением общего способа, описанного в примере по настоящему изобретению. Данный анализ вышеуказанного пептида с помощью HPLC показывает время удерживания 20,988 минуты при 89% чистоте. Эмпирическая формула была C₆₁H₈₇N₁₉O₁₉S₂ и теоретический моноизотопный вес составлял 1453,5. Масса, обнаруженная в LCMS [M+H]⁺ с применением способа, описанного в данном документе, составляла 1454,5.

Пептид, имеющий последовательность [Mpa-Tyr-Phe-Hgn-Asn-Cys-Pro-B(X)_a-Gly [SEQ ID NO. 15], с дисульфидной связью между Mpa и Cys] с солью TFA, где B представляет собой Lys, X представляет собой Gly, и a равняется 8, синтезировали и очищали с применением общего способа, описанного в примере по настоящему изобретению. Анализ вышеуказанного пептида с помощью HPLC показывает время удерживания 20,836 минуты при 87% чистоте. Эмпирическая формула была C₆₃H₉₀N₂₀O₂₀S₂ и теоретический моноизотопный вес составлял 1510,6. Масса, обнаруженная в LCMS

$[M+H]^+$ с применением способа, описанного в данном документе, составляла 1511,6.

Пептид, имеющий последовательность [Mpa-Tyr-Phe-Hgn-Asn-Cys-Pro-B(X)_a-Gly [SEQ ID NO. 16], с дисульфидной связью между Mpa и Cys] с солью TFA, где B представляет собой Lys, X представляет собой Gly, и "a" равняется 9, синтезировали и очищали с применением общего способа, описанного в примере по настоящему изобретению. Анализ вышеуказанного пептида с помощью HPLC показывает время удерживания 20,729 минуты при 86% чистоте. Эмпирическая формула была C₆₅H₉₃N₂₁O₂₁S₂ и теоретический моноизотопный вес составлял 1567,6. Масса, обнаруженная в LCMS $[M+H]^+$ с применением способа, описанного в данном документе, составляла 1568,6.

Пептид, имеющий последовательность [Mpa-Tyr-Phe-Hgn-Asn-Cys-Pro-B(X)_a-Gly [SEQ ID NO. 17], с дисульфидной связью между Mpa и Cys] с солью TFA, где B представляет собой Dar, где "a" равняется 0, синтезировали и очищали с применением общего способа, описанного в примере по настоящему изобретению. Анализ вышеуказанного пептида с помощью HPLC показывает время удерживания 20,981 минуты при 86% чистоте. Эмпирическая формула была C₄₄H₆₀N₁₂O₁₂S₂ и теоретический моноизотопный вес составлял 1012,4. Масса, обнаруженная в LCMS $[M+H]^+$ с применением способа, описанного в данном документе, составляла 1013,4.

Пептид, имеющий последовательность [Mpa-Tyr-Phe-Hgn-Asn-Cys-Pro-B(X)_a-Gly [SEQ ID NO. 18], с дисульфидной связью между Mpa и Cys] с солью TFA, где B представляет собой d-Lys, где "a" равняется 0, синтезировали и очищали с применением общего способа, описанного в примере по настоящему изобретению. Анализ вышеуказанного пептида с помощью HPLC показывает время удерживания 21,382 минуты при 91% чистоте. Эмпирическая формула была C₄₇H₆₆N₁₂O₁₂S₂ и теоретический моноизотопный вес составлял 1054,4. Масса, обнаруженная в LCMS $[M+H]^+$ с применением способа, описанного в данном документе, составляла 1055,5.

Пептид, имеющий последовательность [Mpa-Tyr-Phe-Hgn-Asn-Cys-Pro-B(X)_a-Gly [SEQ ID NO. 19], с дисульфидной связью между Mpa и Cys] с солью TFA, где B представляет собой Lys; где "(X)" представляет собой 12-аминододекановую кислоту, и "a" равняется 1, синтезировали и очищали с применением общего способа, описанного в примере по настоящему изобретению. Анализ вышеуказанного пептида с помощью HPLC показывает время удерживания 31,354 минуты при 91% чистоте. Эмпирическая формула была C₅₉H₈₉N₁₃O₁₃S₂ и теоретический моноизотопный вес составлял 1251,6. Масса, обнаруженная в LCMS $[M+H]^+$ с применением способа, описанного в данном документе, составляла 1252,5.

Пример 2. Пептидный синтез для пептидов формулы (II) и (IV).

Пептиды формулы (II) и формулы (IV) синтезировали посредством твердофазного пептидного синтеза (SPPS) с амидной смолой Ринка - ProTide (0,59 ммоль/г) в качестве исходной твердой подложки (СЕМ, Мэтьюз, Северная Каролина) в автоматическом микроволновом синтезаторе пептидов (LibertyBlue HT12, СЕМ, Мэтьюз, Северная Каролина). Применяли аминокислоты, защищенные Fmoc, включая Fmoc-Gly-OH (Combi-

Blocks, Сан-Диего, Калифорния), Fmoc-Lys(dde)-OH (Combi-Blocks, Сан-Диего, Калифорния), Fmoc-Pro-OH (Combi-Blocks, Сан-Диего, Калифорния), Fmoc-Cys(Mmt)-OH (Combi-Blocks, Сан-Диего, Калифорния), Fmoc-Asn(Trt)-OH, (Combi-Blocks, Сан-Диего, Калифорния) Fmoc-Gln(Trt)-OH (Combi-Blocks, Сан-Диего, Калифорния), Fmoc-Phe-OH (Combi-Blocks, Сан-Диего, Калифорния), Fmoc-Tyr(tBu)-OH (Combi-Blocks, Сан-Диего, Калифорния), MPA(Mmt)-OH (GL Biochem, Шанхай, Китай), Fmoc-Gly-Gly-OH (BLDPharm, Шанхай, Китай), Fmoc-L-Orn(Dde)-OH (BLDPharm, Шанхай, Китай), Fmoc-D-Orn(Dde)-OH (BLDPharm, Шанхай, Китай), Fmoc-D-Lys(Dde)-OH (BLDPharm, Шанхай, Китай), Fmoc-L-Ala-OH (BLDPharm, Шанхай, Китай), Fmoc-D-Ala-OH (BLDPharm, Шанхай, Китай), Fmoc-L-Glu(OtBu)-OH (BLDPharm, Шанхай, Китай), Fmoc-D-Glu(OtBu)-OH (BLDPharm, Шанхай, Китай), Fmoc-L-Asp(OtBu)-OH (BLDPharm, Шанхай, Китай), Fmoc-D-Asp(OtBu)-OH (BLDPharm, Шанхай, Китай), Fmoc-L-Lys(Вос)-OH (BLDPharm, Шанхай, Китай), Fmoc-D-Lys(Вос)-OH (BLDPharm, Шанхай, Китай), Fmoc-L-Orn(Вос)-OH (BLDPharm, Шанхай, Китай) и Fmoc-D-Orn(Вос)-OH (BLDPharm, Шанхай, Китай). Каждую аминокислоту последовательно закрепляли на пептидной смоле с применением химии Fmoc, так что получали линейный защищенный пептид на смоле. Затем в боковой цепи Lys селективно удаляли защитную группу в 2% гидразине в DMF, после чего снова проводили химию Fmoc, что приводило к получению защищенного разветвленного пептида на смоле. Затем в боковых цепях цистеина и 3-меркаптопропионовой кислоты селективно удаляли защитную группу в 2% TFA в DCM с последующим образованием дисульфидной связи на смоле с применением N-хлорсукцинимид. Циклизированный неочищенный пептид получали посредством ацидолиза с трифторуксусной кислотой в присутствии акцепторов карбокатионов и посредством осаждения простым эфиром. Наконец, пептид очищали и подвергали анализу с помощью HPLC с обращенной фазой с применением способа в примере 1 и затем лиофилизировали в виде белого порошка. Массу пептида определяли с помощью системы Agilent LCMS с применением того же способа LCMS, что и в примере 1.

Пептид, имеющий последовательность [Mpa-Tyr-Phe-Gln-Asn-Cys-Pro-Lys(X)_a-Gly [SEQ ID NO. 20], с дисульфидной связью между Mpa и Cys] с солью TFA, где X представляет собой Gly, и a равняется 6, синтезировали и очищали с применением общего способа, описанного в примере по настоящему изобретению. Анализ данного пептида с помощью HPLC показывает время удерживания 20,624 минуты при 96% чистоте. Эмпирическая формула была C₅₈H₈₂N₁₈O₁₈S₂ и теоретический моноизотопный вес составлял 1382,5. Масса, обнаруженная в LCMS [M+H]⁺ с применением способа, описанного в примере 1, составляла 1383,5.

Пептид, имеющий последовательность [Mpa-Tyr-Phe-Gln-Asn-Cys-Pro-Lys(X)_a-Gly [SEQ ID NO. 21], с дисульфидной связью между Mpa и Cys] с солью TFA, где X представляет собой Gly, и a равняется 7, синтезировали и очищали с применением общего способа, описанного в примере по настоящему изобретению. Анализ вышеуказанного пептида с помощью HPLC показывает время удерживания 20,495 минуты при 95% чистоте. Эмпирическая формула была C₆₀H₈₅N₁₉O₁₉S₂ и теоретический моноизотопный вес

составлял 1439,6. Масса, обнаруженная в LCMS: $[M+H]^+$ с применением способа, описанного в примере 1, составляла 1440,5.

Пептид, имеющий последовательность [Mpa-Tyr-Phe-Gln-Asn-Cys-Pro-Lys(X)_a-Gly [SEQ ID NO. 22], с дисульфидной связью между Mpa и Cys] с солью TFA, где X представляет собой Gly, и a равняется 8, синтезировали и очищали с применением общего способа, описанного в примере по настоящему изобретению. Анализ вышеуказанного пептида с помощью HPLC показывает время удерживания 21,121 минуты при 90% чистоте. Эмпирическая формула была C₆₂H₈₈N₂₀O₂₀S₂ и теоретический моноизотопный вес составлял 1496,6. Масса, обнаруженная в LCMS $[M+H]^+$ с применением способа, описанного в примере 1, составляла 1497,6.

Пептид, имеющий последовательность [Mpa-Tyr-Phe-Gln-Asn-Cys-Pro-Lys(X)_a-Gly [SEQ ID NO. 23], с дисульфидной связью между Mpa и Cys] с солью TFA, где

X представляет собой Gly, и a равняется 9, синтезировали и очищали с применением общего способа, описанного в примере по настоящему изобретению. Анализ вышеуказанного пептида с помощью HPLC показывает время удерживания 20,409 минуты при 93% чистоте. Эмпирическая формула была C₆₄H₉₁N₂₁O₂₁S₂ и теоретический моноизотопный вес составлял 1553,6. Масса, обнаруженная в LCMS $[M+H]^+$ с применением способа, описанного в примере 1, составляла 1554,6.

Пример 3. Пептиды формулы (I), где (X)_a представляет собой (Gly)₀₋₉ -- частичные агонисты

Пептиды формулы (I) включают Mpa-Tyr-Phe-Hgn-Asn-Cys-Pro-Lys(X)_a-Gly-NH₂ [SEQ ID NO. 24], где (X)_a представляет собой пептид с остатками "a", и каждый остаток X независимо выбран из Gly и D- или L- версии аминокислот Ala, Lys, Orn, Glu и Asp, где "a" равняется 0-10. Анализ потока кальция клеточного агониста V1a вазопрессина человека GPCR проводили в Eurofins Cerep SA (Франция) на платной основе. Рекомбинантные клетки CHO, продуцирующие белки человека, экспрессирующие рецепторы V1 человека, распределяли по микропланшетам. Сигнал внутриклеточного кальция определяли с помощью флуориметрии, и сигнал регистрировали до и после добавления известной концентрации агониста. Тестировали следующие концентрации агониста (нМ); 0,0128, 0,064, 0,32, 1,6, 8, 40, 200 и 1000. Результаты выражены в процентах от 1000 нМ ответа агониста AVP. Все анализы проводили в двух повторностях. Изменения интенсивности флуоресценции отражали изменения концентрации свободного цитозольного кальция. Стандартным эталонным агонистом был AVP, и максимальная активность других агонистов выражена в процентах от максимальной активности AVP. Полуmaxимальную эффективную концентрацию (EC50) определяли с помощью нелинейного регрессионного анализа кривых концентрация-ответ, полученных со средними повторными значениями с применением уравнения подбора кривой Hill (Cerep, l'Evescault, France). На фигуре 2 продемонстрирован пример графических данных и краткое описание иллюстративных видов формулы (I), также обобщенных в таблице 3. Все виды являются частичными агонистами.

Таблица 3. Свойства пептидов (пептиды формулы (I) являлись частичными агонистами)

Пептиды (все с внутримолекулярной дисульфидной связью)	Расчетное значение EC50 для V1a (нМ); n=2	Наивысший агонистический эффект в отношении V1a (% от AVP); n=2
Аргинин-вазопрессин (AVP)	0,42	100
Лизин-вазопрессин (LVP)	1,65	92,1
Мра-Тур-Фе-Нгн-Асн-Сис-Про-Лис-Гли-NH ₂ [SEQ ID NO. 25]	5,2	42,8
Мра-Тур-Фе-Нгн-Асн-Сис-Про-Лис(X)-Гли-NH ₂ ; X=Gly [SEQ ID NO. 8]	25,3	40,3
Мра-Тур-Фе-Нгн-Асн-Сис-Про-Лис(X) _a -Гли-NH ₂ ; (X) _a =(Gly) ₂ [SEQ ID NO. 9]	38,2	37,0
Мра-Тур-Фе-Нгн-Асн-Сис-Про-Лис(X) _a -Гли-NH ₂ ; (X) _a =(Gly) ₃ [SEQ ID NO. 10]	53,5	32,9
Мра-Тур-Фе-Нгн-Асн-Сис-Про-Лис(X) _a -Гли-NH ₂ ; (X) _a =(Gly) ₄ [SEQ ID NO. 11]	160,8	33,6
Мра-Тур-Фе-Нгн-Асн-Сис-Про-Лис(X) _a -Гли-NH ₂ ; (X) _a =(Gly) ₅ [SEQ ID NO. 12]	50,1	29,6
Мра-Тур-Фе-Нгн-Асн-Сис-Про-Лис(X) _a -Гли-NH ₂ ; (X) _a =(Gly) ₆ [SEQ ID NO. 13]	45,9	28,2
Мра-Тур-Фе-Нгн-Асн-Сис-Про-Лис(X) _a -Гли-NH ₂ ; (X) _a =(Gly) ₇ [SEQ ID NO. 14]	30,9	26,1
Мра-Тур-Фе-Нгн-Асн-Сис-Про-Лис(X) _a -Гли-NH ₂ ; (X) _a =(Gly) ₈ [SEQ ID NO. 15]	225,7	24,8
Мра-Тур-Фе-Нгн-Асн-Сис-Про-Лис(X) _a -Гли-NH ₂ ; (X) _a =(Gly) ₉ [SEQ ID NO. 16]	104,8	28,1
Мра-Тур-Фе-Нгн-Асн-Сис-Про-Лис(X) _a -Гли-NH ₂ ; (X) _a =(Gly) ₉ -Ас [SEQ ID NO. 26]	Низкая эффективность >>10 мкМ*	40
Мра-Тур-Фе-Нгн-Асн-Сис-Про-Лис(X) _a -Гли-NH ₂ ; (X) _a =лауриновая кислота [SEQ ID NO. 27]	Низкая эффективность >>10 мкМ	Неактивный

Mpa-Tyr-Phe-Hgn-Asn-Cys-Pro-Lys(X) _a -Gly-NH ₂ ; (X) _a =Ac [SEQ ID NO. 28]	Низкая эффективность >>10 мкМ*	30
Mpa-Tyr-Phe-Hgn-Asn-Cys-Pro-Lys(X) _a -Gly-NH ₂ ; (X) _a =Dap [SEQ ID NO. 29]	1,34 мкМ	7,5
Mpa-Tyr-Phe-Hgn-Asn-Cys-Pro-Dap-Gly-NH ₂ [SEQ ID NO. 17]	Низкая эффективность >>10 мкМ *	3,5 (неактивный in vitro)
Mpa-Tyr-Phe-Hgn-Asn-Cys-Pro-dLys-Gly-NH ₂ (примечание: dLys=D-Lys) [SEQ ID NO. 18]	Низкая эффективность >>10 мкМ *	0,20 (неактивный in vitro)
Mpa-Tyr-Phe-Hgn-Asn-Cys-Pro-Lys(12- аминододекановая кислота)-Gly-NH ₂ [SEQ ID NO. 19]	Низкая эффективность >>10 мкМ *	2,5 (неактивный in vitro)
*Любая активность ниже 5% при концентрации насыщения (<i>m. e.</i> , >100 нМ) считается неактивной <i>in vitro</i> , но может активироваться <i>in vivo</i> (<i>m. e.</i> , по сути в виде пролекарственного средства).		

