



(51) МПК  
*C07K 5/10* (2006.01)  
*A61K 38/07* (2006.01)  
*A61P 11/14* (2006.01)  
*A61P 17/04* (2006.01)  
*A61P 25/04* (2006.01)

**ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
 ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ**

**(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ**

(21)(22) Заявка: 2009121298/04, 13.11.2007

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
 13.11.2007

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:  
 10.11.2006 US 60/858,121  
 10.11.2006 US 60/858,120  
 10.11.2006 US 60/858,123  
 10.05.2007 US 60/928,551  
 10.05.2007 US 60/928,527  
 (см. прод.)

(43) Дата публикации заявки: 20.12.2010 Бюл. № 35

(45) Опубликовано: 27.03.2014 Бюл. № 9

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: RU 2217437 C2, 17.11.2003. WO 96/40206 A1, 19.12.1996. BINDER W ET AL: "Analgesic and antiinflammatory effects of two novel kappa-opioid peptides." ANESTHESIOLOGY, 2001, vol.94, no.6, pages 1034-1044. WISNIEWSKI K ET AL: "Long acting, selective, peripheral kappa agonists" PEPTIDES. PROCEEDINGS OF THE EUROPEAN PEPTIDE SYMPOSIUM, XX, XX, vol. Meeting (см. прод.)

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на национальной фазе: 10.06.2009

(86) Заявка РСТ:  
 US 2007/023874 (13.11.2007)

(87) Публикация заявки РСТ:  
 WO 2008/060552 (22.05.2008)

Адрес для переписки:  
 190000, Санкт-Петербург, ВОХ 1125, ООО  
 "ПАТЕНТИКА", пат.пов. М.И.Ниловой

(72) Автор(ы):

**СЧТЕИНГАРТ Клаудио Д. (US),  
 МЕНЗАГХИ Фредерике (US),  
 ДЖАНГ Гуангченг (US),  
 АЛЕКСАНДЕР Роберта Вецца (US),  
 СУВИРАС-ДИАЗ Джавиер (US),  
 СПЕНСЕР Роберт Н. (US),  
 ЧАЛМЕРС Дерек Т. (US),  
 ЛУО Жийонг (US)**

(73) Патентообладатель(и):

**КАРА ТЕРАПЕУТИКС, ИНК (US)**

RU 2 510 399 C2

RU 2 510 399 C2

**(54) СИНТЕТИЧЕСКИЕ ПЕПТИДНЫЕ АМИДЫ И ИХ ДИМЕРЫ**

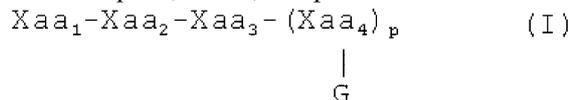
(57) Реферат:

Изобретение относится к лигандам в форме синтетических пептидных амидов каппа-опиатного рецептора и особенно к агонистам

каппа-опиатного рецептора, которые демонстрируют низкую степень ингибирования  $P_{450}$  СУР и низкую степень проникновения в мозг. Синтетический

пептидный амид по изобретению описывается структурой формулы (I). Фармацевтические композиции, содержащие указанные соединения, пригодны для профилактики и лечения боли и воспаления, связанных с

различными заболеваниями и состояниями. 3 н. и 16 з.п. ф-лы, 11 ил., 53 пр.



(30) (продолжение): 10.05.2007 US 60/928,557;

(56) (продолжение):

Date 2000, 2001, pages 775-776. DOOLEY C T ET AL: "Selective ligands for the mu, delta and kappa opioid receptors identified from a single mixture based tetrapeptide positional scanning combinatorial library" JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, AMERICAN SOCIETY OF BIOLOGICAL CHEMISTS, 1998, vol.273, no.30, pages 18848-18856. COSTA T ET AL: "Receptor binding and biological activity of bivalent enkephalins." BIOCHEMICAL PHARMACOLOGY, 1985, vol.34, no.1, pages 25-30. SHIMOHIGASHI Y ET AL: "Dimeric tetrapeptide enkephalins display extraordinary selectivity for the delta opiate receptor." NATURE, 1982, vol.297, no.5864, pages 333-335. VANDERAH TODD W ET AL: "FE200041 (D-Phe-D-Phe-D-Nle-D-Arg-NH2): A peripheral efficacious kappa opioid agonist with unprecedented selectivity." THE JOURNAL OF PHARMACOLOGY AND EXPERIMENTAL THERAPEUTICS, 2004, vol.310, no.1, pages 326-333. DONALDSON V H ET AL: "Effect of some analogues of bradykinin upon vascular permeability." PROCEEDINGS OF THE SOCIETY FOR EXPERIMENTAL BIOLOGY AND MEDICINE. SOCIETY FOR EXPERIMENTAL BIOLOGY AND MEDICINE, 1967, vol.125, no.1, pages 145-148.

R U 2 5 1 0 3 9 9 C 2

R U 2 5 1 0 3 9 9 C 2



FEDERAL SERVICE  
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.  
**C07K 5/10** (2006.01)  
**A61K 38/07** (2006.01)  
**A61P 11/14** (2006.01)  
**A61P 17/04** (2006.01)  
**A61P 25/04** (2006.01)

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(21)(22) Application: **2009121298/04, 13.11.2007**

(24) Effective date for property rights:  
**13.11.2007**

Priority:

(30) Convention priority:  
**10.11.2006 US 60/858,121**  
**10.11.2006 US 60/858,120**  
**10.11.2006 US 60/858,123**  
**10.05.2007 US 60/928,551**  
**10.05.2007 US 60/928,527**  
(to be continued)

(43) Application published: **20.12.2010 Bull. 35**

(45) Date of publication: **27.03.2014 Bull. 9**

(85) Commencement of national phase: **10.06.2009**

(86) PCT application:  
**US 2007/023874 (13.11.2007)**

(87) PCT publication:  
**WO 2008/060552 (22.05.2008)**

Mail address:  
**190000, Sankt-Peterburg, VOKh 1125, OOO**  
**"PATENTIKA", pat.pov. M.I.Nilovoj**

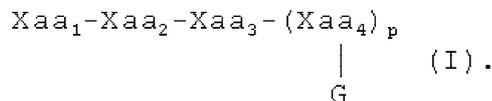
(72) Inventor(s):  
**SChTEINGART Klaudio D. (US),**  
**MENZAGKhI Frederike (US),**  
**DZhANG Guangcheng (US),**  
**ALEKSANDER Roberta Vettsa (US),**  
**SUEIRAS-DIAZ Dzhavier (US),**  
**SPENSER Robert N. (US),**  
**ChALMERS Derek T. (US),**  
**LUO Zhijong (US)**

(73) Proprietor(s):  
**KARA TERAPEUTIKS, INK (US)**

(54) **SYNTHETIC PEPTIDE AMIDES AND THEIR DIMERS**

(57) Abstract:

FIELD: biotechnologies.  
SUBSTANCE: invention refers to ligands in the form of synthetic peptide amides of a kappa-opiate receptor, and namely to agonists of the kappa-opiate receptor, which show a low inhibition degree of P<sub>450</sub> CYP and a low degree of penetration into brain. According to the invention, synthetic peptide amide is described by the following formula:



EFFECT: pharmaceutical compositions containing the above compounds are suitable for prophylaxis and curing of pain and inflammation, which are related to different diseases and states.

19 cl, 11 dwg, 53 ex

(30) Priority: **10.05.2007 US 60/928,557;**

RU 2 510 399 C2

RU 2 510 399 C2

## СВЯЗАННЫЕ ЗАЯВКИ

[0001] Данная заявка претендует на приоритет временных заявок США, серийный номер 60/858,120; 60/858,121; и 60/858,123, поданных 10 ноября 2006 г., и временных заявок США, серийный номер 60/928,527; 60/928,551 и 60/928,557, поданных 10 мая, 2007 г., каждая из которых явно включена в данное описание путем ссылки во всей ее полноте.

## ОБЛАСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0002] Изобретение относится к синтетическим пептидным амидам, в пептидную цепь которых инкорпорированы D-аминокислоты и, более конкретно, к таким синтетическим пептидным амидам, которые являются агонистами каппа-опиатного рецептора и к способам их применения в качестве профилактических и терапевтических агентов.

## ПРЕДПОСЫЛКИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0003] Каппа-опиатные рецепторы предложены в качестве мишеней для вмешательства с целью лечения или предотвращения широкого спектра заболеваний и состояний введением агонистов каппа-опиатного рецептора. См., например Jolivalt et al., *Diabetologia*, 49 (11): 2775-85; Epub Aug.19, 2006), где описана эффективность азимадолина, агониста рецептора каппа при диабетической невропатии у грызунов; и Bileviciute-Ljungar et al., *Eur. J. Pharm.* 494: 139-46 (2004), где описана эффективность агониста каппа U-50,488 на модели невропатической боли в результате хронического ограничения у крыс (CCI) и блокирование его воздействия опиатным антагонистом налоксоном. Эти наблюдения поддерживают применение агонистов каппа-опиатного рецептора для лечения диабетической, вирусной и индуцированной химиотерапией невропатической боли. Также рассмотрено применение агонистов рецепторов каппа для лечения или предотвращения висцеральной боли, включая гинекологические нарушения, например, спазмы в связи с дисменореей и эндометриоз. См., например, Riviere, *Br. J. Pharmacol.* 141: 1331-4 (2004).

[0004] Агонисты каппа-опиатного рецептора также предложены для лечения боли, в том числе гипералгезии. Считается, что гипералгезию вызывают изменения в среде периферического сенсорного окончания, вторичные к местному повреждению ткани. Повреждение ткани (например, ссадины, ожоги) и воспаление может значительно повышать возбудимость полимодальных ноцицепторов (волокна C) и механических рецепторов с высоким порогом (Handworker et al. (1991) *Proceeding of the VI<sup>th</sup> World Congress on Pain*, Bond et al., eds., Elsevier Science Publishers BV, pp.59-70; Schaible et al. (1993) *Pain* 55: 5-54). Считается, что такое повышение возбудимости и чрезмерно усиленные реакции чувствительных афферентных окончаний лежит в основе гипералгезии, где реакция боли является результатом чрезмерно усиленной реакции на стимул. Значение гипералгезического состояния в состоянии боли после повреждения повторно продемонстрировано и, по-видимому, ответственно за основную часть состояния боли после повреждения/при воспалении. Woold et al. (1993) *Anesthesia and Analgesia* 77: 362-79; Dubner et al. (1994) в *Textbook of Pain*, Melzack et al., eds., Churchill-Livingstone, London, pp.225-242.

[0005] Каппа-опиатные рецепторы предложены в качестве мишеней для предотвращения и лечения сердечнососудистых заболеваний. См., например, Wu et al. "Cardioprotection of Preconditioning by Metabolic Inhibition in the Rat Ventricular Myocyte - Involvement of kappa Opioid Receptor" (1999) *Circulation Res* vol.84: pp.1388-1395. См. также Yu et al. "Anti-Arrhythmic Effect of kappa Opioid Receptor Stimulation in the Perfused Rat Heart: Involvement of cAMP-Dependent Pathway" (1999) *J Mol Cell Cardiol.* vol.31(10):

pp.1809-1819.

[0006] Также было обнаружено, что развитие или прогрессирование таких заболеваний и состояний, в которые вовлечены нейродегенерация или гибель клеток нейронов, может быть предупреждено или как минимум замедлено лечением агонистами каппа-опиатного рецептора. Считается, что улучшенный результат - это следствие нейропротекции агонистами каппа-опиатного рецептора. См., например, Kaushik et al. "Neuroprotection in Glaucoma" (2003) J. Postgraduate Medicine vol.49 (1): pp.90-95.

[0007] Присутствие каппа-опиатных рецепторов на иммунных клетках (Bidlak et al., (2000) Clin. Diag. Lab. Immunol. 1(5):719-723) вовлечено в ингибирующее воздействие агониста каппа-опиатного рецептора, который доказанно подавляет экспрессию ВИЧ-1. См. Peterson PK et al., Biochem Pharmacol. 2001, 61(19):1145-51.

[0008] Walker, Adv. Exp. Med. Biol. 521:148-60 (2003) оценивал противовоспалительные свойства агонистов каппа для лечения остеоартрита, ревматоидного артрита, воспалительного заболевания кишечника и экземы. Bileviciute-Ljungar et al., Rheumatology 45:295-302 (2006) описывают уменьшение боли и дегенерации при индуцированном адьювантом Фрейнда с помощью агониста каппа U-50,488.

[0009] Wikstrom et al., J. Am. Soc. Nephrol. 16:3742-7 (2005) описывают применение агониста каппа, TRK-820 для лечения уремического и индуцированного опиоидами зуда и Ko et al., J. Pharmacol. Exp. Ther. 305:173-9 (2003) описывают эффективность U-50,488 при индуцированном морфином зуде у обезьян.

[0010] Также внимательно рассматривалось применение опиоидов периферического действия, включая применение агонистов каппа, для лечения желудочно-кишечных заболеваний. См., например, Lembo, Diges. Dis. 24:91-8 (2006) для обсуждения применения опиоидов в лечении расстройств пищеварительного тракта, в том числе синдром раздраженного кишечника (IBS), непроходимость кишечника и функциональная диспепсия.

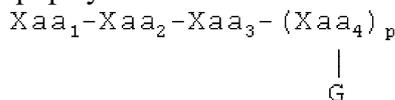
[0011] Также показана возможность применения каппа-опиоидов при расстройствах глаз, в том числе воспалении глаз и глаукоме. См. Potter et al., J. Pharmacol. Exp. Ther. 309:548-53 (2004), где описана роль высоко активного агониста каппа-опиатного рецептора, бремазоцина в уменьшении внутриглазного давления и блокирование данного эффекта норбиналторфимином (norBNI), составляющим прототип антагонистом каппа-опиатного рецептора; и Dortch-Carnes et al., CNS Drug Rev. 11(2):195-212 (2005). В патенте США 6,191,126, выданном Gamache, раскрыто применение каппа-опиатных агонистов для лечения глазной боли. Также показано, что боль в ушах поддается лечению введением каппа-опиатных агонистов. См. патент США 6,174,878, также выданный Gamache.

[0012] Каппа-опиатные агонисты увеличивают экскрецию воды почками и уменьшают выделение натрия с мочой (т.е., вызывают селективный диурез воды, также известный как акварез). Многие, но не все исследователи относят данный эффект на счет подавлению секреции вазопрессина гипофизом. Исследования, в которых сравнивали опиоиды центрального действия и предположительно периферически селективные каппа-опиоиды, привели к выводу о том, что каппа-опиатные рецепторы в пределах гематоэнцефалического барьера ответственны за опосредование такого эффекта. Другие исследователи предложили лечить гипонатриемию ноцицептиновыми пептидами или заряженными конъюгатами пептидов, которые воздействуют периферически на рецепторы ноцицептина, что

представляет собой родственный, но отличный от каппа-опиатных рецепторов механизм. См.: D.R.Karusta, Life Sci., 60:15-21, 1997; патент США 5,840,696 и патентная заявка США 20060052284.

### КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0013] В настоящем изобретении предложены синтетические пептидные амиды формулы I:



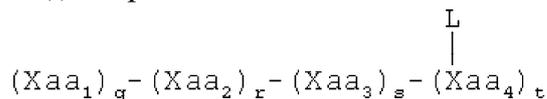
Формула I

и их стереоизомеры, смеси стереоизомеров, пролекарства, фармацевтически приемлемые соли, гидраты, сольваты, N-оксиды гидратов солей кислот и изоморфные кристаллические формы.

[0014] В формуле I каждый Хаа<sub>1</sub> независимо выбран из следующих D-аминокислот: (A)(A')D-фенилаланин, (A)(A')α-метил-D-фенилаланин, D-тирозин, D-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-3-карбоновая кислота, D-трет-лейцин, D-неопентилглицин, D-фенилглицин, D-гомо-фенилаланин и β-(E)D-аланин, где каждый (A) и каждый (A') представляют собой заместители в фенильном кольце, независимо выбранные из -H, -F, -Cl, -NO<sub>2</sub>, -CH<sub>3</sub>, -CF<sub>3</sub>, -CN, -CONH<sub>2</sub> и, где каждый (E) независимо выбран из циклобутила, циклопентила, циклогексила, пиридила, тиенила и тиазолила. Каждый Хаа<sub>2</sub> независимо выбран из (A)(A') D-фенилаланина, 3,4-фенилаланин, (A)(A')(α-Me)D-фенилаланина, D-1-нафтилаланина, D-2-нафтилаланина, D-тирозина, (E)D-аланина и D-триптофана. Каждый Хаа<sub>3</sub> независимо выбран из D-норлейцина, D-фенилаланина, (E)-D-аланина, D-лейцина, α-MeD-лейцин, D-гомолейцина, D-валина и D-метионина. Каждый Хаа<sub>4</sub> независимо выбран из (B)<sub>2</sub>D-аргинина, (B)<sub>2</sub>D-нораргинина, (B)<sub>2</sub>D-гомоаргинина, ζ-(B)D-гомолизина, D-2,3-диаминопропионовой кислоты, ε-(B)D-лизина, ε-(B)<sub>2</sub>-лизина, D-аминометилфенилаланина, амидино-D-аминометил-фенилаланина, γ-(B)<sub>2</sub>D-α,γ-диаминомасляной кислоты, δ-(B)<sub>2</sub>α-(B')D-орнитина, D-2-амино-3(4-пиперидил)-пропионовой кислоты, D-2-амино-3(2-аминопирролидил)пропионовой кислоты, D-α-амино-β-амидино-пропионовой кислоты, α-амино-4-пиперидинуксусной кислоты, цис-α,4-диаминоцикло-гексануксусной кислоты, транс-α,4-диаминоциклогексануксусной кислоты, цис-α-амино-4-метил-аминоцикло-гексануксусной кислоты, транс-α-амино-4-метиламиноциклогексануксусной кислоты, α-амино-1-амидино-4-пиперидинуксусной кислоты, цис-α-амино-4-гуанидино-циклогексануксусной кислоты и транс-α-амино-4-гуанидиноциклогексануксусной кислоты, где каждый (B) независимо выбран из -H и C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> алкил и (B') представляет собой -H или (α-Me); и p равно 0 или 1.

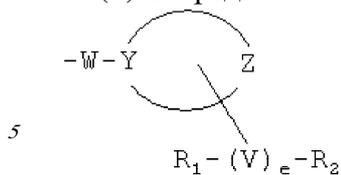
[0015] Фрагмент G выбран как один из следующих фрагментов (i)-(iv):

(i) G представляет собой

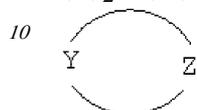


где каждое из p, q, r, s и t независимо равно 0 или 1, при условии, что как минимум одно из s и t равно 1. Фрагмент L представляет собой линкер, выбран из ε-D-Lys, ε-Lys, δ-D-Orn, δ-Orn, γ-аминомасляной кислоты, 8-аминооктановой кислоты, 11-аминоундекановой кислоты, 8-амино-3,6-диоксаоктановой кислоты, 4-амино-4-карбокзилпиперидина (D-Lys-Gly пактам)<sub>2</sub>,

(ii) G представляет собой

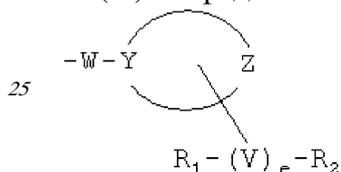


где  $p$  равно 1 и  $Xaa_3-Xaa_4$ - выбран из D-норлейцин- (B)<sub>2</sub>D-аргинина-, D-лейцин-δ-(B)<sub>2</sub>α-(B')D-орнитин- и α-метил-D-лейцин-δ(B)<sub>2</sub>-α(B') D-орнитин-; и фрагмент

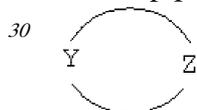


15 представляет собой необязательно замещенный фрагмент в виде 4-8-членного гетероциклического кольца, где все гетероатомы кольца в указанном циклическом фрагменте представляют собой атомы азота; где каждый  $Y$  и  $Z$  независимо представляет собой атом углерода или азота; при условии, что если такой кольцевой фрагмент представляет собой 6, 7 или 8-членное кольцо,  $Y$  и  $Z$  разделены как минимум двумя атомами кольца и при условии, что если такой кольцевой фрагмент содержит 20 один гетероатом, который является азотом, то такой кольцевой фрагмент не является ароматическим.

(iii) G представляет собой

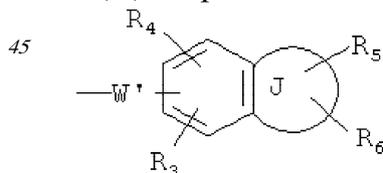


где  $p$  равно 1; и фрагмент



35 представляет собой необязательно замещенный фрагмент в виде 4-8-членного гетероциклического кольца, где  $Y$  представляет собой атом углерода или атом азота и  $Z$  представляет собой углерод, азот, кислород, серу, сульфоксид или сульфонил; при условии, что если такой кольцевой фрагмент представляет собой 6, 7 или 8-членное кольцо,  $Y$  и  $Z$  разделены как минимум двумя атомами кольца, при условии, что если такой кольцевой фрагмент не является ароматическим и  $Z$  представляет собой атом 40 углерода или атом азота, то такой кольцевой фрагмент включает как минимум один гетероатом серы или кислорода в кольце; и при условии, что если такой кольцевой фрагмент является ароматическим, то  $Y$  представляет собой атом углерода.

(iv) G представляет собой



50 где  $J$  представляет собой 5-, 6- или 7-членный гетероциклический кольцевой фрагмент, содержащий 1, 2 или 3 гетероатома в кольце, где каждый из  $R_3$  и  $R_4$  независимо выбран из  $C_1-C_3$  алкила, галогена,  $-OH$ ,  $-CF_3$ ,  $-NH_2$ ,  $-COOH$  и амидино; и каждый из  $R_5$  и  $R_6$  независимо выбран из  $C_1-C_3$  алкила, оксо, галогена,  $-OH$ ,  $-CF_3$ , -

NH<sub>2</sub>, -COOH и амидино.

[0016] Фрагмент W' выбран как один из следующих трех вариантов: нуль; -NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>b</sub>-, где b равно 0, 1, 2, 3, 4, 5 или 6; и -NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>c</sub>-O-, где c равно 2 или 3.

[0017] Фрагмент V представляет C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкил и оператору e равно 0 или 1, где если e равно 0, то V равен 0 и, R<sub>1</sub> и R<sub>2</sub> непосредственно присоединены к одному или различным атомам кольца. Группы R<sub>1</sub> и R<sub>2</sub> могут быть любыми из (a), (b), (c) или (d), как указано ниже:

(a) R<sub>1</sub> представляет собой H, OH, галоген, CF<sub>3</sub>, -NH<sub>2</sub>, -COOH, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкил, амидино, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкилзамещенный амидино, арил, необязательно замещенный гетероциклил, Pro-амид, Pro, Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Lys, Arg, Orn, Ser, Thr, CN, CONH<sub>2</sub>, COR', SO<sub>2</sub>R', CONR'R'', NHCOR', OR' или SO<sub>2</sub>NR'R''; где указанный необязательно замещен гетероциклил необязательно замещен 1 или 2 заместителями, независимо выбранными из группы, состоящей из C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкила, -C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкокси, оксо, -OH, -Cl, -F, -NH<sub>2</sub>, -NO<sub>2</sub>, -CN, -COOH и амидино; где каждый из R' и R'' независимо представляет собой H, C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> алкил, арил, гетероциклил или R' и R'' вместе образуют 4-8-членное кольцо, которое необязательно замещено 1 или 2 заместителями, независимо выбранными из группы, состоящей из C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкила, алкокси -C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, -OH, -Cl, -F, -NH<sub>2</sub>, -NO<sub>2</sub>, -CN и -COOH, амидино; и R<sub>2</sub> представляет собой H, амидино, один раз или дважды C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> замещенный алкиламидино, -CN, -CONH<sub>2</sub>, -CONR'R'', -NHCOR', SO<sub>2</sub>NR'R'' или -COOH; или

(b) R<sub>1</sub> и R<sub>2</sub> вместе могут образовывать необязательно замещенный фрагмент в виде 4-9-членного гетероциклического моноциклического или бициклического кольца, который присоединен к одному атому кольца Y- и Z-содержащего кольцевого фрагмента; или

(c) R<sub>1</sub> и R<sub>2</sub> вместе с одним атомом кольца Y- и Z-содержащего кольцевого фрагмента могут образовывать необязательно замещенный 4-8-членный гетероциклический кольцевой фрагмент с образованием спироструктуры; или

(d) R<sub>1</sub> и R<sub>2</sub> вместе с двумя или больше соседними атомами кольца Y- и Z-содержащего кольцевого фрагмента могут образовывать необязательно замещенный фрагмент в виде 4-9-членного гетероциклического моноциклического или бициклического кольца, конденсированного с Y- и Z-содержащим кольцевым фрагментом.

[0018] Каждый из вышеупомянутых необязательно замещенных 4-9-членных гетероциклических кольцевых фрагментов, которые включают R<sub>1</sub> и R<sub>2</sub>, необязательно замещен 1 или 2 заместителями, независимо выбранными из C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкила, -C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкокси, необязательно замещенного фенила (как определено выше), оксо, -OH, -Cl, -F, -NH<sub>2</sub>, -NO<sub>2</sub>, -CN, -COOH и амидино.

[0019] Приведенные выше определения формулы I подлежат следующим трем условиям:

(1) Если Y- и Z-содержащий кольцевой фрагмент представляет собой 6- или 7-членное кольцо, содержащее один гетероатом в кольце, и если один из Y и Z представляет собой C, и другой из Y и Z представляет собой N, и e равно 0, то R<sub>1</sub> не является OH, и R<sub>1</sub> и R<sub>2</sub> оба не являются H;

(2) Если Y- и Z-содержащий кольцевой фрагмент представляет собой 6-членное кольцо, содержащее два гетероатома в кольце, как Y, так и Z представляет собой атомы азота, W равен 0 и фрагмент -V<sub>e</sub>(R<sub>1</sub>)(R<sub>2</sub>) присоединен к Z, то -V<sub>e</sub>(R<sub>1</sub>)(R<sub>2</sub>) выбран из амидино, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкилзамещенного амидино, дигидроимидазола, -CH<sub>2</sub>COOH и -

$\text{CH}_2\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$ ; и

(3) Если Y- и Z-содержащий кольцевой фрагмент представляет собой 6-членное кольцо, содержащее гетероатом серы или кислорода в кольце, или если Y- и Z-содержащий кольцевой фрагмент представляет собой неароматическое 6-членное кольцо, которое содержит два гетероатома в кольце, где как Y, так и Z представляет собой атомы азота, и W равен 0, или если Y- и Z-содержащий кольцевой фрагмент представляет собой 6-членное ароматическое кольцо, которое содержит один гетероатом в кольце, который представляет собой атом азота, то, если e равно 0, R<sub>1</sub> и R<sub>2</sub> оба не являются водородом.

[0020] Изобретение также предлагает селективный агонист каппа-опиатного рецептора (в данном описании также называется агонистом или просто агонистом каппа), который является синтетическим пептидным амидом по изобретению, как изложено выше.

[0021] Изобретение также предлагает фармацевтическую композицию, которая содержит синтетические пептидные амиды по изобретению и фармацевтически приемлемый разбавитель, вспомогательное вещество или носитель.

[0022] Также предлагается способ лечения или предупреждения связанного с каппа-опиатными рецепторами заболевания или состояния у млекопитающего. Способ включает введение млекопитающему композиции, которая содержит эффективное количество синтетического пептидного амида по изобретению. Изобретение также предлагает применение синтетических пептидных амидов по изобретению для приготовления лекарственных средств и фармацевтических композиций, пригодных для лечения связанного с каппа-опиатными рецепторами заболевания или состояния у млекопитающего.

[0023] Изобретение предлагает также способ лечения или предупреждения связанного с каппа-опиатными рецепторами заболевания или состояния у млекопитающего, где синтетические пептидные амиды по изобретению вводят совместно с уменьшенной дозой анальгетика мю-опиатного агониста, для достижения терапевтического анальгетического эффекта, причем болеутоляющее соединение мю-опиатный агонист вызывает сопутствующий побочный эффект (особенно, угнетения дыхания, седацию, эйфорию, антидиуретический эффект, тошноту, рвоту, запор и физическое привыкание, зависимость и пристрастие). Уменьшенная доза анальгетика мю-опиатного агониста, которую вводят в соответствии с данным способом, вызывает менее выраженные сопутствующие побочные эффекты, чем побочные эффекты, связанные с дозой соединения, необходимой, чтобы достичь такого же терапевтического болеутоляющего эффекта при монотерапии.

[0024] Изобретение также предлагает способ лечения или предупреждения периферической гипералгезии, где способ включает местное нанесение или введение млекопитающему, нуждающемуся в лечении, эффективного количества композиции, которая содержит эффективное против гипералгезии количество синтетических пептидных амидов по изобретению в носителе, предназначенном для местного нанесения или введения.

[0025] Изобретение также предлагает способ лечения или предупреждения гипонатриемии или гипокалиемии и, таким образом, лечения или предупреждения заболевания или состояния, связанного с гипонатриемией или гипокалиемией, такого как застойная сердечная недостаточность, цирроз печени, нефротический синдром, гипертензия или отек и, предпочтительно, где повышенная секреция вазопрессина связана с указанным заболеванием или расстройством, причем способ включает

введение млекопитающему акваретически эффективного количества синтетических пептидных амидов по изобретению в фармацевтически приемлемом разбавителе, вспомогательном веществе или носителе.

#### КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ФИГУР

5 [0026] Фигура 1: Показывает общую схему, применяемую для синтеза соединения (1). D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[4-(2-аминоэтил)-1-карбоксиметилпиперазин]-ОН (SEQ ID NO: 1): Стадии а-г осуществляют с использованием следующих реагентов или условий: а) Fmoc-4-(2-аминоэтил)-1-карбоксиметил-пиперазин, ДИЭА, ДХМ; б) 10 25% пиперидин/ДМФА; с) Fmoc-D-Orn(Вос)-ОН, DIC, НОВt, ДМФА; d) Fmoc-D-Leu-ОН, DIC, НОВt, ДМФА; е) Fmoc-D-Phe-ОН, DIC, НОВt, ДМФА; f) Вос-D-Phe-ОН, DIC, НОВt, ДМФА; g) ТФУ/TIS/H<sub>2</sub>O (95:2,5:2,5).

15 [0027] Фигура 2: Показывает общую схему, используемую для синтеза соединения (13): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[4-(2-аминоэтил)-1-карбоксиметилпиперазин]-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO: 1). Стадии а-h осуществляют с использованием следующих реагентов или условий: а) 25% пиперидина, ДМФА; б) Fmoc-4-(2-аминоэтил)-1-карбоксиметил-пиперазин, НВТУ, ДИЭА, ДМФА; с) 25% пиперидина, ДМФА; d) Fmoc-D-Orn(Вос)-ОН, DIC, НОВt, ДМФА; е) Fmoc-D-Leu-ОН, 20 DIC, НОВt, ДМФА; f) Fmoc-D-Phe-ОН, DIC, НОВt, ДМФА; g) Вос-D-Phe-ОН, DIC, НОВt, ДМФА; h) ТФУ/TIS/H<sub>2</sub>O (95:2,5:2,5).

[0028] Фигура 3: Показывает общую схему, используемую для синтеза производных тетрапептида гомопиперазина, таких как соединение (11). Стадии а-s осуществляют с использованием следующих реагентов или условий: а) гомопиперазин, ДХМ; б) Fmoc-D-Dap(ivDde)-ОН или Fmoc-D-Dap(ivDde)-ОН или Fmoc-D-Orn(Aloe)-ОН или Fmoc-D-Orn(Z)-ОН или Fmoc-D-Lys(Dde)-ОН или Fmoc-D-Arg(Pbf)-ОН, DIC, НОВt, ДМФА; с) 25% пиперидина в ДМФА; d) Fmoc-D-Leu-ОН или Fmoc-D-Nle-ОН, DIC, НОВt, ДМФА; е) Fmoc-D-Phe-ОН, DIC, НОВt, ДМФА; f) Z-D-Phe-ОН, DIC, НОВt, ДМФА; n=0-3; 30 R<sub>3</sub>=iPr, nPr; PG4 = ivDde, Dde, Alloc, Z, Pbf в случае D-Arg; g) 4% гидразина в ДМФА; h) Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>, CHCl<sub>3</sub>/AcOH/NMM; i) O-NBS-Cl, коллидин, NMP; j) диметилсульфат, DBU, ЯМР; k) меркаптоэтанол, DBU, NMP; l) Z-OSu, ДМФА; m) ацетон, AcOH, NaBH(OAc)<sub>3</sub>, TMOF; n) 1H-пиразол-1-карбоксамидин, ДИЭА, ДМФА; n=0-3; R<sub>3</sub>=iPr, nPr; R<sub>4</sub>=H, Me, iPr, амидино; PG4 = Z, H, если R<sub>4</sub> представляет собой амидино; о) 50% ТФУ/ДХМ; p) 35 гидройодид S-метил-N-метилизотиомочевины, ДИЭА, ДМФА; q) гидройодид 2-метилтио-2-имидазолин, ДИЭА, ДМФА; r) йодэтан, ДИЭА, ДМФА; s) TMSOTf/ТФУ/м-крезол (2:7:1); n=0-3; R<sub>3</sub>=iPr, nPr; R<sub>4</sub>=H, Me, iPr, амидино; R<sub>5</sub>=H, Et, амидино, 4,5-дигидро-1H-имидазол-2-ил, N-метилкарбамимидоил.

40 [0029] Фигура 4: Показывает общую схему, используемую для синтеза соединений (25)-(38). Стадии а-h осуществляют с использованием следующих реагентов или условий: а) EDC, НОВt, ДИЭА, ТГФ; б) ТФУ, ДХМ; с) Вос-D-Phe-ОН, EDC, НОВt, ДИЭА; d) H<sub>2</sub>, Pd/C; е) H-D-Lys(Вос)-OAll, ТВТУ, ДИЭА, ДМФА; f) Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>, пирролидин; g) амин HNR<sub>1</sub>R<sub>2</sub>, НВТУ, ДМФА; h) HCl, диоксан.

45 [0030] Фигура 5: Показывает общую схему, используемую для синтеза соединения (40): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[ε-Lys(D-Orn-D-Leu-H)]-H (SEQ ID NO: 1). Стадии а-i осуществляют с использованием следующих реагентов или условий: а) Fmoc-L-Lys(Dde)-ОН, ДИЭА, ДХМ; б) 25% пиперидин/ДМФА; с) Fmoc-D-Orn(Вос)-ОН, PyBOP, ДИЭА, ДМФА; d) Вос-D-Leu-ОН, PyBOP, ДИЭА, ДМФА; е) 4% гидразина, ДМФА; f) Fmoc-D-Leu-ОН, PyBOP, ДИЭА, ДМФА; g) Fmoc-D-Phe-ОН, PyBOP, ДИЭА, ДМФА; h) Вос-D-Phe-ОН, PyBOP, ДИЭА, ДМФА; i) ТФУ/TIS/H<sub>2</sub>O (95:2,5:2,5).

[0031] Фигура 6: Показывает общую схему, используемую для синтеза

соединения (51): 1N,4N-бис-(D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Nar)-4-амино-4-карбоксил пиперидина (SEQ ID NO: 6). Стадии a-k осуществляют с использованием следующих реагентов или условий: а) 35% пиперидина, ДМФА; б) N-Вос-(4-Fmoc-амино)пиперидин-4-карбоновая кислота, PyBOP, ДИЭА, ДМФА; в) 30% ТФУ/ДХМ; д) Вос-D-Dab(Fmoc)-ОН, PyBOP, ДИЭА, ДМФА; е) Вос-D-Leu-ОН, PyBOP, ДИЭА, ДМФА; ф) Вос-D-Phe-ОН, PyBOP, ДИЭА, ДМФА; г) Вос-D-Phe-ОН, PyBOP, ДИЭА, ДМФА; h) 2% DBU/ДМФА; и) 1H-пиразол-1-карбоксамидин, ДИЭА, ДМФА; j) меди ацетат, пиридин, DBU, ДМФА/вода; k) 95% ТФУ/вода.

[0032] Фигура 7: Показывает общую схему, используемую для синтеза соединения (52): D-Phe-D-Phe-D-Leu-(D-Lys-Gly пактам)<sub>2</sub>-D-Leu-D-Phe-D-Phe. Стадии a-h осуществляют с использованием следующих реагентов или условий: а) Fmoc-глицин, ДИЭА, ДХМ; б) 25% пиперидина/ДМФА; в) Fmoc-D-Lys(Вос)-ОН, PyBOP, ДИЭА, ДМФА; д) Fmoc-D-Leu-ОН, PyBOP, ДИЭА, ДМФА; е) Fmoc-D-Phe-ОН, PyBOP, ДИЭА, ДМФА; ф) Вос-D-Phe-ОН, PyBOP, ДИЭА, ДМФА; г) ТФУ/TIS/H<sub>2</sub>O; h) PyBOP, ДИЭА, ДМФА;

[0033] Фигура 8: Показывает общую схему, используемую для синтеза соединения (53): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[R/S-2-карбоксиморфолин]-ОН (SEQ ID NO: 1). Стадии a-g осуществляют с использованием следующих реагентов или условий: а) Гтос-морфолин-2-карбоновая кислота, ДИЭА, ДХМ; б) 25% пиперидин/ДМФА; в) Fmoc-D-Orn(Вос)-ОН, DIC, НОВt, ДМФА; д) Fmoc-D-Leu-ОН, DIC, НОВt, ДМФА; е) Fmoc-D-Phe-ОН, DIC, НОВt, ДМФА; ф) Вос-D-Phe-ОН, DIC, НОВt, ДМФА; г) ТФУ/TIS/H<sub>2</sub>O (95:2,5:2,5).

[0034] Фигура 9: Показывает общую схему, используемую для синтеза соединения (55): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-N (гомоморфолин) (SEQ ID NO: 1). Стадии a-d осуществляют с использованием следующих реагентов или условий: а) гомоморфолин, EDC, НОВt, ТГФ; б) Н<sub>2</sub>, Pd/C, MeOH; в) Вос-D-Phe-D-Phe-D-Leu-ОН, EDC, НОВt, ТГФ; д) ТФУ, ДХМ.

[0035] Фигура 10: Кривые «доза-реакция» для соединения (17) у мышей ICR в испытании на модели индуцированных уксусной кислотой корчей (незакрашенные круги) и среднее значение (закрашенные круги), а также прямоугольники ошибки; и в испытании на модели передвижения (незакрашенные квадраты), среднее значение (закрашенные квадраты) и прямоугольники ошибки.

[0036] Фигура 11: Концентрация в плазме после внутривенного введения однократного болюса соединения (19) яванским макакам. Образцы плазмы отбирали через 2, 5, 10, 15, 30, 60, 120 и 240 минут после инъекции.

#### ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ

[0037] В данном описании термин "синтетические пептидные амиды" обозначает соединение по изобретению, соответствующее формуле I или его стереоизомер, смесь стереоизомеров, пролекарство, фармацевтически приемлемую соль, гидрат, сольват, гидрат соли кислоты, N-оксид или изоморфную кристаллическую форму.

Обозначения Хаа<sub>1</sub>, Хаа<sub>2</sub>, Хаа<sub>3</sub> и Хаа<sub>4</sub> представляют D-аминокислоты в синтетических пептидных амидах по изобретению. Стереоизомеры синтетических пептидных амидов по изобретению, соответствующие формуле I, ограничиваются соединениями, содержащими аминокислоты в D-конфигурации, где это указано в Формуле I.

Стереоизомеры синтетических пептидных амидов по изобретению включают соединения, с D- или L-конфигурацией хиральных центров, кроме альфа-атомов углерода четырех аминокислот в положениях Хаа<sub>1</sub>, Хаа<sub>2</sub>, Хаа<sub>3</sub> и Хаа<sub>4</sub>. Термин «смеси стереоизомеров» обозначает смеси таких стереоизомеров по изобретению. В данном

описании термин «рацематы» обозначает смеси тереоизомеров, содержащие равные пропорции соединений с D- и L-конфигурацией одного или больше хиральных центров, кроме альфа-атомов углерода Хаа<sub>1</sub>, Хаа<sub>2</sub>, Хаа<sub>3</sub> и Хаа<sub>4</sub>, без изменения хиральности альфа-атомов углерода Хаа<sub>1</sub>, Хаа<sub>2</sub>, Хаа<sub>3</sub> и Хаа<sub>4</sub>.

[0038] Номенклатура, используемая для определения пептидов в данном описании, описана Schroder & Lubke, *The Peptides*, Academic Press, 1965, где, в соответствии с обычным представлением, N-конец размещается слева, и C-конец справа. Если остаток аминокислоты присутствует в изомерных формах, L-изомерная форма, так и D-изомерная форма аминокислоты включены, если не указано иное. Аминокислоты в данном описании обычно идентифицированы стандартным трехбуквенным кодом. D-изомер аминокислоты указан приставкой "D-", например, в "D-Phe", что обозначает D-фенилаланин, D-изомер фенилаланина. Также, L-изомер указан приставкой "L-", например, в "L-Phe". Пептиды в данном описании представлены согласно традиционной договоренности, как последовательности аминокислот слева направо: от N-конца к C-концу, если не указано иное.

[0039] В данном описании, D-Arg представляет D-аргинин, D-Nag представляет D-гомоаргинин, который содержит боковую цепь на одну метиленовую группу длиннее, чем D-Arg, и D-Nar представляет D-нораргинин, который содержит боковую цепь на одну метиленовую группу короче, чем D-Arg. Подобным образом, D-Leu обозначает D-лейцин, D-Nle обозначает D-норлейцин, и D-Hle представляет D-гомолейцин. D-Ala обозначает D-аланин, D-Tyr обозначает D-тирозин, D-Trp обозначает D-триптофан, и D-Tic обозначает D-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-3-карбоновую кислоту. D-Val кислоту D-валин, и D-Met кислоту D-метионин. D-Pro обозначает D-пролин, Pro-амид обозначает D- или L-форму амида пролина. D-Pro-амид представляет D-пролин с амидной группой, образованной на карбоксильном фрагменте, где амидный азот может представлять собой замещенный алкил, как в случае -NR<sub>a</sub>R<sub>b</sub>, где каждый из R<sub>a</sub> и R<sub>b</sub> независимо представляет собой C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> алкильную группу, или один из R<sub>a</sub> и R<sub>b</sub> представляет собой -H. Gly обозначает глицин, D-Ile обозначает D-изолейцин, D-Ser обозначает D-серин, и D-Thr обозначает D-треонин. (E)D-Ala обозначает D-изомер аланина, содержащий заместитель (E) при β-углероде. Примеры таких групп заместителя (E) включают циклобутил, циклопентил, циклогексил, пиридил, тиенил и тиазолил. Таким образом, циклопентил-D-Ala обозначает D-изомер аланина, замещенный циклопентилом при β-атоме углерода. Подобным образом, D-Ala(2-тиенил) и (2-тиенил)D-Ala взаимозаменяемы, и оба обозначают D-изомер аланина, замещенный при β-атоме углерода тиенилом, который присоединен в положении 2 кольца.

[0040] В данном описании D-Nal обозначает D-изомер аланина, замещенный нафтилом при β-атоме углерода. D-2Nal обозначает замещенный нафтилом D-аланин, где нафтаген присоединен в положении 2 кольцевой структуры, и D-1Nal обозначает замещенный нафтилом D-аланин, где нафтаген присоединен в положении 1 кольцевой структуры. (A)(A')D-Phe обозначает D-фенилаланин, замещенный на фенильном кольце 1 или 2 заместителями, независимо выбранными из галогена, нитро, метила, галогенметила (например, такого как трифторметил), пергалогенметила, циано и карбоксамида. D-(4-F)Phe обозначает D-фенилаланин, замещенный фтором в положении 4 фенильного кольца. D-(2-F)Phe обозначает D-фенилаланин, замещенный фтором в положении 2 фенильного кольца. D-(4-Cl)Phe обозначает D-фенилаланин, замещенный хлором в положении 4 фенильного кольца. (α-Me)D-Phe обозначает D-фенилаланин, замещенный метилом при альфа-атоме углерода. (αMe)D-Leu

обозначает D-лейцин, замещенный метилом при альфа-атоме углерода.

[0041] Обозначения (B)<sub>2</sub>D-Arg, (B)<sub>2</sub>D-Nar и (B)<sub>2</sub>D-Nar представляют D-аргинин, D-нораргинин и D-гомоаргинин, соответственно, каждый из которых содержит две группы заместителя (B) в боковой цепи. D-Lys обозначает D-лизин, и D-Hlys обозначает D-гомолизин. ζ-(B)D-Hlys, ε-(B)D-Lys и ε-(B)<sub>2</sub>D-Lys представляют D-гомолизин и D-лизин, каждый из которых содержит в боковой цепи аминокгруппу, замещенную 1 или 2 группами заместителя (B), как показано. D-Orn обозначает D-орнитин, и δ-(B)α-(B')D-Orn обозначает D-орнитин, замещенный (B') при альфа-атоме углерода, и замещенный (B) в боковой цепи δ-аминокгруппы.

[0042] D-Dar обозначает D-2,3-диаминопропионовую кислоту. D-Dbu представляет D-изомер альфа, гамма-диаминомасляной кислоты, и (B)<sub>2</sub>D-Dbu представляет альфа, гамма-диаминомасляную кислоту, замещенную двумя группами заместителя (B) в гамма-аминокгруппе. Если не указано иное, каждая из (B) групп таких дважды замещенных остатков независимо выбрана из H- и C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-алкила. В данном описании, D-Amf обозначает D-(NH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)Phe, т.е., D-изомер фенилаланина, замещенный аминметилом в фенильном кольце, и D-4Amf представляет конкретный D-Amf, в котором аминметил присоединен в положении 4 кольца. D-Gmf обозначает D-Amf(амидино), который представляет D-Phe, где фенильное кольцо замещено -CH<sub>2</sub>NHC(NH)NH<sub>2</sub>. Amd представляет амидино, C(NH)NH<sub>2</sub>, и обозначения (Amd) D-Amf и D-Amf (Amd) также равнозначно применяются для D-Gmf. Обозначения Iu и Iog, соответственно, применяются для обозначения Lys изопронила и Orn изопронила, где аминокгруппа боковой цепи алкилирована изопронильной группой.

[0043] Алкил обозначает радикал алкана, который может представлять собой разветвленную, неразветвленную и циклическую алкильную группу, такую как, не ограничиваясь ими, метил, этил, пропил, изопронил, циклопропил, бутил, трет-бутил, втор-бутил, пентил, циклопентил, гексил, циклогексил, циклогексилэтил. C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> алкил обозначает алкильные группы, содержащие от 1 до 8 атомов углерода. Подобным образом, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкил обозначает алкильные группы, содержащие от 1 до 6 атомов углерода. Также, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> алкил обозначает алкильные группы, содержащие от 1 до 4 атомов углерода. Низший алкил обозначает C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкил. Me, Et, Pr, Ipr, Bu и Pn равнозначно используются для представления распространенных алкильных групп: метил, этил, пропил, изопронил, бутил и пентил, соответственно. Хотя соединение для алкильной группы находится обычно на одном конце алкильной цепи, соединение может быть расположено где-либо в другом месте цепи, например 3-пентил, который может также быть обозначен как этилпропил или 1-этилпроп-1-ил. Алкилзамещенный, например, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкилзамещенный амидино, показывает, что соответствующий фрагмент замещен 1 или больше алкильных групп.

[0044] Если указанный фрагмент равен 0, такой фрагмент отсутствует, и если указано, что такой фрагмент присоединен к двум другим фрагментам, такие два других фрагмента соединены одной ковалентной связью. Если соединительный фрагмент показан в данном описании как присоединенный к кольцу в каком-либо положении кольца и присоединен к двум другим фрагментам, таким как R<sub>1</sub> и R<sub>2</sub>, в случае, когда указано, что соединительный фрагмент равен 0, каждый из фрагментов R<sub>1</sub> и R<sub>2</sub> может быть независимо присоединен в каком-либо положении на кольце.

[0045] Термины "гетероцикл", "гетероциклическое кольцо" и "гетероциклил" применяются равнозначно в данном описании и обозначают кольцо или кольцевой фрагмент, содержащий как минимум один не углеродный атом в кольце, который

также называют гетероатомом, и который может представлять собой атом азота, серы или кислорода. Если указано, что в кольце присутствует определенное количество членов, количество определяет число атомов в кольце без обозначения каких-либо заместителей или атомов водорода, присоединенных к атомам кольца. Гетероциклы, гетероциклические кольца и гетероциклические фрагменты могут содержать несколько гетероатомов, независимо выбранных из атома азота, серы или кислорода в кольце. Кольца могут содержать заместители в каком-либо доступном положении. Например, не ограничиваясь ими, 6- и 7-членные кольца часто содержат заместители в положении 4 кольца, и 5-членные кольца обычно содержат заместители в положении 3, где кольцо присоединено к цепи пептидного амида в положении 1 кольца.

[0046] Термин «насыщенный» обозначает отсутствие двойных или тройных связей, и применение термина в связи с кольцами обозначает кольца, не содержащие двойных или тройных связей в пределах кольца, но не обозначает отсутствия двойных или тройных связей в заместителях, присоединенных к кольцу. Термин "неароматический" употребляется в контексте конкретного кольца для обозначения отсутствия ароматичности в таком кольце, но не обозначает отсутствия двойных связей в пределах кольца, в том числе двойных связей, которые являются частью ароматического кольца, конденсированного с указанным кольцом. Также не запрещается присутствие двойной связи между атомом кольца насыщенного гетероциклического кольцевого фрагмента и атомом за пределами кольца, например, атом серы в кольце связан двойной связью с атомом кислорода заместителя. В данном описании, гетероциклы, гетероциклические кольца и гетероциклические фрагменты также включают насыщенные, частично ненасыщенные и гетероароматические кольца, а также конденсированные бициклические структуры колец, если не определено иное. Гетероцикл, гетероциклическое кольцо или гетероциклический фрагмент может быть конденсирован со вторым кольцом, которое может быть насыщенным, частично ненасыщенным или ароматическим кольцом, которое может представлять собой гетероцикл или углеродный цикл. Если указано, два заместителя могут необязательно вместе образовывать дополнительное кольцо. Кольца могут быть замещены в каком-либо доступном положении. Гетероцикл, гетероциклическое кольцо и гетероциклический фрагмент может, если это указано, быть необязательно замещенным в одном или больше положений кольца одним или больше независимо выбранных заместителей, таких как, например, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкил, C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub> циклоалкил, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкокси, галоген C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкил, необязательно замещенный фенил, арил, гетероциклил, оксо, -ОН, -Cl, -F, -NH<sub>2</sub>, -NO<sub>2</sub>, -CN, -COOH и амидино. Подходящие необязательные заместители фенила включают, например, не ограничиваясь ими, одну или больше групп, выбранных из C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> алкила, C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> алкокси, галогена C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> алкила, оксо, -ОН, -Cl, -F, -NH<sub>2</sub>, -NO<sub>2</sub>, -CN, -COOH и амидино.

[0047] D-Phe и замещенный D-Phe представляют собой примеры подходящей аминокислоты для остатка Хаа<sub>1</sub> в Формуле I. Фенильное кольцо может быть замещено в любом из положений 2, 3 и/или 4. Конкретные примеры разрешенных замен включают, например, хлор или фтор в положении 2 или 4. Также альфа-углеродный атом может быть метилирован. Другие равноценные остатки, которые представляют консервативные замены для D-Phe, также могут использоваться. Они включают D-Ala(циклопентил), D-Ala(тиенил), D-Tyr и D-Tic. Остаток в положении 2, Хаа<sub>2</sub> может также представлять собой D-Phe или замещенный D-Phe с такими заменами, в том числе заместителями при атоме углерода в положении 4 фенильного кольца или как положению 3, так и положению 4. Альтернативно, Хаа<sub>2</sub> может

представлять собой D-Trp, D-Tyr или D-аланин, замещенный нафтилом. Остаток в положении 3, Хаа<sub>3</sub> может представлять собой каким-либо неполярный остаток аминокислоты, такой как D-Nle, D-Leu, ( $\alpha$ -Me)D-Leu, D-Hle, D-Met или D-Val. Однако, D-Ala(циклопропил, циклобутил, циклопентил или циклогексил) или D-Phe может также использоваться в качестве Хаа<sub>3</sub>. Остаток в положении 4, Хаа<sub>4</sub> может представлять собой какой-либо положительно заряженный остаток аминокислоты, например, D-Arg и D-Nag, который может быть необязательно замещен низшими алкильными группами, такими как одна или две этильные группы. Альтернативно, могут использоваться D-Nag и любые другие равноценные остатки, такие как D-Lys или D-Orn (любой из которых может быть алкилирован  $\omega$ -аминогруппой, например, метильными или изопропильными группами, или метилирован при  $\alpha$ -атоме углерода). Кроме того, D-Dbu, D-4-Amf (который может быть необязательно замещен амидино) и D-Nlys также являются подходящими аминокислотами для данного положения.

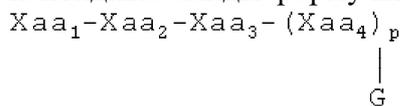
[0048] Соединения по изобретению содержат один или больше хиральных центров, каждый из которых имеет два возможных трехмерных пространственных расположения (конфигурации) четырех заместителей вокруг центрального атома углерода. Они известны как стереоизомеры и, более специфично, как энантиомеры (все хиральные центры в обратной конфигурации) или диастереоизомеры (два или больше хиральных центров, как минимум один хиральный центр в такой же конфигурации). В конкретном варианте изобретения, указано, что аминокислоты, которые составляют основу тетрапептида, Хаа<sub>1</sub>Хаа<sub>2</sub>Хаа<sub>3</sub>Хаа<sub>4</sub>, представляют собой D-аминоаминокислоты, т.е., их конфигурация противоположна обычно присутствующей у млекопитающих. Ссылка на стереоизомеры синтетических пептидных амидов по изобретению касается хиральных центров, кроме альфа-атомов углерода D-аминокислот, которые составляют Хаа<sub>1</sub>-Хаа<sub>4</sub>. Таким образом, стереоизомеры синтетических пептидных амидов, которые являются вариантами изобретения, где указано, что каждый из Хаа<sub>1</sub>-Хаа<sub>4</sub> представляет собой D-аминокислоту, не включают L-аминокислоты или рацемические смеси аминокислот в данных положениях. Подобным образом, ссылка на рацематы в данном описании касается центров, кроме альфа-атомов углерода D-аминокислот, которые составляют Хаа<sub>1</sub>-Хаа<sub>4</sub>. Хиральные центры в синтетических пептидных амидах по изобретению, для которых стереоизомер может находиться в R или S конфигурация, включают хиральные центры во фрагменте, присоединенном к C-концу Хаа<sub>4</sub>, а также хиральным центрам в каких-либо заместителях боковой цепи аминокислот Хаа<sub>1</sub>-Хаа<sub>4</sub>.

