

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **201992226** (13) **A1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2020.02.12

(51) Int. Cl. *C07K 1/107* (2006.01)
C07K 14/58 (2006.01)
C07K 14/47 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2018.03.21

(54) АГОНИСТЫ NPRA, КОМПОЗИЦИИ И ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ

(31) 62/475,147

(32) 2017.03.22

(33) US

(86) PCT/US2018/023491

(87) WO 2018/175534 2018.09.27

(71) Заявитель:
ФАРМЕЙН КОРПОРЕЙШН (US)

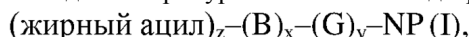
(72) Изобретатель:

**Кастилло Джерардо М., Нисимото-
Ашфилд Акико, Болотин Элайджа
(US)**

(74) Представитель:

Медведев В.Н. (RU)

(57) Настоящее изобретение раскрывает производное натрийуретического пептида формулы (I) и композиции, содержащие производное натрийуретического пептида формулы (I),



где z представляет собой 1, x представляет собой целое от 2 до 4 и y представляет собой 3; или z представляет собой 0, x представляет собой целое от 0 до 4 и y представляет собой целое от 1 до 3; жирный ацил содержит от 12 до 24 (например, от 12 до 18) атомов углерода; B представляет собой лизин или аргинин; G представляет собой глицин; NP представляет собой натрийуретический пептид; если присутствует $(\text{жирный ацил})_z$ - ковалентно связывают с N-концом в $(\text{B})_x$; $(\text{жирный ацил})_z-(\text{B})_x$ - ковалентно связывают с N-концом в $(\text{G})_y$; и $(\text{жирный ацил})_z-(\text{B})_x-(\text{G})_y$ - ковалентно связывают с N-концом в NP. Производное натрийуретического пептида в соответствии с раскрытием и его композиции можно использовать при лечении заболеваний, таких как гипертензия, сосудистый застой и заболевание сердца.

A1

201992226

201992226

A1

АГОНИСТЫ NPRA, КОМПОЗИЦИИ И ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ**ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА СВЯЗАННУЮ ЗАЯВКУ**

По данной заявке испрашивают приоритет предварительной заявки США № 62/475,147, поданной 22 марта 2017 года, описание которой включено в настоящее описание посредством ссылки в полном объеме.

ПРЕДПОСЫЛКИ

Увеличение циклического гуанозинмонофосфата (сGMP) *in vivo* имеет множество применений при различных гипертензиях, сосудистом застое или заболевании сердца у млекопитающих. Попытки повышать сGMP *in vivo* для того, чтобы лечить различные сердечнососудистые заболевания или усиливать сексуальную эффективность привели к использованию ингибиторов фосфодиэстераз 5, 6 и 9 (фосфодиэстеразы представляют собой ферменты, которые разрушают сGMP) (см., например, Keravis T, Lugnier C. *Br J Pharmacol.* 2012;165:1288–305) или соединений, которые повышают продуцирование сGMP, таких как нитроглицерин/нитраты и натрийуретические пептиды.

Предсердный натрийуретический пептид (ANP) и натрийуретический пептид головного мозга (BNP) действуют через натрийуретический рецептор А (NPRA) и натрийуретический пептид с-типа (CNP) действует через натрийуретический рецептор В (NPRB) (см., например, Silver MA, *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.*, 2006, том 15,14–21; Yoshibayashi M. et al., *Eur. J. Endocrinol.*, 1996, том 135, 265–268) для того, чтобы увеличивать внутриклеточный сGMP, что также отражается в определенной степени в увеличении сGMP крови. Когда лиганды натрийуретического рецептора связываются с натрийуретическими трансмембранными рецепторами, которые имеют внутриклеточный домен гуанилатциклазы, активируют активность гуанилатциклазы, что ведет к увеличенному внутриклеточному сGMP, проявлению различных физиологических активностей и увеличению сGMP крови.

Увеличение сGMP имеет положительные эффекты, оказываемые на гипертензию и/или застой сосудистого текучего вещества и/или заболевание сердца. Внутриклеточный сGMP широко известен в качестве внутриклеточного вторичного мессенджера, который отвечает за опосредование внеклеточного сигнала (от натрийуретического пептида, например, ANP, BNP, CNP, уродилатин и оксид азота (I)) во внутриклеточном действии. Это хорошо исследовано в отношении управления тонусом гладких мышц сосудов. В целом, известно, что увеличении внутриклеточного сGMP в сосудистых гладкомышечных клетках расслабляет гладкие мышцы и снижает кровяное давление.