Пример 4. Пептиды формулы (II), когда (X)_a представляет собой (Gly)₆ или (Gly)₉; частичный агонист (таблица 4).

Анализ потока кальция клеточного агониста V1a вазопрессина человека GPCR проводили с применением рекомбинантных клеток CHO, продуцирующих белки человека, экспрессирующих рецептор V1 человека. Вкратце, рекомбинантные клетки CHO, продуцирующие белки человека, экспрессирующие рецептор V1 человека, распределяли по микропланшетам по 4,5×10⁴ клеток/лунка. Затем в каждую лунку добавляют флуоресцентный зонд (Fluo4 Direct, Invitrogen), смешанный с пробеницидом в HBSS буфере (Invitrogen), дополненный 20 mM HEPES (Invitrogen) (pH 7,4) и уравнивают с клетками в течение 60 минут при 37°C, затем 15 минут при 22°C. После этого аналитические планшеты помещают в микропланшет-ридер (CellLux, PerkinElmer), который применяют для добавления тестируемого соединения, эталонного агониста или HBSS буфера (основной контроль) и измерений изменений интенсивности флуоресценции, которая меняется пропорционально концентрации свободного цитозольного иона Ca²⁺. Тестировали следующие концентрации агониста (нМ), 0,0128, 0,064, 0,32, 1,6, 8, 40, 200 и 1000. Результаты выражали в процентах от 1000 нМ ответа агониста AVP. Все анализы проводили в двух повторностях. Изменения интенсивности флуоресценции отражали изменения концентрации свободного цитозольного кальция. Стандартным эталонным агонистом был AVP, и максимальную активность других агонистов выражали в процентах от максимальной активности AVP. Ссылаясь на фигуру 3 и таблицу 4, полумаксимальную

эффективную концентрацию (EC50) определяли с помощью нелинейного регрессионного анализа кривых концентрация-ответ, полученных со средними повторными значениями с применением уравнения подбора кривой Хилла (Cerep, l'Evescault, France).

Таблица 4. Свойства пептида

Пептиды	Расчетное значение EC50 для V1a (нМ); n=2	Наивысший агонистический эффект в отношении V1a (% от AVP); n=2
Аргинин-вазопрессин (AVP)	0,42	100
Лизин-вазопрессин (LVP)	1,65	92,1
Мра-Тур-Рхе-Глн-Асн-Сус-Про-Лус(X) _a -Глу-NH ₂ ; (X) _a =(Глу) ₆ [SEQ ID NO. 20]	27,3	60,9
Мра-Тур-Рхе-Глн-Асн-Сус-Про-Лус(X) _a -Глу-NH ₂ ; (X) _a =(Глу) ₉ [SEQ ID NO. 23]	12,6	55,9

Пример 5. Комбинированная терапия толваптаном и терлипрессинном при острой диуретической активности у крыс линии Wistar (таблица 5)

В данном исследовании крыс-самцов линии Wistar (~8 недель; Envigo; Сомерсет, Нью-Джерси) не кормили в течение ночи (18 часов; свободный доступ к воде) с последующей обработкой солевым раствором в дозе 20 мл/кг через желудочный зонд для равномерной гидратации всех животных. Затем животных обрабатывали терлипрессинном (Bachem, Торранс, Калифорния), толваптаном (Fisher Scientific, Уолтем, Массачусетс) и комбинацией этих двух соединений в разных концентрациях, вводимых подкожно (n=4). Тестируемые образцы: терлипрессин 0,05 мг/кг и 0,15 мг/кг, толваптан 0,3 мг/кг и 1,0 мг/кг, терлипрессин 0,05 мг/кг+толваптан 0,3 мг/кг, терлипрессин 0,05 мг/кг+толваптан 1,0 мг/кг, терлипрессин 0,15 мг/кг+толваптан 0,3 мг/кг и терлипрессин 0,15 мг/кг+1,0 мг/кг. Фуросемид (Fisher Scientific, Уолтем, Массачусетс) применяли в качестве положительного контроля и вводили в дозе 20 мг/кг через желудочный зонд. Включали группу с контрольной дозой среды-носителя (9% tween 80; Fisher Scientific, Уолтем, Массачусетс), вводимой подкожно, и полученные данные вычитали из данных отдельных тестируемых образцов. После введения дозы животных помещали в метаболические клетки (Tecniplast; Провинция Варезе, Италия) и собирали мочу и проводили измерение через 2, 4 и 8 часов после введения дозы тестируемых образцов. Объемы мочи делили на вес тела (до введения дозы), умноженный на 100, чтобы выразить в мл/100 г веса тела. В таблице 4 показано, что при низкой подкожной дозе толваптана (0,3 мг/кг) соотношения массы терлипрессина к массе толваптана от 1:2 до 1:6 комбинаций являются предпочтительными и оказывают аддитивный эффект на общий объем мочи и сравнимы с объединенным общим объемом мочи при введении независимо. Высокая доза толваптана и соотношение от 1:7 до 1: 20 обладают вычитающим эффектом на общий объем мочи и меньше чем объединенный

общий объем при введении независимо. Однако, при любом соотношении доза толваптана приблизительно 0,3 мг/кг (т. е., 0,3+0,05 мг/кг), вводимая крысам (аллометрически эквивалентная приблизительно 2-5 мг/человек в зависимости от веса), является идеальной дозой, которая при объединении с композицией по настоящему изобретению обеспечивает более 50% суммарного отдельного диуретического эффекта при введении отдельно. Считается, что низкая доза 0,3 мг/кг подкожного толваптана в 13 раз ниже эффективной безопасной дозы для человека, что обеспечивает дополнительное преимущество для пациентов с заболеванием печени. Это может увеличить среднее артериальное кровяное давление (МАР), что является эффектом V1a, обусловленным композицией по настоящему изобретению, при этом поддерживая значительный (по меньшей мере 50% суммарного отдельного диуретического эффекта при введении отдельно) эффект обоих.

Таблица 5. Весовые соотношения терлипессина и толваптана от 1:2 до 1:6 (но не другие соотношения) оказывают аддитивный эффект на общий объем мочи и сравнимы с объединенным общим объемом при введении независимо, что позволяет снизить гепатотоксичную дозу толваптана.

Тестируемые образцы	Толваптан: соотношение тестируемых образцов вес:вес	Среднее количество мл мочи на 100 граммов веса тела за 8 часов, совокупно (n=4) минус 0,92 мл группы со средой- носителем (Tween 80) (0,15; SEM; n=4)
Терлипессин 0,05	N/A	0,70(0,17)
Терлипессин 0,15	N/A	1,32 (0,23)
Толваптан 0,3	N/A	0,65 (0,16)
Толваптан 1,0	N/A	7,29 (0,46)
Терлипессин 0,05: Толваптан 0,3 вес/вес 1:6	1:6	1,41 (0,21)
Терлипессин 0,05: Толваптан 1,0 вес/вес 1:20	1:20	3,01 (0,19)
Терлипессин 0,15: Толваптан 0,3 вес/вес 1:2	1:2	1,84 (0,09)
Терлипессин 0,15: Толваптан 1,0 вес/вес 1:7	1:7	2,61 (0,09)
Фуросемид 20 (пероральный)	N/A	1,73 (0,22)

Пример 6. Комбинированная терапия толваптаном и пептидами формулы (II) и (IV) при острой диуретической активности у крыс линии Wistar (таблица 6)

В данном исследовании крыс-самцов линии Wistar (~8 недель; Envigo; Сомерсет,

Нью-Джерси) не кормили в течение ночи (18 часов; свободный доступ к воде) с последующей обработкой солевым раствором в дозе 20 мл/кг через желудочный зонд для равномерной гидратации всех животных. Затем животных обрабатывали разными концентрациями тестируемых образцов, вводимых подкожно (n=4) (таблица 5). Включали группу с контрольной дозой среды-носителя (9% tween 80; Fisher Scientific, Уолтем, Массачусетс), вводимой подкожно, и полученные данные вычитали из данных отдельных тестируемых образцов. После введения дозы животных помещали в метаболические клетки (Tecniplast; Провинция Варезе, Италия) и собирали мочу и проводили измерение через 2, 4 и 8 часов после введения дозы тестируемых образцов. Объемы мочи делили на вес тела (до введения дозы), умноженный на 100, чтобы выразить в мл/100 г веса тела. В таблице 4 показано, что при низкой подкожной дозе толваптана (0,3 мг/кг) соотношения массы терлипессина к массе толваптана от 1:2 до 1:6 комбинаций являются предпочтительными и оказывают аддитивный эффект на общий объем мочи и сравнимы с объединенным общим объемом мочи при введении независимо. Высокая доза толваптана и соотношение от 1:7 до 1:20 обладают вычитающим эффектом на общий объем мочи и меньше чем объединенный общий объем при введении независимо. Однако, при любом соотношении доза толваптана приблизительно 0,3 мг/кг (*m. e.*, 0,3+0,05 мг/кг), вводимая крысам (аллометрически эквивалентная приблизительно 2-7 мг/человек в зависимости от веса человека), является идеальной дозой, которая при объединении с композицией по настоящему изобретению обеспечивает более 50% суммарного отдельного диуретического эффекта при введении отдельно. Считается, что низкая доза 0,3 мг/кг подкожного толваптана в 13 раз ниже эффективной безопасной дозы для человека, что обеспечивает дополнительное преимущество для пациентов с заболеванием печени. Это может увеличить среднее артериальное кровяное давление (МАР), что является эффектом V1a, обусловленным композицией по настоящему изобретению, при этом поддерживая значительный (по меньшей мере 50% суммарного отдельного диуретического эффекта при введении отдельно) эффект обоих.

Таблица 6. Толваптан в дозе 0,3 мг/кг у крыс и несколько пептидов формулы (II) и (IV) при острой диуретической активности у крыс линии Wistar.

Тестируемые образцы	Толваптан: соотношени е формулы II вес:вес	Средний совокупный объем мочи за 8 часов: мл на 100 граммов веса тела (SEM; n=4) минус группа со средой- носителем Tween 80
Толваптан; 0,3 мг/кг	N/A	0,65 (0,16)
Мра-Тур-Phe-Gln-Asn-Cys-Pro-Lys-Gly- NH ₂ [SEQ ID NO. 32]; 0,005 мг/кг	N/A	0,80 (0,50)
Мра-Тур-Phe-Gln-Asn-Cys-Pro-Lys-Gly-	N/A	0,86 (0,28)

NH ₂ [SEQ ID NO. 32]; 0,015 мг/кг		
Mpa-Tyr-Phe-Gln-Asn-Cys-Pro-Lys-Gly-NH ₂ [SEQ ID NO. 32]; 0,05 мг/кг	N/A	0,74 (0,55)
Mpa-Tyr-Phe-Gln-Asn-Cys-Pro-Lys(X) _a -Gly-NH ₂ ; (X) _a =(Gly) ₅ [SEQ ID NO. 33]; 0,015 мг/кг	N/A	1,11 (0,11)
Mpa-Tyr-Phe-Gln-Asn-Cys-Pro-Lys(X) _a -Gly-NH ₂ ; (X) _a =(Gly) ₅ [SEQ ID NO. 33]; 0,05 мг/кг	N/A	1,32 (0,09)
Mpa-Tyr-Phe-Gln-Asn-Cys-Pro-Lys(X) _a -Gly-NH ₂ ; (X) _a =(Gly) ₅ [SEQ ID NO. 33]; 0,15 мг/кг	N/A	1,85 (0,20)
Толваптан: 0,3 мг/кг+Mpa-Tyr-Phe-Gln-Asn-Cys-Pro-Lys-Gly-NH ₂ [SEQ ID NO. 32]; 0,005 мг/кг	1:60	0,97 (0,29)
Толваптан: 0,3 мг/кг+Mpa-Tyr-Phe-Gln-Asn-Cys-Pro-Lys-Gly-NH ₂ [SEQ ID NO. 32]; 0,015 мг/кг	1:20	1,43 (0,14)
Толваптан: 0,3 мг/кг+Mpa-Tyr-Phe-Gln-Asn-Cys-Pro-Lys-Gly-NH ₂ [SEQ ID NO. 32]; 0,05 мг/кг	1:6	0,48 (0,31)
Толваптан: 0,3 мг/кг+Mpa-Tyr-Phe-Gln-Asn-Cys-Pro-Lys(X) _a -Gly-NH ₂ ; (X) _a =(Gly) ₅ [SEQ ID NO. 33]; 0,015 мг/кг	1:20	0,88 (0,04)
Толваптан: 0,3 мг/кг+Mpa-Tyr-Phe-Gln-Asn-Cys-Pro-Lys(X) _a -Gly-NH ₂ ; (X) _a =(Gly) ₅ [SEQ ID NO. 33]; 0,05 мг/кг	1:6	1,66 (0,18)
Толваптан: 0,3 мг/кг+Mpa-Tyr-Phe-Gln-Asn-Cys-Pro-Lys(X) _a -Gly-NH ₂ ; (X) _a =(Gly) ₅ [SEQ ID NO. 33]; 0,15 мг/кг	1:2	1,52 (0,04)

Пример 7. Композиции по настоящему изобретению характеризуются гораздо более высоким терапевтическим индексом, чем другие известные агонисты VIa.