[0049] Синтетические пептидные амиды по изобретению, описанные в данном описании (также равнозначно обозначаются как соединения синтетических пептидных амидов, соединения по изобретению, соединение (номер) или просто "соединения"), могут применяться или быть получены в альтернативных формах. Например, многие аминокислоты содержащие соединения могут применяться или быть получены в виде соли с кислотой. Часто такие соли улучшают выделение и свойства соединения в процессе обращения с ним. Например, в зависимости от реактивов, условий реакции и т.п., соединения, например, синтетические пептидные амиды, описанные в данном описании, могут применяться или быть получены, например, как гидрохлоридные или тозилатные соли. Изоморфные кристаллические формы, все хиральные и рацемические формы, N-оксиды, гидраты, сольваты и гидраты солей кислот, также находятся в пределах контекста настоящего изобретения.

[0050] Определенные кислотные или основные синтетические пептидные амиды по настоящему изобретению могут существовать как цвиттер-ионы. Все формы таких

синтетических соединений пептидных амидов, в том числе свободная кислота, свободное основание и цвиттер-ионы находятся в пределах контекста настоящего изобретения. В данной области хорошо известно, что соединения, содержащие как аминокислотные так и карбоксильные группы, часто существуют в равновесии с их циттер-ионными формами. Таким образом, должно быть понятно, что для любого соединения, описанного в данном описании, которое содержит, например, как аминокислотные так и карбоксильные группы включен соответствующий цвиттер-ион.

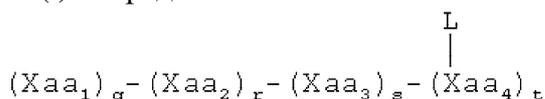
[0051] В одном варианте настоящего изобретения предлагаются синтетические пептидные амиды формулы:



и их стереоизомеры, смеси стереоизомеров, пролекарства, фармацевтически приемлемые соли, гидраты, сольваты, гидраты солей кислот, N-оксиды и изоморфные кристаллические формы, где каждый Xaa<sub>1</sub> независимо выбран из (A)(A')D-фенилаланина, (A)(A')(α-Me)D-фенилаланина, D-тирозина, D-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-3-карбоновой кислоты, D-фенилглицина, D-неопентилглицина, D-фенилглицина, D-гомофенилаланина и β-(E)D-Ala, где каждый из (A) и (A') представляет собой заместитель в фенильном кольце, независимо выбранный из -H, -F, -Cl, -NO<sub>2</sub>, -CH<sub>3</sub>, -CF<sub>3</sub>, -CN, -CONH<sub>2</sub>, и где каждый (E) независимо выбран из циклобутила, циклопентила, циклогексила, пиридила, тиенила и тиазолила. Каждый Xaa<sub>2</sub> независимо выбран из (A)(A')D-фенилаланина, (A)(A')(α-Me)D-фенилаланина, нафтил-1-D-аланина, нафтил-2-D-аланина, D-тирозина, (E)D-аланина и D-триптофана. Каждый Xaa<sub>3</sub> независимо выбран из D-норлейцина, D-фенилаланина, (E)D-аланина, D-лейцина, (α-Me)D-лейцина, D-гомолейцина, D-валина и D-метионина. Каждый Xaa<sub>4</sub> независимо выбран из (B)<sub>2</sub>D-аргинина, (B)<sub>2</sub>D-нораргинина, (B)<sub>2</sub>D-гомоаргинина, ζ-(B)D-гомолизина, D-2,3-диаминопропионовой кислоты, ε-(B)D-лизина, ε-(B)<sub>2</sub>-лизинау D-(NH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-)фенилаланина, амидино-D-(NH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-)фенилаланина, γ-(B)<sub>2</sub>D-диаминомасляной кислоты, δ-(B)<sub>2</sub>α-(B')D-орнитина, D-2-амино-3(4-пиперидил)пропионовой кислоты, D-2-амино-3(2-аминопирролидил)пропионовой кислоты, D-α-амино-β-пропионовой кислоты, α-амино-4-пиперидинуксусной кислоты, цис-α,4-диаминоциклогексануксусной кислоты, транс-α,4-диаминоциклогексануксусной кислоты, цис-α-амино-4-метил-аминоциклогексануксусной кислоты, транс-α-амино-4-метиламиноциклогексануксусной кислоты, α-амино-1-амидино-4-пиперидинуксусной кислоты, цис-α-амино-4-гуанидиноциклогексануксусной кислоты и транс-α-амино-4-гуанидиноциклогексануксусной кислоты, где каждый (B) независимо выбран из группы, состоящей из -H и C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> алкила, и (B') представляет собой -H или (α-Me); и p равно 0 или 1.

[0052] В другом варианте G выбран как один из следующих четырех фрагментов:

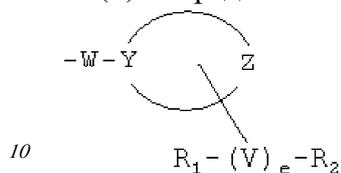
(i) G представляет собой



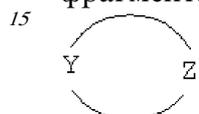
где каждое из p, q, r, s и t независимо равно 0 или 1, при условии, что как минимум одно из s и t равно 1; и L представляет собой линкер, выбранный из ε-D-лизина, ε-лизина, δ-D-орнитина, δ-орнитина, γ-амномасляной кислоты, 8-аминооктановой кислоты, 11-амино-ундекановой кислоты, 8-амино-3,6-диоксаоктановой кислоты, 4-амино-4-карбоксил пиперидина и (D-Lys-Gly лактам)<sub>2</sub>. Синтетические пептидные

амиды данного варианта в данном описании также равнозначно обозначаются как «димерные структуры», «димеры», или «димеры синтетических пептидных амидов», поскольку они включают два синтетических компонента пептидных амидов, соединенные линкерным фрагментом L.

5 (ii) G представляет собой

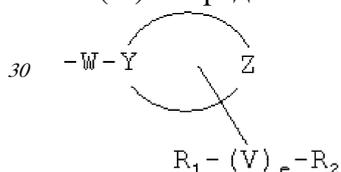


где  $p$  равно 1;  $Xaa_3$ - $Xaa_4$ - выбран из D-Nle-(B)<sub>2</sub>D-аргинина-, D-лейцин- $\delta$ -(B)<sub>2</sub> $\alpha$ -(B') D-орнитин-, и ( $\alpha$ -Me)D-лейцин- $\delta$ (B)<sub>2</sub>- $\alpha$ (B') D-орнитин-; и Y- и Z-содержащий кольцевой фрагмент,

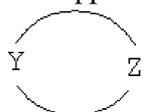


представляет собой необязательно замещенный фрагмент в виде 4-8-членного гетероциклического кольца, где все гетероатомы кольца в указанном кольцевом фрагменте представляют собой атомы азота; где каждый Y и Z независимо представляет собой атом углерода или атом азота; при условии, что если такой кольцевой фрагмент представляет собой 6-, 7- или 8-членное кольцо, Y и Z разделены как минимум двумя атомами кольца; и при условии, что если такой кольцевой фрагмент содержит один гетероатом, который является атомом азота, то такой кольцевой фрагмент не является ароматическим.

25 (iii) G представляет собой

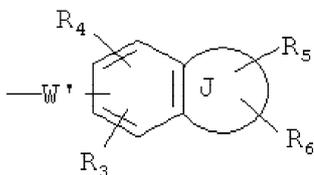


35 где  $p$  равно 1;  
и фрагмент



представляет собой необязательно замещенный фрагмент в виде 4-8-членного гетероциклического кольца, где Y представляет собой C или N, и Z представляет собой атом углерода, атом азота, атом кислорода, атом серы, сульфоксидную группу или сульфонильную группу; при условии, что если такой кольцевой фрагмент представляет собой 6-, 7- или 8-членное кольцо, Y и Z разделены как минимум двумя атомами кольца; при условии, что если такой кольцевой фрагмент не является ароматическим, и Z представляет собой атом углерода или атом азота то такой кольцевой фрагмент включает как минимум один гетероатом серы или кислорода в кольце; и при условии, что если такой кольцевой фрагмент является ароматическим, то Y представляет собой атом углерода; и (iv) G представляет собой

50



5

где J представляет собой 5-, 6- или 7-членный гетероциклический кольцевой фрагмент, содержащий 1, 2 или 3 гетероатома в кольце, где каждый из R<sub>3</sub> и R<sub>4</sub> независимо выбран из C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> алкила, галогена, -ОН, -CF<sub>3</sub>, -NH<sub>2</sub>, -COОН и амидино; и

10

каждый из R<sub>5</sub>, и R<sub>6</sub> независимо выбран из C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> алкила, оксо, галогена, -ОН, -CF<sub>3</sub>, -NH<sub>2</sub>, -COОН и амидино; где W' выбран из: нуль;

-NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>b</sub>-, где b равно 0, 1, 2, 3, 4, 5 или 6; и

-NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>c</sub>-O-, где c равно 2 или 3.

15

[0053] В другом варианте, V представляет собой C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкил, и e равно 0 или 1, где если e равно 0, то V равен 0, и R<sub>1</sub> и R<sub>2</sub> непосредственно присоединены к одному и тому же или различным атомам кольца; где

(a) R<sub>1</sub> представляет собой -H, -ОН, галоген, CF<sub>3</sub>, -NH<sub>2</sub>, -COОН, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкил, амидино, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкилзамещенный амидино, арил, необязательно замещенный

20

гетероциклил, Pro-амид, Pro, Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Lys, Arg, Orn, Ser, Thr, CN, CONH<sub>2</sub>, COR', SO<sub>2</sub>R', CONR'R'', NHCOR', OR' или SO<sub>2</sub>NR'R''; где указанный необязательно замещенный гетероциклил необязательно содержит 1 или 2 заместителя, независимо выбранные из группы, состоящей из C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкила, -C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкокси, оксо, -

25

ОН, -Cl, -F, -NH<sub>2</sub>, -NO<sub>2</sub>, -CN, -COОН и амидино; где каждый из R' и R'' независимо представляет собой -H, C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> алкил, арил, гетероциклил, или R' и R'' образуют 4-8-

членное кольцо, которое необязательно замещено 1 или 2 заместителями, независимо выбранными из группы, состоящей из C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкила, -C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкокси, -ОН, -Cl, -F, -NH<sub>2</sub>, -NO<sub>2</sub>, -CN и -COОН, амидино; и R<sub>2</sub> представляет собой H, амидино, амидино,

30

замещенный одним или двумя C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкилом, -CN, -CONH<sub>2</sub>, -CONR'R'', -NHCOR', -SO<sub>2</sub>NR'R'' или -COОН; или

(b) R<sub>1</sub> и R<sub>2</sub> вместе могут образовывать необязательно замещенный фрагмент в виде 4-9-членного гетероциклического моноциклического или бициклического кольца, который присоединен к одному атому кольца Y- и Z-содержащего кольцевого фрагмента; или

35

(c) R<sub>1</sub> и R<sub>2</sub> вместе с одним атомом кольца Y- и Z-содержащего кольцевого кольца могут образовывать необязательно замещенный 4-8-членный гетероциклический кольцевой фрагмент с образованием спироструктуры; или

40

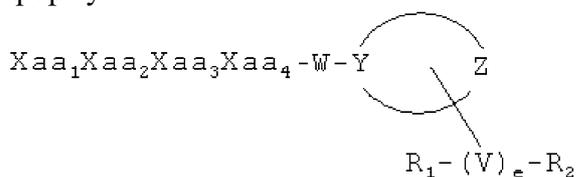
(d) R<sub>1</sub> и R<sub>2</sub> вместе с двумя или больше соседними атомами кольца Y- и Z-содержащего кольцевого фрагмента могут образовывать необязательно замещенный фрагмент в виде 4-9-членного гетероциклического моноциклического или бициклического кольца, конденсированного с Y- и Z-содержащим кольцевым фрагментом; и где каждый из указанного необязательно замещен 4-9-членным гетероциклическим кольцевым фрагментам, содержащим R<sub>1</sub> и R<sub>2</sub>, необязательно одинарно или дважды замещенные заместителями, независимо выбранными из группы, состоящей из C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкила, -C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкокси, необязательно замещенного фенилом, оксо, -ОН, -Cl, -F, -NH<sub>2</sub>, -NO<sub>2</sub>, -CN, -COОН и амидино;

50

при условии, что если Y- и Z-содержащий кольцевой фрагмент представляет собой 6- или 7-членное кольцо, содержащее один гетероатом в кольце, и если один из Y и Z представляет собой C, и другой из Y и Z представляет собой N, и e равно 0, то R<sub>1</sub> не

является -ОН, и R<sub>1</sub> и R<sub>2</sub> оба не являются -Н; при условии, что если Y- и Z-содержащий кольцевой фрагмент представляет собой неароматическое 6-членное кольцо, содержащее два гетероатома в кольце, как Y, так и Z представляет собой N, W равен 0, и -V<sub>e</sub>(R<sub>1</sub>)(R<sub>2</sub>) присоединен к Z, то -V<sub>e</sub>(R<sub>1</sub>)(R<sub>2</sub>) выбран из группы, состоящей из амидино, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкилзамещенного амидино, дигидроимидазола, -CH<sub>2</sub>COOH и -CH<sub>2</sub>C(O)NH<sub>2</sub>; и, наконец, при условии, что если Y- и Z-содержащий кольцевой фрагмент представляет собой 6-членное кольцо, содержащее гетероатом S или O в кольце, или если Y- и Z-содержащий кольцевой фрагмент представляет собой 6-членное кольцо, содержащих два гетероатома в кольце, где как Y, так и Z представляет собой N, и W равен 0, или если Y- и Z-содержащий кольцевой фрагмент представляет собой 6-членное ароматическое кольцо, содержащее один гетероатом в кольце, и гетероатом представляет собой N, то, если e равно 0, R<sub>1</sub> и R<sub>2</sub> оба не являются -Н.

[0054] Также в другом варианте предложены синтетические пептидные амиды формулы:



и их стереоизомеры, смеси стереоизомеров, рацематы, пролекарства, фармацевтически приемлемые соли, гидраты, сольваты, N-оксиды, гидраты солей кислот и изоморфные кристаллические формы; где

Xaa<sub>1</sub> выбран из (A)(A')D-Phe, (α-Me)D-Phe, D-Tyr, D-Tic, D-фенилглицин, D-гомофенилаланин и β-(E)D-Ala, где каждый из (A) и (A') представляют собой заместители в фенильном кольце, независимо выбранные из -H, -F, -Cl, -NO<sub>2</sub>, -CH<sub>3</sub>, -CF<sub>3</sub>, -CN и CONH<sub>2</sub>, и (E) выбран из циклобутила, циклопентила, циклогексила, пиридила, тиенила и тиазолила. Xaa<sub>2</sub> выбран из (A)(A')D-Phe, (α-Me)D-Phe, D-1Nal, D-2Nal, D-Tyr, (E)D-Ala и D-Trp; и Xaa<sub>3</sub>-Xaa<sub>4</sub> выбран из D-Nle-(B)<sub>2</sub>D-Arg-, D-Leu-δ-(B)<sub>2</sub>α-(B')D-Orn- и (α-Me)D-Leu-δ(B)<sub>2</sub>-α(B')D-Orn-; где каждый (B) независимо выбран из -H и C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> алкила, и (B') представляет собой -H или (α-Me). W в формуле выше выбран как один из следующих трех вариантов:

(i) нуль, при условии, что если W равен 0, Y представляет собой N; или

(ii) -N-(CH<sub>2</sub>)<sub>b</sub>, где b равно 0, 1, 2, 3, 4, 5 или 6;

или

(iii) -N-(CH<sub>2</sub>)<sub>c</sub>-O-, где c равно 2 или 3, при условии, что Y представляет собой атом углерода.

[0055] В одном варианте Y- и Z-содержащий фрагмент в упомянутой выше формуле представляет собой необязательно замещенное 4-8 членный насыщенный гетероциклический кольцевой фрагмент, содержащий 1 или 2 атома азота, в котором ни один из атомов кольца, кроме Y и Z, не является гетероатомом, Y представляет собой C или N, Z представляет собой C или N, и как минимум один из Y и Z представляет собой N, и при условии, что в случае 4- или 5-членных гетероциклических колец или Y, или Z представляет собой C, и в случае гетероцикла, содержащего 2 атома азота, Y и Z разделены двумя или больше атомами углерода кольца.

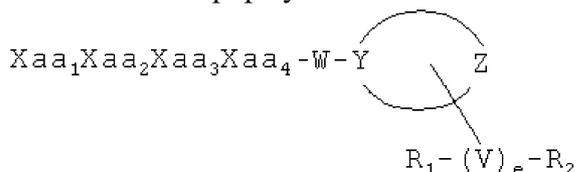
[0056] В другом варианте, если Y- и Z-содержащий кольцевой фрагмент представляет собой насыщенное 6-членное кольцо, которое содержит только два

гетероатома в кольце, которые оба представляет собой N, и W равен O, то Z не является N.

[0057] В другом варианте фрагмент V представляет собой C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкил, и e равно 0 или 1, где если e равно 0, то V равен 0, и R<sub>1</sub> и R<sub>2</sub> непосредственно присоединены к одному и тому же или различным атомам кольца. R<sub>1</sub> представляет собой H, OH, -NH<sub>2</sub>, -COOH, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкил, амидино, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкилзамещенный амидино, дигидроимидазол, Pro-амид, Pro, Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Lys, Arg, Orn, Ser, Thr, CN, CONH<sub>2</sub>, CONR'R", NHCOR' или SO<sub>2</sub>NR'R", где каждый из R' и R" независимо представляет собой H или C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкил, или R' и R" образуют 4-8-членное кольцо, где кольцо необязательно замещено 1 или 2 заместителями, независимо выбранными из C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкила, -OH, -Cl, -F, -NH<sub>2</sub>, -NO<sub>2</sub>, -CN и -COOH, амидино; и R<sub>2</sub> представляет собой H, амидино, амидино, замещенный одним или двумя C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкилом, -CN, -CONH<sub>2</sub>, -CONR'R", -NHCOR', -SO<sub>2</sub>NR'R" или -COOH.

[0058] В одном варианте, формула I подлжит двум условиям: (i) если Y- и Z-содержащий кольцевой фрагмент представляет собой 6- или 7-членное кольцо, и если один из Y и Z представляет собой C, и e равно 0, то R<sub>1</sub> не является OH, и R<sub>1</sub> и R<sub>2</sub> оба не являются H; и (ii) если Y-и Z-содержащий кольцевой фрагмент представляет собой 6-членное кольцо, как Y, так и Z представляет собой N, и W равен 0, то -(V)<sub>e</sub>R<sub>1</sub>R<sub>2</sub> присоединен к атому кольца, кроме Z; и если e равно 0, то R<sub>1</sub> и R<sub>2</sub> оба не являются -H.

[0059] В определенных вариантах синтетические пептидные амиды по изобретению описываются формулой:



где Xaa<sub>1</sub> выбран из (A)(A')D-Phe, (α-Me)D-Phe, D-Tyr, D-Tic и (E)D-Ala, где каждый из A и A' представляет собой заместитель в фенильном кольце, независимо выбранный из -H, -F, -Cl, -NO<sub>2</sub>, -CH<sub>3</sub>, -CF<sub>3</sub>, -CN, -CONH<sub>3</sub>, и где E выбран из группы, состоящей из циклопентила, пиридила, тиенила и тиазолила. Xaa<sub>2</sub> выбран из (A) (A')D-Phe, (α-Me)D-Phe, D-1Nal, D-2Nal, D-Tyr, (E)D-Ala и D-Trp. Xaa<sub>3</sub> выбран из D-Nle, D-Phe, циклопентил-D-Ala, D-Leu, (α-Me)D-Leu, D-Hle, D-Val и D-Met. Xaa<sub>4</sub> выбран из (B)<sub>2</sub>D-Arg, (B)<sub>2</sub>D-nArg, (B)<sub>2</sub>D-Nar, ζ-(B)D-Hlys, D-Dap, ε-(B)D-Lys, ε-(B)<sub>2</sub>-D-Lys, D-Amf, амидино-D-Amf, γ-(B)<sub>2</sub>D-Dbu, δ-(B)<sub>2</sub>α-(B')D-Orn, D-2-амино-3(4-пиперидил)пропионовой кислоты, D-2-амино-3(2-аминопирролидил)пропионовой кислоты, D-α-амино-β-амидинопропионовой кислоты, (R)-α-амино-4-пиперидинуксусной кислоты, цис-α,4-диаминоциклогексануксусной кислоты, транс-α,4-диаминоциклогексануксусной кислоты, цис-α-амино-4-метиламиноциклогексануксусной кислоты, транс-α-амино-4-метиламиноциклогексануксусной кислоты, α-амино-1-амидино-4-пиперидинуксусной кислоты, цис-α-амино-4-гуанидиноциклогексануксусной кислоты и транс-α-амино-4-гуанидиноциклогексануксусной кислоты, где каждый (B) независимо выбран из группы, состоящей из H и C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкила, и (B') представляет собой H или (α-Me). Фрагмент W выбран как один из следующих трех вариантов:

(i) нуль; (ii) -N-(CH<sub>2</sub>)<sub>b</sub>, где b равно 0, 1 2, 3, 4, 5 или 6; и

(iii) -N-(CH<sub>2</sub>)<sub>c</sub>-O-, где c равно 2 или 3, при условии, что Y представляет собой атом углерода.

[0060] Y- и Z-содержащий кольцевой фрагмент,



5

представляет собой необязательно замещенное 6-8-членный насыщенный гетероциклический кольцевой фрагмент, где ни один из атомов кольца, кроме Y и Z, не является гетероатомом, Y и Z разделены как минимум двумя углеродными атомами кольца, Y представляет собой C или N, и Z представляет собой S, O или N.

10

[0061] Фрагмент V представляет собой C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкил, и e равно 0 или 1, где если e равно 0, то V равен 0, и R<sub>1</sub> и R<sub>2</sub> непосредственно присоединены к одному и тому же или различным атомам кольца; R<sub>1</sub> представляет собой H, OH, -NH<sub>2</sub>, -COOH, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкил, амидино, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкилзамещенный амидино, дигидроимидазол, D-Pro, Gly, D-Ala, D-Val, D-Leu, D-Ile, D-Lys, D-Arg, D-Orn, D-Ser, D-Thr, -CN, -CONH<sub>2</sub>, -CONR'R'', -NHCOR' или -SO<sub>2</sub>NR'R'', где каждый из R' и R'' независимо представляет собой -H или C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> алкил, или R' и R'' образуют 4-8-членное кольцо, которое необязательно замещено 1 или 2 заместителями, независимо выбранными из C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкила, -OH, -Cl, -F, -NH<sub>2</sub>, -NO<sub>2</sub>, -CN и -COOH, амидино; и R<sub>2</sub> представляет собой -H, амидино, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкилзамещенный амидино, -CN, -CONH<sub>2</sub>, -CONR'R'', -NHCOR', -SO<sub>2</sub>NR'R'' или -COOH.

15

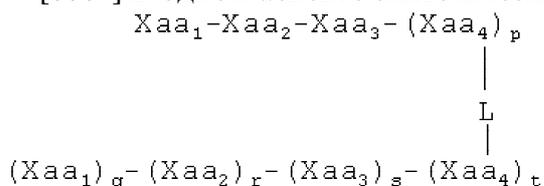
[0062] В определенных вариантах применяют одно из следующих трех условий: если e равно 0, то R<sub>1</sub> и R<sub>2</sub> оба не являются H; если W представляет собой -N-(CH<sub>2</sub>)<sub>c</sub>-O-, то Y представляет собой C, и c равно 2 или 3; или (iii) если Z представляет собой N, то Y представляет собой N, W равен 0, Y- и Z-содержащий кольцевой фрагмент представляет собой неароматическое 6-членное кольцо, и -V<sub>e</sub>(R<sub>1</sub>)(R<sub>2</sub>) присоединен к Z, и -V<sub>e</sub>(R<sub>1</sub>)(R<sub>2</sub>) выбран из амидино, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкилзамещенного амидино, дигидроимидазола, -CH<sub>2</sub>COOH и -CH<sub>2</sub>C(O)NH<sub>2</sub>.

20

[0063] В определенных вариантах синтетические пептидные амиды по изобретению представляет собой димеры, которые включают два компонента синтетических пептидных амидов, соединенные линкерным фрагментом L.

[0064] В одном аспекте синтетические пептидные амиды описываются формулой:

25



30

[0065] В приведенной выше формуле каждый Xaa<sub>1</sub> независимо выбран из (A)(A')D-Phe, (α-Me)D-Phe, D-Tyr, D-Tic и (E)D-Ala, где каждый из (A) и (A') представляет собой заместитель в фенильном кольце, независимо выбранный из -H, -F, -Cl, -NO<sub>2</sub>, -CH<sub>3</sub>, -CF<sub>3</sub>, -CN, -CONH<sub>2</sub>, и где (E) выбран из тиенила, циклопентила, пиридила и тиазолила. Каждый Xaa<sub>2</sub> независимо выбран из (A)(A')D-Phe, (α-Me)D-Phe, D-1Nal, D-2Nal, D-Tyr и D-Trp; и r равно 0 или 1. Каждый Xaa<sub>3</sub> независимо выбран из D-Nle, D-Phe, циклопентил-D-Ala, D-Leu, (α-Me)D-Leu, D-Hle, D-Val и D-Met; и s равно 0 или 1. Каждый Xaa<sub>4</sub> независимо выбран из (B)<sub>2</sub>D-Arg, (B)<sub>2</sub>D-nArg, (B)<sub>2</sub>D-Har, ε-(B)D-Hlys, D-2,3-диаминопропионовой кислоты, ε-(B)D-Lys, ε-(B)<sub>2</sub>-D-Lys, D-Amf, амидино-D-Amf, (B)<sub>2</sub>D-Dbu, δ-(B)<sub>2</sub>α-(B')D-Orn, D-2-амино-3(4-пиперидил)пропионовой кислоты, D-2-амино-3(2-аминопирролидил)пропионовой кислоты, D-α-амино-β-амидинопропионовой кислоты, где каждый (B) независимо выбран из группы,

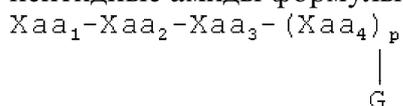
35

состоящей из H и C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> алкила, и (B') представляет собой H или (α-Me); и каждое из p, q, r, s и t независимо равно 0 или 1, при условии, что как минимум одно из q, r, s и t равно 1. В некоторых аспектах изобретения, как минимум одно из s и t равно 1.

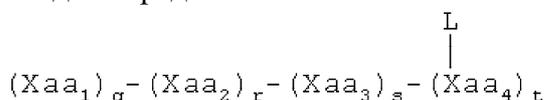
[0066] Фрагмент L представляет собой линкер, выбранный из ε-D-Lys, ε-Lys, δ-D-Orn, δ-Orn, γ-аминомасляной кислоты, 8-аминооктановой кислоты, 11-аминоундекановой кислоты, 8-амино-3,6-диоксаоктановой кислоты, амидино-4-амино-4-карбоксил пиперидина и (D-Lys-Gly пактам)<sub>2</sub>.

[0067] Стереизомеры, смеси стереоизомеров, пролекарства, фармацевтически приемлемые соли, гидраты, сольваты, гидраты солей кислот, N-оксиды и изоморфные кристаллические формы таких синтетических пептидных амидов также находятся в пределах контекста настоящего изобретения.

[0068] В другом аспекте настоящего изобретения предлагаются синтетические пептидные амиды формулы:

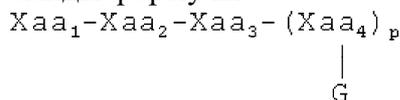


где G представляет собой

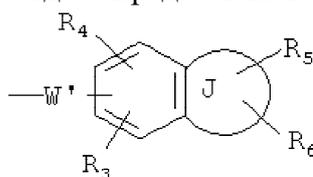


и, где q равно 0 или 1; r равно 0 или 1; s равно 0 или 1; каждое из p и t независимо представляет собой 0 или 1, при условии, что как минимум одно из q, r, s и t равно 1; и L представляет собой линкеру выбранный из ε-D-Lys, ε-Lys, δ-D-Orn, δ-Orn, γ-аминомасляной кислоты, 8-аминооктановой кислоты, 11-аминоундекановой кислоты, 8-амино-3,6-диоксаоктановой кислоты, 4-амино-4-карбоксил пиперидина и (D-Lys-Gly пактам)<sub>2</sub>.

[0069] В другом варианте изобретения предлагаются синтетические пептидные амиды формулы:

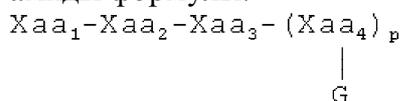


где G представляет собой

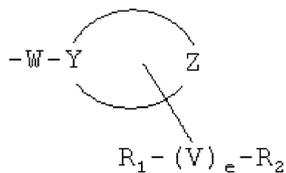


где J представляет собой 5-, 6- или 7-членный гетероциклический кольцевой фрагмент, содержащий 1, 2 или 3 гетероатома в кольце, где каждый из R<sub>3</sub> и R<sub>4</sub> независимо выбран из C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкила, галогена, -OH, -CF<sub>3</sub>, -NH<sub>2</sub>, -COOH и амидино; и каждый из R<sub>5</sub> и R<sub>6</sub> независимо выбран из C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> алкила, оксо, галогена, -OH, -CF<sub>3</sub>, -NH<sub>2</sub>, -COOH и амидино.

[0070] В другом варианте изобретения предлагаются синтетические пептидные амиды формулы:

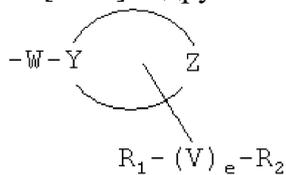


где G представляет собой



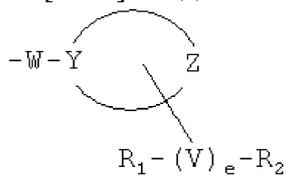
и W равен 0, Y представляет собой N, и Z представляет собой C. В одном аспекте, Y- и Z-содержащий кольцевой фрагмент представляет собой 6-членное насыщенное кольцо, содержащее один гетероатом в кольце.

10 [0071] В другом варианте, G представляет собой



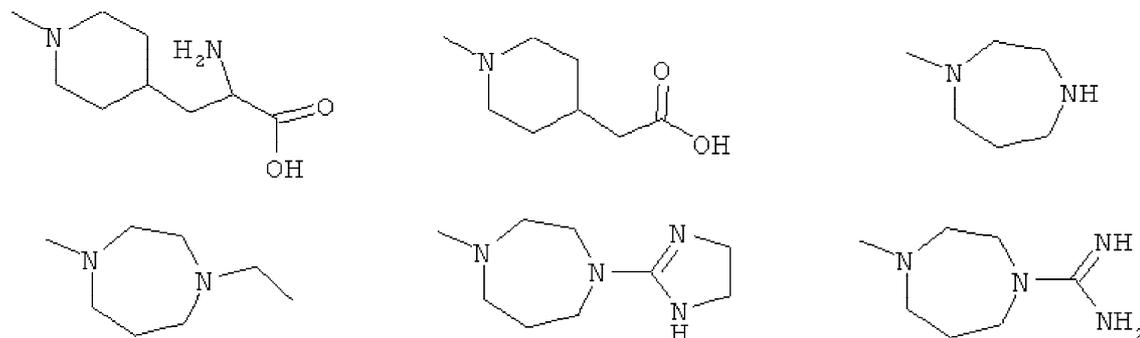
и Y и Z оба представляют собой N и являются единственными гетероатомами в кольце в Y- и Z-содержащем кольцевом фрагменте. В другом варианте, e равно 0, и заместители R<sub>1</sub> и R<sub>2</sub>, вместе с 0, 1 или 2 атомами кольца Y- и Z-содержащего кольцевого фрагмента составляют моноциклический или бициклический 4-9-членный гетероциклический кольцевой фрагмент. В одном аспекте данного варианта, R<sub>1</sub> и R<sub>2</sub> вместе с одним атомом кольца Y- и Z-содержащего кольцевого фрагмента составляют 4-8-членный гетероциклический кольцевой фрагмент, который вместе с Y- и Z-содержащим кольцевым фрагментом образует спироструктуру, и W равен 0.

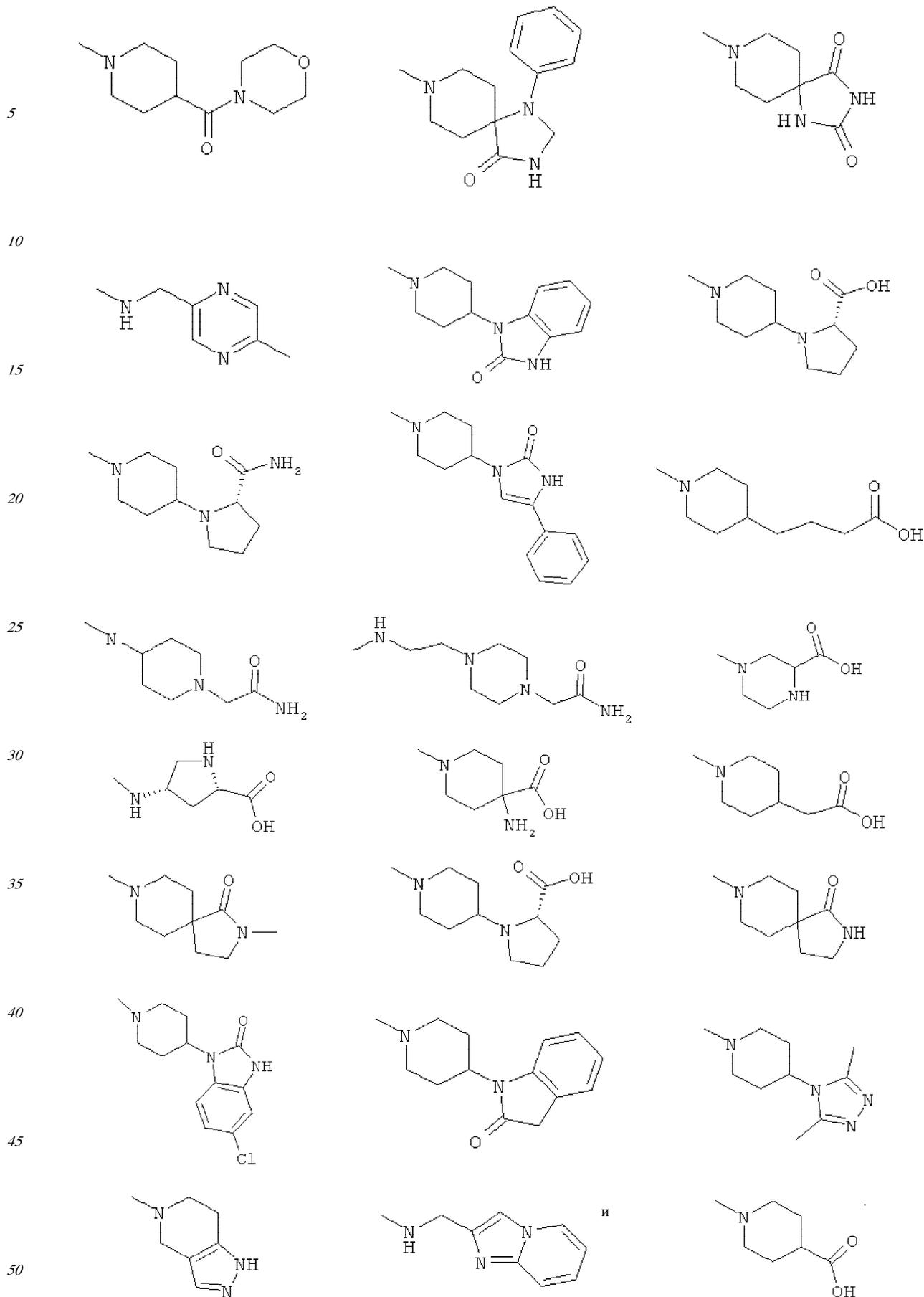
25 [0072] В одном варианте, G представляет собой



и e равно 0, и R<sub>1</sub> и R<sub>2</sub> присоединены непосредственно к одному и тому же атому кольца. Альтернативно, в другом варианте R<sub>1</sub> представляет собой H, OH, -NH<sub>2</sub>, -COOH, -CH<sub>2</sub>COOH, C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> алкил, амидино, C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> алкилзамещенный амидино, дигидроимидазол, D-Pro, D-Pro-амид или CONH<sub>2</sub>, и где R<sub>2</sub> представляет собой H, -COOH или C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> алкил.

[0073] В другом варианте G выбран из:

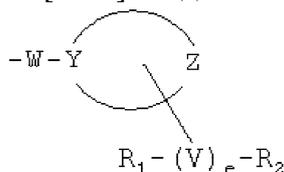




[0074] В одном варианте изобретения предлагаются синтетические пептидные

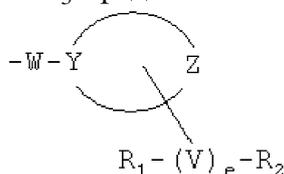
амиды, где каждый Хаа<sub>2</sub> представляет собой D-Phe, каждый Хаа<sub>3</sub> представляет собой D-Nle, и каждый Хаа<sub>4</sub> представляет собой D-Arg. В другом варианте, каждый Хаа<sub>1</sub> представляет собой D-Ala(2-тиенил).

[0075] В одном варианте G представляет собой



и дипептид Хаа<sub>3</sub>-Хаа<sub>4</sub> выбран из D-Leu-D-Orn и D-Nle-D-Arg. В другом варианте Хаа<sub>1</sub>-Хаа<sub>2</sub> представляет собой D-Phe-D-Phe. В другом варианте Хаа<sub>1</sub> представляет собой D-(4-F)Phe, и Хаа<sub>2</sub> представляет собой D-(4-Cl)Phe.

[0076] В другом варианте каждый Хаа<sub>1</sub> представляет собой D-Phe или D-Ala(2-тиенил), и каждый Хаа<sub>2</sub> представляет собой D-(4-Cl)Phe. В другом варианте каждый Хаа<sub>3</sub> представляет собой D-Leu или D-Nle. В другом варианте G представляет собой



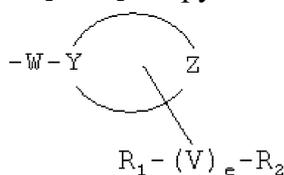
и Хаа<sub>1</sub> выбран из D-Phe, D-(4-F)Phe, D-(2-F)Phe, циклопентил D-Ala, D-Ala 2-тиенила, Хаа<sub>2</sub> выбран из D-(4-F)Phe, D-(4-Cl)Phe, D-1Nal, D-2Nal и D-Trp, и Хаа<sub>3</sub>-Хаа<sub>4</sub> выбран из D-Nle-D-Arg и D-Leu-D-Orn.

[0077] В одном варианте Хаа<sub>1</sub> может представлять собой (A)(A')D-Phe, и в одном аспекте каждый Хаа<sub>1</sub> представляет собой D-Phe. В другом варианте каждый Хаа<sub>2</sub> представляет собой D-Phe. В другом варианте, каждый Хаа<sub>3</sub> выбран из D-Nle и D-Leu.

В другом варианте каждый Хаа<sub>4</sub> выбран из δ(B)<sub>2</sub>D-Orn и D-Arg. В одном аспекте каждый Хаа<sub>4</sub> представляет собой δ(B)<sub>2</sub>D-Orn, и каждый (B) выбран из -H, метила и изопропила. В другом аспекте каждый Хаа<sub>4</sub> представляет собой (B)<sub>2</sub>D-Orn, где один из (B) представляет собой H, и другой (B) выбран из группы, состоящей из метила и изопропила. В другом аспекте каждый Хаа<sub>4</sub> представляет собой D-Orn.

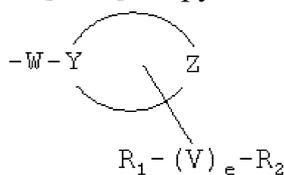
[0078] В другом варианте каждый Хаа<sub>4</sub> выбран из (B)<sub>2</sub>D-Arg и δ-(B)<sub>2</sub>D-Orn. В одном аспекте каждый Хаа<sub>4</sub> выбран из D-Arg, (Et)<sub>2</sub>D-Arg и δ-(B)D-Orn, и (B) представляет собой H, Me, iPr или Bu.

[0079] В другом варианте G представляет собой



и W равен 0.

[0080] В другом варианте G представляет собой



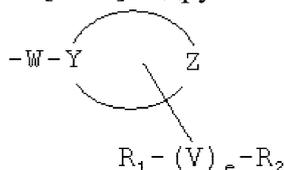
и W представляет собой -N-(CH<sub>2</sub>)<sub>b</sub>, где b равно 0, 1, 2, 3 или 4. В одном аспекте b

равно 0, и Y представляет собой атом углерода. В другом аспекте b равно 1 или 2, и Y представляет собой атом азота. В другом варианте W представляет собой -N-(CH<sub>2</sub>)<sub>c</sub>-O-. В одном аспекте c равно 1 или 2. В другом аспекте Y- и Z-содержащий кольцевой фрагмент представляет собой 4- или 5-членное кольцо, и Y представляет собой атом азота. В другом варианте Y- и Z-содержащий кольцевой фрагмент представляет собой 4-или 5-членное кольцо, и Y представляет собой атом углерода.

[0081] В другом варианте Y- и Z-содержащий кольцевой фрагмент представляет собой 6- или 7-членное кольцо, Y представляет собой атом азота, и Z представляет собой атом углерода. В другом альтернативной варианте, Y- и Z-содержащий кольцевой фрагмент представляет собой 6-членное кольцо. В одном аспекте Y- и Z-содержащий кольцевой фрагмент представляет собой 7-членное кольцо. Еще в одном аспекте Y- и Z-содержащий кольцевой фрагмент представляет собой 6- или 7-членное кольцо, и как Y, так и Z представляют собой атомы азота.

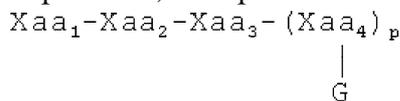
[0082] В другом варианте e равно 0, и R<sub>1</sub> и R<sub>2</sub> присоединены непосредственно к одному и тому же атому кольца. В одном аспекте e равно 0, R<sub>2</sub> представляет собой -H, и R<sub>1</sub> присоединен непосредственно к углеродному атому кольца, соседнему с Z. В другом аспекте R<sub>1</sub> представляет собой H, амидино, C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> алкилзамещенный амидино, C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> алкил, дигидроимидазол, D-Pro, D-Pro-амид или -CONH<sub>2</sub>, и где e равно 0, и R<sub>2</sub> представляет собой -H. В другом аспекте R<sub>1</sub> представляет собой -H, амидино или метиламидино. В одном аспекте Y- и Z-содержащий кольцевой фрагмент представляет собой 5-членное кольцо, e равно 0, и R<sub>1</sub> представляет собой -COOH.

[0083] В другом варианте G представляет собой

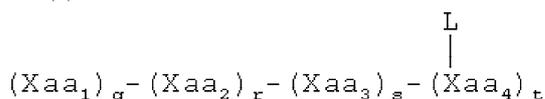


и Хаа<sub>1</sub> представляет собой D-Phe, Хаа<sub>2</sub> представляет собой D-Phe, Хаа<sub>3</sub> представляет собой D-Leu, Хаа<sub>4</sub> представляет собой δ-(B)<sub>2</sub>D-Orn, где (B) представляет собой -H, метил или изопропил; в дальнейшем, где W равен 0, Y- и Z-содержащий кольцевой фрагмент представляет собой 6- или 7-членное кольцо, Y представляет собой атом азота, e равно 0, R<sub>1</sub> представляет собой -NH<sub>2</sub>, амидино, C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> алкил, C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> алкилзамещенный амидино, дигидроимидазол, D-Pro или D-Pro-амид, и R<sub>2</sub> представляет собой H или -COOH.

[0084] В определенных вариантах синтетических пептидных амидов по изобретению присутствуют два независимых остатка Хаа<sub>1</sub>, Хаа<sub>2</sub>, Хаа<sub>3</sub> и Хаа<sub>4</sub>. Например, в вариантах, которые описываются формулой:



где G является:



и одно или больше из q, r, и s равно 1, или как p, так и t равны 1, то присутствуют два остатка Хаа<sub>1</sub>, Хаа<sub>2</sub>, Хаа<sub>3</sub> и Хаа<sub>4</sub>, соответственно. В таких вариантах, каждый остаток из Хаа<sub>1</sub>, Хаа<sub>2</sub>, Хаа<sub>3</sub> и Хаа<sub>4</sub> может быть идентичен. Таким образом, оба остатка Хаа<sub>1</sub> могут быть идентичны, например, D-фенилаланин. Также, каждый

остаток Хаа<sub>2</sub>, Хаа<sub>3</sub> и Хаа<sub>4</sub> может быть идентичен. Таким образом, например, каждый Хаа<sub>2</sub> может представлять собой D-(4-F)фенилаланин, каждый Хаа<sub>3</sub> может быть D-лейцином, и каждый Хаа<sub>4</sub> может быть D-аргинином.

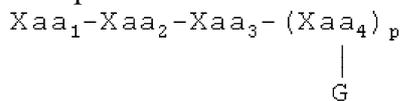
5 [0085] Альтернативно и в других вариантах, каждый остаток из одной или больше пар остатков Хаа<sub>1</sub>, Хаа<sub>2</sub>, Хаа<sub>3</sub> или Хаа<sub>4</sub> может быть другим. Например, один остаток Хаа<sub>1</sub> может быть D-фенилаланином, в то время как второй остаток Хаа<sub>1</sub> в той же молекуле может быть другим остатком Хаа<sub>1</sub>, например, D-(4-F)фенилаланином. Подобным образом, один остаток Хаа<sub>2</sub> может быть D-фенилаланином, в то время как 10 второй остаток Хаа<sub>2</sub> в такой же молекуле может представлять собой D-Ala(2-тиенил). Подобным образом, один остаток Хаа<sub>3</sub> может представлять собой D-норлейцин, в то время как второй остаток Хаа<sub>3</sub> в той же молекуле может представлять собой D-лейцин. В такой же форме, один остаток Хаа<sub>4</sub> может представлять собой D-орнитин, в то 15 время как второй остаток Хаа<sub>4</sub> в той же молекуле может представлять собой D-аргинин, и т.д.

[0086] В одном варианте изобретения предлагаются синтетические пептидные амиды, где Хаа<sub>1</sub> представляет собой D-Ala(2-тиенил). В другом варианте Хаа<sub>1</sub> 20 представляет собой D-(4-F) фенилаланин, и Хаа<sub>2</sub>, представляет собой D-(4-Cl)фенилаланин. В другом варианте каждый Хаа<sub>1</sub> представляет собой D-фенилаланин или D-Ala(2-тиенил), и каждый Хаа<sub>2</sub> представляет собой D-(4-Cl)фенилаланин. В другом варианте Хаа<sub>1</sub>-Хаа<sub>2</sub> представляет собой D-фентлаланин-D-фенилаланин.

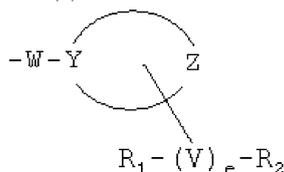
[0087] В одном варианте каждый Хаа<sub>3</sub> выбран из D-норлейцина и D-лейцина. В 25 другом варианте каждый Хаа<sub>2</sub> представляет собой D-фенилаланин, каждый Хаа<sub>3</sub> представляет собой D-норлейцин, и каждый Хаа<sub>4</sub> представляет собой D-аргинин. В другом варианте каждый Хаа<sub>3</sub> может быть D-лейцином или D-норлейцином.

[0088] В другом варианте Хаа<sub>4</sub> выбран из δ(B)<sub>2</sub>D-орнитина и D-аргинина. 30 Альтернативно, каждый Хаа<sub>4</sub> представляет собой δ(B)<sub>2</sub>D-орнитин и каждый (B) выбран из -H, метила и изопропила. В другом варианте, каждый Хаа<sub>4</sub> представляет собой (B)<sub>2</sub>D-орнитин, где один (B) представляет собой -H и другой (B) выбран из метила и изопропила. В одном аспекте каждый Хаа<sub>4</sub> представляет собой (B)<sub>2</sub>D-аргинин или δ-(B)<sub>2</sub>D-орнитин. В другом варианте каждый Хаа<sub>4</sub> может представлять 35 собой остаток, выбранный из D-аргинина, (Et)<sub>2</sub>D-аргинина и δ-(B)D-орнитина, и где (B) представляет собой -H, метил, изопропил или бутил. В одном варианте дипептид Хаа<sub>3</sub>-Хаа<sub>4</sub> выбран из D-лейцин-D-орнитина и D-норлейцин-D-аргинина.

[0089] В одном конкретном варианте синтетические пептидные амиды по 40 изобретению описываются формулой

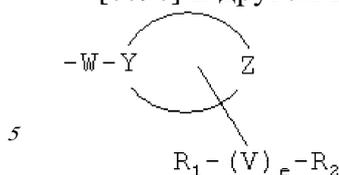


где G является:



50 и b равно 0, и Y представляет собой атом углерода. В другом варианте, b равно 1 или 2, и Y представляет собой атом азота. В конкретном аспекте изобретения, b равно 2.

[0090] В другом варианте G представляет собой



и Y- и Z-содержащий фрагмент представляет собой [ $\omega$ (4-аминопиперидин-4-карбоновая кислота)]-ОН.

10 [0091] В одном конкретном варианте  $Xaa_1$  выбран из D-Phe, D-(4-F)Phe, D-(2-F)Phe, циклопентил D-Ala, 2-тиенил D-Ala,  $Xaa_2$  выбран из D-(4-F)Phe, D-(4-Cl)Phe, D-1Nal, D-2Nal и D-Trp и  $Xaa_3$ - $Xaa_4$  выбран из D-Nle-D-Arg и D-Leu-D-Orn.

15 [0092] В другом варианте W представляет собой N-алкоксильный линкер формулы  $-N-(CH_2)_c-O-$ . В одном аспекте c равно 1 или 2. В альтернативном варианте W равен 0, и  $Xaa_1Xaa_2Xaa_3Xaa_4$  непосредственно присоединен к Y. Во втором альтернативном варианте, W представляет собой N-алкильный линкер формулы  $-NH-(CH_2)_2-$ .

20 [0093] В другом конкретном варианте, Y- и Z-содержащий кольцевой фрагмент представляет собой 4- или 5-членное кольцо, и Y представляет собой атом азота. Альтернативно, Y- и Z-содержащий кольцевой фрагмент может представлять собой 4- или 5-членное кольцо, где Y представляет собой атом углерода. В другом варианте, Y- и Z-содержащий кольцевой фрагмент представляет собой 6-или 7-членное кольцо, Y представляет собой атом азота, и Z представляет собой атом углерода. В одном аспекте данного варианта, Y- и Z-содержащий кольцевой фрагмент представляет собой 6-членное кольцо. Альтернативно, Y-и Z-содержащий кольцевой фрагмент может представлять собой 7-членное кольцо. В одном аспекте данного варианта, Y- и Z-содержащий кольцевой фрагмент представляет собой 6- или 7-членное кольцо, и как Y, так и Z представляют собой атомы азота. Альтернативно, Y- и Z-содержащий кольцевой фрагмент может представлять собой 6-членное кольцо. Еще в одном альтернативном варианте, Y- и Z-содержащий кольцевой фрагмент представляет собой 7-членное кольцо.

35 [0094] В другом конкретном варианте Y- и Z-содержащий кольцевой фрагмент представляет собой 6- или 7-членное кольцо, Y представляет собой атом углерода, и Z представляет собой атом азота. В одном аспекте данного варианта, Y- и Z-содержащий кольцевой фрагмент представляет собой 6-членное кольцо. Альтернативно, Y-и Z-содержащий кольцевой фрагмент может представлять собой 7- или 8-членное кольцо. В одном аспекте Y представляет собой атом азота, и Z представляет собой атом углерода. В одном альтернативном варианте каждый из Y и Z представляет собой атом азота.

45 [0095] В другом конкретном варианте Y- и Z-содержащий кольцевой фрагмент представляет собой необязательно замещенный 4-8-членный гетероциклический кольцевой фрагмент, где Y представляет собой атом углерода или атом азота, и Z представляет собой углерод, азот, кислород, серу, сульфоксид или сульфонил; и 4-8-членный гетероциклический кольцевой фрагмент необязательно содержит 1 или 2 заместителя, независимо выбранные из  $C_1$ - $C_6$  алкила,  $-C_1$ - $C_6$  алкокси, оксо, -ОН, -Cl, -F,  $-NH_2$ ,  $-NO_2$ ,  $-CN$ ,  $-COOH$  и амидино. В одном аспекте, если Y- и Z-содержащий кольцевой фрагмент представляет собой 6, 7 или 8-членное кольцо, то Y и Z разделены как минимум двумя атомами кольца. В другом аспекте, если Y- и Z-содержащий кольцевой фрагмент не является ароматическим, и Z представляет собой

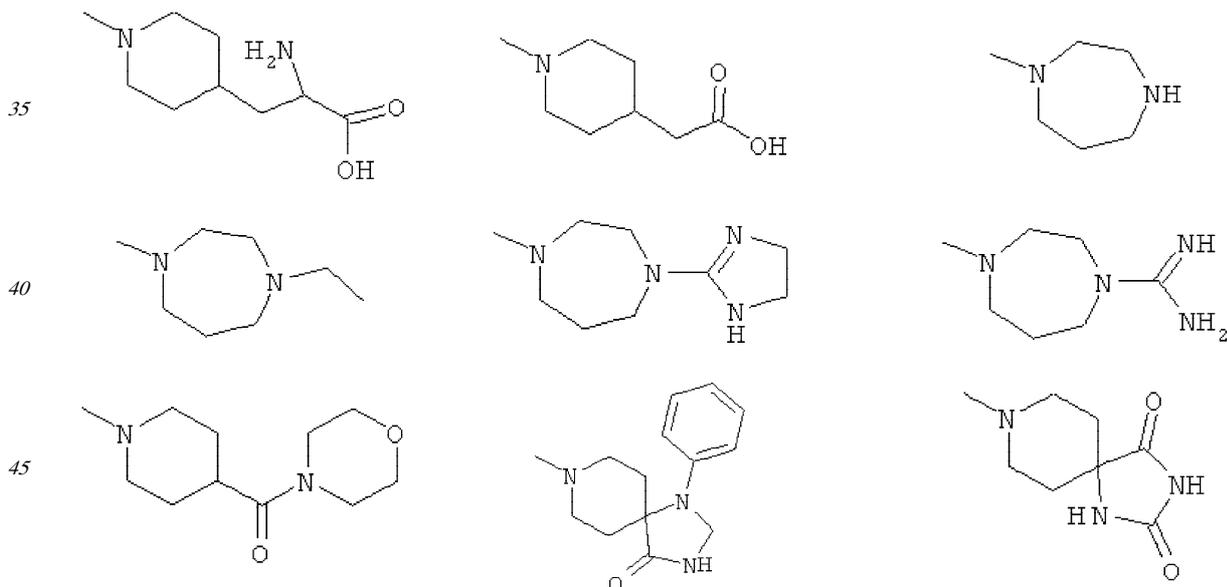
атом углерода или атом азота, то такой кольцевой фрагмент содержит как минимум один гетероатом серы или кислорода в кольце. В конкретном аспекте, если Y- и Z-содержащий кольцевой фрагмент является ароматическим, то Y представляет собой атом углерода.