ANP и BNP представляют собой известные медицинские средства для того, чтобы управлять кровяным давлением и нагрузкой сердца у пациентов с заболеванием сердца. ANP человека (hANP) используют в клинике в качестве терапевтического средства для острой сердечной недостаточности в Японии, а BNP используют в клинике в качестве терапевтического средства для застойной сердечной недостаточности в Соединенных

штатах. Медицинское использование существующих натрийуретических пептидов ограничено их коротким временем полужизни и ограниченной активностью, чтобы обеспечивать достаточный cGMP, и их обычно вводят посредством непрерывной внутривенной инфузии.

ANP, BNP и CNP представляют собой пептиды, имеющие циклическую структуру, необходимую для их активности, которая возможна благодаря присутствию дисульфидных связей. ANP представляет собой пептид из 28 аминокислот, продуцируемый и секретируемый клетками предсердия. Пептид проявляет диуретическое действие в почке и расслабляет и расширяет сосудистые гладкие мышцы в кровеносных сосудах. Кроме того, ANP антагонизирует действие ренин–ангиотензин–альдостероновой системы (RAAS) и вазопрессина. Эти действия всесторонне снижают нагрузку на сердце через снижение кровяного давления и объема текучих веществ организма. В действительности, секреция ANP способствует подъему давления наполнения предсердия при застойной сердечной недостаточности и т. д., и ANP облегчает симптомы застойной сердечной недостаточности через указанные выше действия.

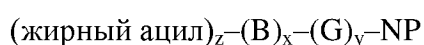
BNP представляет собой пептид из 32 аминокислот, который впервые обнаружен в головном мозге, но впоследствии обнаружены его продуцирование и секреция преимущественно в кардиомиоцитах. Секреция BNP возрастает у пациентов с сердечной недостаточностью, и BNP облегчает различные симптомы, ассоциированные с сердечной недостаточностью, через указанные выше действия.

ANP и BNP обладают различными физиологическими активностями помимо вазодилатирующего действия, кровяного давления и регуляции сосудистых текучих веществ через диуретическое действие. Например, сообщалось о действии ANP, оказываемом на индуцированное бактериальной инфекцией воспаление и ассоциированный отказ функции эндотелиального барьера (см., например, Xing J., et al., J. appl. Physiol., 2011, 110 (1), 213–224).

Существует необходимость в натрийуретических пептидах, обладающих увеличенным временем полужизни и активностью. Настоящее раскрытие стремится удовлетворить эту потребность и предусматривает дополнительные связанные преимущества. Например, настоящее раскрытие предусматривает новые композиции с к удивлению увеличенной активностью, как измеряют по увеличению cGMP.

КРАТКОЕ ИЗЛОЖЕНИЕ

Настоящее раскрытие предусматривает производное натрийуретического пептида формулы (I) или композицию, содержащую производное натрийуретического пептида формулы (I):



(I),

где:

z представляет собой 1, x представляет собой целое от 2 до 4 и y представляет собой 3; или

z представляет собой 0, x представляет собой целое от 0 до 4 и y представляет собой целое от 1 до 3;

жирный ацил содержит от 12 до 24 (например, от 12 до 18) атомов углерода;

B представляет собой лизин или аргинин;

G представляет собой глицин;

NP представляет собой натрийуретический пептид;

если присутствует, (жирный ацил)_z– ковалентно связывают с N–концом в (B)_x;

(жирный ацил)_z–(B)_x– ковалентно связывают с N–концом в (G)_y; и

(жирный ацил)_z–(B)_x–(G)_y– ковалентно связывают с N–концом в NP.