В данном исследовании самцам крыс линии Sprague-Dawley (Charles River; Уилмингтон, Массачусетс) в возрасте от 8 до 10 недель под анестезией изофлураном (n=3 или 6) внутривенно (IV) или подкожно (SC) инъекцировали или вводили различные

тестируемые образцы. До введения тестируемых образцов область инъекции освобождали от шерсти, чтобы обеспечить четкую визуализацию места введения дозы, и измеряли и записывали вес животного. Животных содержали по двое на клетку. После каждой инъекции животных наблюдали по меньшей мере каждые 30 минут не более 8 часов и проверяли их на следующий день. Время начала и окончания проявления симптомов записывали и обобщенно приводили в таблице 6. Определение уровня, не дающего наблюдаемого эффекта (NOEL), представляет собой наивысшую дозу тестируемого образца, где у животного не проявлялись никаких симптомов в течение 24 ч. после инъекции по сравнению с контрольной группой, не получавшей обработки. Определение уровня воздействия, при котором не наблюдается вредный эффект (NOAEL), представляет собой наивысшую дозу тестируемого образца, где у животного наблюдалась бледность ушей после инъекции, но не наблюдалась вялость по сравнению с контрольной группой, не получавшей обработки. Определение легкого побочного эффекта представляет собой самую низкую дозу, где у животного проявлялась вялость в дополнение к бледности ушей по сравнению с контрольной группой, не получавшей обработки. Определение выраженного побочного эффекта представляет собой самую низкую дозу, где у животного проявлялась атаксия в дополнение к вялости и бледности ушей по сравнению с контрольной группой, не получавшей обработки. Вялость - это когда глаза животного не могут полностью открыться и сопровождается глубоким дыханием и ограничением движения даже в присутствии человека. Атаксия - это когда у животного наблюдается нарушение подвижности, что проявляется в том, что животное ложится на бок. Через 24 ч. не наблюдали ни одного из симптомов четырех классификаций, что указывает на то, что тестируемые образцы и/или активные единицы лекарственного средства, выводились/метаболизировались/распадались из системы/организма.

Таблица 7. Композиции по настоящему изобретению характеризуются гораздо более высоким терапевтическим индексом, чем другие известные агонисты V1a (* последний момент для наблюдения 24 часа спустя, клинические признаки вернулись к норме).

Терлипрессин (n=3)	Доза мг/кг I.V.	Бледность (Продолжительность, ч.; SD)	Вялость (продолжительность, ч.; SD)	Атаксия (продолжительность, ч.; SD)	NOAEL/NOEL
Наивысшая доза с уровнем, не дающим наблюдаемого эффекта или бледности	0,005	Не наблюдается	Не наблюдается	Не наблюдается	10

(NOEL)					
Наивысшая доза с уровнем воздействия, при котором не наблюдается вредный эффект (NOAEL), без вялости	0,05	Наблюдается (1,3 ± 0,05)	Не наблюдается	Не наблюдается	
Легкий побочный эффект (при самой низкой дозе сначала наблюдалась вялость)	0,15	Наблюдается (2,82± 0,03)	Наблюдается (0,66± 0,02)	Не наблюдается	
Выраженный побочный эффект (при самой низкой дозе сначала наблюдалась атаксия)	1,5	Наблюдается (3,56 ± 0,06)	Наблюдается (1,16 ± 0,06)	Наблюдается (0,58 ± 0,06)	
Мра-Тур-Phe-Hgn-Asn-Cys-Pro-Lys-Gly-NH2 [SEQ ID NO. 25]; (n=3)	Доза мг/кг S.C.	Бледность (Продолжительность, ч.; SD)	Вялость (продолжительность, ч.; SD)	Атаксия (продолжительность, ч.; SD)	NOAEL/NOEL
Наивысшая доза с уровнем, не дающим наблюдаемого эффекта или бледности	0,0015	Не наблюдается	Не наблюдается	Не наблюдается	10 (Более сильный и обладает биологической)

(NOEL)					активностью
Наивысшая доза с уровнем воздействия, при котором не наблюдается вредный эффект (NOAEL), без вялости	0,015	Наблюдается (3,78 ± 0,05)	Не наблюдается	Не наблюдается	в 3 раза дольше, чем терлипресси н)
Легкий побочный эффект (при самой низкой дозе сначала наблюдалась вялость)	0,05	Наблюдается (5,66± 0,83)	Наблюдается (1,49±0,37)	Не наблюдается	
Выраженный побочный эффект (при самой низкой дозе сначала наблюдалась атаксия)	0,15	Наблюдается (4,9 ± 0,05)	Наблюдается (2,98 ± 0,07)	Наблюдается (0,62 ± 0,04)	
Мра-Тур-Phe-Hgn-Asn-Cys-Pro-Lys(X) _a -Gly-NH ₂ ; (X) _a =(Gly) ₁ [SEQ ID NO. 8]; (n=3)	Доза мг/кг S.C.	Бледность (Продолжительность, ч.; SD)	Вялость (продолжительность, ч.; SD)	Атаксия (продолжительность, ч.; SD)	NOAEL/NOEL
Наивысшая доза с уровнем, не дающим	0,0015	Не наблюдается	Не наблюдается	Не наблюдается	10

наблюдаемого эффекта или бледности (NOEL)					
Наивысшая доза с уровнем воздействия, при котором не наблюдается вредный эффект (NOAEL), без вялости	0,15	Наблюдается (6,20 ± 0,28)	Не наблюдается	Не наблюдается	
Легкий побочный эффект (при самой низкой дозе сначала наблюдалась вялость)	0,5	Наблюдается (>6,12)*	Наблюдается (1,64 ± 0,10)	Не наблюдается	
Выраженный побочный эффект (при самой низкой дозе сначала наблюдалась атаксия)	1,5	Наблюдается (>6,12)*	Наблюдается (1,78 ± 0,21)	Наблюдается (0,48 ± 0,06)	
Мра-Тур-Phe-Hgn-Asn-Cys-Pro-Lys(X) _a -Gly-NH ₂ ; (X) _a =(Gly) ₂ [SEQ ID NO. 9]; (n=3)	Доза мг/кг S.C.	Бледность (Продолжительность, ч.; SD)	Вялость (продолжительность, ч.; SD)	Атаксия (продолжительность, ч.; SD)	NOAEL/NOEL
Наивысшая доза с уровнем, не	0,0015	Не наблюдается	Не наблюдается	Не наблюдается	100

дающим наблюдаемого эффекта или бледности (NOEL)					
Наивысшая доза с уровнем воздействия, при котором не наблюдается вредный эффект (NOAEL), без вялости	0,15	Наблюдается (5,74 ± 0,45)	Не наблюдается	Не наблюдается	
Легкий побочный эффект (при самой низкой дозе сначала наблюдалась вялость)	0,5	Наблюдается (>6,04)*	Наблюдается (1,70 ± 0,13)	Не наблюдается	
Выраженный побочный эффект (при самой низкой дозе сначала наблюдалась атаксия)	1,5	Наблюдается (>5,99)*	Наблюдается (1,79 ± 0,18)	Наблюдается (0,43 ± 0,07)	
Мра-Туг-Phe-Hgn-Asn-Cys-Pro-Lys(X) _a -Gly-NH ₂ ; (X) _a =(Gly) ₃ [SEQ ID NO. 10]; (n=3)	Доза мг/кг S.C.	Бледность (Продолжительность, ч.; SD)	Вялость (продолжительность, ч.; SD)	Атаксия (продолжительность, ч.; SD)	NOAEL/NOEL
Наивысшая доза	0,0015	Не	Не	Не	100

с уровнем, не дающим наблюдаемого эффекта или бледности (NOEL)		наблюдается	наблюдается	наблюдается	
Наивысшая доза с уровнем воздействия, при котором не наблюдается вредный эффект (NOAEL), без вялости	0,15	Наблюдается (5,65 ± 0,4)	Не наблюдается	Не наблюдается	
Легкий побочный эффект (при самой низкой дозе сначала наблюдалась вялость)	0,5	Наблюдается (6,27± 0,13)	Наблюдается (2,07±0,07)	Не наблюдается	
Выраженный побочный эффект (при самой низкой дозе сначала наблюдалась атаксия)	1,5	Наблюдается (6,4 ± 0,07)	Наблюдается (0,25 ± 0,1)	Наблюдается (0,33± 0,11)	
Мра-Тур-Phe- Hgn-Asn-Cys- Pro-Lys(X) _a -Gly- NH ₂ ; (X) _a =(Gly) ₄ [SEQ ID NO. 11]; (n=3)	Доза мг/кг S.C.	Бледность (Продолжительность, ч.; SD)	Вялость (продолжительность, ч.; SD)	Атаксия (продолжительность, ч.; SD)	NOAEL/NOEL

Наивысшая доза с уровнем, не дающим наблюдаемого эффекта или бледности (NOEL)	0,0015	Не наблюдается	Не наблюдается	Не наблюдается	
Наивысшая доза с уровнем воздействия, при котором не наблюдается вредный эффект (NOAEL), без вялости	0,15	Наблюдается (6,02 ± 0,06)	Не наблюдается	Не наблюдается	100
Легкий побочный эффект (при самой низкой дозе сначала наблюдалась вялость)	0,5	Наблюдается (>6,85)*	Наблюдается (1,49 ± 0,02)	Не наблюдается	
Выраженный побочный эффект (при самой низкой дозе сначала наблюдалась атаксия)	1,5	Наблюдается (>6,93)*	Наблюдается (1,11 ± 0,07)	Наблюдается (0,41 ± 0,08)	
Мра-Тур-Phe-Hgn-Asn-Cys-Pro-Lys(X) _a -Gly-NH ₂ ; (X) _a =(Gly) ₅ [SEQ ID NO. 12];	Доза мг/кг S.C.	Бледность (Продолжительность, ч.; SD)	Вялость (продолжительность, ч.; SD)	Атаксия (продолжительность, ч.; SD)	NOAEL/NOEL

(n=3)					
Наивысшая доза с уровнем, не дающим наблюдаемого эффекта или бледности (NOEL)	0,0015	Не наблюдается	Не наблюдается	Не наблюдается	
Наивысшая доза с уровнем воздействия, при котором не наблюдается вредный эффект (NOAEL), без вялости	0,15	Наблюдается (5,79 ± 0,08)	Не наблюдается	Не наблюдается	100
Легкий побочный эффект (при самой низкой дозе сначала наблюдалась вялость)	0,5	Наблюдается (>6,65)*	Наблюдается (1,37 ± 0,11)	Не наблюдается	
Выраженный побочный эффект (при самой низкой дозе сначала наблюдалась атаксия)	1,5	Наблюдается (>6,69)*	Наблюдается (1,20 ± 0,06)	Наблюдается (0,49 ± 0,06)	
Мра-Тур-Phe-Hgn-Asn-Cys-Pro-Lys(X) _a -Gly-NH ₂ ; (X) _a =(Gly) ₆	Доза мг/кг S.C.	Бледность (Продолжительность, ч.; SD)	Вялость (продолжительность, ч.; SD)	Атаксия (продолжительность, ч.; SD)	NOAEL/NOEL

[SEQ ID NO. 13]; (n=6)					
Наивысшая доза с уровнем, не дающим наблюдаемого эффекта или бледности (NOEL)	0,003	Не наблюдается	Не наблюдается	Не наблюдается	100
Наивысшая доза с уровнем воздействия, при котором не наблюдается вредный эффект (NOAEL), без вялости	0,3	Наблюдается (6,07 ± 0,08)	Не наблюдается	Не наблюдается	
Легкий побочный эффект (при самой низкой дозе сначала наблюдалась вялость)	0,5	Наблюдается (6,23 ± 0,06)	Наблюдается (0,95±0,23)	Не наблюдается	
Выраженный побочный эффект (при самой низкой дозе сначала наблюдалась атаксия)	5,0	Наблюдается (>5,6*)	Наблюдается (2,65 ±0,45)	Наблюдается (0,74 ± 0,16)	
Мра-Тур-Phe- Hgn-Asn-Cys- Pro-Lys(X) _a -Gly-	Доза мг/кг S.C.	Бледность (Продолжительность, ч.; SD)	Вялость (продолжительность, ч.;	Атаксия (продолжительность, ч.;	NOAEL/NO EL

NH ₂ ; (X) _a =(Gly) ₇ [SEQ ID NO. 14]; (n=3)			SD)	SD)	
Наивысшая доза с уровнем, не дающим наблюдаемого эффекта или бледности (NOEL)	0,0015	Не наблюдается	Не наблюдается	Не наблюдается	100
Наивысшая доза с уровнем воздействия, при котором не наблюдается вредный эффект (NOAEL), без вялости	0,15	Наблюдается (5,86 ± 0,13)	Не наблюдается	Не наблюдается	
Легкий побочный эффект (при самой низкой дозе сначала наблюдалась вялость)	0,5	Наблюдается (>6,39)*	Наблюдается (0,80 ± 0,14)	Не наблюдается	
Выраженный побочный эффект (при самой низкой дозе сначала наблюдалась атаксия)	1,5	Наблюдается (>6,44)*	Наблюдается (1,27 ± 0,02)	Наблюдается (0,26 ± 0,23)	
Мра-Тур-Phe- Hgn-Asn-Cys-	Доза мг/кг	Бледность (Продолжител	Вялость (продолжите	Атаксия (продолжите	NOAEL/NO EL

Pro-Lys(X) _a -Gly-NH ₂ ; (X) _a =(Gly) ₈ [SEQ ID NO. 15]; (n=3)	S.C.	бленность, ч.; SD)	бленность, ч.; SD)	бленность, ч.; SD)	
Наивысшая доза с уровнем, не дающим наблюдаемого эффекта или бледности (NOEL)	0,0015	Не наблюдается	Не наблюдается	Не наблюдается	100
Наивысшая доза с уровнем воздействия, при котором не наблюдается вредный эффект (NOAEL), без вялости	0,15	Наблюдается (5,68 ± 0,06)	Не наблюдается	Не наблюдается	
Легкий побочный эффект (при самой низкой дозе сначала наблюдалась вялость)	0,5	Наблюдается (>6,17)*	Наблюдается (0,60 ± 0,10)	Не наблюдается	
Выраженный побочный эффект (при самой низкой дозе сначала наблюдалась атаксия)	1,5	Наблюдается (>6,19)*	Наблюдается (1,17 ± 0,08)	Наблюдается (0,22 ± 0,06)	
Мра-Туг-Phe-	Доза	Бленность	Вялость	Атаксия	NOAEL/NO

Hgn-Asn-Cys-Pro-Lys(X) _a -Gly-NH ₂ ; (X) _a =(Gly) ₉ [SEQ ID NO. 16]; (n=3)	мг/кг S.C.	(Продолжительность, ч.; SD)	(продолжительность, ч.; SD)	(продолжительность, ч.; SD)	EL
Наивысшая доза с уровнем, не дающим наблюдаемого эффекта или бледности (NOEL)	0,005	Не наблюдается	Не наблюдается	Не наблюдается	100
Наивысшая доза с уровнем воздействия, при котором не наблюдается вредный эффект (NOAEL), без вялости	0,5	Наблюдается (7,14 ± 0,11)	Не наблюдается	Не наблюдается	
Легкий побочный эффект (при самой низкой дозе сначала наблюдалась вялость)	1,5	Наблюдается (>6,14)*	Наблюдается (0,72±0,10)	Не наблюдается	
Выраженный побочный эффект (при самой низкой дозе сначала наблюдалась атаксия)	5,0	Наблюдается (>6,99)*	Наблюдается (1,39 ± 0,21)	Наблюдается (0,42 ± 0,19)	