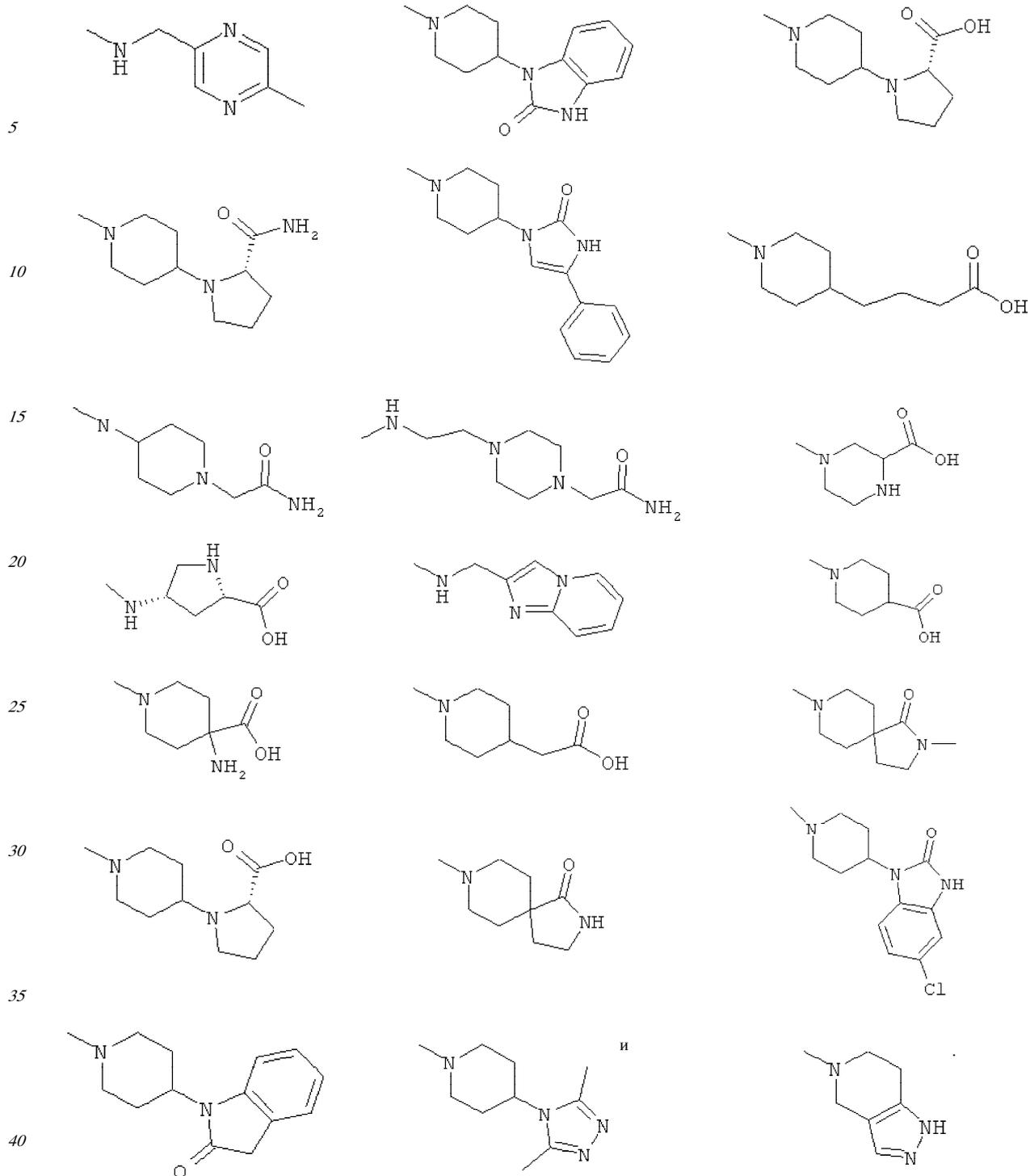
5 [0096] В одном варианте синтетических пептидных амидов по изобретению, R<sub>1</sub> представляет собой -H, -OH, -NH<sub>2</sub>, -COOH, C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> алкил, амидино, C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> алкилзамещенный амидино, дигидроимидазол, D-Pro, D-Pro-амид или -CONH<sub>2</sub>. В другом конкретном варианте R<sub>2</sub> представляет собой алкил -H, -COOH или C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>. В  
10 одном аспекте, только один из R<sub>1</sub> и R<sub>2</sub> представляет собой атом водорода. В конкретном варианте R<sub>1</sub> представляет собой -H, D-Pro, D-Pro-амид или -NH<sub>2</sub>, и R<sub>2</sub> представляет собой H или -COOH. В одном аспекте данного варианта, R<sub>1</sub> представляет собой -NH<sub>2</sub>, и R<sub>2</sub> представляет собой -COOH.

15 [0097] В одном варианте, e равно 0, и R<sub>1</sub> и R<sub>2</sub> присоединены непосредственно к одному и тому же атому кольца. В конкретном варианте, e равно 0, R<sub>2</sub> представляет собой -H, и R<sub>1</sub> присоединен непосредственно к углеродному атому кольца, соседнему с Z. В другом конкретном варианте, R<sub>1</sub> представляет собой -H, амидино, C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> алкил, замещенный амидино, C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> алкил, дигидроимидазол, D-Pro, D-Pro-амид или -CONH<sub>2</sub>,  
20 и e равно 0, и R<sub>2</sub> представляет собой -H.

[0098] В одном варианте синтетических пептидных амидов по изобретению, Хаа<sub>1</sub> представляет собой D-Phe, Хаа<sub>2</sub> представляет собой D-Phe, Хаа<sub>3</sub> представляет собой D-Leu, Хаа<sub>4</sub> представляет собой δ-(B)<sub>2</sub>D-Orn, где (B) представляет собой -H, метил или  
25 изопропил; таким образом, что если W равен 0, Y- и Z-содержащий кольцевой фрагмент представляет собой 6- или 7-членное кольцо, Y представляет собой атом азота, e равно 0, R<sub>1</sub> представляет собой -NH<sub>2</sub>, амидино, C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> алкил, C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> алкилзамещенный амидино, дигидроимидазол, D-Pro или D-Pro-амиды, и R<sub>2</sub> представляет собой H или -COOH.

30 [0099] В одном конкретном варианте G представляет одно из следующего:





[00100] Различные анализы могут применяться для проверки наличия у  
 45 синтетических пептидных амидов по изобретению высокого сродства и селективности  
 в отношении каппа-опиатного рецептора, продолжительность биологической  
 активности *in vivo* и отсутствия побочного действия на ЦНС. Анализы с  
 использованием рецепторов хорошо известны из уровня техники, и клонированы  
 50 каппа-опиатные рецепторы нескольких видов, например, мю- и дельта-опиатные  
 рецепторы. Каппа-опиатные рецепторы, также как мю- и дельта-опиатные рецепторы,  
 являются классическими, семь трансмембранно-охватывающих, связанных с  
 протеином G рецепторов. Хотя такие клонированные рецепторы позволяют легко  
 провести скрининг конкретного соединения-кандидата, например, пептида или

производного пептида, природные источники опиатных рецепторов млекопитающих также пригодны для скрининга, как хорошо известно из уровня техники (Dooley CT et al. Selective ligands for the mu, delta, and kappa opioid receptors identified from a single mixture based tetrapeptide positional scanning combinatorial library. J. Biol. Chem. 273:18848-56, 1998). Таким образом, скрининг как в отношении каппа-, так и мю-опиатных рецепторов, рекомбинантного или природного происхождения, может быть осуществлен для определения селективности синтетических пептидных амидов по изобретению в отношении каппа-опиатных рецепторов по сравнению с  $\mu$ .

[00101] В конкретном варианте, синтетические пептидные амиды по изобретению представляют собой селективные агонисты каппа-опиатного рецептора. Активность синтетических пептидных амидов по изобретению в качестве агонистов конкретного рецептора может быть измерена как концентрация, в которой достигается половина максимального эффекта, выраженная как значение  $EC_{50}$ . Активность синтетических пептидных амидов по изобретению в качестве агонистов каппа-опиатного рецептора, выраженная как процент максимального эффекта, который поддается наблюдению, может быть определена разнообразными способами, хорошо известными из уровня техники. См., например, Endoh T et al., 1999, Potent Antinociceptive Effects of TRK-820, a Novel  $\kappa$ -Opioid Receptor Agonist, Life Sci. 65 (16) 1685-94; и Kumar V et al., Synthesis and Evaluation of Novel Peripherally Restricted  $\kappa$ -Opioid Receptor Agonists, 2005 Bioorg Med. Chem Letts 15:1091-1095.

[00102] Примеры таких методов анализа для определения значений  $EC_{50}$  предложены ниже. Многие стандартные способы анализа для характеристики опиатных лигандов хорошо известны специалисту в данной области. См., например, Waldhoer et al., (2004) Ann. Rev. Biochem. 73: 953-990, и Satoh & Minami (1995) Pharmac. Ther. 68(3):343-364 и процитированные в данном описании ссылки.

[00103] В определенных конкретных вариантах, синтетические пептидные амиды по изобретению представляют собой агонисты каппа-опиатного рецептора с  $EC_{50}$  меньше приблизительно 500 нМ. В других вариантах, синтетические пептидные амиды как агонисты каппа-опиатного рецептора демонстрируют  $EC_{50}$  меньше приблизительно 100 нМ. В других вариантах, синтетические пептидные амиды как агонисты каппа-опиатного рецептора демонстрируют  $EC_{50}$  меньше приблизительно 10 нМ. В конкретных вариантах синтетические пептидные амиды по изобретению как агонисты каппа-опиатного рецептора демонстрируют  $EC_{50}$  меньше приблизительно 1,0 нМ, меньше приблизительно 0,1 нМ или меньше приблизительно 0,1 нМ или даже меньше приблизительно 0,01 нМ. Соединения в соответствии с вышеизложенным вариантом могут демонстрировать  $EC_{50}$  как минимум в 10 раз больше для мю- и дельта-опиатного рецептора, чем для каппа-опиатного рецептора, предпочтительно как минимум в 100 раз больше и, наиболее предпочтительно, как минимум в 1000 раз больше, например,  $EC_{50}$  меньше приблизительно 1 нМ для каппа-опиатного рецептора, и  $EC_{50}$  больше приблизительно 1000 нМ для мю-опиатного рецептора и дельта-опиатного рецептора.

[00104] В конкретных вариантах, синтетические пептидные амиды по изобретению высокоселективны в отношении каппа по сравнению с мю-опиатными рецепторами. В определенных вариантах синтетические пептидные амиды по изобретению демонстрируют значения  $EC_{50}$  для мю-опиатного рецептора как минимум в 100 раз выше, чем соответствующие значения  $EC_{50}$  для каппа-опиатного рецептора. В конкретных вариантах, синтетические пептидные амиды по изобретению демонстрируют значения  $EC_{50}$  для мю-опиатного рецептора как минимум в 1000 раз

выше, чем соответствующие значения  $EC_{50}$  для каппа-опиатного рецептора. Альтернативно, селективность синтетических пептидных амидов по изобретению может быть выражена, как более высокое значение  $EC_{50}$  для мю-опиатного рецептора по сравнению с каппа-опиатным рецептором. Таким образом, в конкретных вариантах, синтетические пептидные амиды по изобретению демонстрируют значения  $EC_{50}$  больше приблизительно 10 мкМ для мю-опиатного рецептора, и значения  $EC_{50}$  меньше приблизительно 10 нМ, и в других вариантах - меньше приблизительно 1,0 нМ или даже меньше приблизительно 0,01 нМ для каппа-опиатного рецептора. В другом варианте, конкретные синтетические пептидные амиды могут демонстрировать  $EC_{50}$  меньше приблизительно 1 нМ для каппа-опиатного рецептора, и  $EC_{50}$  больше приблизительно 1000 нМ для мю-опиатного рецептора или для дельта-опиатного рецептора.

[00105] Другое свойство синтетических пептидных амидов по изобретению состоит в их характерном свойстве низкой степени ингибирования изоферментов цитохром  $P_{450}$ . Изоферменты цитохром  $P_{450}$  составляют большое суперсемейство гем-тиолятных белков, ответственных за метаболическую окислительную инактивацию многих терапевтических и других биологически активных соединений. Обычно, они действуют, как терминальные оксидазы в многокомпонентных цепях переноса электронов, которые также называют цитохром  $P_{450}$ -содержащими монооксигеназными системами.

[00106] Свыше 50 различных изоферментов цитохром  $P_{450}$  идентифицированы и классифицированы в семейства, сгруппированные в соответствии с генетическим родством, которое оценивают по гомологии последовательностей нуклеиновых кислот. Из изоферментов цитохром  $P_{450}$  в клетках человека наиболее распространены изоферменты 1A2 и 3A4, хотя изоферменты 2B6, 2C9, 2C19, 2D6 и 2E1 также вносят значительный вклад в окислительную инактивацию введенных терапевтических средств. Хотя ингибирование изоферментов цитохром  $P_{450}$  может быть полезным с точки зрения удлинения времени после введения *in vivo*, в ходе которого поддерживается эффективная концентрация синтетических пептидных амидов по изобретению, такой эффект также удлиняет присутствие любого одновременно введенного терапевтического соединения, которое подвергается окислению под действием цитохром  $P_{450}$ . Такое увеличение периода присутствия может вызывать присутствие одновременно введенного терапевтического средства после окончания оптимального для лечения периода или может вызывать превышение желательных уровней или безопасных уровней концентрации *in vivo*. Такое удлинение присутствия и/или повышение концентрации трудно точно определить количественно и предпочтительно их избегают. Терапевтические средства, которые демонстрируют незначительное или отсутствие ингибирования активности изоферментов цитохром  $P_{450}$ , не несут в себе потенциала данной проблемы и могут более безопасно вводиться одновременно с другими видами терапии без риска воздействия на скорость инактивации терапевтического соединения, которое вводится одновременно, под действием изоферментов цитохром  $P_{450}$ .

[00107] Конкретные варианты синтетических пептидных амидов по изобретению демонстрируют низкую степень ингибирования изоферментов цитохром  $P_{450}$  в терапевтических концентрациях синтетических пептидных амидов, в то время как другие в значительной мере не демонстрируют ингибирования изоферментов цитохром  $P_{450}$  в терапевтических концентрациях. В некоторых вариантах, синтетические пептидные амиды в концентрации 10 мкМ демонстрируют

ингибирование изоферментов цитохром P<sub>450</sub> CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19 или CYP2D6 меньше приблизительно 50%. В конкретных вариантах, синтетические пептидные амиды в концентрации 10 мкМ демонстрируют ингибирование любого из указанных изоферментов цитохром P<sub>450</sub> меньше приблизительно 20%. В отдельных вариантах, синтетические пептидные амиды в концентрации 10 мкМ демонстрируют ингибирование любого из указанных изоферментов цитохром P<sub>450</sub> меньше приблизительно 10%.

[00108] В другом варианте, синтетические пептидные амиды по изобретению в эффективной концентрации демонстрируют не более чем приблизительно 50% ингибирование любого из P<sub>450</sub> CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19 или CYP2D6 синтетическими пептидными амидами в концентрации 10 мкМ после инкубации в течение 60 минут с микросомами печени человека.

[00109] Синтетические пептидные амиды по изобретению при введении, млекопитающему или пациенту-человеку в терапевтически эффективном концентрации демонстрируют низкую степень или по существу отсутствие проникновения через гематоэнцефалический барьер. Каппа-опиатные рецепторы (в дальнейшем равнозначно называются рецепторами каппа) распространены в периферических тканях, в том числе коже и соматических тканях, а также во внутренних органах человека и других млекопитающих. Рецепторы каппа также найдены в мозге. Активация рецепторов каппа в периферических тканях вызывает подавление боли и воспалительных реакций, в то время как активация рецепторов каппа в мозге вызывает седативный эффект, и, возможно, приводит также к тяжелой дисфории и галлюцинациям. В определенных вариантах, синтетические пептидные амиды по изобретению, при введении в терапевтически эффективных концентрациях демонстрируют низкую степень или по существу отсутствие проникновения через гематоэнцефалический барьер и, таким образом, минимизируют или даже полностью свободны от седативного, галлюциногенного эффекта многих другие агонистов каппа, которые демонстрируют некоторую степень проникновения через гематоэнцефалический барьер.

[00110] Один из пригодных показателей степени, в которой синтетические пептидные амиды по изобретению проникают сквозь гематоэнцефалический барьер, представляет собой соотношение пиковой концентрации в плазме и концентрации в ткани мозга. В конкретных вариантах, синтетические пептидные амиды по изобретению, при введении в дозе приблизительно 3 мг/кг, демонстрируют как минимум 5-кратное снижение концентрации синтетических пептидных амидов в мозге по сравнению с плазмой в момент времени, когда достигается пиковая концентрация в плазме.

[00111] Другой пригодный показатель степени, в которой синтетические пептидные амиды по изобретению проникают сквозь гематоэнцефалический барьер, представляет собой соотношение дозы, необходимой для достижения седативного эффекта, и дозы, необходимой для достижения анальгетического эффекта. Анальгетический и седативный эффекты стимулирования рецептора каппа агонистами рецептора каппа могут быть измерены в помощью стандартных анализов, хорошо известных специалисту в данной области.

[00112] В конкретных вариантах, синтетические пептидные амиды по изобретению демонстрируют ED<sub>50</sub> для седативного эффекта как минимум приблизительно в 10 раз больше ED<sub>50</sub> для анальгетического эффекта. В конкретных вариантах, синтетические пептидные амиды по изобретению демонстрируют ED<sub>50</sub> для седативного эффекта как

минимум приблизительно в 30 раз больше ED<sub>50</sub> для анальгетического эффекта. В других вариантах, синтетические пептидные амиды по изобретению демонстрируют ED<sub>50</sub> для седативного эффекта как минимум приблизительно в 50 раз больше ED<sub>50</sub> для анальгетического эффекта.

5 [00113] В другом варианте, синтетические пептидные амиды по изобретению демонстрируют ED<sub>50</sub> для седативного эффекта на модели снижения перемещений у мышей как минимум приблизительно в 10 раз больше ED<sub>50</sub> синтетических пептидных амидов для анальгетического эффекта на модели корчей у мышей.

10 [00114] Другой пригодный прогностический фактор ожидаемой степени проникновения синтетических пептидных амидов по изобретению сквозь гематоэнцефалический барьер, обеспечивается значениями проницаемости мембраны синтетических пептидных амидов в клетку человека или клетку другого  
15 млекопитающего, при введении терапевтически адекватной концентрации. В определенных вариантах, синтетические пептидные амиды по изобретению демонстрируют в терапевтически адекватных концентрациях низкую степень или по существу отсутствие способности проникать сквозь монослой подходящим образом культивированных клеток человека или других млекопитающих. Данный параметр  
20 проницаемости может быть выражен, как очевидная проницаемость, P<sub>app</sub>, которая представляет проницаемость конкретного монослоя клеток для целевого соединения. Любой пригодный для культивирования монослой клеток млекопитающих может использоваться для определения его проницаемости для конкретного целевого  
25 соединения, хотя для данной цели часто используются определенные линии клеток. Например, линия клеток Caco-2 представляет собой аденокарциному ободочной и прямой кишки человека, которая может использоваться в качестве модельной системы культуры монослоя для определения проницаемости мембран для соединений по изобретению. В определенных вариантах, синтетические пептидные амиды по  
30 изобретению демонстрируют P<sub>app</sub> меньше приблизительно 10<sup>-6</sup> см/сек. В некоторых других вариантах, синтетические пептидные амиды по изобретению демонстрируют P<sub>app</sub> меньше приблизительно 10<sup>-7</sup> см/сек.

[00115] В одном варианте, синтетические пептидные амиды по изобретению в дозе  
35 приблизительно 3 мг/кг у крыс достигают пиковой концентрации в плазме синтетического пептидного амида, и демонстрирует как минимум в 5 раз более низкие концентрации в мозге, чем аналогичная пиковая концентрация в плазме.

[00116] В другом варианте, синтетические пептидные амиды по изобретению демонстрируют как минимум приблизительно 50% максимальной эффективности  
40 приблизительно после 3 часа после введения дозы приблизительно 3 мг/кг синтетического пептидного амида у крыс.

[00117] В одном из вариантов, синтетические пептидные амиды по изобретению демонстрируют продолжительное действие у млекопитающего, например, человека. В  
45 одном аспекте, синтетические пептидные амиды демонстрируют продолжительность действия на уровне как минимум приблизительно 50% максимальной эффективности через 3 часа после введения 0,1 мг/кг синтетического пептидного амида. В другом аспекте синтетические пептидные амиды демонстрируют продолжительность действия на уровне как минимум приблизительно 75% максимальной эффективности через 3  
50 часа после введения 0,1 мг/кг синтетического пептидного амида. В конкретном аспекте синтетические пептидные амиды демонстрируют продолжительность действия на уровне как минимум приблизительно 90% максимальной эффективности через 3 часа после введения 0,1 мг/кг синтетического пептидного амида. В конкретном

аспекте, синтетические пептидные амиды демонстрируют продолжительность действия как минимум приблизительно 95% максимальной эффективности через 3 часа после введения 0,1 мг/кг синтетического пептидного амида.

5 [00118] В другом варианте изобретения предлагается фармацевтическая композиция, которая содержит синтетические пептидные амиды в соответствии с любым из приведенных выше вариантов и фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество или носитель. В изобретении предлагаются способы, композиции или лекарственные формы, в которых применяются и/или содержатся 10 синтетические пептидные амиды по изобретению, селективные в отношении каппа-опиатных рецепторов. В конкретных вариантах, синтетические пептидные амиды по изобретению демонстрируют выраженное сродство к каппа-опиатным рецепторам и обладают высокой активностью в качестве агонистов каппа-опиатного рецептора.

15 [00119] Пролекарство соединения, такого как синтетические пептидные амиды по изобретению, включает фармацевтически приемлемые производные, которые при введении могут превращаться, посредством метаболизма или другого процесса, в биологически активную форму соединения. Пролекарства особенно желательны, если Пролекарство обладает более благоприятными свойствами, чем активное соединение, 20 с точки зрения биодоступности, стабильности или пригодности для конкретной рецептуры.

[00120] В данном описании, связанное с каппа-опиатным рецептором заболевание, состояние или расстройство представляет собой любое заболевание, состояние или расстройство, поддающееся профилактике или поддающееся лечению активацией 25 каппа-опиатного рецептора. В одном аспекте, синтетические пептидные амиды по изобретению представляют собой агонисты каппа-опиатного рецептора, которые активируют каппа-опиатный рецептор. В некоторых вариантах, конкретная доза и способ введения синтетических пептидных амидов по изобретению может быть 30 выбрана клиницистом таким образом, чтобы полностью предупредить или излечить заболевание, состояние или расстройство. В других вариантах конкретная доза и способ введения синтетических пептидных амидов по изобретению, выбранные клиницистом, облегчают или уменьшают выраженность одного или больше симптомов заболевания, состояния или расстройства.

35 [00121] В данном описании, "эффективное количество" или "достаточное количество" синтетических пептидных амидов по изобретению обозначает количество соединения, как описано в данном описании, которое может быть терапевтически эффективным с точки зрения подавления, предупреждать или лечения симптома 40 конкретного заболевания, расстройства, состояния или побочного эффекта. В данном описании "сниженная доза" анальгетика мю-опиатного агониста обозначает дозу, которая, при введении в комбинации с каппа-опиатным агонистом, таким как синтетические пептидные амиды по изобретению, будет ниже, чем обычно предлагаемая конкретному больному, с целью уменьшения выраженности одного или 45 больше побочных эффектов соединения. Снижение дозы может быть выбрано таким образом, чтобы уменьшение анальгетического или другого терапевтического эффекта соединения представляло собой приемлемый компромисс с учетом уменьшения побочного эффекта(ов), где уменьшение выраженности анальгетического или другого 50 терапевтического эффекта анальгетика мю-опиатного агониста полностью или как минимум частично компенсировалось анальгетическим или другим терапевтическим эффектом синтетического пептидного амида по изобретению. Совместное введение анальгетика мю-опиатного агониста с синтетическим пептидным амидом по

изобретению, который действует как каппа-опиатный агонист, также позволяет введение сниженной дозы синтетического пептидного амида и/или анальгетика мю-опиатного агониста для достижения такого же терапевтического эффекта, как и при введении более высокой дозы синтетического пептидного амида или анальгетика мю-опиатного агониста, при монотерапии.

[00122] В данном описании, "фармацевтически приемлемый" обозначает соединения, материалы, композиции и/или лекарственные формы, которые являются, в пределах медицинского суждения, пригодными для контакта с тканями человеческих существ и животных без выраженной, раздражения, аллергической реакции или других осложнений, пропорционально соотношению выгода/риск, которое является разумным для медицинского состояния, подлежащего лечению.

[00123] В данном описании "единица лекарственной формы" обозначает физически дискретную единицу, пригодную в качестве единичной дозы для конкретного индивидуума или состояния, подлежащего лечению. Каждая единица может содержать предварительно определенное количество соединения(ий) активного синтетического пептидного амида, рассчитанных таким образом, чтобы обеспечить желательный терапевтический эффект(ы), необязательно в сочетании с фармацевтическим носителем. Спецификация для дозированных лекарственных форм может быть продиктована (а) уникальными характеристиками активного соединения или соединений и конкретным терапевтическим эффектом, который должен быть достигнут, и (б) ограничениями, свойственными в данной области рецептур такого активного соединения или соединений. Единицу дозы часто выражают как массу соединения на единицу массы тела, например, в миллиграммах соединения на килограмм массы тела субъекта или больного (мг/кг). Альтернативно, дозы могут быть выражены, как количество соединения на единицу массы тела в единицу времени (мг/кг/день) в конкретной схеме лечения. Как еще одна альтернатива, дозы могут быть выражены, как количество соединения на единицу площади поверхности тела (мг/м<sup>2</sup>) или на единицу площади поверхности тела в единицу времени (мг/м<sup>2</sup>/сутки). Для местных препаратов, дозы могут быть выражены способом, обычным для таких препаратов, например, лента мази длиной ½ дюйма, введенная в глаз, где концентрация соединения в препарате выражается как процент рецептуры.

[00124] В данном описании "фармацевтически приемлемые соли" обозначают производные соединений, где исходное соединение модифицируют путем образования его соли с кислотой или основанием. Примеры фармацевтически приемлемых солей включают, не ограничиваясь ими, соли основных остатков, таких как амины с минеральными или органическими кислотами; соли кислотных остатков, таких как карбоновые кислоты и т.п., с щелочами или органическими соединениями. Фармацевтически приемлемые соли включают обычные нетоксичные соли или четвертичные соли аммония и исходного соединения, образованные, например, нетоксичными неорганическими или органическими кислотами. Например, такие традиционные нетоксичные соли включают полученные из неорганических кислот, таких как хлористоводородная, бромистоводородная, серная, сульфаминовая, фосфорная, азотная кислоты и т.п.; и соли, полученные из органических кислот, таких как уксусная, пропионовая, янтарная, гликолевая, стеариновая, молочная, яблочная, винная, лимонная, аскорбиновая, памовая, малеиновая, гидроксималеиновая, фенилуксусная, глутаминовая, бензойная, салициловая, сульфаниловая, 2-ацетоксибензойная, фумаровая, толуолсульфоновая, метансульфоновая, этандисульфоновая, щавелевая, изэтиновая кислота и т.п. Такие физиологически

приемлемые соли получают способами, известными из уровня техники, например, растворением свободных оснований амина с избытком кислоты в водном спирте или нейтрализацией свободной карбоновой кислоты основанием щелочного металла, таким как гидроксид, или амином. Таким образом, фармацевтически приемлемая соль синтетических пептидных амидов может быть образована любым таким пептидным амидом, содержащим кислотную, основную или обе функциональные группы. Например, пептидные амиды, содержащие группу карбоновой кислоты, могут в присутствии фармацевтически подходящей основы образовывать анион карбоксилата, соединяющийся с катионом, таким как катион натрия или калия. Подобным образом, пептидные амиды, содержащие функциональную аминогруппу, могут в присутствии фармацевтически подходящей кислоты, такой как HCl, образовывать соль.

[00125] Один из примеров фармацевтически приемлемого сольвата синтетических пептидных амидов представляет собой комбинацию пептидных амидов с молекулами растворителя, что дает комплекс таких молекул растворителя в сочетании с пептидными амидами. Особенно подходящими гидратами соединений являются такие гидраты, которые обладают сравнимой активностью, или гидраты, которые превращаются назад в активные соединения после введения. Фармацевтически приемлемый N-оксид синтетического пептидного амида, который содержит амин, представляет собой такое соединение, где атом азота амина присоединен к атому кислорода.

[00126] Фармацевтически приемлемая кристаллическая, изоморфная кристаллическая или аморфная форма синтетического пептидного амида по изобретению может представлять собой любую кристаллическую или некристаллическую форму фармацевтически приемлемой кислотной, основной, циттер-ионной, солевой, гидратной или любой другой соответствующим образом стойкой, физиологически совместимой формы синтетического пептидного амида по изобретению.

[00127] Синтетические пептидные амиды по изобретению могут быть введены в фармацевтические композиции. Композиции могут содержать эффективное количество синтетического пептидного амида в фармацевтически приемлемом разбавителе, вспомогательном веществе или носителе. Обычные вспомогательные вещества, носители и/или разбавители для применения в фармацевтических композициях в целом инертны и составляют большую часть препарата.

[00128] В конкретном варианте, синтетический пептидный амид представляет собой агонист каппа-опиатного рецептора. В другом варианте, синтетический пептидный амид представляет собой селективный агонист каппа-опиатного рецептора. Сайт-мишень может быть рецептором каппа у больного или субъекта, нуждающегося в таком лечении или профилактике. Определенные агонисты каппа-опиатного рецептора - синтетические пептидные амиды по изобретению - действуют периферически и демонстрируют слабо выраженное или отсутствия влияние на ЦНС в терапевтически эффективных дозах.

[00129] Фармацевтическое вспомогательное вещество или носитель может быть любой подходящей совместимой, нетоксичной субстанцией, такой как носитель для доставки синтетического пептидного амида по изобретению. Подходящие вспомогательные вещества или носители включают, не ограничиваясь ими, стерильную воду (предпочтительно, апирогенную), солевой раствор, буферизованный фосфатом солевой раствор (фосфатный буферный раствор), воду/этанол, воду/глицерин, воду/сорбитол, воду/полиэтиленгликоль, пропиленгликоль,

цетилстеариловый спирт, карбоксиметилцеллюлозу, кукурузный крахмал, лактозу, глюкозу, микрокристаллическую целлюлозу, магния стеарат, поливинилпирролидон (ПВП), лимонную кислоту, винную кислоту, масла, липидные субстанции, воски или подходящие смеси любых вышеназванных компонентов.

5 [00130] Фармацевтический препарат по изобретению может представлять собой жидкую, полутвердую или твердую лекарственную форму. Например, фармацевтический препарат может иметь форму раствора для инъекций, капель, сиропа, спрея, суспензии, таблетки, пластыря, капсулы, повязки, суппозитория, мази, 10 крема, лосьона, геля, эмульсии, аэрозоля или сыпучую форму, например, пилюли или гранулы, необязательно, спрессованные в таблетки или пастилки, помещенные в капсулы или суспендированные в жидкости. Таблетки могут содержать связующие вещества, смазывающие вещества, разбавители, красящие вещества, ароматизаторы, увлажняющие вещества, и могут быть покрыты кишечнорастворимой оболочкой, 15 чтобы проходить неповрежденными через кислую среду желудка и растворяться в более щелочных условиях просвета кишечника. Альтернативно, таблетки могут быть покрыты сахарной оболочкой или пленочной оболочкой из водорастворимой пленки. Фармацевтически приемлемые адъюванты, буферные агенты, диспергирующие агенты и т.п., также могут быть включены в фармацевтические композиции.

20 [00131] Связующие вещества включают, например, крахмал, слизь, желатин и сахарозу. Смазывающие вещества включают тальк, ликоподий, магний и кальция стеарат/стеариновую кислоту. Разбавители включают лактозу, сахарозу, маннитол, соль, крахмал и каолин. Увлажняющие агенты включают пропиленгликоль и сорбитана.

25 [00132] В данном описании, местное нанесение или введение обозначает введение фармацевтического препарата по изобретению в/на участок, такой воспаленный сустав, который демонстрирует болезненное и/или воспаленное состояние. Такое 30 местное введение включает внутрисуставное, например, внутрисуставное нанесение, путем инъекции, введение через катетер или доставку в составе биосовместимого устройства. Таким образом, местное введение обозначает введение в дискретную внутреннюю область организма, такую как сустав, участок мягких тканей (например, мышца, сухожилие, связка, внутриглазные или другие внутренние области мягких 35 тканей) или другой внутренний участок тела. В частности, в данном описании местное введение обозначает введение, которое не приводит в существенной мере к системному введению и/или системной доставке активных агентов в настоящих композициях. Также, в данном описании местное введение предназначено обозначать 40 введение в дискретные участки тела, кроме различных крупных полостей тела (например, брюшная и/или плевральная полость).

45 [00133] В данном описании, местное нанесение обозначает нанесение на поверхность тела, такую как кожа, глаза, слизистая оболочка и губы, которая может располагаться в или на какой-либо части тела, в том числе, не ограничиваясь ими, 50 эпидерма, любой другой слой кожи или любая другая ткань организма. Местное введение или нанесение подразумевает прямой контакт фармацевтического препарата по изобретению с тканью, такой как кожа или мембрана, особенно роговая оболочка или слизистая оболочка рта, влагалища или аноректальной области. Таким образом, для целей данного описания местное нанесение обозначает нанесение на ткани 55 доступной поверхности тела, такой как кожа (внешняя оболочка или поверхность) и слизистая оболочка (вырабатывающие, выделяющие и/или содержащие слизь поверхности). В частности, местное нанесение обозначает нанесение, которое не

предполагает или в существенной мере не предполагает системной доставки активных соединений в настоящих композициях. Примеры поверхностей слизистой оболочки включают поверхность слизистой оболочки глаз, рта (например, губы, язык, десны, щеки, подъязычная область и небо), гортань, пищевод, бронхи, трахея, носовые ходы, влагалище и прямая кишка/задний проход.

[00134] В случае перорального введения, активный ингредиент может вводиться в твердых дозированных лекарственных формах, таких как капсулы, таблетки и порошки, или в жидких дозированных лекарственных формах, таких как эликсиры, сиропы и суспензии. Активный компонент(ы) может быть инкапсулирован в желатиновые капсулы вместе с неактивными ингредиентами и порошкообразными носителями, такими как глюкоза, лактоза, сахароза, маннитол, крахмал, целлюлоза или производные целлюлозы, магния стеарат, стеариновая кислота, натрия сахаринат, тальк, магния карбонат и т.п. Примеры дополнительных неактивных ингредиентов, которые могут быть добавлены для обеспечения желательного цвета, вкуса, стабильности, буферной емкости, дисперсии или других известных желательных признаков, - железа оксид красный, силикагель, натрий лаурилсульфат, титана диоксид, съедобные белые чернила и т.п. Подобные наполнители могут применяться для получения прессованных таблеток. Как таблетки, так и капсулы могут быть произведены в виде продуктов с пролонгированным высвобождением, чтобы обеспечить непрерывное высвобождение терапевтического средства на протяжении часов. Прессованные таблетки могут быть покрыты сахарной или пленочной оболочкой, чтобы замаскировать неприятный вкус и защитить таблетку от воздействия атмосферы, или кишечнорастворимой оболочкой для селективного распада в желудочно-кишечном тракте. Жидкие лекарственные формы для перорального введения могут содержать красители и ароматизаторы, чтобы улучшить переносимость пациентом. Чтобы улучшить стабильность и абсорбцию лекарственного средства, пептиды по изобретению могут высвобождаться из капсулы после прохождения через жесткую протеолитическую среду желудка. Способы повышения стабильности и абсорбции пептидов после перорального введения хорошо известны из уровня техники (например, Mahato RI. Emerging trends in oral delivery of peptide and protein drugs. Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems. 20: 153-214, 2003).

[00135] Такие дозированные лекарственные формы, как пастилки, жевательные таблетки и жевательная резинка, обеспечивают быстрый терапевтический эффект по сравнению с дозированными лекарственными формами соединений синтетических пептидных амидов по изобретению для перорального введения, демонстрирующими значительную буккальную абсорбцию. Препараты в форме жевательной резинки представляют собой твердые, одно-дозовые препараты с основой, состоящей в основном из резины, которые предназначены для жевания, но не предназначены для глотания и содержат одно или больше соединений по изобретению, которые высвобождаются при жевании и предназначены для местного лечения боли и воспаления в ротовой полости или системной доставки после абсорбции через буккальную слизистую оболочку. См., например, патент США 6,322,828, выданный Athanikar и Gubler под названием «Способ производства фармацевтической жевательной резинки».

[00136] Для назального введения, селективные агонисты капша-опиатного рецептора периферического действия могут быть введены в аэрозоли. Термин "аэрозоль" включает любую суспендированную в газообразной среде фазу соединений

по настоящему изобретению, которую можно вдыхать в бронхиолы или носовые ходы. Конкретно, аэрозоль включает суспензию в газообразной фазе капелек соединений по настоящему изобретению, которая может быть произведена

5 дозирующим ингалятором или небулайзером или мелкокапельным распылителем. Аэрозоль также включает сухую порошковую композицию соединения по настоящему изобретению, суспендированную в воздухе или другом газе-носителе, которая может быть введена вдуванием из ингаляторного устройства, например, см. Ganderton & Jones, Drug Delivery to the Respiratory Tract, Ellis Horwood (1987); Gonda (1990) Critical  
10 Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems 6: 273-313; и Raeburn et al. (1992) J. Pharmacol. Toxicol. Methods 27:143-159.

[00137] Фармацевтические композиции изобретения могут быть приготовлены в форме, подходящей для системного введения, например, внутривенного, подкожного, внутримышечного, внутривагинального, интраназального, трансдермального,  
15 интравлагинального, ректального, внутрилегочного или перорального введения. Альтернативно, фармацевтические композиции по изобретению могут быть подходящими для местного введения, например, для местного или ионофоретического введения или для трансдермального введения с помощью пластыря, покрытого или пропитанного препаратом, и местного введения в суставы, например,  
20 внутрисуставной инъекции.

[00138] Препараты для парентерального введения включают стерильные растворы, готовые для инъекций, стерильные сухие растворимые продукты, готовые для разбавления растворителем непосредственно перед применением, в том числе  
25 таблетки для подкожного введения, стерильные суспензии, готовые для инъекций, стерильные, сухие нерастворимые продукты, готовые для разбавления растворителем непосредственно перед применением, и стерильные эмульсии. Растворы могут быть водными или неводными и, таким образом, предназначены для введения инъекцией, инфузией или с применением имплантируемых насосов. Для внутривенного,  
30 подкожного и внутримышечного введения пригодные препараты по изобретению включают препараты микрокапсул со свойствами контролируемого высвобождения (R.Pwar et al. Protein and peptide parenteral controlled delivery. Expert Opin Biol Ther. 4(8): 1203-12, 2004) или инкапсулированием в липосомах, например, в  
35 покрытых полиэтиленом липосомах, которые известны из уровня техники как обеспечивающие удлиненный период нахождения в кровотоке (например Коррал, Т. "Drug delivery technologies are right on target". Drug Discov. Dev.6, 49-50, 2003).

[00139] Для введения в глаза, настоящее изобретение предлагает способ лечения  
40 глаукомы или боли и воспаления глаз, включающий введение в глаз больного, нуждающегося в таком лечении, терапевтически эффективного количества синтетических пептидных амидов по изобретению. Синтетические пептидные амиды можно применять местно с приемлемым для глаз фармацевтическим носителем или в форме не системного применения в виде контактной линзы или внутриглазного имплантата, который может необязательно содержать полимеры, которые  
45 обеспечивают пролонгированное высвобождение синтетических пептидных амидов. Такие приемлемые для глаз фармацевтические носители могут включать адъюванты, противомикробные консерванты, поверхностно-активные вещества, агенты для повышения вязкости и т.п. Из уровня техники известно, что высокие концентрации многих соединений раздражают глаз, и низкие концентрации оказывают меньшее раздражающее действие; поэтому препарат часто разрабатывают таким образом,  
50 чтобы включить самые низкие эффективные концентрации активного соединения,

консерванта, поверхностно-активного вещества и/или агента для повышения вязкости, где указанный агент для повышения вязкости предпочтительно обладает высоким поверхностным напряжением, чтобы уменьшить раздражение глаз при увеличении удержания глазных растворов на поверхности глаз. Такое

5 контролируемое высвобождение синтетических пептидных амидов по изобретению может продолжаться для имплантантов от 6 месяцев до года, или в течение более коротких периодов (3-14 дней) для контактных линз. Такие имплантанты могут представлять собой осмотические насосы, поддающиеся биологическому разложению

10 матрицы или внутриглазные устройства пролонгированного высвобождения. Такие композиции для местного применения могут включать буферизованный солевой раствор, содержащий или не содержащий липосомы.

[00140] Водные растворы полимеров, водные суспензии, мази и гели могут использоваться для препаратов синтетических пептидных амидов по изобретению,

15 предназначенных для местного применения в глаза. Водные препараты также могут содержать липосомы для создания резервуара синтетических пептидных амидов. Некоторые из таких местных препаратов представляют собой гели, которые увеличивают удержание на роговице без неудобств и нарушений зрения, связанного с

20 мазями. Совместимый с глазом фармацевтический носитель может также включать поддающийся биологическому разложению синтетический полимер. Поддающиеся биологическому разложению композиции микросфер, зарегистрированные для применения у человека, включают полилактоиды: поли (молочную кислоту),

25 поли(гликолевую кислоту) и поли(молочную-согликолевую) кислоту.

Дополнительные поддающиеся биологическому разложению препараты включают, не ограничиваясь ими: поли (ангидрид-со-имид), поли(молочную гликолевую кислоту), полиэтил-2-цианоакрилат, поликапролактон, полигидроксibuтирата валерат, полиортоэфир и полиэтиленоксид/полибутилен терефталат. Внутриглазной имплантат

30 или инъекция композиций с пролонгированным высвобождением, которые содержат синтетические пептидные амиды по изобретению, может обеспечить длительный контроль (варьирует от месяцев до лет) внутриглазного давления и, таким образом, устранить или уменьшить необходимость в местных препаратах. Пригодные способы введения в препараты и отпуска глазных лекарственных форм раскрыты в Патенте

35 США 7,122,579, выданном Schwartz и др., и в патенте США 7,105,512, выданном Morizono и др. Способы введения глазных лекарственных форм в контактные линзы раскрыты в Gulsen and Chauhan, Ophthalmic drug delivery through contact lenses. Investigative Ophthalmology and Visual Science, (2004) 45: 2342-2347.

[00141] Препараты для трансдермального введения вводят в устройство, подходящее для такого введения, где в указанном устройстве используют, например, ионофорез (Kalia YN et al. Iontophoretic Drug Delivery. Adv Drug Deliv Rev. 56:619-58, 2004)

40 или поверхность, проникающую сквозь дерму (Prausnitz MR. Microneedles for Transdermal Drug Delivery. Adv Drug Deliv Rev. 56:581-7, 2004), такие как известны из уровня техники, которые пригодны для улучшения трансдермальной доставки лекарственных средств. Устройство электропереноса и способы его применения раскрыты в патенте США 6,718,201. Способы применения ионофореза для содействия трансдермальной доставке пептидов раскрыты в патенте США 6,313,092 и патенте

50 США 6,743,432.

[00142] В данном описании термины "электроперенос", "ионофорез" и "ионофоретический" обозначают введение (доставку) через поверхность тела (например, кожи или слизистой оболочки) одного или больше фармацевтически

активных соединений с помощью приложения электродвижущей силы к резервуару, содержащему агент. Соединение может быть доставлено электромиграцией, электропорацией, электроосмосом или любой их комбинацией. Электроосмос также носит название электрогидрокинеза, электроконвекции и электрически индуцированного осмоса. В целом, электроосмос соединения в ткани является результатом миграции растворителя, в котором содержится соединение, в результате приложения электродвижущей силы к резервуару терапевтического соединения, например, потока растворителя, индуцированного электромиграцией других ионов. В процессе электропереноса, могут происходить определенные модификации или изменения кожи, такие как образование временных пор в коже, что также называется "электропорацией". Любой носитель веществ с помощью электричества, усиленный модификациями или изменениями поверхности тела (например, образование пор в коже), также охватывается термином "электроперенос" в данном описании. Таким образом, в данном описании, применительно к соединениям по настоящему изобретению, термины "электроперенос", "ионофорез" и "ионофоретический" обозначают (1) доставку заряженных агентов электромиграцией, (2) доставку незаряженных агентов в процессе электроосмоса, (3) доставку заряженных или незаряженных агентов электропорацией, (4) доставку заряженных агентов объединенными процессами электромиграции и электроосмоса и/или (5) доставку смеси заряженных и незаряженных агентов объединенными процессами электромиграции и электроосмоса. В устройствах электропереноса в целом используются два электрода, оба из которых размещены в тесном электрическом контакте с некоторой частью кожи. Один электрод, который называется активным или донорным электродом, представляет собой электрод, из которого терапевтический агент доставляется в тело. Другой электрод, который называется счетчиком или возвратным электродом, служит для замыкания электрического контура через тело. В соединении с кожей пациента, контур замыкается подсоединением электродов к источнику электрической энергии, например, аккумулятору, и обычно к контуру, способному управлять текущим прохождением через устройство.

[00143] В зависимости от электрического заряда соединения для трансдермальной доставки, анод или катод может представлять собой активный или донорский электрод. Таким образом, если соединение, которое подлежит переносу, заряжено положительно, например, соединение, приведенное в качестве примера в Примере 1 данного описания, то положительный электрод (анод) будет активным электродом, и отрицательный электрод (катод) будет служить возвратным электродом, замыкая контур. Однако, если соединение для доставки заряжено отрицательно, то катодный электрод будет активным электродом, и анодный электрод будет возвратным электродом. Устройства электропереноса дополнительно требуют резервуара или источника терапевтического агента, который подлежит доставке в организм. Такие резервуары лекарственного средства соединяют с анодом или катодом устройства электропереноса, чтобы обеспечить фиксированный или возобновляемый источник одного или больше желательных веществ или агентов. Каждый электродный узел состоит из электрически проводящего электрода, связанного проведением ионом с проводящим ионы жидкостным резервуаром, который в ходе применения размещен таким образом, чтобы контактировать с кожей больного. Резервуары геля, такие как описаны Webster (патент США 4,383,529) представляют собой одну из форма резервуара, поскольку гидратированные гели удобнее в обращении и производстве,

чем заполненные жидкостью контейнеры. Вода представляет собой один из жидких растворителей, который может применяться в таких резервуарах, отчасти потому что соли пептидных соединений по изобретению водорастворимы, и отчасти, потому что вода не раздражает кожу, таким образом, позволяя длительный контакт между резервуаром гидрогеля и кожей. Для электропереноса, синтетические пептиды по изобретению могут быть введены в препарат с усиливающими текучесть веществами, такими как ионные поверхностно-активные вещества или соразтворители, кроме воды (см., например, патент США 4,722,726 и Европейскую патентную заявку 278,473, соответственно). Альтернативно, внешний слой кожи (т.е., *stratum corneum*) может быть механически разрушен до введения электропереносом через кожу, например, как описано в патенте США 5,250,023.

[00144] Синтетические пептидные амиды периферического действия, которые хорошо подходят для электропереноса, могут быть выбраны измерением их тока в процессе электропереноса через поверхность тела (например, кожу или слизистую оболочку), например, по сравнению со стандартизированным тестовым пептидом с известными характеристиками тока электропереноса, например, тиреотропин-высвобождающий гормон (R. Burnette et al. *J. Pharm. Sci.* (1986) 75:738) или вазопрессин (Nair et al. *Pharmacol Res.* 48: 175-82, 2003). Трансдермальный ток электропереноса может быть определен с использованием целого ряда способов *in vivo* или *in vitro*, хорошо известных из уровня техники. Способы *in vitro* включают зажимание куска кожи подходящего млекопитающего (например, кожи человеческого трупа) между донорным и рецепторным отсеком кюветы потока электропереноса, где сторона *stratum corneum* среза кожи обращена к донорному отсеку. Жидкий раствор или гель, содержащий лекарственное средство, которое подлежит доставке, размещают в контакте со *stratum corneum*, и электрический ток подают на электроды, один электрод в каждом отсеке. Трансдермальный ток вычисляют, отбирая образцы для количественного определения лекарственного средства в отсеке рецептора. Две успешные модели используют, чтобы оптимизировать трансдермальную доставку лекарственного средства электропереносом, - модель изолированного образца кожи свиньи (Heit MC et al. *Transdermal iontophoretic peptide delivery: in vitro and in vivo studies with luteinizing hormone releasing hormone.* *J. Pharm. Sci.* 82: 240-243, 1993), и использование изолированной безволосой кожи безволосых грызунов или морских свинок, например, см. Hadzija BW et al. *Effect of freezing on iontophoretic transport through hairless rat skin.* *J. Pharm. Pharmacol.* 44, 387-390, 1992. Соединения по изобретению для трансдермальной ионофоретической доставки могут содержать один или обычно, два заряженных атома азота, чтобы облегчить доставку.

[00145] В других пригодных для трансдермальной доставки устройствах используют доставку с высокой скоростью под давлением, чтобы достичь проникновения кожи без применения иглы. Трансдермальная доставка может быть улучшена, как известно из уровня техники, применением химических усилителей, который в данной области иногда называют "усилителями проникания", т.е., соединений, которые вводят наряду с лекарственным средством (или в некоторых случаях используют, чтобы предварительно обработать кожу, до введения лекарственного средства) с целью увеличения проницаемости *stratum corneum* и, таким образом, обеспечивают повышенное проникновение лекарственного средства через кожу. Химические усилители проникания представляет собой соединения, которые нетоксичны и служат только для облегчения диффузии лекарственного средства через *stratum corneum*, пассивной диффузией или энергетически управляемым

процессом, таким как электроперенос. См., например, Meidan VM et al. Enhanced iontophoretic delivery of buspirone hydrochloride across human skin using chemical enhancers. Int. J. Pharm. 264: 73-83, 2003.

5 [00146] Фармацевтические лекарственные формы для ректального введения включают ректальные суппозитории, капсулы и таблетки для системного эффекта. Ректальные суппозитории в данном описании обозначают твердые тела для вставки в прямую кишку, которые тают или размягчаются при температуре тела, высвобождая один или больше фармакологически или терапевтически активных ингредиентов. 10 Фармацевтически приемлемые субстанции, применяемые в ректальных суппозиториях, включают основы или носители и агенты, которые повышают температуру плавления суппозиторияев. Примеры основ включают масло какао, глицерин-желатин, карбовоск (полиоксиэтиленгликоль) и подходящие смеси моно-, ди- и триглицеридов жирных кислот. Комбинации различных основ также могут использоваться. Агенты, которые 15 повышают температуру плавления суппозиторияев, включают спермацет и воск. Ректальные суппозитории могут быть приготовлены методом прессования или формованием. Масса ректальных суппозиторияев обычно составляет приблизительно от 2 г до приблизительно 3 г. Таблетки и капсулы для ректального введения 20 производят, используя такую же фармацевтически приемлемую субстанцию(и) и такие же способы, как и в случае препаратов для перорального введения.

[00147] Фармацевтически приемлемые носители, используемые в парентеральных препаратах, включают водный носитель, неводный носитель, противомикробные агенты, изотонические агенты, буферы, антиоксиданты, местно-анестезирующие 25 средства, суспендирующие и диспергирующие агенты, эмульгаторы, секвестранты или хелатные агенты и другие фармацевтически приемлемые субстанции.

[00148] Примеры водного носителя включают раствор натрия хлорида для инъекций, раствор Рингера для инъекций, изотонической раствор глюкозы для 30 инъекций, стерильную воду для инъекций, раствор глюкозы и раствор Рингера с лактатом для инъекций. Неводный парентеральный носитель включает нелетучие масла растительного происхождения, хлопковое масло, кукурузное масло, кунжутное масло и арахисовое масло. Противомикробные агенты в бактериостатических или фунгистатических концентрациях должны быть добавлены в парентеральные 35 препараты, упакованные в многодозовые контейнеры, что включает фенолы или крезолы, соединения ртути, бензиловый спирт, хлорбутанол, метиловый и пропиловый эфиры п-гидроксibenзойной кислоты, тимеросал, бензалкония хлорид и бензэтония хлорид. Изотонические агенты включают натрия хлорид и глюкозу. Буферные 40 вещества включают фосфат и цитрат. Антиоксиданты включают натрия бисульфит. Местноанестезирующие средства включают прокаина гидрохлорид. Суспендирующие и диспергирующие агенты включают натрий карбоксиметилцеллюлозу, гидроксипропилметилцеллюлозу и поливинилпирролидон. Эмульгаторы включают полисорбат 80 (Твин 80). Секвестранты или хелатные агенты для ионов металла, такие 45 как ЭДТА, также могут быть введены. Фармацевтические носители также включают этиловый спирт, полиэтиленгликоль и пропиленгликоль для смешиваемых с водой носителей, и значение pH может быть доведено до физиологически совместимых значений добавлением натрия гидроксида, кислоты хлористоводородной, лимонной 50 кислоты или молочной кислоты.

[00149] Активный ингредиент может вводиться в виде одной дозы или может быть разделен на целый ряд меньших доз, которые вводят с промежутками времени или в форме препарата контролируемого высвобождения. Термин «препарат

контролируемого высвобождения» включает препараты, которые позволяют непрерывную доставку синтетических пептидных амидов по изобретению субъекту за период времени, например, от нескольких дней до недель. Такие препараты могут вводиться подкожно или внутримышечно и позволяют непрерывную беспрерывное постоянное высвобождение предварительно определенного количества соединения в организме субъекта на протяжении периода времени. Препарат синтетического пептидного амида с контролируемым высвобождением может представлять собой, например, препарат лекарственного средства, содержащий полимерные микрокапсулы, такие как описаны в патентах США №№4,677,191 и 4,728,721, включенных в данное описание путем ссылки. Осуществляют коррекцию концентрации фармацевтически активного соединения таким образом, что введение обеспечивает эффективное количество для обеспечения желательного эффекта. Точная доза зависит от возраста, массы тела и состояния больного или животного, как известно из уровня техники. Для любого конкретного субъекта, специфические схемы лечения могут быть скорректированы через какое-то время согласно индивидуальной потребности и профессиональному суждению лица, которое вводит или наблюдает за введением препаратов. Таким образом, интервалы концентрации, определенные в данном описании, приведены только для примера и не предназначены ограничивать контекст или практику заявленного изобретения.

[00150] Единица дозы парентерального препарата включают упаковку в ампулу или расфасовку в шприц с иглой или без нее, для введения. Все препараты для парентерального введения обычно стерильны, как практикуется в данной области. Для иллюстрации, внутривенная инфузия стерильного водного буферизованного раствора, содержащего активное соединение, представляет собой эффективный способ введения. В другом варианте, стерильный водный или масляный раствор или суспензия, содержащая активный материал, может быть введена инъекцией по мере необходимости, чтобы обеспечить желательный фармакологический эффект.