В одном из вариантов осуществления производное натрийуретического пептида или композиция, содержащая производное натрийуретического пептида, увеличивает уровень cGMP крови при парентеральном введении млекопитающему до уровня выше чем натрийуретический пептид NP при парентеральном введении млекопитающему в эквивалентной дозе (например, доза в моль/кг, доза в мг/кг или доза как в моль/кг, так и в мг/кг). Как используют в настоящем описании, поскольку производное добавления имеет более низкую дозу в моль/кг, когда дают в равной дозе в мг/кг, то если активность сравнима при одной и той же дозе в мг/кг, то ожидают, что производное добавления более активно в той же дозе в моль/кг.

NP обычно представляет собой родительский натрийуретический пептид, встречающийся в природе у живых организмов. NP можно выбирать из ANP человека (ID последовательности 1), ANP грызуна (ID последовательности 19), BNP человека (ID последовательности 41) и ANP человека (ID последовательности 57).

В одном из вариантов осуществления NP представляет собой ANP человека (ID последовательности 1).

В одном из вариантов осуществления B представляет собой лизин.

Производное натрийуретического пептида или композиция, содержащая производное натрийуретического пептида, в соответствии с раскрытием может содержать производное натрийуретического пептида формулы (II):

жирный ацил–(B)_x–(G)₃–NP

(II),

где:

жирный ацил имеет от 12 до 24 (например, от 12 до 18) атомов углерода;

B представляет собой лизин или аргинин (например, B представляет собой лизин);

x представляет собой 2–4;

G представляет собой глицин;

NP представляет собой натрийуретический пептид;

жирный ацил– ковалентно связывают с N–концом в (B)_x;

жирный ацил–(B)_x– ковалентно связывают с N–концом в (G)₃; и

жирный ацил–(B)_x–(G)₃– ковалентно связывают с N–концом в NP.

При введении млекопитающим, производное натрийуретического пептида или

композиция, содержащая производное натрийуретического пептида, обычно увеличивает cGMP крови до уровня выше чем соответствующий родительский NP при введении в эквивалентной дозе (например, доза в моль/кг, доза в мг/кг или доза как в моль/кг, так и в мг/кг).

В одном из вариантов осуществления x представляет собой 2. В одном из вариантов осуществления x представляет собой 3. В одном из вариантов осуществления x представляет собой 4.

В некоторых вариантах осуществления в жирном ациле $-(B)_x-(G)_3-NP$, $x=4$; NP необязательно выбирают из ID последовательности 1, 19, 41 и 57. Например, в некоторых вариантах осуществления В представляет собой лизин и NP представляет собой ID последовательности 1; В представляет собой лизин и NP представляет собой ID последовательности 19; В представляет собой лизин и NP представляет собой ID последовательности 41; и/или В представляет собой лизин и NP представляет собой ID последовательности 57.

В некоторых вариантах осуществления в жирном ациле $-(B)_x-(G)_3-NP$, $x=3$; NP необязательно выбирают из ID последовательности 1, 19, 41 и 57. Например, в некоторых вариантах осуществления В представляет собой лизин и NP представляет собой ID последовательности 1; В представляет собой лизин и NP представляет собой ID последовательности 19; В представляет собой лизин и NP представляет собой ID последовательности 41; и/или В представляет собой лизин и NP представляет собой ID последовательности 57.

В некоторых вариантах осуществления в жирном ациле $-(B)_x-(G)_3-NP$, $x=2$; NP необязательно выбирают из ID последовательности 1, 19, 41 и 57. Например, в некоторых вариантах осуществления В представляет собой лизин и NP представляет собой ID последовательности 1; В представляет собой лизин и NP представляет собой ID последовательности 19; В представляет собой лизин и NP представляет собой ID последовательности 41; и/или В представляет собой лизин и NP представляет собой ID последовательности 57.

В некоторых вариантах осуществления в жирном ациле $-(B)_x-(G)_3-NP$, $x=1$; NP необязательно выбирают из любой одной из ID последовательностей 1, 19, 41 и 57. Например, в некоторых вариантах осуществления В представляет собой лизин и NP представляет собой ID последовательности 1; В представляет собой лизин и NP представляет собой ID последовательности 19; В представляет собой лизин и NP представляет собой ID последовательности 41; и/или В представляет собой лизин и NP представляет собой ID последовательности 57.

В одном из вариантов осуществления жирный ацил содержит 18 атомов углерода.

В одном из вариантов осуществления $-(B)_x-(G)_3-$ выбирают из $-KKGGG-$, $-KKKGGG-$ и $-KKKKGGG-$.