Mpa-Tyr-Phe-Hgn-Asn-Cys-Pro-Lys(X) _a -Gly-NH ₂ [SEQ ID NO. 28]; (X) _a =Ac или ацетил; (n=3)	Доза мг/кг S.C.	Бледность (Продолжительность, ч.; SD)	Вялость (продолжительность, ч.; SD)	Атаксия (продолжительность, ч.; SD)	NOAEL/NOEL
Наивысшая доза с уровнем, не дающим наблюдаемого эффекта или бледности (NOEL)	0,1	Не наблюдается	Не наблюдается	Не наблюдается	3
Наивысшая доза с уровнем воздействия, при котором не наблюдается вредный эффект (NOAEL), без вялости	0,33	Наблюдается (2,83 ± 0,08)	Не наблюдается	Не наблюдается	
Легкий побочный эффект (при самой низкой дозе сначала наблюдалась вялость)	1	Наблюдается (4,83 ± 0,06)	Наблюдается (0,29 ± 0,18)	Нет данных	
Выраженный побочный эффект (при самой низкой дозе сначала наблюдалась атаксия)	3	Наблюдается (>6,64)*	Наблюдается (2,42 ± 0)	Наблюдается (0,19 ± 0,05)	

Мра-Тур-Phe- Hgn-Asn-Cys- Pro-D-Lys-Gly- NH ₂ [SEQ ID NO. 18]; (n=3)	Доза мг/кг S.C.	Бледность (Продолжитель- ность, ч.; SD)	Вялость (продолжите льность, ч.; SD)	Атаксия (продолжите льность, ч.; SD)	NOAEL/NO EL
Наивысшая доза с уровнем, не дающим наблюдаемого эффекта или бледности (NOEL)	0,005	Не наблюдается	Не наблюдается	Не наблюдается	30
Наивысшая доза с уровнем воздействия, при котором не наблюдается вредный эффект (NOAEL), без вялости	0,15	Наблюдается (5,38 ± 0,79)	Не Наблюдаетс я	Не наблюдается	
Легкий побочный эффект (при самой низкой дозе сначала наблюдалась вялость)	0,5	Наблюдается (>5,84)*	Наблюдаетс я (0,29 ± 0,05)	Не наблюдается	
Выраженный побочный эффект (при самой низкой дозе сначала наблюдалась атаксия)	1,5	Наблюдается (>6,17)*	Наблюдаетс я (2,11 ± 0,03)	Наблюдается (0,14 ± 0,04)	

Мра-Тур-Phe- Hgn-Asn-Cys- Pro-Dap-Gly- NH ₂ (дисульфидная связь) [SEQ ID NO. 17]; (n=3)	Доза мг/кг S.C.	Бледность (Продолжитель- ность, ч.; SD)	Вялость (продолжите льность, ч.; SD)	Атаксия (продолжите льность, ч.; SD)	NOAEL/NO EL
Наивысшая доза с уровнем, не дающим наблюдаемого эффекта или бледности (NOEL)	0,014	Не наблюдается	Не наблюдается	Не наблюдается	34
Наивысшая доза с уровнем воздействия, при котором не наблюдается вредный эффект (NOAEL), без вялости	0,478	Наблюдается (6,11 ± 0,07)	Не наблюдается	Не наблюдается	
Легкий побочный эффект (при самой низкой дозе сначала наблюдалась вялость)	4,78	Наблюдается (>5,92)*	Наблюдаетс я (0,68 ± 0,10)	Не наблюдается	
Выраженный побочный эффект (при самой низкой дозе сначала	>9,95	Наблюдается (>6,18)*	Наблюдаетс я (1,73 ± 0)	Не сделано	

наблюдалась атаксия)					
Мра-Тур-Phe- Hgn-Asn-Cys- Pro-Orn-Gly- NH ₂ (дисульфид ная связь) [SEQ ID NO. 30]; (n=3)	Доза мг/кг S.C.	Бледность (Продолжитель ность, ч.; SD)	Вялость (продолжите льность, ч.; SD)	Атаксия (продолжите льность, ч.; SD)	NOAEL/NO EL
Наивысшая доза с уровнем, не дающим наблюдаемого эффекта или бледности (NOEL)	0,0005	Не наблюдается	Не наблюдается	Не наблюдается	Между 10 и 30 (Только 12 минутная вялость при 30-кратной дозе)
Наивысшая доза с уровнем воздействия, при котором не наблюдается вредный эффект (NOAEL), без вялости	0,005	Наблюдается (5,91 ± 0,08)	Не наблюдается	Не наблюдается	
Легкий побочный эффект (при самой низкой дозе сначала наблюдалась вялость)	0,015	Наблюдается (>4,82)*	Наблюдаетс я (0,19 ± 0,05)	Не наблюдается	
Выраженный побочный эффект (при	0,044	Наблюдается (>4,68)*	Наблюдаетс я (0,78 ± 0,08)	Наблюдается (0,26 ± 0,02)	

самой низкой дозе сначала наблюдалась атаксия)					
Мра-Тур-Phe-Hgn-Asn-Cys-Pro-Dab-Gly-NH ₂ (дисульфидная связь [SEQ ID NO. 31]; (n=3)	Доза мг/кг S.C.	Бледность (Продолжительность, ч.; SD)	Вялость (продолжительность, ч.; SD)	Атаксия (продолжительность, ч.; SD)	NOAEL/NOEL
Наивысшая доза с уровнем, не дающим наблюдаемого эффекта или бледности (NOEL)	0,0005	Не наблюдается	Не наблюдается	Не наблюдается	Между 10 и 30 (Только 12 минутная вялость при 30-кратной дозе)
Наивысшая доза с уровнем воздействия, при котором не наблюдается вредный эффект (NOAEL), без вялости	0,005	Наблюдается (>5,87)*	Не наблюдается	Не наблюдается	
Легкий побочный эффект (при самой низкой дозе сначала наблюдалась вялость)	0,015	Наблюдается (>4,57)*	Наблюдается (0,20 ± 0,08)	Не наблюдается	
Выраженный	0,045	Наблюдается		Наблюдается	

побочный эффект (при самой низкой дозе сначала наблюдалась атаксия)		(>4,39)*	Наблюдается (1,30 ± 0,03)	(0,36 ± 0,08)	
Мра-Тур-Phe-Hgn-Asn-Cys-Pro-Lys(X) _a -Gly-NH ₂ ; (X) _a =Ac или ацетил [SEQ ID NO. 28]; (n=3)	Доза мг/кг S.C.	Бледность (Продолжительность, ч.; SD)	Вялость (продолжительность, ч.; SD)	Атаксия (продолжительность, ч.; SD)	NOAEL/NOEL
Наивысшая доза с уровнем, не дающим наблюдаемого эффекта или бледности (NOEL)	0,1	Не наблюдается	Не наблюдается	Не наблюдается	
Наивысшая доза с уровнем воздействия, при котором не наблюдается вредный эффект (NOAEL), без вялости	0,33	Наблюдается (2,83 ± 0,08)	Не наблюдается	Не наблюдается	3
Легкий побочный эффект (при самой низкой дозе сначала наблюдалась вялость)	1	Наблюдается (4,83 ± 0,06)	Наблюдается (0,29 ± 0,18)	Нет данных	

Выраженный побочный эффект (при самой низкой дозе сначала наблюдалась атаксия)	3	Наблюдается (>6,64)*	Наблюдается (2,42 ± 0)	Наблюдается (0,19 ± 0,05)	
Мра-Тур-Phe-Hgn-Asn-Cys-Pro-Lys(X) _a -Gly-NH ₂ ; (X) _a =лауриновая кислота [SEQ ID NO. 27]; (n=3)	Доза мг/кг S.C.	Бледность (Продолжительность, ч.; SD)	Вялость (продолжительность, ч.; SD)	Атаксия (продолжительность, ч.; SD)	NOAEL/NOEL
Наивысшая доза с уровнем, не дающим наблюдаемого эффекта или бледности (NOEL)	0,1	Не наблюдается	Не наблюдается	Не наблюдается	90 (слишком высокая доза означает низкую эффективность)
Наивысшая доза с уровнем воздействия, при котором не наблюдается вредный эффект (NOAEL), без вялости	9	Наблюдается (<4,25)*	Не наблюдается	Не наблюдается	
Легкий побочный эффект (при самой низкой	>9	Не сделано	Не сделано	Не сделано	

дозе сначала наблюдалась вялость)					
Выраженный побочный эффект (при самой низкой дозе сначала наблюдалась атаксия)	>9	Не сделано	Не сделано	Не сделано	
Мра-Тур-Phe- Hgn-Asn-Cys- Pro-Lys(12- аминододеканов ая кислота)-Gly- NH2 [SEQ ID NO. 19]; (n=3)	Доза мг/кг S.C.	Бледность (Продолжител ьность, ч.; SD)	Вялость (продолжите льность, ч.; SD)	Атаксия (продолжите льность, ч.; SD)	NOAEL/NO EL
Наивысшая доза с уровнем, не дающим наблюдаемого эффекта или бледности (NOEL)	0,014	Не наблюдается	Не наблюдается	Не наблюдается	649 (Слишком высокая
Наивысшая доза с уровнем воздействия, при котором не наблюдается вредный эффект (NOAEL), без вялости	9,08	Наблюдается (>5,83)*	Не наблюдается	Не наблюдается	доза означает низкую эффективно сть)
Легкий	>9,08	Не сделано	Не сделано	Не сделано	

побочный эффект (при самой низкой дозе сначала наблюдалась вялость)					
Выраженный побочный эффект (при самой низкой дозе сначала наблюдалась атаксия)	>9,08	Не сделано	Не сделано	Не сделано	
Мра-Тур-Phe-Gln-Asn-Cys-Pro-Lys-Gly-NH ₂ [SEQ ID NO. 32];(n=3)	Доза мг/кг S.C.	Бледность (Продолжительность, ч.; SD)	Вялость (продолжительность, ч.; SD)	Атаксия (продолжительность, ч.; SD)	NOAEL/NOEL
Наивысшая доза с уровнем, не дающим наблюдаемого эффекта или бледности (NOEL)	0,0005	Не наблюдается	Не наблюдается	Не наблюдается	20
Наивысшая доза с уровнем воздействия, при котором не наблюдается вредный эффект или вялость (NOAEL)	0,01	Наблюдается (3,54±0,11)	Не наблюдается	Не наблюдается	
Легкий	0,03	Наблюдается	Наблюдается	Не	

побочный эффект (при самой низкой дозе сначала наблюдалась вялость)		(4,45±0,26)	я (0,37±0,08)	наблюдается	
Выраженный побочный эффект (при самой низкой дозе сначала наблюдалась атаксия)	0,1	Наблюдается (4,79±0,08)	Наблюдается (0,33±0,07)	Наблюдается (0,22±0,02)	
Мра-Тур-Phe-Gln-Asn-Cys-Pro-Lys(X) _a -Gly-NH ₂ ; (X) _a =(Gly) ₆ [SEQ ID NO. 20]; (n=3)	Доза мг/кг S.C.	Бледность (Продолжительность, ч.; SD)	Вялость (продолжительность, ч.; SD)	Атаксия (продолжительность, ч.; SD)	NOAEL/NOEL
Наивысшая доза с уровнем, не дающим наблюдаемого эффекта или бледности (NOEL)	0,0015	Не наблюдается	Не наблюдается	Не наблюдается	
Наивысшая доза с уровнем воздействия, при котором не наблюдается вредный эффект (NOAEL), без вялости	0,15	Наблюдается (6,11±0,09)	Не наблюдается	Не наблюдается	100

Легкий побочный эффект (при самой низкой дозе сначала наблюдалась вялость)	0,5	Наблюдается ($>5,46$)*	Наблюдается ($0,27 \pm 0,06$)	Не наблюдается	
Выраженный побочный эффект (при самой низкой дозе сначала наблюдалась атаксия)	5,0	Наблюдается ($>6,76$)*	Наблюдается ($0,91 \pm 0,11$)	Наблюдается ($0,21 \pm 0,06$)	
Мра-Тур-Phe- Gln-Asn-Cys- Pro-Lys(X) _a -Gly- NH ₂ ; (X) _a =(Gly) ₉ [SEQ ID NO. 23]; (n=3)	Доза мг/кг S.C.	Бледность (Продолжитель- ность, ч.; SD)	Вялость (продолжите- льность, ч.; SD)	Атаксия (продолжите- льность, ч.; SD)	NOAEL/NO EL
Наивысшая доза с уровнем, не дающим наблюдаемого эффекта или бледности (NOEL)	0,0015	Не наблюдается	Не наблюдается	Не наблюдается	333
Наивысшая доза с уровнем воздействия, при котором не наблюдается вредный эффект (NOAEL), без	0,5	Наблюдается ($>5,09$)*	Не наблюдается	Не наблюдается	

вялости					
Легкий побочный эффект (при самой низкой дозе сначала наблюдалась вялость)	1,5	Наблюдается (6,23±0,05)	Наблюдается я (0,29±0,02)	Не наблюдается	
Выраженный побочный эффект (при самой низкой дозе сначала наблюдалась атаксия)	5,0	Наблюдается (>6,46)*	Наблюдается я (1,08±0,03)	Наблюдается (0,28±0,01)	

ПРИМЕР 8. Острая диуретическая активность комбинации пептида формулы (I) и толваптана при подкожной инъекции крысам линии Wistar (таблица 8).

Ссылка на таблицу 8. Данное исследование продемонстрировало, что через 4 и 8 часов комбинация антагониста V2, такого как толваптан (Tol), с пептидом формулы (I) (Mpa-YFhomoQNCPRK(GGGGGG)G-NH2 [SEQ ID NO. 13]; Mpa и C связаны дисульфидной связью; представлены в виде TA-1), введенная через 2 часа, продемонстрировала значительное повышение объема мочи по сравнению с группой среды-носителя, и комбинация продемонстрировала синергический/аддитивный эффект двух лекарственных средств. Введение доз лекарственных средств по отдельности и особенно введение доз толваптана первым было бы лучшим способом комбинирования пептида формулы (I) и толваптана в более низкой дозе, чем применяют или назначают в настоящее время, для достижения такой же или более высокой терапевтической эффективности. Такая более низкая терапевтическая доза толваптана снизит известный риск гепатотоксичности для многих пациентов.

Для данного исследования температуру в помещении для животных установили на уровне от 20 до 22°C. Реализовывали 14-часовой световой и 10-часовой цикл темноты, кроме тех случаев, когда он был прерван процедурами исследования. Примерно за 45 минут до испытания диуретических эффектов разных тестируемых образцов самцам крыс линии Wistar (~8 недель из лаборатории Charles River; n=4 в группе) вводили солевой раствор в дозе 20 мл/кг через желудочный зонд (PO) для нормализации содержания воды между животными. Следующие тестируемые образцы и комбинации вводили подкожно. Группа 1-среда-носитель (9% Tween 80); группа 2-TA-1 отдельно; группа 3-толваптан (Tol) отдельно; группа 4-TA-1 0,08 мг/кг+Tol 0,3 мг/кг вводили вместе; группа 5-TA-1 0,08 мг/кг

в момент времени 0, затем Tol 0,3 мг/кг через 2 ч.; группа 6- Tol 0,3 мг/кг в момент времени 0, затем ТА-1 0,08 мг/кг через 2 ч. Мочу собирали и измеряли совокупный объем в разные моменты времени после введения дозы.

Таблица 8. Введение доз формулы 1, представленной ТА-1, после антагониста V2 (Tol) продемонстрировало диуретический синергизм при введении антагониста V2 первым.