[00151] Фармацевтические композиции по изобретению могут быть доставлены или введены внутривенно, трансдермально, через слизистую оболочку, интраназально, подкожно, внутримышечно, перорально или местно (например, в глаз). Композиции можно вводить для профилактического лечения индивидуумов, страдающих от или подвергающихся риску заболевания или расстройства. Для терапевтического применения, фармацевтическую композицию обычно вводят субъекту, страдающему от заболевания или расстройства, в количестве, достаточном для подавления, предупреждения или облегчения заболевания или расстройства. Количество, адекватное для обеспечения такого воздействия, определено как "терапевтически эффективная доза."

[00152] Фармацевтические композиции по изобретению можно вводить млекопитающему для профилактических или терапевтических целей в виде любого из вышеописанных препаратов и способов введения. Млекопитающее может представлять собой любое млекопитающее, такое как домашнее или сельскохозяйственное млекопитающее или даже дикое млекопитающее. Млекопитающее может быть любым приматом, копытным животным, из семейства собачьих или кошачьих. Например, не ограничиваясь ими, млекопитающее может представлять собой домашнее животное, такое как собака или кот; ценное млекопитающее, такое как чистокровный конь или выставочное животное; сельскохозяйственное животное, такое как корова, коза, овца или свинья; или примат, такой как обезьяна, горилла, орангутанг, лемур, обезьяна или шимпанзе. Подходящим

млекопитающим для профилактики или лечения с применением фармацевтических композиций по изобретению, является человек.

[00153] Фармацевтические композиции по изобретению можно вводить млекопитающему, у которого присутствует заболевание или состояние, поддающееся лечению активацией каппа-опиатного рецептора. Альтернативно, фармацевтические композиции можно вводить в составе профилактических способов млекопитающему, подвергающемуся риску приобретения или развития заболевания или состояния, поддающегося профилактике активацией каппа-опиатного рецептора. Заболевания или состояния, которые поддаются лечению или профилактике введением фармацевтических композиций по изобретению, включают, не ограничиваясь ими, любое состояние, которое может быть облегчено активацией каппа-опиатного рецептора, в том числе такие состояния как боль, воспаление, зуд, гипонатриемия, гипокалиемия, застойная сердечная недостаточность, цирроз печени, нефротический синдром, артериальная гипертензия, отек, непроходимость кишечника, кашель и глаукома.

[00154] В конкретном варианте, фармацевтические композиции по изобретению могут вводиться совместно или могут включать один или больше других терапевтических соединений или адъювантов, такие как, не ограничиваясь ими, другие опиоиды, каннабиноиды, антидепрессанты, противосудорожные препараты, нейролептики, антигистаминные средства, ацетаминофен, кортикостероиды, блокаторы ионных каналов, нестероидные противовоспалительные лекарственные препараты (НПВП) и диуретики, многие из которых действуют синергетически с синтетическими пептидными амидами по изобретению.

[00155] Подходящие опиаты включают, не ограничиваясь ими, алфентанил, альфародин, анилеридин, бремазоцин, бупренорфин, буторфанол, кодеин, конорфон, декстроморамид, декстропропаксифен, дезоцин, диаморфин, дигидрокодеин, дигидроморфин, дифеноксилат, дипипанон, докспикомин, этогептазин, этилкетазоцин, этилморфин, эторфин, фентанил, гидрокодон, гидроморфон, кетобемидон, левометадил, леворфанол, лофентанил, лоперамид, меперидин (петидин), мептазинол, метадон, морфин, морфин-6-глюкуронид, налбуфин, налорфин, никоморфин, оксикодон, оксиморфон, пентазоцин, феназоцин, феноперадин, пиритрамид, пропирам, пропаксифен, ремифентанил, суфентанил, тилидат, тоназоцин и трамадол.

[00156] Один из вариантов изобретения представляет собой комбинированный препарат и/или совместное введение опиатного с выраженной активностью агониста по отношению к мю-опиатному рецептору, такого как морфин, фентанил, гидроморфон или оксикодон, вместе с синтетическими пептидными амидами по изобретению, с целью снижения дозы мю-опиоида, где дозу мю-опиоида снижают для минимизации общих побочных эффектов мю-опиоидов, особенно у больных, не получавших ранее опиоиды. Такие побочные эффекты включают запор, тошноту, рвоту, седацию, угнетение дыхания, зуд, спутанность мыслей, дезориентацию и нарушение когнитивной функции, задержку мочи, спазм желчных путей, бред, миоклонические рывки и припадки. Выбор сниженной дозы мю-опиоида требует суждения клинического эксперта и зависит от уникальных характеристик различных мю-опиоидов, а также от характеристик пациента, таких как интенсивность боли, возраст пациента, сопутствующее заболевание, текущая схема лечения и потенциальное межмедикаментозное взаимодействие, результаты предшествующего лечения и предпочтения пациента (McCaffery, M. and Pasero, C., Pain Clinical Manual, Second Edition, Mosby, 1999).

[00157] Каннабиноиды, подходящие для совместного введения или введения в фармацевтические композиции по изобретению, включают любой природный каннабиноид, например, тетрагидроканнабинол (ТГК) или производное ТГК, или синтетический каннабиноид, например, левонантрадол, маринол, набилон, римонабант или савитекс.

[00158] Антидепрессанты, подходящие для совместного введения или введения в фармацевтические композиции по изобретению, включают, например, трициклические антидепрессанты, такие как имипрамин, дезипрамин, тримипрамин, протриптилин, нортриптилин, амитриптилин, доксепин и кломипрамин; атипичные антидепрессанты, такие как амоксапин, мапротилин, тразодон, бупропион и венлафаксин; специфические ингибиторы обратного захвата серотонина, такие как флуоксетин, сертралин, пароксетин, циталопрам и флувоксамин; специфические ингибиторы обратного захвата норадреналина, такие как ребоксетин; или антидепрессанты двойного действия, такие как нефазодон и миртазапин.

[00159] Нейролептики, пригодные для совместного введения или введения в фармацевтические композиции по изобретению: включают любой нейролептику например, соединение с активностью антагониста рецептора дофамина D2, такое как домперидон, метоклопрамид, левосульпирид, сульпирид, триэтилперазин, зипрасидон, зотепин, клозапин, хлорпромазину ацетофеназин, карфеназину хлорпротиксен, флуфеназин, локсапин, мезоридазин, молиндону перфеназин, пимозиду пиперацетазин, перхлорперазин, тиоридазин, тиотиксен, трифлуоперазину трифлупромазин, пипамперон, амперозид, кветиапин, мелперон, ремоксирид, галоперидол, рисперидон, оланзапин, сертиндол, зипрасидон, амисульприд, прохлорперазин и тиотиксен.

[00160] Противосудорожные препараты, такие как фенобарбитал, фенитоин, примидон, карбамазепин, этосукцимид, ламотриджин, вальпроевая кислота, вигабатрин, фелбамат, габапентин, леветирацетам, окскарбазепин, ремацемид, тиагабин и топирамат могут также подходящим образом быть введены в фармацевтические композиции по изобретению.

[00161] Миорелаксанты, такие как метокарбамол, орфенадрин, каризопродол, мепробамат, хлорфенезин карбамат, диазепам, хлордиазепоксид и хлорзоксазон; противомигренозные агенты, такие как суматриптан, аналептики, такие как кофеин, метилфенидат, амфетамин и модафинил; антигистаминные средства, такие как хлорфенирамин, ципрогептадин, прометазин и пириламид, в также кортикостероиды, такие как метилпреднизолон, бетаметазон, гидрокортизон, преднизолон, кортизон, дексаметазон, преднизон, алклометазон, клобетазол, клокортолон, десонид, дезоксиметазон, дифлоразон, флуоцинолон, флуоцинонид, флурандренолид, флутиказон, фторметалон, галцинонид, галобетазол, лотепреднол, мометазон, предникарбат и триамцинолон, также могут быть введены в фармацевтические композиции по изобретению.

[00162] Блокаторы ионных каналов, такие как, блокатор натриевых каналов, карбамазепин, которые обычно применяют для лечения звона в ушах, аритмии, ишемического инсульта и эпилепсии, можно вводить совместно или вводить в фармацевтические композиции по изобретению. Альтернативно или дополнительно, блокаторы кальциевых каналов, такие как зиконотид, также могут применяться, как и антагонисты ионных каналов, связанных с рецептором NMDA, такие как кетамин. Существуют доказательства того, что как минимум некоторые из таких блокаторов ионных каналов могут потенцировать анальгетический эффект агониста каппа и,

таким образом, уменьшать дозу, необходимую для эффективного облегчения боли. См., например, Wang et al., 2000, Pain 84:271-81.

[00163] Подходящие НПВП, или другие неопиатные соединения с  
5 противовоспалительной и/или болеутоляющей активностью, которые можно вводить  
совместно или вводить в фармацевтические композиции по изобретению, включают,  
не ограничиваясь ими, одно или больше из следующего перечня: производные  
аминоарилкарбоновой кислоты, такие как этофенамат, меклофенамовая кислота,  
10 мефенамовая кислота, нифлумовая кислота; производные арилуксусной кислоты,  
такие как ацеметацин, амфенак, цинметацин, клопирак, диклофенак, фенклофенак,  
фенклорак, фенклозик, фентиазак, глюкаметацин, изоксепак, лоназолак, метиазиновая  
кислота, напроксин, оксаметацин, проглуметацин, сулиндак, тиарамид и толметин;  
15 производные арилмасляной кислоты, такие как бутибуфен и фенбуфен;  
арилкарбоновой кислоты, такие как клиданак, кеторолак и тиноридин. производные  
арилпропионовой кислоты, такие как, карпрофен, фенопрофен, флуноксапрофен  
ибупрофен, ибупроксам, оксапрозин, производные фенилалкановой кислоты, такие  
как флурбипрофен, пикетопрофен, пирпрофен, пранопрофен, протизинова кислота и  
20 тиaproфеновая кислота; пиранкарбоновой кислоты, такие как этодолак; производные  
пиразола, такие как мепиризол; пиразолоны, такие как клофезон, фепазон,  
мофебутазон, оксифенбутазон, фенилбутазон, фенилпиразолидиноны, суксibuзон и  
тиазолинобутазон; производные салициловой кислоты, такие как аспирин,  
бромсалигенин, дифлунизал, фендосал, гликольсалицилат, месаламин, 1-  
25 нафтилсалицилат, магния салицилат, олсалазин и салициламид, сальсалат и  
сульфасалазин; тиазинкарбоксамиды, такие как дроксикам, изоксикам и пироксикам,  
другие, такие как  $\epsilon$ -ацетамидокапроновая кислота, ацетаминофен, s-  
аденозилметионин, 3-амино-4-гидроксимасляная кислота, амиксетрин, бендазак,  
буколом, карбазоны, кромолин, дифенпирамид, дитазол, гидроксихлорохин,  
30 индометацин, кетопрофен и его активный метаболита 6-метокси-2-нафтилуксусная  
кислота; гуайазулен, гетероциклические аминокальциевые эфиры микофеноловой  
кислоты и ее производных, набуметон, нимесулид, орготеин, оксацепрол, производные  
оксазола, паранилин, пифоксим, 2-замещенные 4,6-ди-трет-бутил-s-гидрокси-1,3-  
пиримидины, проквазон и тенидап, а также ингибиторы ЦОГ-2 (циклооксигеназа II),  
35 такие как целекоксиб или рофекоксиб.

[00164] Подходящие диуретики, которые можно вводить совместно или вводить в  
фармацевтические препараты по изобретению, включают, например ингибиторы  
карбоангидразы, такие как ацетазоламид, дихлорфенамид и метазоламид;  
40 осмотические диуретики, такие как глицерин, изосорбид, маннитол и мочевиная;  
ингибиторы  $\text{Na}^+ \text{-K}^+ \text{-2Cl}^-$ -симптомы (петлевые диуретики или диуретики, действующие  
в верхних отделах), такие как фуросемид, буметанид, этакриновая кислота, торсемид,  
аксосемид, пиретанид и трипамид; ингибиторы  $\text{Na}^+ \text{-Cl}^-$ -симпорта (тиазидные и  
45 тиазидноподобные диуретики), такие как бендрофлуметазид, хлортеазид,  
гидрохлортиазид, гидрофлуметазид, метиклотиазид, политиазид, трихлорметиазид,  
хлорталидон, индапамид, метолазон и хинетазон; и, кроме того, ингибиторы  
почечных эпителиальных каналов  $\text{Na}^+$ , такие как амилорид и триамтерен, и  
антагонисты минералокортикоидных рецепторов (антагонисты альдостерона), такие  
50 как спиронолактон, канренон, калия канреноат и эплеренон, которые вместе также  
классифицируются как диуретики  $\text{K}^+$ -сберегающие. Один из вариантов представляет  
собой комбинированный препарат и/или совместное введение петлевого и тиазидного  
диуретика вместе с синтетическими пептидными амидами по изобретению с целью

снижения дозы петлевого или тиазидного диуретика, где доза петлевого или тиазидного диуретика снижена для минимизации нежелательной задержки воды и предупреждения или уменьшения выраженности гипонатриемии, особенно в контакте застойной сердечной недостаточности, а также других медицинских состояний, при которых уменьшение задержки жидкости в организме и нормализация натриевого баланса могло бы быть полезно больному, нуждающемуся в таком лечении. См. R M Reynolds et al. Disorders of sodium balance Brit. Med. J. 2006; 332: 702-705.

[001165] Связанная с каппа-опиатным рецептором гипонатриемия может представлять собой какие-либо заболевание или состояние, при котором присутствует гипонатриемия (низкое содержание натрия), например, у человека, если концентрация натрия в плазме снижается ниже 135 ммоль/л, нарушение, которое может развиваться отдельно, или чаще, как осложнение других медицинских состояний или как следствие применения терапии, которая может вызвать истощение натрия.

[00166] Другой вариант представляет собой комбинированный препарат и/или совместное введение калий-сберегающего диуретика, например, антагониста рецептора минералокортикоида, такого как спиронолактон или эплеренон, вместе с синтетическими пептидными амидами по изобретению, с целью снижения дозы указанного калий-сберегающего диуретика, где доза указанного диуретика снижена с целью минимизации гиперкалиемии или метаболического ацидоза, например, у больных циррозом печени.

[00167] В конкретных вариантах, синтетические пептидные амиды по изобретению демонстрируют длительную продолжительность действия при введении в терапевтически адекватных дозах *in vivo*. Например, в некоторых вариантах, синтетические пептидные амиды по изобретению при введении млекопитающему в дозе 3 мг/кг синтетического пептидного амида сохраняют как минимум приблизительно 50% максимальной эффективности в анализе, зависящем от каппа-опиатного рецептора через 3 часа после введения. В некоторых других вариантах, синтетические пептидные амиды по изобретению при введении млекопитающему в дозе 0,1 мг/кг синтетического пептидного амида сохраняют как минимум приблизительно 50% максимальной эффективности в анализе, зависящем от каппа-опиатного рецептора через 3 часа после введения. Максимальная эффективность оперативно определяется как самый высокий уровень эффективности, определенный для конкретного анализа, зависящего от каппа-опиатного рецептора для всех исследуемых агонистов.

[00168] В определенных вариантах, синтетические пептидные амиды по изобретению при введении млекопитающему в дозе 0,1 мг/кг сохраняют как минимум приблизительно 75% максимальной эффективности через 3 часа после введения. В других вариантах, синтетические пептидные амиды по изобретению при введении млекопитающему в дозе 0,1 мг/кг сохраняют как минимум приблизительно 90% максимальной эффективности через 3 часа после введения. В других вариантах, синтетические пептидные амиды по изобретению при введении млекопитающему в дозе 0,1 мг/кг сохраняют как минимум приблизительно 95% максимальной эффективности в почтовых введениях трех часов.

[00169] В изобретении дополнительно предлагается способ лечения или предупреждения связанного с каппа-опиатными рецепторами заболевания или состояния у млекопитающего, где способ включает введение млекопитающему композиции, содержащей эффективное количество синтетического пептидного амида по изобретению. Млекопитающее может быть любым млекопитающим, таким как

домашнее или сельскохозяйственное млекопитающее, или даже дикое млекопитающее. Альтернативно, млекопитающее может быть приматом, копытным животным, собачьим или кошачьим. Например, не ограничиваясь ими, млекопитающее может представлять собой домашнее животное, ценное млекопитающее, такое как чистокровное животное или выставочное животное; сельскохозяйственное животное, такое как корова, коза, овца или свинья; или примат, такой как обезьяна или мартышка. В одном конкретном аспекте, млекопитающее представляет собой человека.

[00170] Эффективное количество может быть определено средним специалистом в данной области согласно шаблонным способам. Например, эффективное количество может быть определено как единица дозы, достаточная для предупреждения или лечения связанного с рецептором каппа заболевания или состояния у млекопитающего. Альтернативно, эффективное количество может быть определено как количество, достаточное, чтобы приблизиться к концентрации  $EC_{50}$ , или количество, достаточное, чтобы приблизиться к величине, в 2 или 3 или приблизительно до 5 или даже приблизительно до 10 раз превышающей концентрацию  $EC_{50}$  в терапевтически адекватной жидкости биологического происхождения млекопитающего, например, если жидкость биологического происхождения находится в прямом контакте с тканью-мишенью, например, синовиальная жидкость воспаленного сустава у пациента, страдающего от ревматоидного артрита.

[00171] В одном варианте синтетический пептидный амид по изобретению представляет собой фармацевтическую композицию, которая содержит эффективное количество синтетического пептидного амида по изобретению и фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество или носитель. В одном аспекте, фармацевтическая композиция содержит синтетические пептидные амиды по изобретению в количестве, эффективном для лечения или предупреждения связанного с каппа-опиатным рецептором состояние у млекопитающего, такого как человек. В другом аспекте связанное с каппа-опиатным рецептором состояние представляет собой боль, воспаление, зуд, отек, непроходимость кишечника, кашель или глаукому.

[00172] В одном варианте фармацевтическая композиция по изобретению дополнительно содержит одно или больше следующих соединений: опиоид, каннабиноид, антидепрессант, антиконвульсант, нейрелептик, кортикостероид, блокатор ионных каналов или нестероидный противовоспалительный лекарственный препарат (НПВП).

[00173] Фармацевтические композиции, которые содержат синтетические пептидные амиды по изобретению и фармацевтически приемлемый растворитель или носитель могут применяться, для лечения или предупреждения одного или больше разнообразных связанных с каппа-опиатным рецептором заболеваний, расстройств или состояний.

[00174] Связанное с каппа-опиатным рецептором заболевание, расстройство или состояние, поддающееся профилактике или поддающееся лечению синтетическими пептидными амидами по изобретению, может быть любым связанным с каппа-опиатным рецептором состоянием, в том числе, не ограничиваясь ими, острой или хронической болью, воспалением, зудом, гипонатриемией, отеком, непроходимостью кишечника, кашлем и глаукомой. Например, связанная с каппа-опиатным рецептором боль может быть невропатической болью, соматической болью, висцеральной болью или кожной болью. Некоторые заболевания, расстройства или состояния связаны

более чем с одной формой боли, например послеоперационная боль может включать любой или все из невропатического, соматического, висцерального и кожного компонентов боли, в зависимости от вида и протяженности хирургической процедуры.

5 [00175] Связанное с каппа-опиатным рецептором воспаление может быть любым воспалительным заболеванием или состоянием, в том числе, не ограничиваясь ими, синусит, ревматоидный артрит, теносиновит, бурсит, тендонит, латеральный эпикондилит, адгезивный капсулит, остеомиелит, остеоартритное воспаление, воспалительное заболевание кишечника (IBD), синдромом раздраженного  
10 кишечника (IBS), воспаление глаз, воспаление уха или воспаление аутоиммунного генеза.

[00176] Связанный с каппа-опиатным рецептором зуд может представлять собой любое заболевание или состояние, связанное с зудом, например, зуд глаз, например, связанный с конъюнктивитом, зуд ушей, зуд: связанный с терминальной стадией  
15 почечного заболевания, при котором многие больные получают почечный диализ, и другие формы холестаза, в том числе первичный билиарный цирроз, внутрипеченочный холестаз при беременности, хроническое холестатическое заболевание печени, уремия, злокачественный холестаз, желтуха, а также  
20 дерматологическое состояние, такое как экзема (дерматит), в том числе атопический или контактный дерматит, псориаз, истинная полицитемия, красный плоский лишай, простой хронический лишай, педикулез (вши), тиреотоксикоз, дермофития стопы, крапивница, чесотка, вагинит, анальный зуд, связанный с геморроем, зуд в результате укусов насекомых и индуцированный лекарственными средствами зуд, а также  
25 индуцированный мю-опиоидом зуд.

[00177] Связанный с каппа-опиатным рецептором отек может представлять собой любое связанное с отеком заболевание или состояние, такое как, отек в результате застойной сердечной недостаточности или синдрома ненадлежащей секреции  
30 антидиуретического гормона (АДГ).

[00178] Связанная с каппа-опиатным рецептором непроходимость кишечника может представлять собой любое связанное с непроходимостью кишечника заболевание или состояния, в том числе, не ограничиваясь ими, послеоперационная непроходимость кишечника или индуцированная опиоидами дисфункция кишечника.  
35

[00179] Связанная с каппа-опиатным рецептором невропатическая боль может представлять собою любую невропатическую боль, например, невралгия тройничного нерва, боль диабетического происхождения, боль вирусного происхождения, например, боль, связанная с опоясывающим лишаем, индуцированная химиотерапией  
40 боль, боль при раковых заболеваниях, связанная с вторжением метастазов в нервную ткань, невропатическая боль, связанная с травматическим повреждением и хирургическими процедурами, а также виды головной боли, для которых предполагается невропатический компонент, например, мигрень.

[00180] Связанная с каппа-опиатным рецептором боль также включает боль в  
45 глазах, например, после фото-рефрактивной кератэктомии (PRK), разрыва глаз, перелома орбитального дна, химических ожогов, царапин или раздражения роговицы, или связанная с конъюнктивитом, язвами роговицы, склеритом вследствие опоясывающего лишая, эписклеритом, склерокератитом, офтальмическим герпесом,  
50 интерстициальным кератитом, острым иритом (воспаление радужной оболочки глаз), сухим кератоконъюнктивитом, орбитальным целлюлитом, орбитальной псевдоопухолью, пузырьчаткой, трахомой или увеитом.

[00181] Связанная с каппа-опиатным рецептором боль также включает боль в

горле, особенно связанную с воспалительными состояниями, такими как аллергический ринит, острый бронхит, обычная простуда, контактные язвы, поражение вирусом простого герпеса, инфекционный мононуклеоз, грипп, рак гортани, острый ларингит, острый некротизирующий язвенный гингивит, перитонзиллярный абсцесс, ожоги глотки, фарингит, грипп, ларингофарингит, острый синусит и тонзиллит.

[00182] Кроме того, связанная с каппа-опиатным рецептором боль может быть болью при артрите, почечнокаменной болезни, камнях в мочевых путях, камнях в желчных путях и болью при проходе камней по желчным путям, болью в результате спазмов матки, дисменореи, эндометриоза, мастита, диспепсии, послеоперационной боли (например, после аппендэктомии, открытого хирургического вмешательства в области ободочной и прямой кишки, лечения грыжи, простатэктомии, резекции ободочной кишки, гастрэктомии, спленэктомии, колостомии, колостомии, тазовой лапароскопии, перевязки труб, гистерэктомии, вазэктомии или холецистэктомии), болью после медицинских процедур (например, после колоноскопии, цистоскопии, гистероскопии или затылочного или биопсии шейки матки или эндометрия), ушной болью, прорывной болью при раковых заболеваниях и болью, связанной с расстройством ЖКТ, таким как воспалительное заболевание кишечника или синдром раздраженного кишечника или другие воспалительные состояния, особенно внутренних органов (например, гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь, панкреатит, острый полинефрит, язвенный колит, острый пиелонефрит, холецистит, цирроз, абсцесс печени, воспаление печени, дуоденальная язва или язва желудка, эзофагит, гастрит, гастроэнтерит, колит, дивертикулит, непроходимость кишечника, киста яичника, воспалительное заболевание органов таза, перфорированная язва, перитонит, простатит, интерстициальный цистит) или контакт с токсичными агентами, такими как токсины насекомого, или лекарственными средствами, такими как салицилаты или НПВП.

[00183] В настоящем изобретении предлагается способ лечения или предупреждения связанного с каппа-опиатными рецепторами заболевания или состояния у млекопитающего, такого как человек, где способ включает введение млекопитающему композиции, содержащей эффективное количество синтетических пептидных амидов по изобретению. В другом варианте связанное с каппа-опиатным рецептором состояние представляет собой боль, воспаление (такое как воспаление при ревматоидном артрите, воспаление при остеоартрите, воспаление при воспалительном заболевании кишечника, воспаление при синдроме раздраженного кишечника, воспаление глаз, воспаление уха или воспаление аутоиммунного генеза), зуд (такой как атопический дерматит, связанный с почечным диализом зуд, зуд глаз, зуд ушей, зудом в результате укусов насекомых или индуцированным опиоидами зуд), отек, непроходимость кишечника, кашель или глаукома. В одном аспекте, боль представляет собой невропатическую боль (такую как невралгия тройничного нерва, мигрень, боль диабетического происхождения, боль вирусного происхождения, индуцированная химиотерапией боль или боль у больных метастатическим раком), соматическую боль, висцеральную боль или кожную боль. В другом аспекте боль представляет собой боль при артрите, боль при почечно-каменной болезни, боль в результате спазмов матки, дисменореи, эндометриоза, диспепсии, послеоперационную боль, боль после медицинских процедур, боль в глазах, боль в ушах, прорывную боль при раковых заболеваниях или боль, связанную с расстройством ЖКТ, таким как воспалительное заболевание кишечника или синдром раздраженного кишечника. В

другом аспекте боль представляет собой боль, связанную с хирургическим вмешательством, где хирургическое вмешательство представляет собой лапароскопию тазовой области, перевязку труб, гистерэктомию и холецистэктомию. Альтернативно, боль может быть болью, связанной с медицинской процедурой, такой как колоноскопия, цистоскопия, гистероскопия или биопсия эндометрия. В конкретном аспекте, атопический дерматит может быть псориазом, экземой или контактным дерматитом. В другом специфическом аспекте, непроходимость кишечника представляет собой послеоперационную непроходимость кишечника или индуцированную опиоидами дисфункцию кишечника.

[00184] Связанная с каппа-опиатным рецептором боль включает гипералгезию, которая, как предполагается, вызвана изменениями в микро окружении периферического сенсорного окончания и развивается вторично к местному повреждению ткани. Повреждение (например, ссадины, ожоги) и воспаление ткани может существенно увеличивать возбудимость полимодальных ноцицепторов (волокон C) и механических рецепторов высокого порога (Handwerker et al. (1991) Proceeding of the VI<sup>th</sup> World. Congress on Pain, Bond et al., eds., Elsevier Science Publishers BV, pp.59-70; Schaible et al. (1993) Pain 55: 5-54). Считается, что такое повышение возбудимости и чрезмерно усиленные реакции чувствительных афферентных окончаний лежит в основе гипералгезии, где реакция боли является результатом чрезмерно усиленной реакции на стимул. Значение гипералгезического состояния в состоянии боли после повреждения повторно продемонстрировано и, по-видимому, ответственно за основную часть состояния боли после повреждения/при воспалении. Woold et al. (1993) Anesthesia and Analgesia 77: 362-79; Dubner et al. (1994) в Textbook of Pain, Melzack et al., eds., Churchill-Livingstone, London, pp.225-242.

[00185] В другом варианте связанное с каппа-опиатным рецептором состояние представляет собой боль, воспаление (такое как воспаление при ревматоидном артрите, воспаление при остеоартрите, воспаление при воспалительном заболевании кишечника, воспаление при синдроме раздраженного кишечника, воспаление глаз, воспаление уха или воспаление аутоиммунного генеза), зуд (такой как атопический дерматит, связанный с почечным диализом зуд, зуд глаз, зуд ушей, зуд в результате укусов насекомых или индуцированный опиоидами зуд), отек, непроходимость кишечника, кашель или глаукому. В одном аспекте, боль представляет собой невропатическую боль (такую как невралгия тройничного нерва, мигрень, боль диабетического происхождения, боль вирусного происхождения, индуцированная химиотерапией боль или боль у больных метастатическим раком), соматическую боль, висцеральную боль или кожную боль. В другом аспекте боль представляет собой боль при артрите, боль при почечно-каменной болезни, боль в результате спазмов матки, дисменореи, эндометриоза, диспепсии, послеоперационную боль, боль после медицинских процедур, боль в глазах, боль в ушах, прорывную боль при раковых заболеваниях или боль, связанную с расстройством ЖКТ, таким как воспалительное заболевание кишечника или синдром раздраженного кишечника. В другом аспекте боль представляет собой боль, связанную с хирургическим вмешательством, где хирургическое вмешательство представляет собой лапароскопию тазовой области, перевязку труб, гистерэктомию и холецистэктомию. Альтернативно, боль может быть болью, связанной с медицинской процедурой, такой как колоноскопия, цистоскопия, гистероскопия или биопсия эндометрия. В конкретном аспекте, атопический дерматит может быть псориазом, экземой или контактным дерматитом. В другом специфическом аспекте, непроходимость кишечника представляет собой

послеоперационную непроходимость кишечника или индуцированную опиатами дисфункцию кишечника.

5 [00186] В другом варианте связанное с каппа-опиатным рецептором состояние представляет собой связанное с каппа-опиатным рецептором состояние, поддающееся профилактике или поддающееся лечению натрий- и калий-сберегающим диурезом, также известным как акварез. Пример таких связанных с каппа-опиатным рецептором состояний, поддающихся профилактике или поддающихся лечению введением синтетических пептидных амидов по изобретению, включает отек. Отек может быть 10 результатом любого из многочисленных заболеваний или состояний, таких как застойная сердечная недостаточность или синдром ненадлежащей секреции антидиуретического гормона.

15 [00187] В другом варианте связанное с каппа-опиатным рецептором состояние представляет собой гипонатриемию или другое связанное с отеком заболевание. Связанная с каппа-опиатным рецептором гипонатриемия или отек может представлять собой любое заболевание или состояние, связанное с гипонатриемией или отеком, такое как гипонатриемия и отек, связанный с застойной сердечной недостаточностью или с синдромом ненадлежащей секреции антидиуретического 20 гормона (АДГ), или гипонатриемию, связанную с интенсивной терапией мочегонными средствами с применением тиазидных и/или петлевых диуретиков. Синтетические пептидные амиды по изобретению демонстрируют выраженный натрий- и калий-сберегающий акваретический эффект, который благоприятен в лечении патологических состояний отечности, связанной с гипонатриемией и/или 25 гипокалиемией. Соответственно, синтетические пептидные амиды по изобретению также пригодны для способов лечения или предупреждения связанных с гипонатриемией состояний, примеры которых приведены ниже. Связанные с гипонатриемией состояния могут быть распределены по категориям в соответствии с 30 волемическим статусом как гиперволемические, эволемические или гиповолемические.

[00188] Гиперволемическая гипонатриемия обычно вызвана увеличением общего содержания воды в организме, поскольку может наблюдаться в случаях застойной сердечной недостаточности, нефротического синдрома и цирроза печени.

35 [00189] Эволемическая гипонатриемия часто обнаруживается при синдроме ненадлежащей секреции антидиуретического гормона (АДГ) и может также быть связана с пневмонией, мелкоклеточным раком легкого, полидипсией, случаями травм головы и органическими причинами (например, применение некоторых лекарственных средств, такие как галоперидол) или психогенной причиной.

40 [00190] Гиповолемическая гипонатриемия - результат относительного уменьшения общего содержания натрия в организме, и может быть связана с применением диуретиков, случаями интерстициального нефрита или чрезмерного потоотделения.

45 [00191] Такие формы гипонатриемии могут быть дополнительно того классифицированы в соответствии с концентрацией натрия в моче (т.е., концентрация больше или меньше 30 ммоль/л. См.: R M Reynolds et al. Disorders of sodium balance, Brit. Med. J. 2006; 332:702-705.

50 [00192] Связанная с каппа-опиатным рецептором гипонатриемия может представлять собой любое заболевание или состояние, где присутствует гипонатриемия (низкое содержание натрия), например, у человека, если концентрация натрия в плазме снижается ниже 135 ммоль/л, аномалия, которая может развиваться отдельно или, более часто, как осложнение других медицинских состояний или как последствие применения терапии, которая может вызывать истощение натрия.

[00193] В дополнение к перечисленным состояниям, различные другие состояния связаны с гипонатриемией, в том числе, не ограничиваясь ими: неопластические причины чрезмерной секреции АДГ, в том числе злокачественные новообразования легкого, двенадцатиперстной кишки, поджелудочной железы, яичника, мочевого пузыря и мочеточника, тимомы, мезотелиомы, бронхиальные аденомы, карциноид, ганглиоцитомы и саркома Юинга; инфекции, такие как: пневмония (бактериальная или вирусная), абсцессы (легкого или мозга), образование каверн (аспергиллез), туберкулез (легкого или мозга), менингит (бактериальный или вирусный), энцефалит и СПИД; сосудистые причины, такие как: цереброваскулярная окклюзия или кровоизлияние и тромбоз кавернозного синуса; неврологические причины, такие как: синдром Гийена-Барре, рассеянный склероз, белая горячка, амиотрофный латеральный склероз, водянка головного мозга, психоз, периферическая невралгия, травма головы (закрытая и открытая), опухоли или инфекция ЦНС и инсульты ЦНС, затрагивающие гипоталамические осморорецепторы; врожденные уродства, в том числе: агенез corpus callosum, волчья пасть/заячья губа и другие дефекты средней линии; метаболические причины, такие как: острая перемежающаяся порфирия, астма, пневмоторакс и дыхание с положительным давлением; применение лекарственных средств, таких как: тиазидные диуретики, ацетаминофен, барбитураты, холинергические агенты, эстроген, пероральные гипогликемические средства, вазопрессин или десмопрессин, высокая доза окситоцина, хлорпропамид, винкристин, карбамазепин, никотин, фенотиазины, циклофосфамид, трициклические антидепрессанты, ингибиторы моноаминоксидазы и ингибиторы обратного захвата серотонина; дополнительное введение гипотонических жидкостей, например, в ходе госпитализации, хирургического вмешательства или в ходе или после атлетической работы (т.е., связанная с физической нагрузкой гипонатриемия), а также применение пищевых добавок с низким содержанием натрия пожилыми людьми. См., например, Harrison's Principles of Internal Medicine, 16th Ed. (2005), p.2102.

[00194] Другие состояния, связанные с почечной недостаточностью, включают гипонатриемию, нефротический синдром (мембранозная нефропатия и заболевание минимальных изменений), кахексию, недоедание, рабдомиолиза, хирургические процедуры, плановую катетеризацию сердца, потерю крови, а также гиперкальцемию, гипокалиемию и гипергликемию с последующей гликозурией, ведущей к осмотическому диурезу.

[00195] В изобретении также предлагается способ лечения или предупреждения нейродегенеративного заболевания или состояния у млекопитающего, такого как человек, где способ включает введение млекопитающему композиции, которая содержит эффективное количество синтетических пептидных амидов, как изложено выше. Нейродегенеративное заболевание или состояние может представлять собой любое Нейродегенеративное заболевание или состояние у например, ишемию, аноксию, инсульт, травму мозга, травму спинного мозга или реперфузионное повреждение. Альтернативно, нейродегенеративное заболевание или состояние может быть нейродегенеративным заболеванием глаз. Конкретные нейродегенеративные заболевания глаз, поддающиеся лечению или поддающиеся профилактике способом по изобретению, включают глаукому, дегенерацию желтого пятна, ишемическое заболевание сетчатки и диабетическую невралгию.

[00196] В определенных вариантах изобретения предлагаются способы предотвращения или лечения определенных заболеваний и состояний, нейронов таких как заболевания и состояния, включающие нейродегенеративный компонент.

Синтетические пептидные амиды по изобретению можно вводить в количестве, эффективном для защиты клетки нейронов против воздействия патологии или повреждения, которое приводило бы к нейродегенерации и/или гибели клетки нейрона в отсутствие лечения. Например, несколько заболеваний или состояния глаз, которые

5 включают нейродегенеративный компонент, можно предупреждать или лечить введением эффективного количества синтетических пептидных амидов по изобретению. Такие заболевания и состояния глаз включают глаукому, дегенерацию желтого пятна, ишемическое заболевание сетчатки и диабетическую невралгию.

10 Считается, что в прогресс этих заболеваний и состояний вовлечена нейродегенерация или гибель клеток нейронов, например, запрограммированная гибель клеток (апоптоз), при которой клетки нейронов направляются на путь, который в отсутствие вмешательства приведет к гибели клетки. Было обнаружено, что развитие или

15 прогрессирующее таких заболеваний и состояний может быть предупреждено или как минимум замедлено, лечением агонистами каппа-опиатного рецептора. Считается, что такой улучшенный результат возникает благодаря нейропротекции агонистами каппа-опиатного рецептора. См., например, Kaushik et al. "Neuroprotection in Glaucoma" (2003) J. Postgraduate Medicine vol.49 (1): pp.90-95.

20 [00197] В случае глаукомы считается, что профилактика и лечение введением агонистов каппа-опиатного рецептора опосредованы как минимум двумя различными видами активности, индуцированными активацией каппа-опиатного рецептора: нейропротекцией и уменьшением внутриглазного давления (IOP). Не привязываясь к теории, считается, что нейропротекция, как минимум частично, является результатом

25 индукции атриального натрийуретического пептида (ANP) в глазу, что ведет к защите против окислительного повреждения и других видов повреждения.

[00198] Также считается, что аномально высокое внутриглазное давление является фактором, ведущим к развитию глаукомы. Повышенное внутриглазное давление

30 также можно предупреждать или лечить введением агонистов каппа-опиатного рецептора с тремя различными видами активности, которые запускаются активацией рецептора: уменьшение секреции водного хумора, увеличение истечения водного хумора и акварез (натрия-и калий-сберегающий диурез, что ведет к выведению воды).

35 [00199] В изобретении также предлагается способ лечения или предупреждения связанного с рецептором каппа заболевания или состояния глаз млекопитающего, такого как повышенное внутриглазное давление (IOP). Способ включает введение млекопитающему композиции, которая содержит эффективное количество синтетических пептидных амидов, как изложено выше. В одном аспекте изобретения,

40 синтетические пептидные амиды применяют местно. В другом аспекте, синтетические пептидные амиды вводят в виде имплантата.

[00200] В других вариантах изобретения предлагаются способы предупреждения или лечения некоторых сердечнососудистых заболеваний и состояний, включающих компонент дегенерации клеток. Синтетические пептидные амиды по изобретению

45 может вводить в количестве, эффективном для защиты клеток миокарда против воздействия патологии или повреждения, которое приводило бы к дегенерации и/или гибели клеток в отсутствие лечения. Например, несколько сердечнососудистых заболеваний или состояний можно предупреждать или лечить введением

50 эффективного количества синтетических пептидных амидов по изобретению. Такие сердечно-сосудистые заболевания и состояния включают, не ограничиваясь ими, заболевание коронарных сосудов сердца, ишемию, инфаркт миокарда, реперфузионное повреждение и аритмии. См., например, Wu et al. "Cardioprotection of

Preconditioning by Metabolic Inhibition in the Rat Ventricular Myocyte - Involvement of kappa Opioid Receptor" (1999) Circulation Res vol.84: pp.1388-1395. См. также Yu et al. "Anti-Arrhythmic Effect of kappa Opioid Receptor Stimulation in the Perfused Rat Heart: Involvement of a cAMP-Dependent Pathway" (1999) J Mol Cell Cardiol. vol.31 (10): pp.1809-1819.

5 [00201] Заболевания и состояния других тканей и органов, которые можно предупредить или лечить введением эффективного количества синтетических пептидных амидов по изобретению включают, не ограничиваясь ими, ишемию, аноксию, инсульт, повреждение мозга или спинного мозга и реперфузионное  
10 повреждение.

[00202] Другая форма связанной с kappa-опиатным рецептором боли, поддающейся лечению или поддающейся профилактике синтетическими пептидными амидами по изобретению, представляет собой гипералгезию. В одном варианте, способ включает  
15 введение эффективного количества синтетического пептидного амида по изобретению млекопитающему, страдающему от или подвергающемуся риску развития гипералгезии для предупреждения, облегчения или полного устранения гипералгезии.

[00203] Синтетические пептидные амиды по изобретению можно вводить способами, раскрытыми в данном описании, для лечения или предотвращения какого-либо гипералгезического состояния, например, не ограничиваясь ими,  
20 гипералгезического состояния, связанного с аллергическим дерматитом, контактным дерматитом, язвами кожи, воспалением, сыпью, раздражением грибковой природы, и гипералгезических состояний, связанных с инфекционными агентами, ожогами, царапинами, синяками, ушибами, обморожением, сыпью, угрями, укусами/жалом  
25 насекомого, язвами кожи, мукозитом, гингивитом, бронхитом, ларингитом, болью в горле, опоясывающим лишаем, раздражением грибковой природы, лихорадочными волдырями, фурункулами, подошвенными бородавками, хирургическими процедурами или поражением влагалища. Например, синтетические пептидные амиды  
30 по изобретению можно применять местно на поверхности слизистой оболочки, такой как ротовая полость, пищевод или гортань, или в бронхиальные или носовые ходы. Альтернативно, синтетические пептидные амиды по изобретению можно применять местно по влагалищу или прямую кишку/задний проход.

[00204] Кроме того, синтетические пептидные амиды по изобретению можно  
35 вводить способами, раскрытыми в данном описании, для лечения или предотвращения какого-либо гипералгезического состояния, связанного с ожогами, ссадинами, синяками, царапинами (например, царапины роговицы), ушибами, обморожением, сыпью, угрями, укусами/жалом насекомого, язвами кожи (например, диабетические язвы или пролежни), мукозитом, воспалением, гингивитом, бронхитом, ларингитом,  
40 болью в горле, опоясывающим лишаем, раздражением грибковой природы (такие как стопа атлета или зуд жокея), лихорадочными волдырями, фурункулами, подошвенными бородавками или поражением влагалища (например, поражение влагалища, связанное с микозом или заболеваниями, передаваемыми половым путем).  
45 Способы, предусмотренные для введения синтетических пептидных амидов по изобретению с целью лечения или предотвращения гипералгезии, включают способы, где соединение применяется местно на поверхности глаз, ротовой полости, гортани, пищевода, бронхиальных ходов, носовых ходов, влагалища или прямой  
50 кишки/заднего прохода.

[00205] Гипералгезическими состояниями, связанными с восстановлением после хирургических вмешательств, можно также управлять введением синтетических пептидных амидов по изобретению. Гипералгезические состояния, связанные с

восстановлением после хирургического вмешательства, могут быть любыми Гипералгезическими состояниями, связанными с восстановлением после хирургического вмешательства, например, радиальной кератэктомии, удаления зубов, лампэктомии, эпизиотомии, лапароскопии и артроскопии.

5 [00206] Гипералгезическими состояниями, связанными с воспалением, также можно управлять введением синтетических пептидных амидов по изобретению. Воспаление периодонта, воспаление ортодонта, воспалительный конъюнктивит, геморрой и  
10 воспаление, связанное с заболеваниями, передающимися половым путем, можно лечить или предупреждать местным введением или нанесением синтетических пептидных амидов по изобретению.

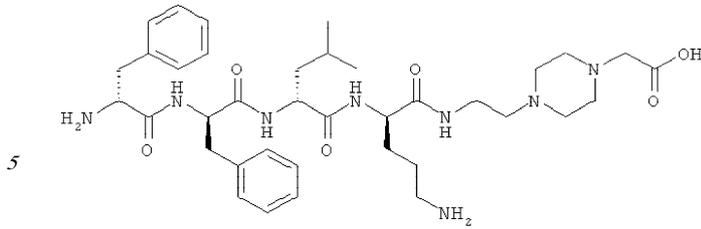
[00207] В изобретении также предлагается способ индукции диуреза у  
15 млекопитающего, нуждающегося в этом. Способ включает введение млекопитающему композиции, содержащей эффективное количество синтетических пептидных амидов по изобретению, как изложено выше.

[00208] В изобретении также предлагается способ индукции секреции пролактина у  
20 млекопитающего. Способ включает введение млекопитающему композиции, содержащей эффективное количество синтетических пептидных амидов по изобретению, как изложено выше. Способ индукции секреции пролактина пригоден для лечения млекопитающего, такого как человек, страдающего от недостаточной  
25 лактации, неадекватной лактации, субоптимальной лактации, пониженной подвижности сперматозоидов, возрастного расстройств, диабета I типа, бессонницы или неадекватного сна с быстрым движением глаз (REM сна). В конкретном аспекте, способ включает комбинированное введение синтетических пептидных амидов со  
30 сниженной дозой анальгетика мю-опиатного агониста для достижения терапевтического анальгетического эффекта, где соединение вызывает сопутствующий побочный эффект, причем сниженная доза соединения вызывает менее  
35 выраженный сопутствующий побочный эффект, чем побочный эффект, вызываемый дозой анальгетика мю-опиатного агониста, необходимой для достижения терапевтического анальгетического эффекта при монотерапии.

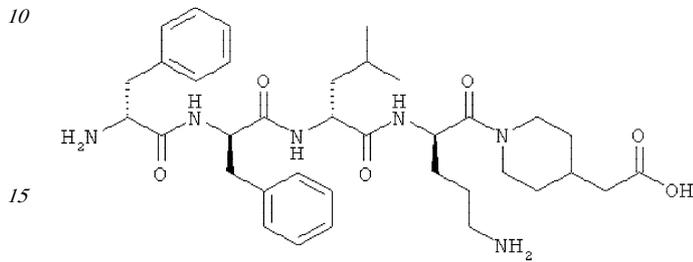
[00209] В настоящем изобретении также предлагается способ связывания каппа-  
40 опиатного рецептора у млекопитающего, где способ включает стадию введения млекопитающему композиции, содержащей эффективное количество синтетического пептидного амида по настоящему изобретению. Эффективное количество может быть  
45 определено средним специалистом в данной области в соответствии с шаблонными способами. Например, эффективное количество может быть определено как единица дозирования, достаточная, чтобы связаться с каппа-опиатными рецепторами у  
50 млекопитающего и вызвать антиноцицептивный эффект, противовоспалительный эффект, акваретический эффект или повышение уровней пролактина в сыворотке или любой другой связанный с каппа-опиатным рецептором эффект. Альтернативно, эффективное количество может быть определено как количество, достаточное, чтобы  
55 достичь уровней, близких к  $EC_{50}$ , в биологической жидкости организма млекопитающего, или количество, достаточное, чтобы достичь уровней, в 2 или 3 или до приблизительно 5 раз или даже приблизительно до 10 раз превышающих  $EC_{50}$  в подходящей для терапии биологической жидкости в организме млекопитающего.

#### 50 СИНТЕЗ ПЕПТИДНЫХ АМИДОВ И ДИМЕРОВ ПЕПТИДНЫХ АМИДОВ ПО ИЗОБРЕТЕНИЮ

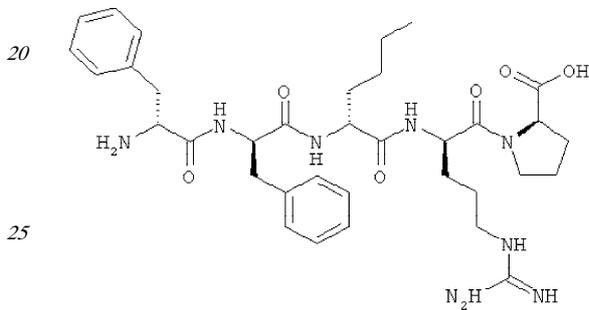
[00210] Соединение (1): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[4-(2-аминоэтил)-1-карбоксиметил-пиперазин]-ОН (SEQ ID NO: 1):



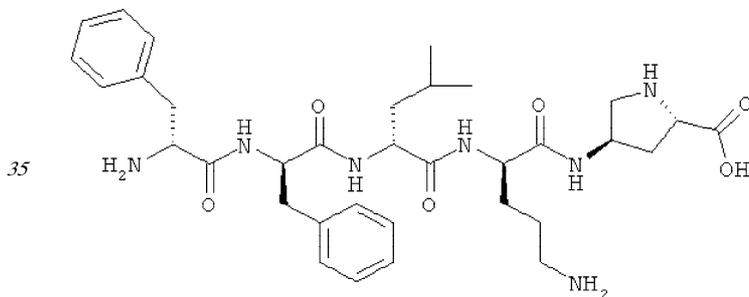
[00211] Соединение (2) D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[4-карбоксиметил-пиперидин]-OH (SEQ ID NO: 1):



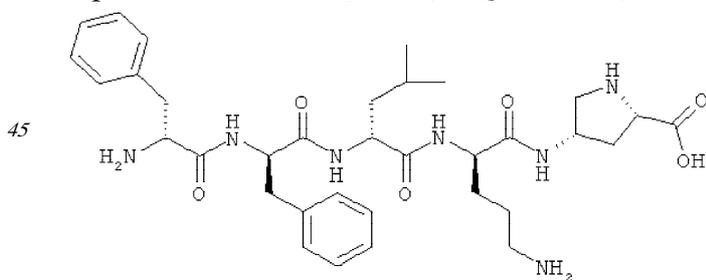
[00212] Соединение (3) D-Phe-D-Phe-D-Nle-D-Arg-D-Pro-OH (SEQ ID NO: 2):



[00213] Соединение (4) D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[(2S,4R)-4-амино-пирролидин-2-карбоновая кислота]-OH (SEQ ID NO: 1):

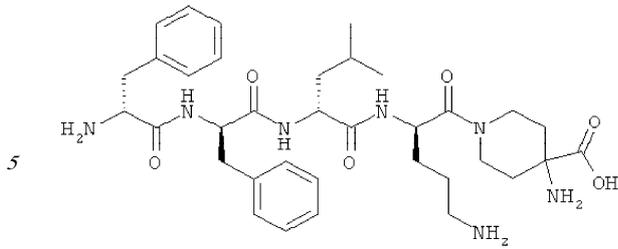


[00214] Соединение (5) D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[(2S,4S)-4-амино-пирролидин-2-карбоновая кислота]-OH (SEQ ID NO: 1):

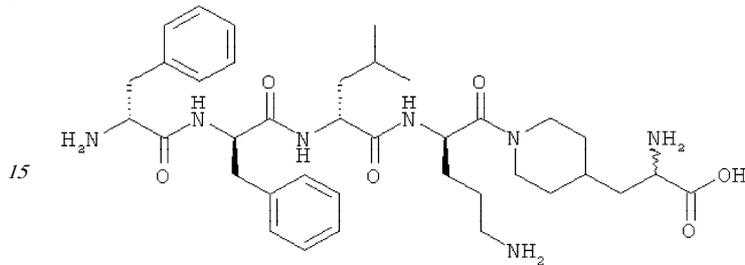


[00215] Соединение (6) D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[омега(4-аминопиперидин-4-карбоновая кислота)]-OH (SEQ ID NO: 1):

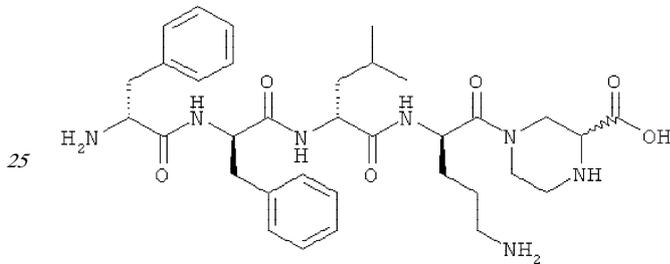
50



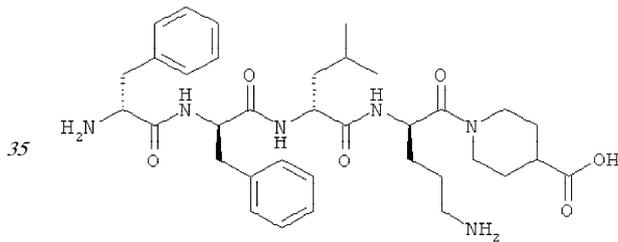
10 [00216] Соединение (7) D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[омега (D/L-2-амино-3-(4-N-пиперидинил)пропионовая кислота)]-ОН (SEQ ID NO: 1):



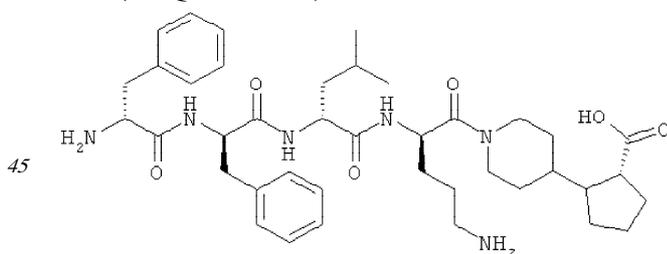
20 [00217] Соединение (8) D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[омега(D/L-4-пиперазин-2-карбоновая кислота)]-ОН (SEQ ID NO: 1):



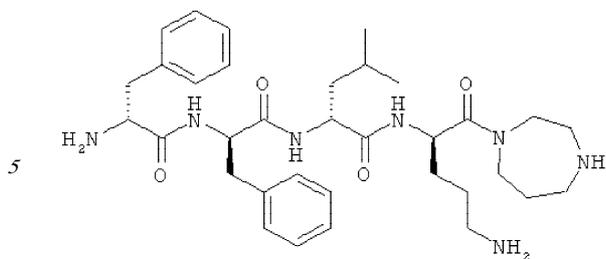
30 [00218] Соединение (9) D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[изонипекотиновая кислота]-ОН (SEQ ID NO: 1):



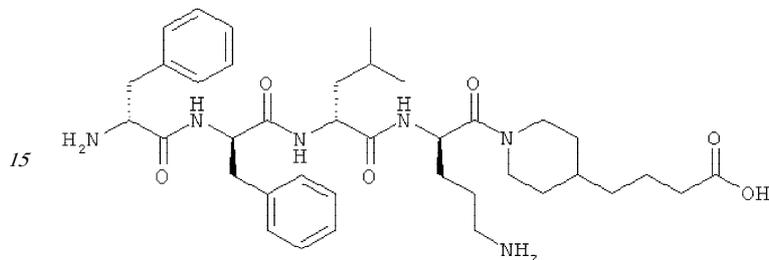
40 [00219] Соединение (10) D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[N-(4-пиперидинил)-L-пролин]-ОН (SEQ ID NO: 1):



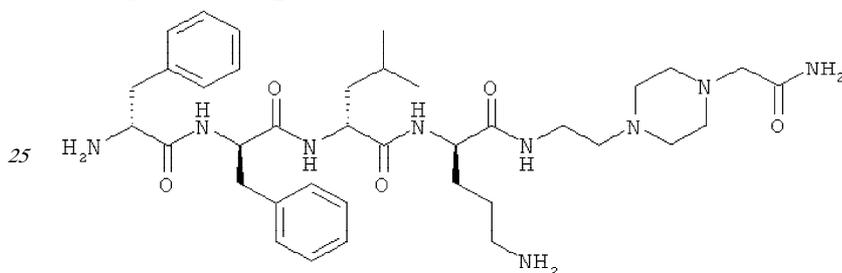
50 [00220] Соединение (11) D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[гомопиперазина амид] (SEQ ID NO: 1):