В одном из вариантов осуществления производное натрийуретического пептида представляет собой то, что определено в одном из ID последовательности 9, ID

В одном из вариантов осуществления производное натрийуретического пептида представляет собой то, что определено в одном из ID последовательности 14, ID

последовательности 30, ID последовательности 52 и ID последовательности 68; или композиция, содержащая производное натрийуретического пептида, содержит производное натрийуретического пептида как определено в одном из ID последовательности 14, ID последовательности 30, ID последовательности 52 и ID последовательности 68.

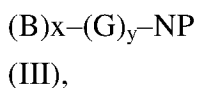
В одном из вариантов осуществления производное натрийуретического пептида представляет собой то, что определено в одном из ID последовательности 10, ID последовательности 30, ID последовательности 52 и ID последовательности 68; или композиция, содержащая производное натрийуретического пептида, содержит производное натрийуретического пептида как определено в одном из ID последовательности 10, ID последовательности 30, ID последовательности 52 и ID последовательности 68.

В одном из вариантов осуществления производное натрийуретического пептида представляет собой то, что определено в одном из ID последовательности 9, ID последовательности 10, ID последовательности 11, ID последовательности 14, ID последовательности 18, ID последовательности 56 и ID последовательности 72; или композиция, содержащая производное натрийуретического пептида, содержит производное натрийуретического пептида как определено в одном из ID последовательности 9, ID последовательности 10, ID последовательности 11, ID последовательности 14, ID последовательности 18, ID последовательности 56 и ID последовательности 72.

В одном из вариантов осуществления, производное натрийуретического пептида представляет собой то, что определено в одном из ID последовательности 73, ID последовательности 74, ID последовательности 79, ID последовательности 80, ID последовательности 81, ID последовательности 83, ID последовательности 84 и ID последовательности 85; или композиция, содержащая производное натрийуретического пептида, содержит производное натрийуретического пептида как определено в одном из ID последовательности 73, ID последовательности 74, ID последовательности 79, ID последовательности 80, ID последовательности 81, ID последовательности 83, ID последовательности 84 и ID последовательности 85.

В одном из вариантов осуществления производное натрийуретического пептида представляет собой то, что определено в одном из ID последовательности с 87 до 122; или композиция, содержащая производное натрийуретического пептида, содержит производное натрийуретического пептида как определено в одном из ID последовательности с 87 до 122.

Производное натрийуретического пептида в соответствии с раскрытием или композиция, содержащая производное натрийуретического пептида, может содержать производное натрийуретического пептида формулы (III):



где:

В представляет собой лизин или аргинин (например, В представляет собой лизин);

х представляет собой 0–4;

G представляет собой глицин;

у представляет собой 1–3;

NP представляет собой натрийуретический пептид; и

(В)_х–(G)_у– ковалентно связывают с N–концом в NP.

При введении млекопитающим, (В)_х–(G)_у–NP или композиция, содержащая производное натрийуретического пептида (В)_х–(G)_у–NP, может увеличивать сGMP крови до уровня выше чем соответствующий родительский NP при введении в эквивалентной дозе (например, доза в моль/кг, доза в мг/кг или доза как в моль/кг, так и в мг/кг).

В одном из вариантов осуществления х представляет собой 0. В одном из вариантов осуществления х представляет собой 1. В одном из вариантов осуществления х представляет собой 2. В одном из вариантов осуществления х представляет собой 3. В одном из вариантов осуществления х представляет собой 4. В одном из вариантов осуществления у представляет собой 1. В одном из вариантов осуществления у представляет собой 2. В одном из вариантов осуществления у представляет собой 3.

В некоторых вариантах осуществления в (В)_х–(G)_у–NP, х=0; и у необязательно представляет собой 1, 2 или 3; NP необязательно выбирают из ID последовательности 1, 19, 41 и 57. Например, NP имеет ID последовательности 1; NP имеет ID последовательности 19; NP имеет ID последовательности 41; или ID последовательности 57.

В некоторых вариантах осуществления в (В)_х–(G)_у–NP, у=3; В необязательно представляет собой лизин и х необязательно представляет собой 1, 2, 3 или 4; NP необязательно выбирают из ID последовательности 1, 19, 41 и 57. Например, NP имеет ID последовательности 1; NP имеет ID последовательности 19; NP имеет ID последовательности 41; или ID последовательности 57.