Тестируемые образцы	4 ч. совокупно на 100 г веса тела (SEM)	8 ч. совокупно на 100 г веса тела (SEM)
Среда-носитель (9% Tween 80)	0,3 (0,1)	0,7 (0,1)
ТА-1 0,08 мг/кг отдельно	0,9 (0,2)	1,2 (0,2)
Tol 0,3 мг/кг отдельно	1,2 (0,3)	2,2 *(0,3)
ТА-1 0,08 мг/кг+Tol 0,3 мг/кг вместе	1,0 (0,2)	1,2 (0,2)
ТА-1 0,08 мг/кг+Tol 0,3 мг/кг через 2 ч.	1,1 (0,2)	1,3 (0,3)
Tol 0,3 мг/кг+ТА-1 0,08 мг/кг через 2 ч.	3,4 ****(0,7)	3,7 ****(0,7)

Статистический анализ проводили с помощью однофакторного ANOVA в GraphPad Prism 8 по сравнению с группой, получавшей среду-носитель (* P<0,05, ** P<0,01, *** P<0,001, **** P<0,0001).

ПРИМЕР 9. Телеметрическая оценка эффекта Mpa-YFhomoQNCPK(GGGGGG)G-NH2 [SEQ ID NO. 13] и терлипрессина на давление в портальной вене у крыс с лигированием желчных протоков.

Ссылаясь на таблицу 9, пептид формулы (I) (в дозе 12 мкг/кг) является более эффективным в обеспечении устойчивого снижения портального давления по сравнению с терлипрессином (в дозе 41 мкг/кг). Для данного исследования животных (крыс линии Sprague Dawley (весом 240-300 г после хирургического вмешательства из лаборатории Charles River) содержали при комнатной температуре (от 20 до 22°C) с 14-часовым световым циклом и 10-часовым циклом темноты, когда не выполнялись процедуры исследования. Эффективность снижения среднего давления в портальной вене (MPVP) пептидом формулы (I) (Mpa-YFhomoQNCPK(GGGGGG)G-NH2 [SEQ ID NO. 13]; Mpa и C связаны дисульфидной связью; представлены в виде ТА-1) по сравнению с терлипрессином у телеметрированных самцов с лигированием желчных протоков (BDL) и плацебо-хирургией. В день 1 исследования крысам делали операцию по лигированию желчных протоков и осуществляли телеметрию с помощью имплантации. Группе с BDL (n=4) наложили два ряда затянутых шелковых швов и перевязали их, чтобы закупорить желчный проток; в группе с плацебо-хирургией (n=3) швы были свободно перевязаны вокруг желчного протока, так что закупоривание не происходило. После восстановления после операции у всех крыс непрерывно контролировали давление в портальной вене с помощью телеметрии до 22-го дня. Носитель вводили подкожно на 14 день; пептид формулы (I) вводили в различных концентрациях подкожно на 15-19 и на 23 день;

терлипрессин вводили внутривенно болюсно в латеральную хвостовую вену на 20 и 21 день. Всем животным вводили дозу при ручном обездвиживании. Систолическое давление в портальной вене и диастолическое давление в портальной вене измеряли для расчета среднего давления в портальной вене (MPVP); MPVP анализировали путем усреднения 5-минутных интервалов в течение первых 4 часов после дозы и после этого усреднения 1-часовых интервалов после дозы до 24 часов. Нулевой момент времени (T0) рассчитывали с применением среднего значения за период от 45 минут до 15 минут до введения дозы.

Телеметрическая оценка Mpa-YFhomoQNCPK(GGGGGG)G-NH2 [SEQ ID NO. 13] и терлипрессина на давление в портальной вене у крыс с лигированием желчных протоков. Температуру в помещении для животных установили на уровне от 20 до 22°C. Реализовывали 14-часовой световой и 10-часовой цикл темноты, кроме тех случаев, когда он был прерван процедурами исследования. Эффективность оценивали путем оценки среднего давления в портальной вене (MPVP) при разных концентрациях соединения формулы 1 и терлипрессина у телеметрированных самцов крыс линии Sprague Dawley (весом 240-300 г после хирургического вмешательства из лаборатории Charles River) с лигированием желчных протоков (BDL) и плацебо-хирургией В день 1 исследования крысам делали операцию по лигированию желчных протоков и осуществляли телеметрию с помощью имплантации. Группе с BDL (n=4) наложили два ряда затянутых шелковых швов и перевязали их, чтобы закупорить желчный проток; в группе с плацебо-хирургией (n=3) швы были свободно перевязаны вокруг желчного протока, так что закупоривание не происходило. После восстановления после операции у всех крыс непрерывно контролировали давление в портальной вене с помощью телеметрии до 22-го дня. Носитель вводили подкожно на 14 день; соединение формулы 1 вводили в различных концентрациях подкожно на 15-19 и на 23 день; терлипрессин вводили внутривенно болюсно в латеральную хвостовую вену на 20 и 21 день. Всем животным вводили дозу при ручном обездвиживании. Систолическое давление в портальной вене и диастолическое давление в портальной вене измеряли для расчета среднего давления в портальной вене (MPVP); MPVP анализировали путем усреднения 5-минутных интервалов в течение первых 4 часов после дозы и после этого усреднения 1-часовых интервалов после дозы до 24 часов. Нулевой момент времени (T0) рассчитывали с применением среднего значения за период от 45 минут до 15 минут до введения дозы.

Таблица 9. Соединение формулы 1 (12 мкг/кг) является более эффективным в обеспечении устойчивого снижения портального давления по сравнению с терлипсином (41 мкг/кг)

Процентное снижение (%) среднего давления в портальной вене (MPVP) от исходного уровня BDL до обработки						
Тестируемые образцы	Концентрация (мкг/кг)	Время (ч.)				
		0	1	4	7	20
BDL, формула 1	12	0	5 (7,39)	-30,5	-10,5	-29,75

n=4				(7,12)	(14,79)	(5,0)
BDL, терлипрессин n=4	41	0	-23 (21,0)	11,3 (20,3)	10,8 (7,7)	7,3 (13,03)

Данные отображены в виде процентного изменения (SEM)

MPVP на 13 день. Портальное давление у животных с BDL=22,2 мм рт.ст. (SEM:6,45);
портальное давление животных с плацебо-хирургией=14,08 мм рт.ст. (SEM:1,51)

Пример 10. Анализы на связывание/активность в отношении различных рецепторов и/или мишеней для оценки специфичности и безопасности.

Анализ ингибирования связывания рецептора, поглощающей активности каналов и активности ферментов (Safetyscreen87) проводили на платной основе в лаборатории Eurofins Serap SA (Франция) с различными условиями, подходящими для каждого рецептора/фермента/канала. В каждом эксперименте и, если применимо, соответствующее эталонное соединение тестировали одновременно с тестируемыми соединениями, и данные сравнивали с ранее зафиксированными значениями, определенными в Eurofins. Эксперимент принимали в соответствии со стандартной операционной процедурой валидации Eurofins. Каждое тестируемое соединение тестировали в двух повторностях и указывали среднее значение. Связывание соединения рассчитывали в виде % ингибирования связывания радиоактивно меченого лиганда, специфичного для каждой мишени. Эффект ингибирования фермента соединением рассчитывали в виде % ингибирования активности контрольного фермента (результат для каждого рецептора здесь не показан). Считается, что результаты, демонстрирующие ингибирование или стимуляцию более 50%, отражают значительные эффекты тестируемых соединений. Пятьдесят процентов является наиболее распространенным пороговым значением и любые тестируемые образцы, которые не превышают 50% порога в любом из 87 нецелевых белков, которые имеют решающее значение для безопасности лекарственного средства, считаются безопасными.

В целом, для анализа конкурентного связывания гомогенаты клеточных мембран получали из подходящих клеточных линий. Меченый радиоактивным изотопом лиганд добавляли к гомогенату в отсутствие или в присутствии тестируемых соединений (10 мкМ) и инкубировали в течение подходящего периода времени при подходящей температуре. Неспецифическое связывание определяли с подходящим контролем. После инкубации образцы быстро фильтровали под вакуумом через фильтры из стекловолокна (Perkin Elmer; Уолтем, Массачусетс) и несколько раз промывали ледяным буфером с применением харвестера клеток на 96 образцов (Perkin Elmer; Уолтем, Массачусетс). Фильтры сушат, затем подсчитывают радиоактивность в сцинтилляционном счетчике с применением сцинтилляционной смеси (Perkin Elmer; Уолтем, Массачусетс). Результаты выражены в процентах ингибирования специфического связывания контрольного радиолиганда.

Для анализа фермента и поглощения тестируемые соединения (10 мкМ), эталонное соединение или воду (в качестве контроля) смешивают с ферментом в буфере. Реакцию инициируют добавлением подходящих растворов субстрата, затем смесь инкубировали в течение подходящей для соединения продолжительности при подходящей температуре. Флуоресценцию (связанную активностью с фермента) измеряли с применением микропланшет-ридера (Envision, Perkin Elmer; Уолтем, Массачусетс). В то же время готовили идентичный планшет без фермента для проверки фоновой флуоресценции или интерференции соединения с помощью способа флуорометрического обнаружения при соответствующих длинах волн. Активность фермента определяют путем вычитания сигнала, измеренного без фермента, из сигнала, измеренного с ферментом. Результаты выражены в процентах ингибирования активности контрольного фермента.

Пептиды формулы (I), где (X)_a представляет собой (Gly)₀₋₉ продемонстрировали профиль безопасности, подобный лизин-вазопрессину (LVP) при применении 10 мкМ, что в 280 раз выше, чем прогнозируемый максимальный уровень в плазме (50 нг/мл) для терапевтической эффективности в отношении связанных рецепторов. Как и ожидалось, пептиды формулы (I) не продемонстрировал значительных эффектов (>50% ингибирование будет значительным) на такие рецепторы, за исключением рецептора V1a. Список панелей Safetyscreens⁸⁷ включает: mGluR5 (h) (радиолиганд агониста), транспортер 5-НТ (h) (радиолиганд антагониста), 5-НТ1А (h) (радиолиганд агониста), 5-НТ1В (h) (радиолиганд антагониста), 5-НТ2А (h) (радиолиганд агониста), 5-НТ2В (h) (радиолиганд агониста), 5-НТ2С (h) (радиолиганд антагониста), 5-НТ3 (h) (радиолиганд антагониста), А1 (h) (радиолиганд антагониста), А2А (h) (радиолиганд агониста), АСЕ (h), ацетилхолинэстеразу (h), транспортер аденозина (радиолиганд антагониста), альфа 1А (h) (радиолиганд антагониста), альфа 1В (h) (радиолиганд антагониста), альфа 1D (h) (радиолиганд антагониста), альфа 2А (h) (радиолиганд антагониста), альфа 2В (h) (радиолиганд антагониста), АМРА (радиолиганд агониста), AR(h) (радиолиганд агониста), АТ1 (h) (радиолиганд антагониста), АТФазу (Na⁺/K⁺), В2 (h) (радиолиганд агониста), бета 1 (h) (радиолиганд агониста), бета 2 (h) (радиолиганд антагониста), ВZD (центральный) (радиолиганд агониста), канал Ca²⁺, (L, дигидропиридиновый сайт) (радиолиганд антагониста), канал Ca²⁺ (L, дилтиаземовый сайт) (бензотиазепины) (радиолиганд антагониста), канал Ca²⁺ (L, верапамиловый сайт) (фенилалкиламин) (радиолиганд антагониста), канал Ca²⁺ (N) (радиолиганд антагониста), катепсин G (h), СВ1 (h) (радиолиганд агониста), СВ2 (h) (радиолиганд агониста), ССК1 (ССКА) (h) (радиолиганд агониста), ССК2 (ССКВ) (h) (радиолиганд агониста), ССР1 (h) (радиолиганд агониста), канал Cl⁻ (GABA-гейтированный) (ТВОВ сайт) (радиолиганд антагониста), СОХ1(h), СОХ2(h), СХСР2 (IL-8В) (h) (радиолиганд агониста), CysLT1 (LTD4) (h) (радиолиганд агониста), D1 (h) (радиолиганд антагониста), D2L (h) (радиолиганд антагониста), D2S (h) (радиолиганд агониста), дельта (DOP) (h) (радиолиганд агониста), переносчик допамина (h) (радиолиганд антагониста), эстроген ER альфа (h) (радиолиганд агониста), ЕТА (h) (радиолиганд агониста), переносчик GABA (радиолиганд антагониста), GABAА1 (h) (альфа

1, бета 2, гамма 2) (радиолиганд агониста), глицин (не чувствительный к стрихнину) (радиолиганд антагониста), глицин (чувствительный к стрихнину) (радиолиганд антагониста), GR (h) (радиолиганд агониста), H1 (h) (радиолиганд антагониста), H2 (h) (радиолиганд антагониста), IRK (h) (InsR), каинат (радиолиганд агониста), каппа (h) (КОР) (радиолиганд агониста), KV-канал (радиолиганд антагониста), Lck киназа (h), M1 (h) (радиолиганд антагониста), M2 (h) (радиолиганд антагониста), M3 (h) (радиолиганд антагониста), M4 (h) (радиолиганд антагониста), MAO-A (радиолиганд антагониста), рекомбинантный фермент MAO-B (h), MC1 (радиолиганд агониста), MC4 (h) (радиолиганд агониста), mu (MOP) (h) (радиолиганд агониста), N мышечного типа (h) (радиолиганд антагониста), нейронный N-рецептор альфа-4-бета 2 (h) (радиолиганд агониста), Na⁺ канал (сайт 2) (радиолиганд антагониста), NK1 (h) (радиолиганд агониста), NMDA (радиолиганд антагониста), переносчик норэпинефрина (h) (радиолиганд антагониста), PAF (h) (радиолиганд агониста), PCP (радиолиганд антагониста), PDE3A (h), PDE4D2 (h), PKC-альфа (h), калиевый канал hERG (человека)- [3H] дофетилид, PPAR-гамма (h) (радиолиганд агониста), PR (h) (радиолиганд агониста), RAR-альфа (h) (радиолиганд агониста), V1a (h) (радиолиганд агониста) и Y1 (h) (радиолиганд агониста).

В качестве примера и без ограничения варианты осуществления раскрыты в соответствии со следующими пронумерованными пунктами.