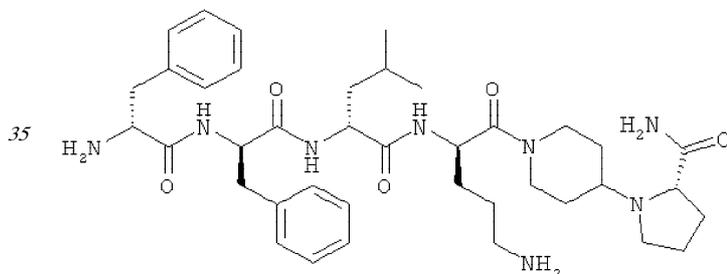
10 [00221] Соединение (12) D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[4-(4-пиперидинил)-бутановая кислота]-OH (SEQ ID NO: 1):



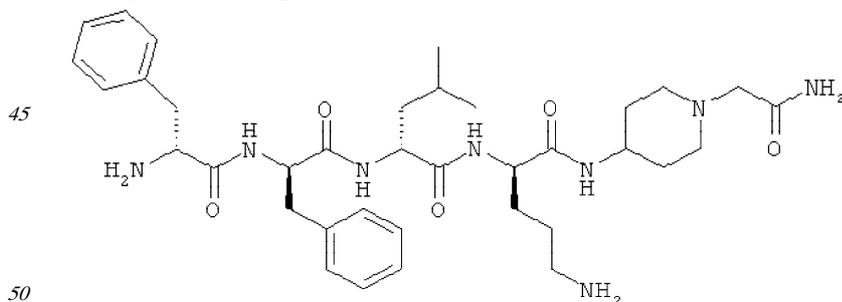
20 [00222] Соединение (13) D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[4-(2-аминоэтил)-1-карбоксиметил-пиперазин]-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO: 1):



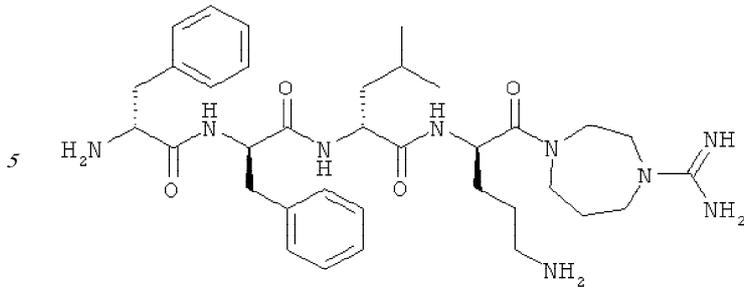
30 [00223] Соединение (14) D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[N-(4-пиперидинил)-L-пролин]-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO: 1):



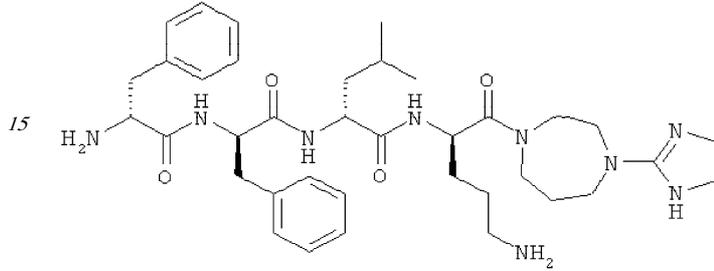
40 [00224] Соединение (15) D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[4-амино-1-карбоксиметил-пиперидин]-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO: 1):



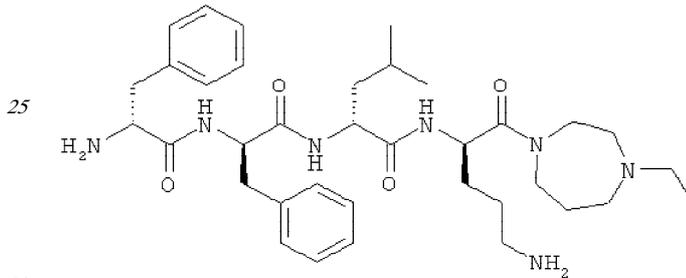
[00225] Соединение (16) D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[4-амидиногомиперазина амид] (SEQ ID NO: 1):



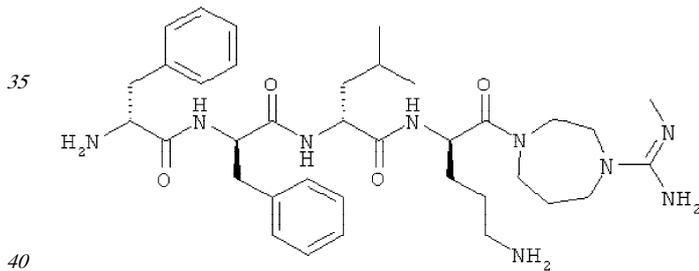
10 [00226] Соединение (17) D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[4-(4,5-дигидро-1H-имидазол-2-ил)гомопиперазина амид] (SEQ ID NO: 1):



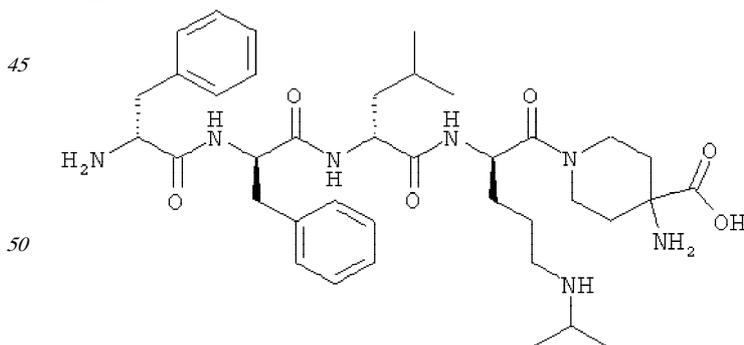
20 [00227] Соединение (18) D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[4-этилгомопиперазина амид] (SEQ ID NO: 1):



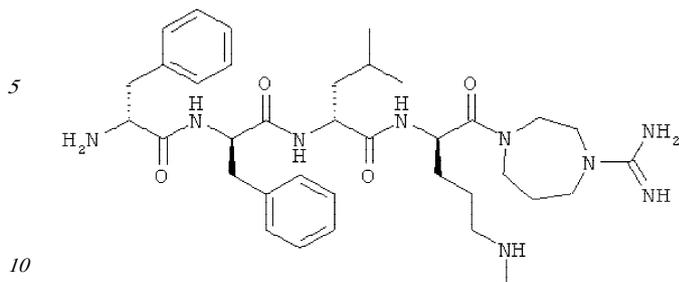
30 [00228] Соединение (19) D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[4-(N-метил)амидино-гомопиперазина амид] (SEQ ID NO: 1):



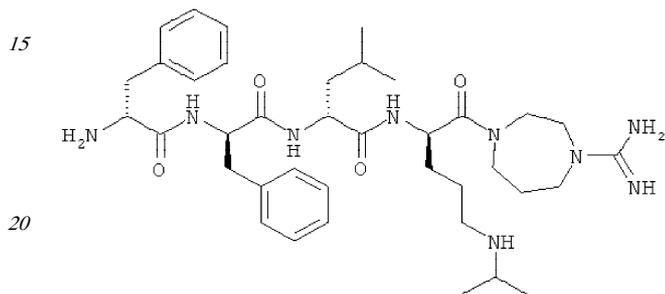
[00229] Соединение (20) D-Phe-D-Phe-D-Leu-(5-iPr)D-Orn-[омега(4-аминопиперидин-4-карбоновая кислота)]-ОН (SEQ ID NO: 3):



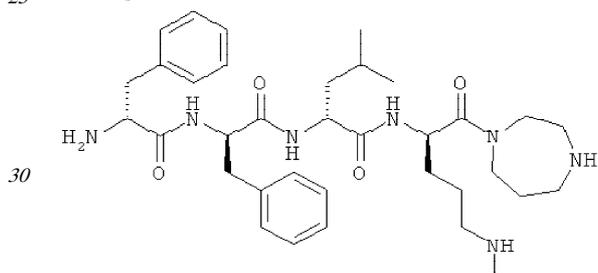
[00230] Соединение (21) D-Phe-D-Phe-D-Leu-(5-Me)D-Orn-[4-амидиноггопиперазина амид] (SEQ ID NO: 4):



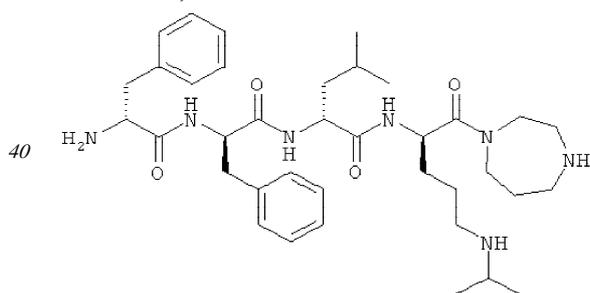
[00231] Соединение (22) D-Phe-D-Phe-D-Leu-( $\delta$ -iPr)D-Orn-[4-амидиноггопиперазина амид] (SEQ ID NO: 3):



[00232] Соединение (23) D-Phe-D-Phe-D-Leu-( $\delta$ -Me)D-Orn-[гомопиперазина амид] (SEQ ID NO: 4):



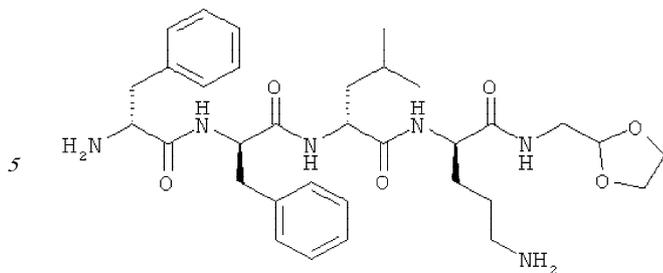
[00233] Соединение (24) D-Phe-D-Phe-D-Leu-(6-iPr)D-Orn-[гомопиперазина амид] (SEQ ID NO: 3):



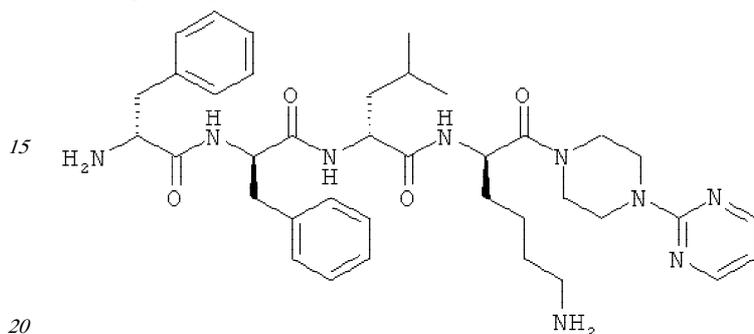
[00234] Соединение (25): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Lys-[1,3-диоксолан-2-ил)метанаьшна амид] (SEQ ID NO: 5):

45

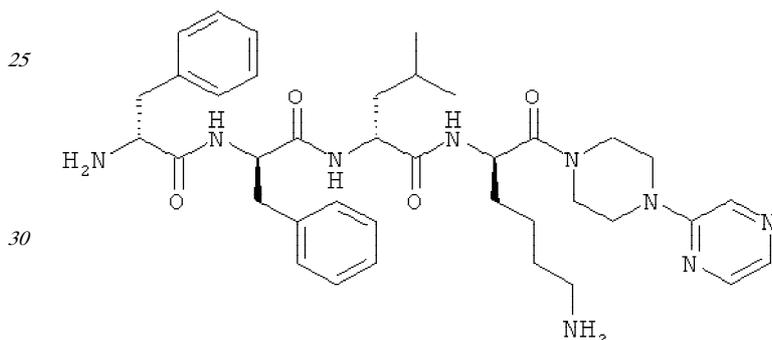
50



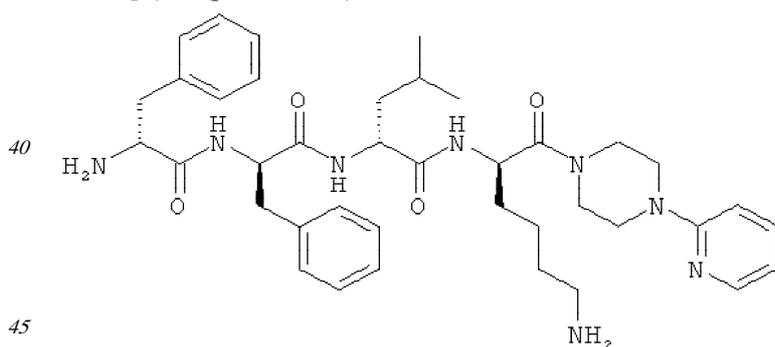
10 [00235] Соединение (26): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Lys-[2-(пиперазин-1-ил)пиримидин амид] (SEQ ID NO: 5):



[00236] Соединение (27): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Lys-[2-(пиперазин-1-ил)пиридина амид] (SEQ ID NO: 5):

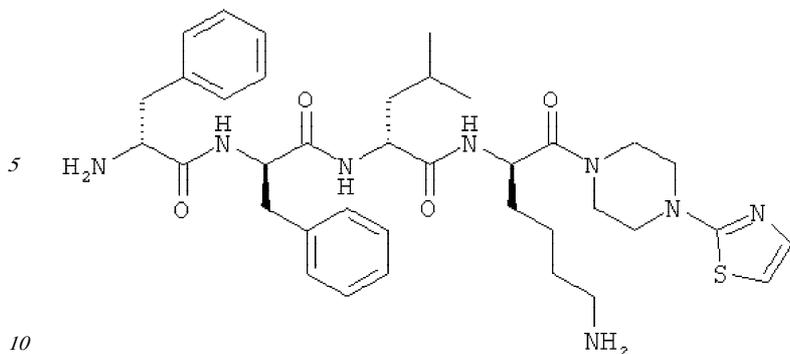


35 [00237] Соединение (28): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Lys-[1-(пиридин-2-ил)пиперазина амид] (SEQ ID NO: 5):

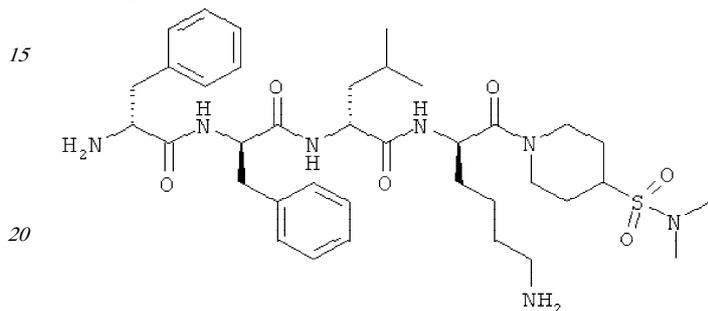


[00238] Соединение (29): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Lys-[2-(пиперазин-1-ил)тиазола амид] (SEQ ID NO: 5):

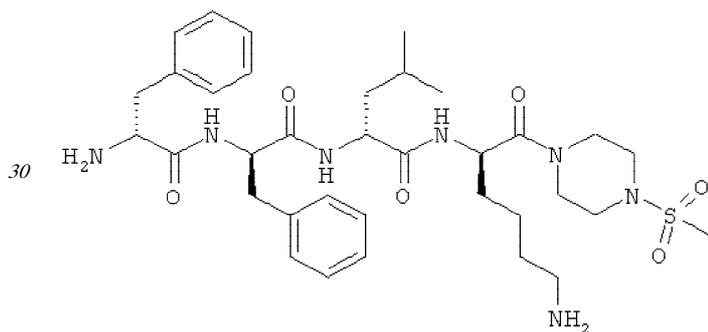
50



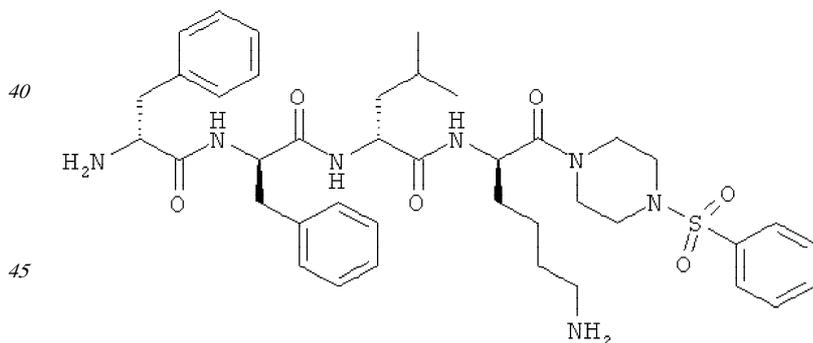
[00239] Соединение (30): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Lys-[N,N-диметилпиперазин-1-сульфонамид амид] (SEQ ID NO: 5):



[00240] Соединение (31): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Lys-[1-(метилсульфонил)пиперазина амид] (SEQ ID NO: 5):

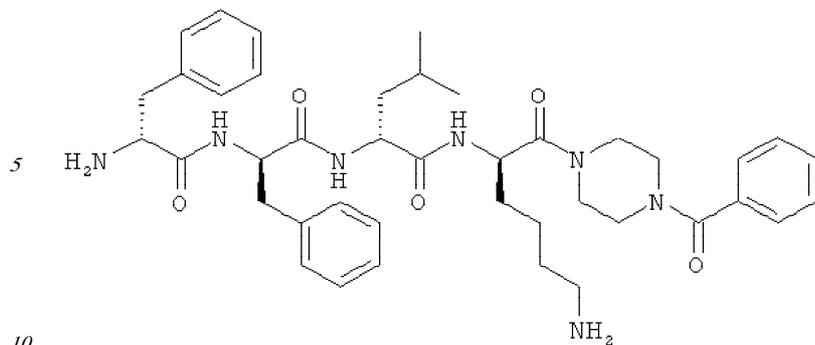


[00241] Соединение (32): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Lys-[1-(фенилсульфонил)пиперазина амид] (SEQ ID NO: 5):

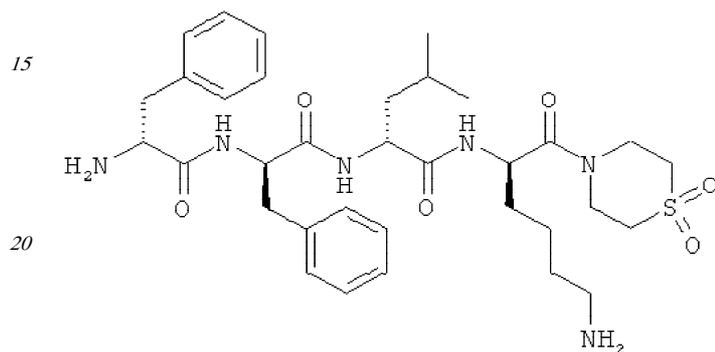


[00242] Соединение (33): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Lys-[фенил(пиперазин-1-ил)метанона амид] (SEQ ID NO: 5):

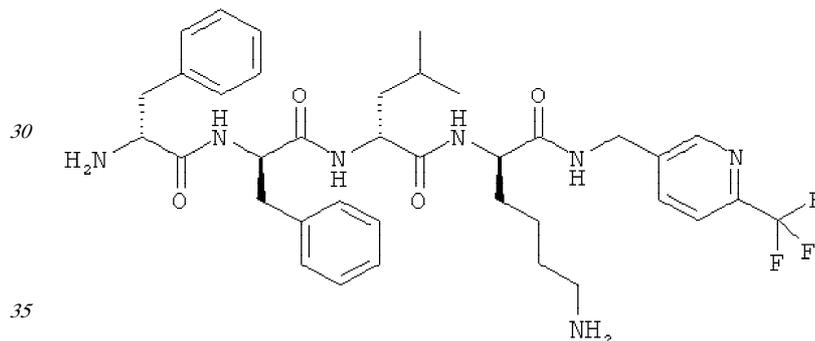
50



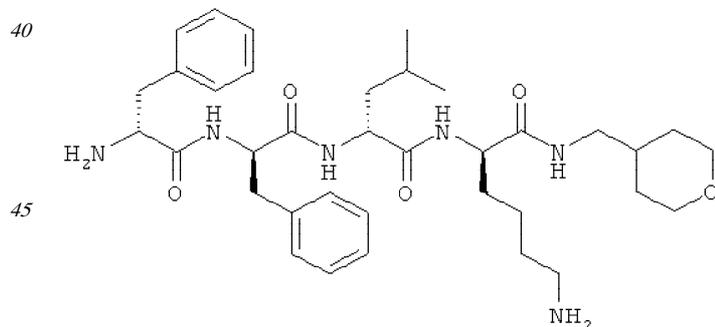
[00243] Соединение (34): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Lys-[тиолморфолин-1,1-диоксида амид] (SEQ ID NO: 5):



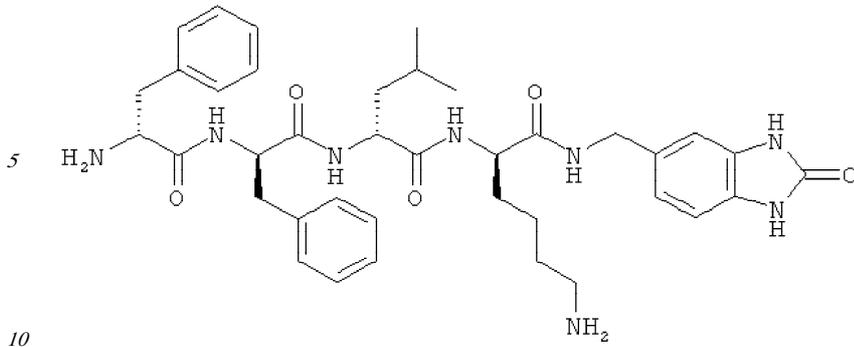
25 [00244] Соединение (35): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Lys-[6-трифторметил-3-аминометил пиридина амид] (SEQ ID NO: 5):



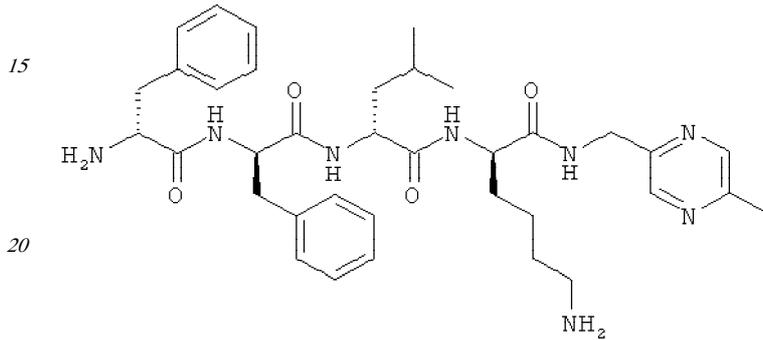
[00245] Соединение (36): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Lys-N-метил-1-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)метанамина амид (SEQ ID NO: 5):



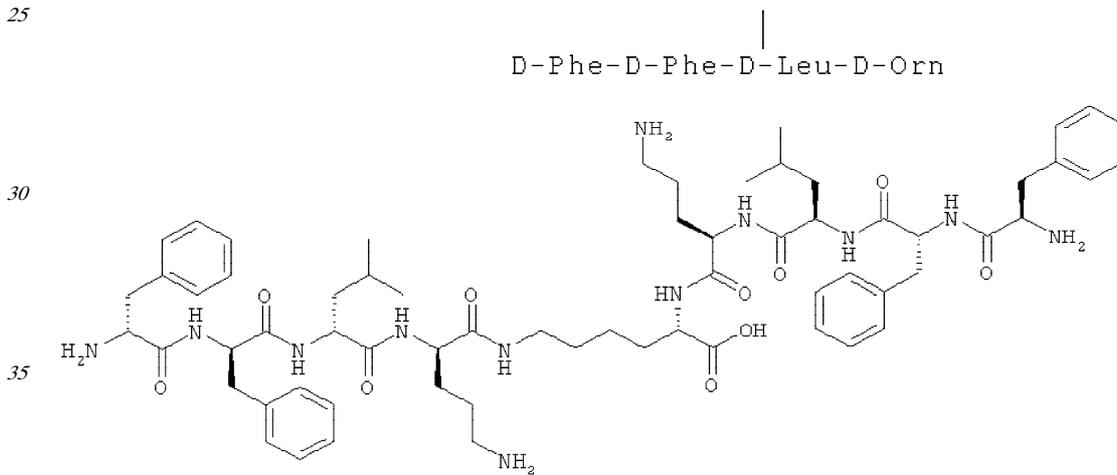
50 [00246] Соединение (37): H-D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Lys-[5-(аминометил)-1H-бензо[d]имидазол-2(3H)-она амид] (SEQ ID NO: 5):



[00247] Соединение (38); D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Lys-N-метил-1-(5-метилпиразин-2-ил)-метанамина амид) (SEQ ID NO: 5):



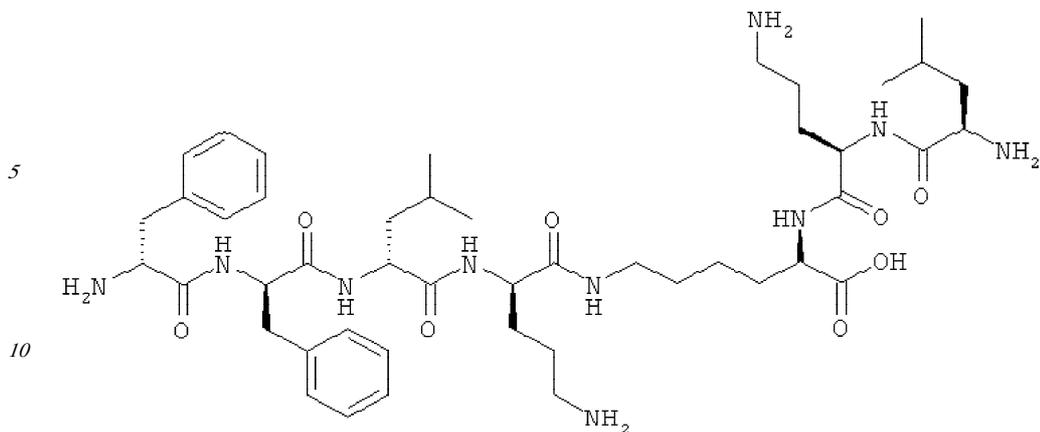
[00248] Соединение (39): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-εLys-OH



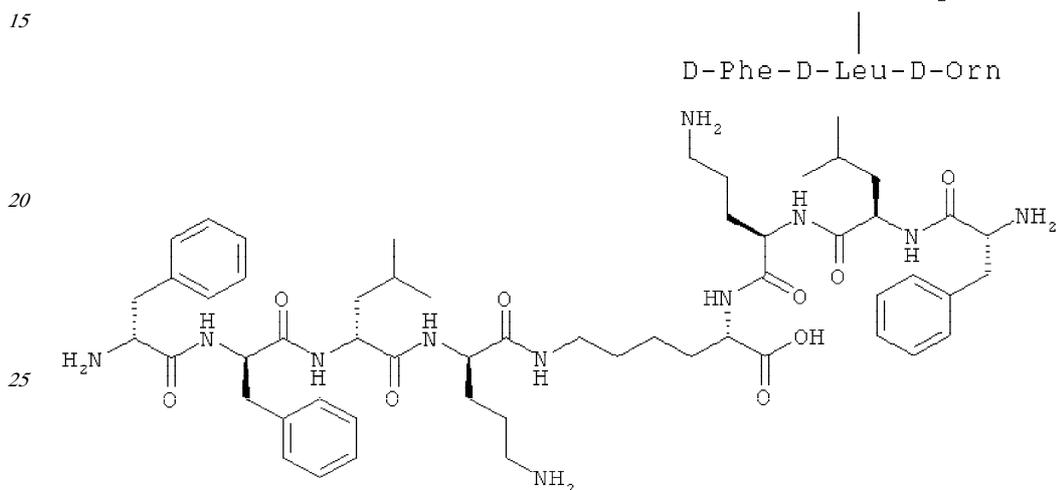
[00249] Соединение (40): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-εLys-OH



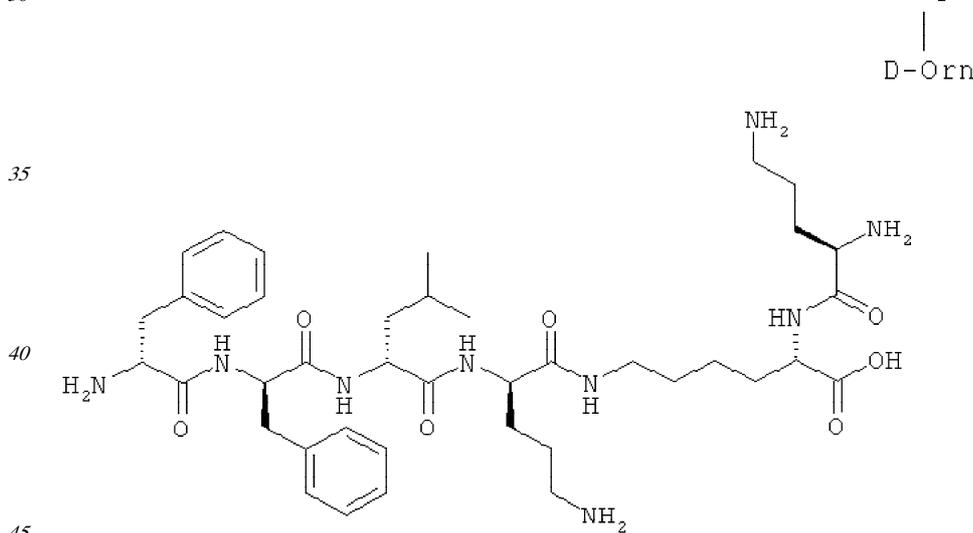
50



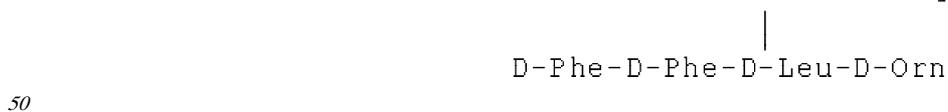
[00250] Соединение (41): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-εLys-OH

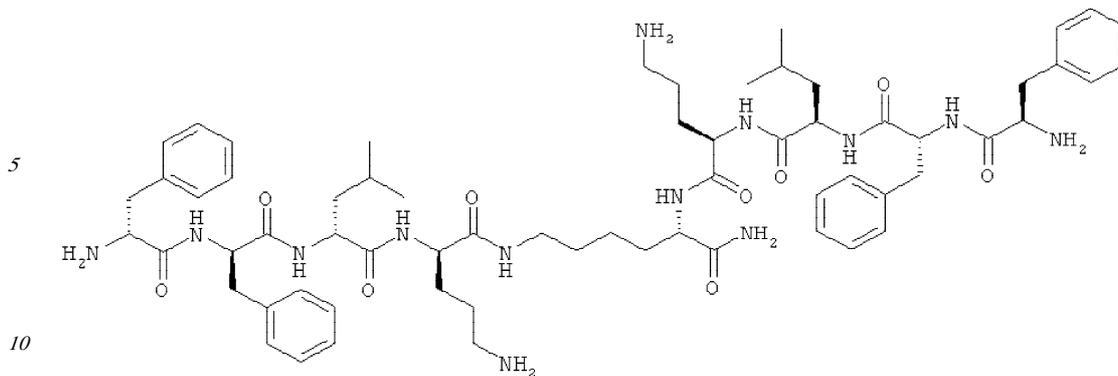


[00251] Соединение (42): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-εLys-OH



[00252] Соединение (43): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-εLys-NH<sub>2</sub>





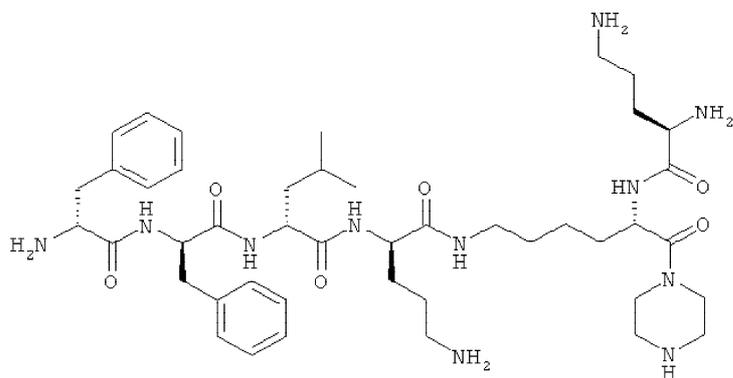
[00253]

Соединение (44): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn- $\epsilon$ Lys-N(-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-NH-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-)

15

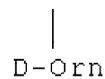


20

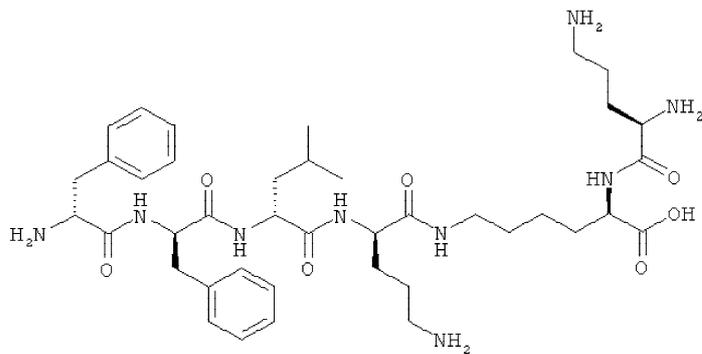


[00254] Соединение (45): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn- $\epsilon$ Lys-OH

30



35

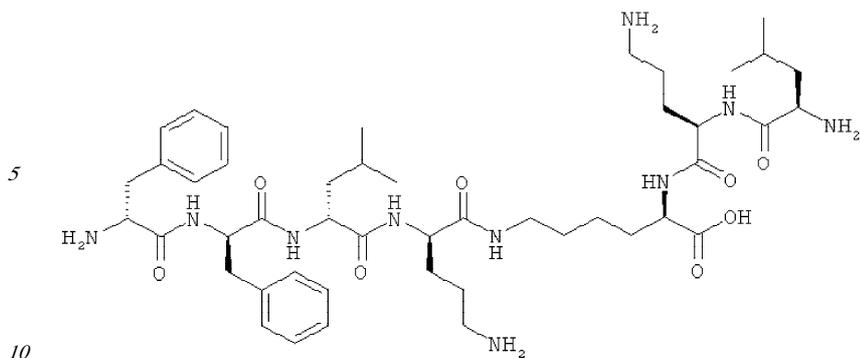


[00255] Соединение (46): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn- $\epsilon$ Lys-OH

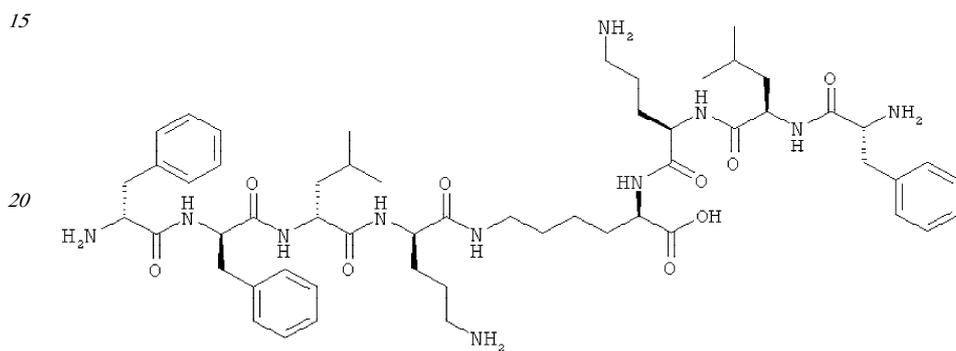
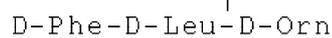
45



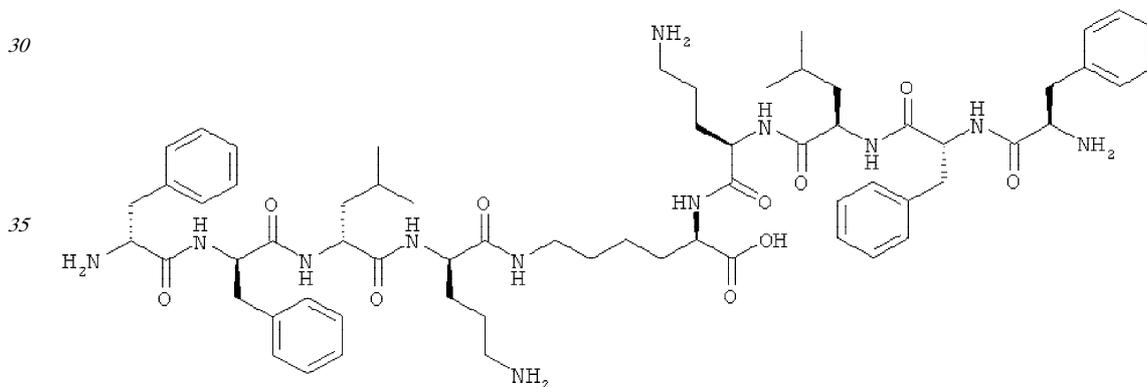
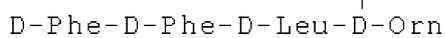
50



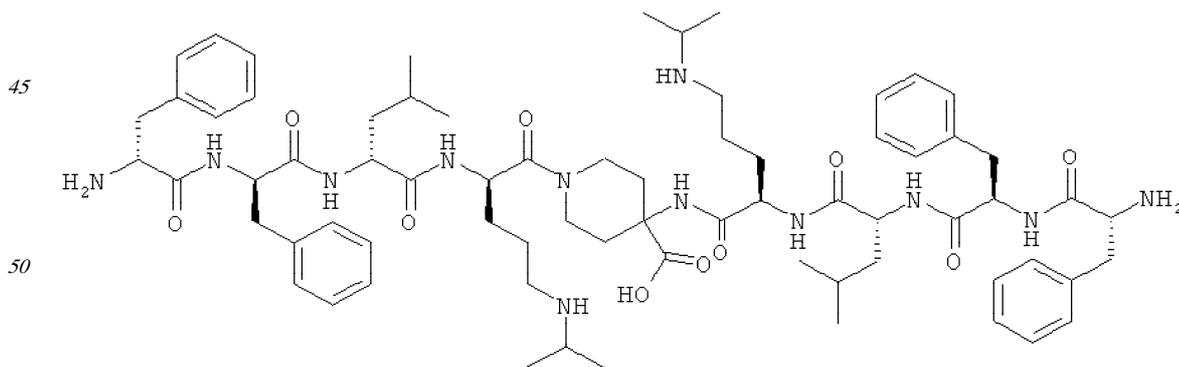
[00256] Соединение (47): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-εLys-NH<sub>2</sub>



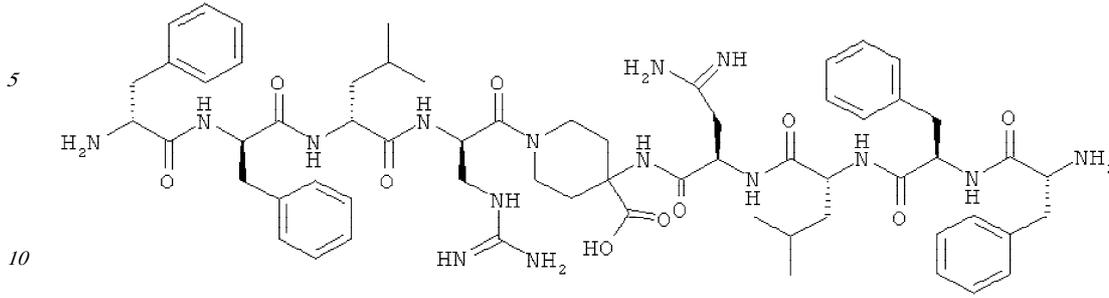
[00257] Соединение (48): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-εLys-OH



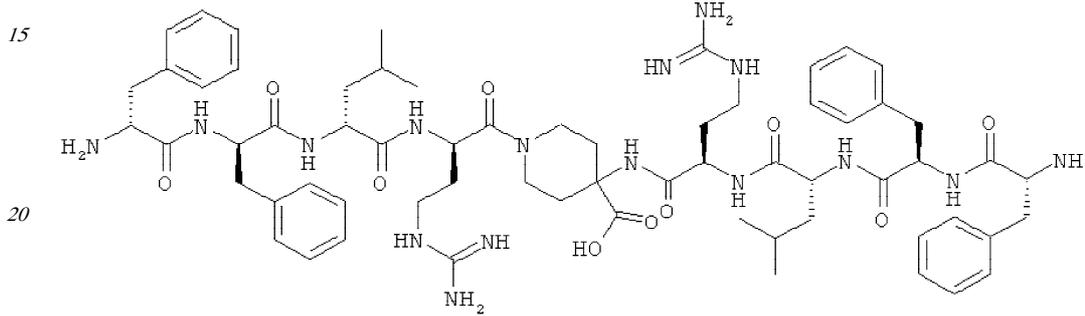
[00258] Соединение (49): 1N,4N-бис-[D-Phe-D-Phe-D-Leu-(iPr)D-Orn]-4-амино-4-карбоксил пиперидин



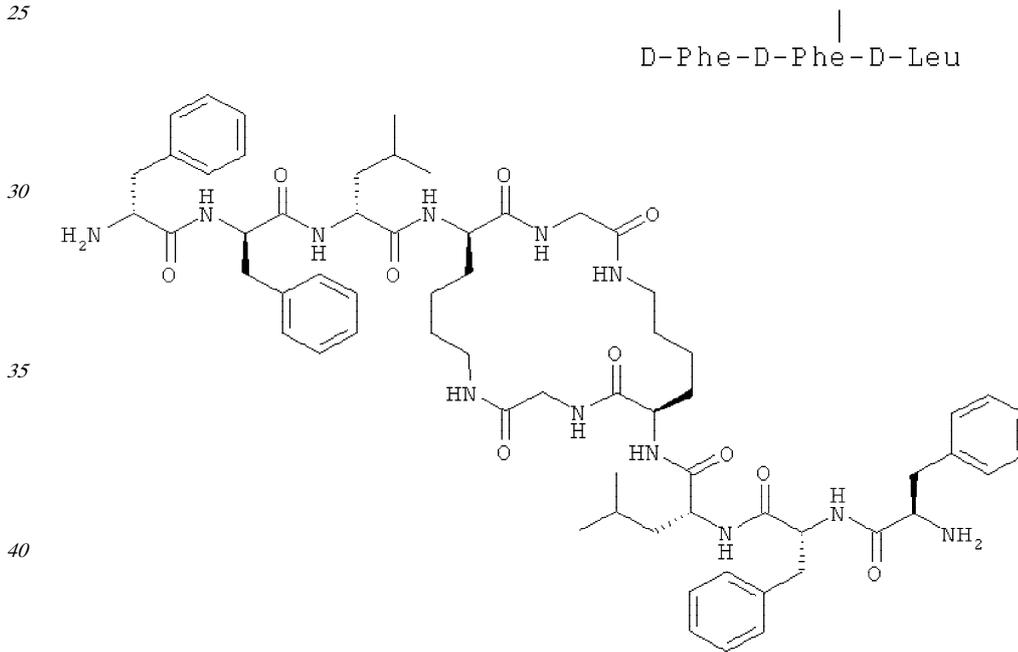
[00259] Соединение (50): 1N,4N-бис-[D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Dар(амидино)]-4-амино-4-карбоксил пиперидин



[00260] Соединение (51): 1N,4N-бис-(D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Nar)-4-амино-4-карбоксил пиперидин

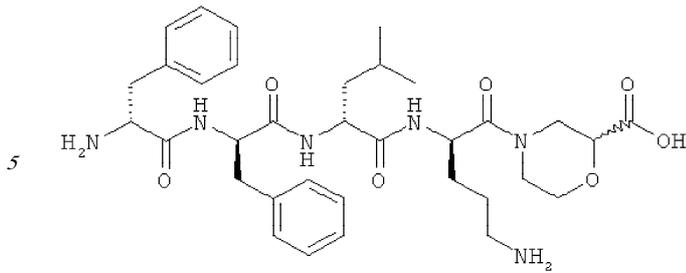


[00261] Соединение (52): D-Phe-D-Phe-D-Leu-(D-Lys-Gly лактам)<sub>2</sub>

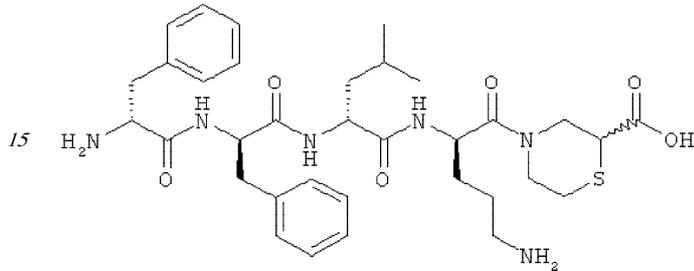


[00262] Соединение (53) D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[R/S-2-карбоксиморфолин]-ОН (SEQ ID NO: 1):

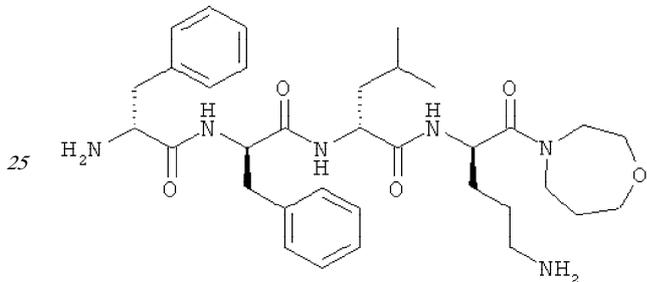
50



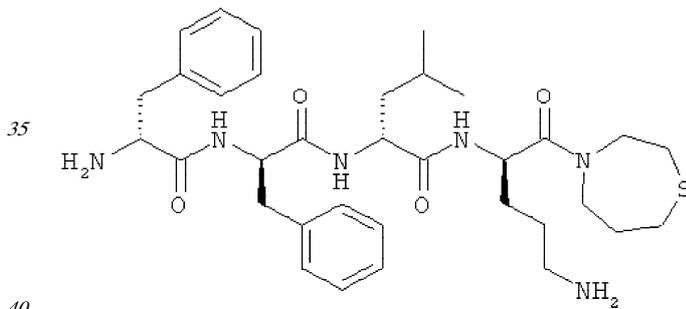
10 [00263] Соединение (54) D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[R/S-2-карбокситиоморфолин]-OH (SEQ ID NO: 1):



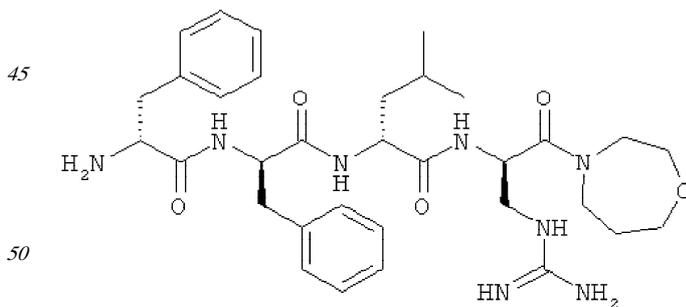
20 [00264] Соединение (55) D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-N(гомоморфолин) (SEQ ID NO: 1):



30 [00265] Соединение (56) D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-N(гомотиоморфолин) (SEQ ID NO: 1):

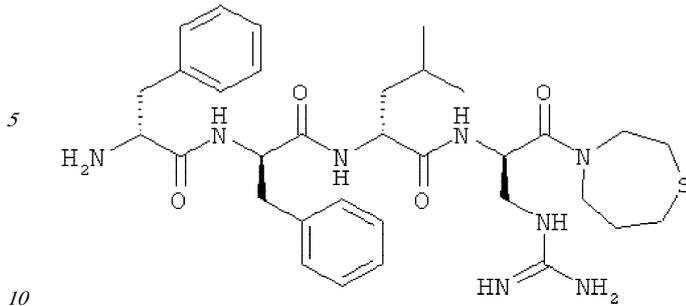


[00266] Соединение (57) D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Дар(амидино)-[гомоморфолина амид] (SEQ ID NO: 6):

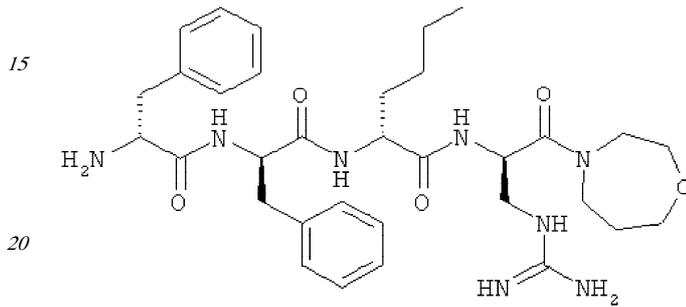


[00267] Соединение (58) D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Дар(амидино)-[гомотиоморфолина

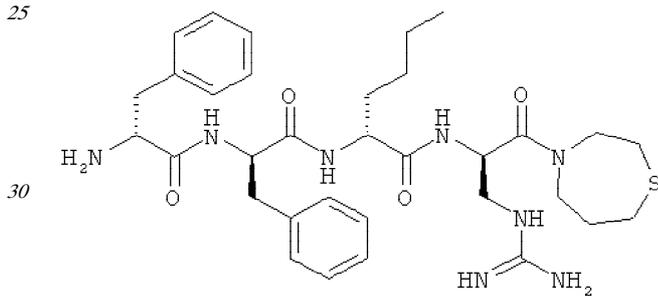
амид] (SEQ ID NO: 6):



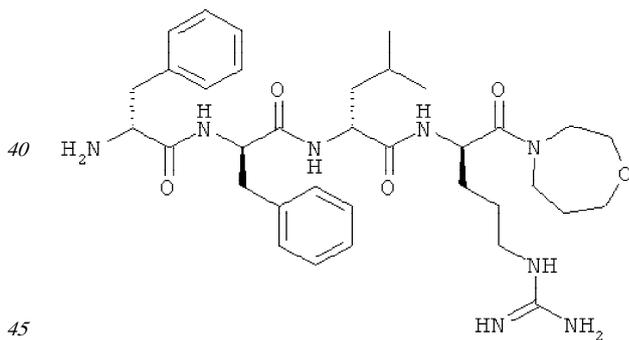
[00268] Соединение (59) D-Phe-D-Phe-D-Nle-D-Dар(амидино)-[гомоморфолина амид] (SEQ ID NO: 6):



[00269] Соединение (60) D-Phe-D-Phe-D-Nle-D-Dар(амидино)-[гомотиоморфолина амид] (SEQ ID NO: 6):

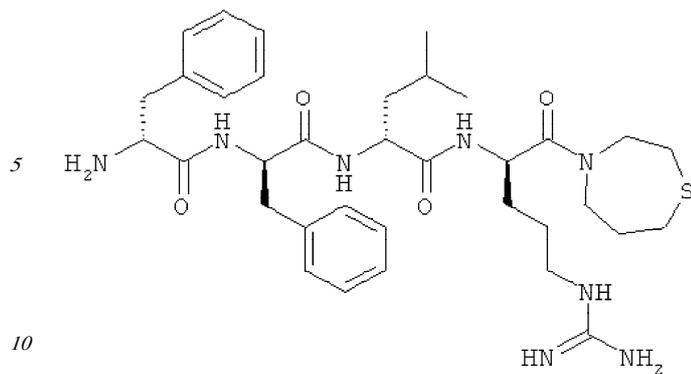


[00270] Соединение (61) D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Arg-[гомоморфолина амид] (SEQ ID NO: 7):

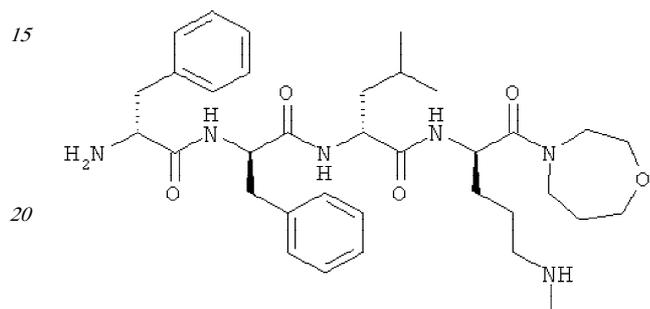


[00271] Соединение (62) D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Arg-[гомотиопиперазина амид] (SEQ ID NO: 7):

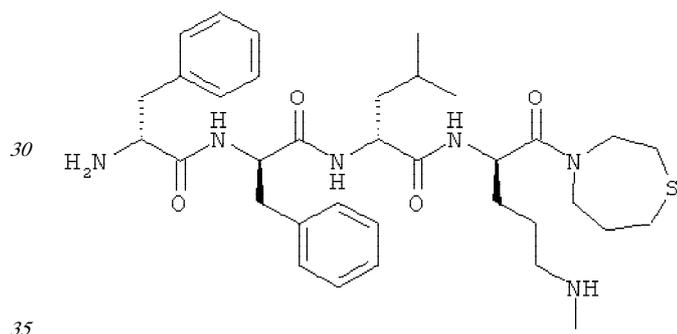
50



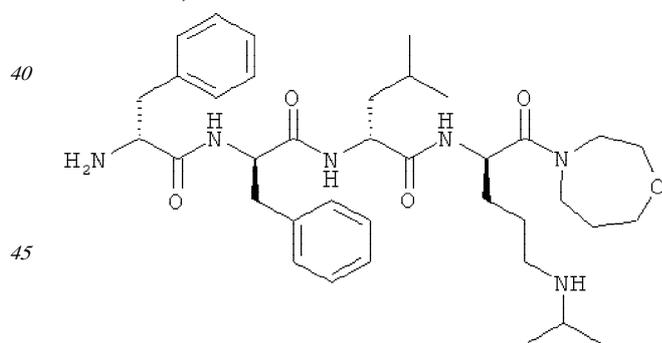
[00272] Соединение (63) D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn(Me)-[гомоморфолина амид] (SEQ ID NO: 4):



[00273] Соединение (64) D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn(Me)-[гомотиоморфолина амид] (SEQ ID NO: 4):

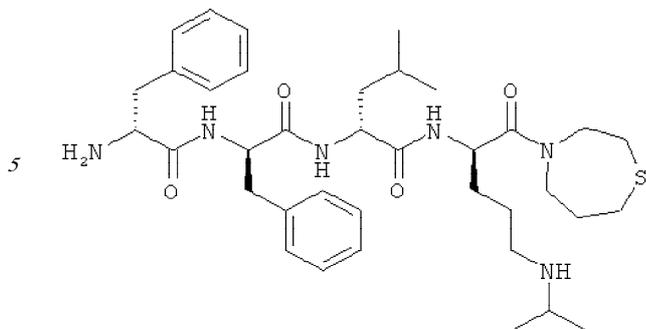


[00274] Соединение (65) D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn(iPr)-[гомоморфолина амид] (SEQ ID NO: 3):



[00275] Соединение (66) D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn(iPr)-[гомотиоморфолина амид] (SEQ ID NO: 3):

50



## ПРИМЕРЫ

[00276] Общие экспериментальные методы синтеза:

15 [00277] Производные аминокислот и смолы приобретали у коммерческих поставщиков (Novabiochem, Bachem, Peptide International и PepTech Corporation). Другие реагенты и растворители приобретали у Sigma-Aldrich, Fisher Scientific и VWR. Соединения в данном описании синтезировали стандартными методами твердофазной химии пептидов с использованием как Fmoc, так и Boc методологии. Если не указано иное, все реакции проводят при комнатной температуре.