В одном из вариантов осуществления у представляет собой 3.

В одном из вариантов осуществления (В)_х–(G)_у– выбирают из G–, GG–, GGG–, KGGG– и KKKKGGG–.

В одном из вариантов осуществления производное натрийуретического пептида представляет собой то, что определено в одном из ID последовательности 2, ID последовательности 3, ID последовательности 4, ID последовательности 5, ID последовательности 8 и ID последовательности 44; или композиция, содержащая производное натрийуретического пептида, содержит производное натрийуретического пептида как определено в одном из ID последовательности 2, ID последовательности 3, ID последовательности 4, ID последовательности 5, ID последовательности 8 и ID последовательности 44.

Настоящее раскрытие дополнительно предусматривает фармацевтическую композицию, содержащую производное натрийуретического пептида, как определено в

настоящем описании, и эксципиент.

Фармацевтическая композиция может содержать, состоять по существу из или состоять из одного или нескольких производных натрийуретического пептида в соответствии с раскрытием и эксципиента.

В одном из вариантов осуществления фармацевтическая композиция предназначена для парентерального введения при дозе производных натрийуретического пептида меньше чем 1,5 мг/кг массы тела в сутки или при дозе производных натрийуретического пептида меньше чем 0,3 мг/кг массы тела в сутки, чтобы увеличивать сGMP для лечения заболевания. В некоторых вариантах осуществления заболевание выбирают из гипертензии, сосудистого застоя и заболевания сердца. В определенных вариантах осуществления заболевание представляет собой заболевание сердца.

Настоящее раскрытие также предусматривает производное натрийуретического пептида в соответствии с раскрытием или композицию, содержащую производное натрийуретического пептида в соответствии с раскрытием, для использования в лечении заболевания. Заболевание можно выбирать из гипертензии, сосудистого застоя и заболевания сердца. В одном из вариантов осуществления заболевание представляет собой заболевание сердца.

В одном из вариантов осуществления лечение заболевания включает парентеральное введение пациенту производного натрийуретического пептида в соответствии с раскрытием или композиции, содержащей производное натрийуретического пептида в соответствии с раскрытием, при дозе меньше чем 1,5 мг/кг массы тела в сутки.

Настоящее раскрытие дополнительно предусматривает способ лечения заболевания у пациента, способ включает парентеральное введение пациенту производного натрийуретического пептида в соответствии с раскрытием или композиции, содержащей производное натрийуретического пептида в соответствии с раскрытием.

Способ может включать парентеральное введение фармацевтической композиции, содержащей, состоящей по существу из или состоящей из одного или нескольких производных натрийуретического пептида в соответствии с раскрытием.

Производное натрийуретического пептида или композицию, содержащую производное натрийуретического пептида, можно вводить парентерально при дозе меньше чем 1,5 мг/кг массы тела в сутки или при дозе меньше чем 0,3 мг/кг массы тела в сутки для того, чтобы увеличивать сGMP крови у пациента. В некоторых вариантах осуществления заболевание выбирают из гипертензии, сосудистого застоя и заболевания сердца. В определенных вариантах осуществления заболевание представляет собой заболевание сердца.

Настоящее раскрытие дополнительно предусматривает способ увеличения сGMP крови у пациента, способ включает парентеральное введение пациенту, нуждающемуся в этом, производного натрийуретического пептида в соответствии с раскрытием, или композиции, содержащей производное натрийуретического пептида в соответствии с

раскрытием.

Производное натрийуретического пептида или композицию, содержащую производное натрийуретического пептида, можно вводить парентерально при дозе меньше чем 1,5 мг/кг массы тела в сутки или при дозе меньше чем 0,3 мг/кг массы тела в сутки.