A1. Композиция, содержащая

пептид, являющийся частичным агонистом V1a, формулы (A),
[Mpa-Tyr-Phe-Z-Asn-Cys-Pro-B(X)_a-Gly-NH₂] [SEQ ID NOS. 1-2]
(A),

или его фармацевтически эффективную соль,

где

остатки Mpa и Cys ковалентно связаны дисульфидной связью,

Z представляет собой Hgn или Gln;

при этом, если Z представляет собой Hgn [SEQ ID NO. 1],

B представляет собой любой из L-Lys, D-Lys, L-Orn, D-Orn, L-Dab, D-Dab, L-Dap или D-Dap, и

X представляет собой аминокислотный остаток, при этом аминокислотный остаток в каждом случае независимо выбран из Gly, L-Ala, D-Ala, L-Lys, D-Lys, L-Orn, D-Orn, L-Glu, D-Glu, L-Asp и D-Asp, и a представляет собой целое число от 0 до 10 (*например*, от 0 до 1, от 1 до 2, от 1 до 3, от 1 до 10, от 1 до 6, от 4 до 10 или от 6 до 10), или

X представляет собой фрагмент, полученный из C₃₋₁₂жирной кислоты (*например*, C₃₋₆, C₃₋₁₀, C₄₋₁₂, C₄₋₆, C₄₋₁₀, C₆₋₁₀, C₈₋₁₀ или C₁₀₋₁₂жирной кислоты), содержащей первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, и a представляет собой целое число от 1 до 3;

при этом, если Z представляет собой Gln [SEQ ID NO. 2],

B представляет собой любой из L-Lys, D-Lys, L-Orn, D-Orn, L-Dab, D-Dab, L-Dap или D-Dap, и

X представляет собой аминокислотный остаток, при этом аминокислотный остаток в каждом случае независимо выбран из Gly, L-Ala, D-Ala, L-Lys, D-Lys, L-Orn, D-Orn, L-Glu, D-Glu, L-Asp и D-Asp, и а представляет собой целое число от 6 до 10, или

X представляет собой фрагмент, полученный из C₃₋₁₂жирной кислоты (*например*, C₃₋₆, C₃₋₁₀, C₄₋₁₂, C₄₋₆, C₄₋₁₀, C₆₋₁₀, C₈₋₁₀ или C₁₀₋₁₂жирной кислоты), содержащей первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, и а представляет собой целое число от 1 до 3; и

где композиция характеризуется терапевтическим индексом, составляющим по меньшей мере 20 (*например*, по меньшей мере 30, по меньшей мере 40, по меньшей мере 50, по меньшей мере 60, по меньшей мере 70, по меньшей мере 80, по меньшей мере 90 или по меньшей мере 100).

A2. Композиция по пункту A1, где Z представляет собой Hgn и B представляет собой Lys.

A3. Композиция по пункту A1 или п. A2, где Z представляет собой Hgn, X представляет собой Gly, и а равняется 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10.

A4. Композиция по любому из предыдущих пунктов, где Z представляет собой Hgn, X представляет собой Gly, и а равняется 6, 7, 8, 9 или 10.

A5. Композиция по пункту A1, где Z представляет собой Gln, и B представляет собой L-Lys.

A6. Композиция по пунктам A1 или A5, где Z представляет собой Gln, B представляет собой L-Lys, X представляет собой Gly, и а равняется 6, 7, 8, 9 или 10.

A7. Композиция по пункту A1, где Z представляет собой Hgn, и B представляет собой D-Lys.

A8. Композиция по пункту A1, где Z представляет собой Hgn, и B представляет собой L-Orn.

A9. Композиция по пункту A1, где Z представляет собой Hgn, и B представляет собой D-Orn.

A10. Композиция по пункту A1, где Z представляет собой Hgn, и B представляет собой L-Dab.

A11. Композиция по пункту A1, где Z представляет собой Hgn, и B представляет собой D-Dab.

A12. Композиция по пункту A1, где Z представляет собой Hgn, и B представляет собой L-Dap.

A13. Композиция по пункту A1, где Z представляет собой Hgn, и B представляет собой D-Dap.

A14. Композиция по любому из предыдущих пунктов, дополнительно содержащая фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество,

где фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество необязательно содержит буфер, проявляющий буферное действие в диапазоне рН от 3,5 до 6,5, и

где буфер необязательно выбран из ацетатного буфера, цитратного буфера,

сукцинатного буфера, гистидинового буфера или любой их комбинации.

A15. Способ лечения субъекта, включающий

введение субъекту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективной дозы композиции по любому из предыдущих пунктов,

где у субъекта имеется состояние, выбранное из фиброза печени, цирроза, портальной гипертензии, асцита, варикозного расширения вен пищевода, варикозного расширения вен фундального отдела желудка, кровотечения, артериальной гипотензии, гепаторенального синдрома и любой их комбинации, или

где у субъекта имеется фиброз печени; или

где у субъекта имеется цирроз; или

где у субъекта имеется портальная гипертензия; или

где у субъекта имеется асцит; или

где у субъекта имеется рефрактерный асцит; или

где у субъекта имеется варикозное расширение вен пищевода; или

где у субъекта имеется варикозное расширение вен желудка в фундальном отделе;

или

где у субъекта имеется варикозное расширение вен с кровотечением; или

где у субъекта имеется артериальная гипотензия; или

где у субъекта имеется гепаторенальный синдром.

A16. Способ по пункту A15, включающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективной дозы композиции по любому из пунктов A2-A6.

A17. Способ по пункту A15, где Z представляет собой Hgn, B представляет собой L-Lys, и X представляет собой Gly.

A18. Способ по пункту A17, где a равняется b.

A19. Способ по пункту A15, где Z представляет собой Gln, и B представляет собой L-Lys.

A20. Способ по любому из пунктов A15-A19, где у субъекта имеется цирроз и портальная гипертензия.

A21. Способ по любому из пунктов A15-A20, где у субъекта имеется портальная гипертензия, характеризующаяся градиентом печеночного венозного давления 5 мм рт. ст. и больше.

A22. Способ по любому из пунктов A15-A21, где у субъекта имеется клинически значимая портальная гипертензия, характеризующаяся градиентом печеночного венозного давления 10 мм рт. ст. и больше.

A23. Способ по любому из пунктов A15-A22, где у субъекта имеется асцит.

A24. Способ по любому из пунктов A15-A23, где у субъекта имеется рефрактерный асцит.

A25. Способ по любому из пунктов A15-A24, где у субъекта имеется варикозное расширение вен.

A26. Способ по любому из пунктов A15-A25, где у субъекта имеется кровотечение

из варикозно расширенных вен.

A27. Способ по любому из пунктов A15-A26, где у субъекта среднее значение артериального давления составляет ниже 95 мм рт. ст. (*например*, ниже 90 мм рт. ст., ниже 85 мм рт. ст., ниже 80 мм рт. ст., ниже 75 мм рт. ст. или ниже 70 мм рт. ст.).

A28. Способ по любому из пунктов A15-A27, где способ введения включает парентеральное введение.

A29. Способ по любому из пунктов A15 - A28, где способ введения включает внутривенное введение.

A30. Способ по любому из пунктов A15-A28, где способ введения включает подкожное введение.

A31. Способ по любому из пунктов A15-A28, где способ введения включает медленную инфузию.

A32. Способ по любому из пунктов A15-A30, где способ введения включает болюсное введение.

A33. Способ по любому из пунктов A15-A30 и пункту A32, где способ введения включает введение три раза или меньше в день (*например*, введение один раз каждые 8 часов, введение один раз каждые 12 часов или введение один раз каждые 24 часа).

A34. Способ по пункту A33, где введение осуществляют только в дневное время с 6:00 до 18:00 (24-часовой формат) с частотой один раз каждые 4-6 часов, и где введение не осуществляют в ночное время с 18:00 до 6:00 (24-часовой формат).

A35. Способ по любому из пунктов A15-A34, дополнительно включающий введение антагониста V2.

A36. Способ по пункту A35, где антагонист V2 вводят в течение 1-8 часов, предпочтительно 1-3 часов, до введения частичного агониста V1a или после этого, предпочтительно до введения частичного агониста V1a.

A37. Способ лечения субъекта, включающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективной дозы фармацевтической композиции, содержащей пептид формулы (B), вводимой в течение 1-8 часов, предпочтительно 1-3 часов, до введения терапевтически эффективной дозы антагониста V2 или после этого, предпочтительно после введения терапевтически эффективной дозы антагониста V2, где пептид формулы (B) представляет собой

пептид, являющийся агонистом V1a, формулы (B),

$[X'-\text{Tyr-Phe-Gln-Asn-Cys-Pro-Lys}(Z)_d\text{-Gly-NH}_2]$ [SEQ ID NOS. 3-4]

(B),

или его фармацевтически приемлемую соль,

где

X' представляет собой $(U)_c\text{-Cys}$ или Mpa ,

при этом, если X' представляет собой $(U)_c\text{-Cys}$, и $(Z)_d$ отсутствует [SEQ ID NO. 3],

2 остатка Cys ковалентно связаны дисульфидной связью;

U представляет собой аминокислотный остаток и в каждом случае независимо

выбран из Gly, L-Ala, D-Ala, L-Lys, D-Lys, L-Orn, D-Orn, L-Glu, D-Glu, L-Asp и D-Asp, и с представляет собой целое число от 0 до 10; и

при этом, если X' представляет собой Mpa [SEQ ID NO. 4],

остатки Mpa и Cys ковалентно связаны дисульфидной связью,

Z представляет собой аминокислотный остаток и в каждом случае независимо выбран из Gly, D-Ala, L-Ala, D-Lys, L-Lys, D-Orn, L-Orn, D-Glu, L-Glu, D-Asp и L-Asp, и d представляет собой целое число от 0 до 5,

где у субъекта имеется состояние, выбранное из фиброза печени, цирроза, портальной гипертензии, асцита, варикозного расширения вен пищевода, варикозного расширения вен фундального отдела желудка, кровотечения, артериальной гипотензии, гепаторенального синдрома и любой их комбинации; или

где у субъекта имеется фиброз печени; или

где у субъекта имеется цирроз; или

где у субъекта имеется портальная гипертензия; или

где у субъекта имеется варикозное расширение вен пищевода; или

где у субъекта имеется варикозное расширение вен фундального отдела желудка;

или

где у субъекта имеется варикозное расширение вен с кровотечением; или

где у субъекта имеется артериальная гипотензия; или

где у субъекта имеется гепаторенальный синдром.

A38. Способ по пункту A37, где пептид, являющийся агонистом V1a, формулы (B) представляет собой пептид, являющийся агонистом V1a, формулы (III),

$[(U)_c\text{-Cys-Tyr-Phe-Gln-Asn-Cys-Pro-Lys-Gly-NH}_2]$ [SEQ ID NO. 7]

(III),

или его фармацевтически эффективную соль,

где

2 остатка Cys ковалентно связаны дисульфидной связью,

U представляет собой аминокислотный остаток и в каждом случае независимо выбран из Gly, L-Ala, D-Ala, L-Lys, D-Lys, L-Orn, D-Orn, L-Glu, D-Glu, L-Asp и D-Asp, и с представляет собой целое число от 0 до 10.

A39. Способ по пункту A37, где пептид, являющийся агонистом V1a, формулы (B) представляет собой пептид, являющийся агонистом V1a, формулы (IV),

$[Mpa\text{-Tyr-Phe-Gln-Asn-Cys-Pro-Lys}(Z)_d\text{-Gly-NH}_2]$ [SEQ ID NO. 4]

(IV),

или его фармацевтически эффективную соль,

где

остатки Mpa и Cys ковалентно связаны дисульфидной связью,

Z представляет собой аминокислотный остаток и в каждом случае независимо выбран из Gly, D-Ala, L-Ala, D-Lys, L-Lys, D-Orn, L-Orn, D-Glu, L-Glu, D-Asp и L-Asp, и d представляет собой целое число от 0 до 5.

A40. Способ по любому из пунктов A35-A39, где антагонист V2 предусматривает мозаваптан, толваптан, сложный эфир толваптана, сатаваптан, ликсиваптан, кониваптан, RWJ-351647, VP-343, VP-393, [PmP1, D-Ile2, Ile4, Arg8, Ala9]-вазопрессин, [PmP1, D-Ile2, Ile4, Arg8]-вазопрессин, [PmP1, D-Ile2, Ile4, Arg8, Ala9]-вазопрессин-(1-8)-ОН или любую их комбинацию.

A41. Способ по любому из пунктов A35-A40, где антагонистом V2 является толваптан, необязательно вводимый парентерально в дозе от 1 мкг/кг до 300 мкг/кг (*например*, от 1 мкг/кг до 200 мкг/кг или от 1 мкг/кг до 100 мкг/кг).

A42. Способ по любому из пунктов A35-A41, где субъектом является человек, и антагонистом V2 является толваптан, необязательно вводимый парентерально в дозе от 2 мг до 7 мг.

A43. Способ по любому из пункта A38 и пунктов A40-A42, где фармацевтическая композиция содержит пептид, являющийся агонистом V1a, формулы (III) или его фармацевтически приемлемую соль, где U представляет собой Gly и с равняется 3;

где антагонист V2 предусматривает толваптан; и

где весовое соотношение дозы пептида, являющегося агонистом V1a, и толваптана составляет от 1:6 до 1:2.

A44. Способ по любому из пунктов A15-A43, где частичный агонист V1a или агонист V1a вводят в дозе менее 150 нмоль/доза/кг (*например*, менее 140 нмоль/доза/кг, менее 130 нмоль/доза/кг, менее 120 нмоль/доза/кг, менее 110 нмоль/доза/кг, менее 100 нмоль/доза/кг, менее 90 нмоль/доза/кг, менее 80 нмоль/доза/кг, менее 70 нмоль/доза/кг или менее 50 нмоль/доза/кг).

Хотя иллюстративные варианты осуществления были проиллюстрированы и описаны, следует понимать, что в них могут быть внесены различные изменения без отступления от сущности и объема настоящего изобретения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

Варианты осуществления настоящего изобретения, в которых заявлены исключительное право собственности или преимущественное право, определены следующим образом:

1. Композиция, содержащая

пептид, являющийся частичным агонистом V1a, формулы (A),
[Mpa-Tyr-Phe-Z-Asn-Cys-Pro-B(X)_a-Gly-NH₂] [SEQ ID NO. 1-2]

(A),

или его фармацевтически эффективную соль,

где

остатки Mpa и Cys ковалентно связаны дисульфидной связью,

Z представляет собой Hgn или Gln;

при этом, если Z представляет собой Hgn [SEQ ID NO. 1],

B представляет собой любой из L-Lys, D-Lys, L-Orn, D-Orn, L-Dab, D-Dab, L-Dap или D-Dap, и

X представляет собой аминокислотный остаток, при этом аминокислотный остаток в каждом случае независимо выбран из Gly, L-Ala, D-Ala, L-Lys, D-Lys, L-Orn, D-Orn, L-Glu, D-Glu, L-Asp и D-Asp, и a представляет собой целое число от 0 до 10, или

X представляет собой фрагмент, полученный из C₃₋₁₂жирной кислоты, содержащей первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, и a представляет собой целое число от 1 до 3;

при этом, если Z представляет собой Gln [SEQ ID NO. 2],

B представляет собой любой из L-Lys, D-Lys, L-Orn, D-Orn, L-Dab, D-Dab, L-Dap или D-Dap, и

X представляет собой аминокислотный остаток, при этом аминокислотный остаток в каждом случае независимо выбран из Gly, L-Ala, D-Ala, L-Lys, D-Lys, L-Orn, D-Orn, L-Glu, D-Glu, L-Asp и D-Asp, и a представляет собой целое число от 6 до 10, или

X представляет собой фрагмент, полученный из C₃₋₁₂жирной кислоты, содержащей первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, и a представляет собой целое число от 1 до 3; и

где композиция характеризуется терапевтическим индексом, составляющим по меньшей мере 20.

2. Композиция по п. 1, где Z представляет собой Hgn, и B представляет собой Lys.

3. Композиция по п. 1, где Z представляет собой Hgn, X представляет собой Gly, и a равняется 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10.

4. Композиция по п. 3, где Z представляет собой Hgn, X представляет собой Gly, и a равняется 6, 7, 8, 9 или 10.