20 [00278] В следующих стандартных ссылках содержится общее экспериментальное руководство и описана доступность необходимых исходных материалов и реагентов: Kates, S.A., Albericio, F., Eds., Solid Phase Synthesis, A Practical Guide, Marcel Dekker, New York, Basel, (2000); Bodanszky, M., Bodanszky, A., Eds., The Practice of Peptide Synthesis, Second Edition, Springer-Verlag, (1994); Atherton, E., Sheppard, R.C., Eds., Solid Phase Peptide Synthesis, A Practical Approach, IRL Press at Oxford University Press, (1989); Stewart, J.M., Young, J.D., Solid Phase Synthesis, Pierce Chemical Company, (1984); Bisello, et al., J. Biol. Chem. 273, 22498-22505 (1998); and Merrifield, R.B., J. Am. Chem. Soc. 85, 2149-2154 (1963).

[00279] Дополнительные сокращения, используемые в данном описании:

30 [00280] ACN: ацетонитрил

[00281] Alloc: аллилкарбонил

[00282] Boc: трет-бутоксикарбонил

[00283] BOP: бензотриазол-1-ил-окси-трис(диметиламино)-фосфония гексафторфосфат

35 [00284] Cbz: бензилоксикарбонил

[00285] Cbz-OSu: N $\alpha$ -(бензилоксикарбонилокси)сукцинимид

[00286] DBU: 1,8-дизабицикло[5,4,0]ундец-7-ен

[00287] ДХМ: дихлорметан

40 [00288] Dde: 1-(4,4-диметил-2,6-диоксоциклогекс-1-илиден)этил

[00289] DIC: N,N'-диизопропилкарбодиимид

[00290] DIEA: N,N'-диизопропилэтиламин

[00291] ДМФА: N,N-диметилформамид

45 [00292] Fmoc: 9-фторенилметоксикарбонил

[00293] HATU: 2-(1H-9-азабензотриазол-1-ил)-1,1,3,3-тетраметиламиния гексафторфосфат

[00294] HBTU: 2-(1H-бензотриазол-1-ил)-1,1,3,3-тетраметиламиния гексафторфосфат

[00295] HOBT: 1-гидроксibenзотриазол

50 [00296] ВЭЖХ: высокоэффективная жидкостная хроматография

[00297] i: изо

[00298] ivDde: 1-(4,4-диметил-2,6-диоксоциклогекс-1-илиден)-3-метилбутил

[00299] NMM: 4-метилморфолино

[00300] NMP: N-метилпирролидинон

[00301] All: аллил

[00302] o-NBS-Cl: o-нитробензолсульфонилхлорид

[00303] Pbf: 2,2,4,6,7-пентаметилдигидро-бензофуран-5-сульфонил

[00304] PyBOP: бензотриазол-1-илокси-трис-пирролидино-фосфоният  
гексафторфосфат

[00305] RP: обращенно-фазовая

[00306] TBTU: 2-(1H-бензотриазол-1-ил)-1,1,3,3-тетраметилурония тетрафторборат

[00307] TEAP: триэтиламмония фосфат

[00308] TФУ: трифтюркуксусная кислота

[00309] TIS: триизопропилсилан

[00310] TMOF: триметил ортоформиат

[00311] TMSOTf: триметилсилил трифторметансульфонат

[00312] Trt: тритил

[00313] Пептиды, синтезированные по методологии Fmoc, расщепляют смесью TФУ/TIS/H<sub>2</sub>O (об./об./об.=95:2,5:2,5). Стадию расщепления в методологии Boc выполняют с использованием смеси HF/анизол (об./об.=9:1) или смеси TMSOTf/TФУ/м-крезол (об./об./об. 2:7:1).

[00314] Реакции сочетания с удлинением цепи пептида осуществляют вручную на синтезаторе пептидов, реакции опосредованы реагентами сочетания с 2-4-кратным избытком производных аминокислот. Реагенты сочетания, применяемые в синтезе различных соединений по изобретению, выбирают из следующих комбинация:  
DIC/NOBt, NATU/DIEA, HBTU/DIEA, TBTU/DIEA, PyBOP/DIEA и BOP/DIEA.

[00315] Снятие защиты с боковой цепи аминокислот в положении 4 (обозначено Хаа<sub>4</sub> в конечном продукте - синтетическом пептидном амиде) связанных со смолой пептидов обеспечивают следующим образом: пептиды собирают, используя в качестве исходных материалов Хаа<sub>4</sub> и постепенно добавляя Хаа<sub>3</sub>, затем Хаа<sub>2</sub> и, в конце, Хаа<sub>1</sub>. Защитные группы боковой цепи диаминокислоты, введенные в положении Хаа<sub>4</sub>, избирательно удаляют следующим образом: (i) группы N-Dde или N-ivDde удаляют с помощью 2-4% гидразина в ДМФА. См. Chabra, S.R., et al., Tetrahedron Lett. 39:1603-1606 (1998) и Rohwedder, B., et al., Tetrahedron Lett., 39: 1175 (1998); (ii) N-Aloc: удаляют с помощью 3 экв. (Ph<sub>3</sub>P)<sub>4</sub>Pd в CHCl<sub>3</sub>/AcOH/NMM (об./об./об.=37:2:1). См. Kates, S.A., et al. в "Peptides Chemistry, Structure and Biology, Proc. 13<sup>th</sup> American Peptide Symposium", Hodges, R.S. and Smith, J.A. (Eds), ESCOM, Leiden, 113-115 (1994).

[00316] Если пептиды собирают по методологии защиты с помощью Boc, защитную группу боковой цепи диаминокислоты, введенную в положении Хаа<sub>4</sub>, т.е. N-Fmoc, удаляют с помощью 20-30% пиперидина в ДМФА.

[00317] Изопропилирование концевых азота в боковой цепи аминокислоты в положении Хаа<sub>4</sub> связанных со смолой пептидов осуществляют следующим образом: После снятия защиты осуществляют реакцию связанного со смолой пептида со свободной ω-аминогруппой в положении Хаа<sub>4</sub> со смесью ацетона и NaBH(OAc)<sub>3</sub> в TMOF с образованием связанного со смолой Nω-изопропилпептида.

[00318] Монометилирование концевых азота в боковой цепи аминокислоты в положении Хаа<sub>4</sub> связанных со смолой пептиды: В синтезированных, связанных со смолой Nω-метилпептидах свободную ω-аминогруппу сначала дериватизируют с помощью o-нитробензолсульфонилхлорида (o-NBS-Cl; Biron, E.; Chatterjee, J.; Kessler, H. Optimized selective N-methylation of peptides on solid support. J. Pep. Sci. 12: 213-219 (2006). Полученный сульфонамид далее метилируют смесью диметилсульфата

и 1,8-диаза-бицикло[5,4,0]ундец-7-ена в NMP. Защитную группу *o*-NBS далее удаляют с помощью смеси меркаптоэтанола и 1,8-диазабицикло[5,4,0]ундец-7-ена в NMP.

[00319] Гуанилирование концевой азот в боковой цепи аминокислоты в положении Хаа<sub>4</sub> связанных со смолой пептидов: После снятия защиты, осуществляют реакцию связанного со смолой пептида со свободной ω-аминогруппой в положении 4 со смесью 1*H*-пиразол-1-карбоксамидина гидрохлорида (Bernatowicz, M.S., et al., J. Org. Chem. 57, 2497-2502 (1992) и DIEA в ДМФА с образованием связанного со смолой Nco-гуанидинопептида.

[00320] Пептиды очищают препаративной ВЭЖХ в буферных растворах триэтиламмония фосфата (TEAP) или трифторуксусной кислоты (ТФУ). При необходимости, соединения в конце превращают в трифторацетатные или ацетатные соли с использованием традиционной методологии ВЭЖХ. Фракции с чистотой свыше 97% объединяют и лиофилизируют. Чистоту синтезированных пептидов определяют аналитической обращенно-фазовой ВЭЖХ.

[00321] Аналитическую обращенно-фазовую ВЭЖХ осуществляли на системе доставки нескольких растворителей Waters 600 с адаптируемым детектором оптической плотности в УФ-области Waters 486 и модулем данных Waters 746. Анализ пептидов методом ВЭЖХ осуществляли с использованием колонки Vydac C<sub>18</sub> (0,46×25 см, размер частиц 5 мкм, размер пор 300 Å) со скоростью потока 2,0 мл/мин. Растворители А и В: 0,1% ТФУ в H<sub>2</sub>O и 0,1% ТФУ в смеси 80% ACN/20% H<sub>2</sub>O, соответственно. Значения времени удерживания (t<sub>R</sub>) приведены в минутах. Препаративную RP-ВЭЖХ осуществляли с использованием препаративного картриджа Vydac C<sub>18</sub> (5×30 см, размер частиц 15-20 мкм, размер пор 300 Å) со скоростью потока 100 мл/мин, на системе для препаративной хроматографии Waters Prep LC 2000 с адаптируемым детектором оптической плотности в УФ-области Waters 486 и ленточным графопостроителем Servogor 120. Буферные растворы А и В: 0,1% ТФУ в H<sub>2</sub>O и 0,1% ТФУ в 60% ACN/40% H<sub>2</sub>O, соответственно. Анализ методом ВЭЖХ конечного соединения осуществляли на жидкостном хроматографе Hewlett Packard 1090 с использованием колонки Phenomenex Synergi MAX-RP Cis (2,0×150 мм, размер частиц 4 мкм, размер пор 80 Å) со скоростью потока 0,3 мл/мин при температуре 40°C. Буферные растворы А и В: 0,01% ТФУ в H<sub>2</sub>O и 0,01% ТФУ в 70% ACN/30% H<sub>2</sub>O, соответственно. Идентичность синтетических пептидных амидов подтверждена масс-спектрометрией с электрораспылением. Масс-спектры регистрировали на масс-спектрометре Finnigan LCQ с источником ионизации электрораспылением (ESI).

ПРИМЕР 1 Синтез соединения (1): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[4-(2-аминоэтил)-1-карбоксиметил-пиперазин]-ОН (SEQ ID NO: 1):

[00322] На фиг.1 приведена общая схема, используемая для синтеза соединения (1). Использовали следующие производные аминокислот: Boc-D-Phe-ОН, Fmoc-D-Phe-ОН, Fmoc-D-Leu-ОН, Fmoc-D-Orn(Boc)-ОН и Fmoc-4-(2-аминоэтил)-1-карбоксиметил-пиперазина дигидрохлорид. Полностью защищенный, связанный со смолой пептид синтезируют на синтезаторе SYMPHONY Multiple Synthesizer (Protein Technology Inc.), используя в качестве исходных материалов 2-хлортритилхлоридную смолу (0,4 ммоль; Novabiochem). Присоединение первой аминокислоты к смоле обеспечивают обработкой смесью Fmoc-4-(2-аминоэтил)-1-карбоксиметил-пиперазина дигидрохлорида (0,24 г, 0,5 ммоль; Chem-Impex International Inc.) и DIEA (0,35 мл, 2 ммоль) в ДМФА (7 мл) при комнатной температуре в течение 4 час. Смолу промывают 3×ДХМ/MeOH/DIEA (об./об./об.=17:2:1) и 3×ДХМ. Последующее удлинение пептидной цепи обеспечивают опосредованными HBTU/DIEA одиночными

сочетаниями с 3-кратным избытком производных аминокислот. Группу Fmoc удаляют обработкой 25% пиперидина в ДМФА. Для расщепления, конечную пептидную смолу обрабатывают смесью ТФУ/ТИС/Н<sub>2</sub>О (15 мл, об./об./об.=95:2,5:2,5) при комнатной температуре в течение 90 мин. Смолу отфильтровывают и промывают ТФУ. Фильтрат упаривают под вакуумом, и сырой пептид (0,2 г, D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[4-(2-аминоэтил)-1-карбоксиметил-пиперазин]-ОН) (SEQ ID NO: 1) осаждают из диэтилового эфира.

[00323] Для очистки, описанный выше сырой пептид (0,2 г) растворяют в 0,1% ТФУ в Н<sub>2</sub>О (50 мл), раствор загружают на колонку ВЭЖХ и очищают с использованием буферной системы ТФУ (буферные растворы: А=0,1% ТФУ в Н<sub>2</sub>О и В=0,1% ТФУ в 60% АСН/40% Н<sub>2</sub>О). Соединение элюируют с линейным градиентом от буфера В, 25% В до 75% В на протяжении 30 мин, t<sub>R</sub>=35% В. Фракции с чистотой свыше 97% объединяют, замораживают и сушат на лиофилизаторе с получением очищенного пептида в виде белого аморфного порошка (101 мг). Анализ методом ВЭЖХ: t<sub>R</sub>=16,24, чистота 100%, градиент от 5% В до 25% В на протяжении 20 мин; МС (М+Н<sup>+</sup>): ожидаемая масса молекулярного иона 709,4, зарегистрировано 709,4.

ПРИМЕР 2 Синтез соединения (2):

D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[4-Карбоксиметил-пиперидин]-ОН (SEQ ID NO: 1).

[00324] Соединение получают в соответствии с методикой, описанной в синтезе соединения (1). Отличие состоит в замене Fmoc-4-карбоксиметил-пиперидина (Chem-Imprex International Inc.) на Fmoc-4-(2-аминоэтил)-1-карбоксиметил-пиперазина дигидрохлорид в процессе присоединения к смоле 2-Cl-Trt. Конечный очищенный пептид: аморфный порошок, выход 123 мг в масштабах синтеза 0,4 ммоль. Анализ методом ВЭЖХ: t<sub>R</sub>=15,36 мин, чистота 100%, градиент 15% В до 35% В на протяжении 20 мин; МС (М+Н<sup>+</sup>): ожидаемая масса молекулярного иона 665,4, зарегистрировано 665,3.

ПРИМЕР 3 Синтез соединения (3):

D-Phe-D-Phe-D-Nle-D-Arg-D-Pro-ОН (SEQ ID NO: 2):

[00325] Соединение получают в соответствии с методикой, описанной в синтезе соединения (1). Использовали следующие производные аминокислот: Вос-D-Phe-ОН, Fmoc-D-Phe-ОН, Fmoc-D-Nle-ОН, Fmoc-D-Arg(Pbf)-ОН и Fmoc-D-Pro-ОН. Конечный очищенный пептид: аморфный порошок, выход 140 мг в масштабах синтеза 0,3 ммоль. Анализ методом ВЭЖХ: t<sub>R</sub>=20,23 мин, чистота 99,7%, градиент от 10% В до 30% В на протяжении 20 мин; МС (М+Н<sup>+</sup>): ожидаемая масса молекулярного иона 679,4, зарегистрировано 679,5.

ПРИМЕР 4 Синтез соединения (4): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[(2S,4R)-4-Амино-пирролидин-2-карбоновая кислота]-ОН (SEQ ID NO: 1):

[00326] Соединение получают в соответствии с методикой, описанной в синтезе соединения (1). Отличие состоит в замене Fmoc-(2S, 4R)-4-амино-1-Вос-пирролидин-2-карбоновой кислоты (Chem-Imprex International Inc.) на Fmoc-4-(2-аминоэтил)-1-карбоксиметил-пиперазина дигидрохлорид в процессе присоединения к смоле 2-Cl-Trt. Конечный очищенный пептид: аморфный порошок, выход 294 мг в масштабах синтеза 0,3 ммоль. Анализ методом ВЭЖХ: t<sub>R</sub>=16,65 мин, чистота 99,4%, градиент от 5% В до 25% В на протяжении 20 мин; МС (М+Н<sup>+</sup>): ожидаемая масса молекулярного иона 652,4, зарегистрировано 652,4.

ПРИМЕР 5 Синтез соединения (5): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[(2S,4S)-4-амино-пирролидин-2-карбоновая кислота]-ОН (SEQ ID NO: 1):

[00327] Соединение получают в соответствии с методикой, описанной в синтезе соединения (1). Отличие состоит в замене Fmoc-(25,45)-4-амино-1-Вос-пирролидин-2-карбоновой кислоты (Chem-Imrex International Inc.) на Fmoc-4-(2-аминоэтил)-1-карбоксиметил-пиперазина дигидрохлорид в процессе присоединения к смоле 2-Cl-Trt. Конечный очищенный пептид: аморфный порошок, выход 285 мг в масштабах синтеза 0,3 ммоль. Анализ методом ВЭЖХ:  $t_R=17,42$  мин, чистота 99,5%, градиент от 5% В до 25% В на протяжении 20 мин; МС ( $M+H^+$ ): ожидаемая масса молекулярного иона 652,4, зарегистрировано 652,4.

ПРИМЕР 6 Синтез соединения (6): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[омега(4-аминопиперидин-4-карбоновая кислота)]-ОН (SEQ ID NO: 1):

[00328] Соединение получают в соответствии с методикой, описанной в синтезе соединения (1). Отличие состоит в замене N-Вос-амино-(4-N-Fmoc-пиперидинил)карбоновой кислоты (PharmaCore) на Fmoc-4-(2-аминоэтил)-1-карбоксиметил-пиперазина дигидрохлорид в процессе присоединения к смоле 2-Cl-Trt. Конечный очищенный пептид: аморфный порошок, выход 343 мг в масштабах синтеза 0,3 ммоль. Анализ методом ВЭЖХ:  $t_R=16,82$  мин, чистота 99,7%, градиент от 5% В до 25% В на протяжении 20 мин; МС ( $M+H^+$ ): ожидаемая масса молекулярного иона 664,4, зарегистрировано 664,3.

ПРИМЕР 7 Синтез соединения (7): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[ω(D/L-2-амино-3-(4-N-пиперидинил)пропионовая кислота)]-ОН (SEQ ID NO: 1):

[00329] Соединение получают в соответствии с методикой, описанной в синтезе соединения (1). Отличие состоит в замене 2-N-Вос-амино-3-(N-Fmoc-4-пиперидил)пропионовой кислоты (PharmaCore) на Fmoc-4-(2-аминоэтил)-1-карбоксиметил-пиперазина дигидрохлорид в процессе присоединения к смоле 2-Cl-Trt. Конечный очищенный пептид: аморфный порошок, выход 343 мг в масштабах синтеза 0,3 ммоль. Анализ методом ВЭЖХ:  $t_R=16,82$  мин, чистота 99,7%, градиент от 5% В до 25% В на протяжении 20 мин; МС ( $M+H^+$ ): ожидаемая масса молекулярного иона 664,4, зарегистрировано 664,3.

ПРИМЕР 8 Синтез соединения (8): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[омега(D/L-пиперазин-2-карбоновая кислота)]-ОН (SEQ ID NO: 1):

[00330] Соединение получают в соответствии с методикой, описанной в синтезе соединения (1). Отличие состоит в замене  $N^1$ -Вос- $N^4$ -Fmoc-пиперазин-2-карбоновой кислоты (Chem-Imrex International Inc.) на Fmoc-4-(2-аминоэтил)-1-карбоксиметил-пиперазина дигидрохлорид в процессе присоединения к смоле 2-Cl-Trt. Конечный очищенный пептид: аморфный порошок, выход 200 мг в масштабах синтеза 0,3 ммоль. Анализ методом ВЭЖХ:  $t_R=17,78$  мин, чистота 99,9%, градиент от 5% В до 25% В на протяжении 20 мин; МС ( $M+H^+$ ): ожидаемая масса молекулярного иона 652,4, зарегистрировано 652,4.

ПРИМЕР 9 Синтез соединения (9): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[изонипекотиновая кислота]-ОН (SEQ ID NO: 1):

[00331] Соединение получают в соответствии с методикой, описанной в синтезе соединения (1). Отличие состоит в замене Fmoc-изонипекотиновой кислоты (NeoMPS) на Fmoc-4-(2-аминоэтил)-1-карбоксиметил-пиперазина дигидрохлорид в процессе присоединения к смоле 2-Cl-Trt. Конечный очищенный пептид: аморфный порошок, выход 125 мг в масштабах синтеза 0,4 ммоль. Анализ методом ВЭЖХ:  $t_R=18,74$  мин, чистота 99,3%, градиент от 10% В до 30% В на протяжении 20 мин; МС ( $M+H^+$ ): ожидаемая масса молекулярного иона 651,4, зарегистрировано 651,3.

ПРИМЕР 10 Синтез соединения (10): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[N-(4-пиперидинил)-L-пролин]-ОН (SEQ ID NO: 1):

[00332] Соединение получают в соответствии с методикой, описанной в синтезе соединения (1). Отличие состоит в замене N-(1-Fmoc-пиперидин-4-ил)-L-пролин (NeoMPS) на Fmoc-4-(2-аминоэтил)-1-карбоксиметил-пиперазина дигидрохлорид в процессе присоединения к смоле 2-Cl-Trt. Конечный очищенный пептид: аморфный порошок, выход 18 мг в масштабах синтеза 0,4 ммоль. Анализ методом ВЭЖХ:  $t_r=14,59$  мин, чистота 100%, градиент от 10% В до 30% В на протяжении 20 мин; МС ( $M+H^+$ ): ожидаемая масса молекулярного иона 720,4, зарегистрировано 720,3.

ПРИМЕР 11 Синтез соединения (11): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[гомопиперазина амид] (SEQ ID NO: 1):

[00333] Синтез инициируют из 0,3 ммоль пептидного промежуточного соединения, Cbz-D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn(Cbz)-[гомопиперазина амид], который получают в ходе синтеза соединения (19). Пептид гидролизуют смесью TMSOTf/ТФУ/м-крезол (10 мл, об./об./об.=2:7:1), и сырой продукт очищают препаративной ВЭЖХ в соответствии с методикой, описанной в синтезе соединения (19). Конечный очищенный пептид: аморфный порошок, выход 225 мг. Анализ методом ВЭЖХ:  $t_R=16,43$  мин, чистота 100%, градиент от 2% В до 22% В на протяжении 20 мин; МС ( $M+H^+$ ): ожидаемая масса молекулярного иона 622,4, зарегистрировано 622,4.

ПРИМЕР 12 Синтез соединения (12): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[4-(4-пиперидинил)-бутановая кислота]-ОН (SEQ ID NO: 1):

[00334] Соединение получают в соответствии с методикой, описанной в синтезе соединения (1). Отличие состоит в замене 4-(1-Гтос-пиперидин-4-ил)-бутановой кислоты (NeoMPS) на Fmoc-4-(2-аминоэтил)-1-карбоксиметил-пиперазина дигидрохлорид в процессе присоединения к смоле 2-Cl-Trt. Конечный очищенный пептид: аморфный порошок, выход 474 мг в масштабах синтеза 0,4 ммоль. Анализ методом ВЭЖХ:  $t_R=17,91$  мин, чистота 100%, градиент 15% В до 35% В на протяжении 20 мин; МС ( $M+H^+$ ): ожидаемая масса молекулярного иона 693,4, зарегистрировано 693,3.

ПРИМЕР 13 Синтез соединения (13): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[4-(2-аминоэтил)-1-карбоксиметил-пиперазин]-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO: 1):

[00335] Синтез осуществляют, как показано на фиг.2. Использовали следующие производные аминокислот: Boc-D-Phe-ОН, Fmoc-D-Phe-ОН, Fmoc-D-Leu-ОН, Fmoc-D-Orn(Boc) -ОН и Fmoc-4-(2-аминоэтил)-1-карбоксиметил-пиперазина дигидрохлорид. Полностью защищенный, связанный со смолой пептид синтезируют на синтезаторе SYMPHONY Multiple Synthesizer (Protein Technology Inc.), используя в качестве исходных материалов смолу Rink Amide AM (0,3 ммоль; Novabiochem). Присоединение первой аминокислоты к смоле обеспечивают обработкой смесью Fmoc-4-(2-аминоэтил)-1-карбоксиметил-пиперазина дигидрохлорид (0,48 г, 1 ммоль; Chem-Imprex International Inc.), HBTU (0,38 г, 1 ммоль) и DIEA (0,53 мл, 3 ммоль) в ДМФА (7 мл) при комнатной температуре в течение 3 час. Смолу промывают 3×ДМФА.

[00336] Последующее удлинение пептидной цепи обеспечивают опосредованными HBTU/DIEA одиночными сочетаниями с 3-кратным избытком производных аминокислот. Группу Fmoc удаляют обработкой 25% пиперидина в ДМФА. Для расщепления, конечную пептидную смолу обрабатывают смесью ТФУ/TIS/H<sub>2</sub>O (15 мл, об./об./об.=95:2,5:2,5) при комнатной температуре в течение 90 минут. Смолу отфильтровывают и промывают ТФУ. Фильтрат упаривают под

вакуумом и сырой пептид (0,1 г, D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[4-(2-аминоэтил)-1-карбоксиметил-пиперазин]-NH<sub>2</sub>) осаждают из диэтилового эфира.

[00337] Для очистки, описанный выше сырой пептид (0,1 г) растворяют в 0,1% ТФУ в Н<sub>2</sub>О (50 мл), раствор загружают на колонку ВЭЖХ и очищают с использованием 5  
буферной системы ТФУ (буферные растворы: А=0,1% ТФУ в Н<sub>2</sub>О и В=0,1% ТФУ в 60% АСН/40% Н<sub>2</sub>О). Соединение элюируют с линейным градиентом от буфера В, 25% В до 75% В на протяжении 30 мин, t<sub>R</sub>=38% В. Фракции с чистотой свыше 97% объединяют, замораживают и сушат на лиофилизаторе с получением очищенного 10  
пептида в виде белого аморфного порошка (36 мг). Анализ методом ВЭЖХ: t<sub>R</sub>=16,59, чистота 99,5%, градиент от 2% В до 22% В на протяжении 20 мин; МС (М+Н<sup>+</sup>): ожидаемая масса молекулярного иона 708,5, зарегистрировано 708,3.

ПРИМЕР 14 Синтез соединения (14): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[N-(4-пиперидинил)-L-пролин]-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO: 1): 15

[00338] Соединение получают в соответствии с методикой, описанной в синтезе соединения (13). Отличие состоит в замене N-(1-Fmoc-пиперидин-4-ил)-L-пролин (NeoMPS) на Fmoc-4-(2-аминоэтил)-1-карбоксиметил-пиперазина дигидрохлорид в процессе присоединения к смоле Rink Amide AM. Конечный 20  
очищенный пептид: аморфный порошок, выход 14 мг в масштабах синтеза 0,3 ммоль. Анализ методом ВЭЖХ: t<sub>R</sub>=18,13 мин, чистота 91,7%, градиент от 10% В до 30% В на протяжении 20 мин; МС (М+Н<sup>+</sup>): ожидаемая масса молекулярного иона 719,5, зарегистрировано 719,3.

ПРИМЕР 15 Синтез соединения (15): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[4-амино-1-карбоксиметил-пиперидин]-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO: 1): 25

[00339] Соединение получают в соответствии с методикой, описанной в синтезе соединения (13). Отличие состоит в замене Fmoc-4-амино-1-карбоксиметил-пиперидин (NeoMPS) на Fmoc-4-(2-аминоэтил)-1-карбоксиметил-пиперазина дигидрохлорид в процессе присоединения к смоле Rink Amide AM. Конечный 30  
очищенный пептид: аморфный порошок, выход 65 мг в масштабах синтеза 0,3 ммоль. Анализ методом ВЭЖХ: t<sub>R</sub>=16,74 мин, чистота 99,7%, градиент от 2% В до 22% В на протяжении 20 мин; МС (М+Н<sup>+</sup>): ожидаемая масса молекулярного иона 679,4, зарегистрировано 679,3. 35

ПРИМЕР 16 Синтез соединения (16): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[4-амидиногомипиперазина амид] (SEQ ID NO: 1):

[00340] Синтез инициируют из 0,2 ммоль пептидного промежуточного соединения, Cbz-D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn(Cbz)-[гомопиперазина амид], который получают в ходе 40  
синтеза соединения (19). Для гуанилирования гомопиперазина на С-конце, пептид обрабатывают раствором 1Н-пиразол-1-карбоамидина гидрохлорида (0,4 г, 3,0 ммоль) и DIEA (0,5 мл, 6 ммоль) в ДМФА (3 мл) в течение ночи при комнатной температуре. Уксусную кислоту и Н<sub>2</sub>О добавляют для гашения реакции, раствор 45  
замораживают и сушат на лиофилизаторе с получением целевого защищенного пептида, Cbz-DPhe-DPhe-DLeu-DOrn(Cbz)-[4-амидиногомипиперазина амид] (0,2 ммоль). Последующее снятие защиты/гидролиз и очистку методом ВЭЖХ осуществляют в соответствии с методикой, описанной в синтезе соединения (19). 50  
Конечный очищенный пептид: аморфный порошок, выход 74 мг. Анализ методом ВЭЖХ: t<sub>R</sub>=10,10 мин, чистота 98,7%, градиент от 10% В до 30% В на протяжении 20 мин; МС (М+Н<sup>+</sup>): ожидаемая масса молекулярного иона 664,4, зарегистрировано 664,5.

ПРИМЕР 17 Синтез соединения (17): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[4-(4,5-дигидро-1Н-

имидазол-2-ил)гомопиперазина амид] (SEQ ID NO: 1):

[00341] Синтез инициируют из 0,2 ммоль пептидного промежуточного соединения, Cbz-D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn(Cbz)-[гомопиперазина амид], который получают в ходе синтеза соединения (19). Для гуанилирования гомопиперазина на С-конце, пептид обрабатывают раствором 2-метилтио-2-имидазолина гидройодида (730 мг, 3,0 ммоль; Aldrich) и DIEA (0,5 мл, 6 ммоль) в ДМФА (3 мл) на протяжении 4 дней при комнатной температуре. Уксусную кислоту и H<sub>2</sub>O добавляют для гашения реакции: раствор замораживают и сушат на лиофилизаторе с получением целевого защищенного пептида, Cbz-D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn(Cbz)-[4-(4,5-дигидро-1H-имидазол-2-ил)гомопиперазина амид] (0,2 ммоль). Последующее снятие защиты/гидролиз и очистку методом ВЭЖХ осуществляют в соответствии с методикой, описанной в синтезе соединения (19). Конечный очищенный пептид: аморфный порошок, выход 46 мг. Анализ методом ВЭЖХ: t<sub>R</sub>=10,89 мин, чистота 100%, градиент от 10% В до 30% В на протяжении 20 мин; МС (М+Н<sup>+</sup>): ожидаемая масса молекулярного иона 690,4, зарегистрировано 690,5.

ПРИМЕР 18 Синтез соединения (18): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[4-этилгомопиперазина амид] (SEQ ID NO: 1):

[00342] Синтез инициируют из 0,3 ммоль пептидного промежуточного соединения, Cbz-D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn(Cbz)-[гомопиперазина амид], который получают в ходе синтеза соединения (19). Для этилирования гомопиперазина на С-конце, пептид обрабатывают раствором йодэтана (0,4 ммоль; Aldrich) и DIEA (0,5 мл, 6 ммоль) в ДМФА (3 мл) на протяжении 1 дня при комнатной температуре. Последующее снятие защиты/гидролиз и очистку методом ВЭЖХ осуществляют в соответствии с методикой, описанной в синтезе соединения (19). Конечный очищенный пептид: аморфный порошок, выход 75 мг. Анализ методом ВЭЖХ: t<sub>R</sub>=10,43 мин, чистота 98,4%, градиент от 10% В до 30% В на протяжении 20 мин; МС (М+Н<sup>+</sup>): ожидаемая масса молекулярного иона 650,4, зарегистрировано 650,3.

ПРИМЕР 19 Синтез соединения (19): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[4-(N-метил)амидиногомопиперазина амид] (SEQ ID NO: 1):

[00343] См. на фиг.3 общую схему синтеза, используемую для получения соединения (19). Соединение получают гуанилированием гомопиперазина на С-конце Cbz-D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn(Cbz)-[гомопиперазина амид], который синтезируют в соответствии с методикой, описанной ниже.

[00344] Реагент для гуанилирования S-метил-N-метилизотиомочевины гидройодид получают реакцией 1,3-диметил-2-тиомочевины с метилйодидом в безводном метаноле. См. McKay, A.F.; Hat-ton, W.G. Synthesis of Cyclic Guanidino Acids. J. Am. Chem. Soc. (1955), 75, 1618-1620 and Kennedy, K.J., et al. A Facile Route to Cyclic and Acyclic Alkyl-Arginines. Synthetic Communications, (1998), 28, 741-746.

[00345] Для синтеза Cbz-D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn(Cbz)-[гомопиперазина амид] используют следующие производные аминокислот: Z-D-Phe-OH, Fmoc-D-Phe-OH, Fmoc-D-Leu-OH и Fmoc-D-Orn(Cbz)-OH. Полностью защищенный, связанный со смолой пептид синтезируют вручную, используя в качестве исходных материалов п-нитрофенилкарбонатную смолу Wang (5,0 г, 4,4 ммоль; Novabiochem). Присоединение гомопиперазина к смоле обеспечивают перемешиванием раствора гомопиперазина (8,7 г, 87 ммоль; Acros Organics) в ДХМ (100 мл) в течение ночи при комнатной температуре. Смолу промывают 3×ДМФА и 3×ДХМ. Последующее удлинение пептидной цепи обеспечивают с помощью опосредованных HBTU/DIEA однократных сочетаний с 3-кратным избытком производных аминокислот.

Группу Fmoc удаляют обработкой 25% пиперидина в ДМФА. Для расщепления, конечную пептидную смолу обрабатывают смесью ТФУ/ДХМ (100 мл, об./об.=1:1) при комнатной температуре в течение 2 час. Смолу отфильтровывают и промывают ДХМ. Фильтрат упаривают под вакуумом, и остаток растворяют в 0,1% ТФУ в 60% АСН/40% Н<sub>2</sub>О. Раствор замораживают и сушат на лиофилизаторе с получением сырого пептидного промежуточного соединения Cbz-D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn(Cbz)-гомопиперазина (4,4 г). Для очистки, сырой пептид (4,4 г) разделяют на 2 порции, и каждую порцию растворяют в 0,1% ТФУ в 30% АСН (100 мл). Каждый раствор загружают на колонку ВЭЖХ и очищают с использованием буферной системы ТФУ (буферные растворы: А=0,1% ТФУ в Н<sub>2</sub>О и В=0,1% ТФУ в 60% АСН/40% Н<sub>2</sub>О). Соединение элюируют с линейным градиентом от буфера В, 40% В до 100% В на протяжении 25 мин, t<sub>R</sub>=87% В. Фракции с чистотой свыше 97% объединяют, замораживают и сушат на лиофилизаторе с получением очищенного пептидного промежуточного соединения в виде белого аморфного порошка (3,0 г).

[00346] Для гуанилирования гомопиперазина на С-конце, описанное выше пептидное промежуточное соединение (210 мг, 0,3 ммоль) обрабатывают смесью S-метил-N-метилизотиомочевин гидроиодида (1,4 г, 6 ммоль) и DIEA (1,0 мл, 12 ммоль) в ДМФА (4 мл) при комнатной температуре в течение 18 дней. Смесью упаривают под вакуумом, остаток растворяют в 0,1% ТФУ в 30% АСН/70% Н<sub>2</sub>О, раствор загружают на колонку ВЭЖХ и очищают с использованием буферной системы ТФУ (буферные растворы: А=0,1% ТФУ в Н<sub>2</sub>О и В=0,1% ТФУ в 60% АСН/40% Н<sub>2</sub>О). Соединение элюируют с линейным градиентом от буфера В, 70% В до 100% В на протяжении 30 мин, t<sub>R</sub>=85% В. Фракции с чистотой свыше 97% объединяют, замораживают и сушат на лиофилизаторе с получением очищенного пептида полупродукт, Cbz-D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn(Cbz)-[N-метилгомопиперазин-1-карбоксимидамида амид], в виде белого аморфного порошка (100 мг).

[00347] Для окончательного снятия защиты/гидролиза, описанный выше очищенный пептид (100 мг) обрабатывают смесью TMSOTf/ТФУ/м-крезол (10 мл, об./об./об.=2:7:1) при комнатной температуре в течение 2 час. Смесью упаривают под вакуумом, и сырой пептид (100 мг) осаждают из диэтилового эфира.

[00348] Для очистки, описанный выше сырой пептид (100 мг) растворяют в 0,1% ТФУ в Н<sub>2</sub>О (50 мл), раствор загружают на колонку ВЭЖХ и очищают с использованием буферной системы ТФУ (буферные растворы: А=0,1% ТФУ в Н<sub>2</sub>О и В=0,1% ТФУ в 60% АСН/40% Н<sub>2</sub>О). Соединение элюируют с линейным градиентом от буфера В, 25% В до 75% В на протяжении 25 мин, t<sub>R</sub>=43% В. Фракции с чистотой свыше 97% объединяют, замораживают и сушат на лиофилизаторе с получением очищенного продукта в виде белого аморфного порошка (53 мг). Анализ методом ВЭЖХ: t<sub>R</sub>=17,99 мин, чистота 99,4%, градиент от 2% В до 22% В на протяжении 20 мин; МС (М+Н<sup>+</sup>): ожидаемая масса молекулярного иона 678,4, зарегистрировано 678,5.

ПРИМЕР 20 Синтез соединения (20):

D-Phe-D-Phe-D-Leu-(δ-iPr)D-Orn-[омега(4-Аминопиперидин-4-карбоновая кислота)]-ОН

[00349] Использовали следующие производные аминокислот: Вос-D-Phe-ОН, Fmoc-D-Phe-ОН, Fmoc-D-Leu-ОН, Fmoc-D-Orn(Aloc)-ОН и N-Вос-амино-(4-N-Fmoc-пиперидинил) карбоновая кислота. Полностью защищенный, связанный со смолой пептид синтезируют вручную, используя в качестве исходных материалов 2-хлортритилхлоридную смолу (0,8 ммоль). Присоединение N-Вос-амино-(4-N-Fmoc-пиперидинил)карбоновой кислоты к смоле и последующее сочетание осуществляют в

соответствии с методикой, описанной в синтезе соединения (1). Собранную пептидную смолу, Boc-D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-oMera(4-аминопиперидин-4-карбоновая кислота)-[2-Cl-Trt смола], обрабатывают Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (4,5 ммоль; Aldrich) в смеси CHCl<sub>3</sub>/AcOH/NMM (80 мл, об./об./об.=37:2:1) в атмосфере аргона при комнатной температуре в течение 3 час для удаления Alloc. Последующее N-изопропилирование осуществляют в соответствии с методикой, описанной в синтезе соединения (22). Окончательное расщепление и препаративную очистку методом ВЭЖХ осуществляют в соответствии с методикой, описанной в синтезе соединения (1). Конечный очищенный пептид: аморфный порошок, выход 336 мг. Анализ методом ВЭЖХ: t<sub>R</sub>=18,88 мин, чистота 98,9%, градиент от 5% В до 25% В на протяжении 20 мин; МС (M+H<sup>+</sup>): ожидаемая масса молекулярного иона 708,4, зарегистрировано 708,4.

ПРИМЕР 21 Синтез соединения (21): D-Phe-D-Phe-D-Leu-(δ-Me)D-Orn-[4-амидиногетопиперазина амид] (SEQ ID NO: 1):

[00350] См. схему, показанную на фиг.3. Использовали следующие производные аминокислот: Z-D-Phe-OH, Fmoc-D-Phe-OH, Fmoc-D-Leu-OH и Fmoc-D-Orn(Alloc)-OH. Полностью защищенный, связанный со смолой пептид синтезируют вручную используя в качестве исходных материалов п-нитрофенилкарбонатную смолу Wang (5,0 г, 4,4 ммоль; Novabiochem). Присоединение гетопиперазина к смоле обеспечивают, перемешивая ее с раствором гетопиперазин (8,7 г, 87 ммоль; Acros Organics) в ДХМ (100 мл) в течение ночи при комнатной температуре. Смолу промывают ДМФА и ДХМ и сушат под вакуумом. Полученную гетопиперазин-карбаматную смолу Wang (5,1 г; гетопиперазин-[карбаматная смола Wang]) делят на несколько порций, и порцию 1,1 г (1 ммоль) используют для дальнейшего синтеза пептида. Опосредованные DIC/HOBt одинарные сочетания проводят с 3-кратным избытком производных аминокислот. Группу Fmoc удаляют с помощью 25% пиперидина в ДМФА. По окончании удлинения пептидной цепи смолу обрабатывают Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (3,5 г, 3,0 ммоль; Aldrich) в смеси CHCl<sub>3</sub>/AcOH/NMM (60 мл, об./об./об.=37:2:1) в атмосфере аргона при комнатной температуре в течение 3 час для удаления Alloc. Смолу промывают ДМФА и ДХМ и сушат под вакуумом. Полученную пептидную смолу (1,8 г; Z-D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-гетопиперазин-[карбаматная смола Wang]) снова делят, и порцию 0,9 г (0,5 ммоль) используют для дальнейшей дериватизации (N-метилирование).

[00351] Метилирование омега-аминогруппы D-Orn в положении Хаа<sub>4</sub> осуществляют в 3 стадии: (i) [защита o-NBS]: Связанный со смолой пептид (0,5 ммоль) сначала обрабатывают раствором o-NBS-Cl (0,4 г, 2 ммоль) и коллидином (0,7 мл, 5 ммоль) в NMP (7 мл) при комнатной температуре в течение 30 мин. Смолу затем промывают NMP. (ii) [N-Метилирование]: Далее осуществляют реакцию связанного со смолой o-NBS-защищенного пептида с раствором 1,8-диазабицикло[5,4,0]ундец-7-ена (0,5 мл, 3 ммоль) и диметилсульфата (1,0 мл, 10 ммоль; Aldrich) в NMP (7 мл) при комнатной температуре в течение 5 мин. Смолу затем промывают NMP, и процесс N-метилирование повторяют еще один раз. (iii) [Снятие защиты o-NBS]: Пептидную смолу обрабатывают раствором меркаптоэтанола (0,7 мл, 10 ммоль) и 1,8-диазабицикло[5,4,0]ундец-7-еном (0,8 мл, 5 ммоль) в NMP (7 мл) при комнатной температуре в течение 5 мин. Смолу затем промывают NMP и процесс снятия защиты повторяют еще один раз.

[00352] Для защиты полученного N-метилвторичного амина D-Orn в положении Хаа<sub>4</sub>, осуществляют реакцию связанного со смолой метилированного пептида с раствором Z-OSu (6 ммоль) в ДМФА (7 мл). Смолу промывают ДМФА и ДХМ и

сушат под вакуумом. Пептид затем отщепляют от смолы обработкой раствором ТФУ/ДХМ (15 мл, об./об.=1:1) при комнатной температуре в течение 2 час. Смолу далее отфильтровывают и промывают ТФУ. Фильтрат упаривают под вакуумом, и сырой пептид (0,5 ммоль; Z-D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn(Me,Z)-[гомопиперазина амид])  
5 получают в виде масла.

[00353] Для гуанилирования гомопиперазина на С-конце, порцию описанного выше пептида (0,3 ммоль) обрабатывают раствором 1Н-пиразол-1-карбоксамидина гидрохлорида (0,4 г, 3,0 ммоль) и DIEA (0,5 мл, 6 ммоль) в ДМФА (3 мл) в течение  
10 ночи при комнатной температуре. Уксусную кислоту и H<sub>2</sub>O добавляют для гашения реакции, раствор замораживают и сушат на лиофилизаторе с получением целевого защищенного пептида, Z-D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn(Me,Z)-[4-амидиногомипиперазина амид] (0,3 ммоль).

[00354] Для окончательного снятия защиты/гидролиза, описанный выше пептид (0,3 ммоль) обрабатывают смесью TMSOTf/ТФУ/м-крезол (10 мл, об./об./об.=2:7:1) при  
15 комнатной температуре в течение 2 час. Смесью упаривают с получением сырого пептида (0,3 ммоль) в виде масла. Препаративную очистку сырого пептида методом ВЭЖХ осуществляют в соответствии с методикой, описанной в синтезе соединения (1).  
20 Конечный очищенный пептид: аморфный порошок, выход 183 мг. Анализ методом ВЭЖХ: t<sub>R</sub>=17,12 мин, чистота 98,9%, градиент от 2% В до 22% В на протяжении 20 мин; МС (M+H<sup>+</sup>): ожидаемая масса молекулярного иона 678,4, зарегистрировано 678,5.

ПРИМЕР 22 Синтез соединения (22): D-Phe-D-Phe-D-Leu-(δ-iPr)D-Orn-[4-амидиногомипиперазина амид] (SEQ ID NO: 3):  
25

[00355] Синтез инициируют из 0,9 г (0,5 ммоль) пептида-смолы: Z-D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-гомопиперазин-[карбаматная смола Wang], которую получают в ходе синтеза соединения (21), описанного выше.

[00356] Для изопропилирования омега-аминогруппы D-Orn в положении Хаа<sub>4</sub>, пептидную смолу обрабатывают смесью натрия триацетоксиборгидрида (3 ммоль) и ацетона (6 ммоль) в ТМОФ (10 мл) в течение ночи при комнатной температуре. Пептидную смолу затем обрабатывают раствором Z-OSu (6 ммоль) в ДМФА (7 мл) для защиты Z. Смолу промывают ДМФА и ДХМ и сушат под вакуумом. Пептид  
30 затем отщепляют от смолы обработкой раствором ТФУ/ДХМ (15 мл, об./об.=1:1) при комнатной температуре в течение 2 час. Смолу отфильтровывают и промывают ТФУ. Фильтрат упаривают под вакуумом, и сырой пептид (0,5 ммоль; Z-D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn(iPr,Z)-[гомопиперазина амид]) выделяют в виде масла.  
35

[00357] Порцию описанного выше пептида (0,3 ммоль) подвергают последующим стадиям гуанилирования, отщепления и очистки, которые осуществляют в соответствии с методикой, описанной в синтезе соединения (21). Конечный очищенный пептид: аморфный порошок, выход 166 мг. Анализ методом ВЭЖХ: t<sub>R</sub>=18,71 мин, чистота 99,4%, градиент от 2% В до 22% В на протяжении 20 мин; МС (M+H<sup>+</sup>):  
40 ожидаемая масса молекулярного иона 706,5, зарегистрировано 706,5.

ПРИМЕР 23 Синтез соединения (23): D-Phe-D-Phe-D-Leu-(5-Me)D-Orn-[гомопиперазина амид] (SEQ ID NO: 4):  
45

[00358] Синтез инициируют из 0,2 ммоль пептидного промежуточного соединения, Z-D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn(Me,Z)-[гомопиперазина амид], который получают в ходе синтеза соединения (21). Пептид гидролизуют смесью TMSOTf/ТФУ/м-крезол (10 мл, об./об./об.=2:7:1), и сырой продукт очищают препаративной ВЭЖХ в соответствии с методикой, описанной в синтезе соединения (19). Конечный очищенный пептид: аморфный порошок, выход 98 мг. Анализ методом ВЭЖХ: t<sub>R</sub>=16,38 мин, чистота 99,6%,  
50

градиент от 2% В до 22% В на протяжении 20 мин; МС (М+Н<sup>+</sup>): ожидаемая масса молекулярного иона 636,4, зарегистрировано 636,5.

ПРИМЕР 24 Синтез соединения (24): D-Phe-D-Phe-D-Leu-( $\delta$ -iPr)D-Orn- [гомопиперазина амид] (SEQ ID NO: 3):

[00359] Синтез инициируют из 0,2 ммоль пептидного промежуточного соединения, Z-D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn(iPr,Z)-[гомопиперазина амид], который получают в ходе синтеза соединения (22). Пептид гидролизуют смесью TMSOTf/ТФУ/м-крезол (10 мл, об./об./об.=2:7:1), и сырой продукт очищают препаративной ВЭЖХ в соответствии с методикой, описанной в синтезе соединения (19). Конечный очищенный пептид: аморфный порошок, выход 87 мг. Анализ методом ВЭЖХ: t<sub>R</sub>=18,41 мин, чистота 100%,

градиент от 2% В до 22% В на протяжении 20 мин; МС (М+Н<sup>+</sup>): ожидаемая масса молекулярного иона 664,5, зарегистрировано 664,5.

[00360] Подтверждение структуры синтетических пептидных амидов:

[00361] В табл. I приведена рассчитанная молекулярная масса молекулярного иона, МН<sup>+</sup> для каждого соединения, и фактическая молекулярная масса, зарегистрированная методом масс-спектрометрии. Также показан тип фазы синтеза, использованной в синтезе каждого соединения: твердой фазы или смешанной; и тип смолы, которую используют в синтезе, где смола представляет собой 2-хлортритил "2-Cl-Trt" смолу, гидразинобензоил "гидразиновую" смолу. Rink AM или п-нитрофенил-карбонатную (Wang) "карбонатную" смолу. Номер фигуры, где показана соответствующая схема синтеза для синтеза каждого соединения, приведен в последней колонке.

Синтез и подтверждение структуры соединений						Таблица I
Соединение	Рассчитанная молекулярная масса	Зарегистрированная молекулярная масса	Фаза синтеза	Смола	Фигура	
1	709,4	709,4	твердая	2-Cl-Trt	1	
2	665,4	665,3	твердая	2-Cl-Trt	1	
3	679,4	679,5	твердая	2-Cl-Trt	1	
4	652,4	652,4	твердая	2-Cl-Trt	1	
5	652,4	652,4	твердая	2-Cl-Trt	1	
6	666,4	666,3	твердая	2-Cl-Trt	1	
7	694,4	694,4	твердая	2-Cl-Trt	1	
8	652,4	652,4	твердая	2-Cl-Trt	1	
9	651,4	651,3	твердая	2-Cl-Trt	1	
10	720,4	720,6	твердая	2-Cl-Trt	1	
11	622,4	622,4	твердая	Карбонатная	2	
12	693,4	693,3	твердая	2-Cl-Trt	1	
13	708,3	708,3	твердая	Rink AM	2	
14	719,5	719,3	твердая	Rink AM	2	
15	679,4	679,3	твердая	Rink AM	2	
16	664,4	664,5	смешанная	Карбонатная	3	
17	690,4	690,5	смешанная	Карбонатная	3	
18	650,4	650,3	смешанная	Карбонатная	3	
19	678,4	678,5	смешанная	Карбонатная	3	
20	708,4	708,4	твердая	2-Cl-Trt	1	
21	678,4	678,5	смешанная	Карбонатная	3	
22	706,5	706,5	смешанная	Карбонатная	3	
23	636,4	636,5	твердая	Карбонатная	3	
24	664,5	664,5	твердая	Карбонатная	3	

ПРИМЕР 25 Синтез соединения (25): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Lys-[1,3-диоксолан-2-

ил)метанамина амид] (SEQ ID NO: 5):

[00362] Указанный синтез осуществляют в соответствии со схемой, показанной на фиг.4. Описанные ниже полупродукты соответствуют показанным на фиг.4. К суспензии Вос-D-Phe-ОН промежуточного соединения I-1 (7,96 г, 30,0 ммоль), D-Leu-OBn n-TsOH промежуточного соединения 1-2 (11,80 г, 30,0 ммоль), НОВt моногидрата (4,46 г, 33,0 ммоль) и DIEA (8,53 г, 66,0 ммоль) в безводном ТГФ (250 мл), охлажденной на бане, содержащей воду со льдом, добавляют EDCI (6,33 г, 33,0 ммоль) в виде 3-х порций на протяжении 20 минут с интервалом 5 минут между порциями.

Суспензию перемешивают в течение ночи от исходной температуры 0°C до комнатной температуры. После выпаривания ТГФ, остаток растворяют в этилацетате и последовательно промывают 10% раствором лимонной кислоты, насыщенным раствором NaHCO<sub>3</sub> и водой. Органическую фракцию сушат над натрия сульфатом и выпаривают при сниженном давлении. Остаток растворяют в ДХМ, пропускают сквозь слой силикагеля и элюируют 20% этилацетатом в гексане. Элюат упаривают с получением чистого продукта, Вос-D-Phe-D-Leu-OBn, промежуточного соединения 1-3 (12,40 г, 88%) в виде прозрачного масла. ЖХ-МС: соотношение массы к заряду = 469 (М+Н).

[00363] Промежуточное соединение 1-3 (12,40 г, 26,5 ммоль) растворяют в ДХМ (50 мл). Добавляют ТФУ (25 мл), и раствор перемешивают при комнатной температуре в течение 2 час. После выпаривания ДХМ и ТФУ, дважды осуществляют азеотропную перегонку остатка с толуолом с получением соли ТФУ D-Phe-Leu-OBn, промежуточного соединения 1-4. Полученный сырой дипептид суспендируют в ТГФ, и добавляют Вос-D-Phe-ОН (6,36 г, 24 ммоль), НОВt моногидрат (4,04 г, 26,4 ммоль) и DIEA (8,7 мл, 50,0 ммоль) при 0°C. Добавляют EDCI (6,33 г, 6,4 ммоль) в виде 4-х порций на протяжении 20 минут с интервалом 5 минут между порциями. Суспензию перемешивают при температуре от 0°C до комнатной температуры в течение ночи.

После выпаривания ТГФ, остаток растворяют в этилацетате и промывают последовательно 10% раствором лимонной кислоты, насыщенным раствором NaHCO<sub>3</sub> и водой. Органическую фракцию сушат над натрия сульфатом и выпаривают при сниженном давлении. Остаток перекристаллизуют из 400 мл смеси ацетон/гексан (1:3) с получением 9,1 г чистого продукта. Маточник упаривают и снова перекристаллизуют из смеси ацетон/гексан (1:3) с получением 2,0 г продукта. Общий выход составляет 11,1 г (68% для 2 стадий). ЖХ-МС: соотношение массы к заряду = 616 (М+Н). [00364] В колбу, продуваемую азотом, помещают влажный палладий на угле (1,8 г) и раствор Вос-D-Phe-D-Phe-D-Leu-OBn, промежуточного соединения 1-5 (11,1 г, 18,05 ммоль) в метаноле (50 мл). Смесь перемешивают в атмосфере водорода (баллон) в течение ночи. После фильтрации сквозь броунмиллерит, метанол выпаривают при сниженном давлении. Остаток растворяют в ацетоне (20 мл) и медленно добавляют к 500 мл воды с 25 мл 1 н HCl при энергичном перемешивании. Чистый продукт Вос-D-Phe-D-Phe-D-Leu-ОН, промежуточное соединение 1-6, получают фильтрацией 9,4 г (99%). ЖХ-МС: соотношение массы к заряду = 526 (М+Н).

[00365] К раствору промежуточное соединение 1-6 (2,06 г, 3,90 ммоль), D-Lys(Вое)-ОА11 гидрохлорида (1,26 г, 3,90 ммоль) и DIEA (1,7 мл, 9,8 ммоль) в ДМФА добавляют ТВТУ (1,56 г, 4,88 ммоль) в виде 3-х порций на протяжении 15 мин при 0°C. После перемешивания в течение ночи при температуре от 0°C до комнатной температуры, ДМФА выпаривают под глубоким вакуумом. Сырую реакционную смесь осаждают в 400 мл смеси воды со льдом и фильтруют для отделения осадка, Вос-D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Lys(Вос)-ОА11, промежуточное соединение 1-7 (2,60 г), который

использовали без дополнительной очистки на следующей стадии.