Настоящее раскрытие также предусматривает использование производного натрийуретического пептида в соответствии с раскрытием или композиции, содержащей производное натрийуретического пептида в соответствии с раскрытием, для изготовления лекарственного средства для лечения заболевания. Заболевание можно выбирать из гипертензии, сосудистого застоя и заболевания сердца.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ

Настоящее изобретение относится к производным натрийуретического пептида или их композициям, которые обладают неожиданно превосходящей способностью увеличивать cGMP крови и/или внутриклеточный cGMP *in vivo* по сравнению с нативным пептидом, таким как предсердный натрийуретический пептид (ANP) или натрийуретический пептид головного мозга (BNP) или натрийуретический пептид с-типа (CNP). Как описано выше, ANP, BNP и CNP представляют собой пептиды, обладающие циклической структурой, необходимой для их активности, которую делают возможной благодаря присутствию дисульфидных связей. Производные натрийуретического пептида по настоящему раскрытию также могут иметь внутримолекулярные дисульфидные связи (между двумя остатками цистеина), что ведет к циклической структуре. Внутримолекулярные дисульфидные связи можно формировать в разбавленном растворе самопроизвольно или с использованием подходящего окислителя. Формирование внутримолекулярного дисульфидного мостика можно подтвердить посредством анализа HPLC/MS.

Как используют в настоящем описании, производное добавления или производное удлинения относится к пептидному производному, где основная аминокислотная последовательность остова для пептида остается той же, но добавление дополнительных функциональных групп и/или аминокислоты к основной аминокислотной последовательности с использованием одного или нескольких реакционноспособных фрагментов в основной аминокислотной последовательности дает производное добавления или производное удлинения. Производное добавления или производное удлинения отличается от производного усечения и/или замены пептида, где одну или несколько аминокислот в основной аминокислотной последовательности остова пептида удаляют и/или заменяют на другие функциональные группы и/или аминокислоты, соответственно.

Полагают, что изменение аминокислотной последовательности пептидов может иметь непредсказуемые последствия, оказываемые на их биологическую активность, и изменения, которые сохраняют активность пептида являются неочевидными и непредсказуемыми. В настоящем раскрытии описаны конкретные структурные изменения

встречаемого в природе натрийуретического пептида (NP). Как используют в настоящем описании, встречаемый в природе натрийуретический пептид обозначают на всем протяжении как «родительский пептид» или «родительский NP», неограничивающие примеры которого представляют собой SEQ ID 1 (ANP человека), 19 (ANP грызуна), 41 (BNP человека) и 57 (CNP человека). В кратком изложении, конкретные изменения родительского NP вели к удивительно неожиданному усилению или увеличенной силе по сравнению с родительским NP *in vivo*, как измеряют по ответу cGMP крови, тогда как другие изменения вели к утрате активности.

Как используют в настоящем описании, термин «сила» относится к увеличению cGMP крови непосредственно (0–2 часа) после введения болюса относительно родительского нативного пептида в равной дозе.

Как используют в настоящем описании, термин «кажущееся истощение рецептора» является синонимом «истощения рецептора» и относится к утрате способности пептида иметь «замедленный эффект», наблюдаемый как повышенный cGMP крови в более позднее время (т. е. 6 часов и позже).

Как используют в настоящем описании, термин «замедленный эффект» является синонимом «замедленного повышения cGMP» и относится к способности натрийуретического пептида поддерживать повышенный уровень cGMP крови в течение по меньшей мере 6 часов после одного введения болюса пептида.

Как используют в настоящем описании, термин «состоящий по существу из» или «состоит по существу из» относится к композиции, содержащей перечисленные компоненты, а также другие компоненты, при условии, что другие компоненты существенно не влияют на важные характеристики композиции (например, биодоступность, фармакокинетика, токсичность и/или индукция супрессии активности активного ингредиента).

Как используют в настоящем описании, при описании размеров, измерения, длительности, количества и т. д., термин «приблизительно» обозначает возможное различие в $\pm 5\%$.