5. Композиция по п. 1, где Z представляет собой Gln, и B представляет собой L-Lys.

6. Композиция по п. 5, где Z представляет собой Gln, X представляет собой Gly, и a равняется 6, 7, 8, 9 или 10.

7. Композиция по п. 1, где Z представляет собой Hgn, и В представляет собой D-Lys.
8. Композиция по п. 1, где Z представляет собой Hgn, и В представляет собой L-Orn.
9. Композиция по п. 1, где Z представляет собой Hgn, и В представляет собой D-Orn.
10. Композиция по п. 1, где Z представляет собой Hgn, и В представляет собой L-Dab.
11. Композиция по п. 1, где Z представляет собой Hgn, и В представляет собой D-Dab.
12. Композиция по п. 1, где Z представляет собой Hgn, и В представляет собой L-Dap.
13. Композиция по п. 1, где Z представляет собой Hgn, и В представляет собой D-Dap.
14. Композиция по любому из предыдущих пунктов, дополнительно содержащая фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество,
 где фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество необязательно содержит буфер, проявляющий буферное действие в диапазоне рН от 3,5 до 6,5, и
 где буфер необязательно выбран из ацетатного буфера, цитратного буфера, сукцинатного буфера, гистидинового буфера или любой их комбинации.
15. Способ лечения субъекта, включающий
 введение субъекту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективной дозы композиции по любому из пп. 1-13,
 где у субъекта имеется состояние, выбранное из фиброза печени, цирроза, портальной гипертензии, асцита, варикозного расширения вен пищевода, варикозного расширения вен фундального отдела желудка, кровотечения, артериальной гипотензии, гепаторенального синдрома и любой их комбинации, или
 где у субъекта имеется фиброз печени; или
 где у субъекта имеется цирроз; или
 где у субъекта имеется портальная гипертензия; или
 где у субъекта имеется асцит; или
 где у субъекта имеется рефрактерный асцит; или
 где у субъекта имеется варикозное расширение вен пищевода; или
 где у субъекта имеется варикозное расширение вен желудка в фундальном отделе;
 или
 где у субъекта имеется варикозное расширение вен с кровотечением; или
 где у субъекта имеется артериальная гипотензия; или
 где у субъекта имеется гепаторенальный синдром.
16. Способ по п. 15, включающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективной дозы композиции по любому из пп. 2-6.
17. Способ по п. 15, где Z представляет собой Hgn, В представляет собой L-Lys, и X представляет собой Gly.
18. Способ по п. 17, где а равняется 6.

19. Способ по п. 15, где Z представляет собой Gln, и В представляет собой L-Lys.
20. Способ по любому из пп. 15-19, где у субъекта имеется цирроз и портальная гипертензия.
21. Способ по любому из пп. 15-20, где у субъекта имеется портальная гипертензия, характеризующаяся градиентом печеночного венозного давления 5 мм рт. ст. и больше.
22. Способ по любому из пп. 15-21, где у субъекта имеется клинически значимая портальная гипертензия, характеризующаяся градиентом печеночного венозного давления 10 мм рт. ст. и больше.
23. Способ по любому из пп. 15-22, где у субъекта имеется асцит.
24. Способ по любому из пп. 15-23, где у субъекта имеется рефрактерный асцит.
25. Способ по любому из пп. 15-24, где у субъекта имеется варикозное расширение вен.
26. Способ по любому из пп. 15-25, где у субъекта имеется кровотечение из варикозно расширенных вен.
27. Способ по любому из пп. 15-26, где у субъекта среднее значение артериального давления составляет ниже 95 мм рт. ст.
28. Способ по любому из пп. 15-27, где введение предусматривает парентеральное введение.
29. Способ по любому из пп. 15-28, где введение предусматривает внутривенное введение.
30. Способ по любому из пп. 15-28, где введение предусматривает подкожное введение.
31. Способ по любому из пп. 15-28, где введение предусматривает медленную инфузию.
32. Способ по любому из пп. 15-30, где введение предусматривает болюсное введение.
33. Способ по любому из пп. 15-30 и п. 32, где введение предусматривает частоту, составляющую три раза в день или меньше.
34. Способ по п. 33, где введение осуществляют только в дневное время с 6:00 до 18:00 с частотой один раз каждые 4-6 часов, и где введение не осуществляют в ночное время с 18:00 до 6:00.
35. Способ по любому из пп. 15-34, дополнительно включающий введение антагониста V2.
36. Способ по п. 35, где антагонист V2 вводят в течение 1-8 часов, предпочтительно 1-3 часов, до введения частичного агониста V1a или после этого, предпочтительно до введения частичного агониста V1a.
37. Способ лечения субъекта, включающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективной дозы фармацевтической композиции, содержащей пептид формулы (B), вводимой в течение 1-8 часов, предпочтительно 1-3 часов, до введения терапевтически эффективной дозы

антагониста V2 или после этого, предпочтительно после введения терапевтически эффективной дозы антагониста V2, где пептид формулы (B) представляет собой

пептид, являющийся агонистом V1a, формулы (B),
 $[X'-\text{Tyr-Phe-Gln-Asn-Cys-Pro-Lys}(Z)_d\text{-Gly-NH}_2]$ [SEQ ID NO. 3-4]
 (B),

или его фармацевтически приемлемую соль,
 где

X' представляет собой $(U)_c\text{-Cys}$ или Mpa,
 при этом, если X' представляет собой $(U)_c\text{-Cys}$, и $(Z)_d$ отсутствует [SEQ ID NO. 3],
 2 остатка Cys ковалентно связаны дисульфидной связью;

U представляет собой аминокислотный остаток и в каждом случае независимо выбран из Gly, L-Ala, D-Ala, L-Lys, D-Lys, L-Orn, D-Orn, L-Glu, D-Glu, L-Asp и D-Asp, и с представляет собой целое число от 0 до 10; и

при этом, если X' представляет собой Mpa [SEQ ID NO. 4],
 остатки Mpa и Cys ковалентно связаны дисульфидной связью,

Z представляет собой аминокислотный остаток и в каждом случае независимо выбран из Gly, D-Ala, L-Ala, D-Lys, L-Lys, D-Orn, L-Orn, D-Glu, L-Glu, D-Asp и L-Asp, и d представляет собой целое число от 0 до 5,

где у субъекта имеется состояние, выбранное из фиброза печени, цирроза, портальной гипертензии, асцита, варикозного расширения вен пищевода, варикозного расширения вен фундального отдела желудка, кровотечения, артериальной гипотензии, гепаторенального синдрома и любой их комбинации; или

где у субъекта имеется фиброз печени; или

где у субъекта имеется цирроз; или

где у субъекта имеется портальная гипертензия; или

где у субъекта имеется варикозное расширение вен пищевода; или

где у субъекта имеется варикозное расширение вен фундального отдела желудка;

или

где у субъекта имеется варикозное расширение вен с кровотечением; или

где у субъекта имеется артериальная гипотензия; или

где у субъекта имеется гепаторенальный синдром.

38. Способ по п. 37, где пептид, являющийся агонистом V1a, формулы (B) представляет собой пептид, являющийся агонистом V1a, формулы (III),

$[(U)_c\text{-Cys-Tyr-Phe-Gln-Asn-Cys-Pro-Lys-Gly-NH}_2]$ [SEQ ID NO. 7]
 (III),

или его фармацевтически эффективную соль,

где

2 остатка Cys ковалентно связаны дисульфидной связью,

U представляет собой аминокислотный остаток и в каждом случае независимо выбран из Gly, L-Ala, D-Ala, L-Lys, D-Lys, L-Orn, D-Orn, L-Glu, D-Glu, L-Asp и D-Asp, и

с представляет собой целое число от 0 до 10.

39. Способ по п. 37, где пептид, являющийся агонистом V1a, формулы (B) представляет собой пептид, являющийся агонистом V1a, формулы (IV), [Mpa-Tyr-Phe-Gln-Asn-Cys-Pro-Lys(Z)_d-Gly-NH₂] [SEQ ID NO. 4] (IV),

или его фармацевтически эффективную соль,

где

остатки Mpa и Cys ковалентно связаны дисульфидной связью,

Z представляет собой аминокислотный остаток и в каждом случае независимо выбран из Gly, D-Ala, L-Ala, D-Lys, L-Lys, D-Orn, L-Orn, D-Glu, L-Glu, D-Asp и L-Asp, и

d представляет собой целое число от 0 до 5.

40. Способ по любому из пп. 35-39, где антагонист V2 предусматривает мозаваптан, толваптан, сложный фосфатный эфир толваптана, сатаваптан, ликсиваптан, кониваптан, RWJ-351647, VP-343, VP-393, [PmP1, D-Ile2, Ile4, Arg8, Ala9]-вазопрессин, [PmP1, D-Ile2, Ile4, Arg8]-вазопрессин, [PmP1, D-Ile2, Ile4, Arg8, Ala9]-вазопрессин-(1-8)-ОН или любую их комбинацию.

41. Способ по любому из п. 35 или п. 40, где антагонистом V2 является толваптан, необязательно вводимый парентерально в дозе от 1 мкг/кг до 300 мкг/кг.

42. Способ по любому из пп. 35-41, где субъектом является человек, и антагонистом V2 является толваптан, необязательно вводимый парентерально в дозе от 2 мг до 7 мг.

43. Способ по любому из п. 38 и пп. 40-42, где фармацевтическая композиция содержит пептид, являющийся агонистом V1a, формулы (III) или его фармацевтически приемлемую соль, где U представляет собой Gly, и с равняется 3;

где антагонист V2 предусматривает толваптан; и

где весовое соотношение дозы пептида, являющегося агонистом V1a, и толваптана составляет от 1:6 до 1:2.

44. Способ по любому из пп. 15-43, где частичный агонист V1a или агонист V1a вводят в дозе, составляющей менее 150 нмоль/доза/кг.

По доверенности

**ИЗМЕНЕННАЯ ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ,
ПРЕДЛОЖЕННАЯ ЗАЯВИТЕЛЕМ ДЛЯ РАССМОТРЕНИЯ**

1. Композиция, содержащая

пептид, являющийся частичным агонистом V1a, формулы (A),
[Mpa-Tyr-Phe-Z-Asn-Cys-Pro-B(X)_a-Gly-NH₂] [SEQ ID NO. 1-2]

(A),

или его фармацевтически эффективную соль,

где

остатки Mpa и Cys ковалентно связаны дисульфидной связью,

Z представляет собой Hgn или Gln;

при этом, если Z представляет собой Hgn [SEQ ID NO. 1],

B представляет собой любой из L-Lys, D-Lys, L-Orn, D-Orn, L-Dab, D-Dab, L-Dap или D-Dap, и

X представляет собой аминокислотный остаток, расположенный сбоку R-группы в B, при этом аминокислотный остаток в каждом случае независимо выбран из Gly, L-Ala, D-Ala, L-Lys, D-Lys, L-Orn, D-Orn, L-Glu, D-Glu, L-Asp и D-Asp, и а представляет собой целое число от 0 до 10, или

X представляет собой фрагмент, полученный из C₃₋₁₂жирной кислоты, расположенный сбоку R-группы в B, содержащей первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, и а представляет собой целое число от 1 до 3;

при этом, если Z представляет собой Gln [SEQ ID NO. 2],

B представляет собой любой из L-Lys, D-Lys, L-Orn, D-Orn, L-Dab, D-Dab, L-Dap или D-Dap, и

X представляет собой аминокислотный остаток, расположенный сбоку R-группы в B, при этом аминокислотный остаток в каждом случае независимо выбран из Gly, L-Ala, D-Ala, L-Lys, D-Lys, L-Orn, D-Orn, L-Glu, D-Glu, L-Asp и D-Asp, и а представляет собой целое число от 6 до 10, или

X представляет собой фрагмент, полученный из C₃₋₁₂жирной кислоты, расположенный сбоку R-группы в B, содержащей первичную аминогруппу при атоме углерода, отличном от альфа-атома углерода, и а представляет собой целое число от 1 до 3;

и

где композиция характеризуется терапевтическим индексом, составляющим по меньшей мере 20.

2. Композиция по п. 1, где Z представляет собой Hgn, и B представляет собой Lys.

3. Композиция по п. 1, где Z представляет собой Hgn, X представляет собой Gly, и а равняется 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10.

4. Композиция по п. 3, где Z представляет собой Hgn, X представляет собой Gly, и а равняется 6, 7, 8, 9 или 10.

5. Композиция по п. 1, где Z представляет собой Gln, и B представляет собой L-Lys.

6. Композиция по п. 5, где Z представляет собой Gln, X представляет собой Gly, и а

равняется 6, 7, 8, 9 или 10.

7. Композиция по п. 1, где Z представляет собой Hgn, и В представляет собой D-Lys.

8. Композиция по п. 1, где Z представляет собой Hgn, и В представляет собой L-Orn.

9. Композиция по п. 1, где Z представляет собой Hgn, и В представляет собой D-Orn.

10. Композиция по п. 1, где Z представляет собой Hgn, и В представляет собой L-

Dab.

11. Композиция по п. 1, где Z представляет собой Hgn, и В представляет собой D-

Dab.

12. Композиция по п. 1, где Z представляет собой Hgn, и В представляет собой L-

Dap.

13. Композиция по п. 1, где Z представляет собой Hgn, и В представляет собой D-

Dap.

14. Композиция по любому из предыдущих пунктов, дополнительно содержащая фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество,

где фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество необязательно содержит буфер, проявляющий буферное действие в диапазоне рН от 3,5 до 6,5, и

где буфер необязательно выбран из ацетатного буфера, цитратного буфера, сукцинатного буфера, гистидинового буфера или любой их комбинации.

15. Способ лечения субъекта, включающий

введение субъекту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективной дозы композиции по любому из пп. 1-13,

где у субъекта имеется состояние, выбранное из фиброза печени, цирроза, портальной гипертензии, асцита, варикозного расширения вен пищевода, варикозного расширения вен фундального отдела желудка, кровотечения, артериальной гипотензии, гепаторенального синдрома и любой их комбинации, или

где у субъекта имеется фиброз печени; или

где у субъекта имеется цирроз; или

где у субъекта имеется портальная гипертензия; или

где у субъекта имеется асцит; или

где у субъекта имеется рефрактерный асцит; или

где у субъекта имеется варикозное расширение вен пищевода; или

где у субъекта имеется варикозное расширение вен желудка в фундальном отделе;

или

где у субъекта имеется варикозное расширение вен с кровотечением; или

где у субъекта имеется артериальная гипотензия; или

где у субъекта имеется гепаторенальный синдром.

16. Способ по п. 15, включающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективной дозы композиции по любому из пп. 2-6.

17. Способ по п. 15, где Z представляет собой Hgn, В представляет собой L-Lys, и X представляет собой Gly.