[00366] К раствору промежуточного соединения 1-7 (2,60 г, 3,3 ммоль) в MeCN (75 мл) добавляют пирролидин (1,1 мл, 13,3 ммоль) и тетраakis(трифенилфосфин)палладия (400 мг, 0,35 ммоль) при 0°C. Реакционную смесь перемешивают при комнатной температуре в течение 3 час и выпаривают до сухого состояния. Остаток очищают обращенно-фазовой колоночной хроматографией с использованием смеси от 30% MeCN/вода до 90% MeCN/вода с получением чистой кислоты, промежуточного соединения 1-8 (2,0 г, 80%) после выпаривания смеси ацетонитрил/вода. ЖХ-МС: соотношение массы к заряду = 754 (M+H).

[00367] К раствору кислоты, промежуточного соединения I-8 (150 мг, 0,20 ммоль), амина  $\text{HNR}_a\text{R}_b$ , (1,3-диоксолан-2-ил)метанамина (31 мг, 0,30 ммоль) и DIEA (175 мкл, 1,0 ммоль) в ДМФА (5 мл) добавляют HBTU (113 мг, 3,0 ммоль) при 0°C. После перемешивания в течение ночи при температуре от 0°C до комнатной температуры, ДМФА выпаривают при сниженном давлении. Остаток перемешивают с 4 н HCl в 1,4-диоксане (2,0 мл) при комнатной температуре в течение 1 час. После удаления диоксана, остаток растворяют в воде и очищают обращенно-фазовой колоночной хроматографией с градиентом от смеси 10% MeCN/вода до смеси 60% MeCN/вода на протяжении 30 минут с получением чистого продукта, соединение (25)

(44 мг, выход 44% для 2 стадий) после выпаривания растворителя. ЖХ-МС: соотношение массы к заряду = 639 (M+H).

ПРИМЕР 26 Синтез соединения (26): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Lys-[2-(пиперазин-1-ил)пиримидина амид] (SEQ ID NO: 5):

[00368] Соединение (26) получают в существенной мере таким же способом, как описано в Примере 25, за исключением того, что 2-(пиперазин-1-ил)пиримидин используют на стадии сочетания с амидом. ЖХ-МС: соотношение массы к заряду = 700 (M+H).

ПРИМЕР 27 Синтез соединения (27): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Lys-[2-(пиперазин-1-ил)пиперазин амид] (SEQ ID NO: 5):

Соединение 27 получают в существенной мере таким же способом, как описано в Примере 25, за исключением того, что 2-(пиперазин-1-ил)пиперазин используют на стадии сочетания с амидом. ЖХ-МС: соотношение массы к заряду = 700 (M+H).

ПРИМЕР 28 Синтез соединения (28): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Lys-[1-(пиридин-2-ил)пиперазина амид] (SEQ ID NO: 5):

[00369] Соединение (28) получают в существенной мере таким же способом, как описано в Примере 25, за исключением того, что 1-(пиридин-2-ил)пиперазин используют на стадии сочетания с амидом. ЖХ-МС: соотношение массы к заряду = 699 (M+H).

ПРИМЕР 29 Синтез соединения (29): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Lys-[2-(пиперазин-1-ил)тиазол амид] (SEQ ID NO: 5):

[00370] Соединение 29 получают в существенной мере таким же способом, как описано в Примере 25, за исключением того, что 2-(пиперазин-1-ил)тиазол используют на стадии сочетания с амидом. ЖХ-МС: соотношение массы к заряду = 705 (M+H).

ПРИМЕР 30 Синтез соединения (30): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Lys-[N,N-диметилпиперазин-1-сульфонамид амид] (SEQ ID NO: 5):

[00371] Соединение 30 получают в существенной мере таким же способом, как описано в Примере 25, за исключением того, что N,N-диметил-пиперазин-1-сульфонамид используют на стадии сочетания с амидом. ЖХ-МС: соотношение массы

к заряду = 729 (M+H).

ПРИМЕР 31 Синтез соединения (31): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Lys-[1-(метилсульфонил)пиперазина амид] (SEQ ID NO: 5):

5 [00372] Соединение 31 получают в существенной мере таким же способом, как описано в Примере 25, за исключением того, что 1-(метилсульфонил)пиперазин используют на стадии сочетания с амидом. ЖХ-МС: соотношение массы к заряду = 700 (M+H).

10 ПРИМЕР 32 Синтез соединения (32): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Lys-[1-(фенилсульфонил)пиперазина амид] (SEQ ID NO: 5):

[00373] Соединение 32 получают в существенной мере таким же способом, как описано в Примере 25, за исключением того, что 1-(фенилсульфонил) пиперазин используют на стадии сочетания с амидом. ЖХ-МС: соотношение массы к заряду = 762 (M+H).

15 ПРИМЕР 33 Синтез соединения (33); D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Lys-[фенил(пиперазин-1-ил)метанона амид] (SEQ ID NO: 5):

[00374] Соединение 33 получают в существенной мере таким же способом, как описано в Примере 25, за исключением того, что фенил(пиперазин-1-ил)метанон используют на стадии сочетания с амидом. ЖХ-МС: соотношение массы к заряду = 726 (M+H).

ПРИМЕР 34 Синтез соединения (34); D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Lys-[тиолморфолин-1,1-диоксид амид] (SEQ ID NO: 5):

25 [00375] Соединение 34 получают в существенной мере таким же способом, как описано в Примере 25, за исключением того, что тиолморфолин-1,1-диоксид используют на стадии сочетания с амидом. ЖХ-МС: соотношение массы к заряду = 671 (M+H).

30 ПРИМЕР 35 Синтез соединения (35): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Lys-[6-трифторметил-3-аминометилпиридин амид] (SEQ ID NO: 5):

[00376] Соединение 35 получают в существенной мере таким же способом, как описано в Примере 25, за исключением того, что 6-трифторметил-3-аминометилпиридин используют на стадии сочетания с амидом. ЖХ-МС: соотношение массы к заряду = 712 (M+H).

35 ПРИМЕР 36 Синтез соединения (36): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Lys-N-метил-1-(тетрагидро-2Я-пиран-4-ил)метанамин амид (SEQ ID NO: 5):

40 [00377] Соединение 36 получают в существенной мере таким же способом, как описано в Примере 25, за исключением того, что (тетрагидро-2Н-пиран-4-ил)метанамин используют на стадии сочетания с амидом. ЖХ-МС: соотношение массы к заряду = 651 (M+H).

ПРИМЕР 37 Синтез соединения (37): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Lys-[5-(аминометил)-1Н-бензо[d]имидазол-2(3Н)-она амид] (SEQ ID NO: 5):

45 [00378] Соединение (37) получают в существенной мере таким же способом, как описано в Примере 25, за исключением того, что 5-(аминометил)-1Н-бензо[a]имидазол-2(3Н)-он используют на стадии сочетания с амидом. ЖХ-МС: соотношение массы к заряду = 699 (M+H).

50 ПРИМЕР 38 Синтез соединения (38): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Lys-N-метил-1-(5-метилпиперазин-2-ил)-метанамин амид (SEQ ID NO: 5):

[00379] Соединение 38 получают в существенной мере таким же способом, как описано в Примере 25, за исключением того, что (5-метил-пиперазин-2-ил)-метанамин используют на стадии сочетания с амидом. ЖХ-МС: соотношение массы к заряду =

659 (M+H).

ПРИМЕР 39 Синтез соединения (39):

D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn

5

(eLys)

D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn

10

15

20

25

30

[00380] На фиг.5 приведена общая схема синтеза соединения (40). Использовали следующие производные аминокислот: Boc-D-Phe-OH, Fmoc-D-Phe-OH, Fmoc-D-Leu-OH, Boc-D-Leu-OH, Fmoc-D-Orn(Boc)-OH и Fmoc-Lys(Dde)-OH. Полностью защищенный, связанный со смолой пептид синтезируют вручную, используя в качестве исходных материалов 2-хлортритилхлоридную смолу (0,3 ммоль; Peptide International). Присоединение первой аминокислоты к смоле обеспечивают обработкой смесью Fmoc-Lys(Dde)-OH (0,29 г, 0,5 ммоль; Novabiochem) и DIEA (0,35 мл, 2 ммоль) в ДХМ (7 мл) при комнатной температуре в течение 4 час. Смолу промывают 3 × ДХМ/MeOH/DIEA (об./об./об.=17:2:1), и затем обрабатывают 25% пиперидина в ДМФА для удаления Fmoc. Последующее удлинение пептидной цепи обеспечивают опосредованными PyBOP/DIEA одинарными сочетаниями с 3-кратным избытком производных аминокислот, Fmoc-D-Orn(Boc)-OH и Boc-D-Leu-OH. Полученную пептидную смолу, Boc-D-Leu-D-Orn(Boc)-Lys(Dde)-[2-Cl-Trt смола], обрабатывают 4% гидразина в ДМФА трижды по 3 мин для удаления Dde. Последующее удлинение пептидной цепи обеспечивают опосредованными PyBOP/DIEA одинарными сочетаниями с 3-кратным избытком производных аминокислот, Fmoc-D-Orn(Boc)-OH, Fmoc-D-Leu-OH, Fmoc-D-Phe-OH и Boc-D-Phe-OH. Группу Fmoc удаляют с помощью 25% пиперидина в ДМФА. Полностью собранный пептид отщепляют от смолы обработкой смесью TФУ/TIS/H<sub>2</sub>O (15 мл, об./об./об.=95:2,5:2,5) при комнатной температуре в течение 90 мин. Смолу отфильтровывают и промывают TФУ. Фильтрат упаривают под вакуумом, и сырой пептид (0,3 ммоль; D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[eLys(D-Orn-D-Leu-H)]-OH) осаждают из диэтилового эфира.

35

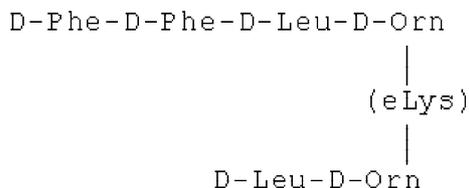
40

45

[00381] Для очистки, сырой пептид (0,3 ммоль) растворяют в 2% уксусной кислоте в H<sub>2</sub>O (50 мл), раствор загружают на колонку ВЭЖХ и очищают с использованием буферной системы ТЕАР с рН 5,2 (буферные растворы: А=ТЕАР 5,2 и В=20% ТЕАР 5,2 в 80% АСН). Соединение элюируют с линейным градиентом буферного раствора В, от 10% В до 40% В на протяжении 60 мин. Фракции с чистотой свыше 95%, объединяют, и полученный раствор разбавляют 2 объемами воды. Разбавленный раствор далее загружают на колонку ВЭЖХ для солевого обмена и дополнительно очищают с использованием буферной системы TФУ (буферные растворы: А=0,1% TФУ в H<sub>2</sub>O, и В=0,1% TФУ в 80% АСН/20% H<sub>2</sub>O) и линейного градиента от буфера В, 2% В до 75% В на протяжении 25 мин. Фракции с чистотой свыше 97%, объединяют, замораживают и сушат на лиофилизаторе с получением очищенного пептида в виде белого аморфного порошка (396 мг). Анализ методом ВЭЖХ: t<sub>R</sub>=13,63 мин, чистота 99,7%, градиент от 10% В до 30% В на протяжении 20 мин; МС (M+H<sup>+</sup>): ожидаемая масса молекулярного иона 895,5, зарегистрировано 895,6.

50

ПРИМЕР 40: Синтез соединения (40):



5

[00382] Соединение получают в соответствии с методикой, описанной в синтезе соединения (39) выше. Отличие состоит в дополнительном остатке аминокислоты D-Phe в промежуточном соединении, пептидной смоле Boc-D-Phe-D-Leu-D-Orn(Boc)-Lys(Dde)-[2-Cl-Trt смола]. Промежуточное соединение смолу получают присоединением Fmoc-Lys(Dde)-OH к 2-хлортритилхлоридной смоле с последующим удалением Fmoc и получением производных аминокислот Fmoc-D-Orn(Boc)-OH, Fmoc-D-Leu-OH и Boc-D-Phe-OH. Конечный очищенный пептид: аморфный порошок, выход 508 мг в масштабах синтеза 0,3 ммоль. Анализ методом ВЭЖХ:  $t_R=18,90$  мин, чистота 100%, градиент от 10% В до 30% В на протяжении 20 мин; МС ( $M+H^+$ ): ожидаемая масса молекулярного иона 1042,4, зарегистрировано 1042,7.

10

15

ПРИМЕР 41: Синтез соединения (41)-(52):

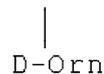
Соединение (41): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn- $\epsilon$ Lys-OH

20



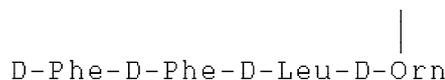
Соединение (42): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn- $\epsilon$ Lys-OH

25



Соединение (43): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn- $\epsilon$ Lys-NH<sub>2</sub>

30

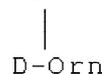


Соединение (44): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn- $\epsilon$ Lys-N(-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-NH-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-)



35

Соединение (45): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn- $\epsilon$ Lys-OH



Соединение (46): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn- $\epsilon$ Lys-OH

40



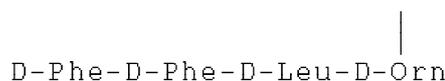
Соединение (47): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn- $\epsilon$ Lys-OH

45



Соединение (48): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn- $\epsilon$ Lys-OH

50



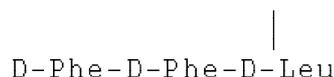
Соединение (49): 1N,4N-бис-[D-Phe-D-Phe-D-Leu-(iPr)D-Orn]-4-амино-4- карбоксил пиперидин

Соединение (50): 1N,4N-бис-[D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Dap(амидино)]-4-амино-4-

карбоксил пиперидин

Соединение (51): 1N,4N-бис-(D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Nar)-4-амино-4-карбоксил пиперидин

Соединение (52): D-Phe-D-Phe-D-Leu-(D-Lys-Gly лактам)<sub>2</sub>



[00383] Указанные соединения, (41)-(52), приведенные выше, могут быть синтезированы в соответствии с общими схемами, показанными на фиг.5, 6 и 7, способами, аналогичными используемым в синтезе соединений (39) и (40), подробно описанном выше.

ПРИМЕР 42 Синтез соединения (53) D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[R/S-2-карбоксиморфолин]-ОН (SEQ ID NO: 1):

[00384] Схема приведена на фиг.8. Использовали следующие производные аминокислот: Boc-D-Phe-ОН, Fmoc-D-Phe-ОН, Fmoc-D-Leu-ОН, Fmoc-D-Orn(Boc)-ОН и (R,S)-Fmoc-2-карбоксиморфолин. Полностью защищенный, связанный со смолой пептид синтезируют на синтезаторе SYMPHONY Multiple Synthesizer (Protein Technology Inc.), используя в качестве исходных материалов 2-хлортритилхлоридную смолу (0,4 ммоль; Novabiochem). Присоединение первой аминокислоты к смоле обеспечивают обработкой смесью (R,S)-Fmoc-2-карбоксиморфолин (0,18 г, 0,5 ммоль; NeoMPS) и DIEA (0,35 мл, 2 ммоль) в ДХМ (7 мл) при комнатной температуре в течение 4 час. Смолу промывают 3×ДХМ/MeOH/DIEA (об./об./об.=17:2:1) и 3×ДХМ.

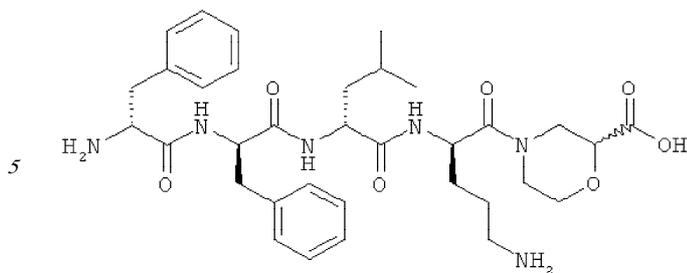
Последующее удлинение пептидной цепи обеспечивают опосредованными HBTU/DIEA одиночными сочетаниями с 3-хкратным избытком производных аминокислот.

Группу Fmoc удаляют обработкой 25% пиперидина в ДМФА. Для расщепления, конечную пептидную смолу обрабатывают смесью TOUTIS/H<sub>2</sub>O (15 мл, об./об./об.=95:2,5:2,5) при комнатной температуре в течение 90 мин. Смолу отфильтровывают и промывают ТФУ. Фильтрат упаривают под вакуумом и сырой пептид (0,15 г, DPhe-DPhe-DLeu-DOrn-[R/S-2-карбоксиморфолин]-ОН) осаждают из диэтилового эфира.

[00385] Для очистки, описанный выше сырой пептид (0,15 г) растворяют в 0,1% ТФУ в H<sub>2</sub>O (50 мл), раствор загружают на колонку ВЭЖХ и очищают с использованием буферной системы ТФУ (буферные растворы: А=0,1% ТФУ в H<sub>2</sub>O и В=0,1% ТФУ в 60% АСН/40% H<sub>2</sub>O). Соединение элюируют с линейным градиентом от буфера В, 25% В до 75% В на протяжении 30 мин, t<sub>R</sub>=45% В. Фракции с чистотой свыше 97%

объединяют, замораживают и сушат на лиофилизаторе с получением очищенного пептида в виде белого аморфного порошка (84 мг). Соединение представляет собой смесь диастереоизомеров, поскольку не предпринималось попыток разделить два изомера, DPhe-DPhe-DLeu-DOrn-[R-2-карбоксиморфолин]-ОН и DPhe-DPhe-DLeu-DOrn-[S-2-карбоксиморфолин]-ОН. Анализ методом ВЭЖХ: t<sub>R</sub>=16,93 мин (49,6%) и 17,34 мин (50,4%), общая чистота 100%, градиент от 10% В до 30% В на протяжении 20 минут.

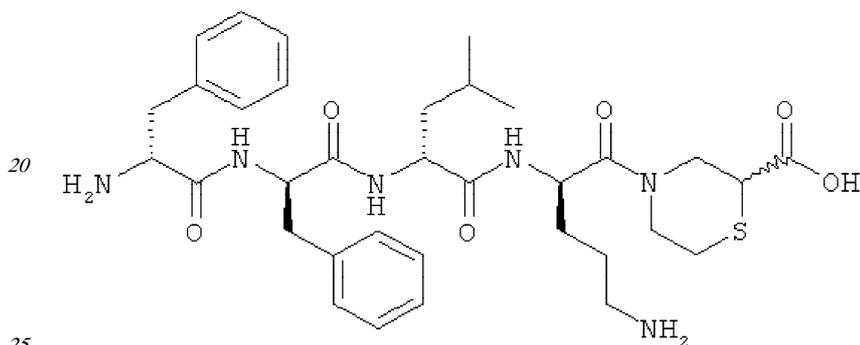
[00386] На фиг.9 показана общая химическая схема, используемая в синтезе соединения (53) Соединение (53): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[R/S-2-карбоксиморфолин]-ОН (SEQ ID NO: 1):



ПРИМЕР 43 Синтез соединений (54)-(66)

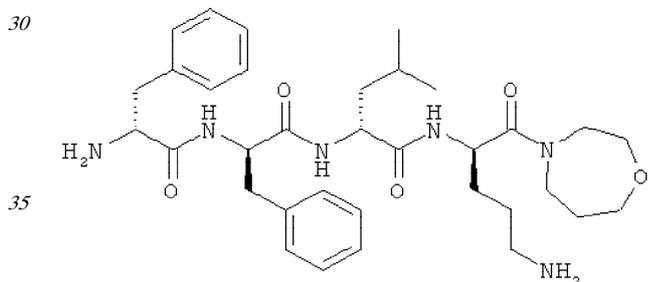
10 [00387] Соединения (54)-(66) могут быть получены хорошо известными способами синтеза. Например, соединение (40), см. ниже, может быть получено в соответствии со схемой химического синтеза на фиг.9.

15 Соединение (54): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[R/S-2-карбокситиоморфолин]-OH (SEQ ID NO: 1):

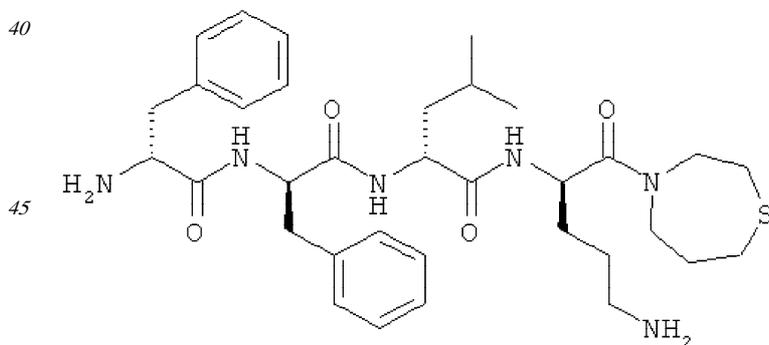


[00388] На фиг.9 показана общая химическая схема, применяемая в синтезе соединения (55).

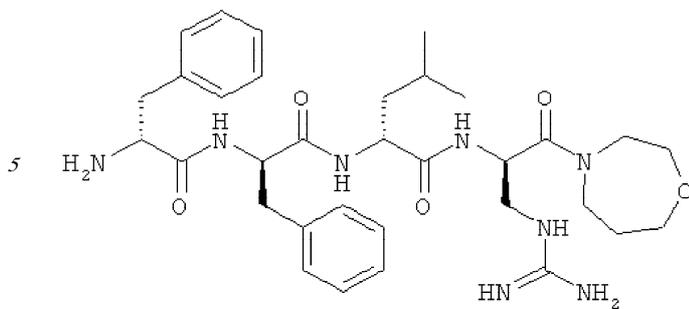
30 Соединение (55) D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-N(гомоморфолин) (SEQ ID NO: 1):



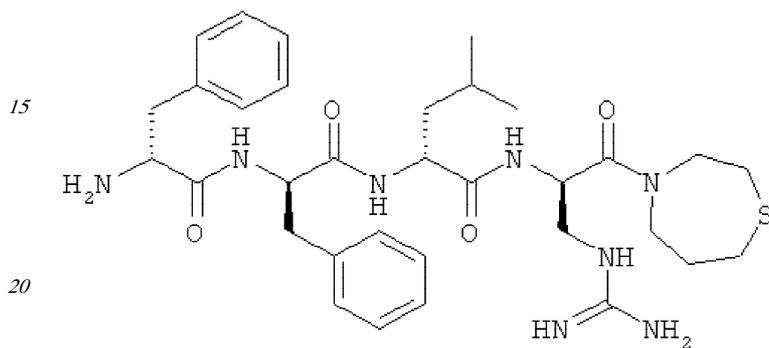
40 Соединение (56): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-N(гомотиоморфолин) (SEQ ID NO: 1):



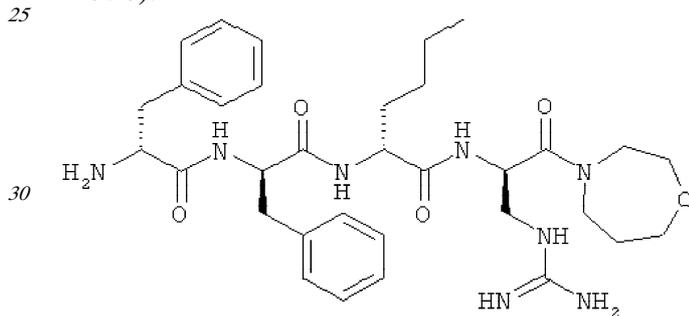
50 Соединение (57): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Dap(амидино)-[гомоморфолина амид] (SEQ ID NO: 8):



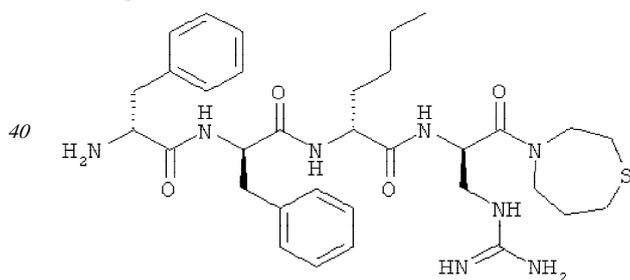
10 Соединение (58); D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Dap(амидино)-[гомотиоморфолина амид] (SEQ ID NO: 8):



25 Соединение (59); D-Phe-D-Phe-D-Nle-D-Dap(амидино)-[гомоморфолина амид] (SEQ ID NO: 8):

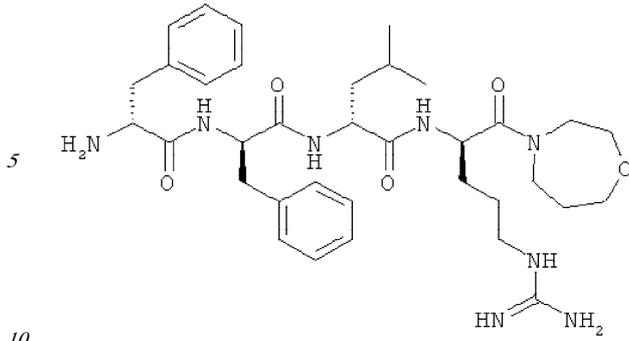


35 Соединение (60); D-Phe-D-Phe-D-Nle-D-Dap(амидино)-[гомотиоморфолина амид] (SEQ ID NO: 8):

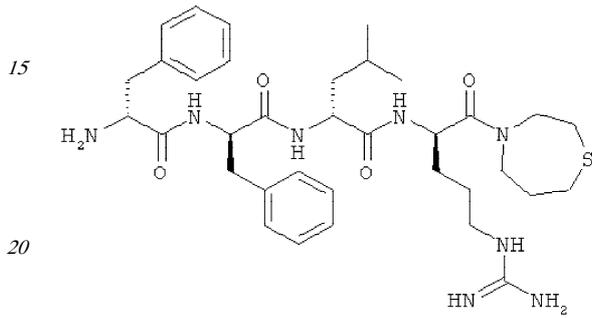


45 Соединение (61); D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Arg-[гомоморфолина амид] (SEQ ID NO: 7):

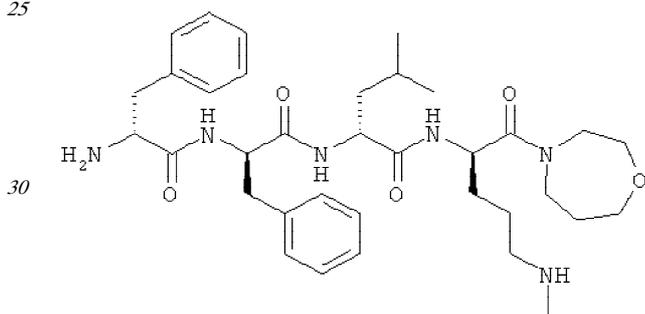
50



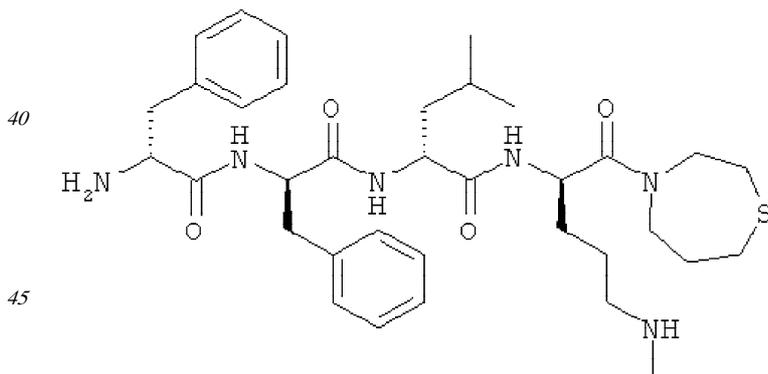
Соединение (62): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Arg-[гомотиопиперазина амид] (SEQ ID NO: 7):



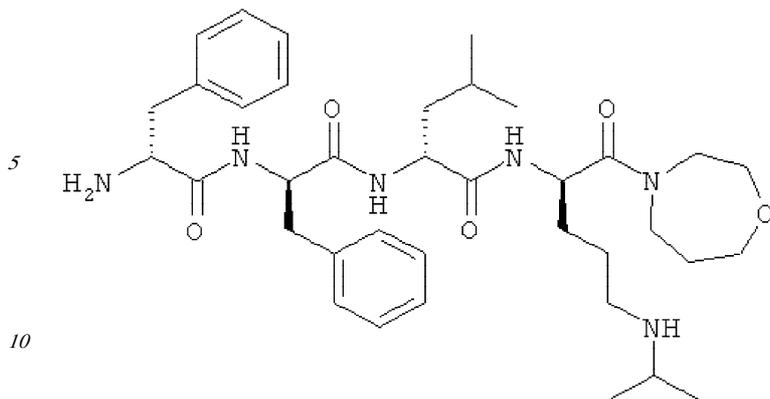
Соединение (63): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn(Me)-[гомоморфолина амид] (SEQ ID NO: 4):



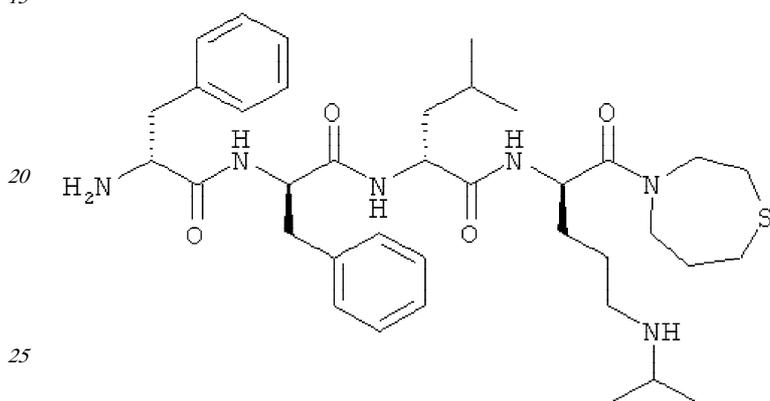
Соединение (64): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn(Me)-[гомотиоморфолина амид] (SEQ ID NO: 4):



Соединение (65): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn(iPr)-[гомоморфолина амид] (SEQ ID NO: 3):



15 Соединение (66) D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn(iPr)-[гомотиоморфолина амид] (SEQ ID NO: 3):



30 ПРИМЕР 44: Ингибирование выработки цАМФ стимулированием эндогенного каппа-опиатного рецептора мышей в R1.G1 клетках.

35 [00389] Активность синтетических пептидных амидов как агонистов каппа-опиатного рецептора определяют измерением ингибирования стимулированной форсколином активности аденилатциклазы. Клетки R1.G1 (линия клетки тимомы мыши, которая экспрессирует только каппа-опиатный рецептор и не экспрессирует других подтипов опиатного рецептора) сначала подвергают обработке форсколином (для индукции цАМФ) плюс синтетическим пептидным амидом в исследуемой концентрации. После инкубации, уровень цАМФ в обработанных клетках R1.G1 определяют, используя иммуноанализ цАМФ на основе переноса энергии флуоресцентного резонанса с разрешением во времени (TR-FRET, LANCE™, Perkin Elmer). Ниже способ описан подробно.

40 [00390] Мышиные клетки R1.G1 (ATCC, Manassas, VA) культивируют в суспензии в среде DMEM с высоким содержанием глюкозы (модифицированная Дульбекко среда Игла, Cellgro, Herndon, VA), содержащей 10% лошадиной сыворотки и 2% glutaMax (Invitrogen, Carlsbad, CA) без добавления антибиотиков. В день эксперимента, клетки центрифугируют со скоростью 1000 об./мин в течение 5 минут при комнатной температуре, а затем промывают 1 раз HBSS (буферизованный солевой раствор HEPES, Invitrogen, Carlsbad, CA). Далее клетки снова центрифугируют и ресуспендируют в буферном растворе для стимуляции (HBSS с добавлением 0,05% альбумина телячьей сыворотки-FAF [свободный от жирных кислот альбумин телячьей сыворотки, Roche Applied Science, Indianapolis, IN], 5 мМ HEPES) в концентрации 2 млн клеток/мл. Антитело, поставляемое в наборе для иммуноанализа цАМФ LANCE™, далее добавляют к клеткам согласно инструкции производителя, и 12000 клеток/лунку

помещают в лунки, содержащие форсколин в предварительно определенной конечной концентрации (обычно приблизительно 2,5 мкМ) и предварительно определенное количество исследуемого синтетического пептидного амида.

5 [00391] Синтетические пептидные амиды исследовали в интервале концентраций, чтобы определить их активность. Клетки инкубировали с синтетическими пептидными амидами плюс форсколином в течение приблизительно 20 минут при комнатной температуре. После инкубации, осуществляли лизис клеток, добавляя 12 мкл проявляющей смеси, поставляемой в наборе LANCE™, с последующей инкубацией в 10 течение 1 час при комнатной температуре. Флуоресценцию с разрешением во времени измеряли, используя фильтр возбуждения 330-380 нм, фильтр эмиссии 665 нм, дихроическое зеркало 380 и Z=1 мм. Стандартную кривую концентрации цАМФ в данном испытании позволяет определить количество цАМФ, присутствующее в 15 каждой лунке. Кривую строили, нанося на график концентрации синтетического пептидного амида против уровня цАМФ в исследуемых клетках, и обрабатывают нелинейной регрессией с использованием алгоритма аппроксимации 4-параметрической кривой для вычисления EC<sub>50</sub>, концентрации синтетического пептидного амида, необходимой для достижения 50% максимального подавления 20 выработки цАМФ синтетическими пептидными амидами.

ПРИМЕР 45: Подтверждение активности синтетических пептидных соединений на человеческом каппа-опиатном рецепторе.

[00392] Эмбриональные почечные клетки человека (клетки НЕК-293, ATCC, Manassas, VA) в чашках диаметром 100 мм трансфицируют реактивом для 25 трансфекции, Fugene6 (Roche Molecular Biochemicals) и конструктами ДНК в соотношении 3,3:1. Конструкты ДНК, применяемые для трансфекции, были такими, как указано ниже: (i) вектор экспрессии для человеческого каппа-опиатного рецептора, (ii) вектор экспрессии для человеческого химерного G-протеина и (iii) 30 конструкт репортера люциферазы, в котором экспрессию люциферазы индуцируют чувствительным к кальцию фактором транскрипции NFAT.

[00393] Вектор экспрессии, содержащий человеческую каппа-опиатный рецептор, конструируют, как указано ниже: Человеческий ген OPRK1 клонируют из общей РНК 35 спинного корневого ганглия человека методом ПЦР, и ген вставляют в вектор экспрессии pcDNA3 (Invitrogen, Carlsbad, CA), чтобы сконструировать вектор экспрессии млекопитающих pcDNA3-hOPRK1 человеческого OPRK1.

[00394] Для конструирования вектора экспрессии химерного G-протеина человека, сначала конструируют химерный G-протеин Gaq15 путем замены последних 5 40 аминокислот человеческого Gaq последовательностью последних 5 аминокислот Gai1 методом PCR. Вторую мутацию вводят в данный человеческий ген Gaq15 в положении аминокислоты 66 для замены глицина (G) на аспарагиновую кислоту (D) методом сайт-направленного мутагенеза. Полученный ген далее субклонировать в вектор экспрессии млекопитающих pcDNA5/FRT (Invitrogen) с получением вектора экспрессии 45 человеческого химерного G-протеина, pcDNA5/FRT-hGNAq-G66D-i5.

[00395] Для получения конструкта репортерного гена люциферазы, синтетические элементы реакции, в том числе 3 копии TRE (элементы 12-0-тетрадеканойлфорбол-13-ацетат-реагирующий) и 3 копии NFAT (ядерный фактор активированных T-клеток) 50 инкорпорируют в направлении 3'-5' по отношению к минимальному промотору c-fos. Данный реагирующий элемент и кассету промотора затем вставляют в pCL3-основной вектор репортерного гена люциферазы (Promega), чтобы конструировать конструкт плазмиды репортерного гена люциферазы pGL3b-3TRE-3NFAT-cfos-Luc.

[00396] Смесь для трансфекции для каждого планшета клеток включала 6 мкм pcDNA3-hOPRK1, 6 мкг pcDNA5/FRT-hGNAq-G66D-i5 и 0,6 мкг pGL3b-3TRE-3NFAT-cfos-Luc. Клетки инкубируют в течение одного дня при 37°C во влажной атмосфере, содержащей 5% CO<sub>2</sub>, с последующей трансфекцией и нанесением на непрозрачные 96-луночные планшеты в концентрации 45000 клеток на лунку в 100 мкл средства. На следующий день, исследуемые соединения и соединения сравнения добавляют к клеткам в индивидуальных лунках. Интервал концентраций исследуемых соединений добавляют к одному набору лунок, и подобный интервал концентраций соединений сравнения добавляют к набору контрольных лунок. Клетки далее инкубируют в течение 5 часов при 37°C. В конце инкубации осуществляют лизис клеток, добавляя 100 мкл проявляющей смеси, содержащей субстрат люциферазы (AMP [22 мкг/мл], АТР [1,1 мг/мл], дитиотрейтол [3,85 мг/мл], HEPES [конечная концентрация 50 мМ], ЭДТА [0,2 мг/мл]. Тритон N-101 [4 мкл/мл], фенилуксусную кислоту [45 мкг/мл], щавелевую кислоту [8,5 мкг/мл], люциферин [28 мкг/мл], рН 7,8). Планшеты запечатывают и измеряют флуоресценцию в пределах 30 минут. Данные наносят на график концентрации каждого из соединений против импульсов флуоресценции в секунду (cps) и полученные кривые «доза-реакция» аппроксимируют нелинейной регрессией с использованием алгоритма 4-параметрической кривой для вычисления EC<sub>50</sub> (концентрация соединения, необходимая для достижения 50% максимального увеличения активности люциферазы) и эффективности (максимальная активация в процентах по сравнению с полной индукцией любым из известных агонистов каппа-опиатного рецептора, таким как азимадолин (EMD-61753: см. Joshi et al., 2000, J. Neurosci. 20(15): 5874-9), или U-69593: см. Heidbreder et al., 1999, Brain Res. 616(1-2): 335-8).

[00397] В табл. II показаны значения EC<sub>50</sub>, полученные в результате анализа ингибирования цАМФ с примерами соединений, синтезированных в соответствии с настоящим изобретением и исследованных на модели каппа-опиатного рецептора (mKOR) мышей с подтверждением результатов на модели человеческого каппа-опиатного рецептора (hKOR) вышеописанными способами.

[00398] Синтетические пептидные амиды по изобретению были исследованы в подобном анализе активности на модели человеческого мю-опиатного рецептора. Каждое из исследованных соединений продемонстрировало EC<sub>50</sub> для человеческого мю-опиатного рецептора  $\geq 1$  мкМ.

Таблица II				
Значения активности каппа-опиатного агониста				
Соединение №	mKOR		hKOR	
	EC <sub>50</sub> (нМ)	Эффективность (%)	EC <sub>50</sub> (нМ)	Эффективность (%)
1	0,403	98	0,49	102
2	0,08	97	0,13	99
3	9,05	88	н/о	н/о
4	50,56	87	н/о	н/о
5	3,01	96	н/о	н/о
6	0,041	100	0,17	107
7	0,028	102	0,14	104
8	0,197	102	0,16	93
9	0,088	92	0,39	134
10	0,085	99	0,12	92
11	0,08	100	0,12	90
12	0,092	100	0,30	99
13	0,115	96	0,24	96

14	0,022	96	0,21	105
15	1,966	93	н/о	н/о
16	0,030	99	0,12	90
17	0,056	99	0,12	90
18	0,049	99	0,14	99
19	0,035	101	0,21	93
20	0,193	92	0,15	97
21	0,078	97	н/о	н/о
22	0,081	97	н/о	н/о
23	0,045	95	н/о	н/о
24	0,033	96	н/о	н/о
25	0,1472	85	0,021	98
26	0,12 (среднее значение)	78	0,0073	98
27	0,0005	85	0,0293	100
28	0,0471	89	0,0059	100
29	0,084	85	0,031	92
н/о - не определяли				

Таблица II				
Значения активности каппа-опиатного агониста (продолжение)				
Соединение №	mKOR		hKOR	
	EC <sub>50</sub> (нМ)	Эффективность (%)	EC <sub>50</sub> (нМ)	Эффективность (%)
30	0,1931	86	0,0194	101
31	0,2456	82	0,0073	100
32	0,530	87	0,011	101
33	0,3476	92	0,012	94
34	0,1916	89	0,0306	103
35	0,4849	85	0,0667	95
36	0,6327	89	0,0034	99
37	0,072	87	0,0063	99
38	0,1894	87	0,0165	100
39	67,3	35	н/о	н/о
40	1,07	96	0,26	83
41	0,05	100	0,2	89
42	0,24	97	0,27	95
43	0,08	101	0,13	94
44	1,30	91	0,25	93
45	0,05	96	0,28	96
46	0,12	95	н/о	н/о
47	0,05	91	н/о	н/о
48	0,34	85	н/о	н/о
49	1,83	50	н/о	н/о
50	56,66	77	н/о	н/о
51	95,78	60	н/о	н/о
52	13,81	76	н/о	н/о
53	0,178	100	0,16	100
н/о - не определяли				

[00399] Синтетический пептидный амид (53) исследовали в подобном анализе активность на модели человеческого мю-опиатного рецептора. Соединение продемонстрировало EC<sub>50</sub> для человеческого мю-опиатного рецептора  $\geq 1$  мкМ.

ПРИМЕР 46 Влияние синтетических пептидных амидов на проницаемость мембраны

[00400] Линия клеток Сасо-2 представляет собой линию клеток аденокарциномы ободочной и прямой кишки человека, которая дифференцируется в культуре и

используется для моделирования эпителиальной выстилки тонкого кишечника человека. Соединения по настоящему изобретению могут быть исследованы в испытании на проницаемость мембран с использованием субклона TC7 Caco-2 в стандартном анализе (Сегер, Сиэтл, WA). Если коротко, коэффициент очевидной проницаемости (Papp) может быть определен в апикально-базолатеральном направлении (А-В) через монослой клеток, культивируемые на 96-луночных поликарбонатных мембранных фильтрах.

[00401] Например, соединения по изобретению могут быть исследованы в такой концентрации, как 10 мкМ при рН 6,5 в 1% ДМСО, с реципиентной стороной, удерживаемой при рН 7,4. Планшет для анализа инкубируют в течение 60 минут при 37°C с осторожным встряхиванием. Образцы отбирают в нулевой точке времени с донорской стороны и в конце периода инкубации, как с донорской, так и с реципиентной сторон. Образцы предпочтительно анализируют методом ВЭЖХ-МС/МС. Значение (выраженное, как  $10^{-6}$  см/сек.) Papp далее вычисляют на основании скорости появления соединения на реципиентной стороне. Соединения сравнения, такие как лабеталол, пропранолол, ранитидин и винбластин, могут быть исследованы параллельно, чтобы гарантировать валидность испытания.

ПРИМЕР 47 Ингибирование оксидазы цитохром P<sub>450</sub> [00402] Ингибирование изоферментов оксидазы цитохром P450 CYP1A, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 и CYP3A4 синтетическим соединением пептидным амидом (17) по изобретения определяли в соответствии со следующими методами, выполненными Сегер (Сиэтл, WA):

[00403] В анализе цитохром P<sub>450</sub> CYP1A, микросомы печени человека (0,2 мг/мл белка) инкубируют в течение 15 минут при 37°C с 10 мкМ исследуемого соединения, 1 мкМ этоксирезорфуфина, 1,3 мМ НДДФ, 3,3 мМ глюкозо-6-фосфата и 0,4 Ед/мл глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы. В отсутствие исследуемого соединения, декстрометорфан, добавленный как субстрат, окисляется до резорфуфина, и в присутствии ингибитора изофермента CYP, количество образовавшегося резорфуфина снижается. Фурафиллин использовали в качестве ингибитора сравнения. Реакционную смесь анализа цитохром P<sub>450</sub> CYP2C9, содержащую микросомы печени человека (белок 0,2 мг/мл), инкубируют в течение 15 минут при 37°C с 10 мкМ исследуемого соединения, 10 мкМ толбутамида, 1,3 мМ НАДФ, 3,3 мМ глюкозо-6-фосфата и 0,4 Ед/мл глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы. В отсутствие исследуемого соединения, толбутамид окисляется до 4-гидрокситолбутамида, и в присутствии ингибитора изофермента CYP, количество образовавшегося 4-гидрокситолбутамида снижается. Сульфафеназол (IC<sub>50</sub>: 0,35 мкМ) служит ингибитором сравнения. Для анализа цитохром P<sub>450</sub> CYP2C19, микросомы печени человека (0,2 мг/мл белка) инкубируют в течение 15 минут при 37°C с 10 мкМ исследуемого соединения, 10 мкМ омепразола, 1,3 мМ НАДФ, 3,3 мМ глюкозо-6-фосфата и 0,4 Ед/мл глюкозо-6-фосфат дегидрогеназы. В отсутствие исследуемого соединения, омепразол окисляется до 5-омепразола, и в присутствии ингибитора изофермента CYP, количество образовавшегося 4-толбутамида снижается. Оксibuтинин (IC<sub>50</sub>; 7,1 мкМ) служит ингибитором сравнения.

[00404] Реакционную смесь анализа цитохром P<sub>450</sub> CYP2D6, содержащую микросомы печени человека (0,2 мг/мл белка) инкубируют в течение 15 минут при 37°C с 10 мкМ исследуемого соединения, 5 мкМ декстрометорфана, 1,3 мМ НАДФ, 3,3 мМ глюкозо-6-фосфата и 0,4 Ед/мл глюкозы-6-фосфатдегидрогеназы. В отсутствие исследуемого соединения, декстрометорфана окисляется, и в присутствии ингибитора изофермента CYP, количество продукта окисления снижается. Хинидин (IC<sub>50</sub>: 0,093 мкМ) служит ингибитором сравнения. Рекомбинантный человеческий цитохром

Р<sub>450</sub> СУРЗА4 (20 пмоль/мл) инкубируют в течение 20 минут при 37°C с 10 мкМ исследуемого соединения, 5 мкМ мидазолама, 1,3 мМ НАДО, 3,3 мМ глюкозо-6-фосфата и 0,4 Ед/мл глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы. В отсутствии исследуемого соединения, мидазолам окисляется, и в присутствии ингибитора рекомбинантного изофермента, количество продукта окисления снижается. Содержание продукта окисления определяют на основе площади под кривой после разделения методом ВЭЖХ-МС/МС. Кетоконазол (IC<sub>50</sub>: 0,55 мкМ) служит ингибитором сравнения. В каждом испытании, процентное ингибирование изофермента цитохром Р<sub>450</sub> СУР Р<sub>450</sub> было определено как 100-кратное соотношение (1 - количество продукта в образце в присутствии исследуемого соединения), разделенное на количество продукта в образце, содержащем необработанный изофермент. Результаты анализов в двойном повторении (выраженные, как процент сохраненной активности СУР) показаны в табл. III.

Процент активности изоферментов цитохром Р <sub>450</sub> СУР			Таблица III
Соединение	(17)		
	Expt 1	Expt 2	
Изофермент Р <sub>450</sub>			
СУР1А	97,1	95,8	
СУР2С9	99,2	98,2	
СУР2С19	94,1	97,8	
СУР2D6	98,4	98,2	
СУРЗА4	94,7	95,9	

#### ПРИМЕР 48 Фармакокинетика у яванских макак

[00405] Однократный болюс соединения синтетического пептидного амида вводят внутривенной инъекцией яванским макакам (n=4 самца, масса тела 3-5 кг, SNBL USA, Ltd., Everett, WA), и отбирают образцы плазмы через 5, 10, 15, 20, 30, 60, 90, 120 и 180 минут после инъекции. Период полувыведения определяют как время, необходимое для снижения концентрации в плазме на 50% после достижения максимальной концентрации в плазме. Яванские макаки получали внутривенной инъекцией однократную дозу соединения синтетического пептидного амида (19) в соответствии с протоколом, подробно описанным в Примере 19, и определяли период полувыведения для концентрации в плазме. Результаты показаны в табл. V.

Период полувыведения соединения синтетического пептидного амида in vivo (19)*			Таблица V
Яванские макаки			
Способ введения	Период полувыведения (минуты)	внутривенный 69	
* Соединение (19): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[4-(N-метил)амид амидино-гомопиперазина] (SEQ ID NO: 1).			

#### ПРИМЕР 49 Анализ на модели индуцированных уксусной кислотой корчей у мышей

[00406] В данном анализе идентифицируют соединения, которые демонстрируют анальгетическую активность против висцеральной боли или боли, связанной с активацией чувствительных к низким значениям pH ноцицепторов [см. Barber and Gottschlich (1986) Med. Res. Rev. 12: 525-562; Ramabadrán and Bansinath (1986) Pharm. Res. 3: 263-270]. Внутривентральное введение разбавленного раствора уксусной кислоты вызывает поведение корчей у мышей. Корчи определяют как сокращение мышц живота, сопровождаемое вытягиванием передних конечностей и удлинением тела. Количество корчей, наблюдаемых в присутствии и отсутствие исследуемых соединений, подсчитывают, чтобы определить анальгетическую активность

соединений.

[00407] В каждый день проведения испытания на модели корчей включали группу контрольных мышей (n=6-8), получавших растворитель, которых обрабатывали так же, как и исследуемую группу (за исключением того, что исследуемое соединение отсутствовало в инъекционной дозе), и среднее общее количество корчей в данной группе использовали в качестве абсолютного ориентира, определяющего 0% уменьшения восприятия боли для всех других мышей, получавших исследуемое соединение в указанный день. Конкретно, общее количество корчей для каждой мыши, получавшей исследуемое соединение, переводили в % уменьшения восприятия боли в соответствии со следующим уравнением:

$$\% \text{ уменьшения восприятия боли} = \frac{(W_v - W_c)}{W_v} \times 100,$$

где  $W_v$  представляют собой среднее количество корчей в получавшей растворитель группе, и  $W_c$  представляют собой количество корчей у мышей, получавших исследуемое соединение. Данные были проанализированы с использованием 2-параметрического уравнения Хилла (также называется модель Emax), где Emax принимается за 100% антиноцицепции (т.е., отсутствие корчей на протяжении 15 минут после введения уксусной кислоты).

[00408] Мышей-самцов ICR массой 23-37 г взвешивали и размещали в индивидуальных камерах (обычно, стеклянный стакан объемом 4000 мл) для наблюдения с тонким слоем подстилки для грызунов SANI-CHIPS на дне камеры. Для определения активности и мощности исследуемых соединений, различные дозы раствора соединения или растворителя вводили подкожной инъекцией в заднюю область шеи через 15 или 180 минут до введения раствора уксусной кислоты. После введения соединения или контрольного растворителя, мышей возвращали в индивидуальные камеры для наблюдения ожидать внутрибрюшинного введения раствора уксусной кислоты. Через 15 минут или 3 часа, в соответствии с интервалом времени, определенном в каждом эксперименте от введения соединения до инъекции уксусной кислоты, дозу, соответствующую 10 мл/кг 0,6% (об./об.) раствора уксусной кислоты, вводили инъекционно в нижний правый квадрант живота. Сразу после инъекции мышью возвращали в камеру для наблюдения и немедленно начинали регистрировать количество корчей. Количество корчей подсчитывали за период 15 минут, начинающийся с момента инъекции уксусной кислоты, причем данные регистрировали для 3-х отдельных периодов времени длительностью 5 минут каждый (0-5 минут, 5-10 минут и 10-15 минут).

[00409] Данные регистрировали как ED<sub>50</sub> и коэффициент Хилла. ED<sub>50</sub> выражают как среднее значение ± стандартная ошибка среднего (sem) (ED<sub>50</sub> +/- sem) или как среднее геометрическое значение с 95% доверительным интервалом (95% CI) с использованием t-шкалы. Коэффициент Хилла выражают, как арифметическое среднее значение ± sem, вычисленное на основе значений, полученных в результате наблюдения за животными. Результаты показаны на фиг.10.

**ПРИМЕР 50:** Ингибирование перемещения у мышей для измерения седативного эффекта соединений после подкожной инъекции

[00410] Соединения, которые демонстрируют седативную активность, подавляют самопроизвольное перемещение мышей в камере исследования. Для определения потенциального седативного эффекта исследуемых соединений, степень перемещения после введения исследуемого соединения или контрольного растворителя может быть определена и сравнена с помощью специализированного устройства, разработанного

для данной цели (измеритель активности Opto-Varimex). В начале каждого эксперимента каждую мышь взвешивают и рассматривают, чтобы определить надлежащее состояние здоровья. Для определения активности и мощности соединений, различные дозы раствора соединения или растворителя вводят подкожной инъекцией через 15 или 180 минут до начала регистрации данных. Подкожную инъекцию выполняют в заднюю область шеи мыши, зашпинуемую в "тент", чтобы позволить доступ иголки шприца. После инъекции каждое животное размещают в индивидуальную коробку Plexiglas (43×43 см) внутри устройства для измерения активности Opto-Varimex. Перед тем, как животное помещают в устройство, тонкий слой подстилки для грызунов SANI-CHIPS помещают на дно коробки Plexiglas, чтобы создать удобное окружение. Каждое устройство для измерения активности Opto-Varimex затем включают в режим регистрации данных, которая начинается системой автослежения АТМЗ. Данные обрабатывают, и результаты выражают таким же образом, как описано для данных анализа на модели корчей выше.

**ПРИМЕР 51** Анальгетический эффект против седативного эффекта синтетического пептидного амида (17): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[4-(4,5-дигидро-1H-имидазол-2-ил)амид гомопиперазина] (SEQ ID NO: 1).

[00411] Ингибирование индуцированных уксусной кислотой корчей является показателем анальгетического эффекта (также называется антиноцицептивным эффектом). Подобным образом, уменьшение перемещения может использоваться в качестве показателя общего седативного эффекта. Значение ED<sub>50</sub> определенное на модели индуцированных уксусной кислотой корчей у мышей IRC, составило 74 мкг/кг [с 95% доверительным интервалом 49-99 мкг/кг] при подкожном введении синтетического пептидного амида (17). Значение ED<sub>50</sub>, определенное на модели подавления перемещения, составило 3172 мкг/кг [с 95% доверительным интервалом 1810-4534 мкг/кг] для того же синтетических пептидного амида при подкожном введении (см. фиг.10). Терапевтическое соотношение анальгетического эффекта и седативного эффекта представляет собой кратность значения ED<sub>50</sub>, необходимого для достижения седативного эффекта, по сравнению со значением ED<sub>50</sub>, необходимым для достижения анальгетического эффекта. Таким образом, соединение (17) демонстрирует соотношение (3172/74) раз, т.е. 42,86 раз. Таким образом, терапевтическое соотношение для соединения (17) составляет приблизительно 43 раза.