Как используют в настоящем описании, термин «жирный ацил» относится к любой ацильной группе, происходящей из жирных кислот, включая насыщенные и ненасыщенные жирные кислоты. Например, типичная жирная ацильная группа, происходящая из ненасыщенных жирных кислот, имеет формулу $H_{2a-b}(C)_a(O)-$, где «a» может представлять собой от 12 до 24 (например, от 14 до 24, от 16 до 24, от 18 до 24, от 20 до 24, от 22 до 24, от 12 до 22, от 12 до 20, от 12 до 18, от 12 до 16, от 12 до 14, 12, 14, 16, 18, 20, 22, или 24), и «b» может представлять собой 1, 3, 5 или 7 (например, 1, 3 или 5; 1 или 3; или 1). Эта формула представляет жирный ацил, происходящий из насыщенных разветвленных и неразветвленных жирных кислот и жирной кислоты с уровнем ненасыщенности от нуля (т. е. $b=1$) до 3 (т. е. b представляет собой 3, когда углеродная цепь жирной кислоты содержит одну двойную связь, b представляет собой 5, когда углеродная цепь жирной кислоты содержит две двойные связи, и b представляет собой 7

когда углеродная цепь жирной кислоты содержит 3 двойные связи). Например, производное натрийуретического пептида формулы (I) может иметь формулу $H_{2a-b}(C)_a(O)-(B)_x-(G)_3-NP$, где «a» составляет от 12 до 24 и «b» может составлять 1, 3, 5 или 7. В некоторых вариантах осуществления типичная жирная ацильная группа, происходящая из насыщенных жирных кислот, имеет формулу $CH_3(CH_2)_nC(O)-$, содержащую от 12 до 24 атомов углерода (т. е. когда n составляет целое от 10 до 22). Например, производное натрийуретического пептида формулы (I) может быть формулы $CH_3(CH_2)_nC(O)-(B)_x-(G)_3-NP$, где n составляет от 10 до 22 (например, от 12 до 22, от 14 до 22, от 16 до 22, от 18 до 22, от 20 до 22, от 10 до 20, от 10 до 18, от 10 до 16, от 10 до 14, от 10 до 12, 10, 12, 14, 16, 18, 20 или 22). В некоторых вариантах осуществления n составляет от 10 до 14, от 12 до 16, от 14 до 18, от 16 до 20, от 18 до 22 или от 14 до 16. В некоторых вариантах осуществления жирный ацил содержит 12 или 18 атомов углерода (т. е. n составляет 10 или 16). В определенных вариантах осуществления жирный ацил содержит 14 или 20 атомов углерода (т. е. n составляет 12 или 18). В определенных вариантах осуществления жирный ацил содержит 16 или 22 атомов углерода (т. е. n составляет 14 или 20). В определенном варианте осуществления жирный ацил содержит 18 или 24 атомов углерода (т. е. n составляет 16 или 22).

В настоящем описании, буквы во всех раскрытых последовательностях представляют стандартные однобуквенные коды аминокислот для встречаемых в природе аминокислот, где коды заглавными буквами обозначают L-аминокислоты, а строчные буквы обозначают D-аминокислоты. Например, глицин можно представлять с помощью G, лизин можно представлять с помощью K и аргинин можно представлять с помощью R.

При использовании аллометрического масштабирования с экспонентой 0,7 (т. е. доза у другого биологического вида=доза мыши/((масса мыши/усредненная масса другого биологического вида)^{0,7})), 15 мг/кг у мышей эквивалентно приблизительно 7,5 мг/кг дозы крысы, приблизительно 2,5 мг/кг дозы собаки и 1,5 мг/кг дозы человека. Как используют в настоящем описании, 15 мг/кг в дозе мыши, как представлено в релевантных примерах данных, понимают как эквивалент приблизительно 7,5 мг/кг дозы крысы, которая является эквивалентом приблизительно 2,5 мг/кг дозы собаки, которая является эквивалентом приблизительно 1,5 мг/кг дозы человека. Дозу 1,5 мг/кг и 0,3 мг/кг в Кратком изложении и Формуле изобретения интерпретируют как дозу человека, если не указано иное.

КОМПОЗИЦИИ

Настоящее раскрытие предусматривает производное натрийуретического пептида формулы (I) или его композиции, как определено в настоящем описании.

В одном из вариантов осуществления в формуле (I) z представляет собой 1, x представляет собой 3 или 4 и y представляет собой 3, и B представляет собой лизин. В формуле (I), NP может представлять собой ANP человека (ID последовательности 1). В формуле (I), жирный ацил может содержать 12, 18, 20, 22 или 24 атомов углерода.

Настоящее раскрытие предусматривает производное натрийуретического пептида формулы (II) как определено в настоящем описании.