18. Способ по п. 17, где а равняется б.
19. Способ по п. 15, где Z представляет собой Gln, и В представляет собой L-Lys.
20. Способ по любому из пп. 15-19, где у субъекта имеется цирроз и портальная гипертензия.
21. Способ по любому из пп. 15-20, где у субъекта имеется портальная гипертензия, характеризующаяся градиентом печеночного венозного давления 5 мм рт. ст. и больше.
22. Способ по любому из пп. 15-21, где у субъекта имеется клинически значимая портальная гипертензия, характеризующаяся градиентом печеночного венозного давления 10 мм рт. ст. и больше.
23. Способ по любому из пп. 15-22, где у субъекта имеется асцит.
24. Способ по любому из пп. 15-23, где у субъекта имеется рефрактерный асцит.
25. Способ по любому из пп. 15-24, где у субъекта имеется варикозное расширение вен.
26. Способ по любому из пп. 15-25, где у субъекта имеется кровотечение из варикозно расширенных вен.
27. Способ по любому из пп. 15-26, где у субъекта среднее значение артериального давления составляет ниже 95 мм рт. ст.
28. Способ по любому из пп. 15-27, где введение предусматривает парентеральное введение.
29. Способ по любому из пп. 15-28, где введение предусматривает внутривенное введение.
30. Способ по любому из пп. 15-28, где введение предусматривает подкожное введение.
31. Способ по любому из пп. 15-28, где введение предусматривает медленную инфузию.
32. Способ по любому из пп. 15-30, где введение предусматривает болюсное введение.
33. Способ по любому из пп. 15-30 и п. 32, где введение предусматривает частоту, составляющую три раза в день или меньше.
34. Способ по п. 33, где введение осуществляют только в дневное время с 6:00 до 18:00 с частотой один раз каждые 4-6 часов, и где введение не осуществляют в ночное время с 18:00 до 6:00.
35. Способ по любому из пп. 15-34, дополнительно включающий введение антагониста V2.
36. Способ по п. 35, где антагонист V2 вводят в течение 1-8 часов, предпочтительно 1-3 часов, до введения частичного агониста V1a или после этого, предпочтительно до введения частичного агониста V1a.
37. Способ лечения субъекта, включающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективной дозы фармацевтической композиции, содержащей пептид формулы (В), вводимой в течение 1-8

часов, предпочтительно 1-3 часов, до введения терапевтически эффективной дозы антагониста V2 или после этого, предпочтительно после введения терапевтически эффективной дозы антагониста V2, где пептид формулы (B) представляет собой

пептид, являющийся агонистом V1a, формулы (B),

[X'-Tyr-Phe-Gln-Asn-Cys-Pro-Lys(Z)_d-Gly-NH₂] [SEQ ID NO. 3-4]

(B),

или его фармацевтически приемлемую соль,

где

X' представляет собой (U)_c-Cys или Mpa,

при этом, если X' представляет собой (U)_c-Cys, и (Z)_d отсутствует [SEQ ID NO. 3],

2 остатка Cys ковалентно связаны дисульфидной связью;

U представляет собой аминокислотный остаток и в каждом случае независимо выбран из Gly, L-Ala, D-Ala, L-Lys, D-Lys, L-Orn, D-Orn, L-Glu, D-Glu, L-Asp и D-Asp, и с представляет собой целое число от 0 до 10; и

при этом, если X' представляет собой Mpa [SEQ ID NO. 4],

остатки Mpa и Cys ковалентно связаны дисульфидной связью,

Z представляет собой аминокислотный остаток, расположенный сбоку R-группы в Lys, и в каждом случае независимо выбран из Gly, D-Ala, L-Ala, D-Lys, L-Lys, D-Orn, L-Orn, D-Glu, L-Glu, D-Asp и L-Asp, и d представляет собой целое число от 0 до 5,

где у субъекта имеется состояние, выбранное из фиброза печени, цирроза, портальной гипертензии, асцита, варикозного расширения вен пищевода, варикозного расширения вен фундального отдела желудка, кровотечения, артериальной гипотензии, гепаторенального синдрома и любой их комбинации; или

где у субъекта имеется фиброз печени; или

где у субъекта имеется цирроз; или

где у субъекта имеется портальная гипертензия; или

где у субъекта имеется варикозное расширение вен пищевода; или

где у субъекта имеется варикозное расширение вен фундального отдела желудка;

или

где у субъекта имеется варикозное расширение вен с кровотечением; или

где у субъекта имеется артериальная гипотензия; или

где у субъекта имеется гепаторенальный синдром.

38. Способ по п. 37, где пептид, являющийся агонистом V1a, формулы (B) представляет собой пептид, являющийся агонистом V1a, формулы (III),

[(U)_c-Cys-Tyr-Phe-Gln-Asn-Cys-Pro-Lys-Gly-NH₂] [SEQ ID NO. 7]

(III),

или его фармацевтически эффективную соль,

где

2 остатка Cys ковалентно связаны дисульфидной связью,

U представляет собой аминокислотный остаток и в каждом случае независимо

выбран из Gly, L-Ala, D-Ala, L-Lys, D-Lys, L-Orn, D-Orn, L-Glu, D-Glu, L-Asp и D-Asp, и с представляет собой целое число от 0 до 10.

39. Способ по п. 37, где пептид, являющийся агонистом V1a, формулы (B) представляет собой пептид, являющийся агонистом V1a, формулы (IV),

[Mpa-Tyr-Phe-Gln-Asn-Cys-Pro-Lys(Z)_d-Gly-NH₂] [SEQ ID NO. 4]

(IV),

или его фармацевтически эффективную соль,

где

остатки Mpa и Cys ковалентно связаны дисульфидной связью,

Z представляет собой аминокислотный остаток, расположенный сбоку R-группы в Lys, и в каждом случае независимо выбран из Gly, D-Ala, L-Ala, D-Lys, L-Lys, D-Orn, L-Orn, D-Glu, L-Glu, D-Asp и L-Asp, и

d представляет собой целое число от 0 до 5.

40. Способ по любому из пп. 35-39, где антагонист V2 предусматривает мозаваптан, толваптан, сложный фосфатный эфир толваптана, сатаваптан, ликсиваптан, кониваптан, RWJ-351647, VP-343, VP-393, [PmP1, D-Ile₂, Ile₄, Arg₈, Ala₉]-вазопрессин, [PmP1, D-Ile₂, Ile₄, Arg₈]-вазопрессин, [PmP1, D-Ile₂, Ile₄, Arg₈, Ala₉]-вазопрессин-(1-8)-ОН или любую их комбинацию.

41. Способ по любому из п. 35 или п. 40, где антагонистом V2 является толваптан, необязательно вводимый парентерально в дозе от 1 мкг/кг до 300 мкг/кг.

42. Способ по любому из пп. 35-41, где субъектом является человек, и антагонистом V2 является толваптан, необязательно вводимый парентерально в дозе от 2 мг до 7 мг.

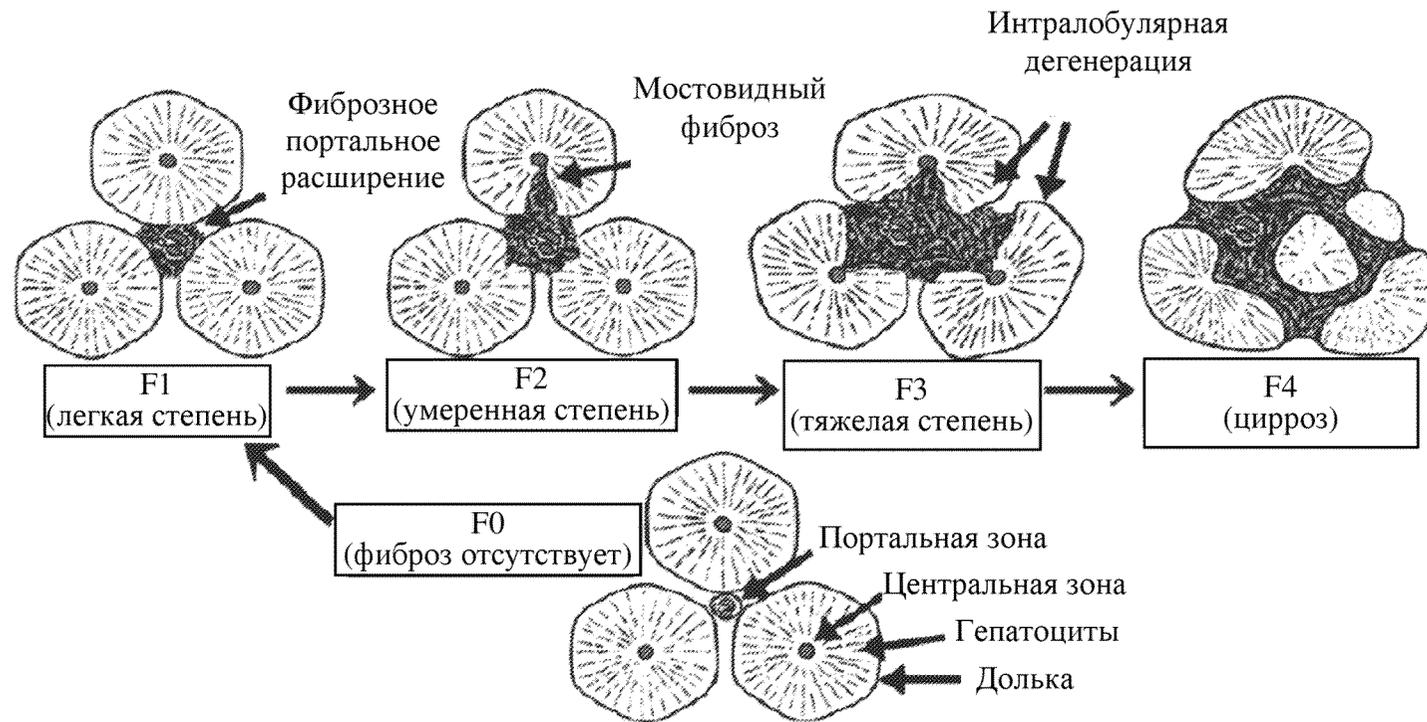
43. Способ по любому из п. 38 и пп. 40-42, где фармацевтическая композиция содержит пептид, являющийся агонистом V1a, формулы (III) или его фармацевтически приемлемую соль, где U представляет собой Gly, и с равняется 3;

где антагонист V2 предусматривает толваптан; и

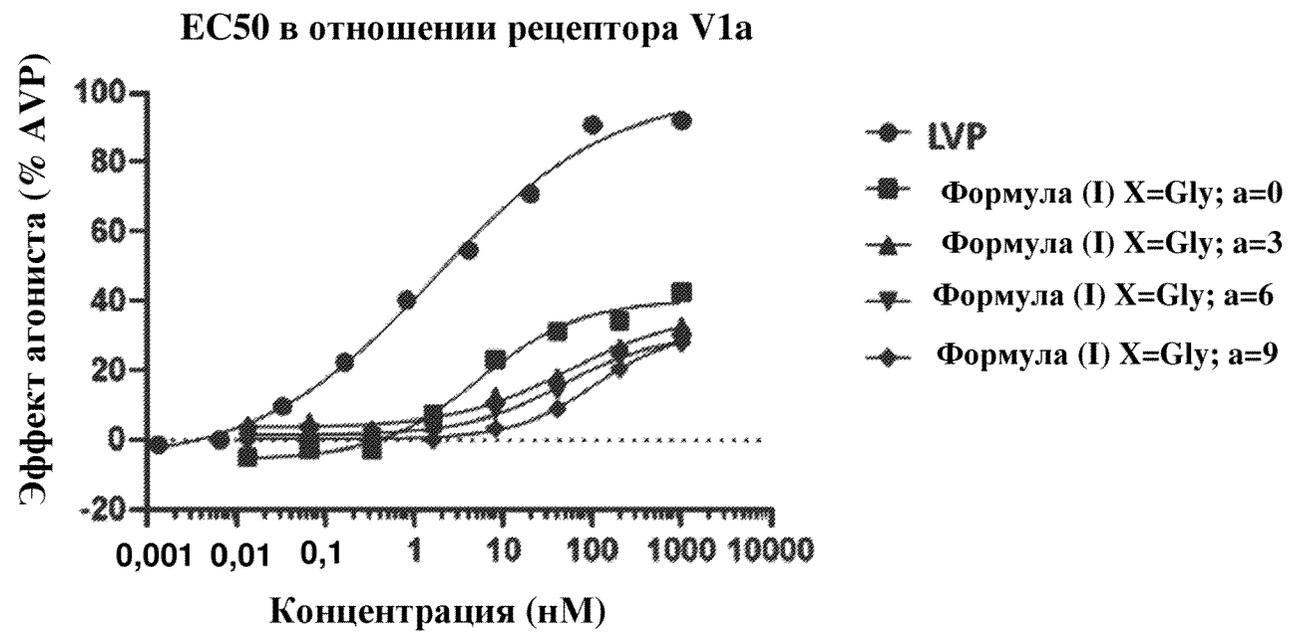
где весовое соотношение дозы пептида, являющегося агонистом V1a, и толваптана составляет от 1:6 до 1:2.

44. Способ по любому из пп. 15-43, где частичный агонист V1a или агонист V1a вводят в дозе, составляющей менее 150 нмоль/доза/кг.

По доверенности

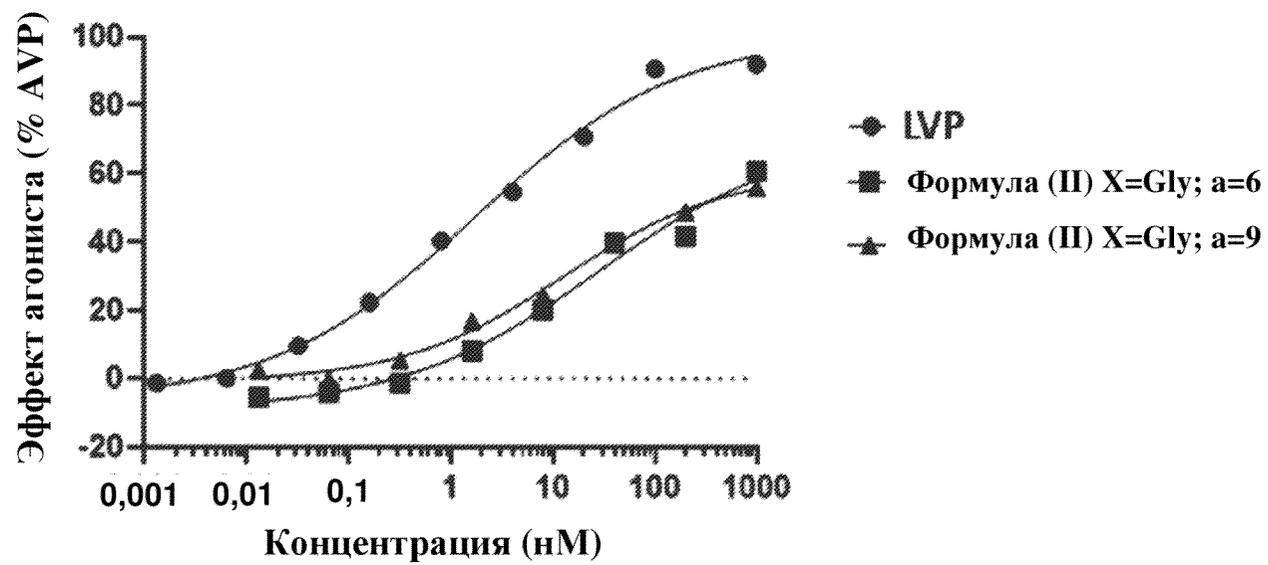


ФИГ. 1



ФИГ. 2

EC50 в отношении рецептора V1a



ФИГ. 3