**ПРИМЕР 52:** Фармакокинетика соединений синтетических пептидных амидов у обезьян

[00412] Образцы вводят самцам обезьян *Macaca fascicularis* (SNBL USA, Ltd., Everett, WA, специально выведенные яванские макаки. Близко родственны человеку, как филогенетически, так и физиологически) в возрасте 3-7 лет массой 3-5 кг. Образцы вводят в поверхностную вену руки или ноги [например, плечевую или подкожную вену ноги] в 0,9% растворе натрия хлорида для инъекций, Фарм. США (Baxter Healthcare, Deerfield, 111.), как указано ниже: Кассету с образцом, содержащую 0,4 мг соединения (19) по настоящему изобретению и 0,4 мг каждого из 9 других соединений (до общей дозы 4 мг), готовят в 2 мл 0,9% раствора натрия хлорида для инъекций, с концентрацией 0,2 мг/мл каждого из 10 соединений. Аликвоту 2 мл вводят в виде внутривенного болюса экспериментальному животному, что составляет общую дозу на уровне 0,8-1,3 мг/кг, в зависимости от массы тела каждого животного. Внутривенную инъекцию завершают 1 мл 0,9% раствора натрия хлорида для инъекций. Образцы крови объемом 0,6 мл отбирают венепункцией периферической

вены через 2, 5, 10, 15 и 30 минут после введения дозы, а затем через 1, 2 и 4 часа.

Каждый образец помещают в предварительно охлажденную стеклянную пробирку, содержащую гепарин лития, и немедленно охлаждают на льду. Плазму отбирают после центрифугирования со скоростью 2000 д в течение 15 минут при 2-8°C. Слои

плазмы каждого образца перемещают в полипропиленовую пробирку и хранят в замороженном состоянии при температуре -60°C или ниже до проведения анализа.

Аликвоты по 100 мкл размороженной плазмы фиксируют 5 мкл раствора подходящего внутреннего стандарта 400 нг/мл (в данном случае известные соединения синтетических пептидных амидов) в 0,1% ТФУ, и белки осаждают 100 мкл 0,1% ТФУ в ацетонитриле. Образцы центрифугируют при 1000×g в течение 5 минут, и супернатант анализируют методом ЖХ-МС. Анализ методом ЖХ-МС выполняют на масс-спектрометре Finnigan LCQ Deca, соединенном с системой ВЭЖХ Surveyor (Thermo Electron Corporation, Waltham, Massachusetts, США). Анализ методом ВЭЖХ проводят на обращенно-фазовых колонках C18 2,1×150 мм с градиентом от 0,01% ТФУ в ацетонитриле до 0,01% ТФУ в воде. Определение массы выполняли в режиме избирательного мониторинга реакции (SRM). Количественную оценку выполняли против калибровочной кривой анализируемого вещества в холостой плазме яванской макаки с использованием такого внутреннего стандарта. Анализ данных и вычисление фармакокинетических параметров выполняли с помощью программного обеспечения PK Solutions 2.0 (Summit Research Services, Ashland, Ohio, США). Результаты для соединения (19): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[4-(N-метил)амид амидино-гомопиперазина] (SEQ ID NO: 1) показана на фиг.11.

**ПРИМЕР 53:** Глазная анальгезия, индуцированная синтетическими пептидными амидами по изобретению

[00413] Глазная анальгезия, индуцированная синтетическими пептидными амидами по изобретению, может быть оценена в анализе *in vivo* на кроликах, как указано ниже: 5 аликвот исследуемого соединения, по 50 мкл каждая, в физиологическом растворе натрия хлорида, в исследуемой концентрации, вводят капельно в правый глаз новозеландских кроликов-альбиносов, ранее не принимавших участия в экспериментах, на протяжении 20 минут. Через 15 минут после последней инстилляцией исследуемого соединения, каждому животному проводят однократную инстилляцию 30 мкл раствора 10 мг/мл капсаицина (33 мМ) в обработанный глаз. Известно, что капсаицин вызывает боль в роговице. Боль в роговице оценивают измерением открывания века в миллиметрах с использованием прозрачной линейки в обработанном и необработанном глазах. На данной животной модели, уменьшение размера открывания века после инсталляции капсаицина является показателем степени индуцированной боли. Таким образом, любое зарегистрированное восстановление размера открывания века после лечения исследуемым соединением рассматривается как мера облегчения индуцированной капсаицином глазной боли.

[00414] Такие оценки выполняют перед лечением исследуемым соединением (перед испытанием), непосредственно перед инстилляцией капсаицина, а затем через 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50 и 60 минут после инстилляцией капсаицина. Среднее значение открывания века может быть выражено, как процент от контрольного значения за период 10-30 минут после инсталляции капсаицина у кроликов, которым была проведена предварительная инстилляцией каппа-опиатного агониста по изобретению, и после инсталляции контрольного соединения в стандартной концентрации, такого как дилтиазем, бензотиазепиновый блокатор кальциевых каналов. См. Gonzalez et al., (1993) Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.34: 3329-3335.

ПРИМЕР 54: Зависимость «доза-реакция» для синтетических пептидных амидов по изобретению при индуцированной капсаицином глазной боли

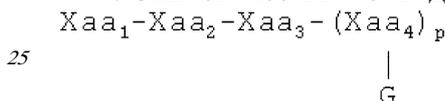
[00415] Глазную анальгезию, индуцированную исследуемыми синтетическими пептидными амидами, исследуют при инсталляции в нескольких концентрациях в правый глаз новозеландских кроликов-альбиносов, ранее не принимавших участия в экспериментах, и оценивают, как описано в Примере 31 выше. Результаты сравнивают с анальгезией, индуцированной 10 мг/мл морфина (неселективный опиатный агонист) и 10 мМ дилтиазема как контрольного соединения в таком же эксперименте и при таких же условиях.

[00416] Описание каждого из патентов США и опубликованных патентных заявок, а также тексты литературных ссылок, процитированные в данном описании, включены путем ссылки во всей их полноте. В случае если какое-либо определение или описание, найденное в одной или больше их указанных ссылок, приходит в противоречие с соответствующим определением или описанием в данном описании, то применяется определение или описание, раскрытое в данном описании.

[00417] Примеры, приведенные в данном описании, предназначены только, в данном описании и не должны быть интерпретированы как ограничение изобретения, полный контекст которого будет понятен специалисту в данной области.

### Формула изобретения

1. Синтетический пептидный амид формулы:



или его стереоизомер, смесь стереоизомеров, фармацевтически приемлемая соль, гидрат, или гидрат кислой соли,

где каждый Xaa<sub>1</sub> независимо выбран из группы, включающей D-Phe, (α-Me)D-Phe, D-Tyr, D-Thr, D-трет-лейцин, D-неопентилглицин, D-фенилглицин, D-гомофенилаланин и β-(E)D-Ala, где каждый (E) независимо выбран из группы, включающей циклобутил, циклопентил, циклогексил, пиридил, тиенил и триазолил;

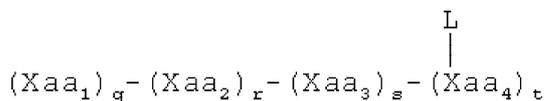
каждый Xaa<sub>2</sub> независимо выбран из группы, включающей D-Phe, (α-Me)D-Phe, D-1Nal, D-2Nal, D-Tyr, (E)D-Ala и D-Trp;

каждый Xaa<sub>3</sub> независимо выбран из группы, включающей D-Nle, D-Phe, циклопентил-D-Ala, D-Leu, (α-Me)D-Leu, D-Hle, D-Val и D-Met;

каждый Xaa<sub>4</sub> независимо выбран из группы, включающей (B)<sub>2</sub>D-Arg, (B)<sub>2</sub>D-nArg, (B)<sub>2</sub>D-Har, ζ-(B)D-Hlys, D-Dap, ε-(B)D-Lys, ε-(B)<sub>2</sub>-D-Lys, D-Amf, амидино-D-Amf, γ-(B)<sub>2</sub>D-Dbu, δ-(B)<sub>2</sub>α-(B')D-Orn, D-2-амино-3(4-пиперидил)пропионовую кислоту, D-2-амино-3(2-аминопирролидил)пропионовую кислоту, D-α-амино-β-амидинопропионовую кислоту, α-амино-4-пиперидинуксусную кислоту, цис-α,4-диаминоциклогексануксусную кислоту, транс-α,4-диаминоциклогексануксусную кислоту, цис-α-амино-4-метиламиноциклогексануксусную кислоту, транс-α-амино-4-метиламиноциклогексануксусную кислоту, α-амино-1-амидино-4-пиперидинуксусную кислоту, цис-α-амино-4-гуанидиноциклогексануксусную кислоту и транс-α-амино-4-гуанидиноциклогексануксусную кислоту, где каждый (B) независимо выбран из группы, включающей -H и C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> алкил, и (B') представляет собой -H или (α-Me), и p равно 0 или 1;

G выбран из одного из следующих фрагментов:

(i) G представляет собой



где q равно 0 или 1;

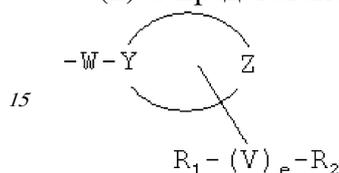
5 r равно 0 или 1;

s равно 0 или 1;

каждое из r и t независимо равно 0 или 1, при условии, что как минимум одно из s и t равно 1;

10 L представляет собой линкер, выбранный из группы, включающей ε-D-Lys, ε-Lys, 4-амино-4-карбоксилпиперидин и (D-Lys-Gly лактам);

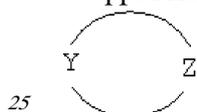
(ii) G представляет собой



где p равно 1;

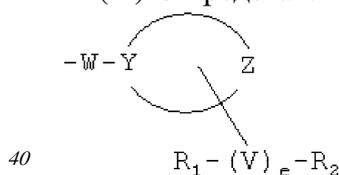
20 Xaa<sub>3</sub>-Xaa<sub>4</sub>- выбран из группы, включающей D-Nle-(B)<sub>2</sub>D-Arg-, D-Leu-δ-(B)<sub>2</sub>α-(B')D-Orn- и (α-Me)D-Leu-δ(B)<sub>2</sub>-α(B')D-Orn-; и

фрагмент



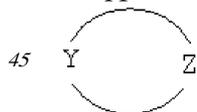
представляет собой необязательно замещенный 4-8-членный гетероциклический кольцевой фрагмент, где все гетероатомы кольца в указанном кольцевом фрагменте представляют собой N; где каждый из Y и Z независимо представляет собой C или N, и Y и Z не являются соседними атомами кольца; при условии, что, если такой кольцевой фрагмент представляет собой 6-, 7- или 8-членное кольцо, Y и Z разделены как минимум 2 атомами кольца; и при условии, что, если такой кольцевой фрагмент содержит один гетероатом, который представляет собой N, то такой кольцевой фрагмент является неароматическим;

35 (iii) G представляет собой



где p равно 1; и

фрагмент



представляет собой необязательно замещенный 4-8-членный гетероциклический кольцевой фрагмент, где Y представляет собой C или N, и Z представляет собой C, N, O, S, SO или SO<sub>2</sub>; при условии, что, если такой кольцевой фрагмент представляет собой 6-, 7- или 8-членное кольцо, Y и Z разделены как минимум двумя атомами кольца; при условии, что, если такой кольцевой фрагмент является неароматическим, и Z представляет собой C или N, то такой кольцевой фрагмент включает как минимум

один гетероатом S или O в кольце; и при условии, что, если такой кольцевой фрагмент является ароматическим, то Y представляет собой C;

(iv) G представляет собой аминометил-1H-бензо[d]имидазол-2(2H)-он;

где W отсутствует, при условии, что если W отсутствует, Y представляет собой N; или выбран из группы, включающей:

-NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>b</sub>-, где b равно 0, 1, 2, 3, 4, 5 или 6; и

-NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>c</sub>-O-, где c равно 2 или 3;

где V представляет собой C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкил, и e равно 0 или 1, где если e равно 0, то V отсутствует, и R<sub>1</sub> и R<sub>2</sub> непосредственно присоединены к одному и тому же или различным атомам кольца;

где (a) R<sub>1</sub> представляет собой -H, -OH, CF<sub>3</sub>, -NH<sub>2</sub>, -COOH, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкил, амидино, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкилзамещенный амидино, гетероциклил, Pro-амид, Pro, CONH<sub>2</sub>, COR', SO<sub>2</sub>R', CONR'R'' или SO<sub>2</sub>NR'R''; где каждый из R' и R'' независимо представляет собой -H, C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> алкил, арил или гетероциклил; и R<sub>2</sub> представляет собой H, амидино, амидино, замещенный одним или двумя C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкилами, -CONH<sub>2</sub>, -CONR'R'', -SO<sub>2</sub>NR'R'' или -COOH; или

(b) R<sub>1</sub> и R<sub>2</sub> вместе могут образовывать 4-9-членный гетероциклический моноциклический или бициклический кольцевой фрагмент, присоединенный к одному атому кольца Y- и Z-содержащего кольцевого фрагмента, при этом указанный 4-9-членный гетероциклический моноциклический или бициклический кольцевой фрагмент необязательно содержит один или два заместителя, независимо выбранный из фенила, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкила, оксогруппы и(или) Cl; или

(c) R<sub>1</sub> и R<sub>2</sub> вместе с одним атомом кольца Y- и Z-содержащего кольцевого фрагмента могут образовывать 4-8-членный гетероциклический кольцевой фрагмент, который необязательно содержит один или два заместителя, независимо выбранные из фенила и(или) оксогруппы, при этом происходит образование спироструктуры; или

(d) R<sub>1</sub> и R<sub>2</sub> вместе с двумя или больше соседними атомами кольца Y- и Z-содержащего кольцевого фрагмента могут образовывать необязательно оксозамещенный 4-9-членный гетероциклический моноциклический или бициклический кольцевой фрагмент, конденсированный с Y- и Z-содержащим кольцевым фрагментом;

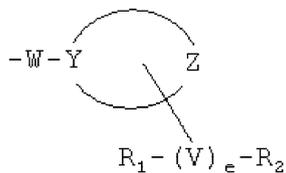
при условии, что если Y- и Z-содержащий кольцевой фрагмент представляет собой 6- или 7-членное кольцо, содержащее один гетероатом в кольце, и если один из Y и Z представляет собой C, и другой из Y и Z представляет собой N, и e равно 0, то R<sub>1</sub> не является -OH, и R<sub>1</sub> и R<sub>2</sub> оба одновременно не являются -H;

при условии, что если Y- и Z-содержащий кольцевой фрагмент представляет собой 6-членное кольцо, содержащее два гетероатома в кольце, Y и Z представляют собой N, W

отсутствует и -Ve(R<sub>1</sub>)(R<sub>2</sub>) присоединен к Z, то -Ve(R<sub>1</sub>)(R<sub>2</sub>) выбран из группы, включающей амидино, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкилзамещенный амидино, дигидроимидазол, -CH<sub>2</sub>COOH и -CH<sub>2</sub>C(O)NH<sub>2</sub>; и

при условии, что если Y- и Z-содержащий кольцевой фрагмент представляет собой 6-членное кольцо, содержащее гетероатом S или O в кольце, или если Y- и Z-содержащий кольцевой фрагмент представляет собой 6-членное кольцо, содержащее два гетероатома в кольце, где Y и Z представляют собой N, и W отсутствует, или если Y- и Z-содержащий кольцевой фрагмент представляет собой 6-членное ароматическое кольцо, содержащее один гетероатом в кольце, где гетероатом представляет собой N, то, если e равно 0, R<sub>1</sub> и R<sub>2</sub> оба одновременно не являются -H.

2. Синтетический пептидный амид по п.1, где G представляет собой



и  $R_1$  и  $R_2$  вместе с 0, 1 или 2 атомами кольца Y- и Z-содержащего кольцевого фрагмента образуют моноциклический или бициклический 4-9-членный гетероциклический кольцевой фрагмент.

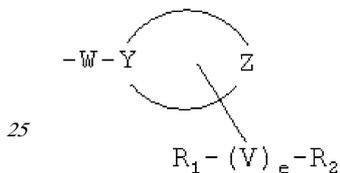
10 3. Синтетический пептидный амид по п.2, где  $R_1$  и  $R_2$  вместе с одним атомом кольца Y- и Z-содержащего кольцевого фрагмента образуют 4-8-членный гетероциклический кольцевой фрагмент, который вместе с Y- и Z-содержащим фрагментом кольца образует спироструктуру.

15 4. Синтетический пептидный амид по любому из пп.1-3, где  $X_{aa_1}$ - $X_{aa_2}$  представляет собой D-Phe-D-Phe.

5. Синтетический пептидный амид по любому из пп.1-4, где каждый  $X_{aa_3}$  выбран из группы, включающей D-Nle, D-Leu.

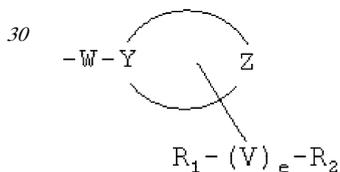
20 6. Синтетический пептидный амид по любому из пп.1-5, где каждый  $X_{aa_4}$  выбран из группы, включающей  $(B)_2$ D-Arg и  $\delta$ -(B)<sub>2</sub>D-Orn.

7. Синтетический пептидный амид по любому из пп.1-6, где G представляет собой



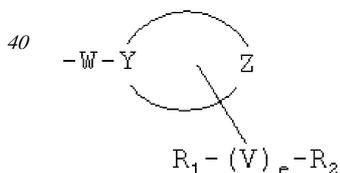
и W отсутствует.

8. Синтетический пептидный амид по пп.1-7, где G представляет собой



35 и Y- и Z-содержащий кольцевой фрагмент представляет собой 6- или 7-членное кольцо, Y представляет собой атом азота, и Z представляет собой атом углерода или атом азота.

9. Синтетический пептидный амид по любому из пп.1-7, где G представляет собой

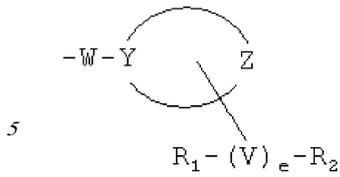


45 и Y- и Z-содержащий кольцевой фрагмент представляет собой 6- или 7-членное кольцо, Y представляет собой атом углерода, и Z представляет собой атом азота.

10. Синтетический пептидный амид по п.8, где Y- и Z-содержащее кольцо содержит один или несколько атомов серы или кислорода.

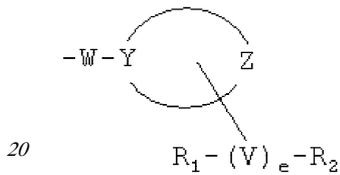
50 11. Синтетический пептидный амид по любому из пп.1-10, где  $R_1$  представляет собой -H, -OH, -NH<sub>2</sub>, -COOH, C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> алкил, амидино, C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>-алкилзамещенный амидино, дигидроимидазол, D-Pro, D-Pro-амид или CONH<sub>2</sub>, и где  $R_2$  представляет собой H или -COOH.

12. Синтетический пептидный амид по п.1, где G представляет собой

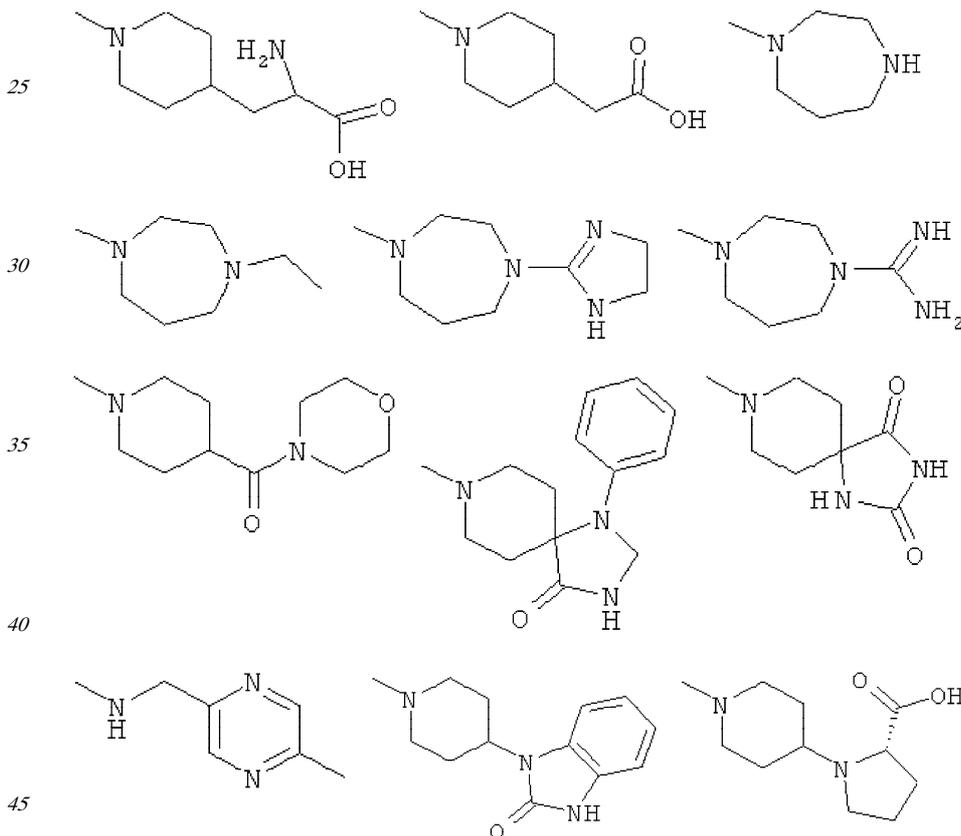


и Хаа<sub>1</sub> представляет собой D-Phe, Хаа<sub>2</sub> представляет собой D-Phe, Хаа<sub>3</sub> представляет собой D-Leu, Хаа<sub>4</sub> представляет собой δ-(B)<sub>2</sub>D-Orn, где (B) представляет собой -H, метил или изопропил; кроме того, где W отсутствует, Y- и Z-содержащий кольцевой фрагмент представляет собой 6- или 7-членное кольцо, Y представляет собой атом азота, e равно 0, R<sub>1</sub> представляет собой -NH<sub>2</sub>, амидино, C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> алкил, C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>-алкилзамещенный амидино, дигидроимидазол, D-Pro или D-Pro-амид, и R<sub>2</sub> представляет собой H или -COOH.

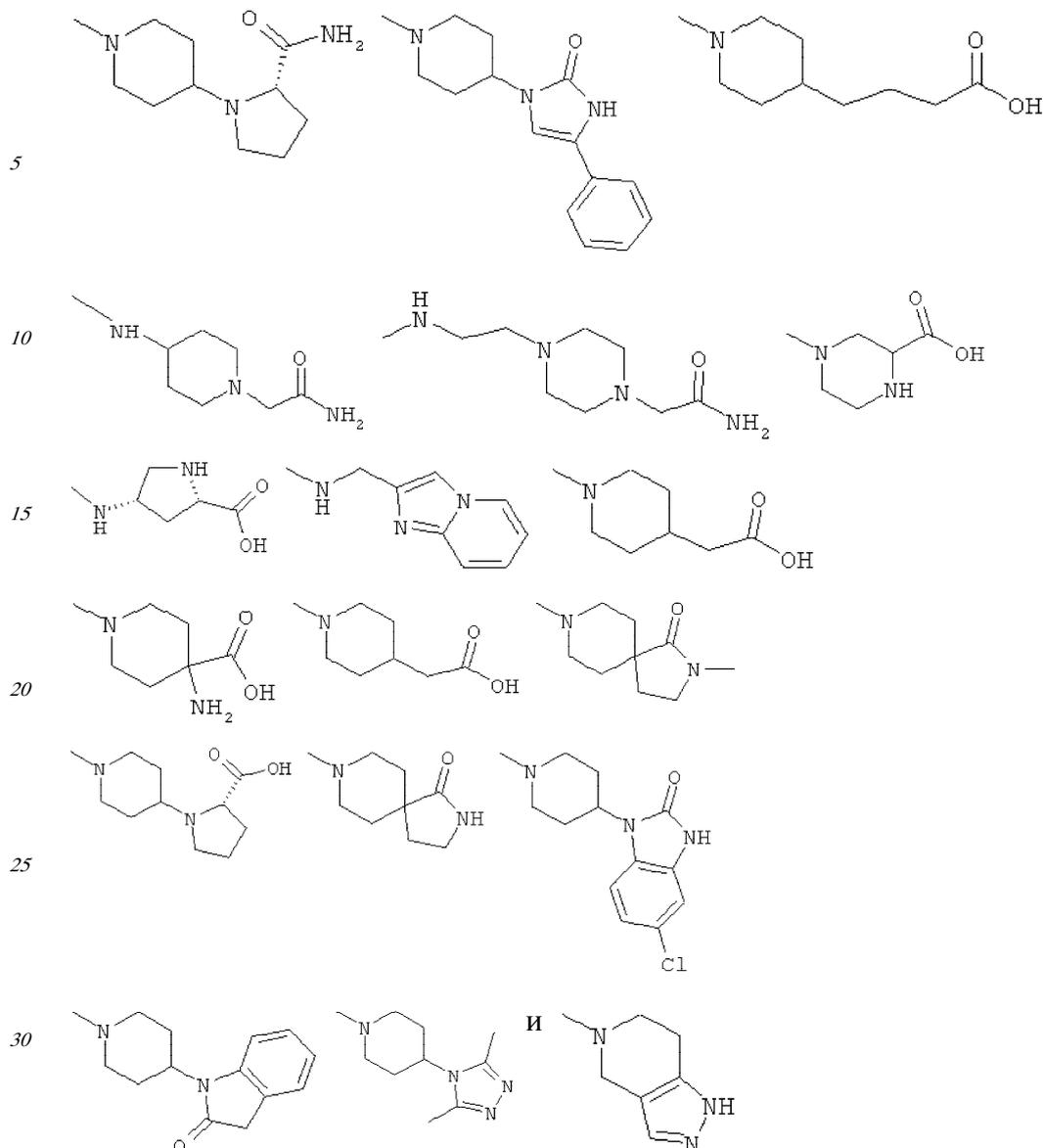
15 13. Синтетический пептидный амид по любому из пп.1-6, где



выбран из группы, включающей:



50



35 14. Фармацевтическая композиция, содержащая эффективное количество синтетического пептидного амида по любому из пп.1-13 в качестве агониста каппа-опиатного рецептора и фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество или носитель.

40 15. Применение синтетического пептидного амида по любому из пп.1-13 для изготовления лекарственного средства для лечения или предупреждения связанного с каппа-опиоидным рецептором заболевания или состояния у млекопитающего, отличающееся тем, при этом показатель  $EC_{50}$  синтетического пептидного амида составляет менее около 100 нм для каппа-опиоидного рецептора.

45 16. Применение по п.15, в котором связанное с каппа-опиоидным рецептором состояние выбрано из группы, включающей боли, воспаления, зуд, отек, гипонатриемию, гипокалиемию, непроходимость кишечника, кашель и глаукому.

17. Применение по п.16, в котором боль выбрана из группы, включающей невропатическую боль, соматическую боль, висцеральную боль и кожную боль.

50 18. Применение по п.16, в котором боль выбрана из группы, включающей артритную боль, боль при почечнокаменной болезни, боль вследствие маточных спазмов, дисменорею, эндометриоз, диспепсию, боли после хирургического вмешательства, боли после медицинской процедуры, боли в глазах, боли в ушах,

прорыв боли при раковом заболевании и боль, связанную с расстройством желудочно-кишечного тракта.

19. Применение по п.18, в котором хирургическое вмешательство представляет собой лапароскопию области таза, перевязку труб, гистерэктомию и холецистэктомию.

5

10

15

20

25

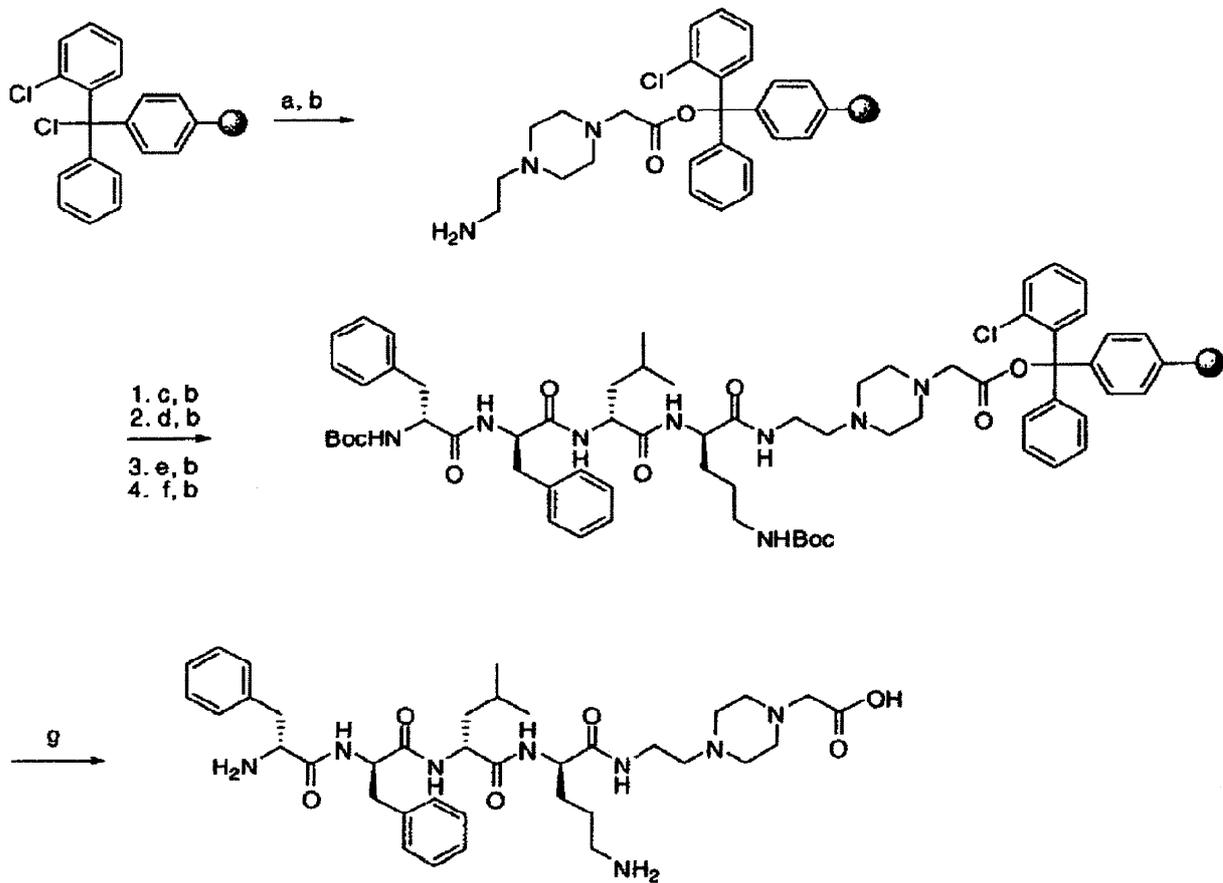
30

35

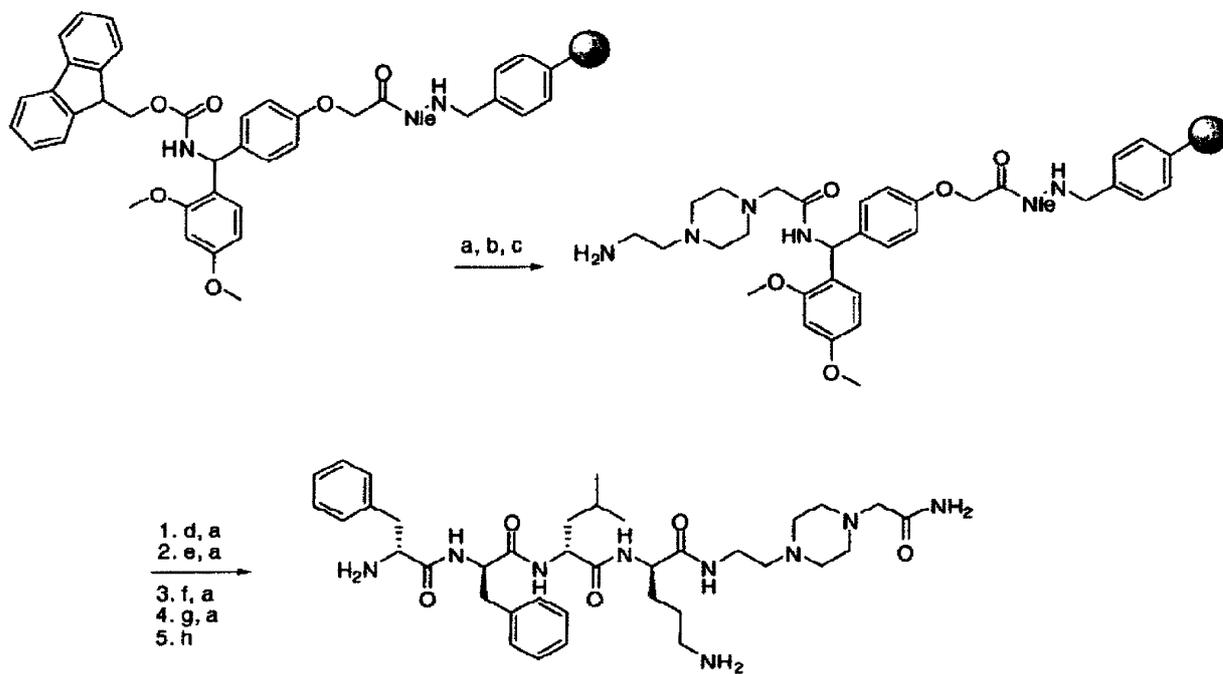
40

45

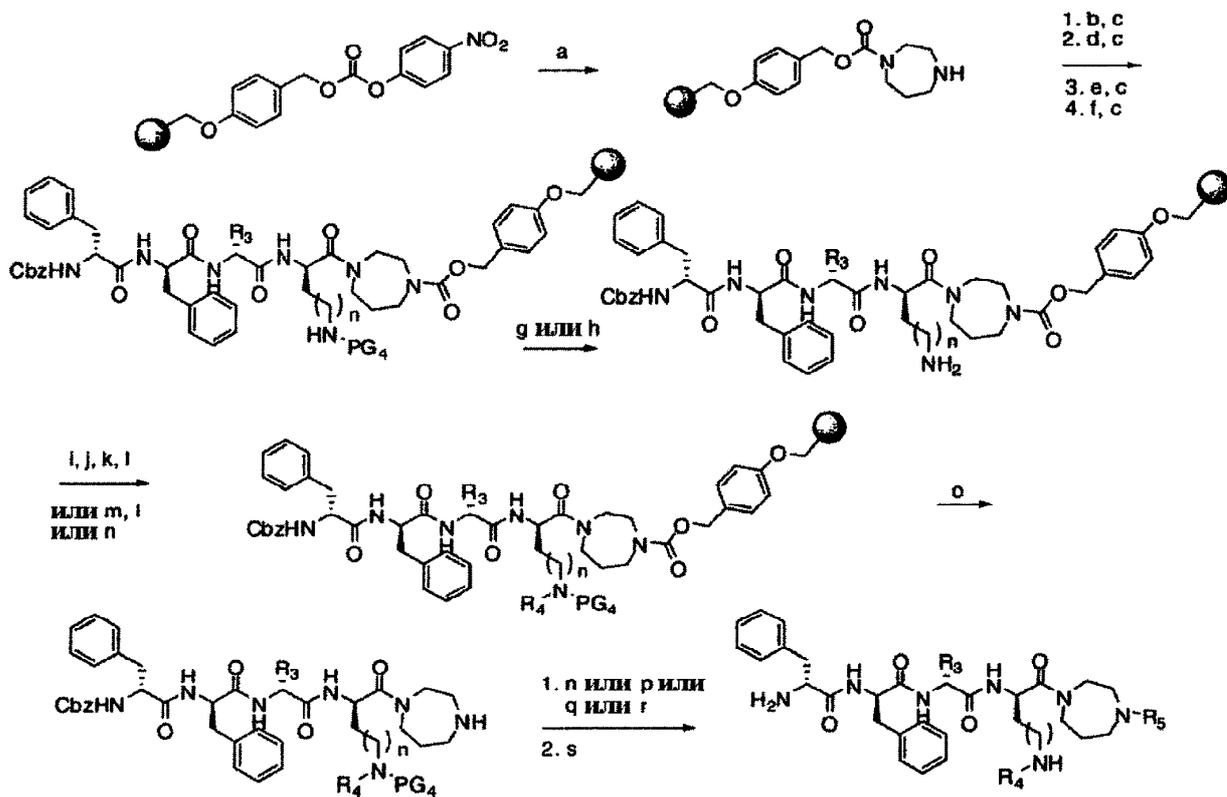
50



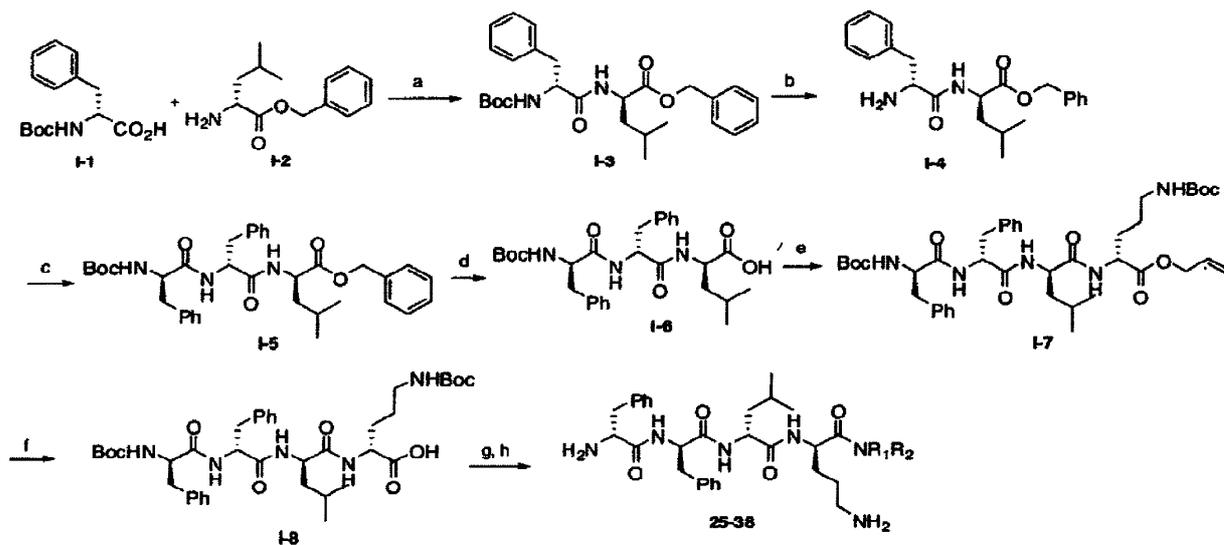
Фиг. 1



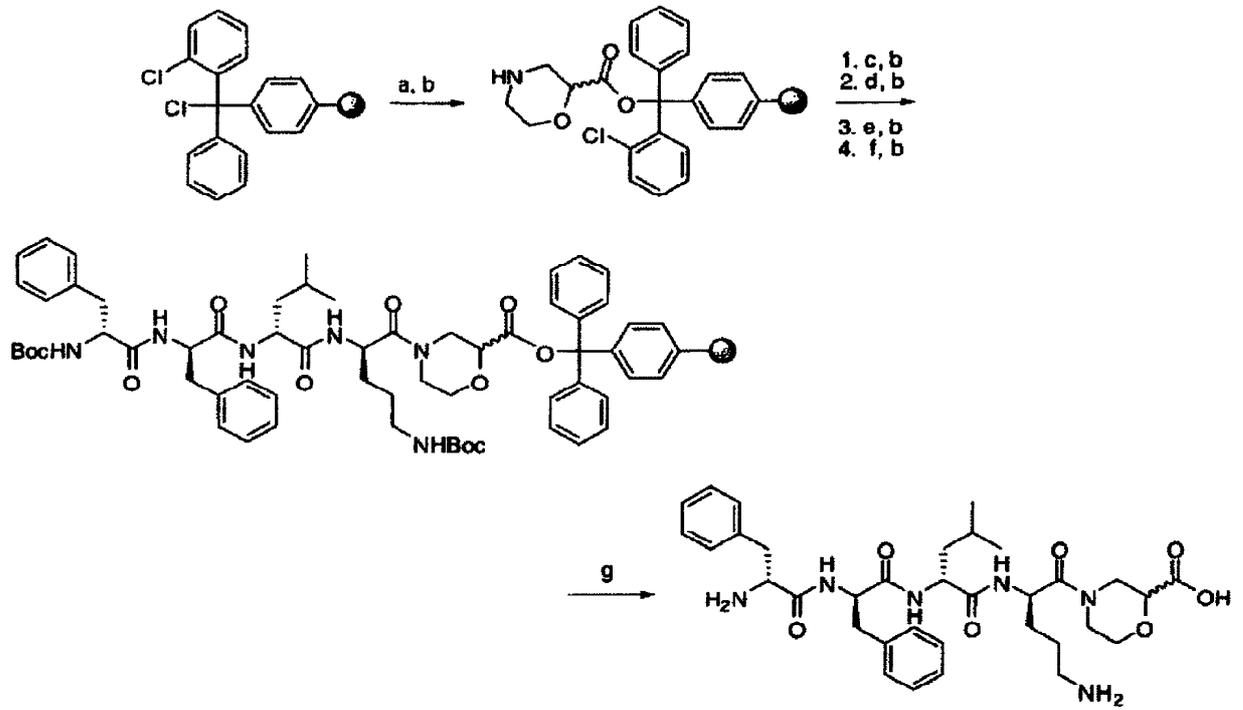
Фиг. 2



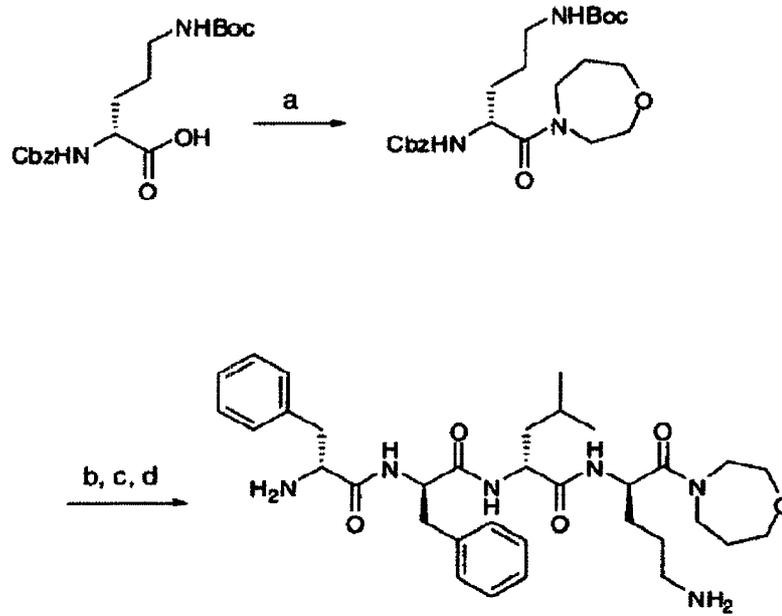
Фиг. 3



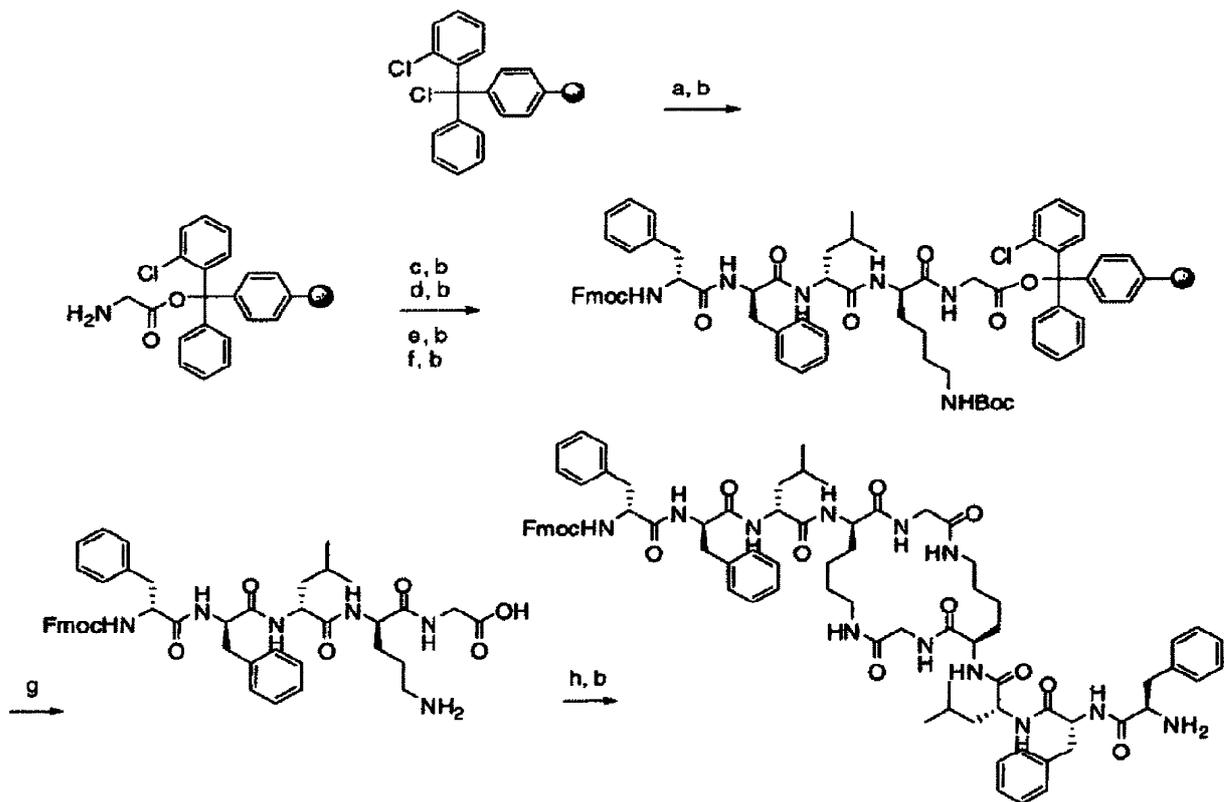
Фиг. 4



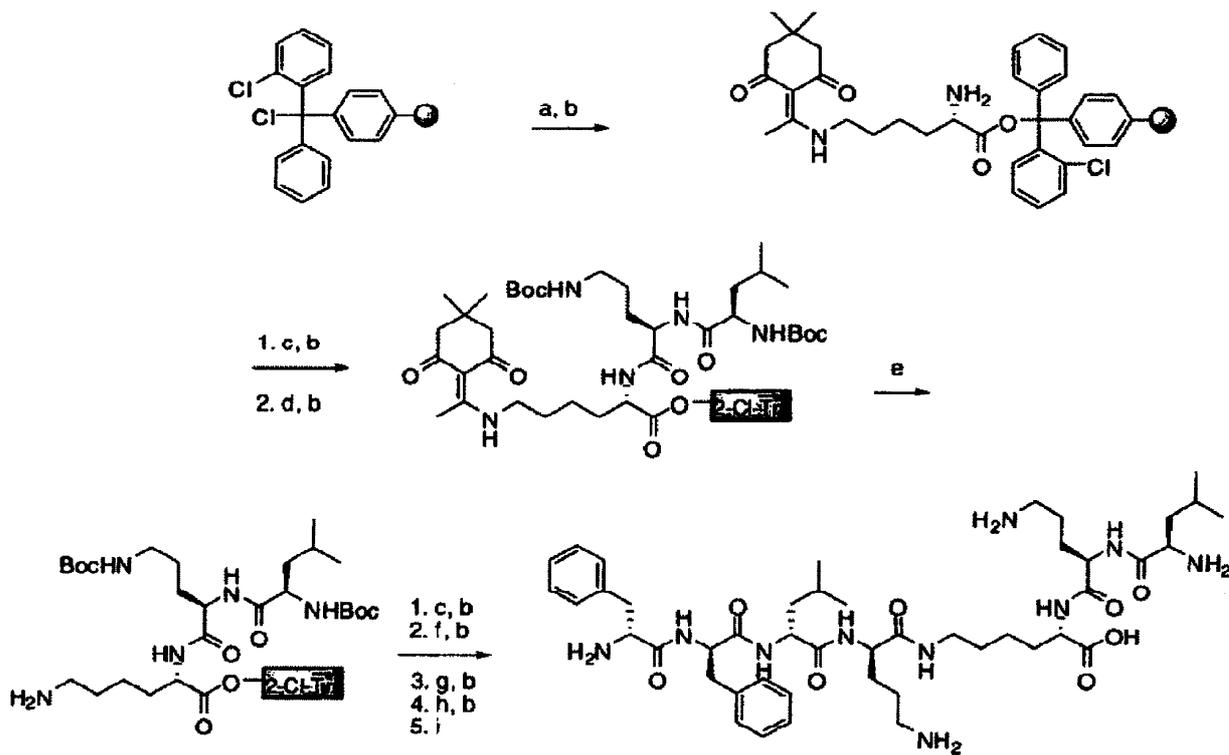
Фиг. 5



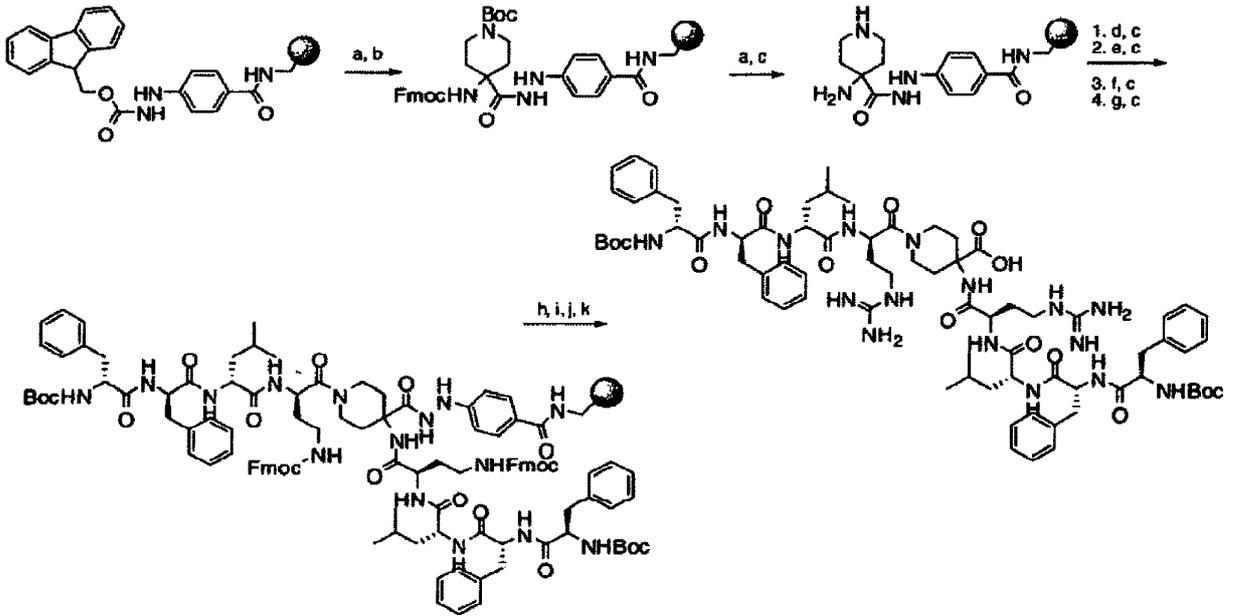
Фиг. 6



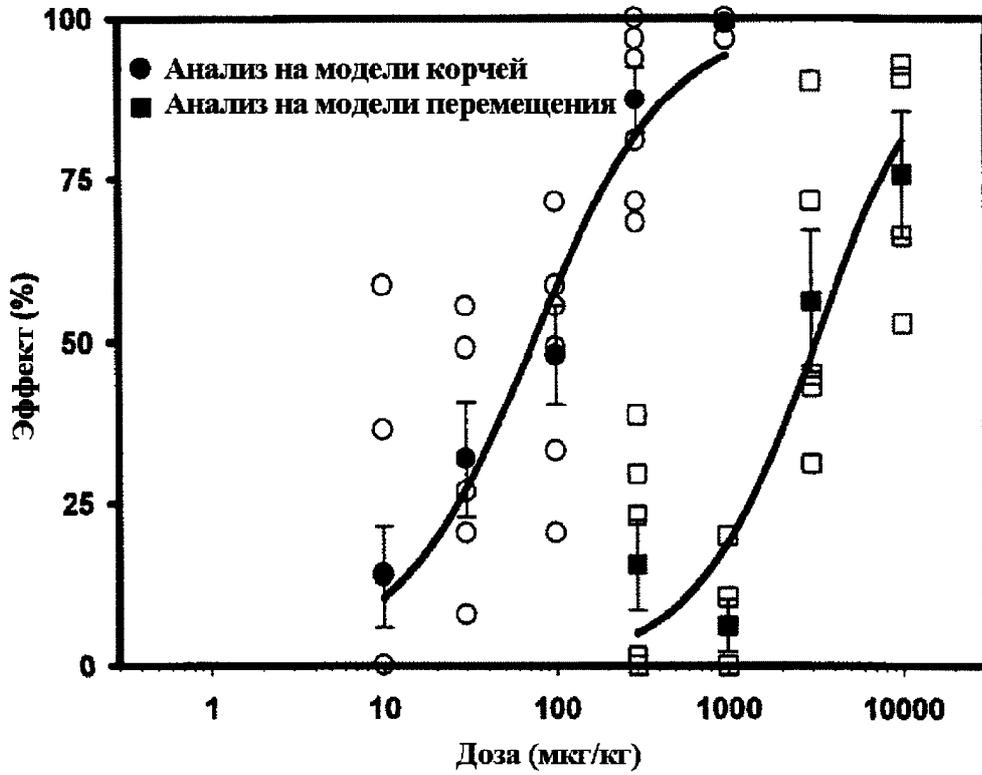
Фиг. 7



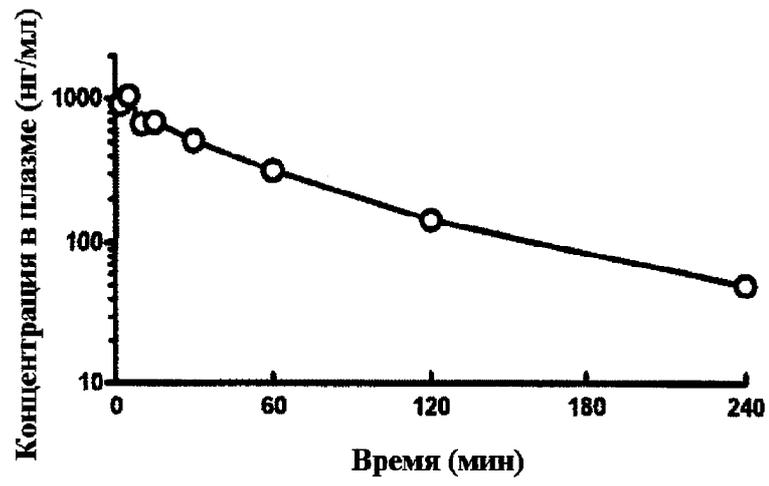
Фиг. 8



Фиг. 9



Фиг. 10



Фиг. 11