В одном из вариантов осуществления в формуле (II) x представляет собой 2, 3 или 4 и B представляет собой лизин. В формуле (II), NP может представлять собой ANP человека (ID последовательности 1). В формуле (II), жирный ацил может содержать 12 или 18 атомов углерода. Альтернативно, жирный ацил может содержать от 14 или 18 атомов углерода, от 16 до 18 атомов углерода или от 20 или 24 атома углерода.

В одном из вариантов осуществления производное натрийуретического пептида представляет собой $sGMP$ -увеличивающее производное натрийуретического пептида формулы жирный ацил- $(B)_x-(G)_3-NP$, где:

жирный ацил имеет от 12 до 24 (например, от 12 до 18) атомов углерода;

B представляет собой лизин или аргинин (например, B представляет собой лизин);

x представляет собой 2–4;

G представляет собой глицин;

NP представляет собой родительский натрийуретический пептид, встречающийся в природе у живого организма;

жирный ацил- ковалентно связывают с N -концом в $(B)_x$;

жирный ацил- $(B)_x$ - ковалентно связывают с N -концом в $(G)_3$;

жирный ацил- $(B)_x-(G)_3$ - ковалентно связывают с N -концом в NP ; и

при введении млекопитающим, производное натрийуретического пептида повышает $sGMP$ крови до уровня выше чем соответствующий родительский NP при введении в эквивалентной дозе (например, доза в моль/кг, доза в мг/кг или доза как в моль/кг, так и в мг/кг).

В некоторых вариантах осуществления в формуле жирный ацил- $(B)_x-(G)_3-NP$, $x=4$; NP необязательно выбирают из ID последовательности 1, 19, 41 и 57. Например, в некоторых вариантах осуществления B представляет собой лизин и NP представляет собой ID последовательности 1; B представляет собой лизин и NP представляет собой ID последовательности 19; B представляет собой лизин и NP представляет собой ID последовательности 41; и/или B представляет собой лизин и NP представляет собой ID последовательности 57.

В некоторых вариантах осуществления в формуле жирный ацил- $(B)_x-(G)_3-NP$, $x=3$; NP необязательно выбирают из ID последовательности 1, 19, 41 и 57. Например, в некоторых вариантах осуществления B представляет собой лизин и NP представляет собой ID последовательности 1; B представляет собой лизин и NP представляет собой ID последовательности 19; B представляет собой лизин и NP представляет собой ID последовательности 41; и/или B представляет собой лизин и NP представляет собой ID последовательности 57.

В некоторых вариантах осуществления в формуле жирный ацил- $(B)_x-(G)_3-NP$, $x=2$; NP необязательно выбирают из ID последовательности 1, 19, 41 и 57. Например, в некоторых вариантах осуществления B представляет собой лизин и NP представляет собой ID последовательности 1; B представляет собой лизин и NP представляет собой ID последовательности 19; B представляет собой лизин и NP представляет собой ID

последовательности 41; и/или В представляет собой лизин и NP представляет собой ID последовательности 57.

В некоторых вариантах осуществления в формуле жирный ацил-(B)_x-(G)₃-NP, x=1; NP необязательно выбирают из любой одной из ID последовательностей 1, 19, 41 и 57. Например, в некоторых вариантах осуществления В представляет собой лизин и NP представляет собой ID последовательности 1; В представляет собой лизин и NP представляет собой ID последовательности 19; В представляет собой лизин и NP представляет собой ID последовательности 41; и/или В представляет собой лизин и NP представляет собой ID последовательности 57.

Настоящее раскрытие предусматривает производное натрийуретического пептида формулы (III) как определено в настоящем описании.

В одном из вариантов осуществления в формуле (III), x представляет собой 0, 1, 2, 3 или 4 и В представляет собой лизин. Например, в формуле (III), x может составлять от 2 до 4, например, 3. В формуле (III), NP может представлять собой ANP человека (ID последовательности 1).

В одном из вариантов осуществления производное натрийуретического пептида представляет собой cGMP-увеличивающее производное натрийуретического пептида формулы (B)_x-(G)_y-NP, где:

В представляет собой лизин или аргинин (например, В представляет собой лизин);

x представляет собой 0–4;

G представляет собой глицин;

y представляет собой 1–3;

NP представляет собой родительский натрийуретический пептид, встречающийся в природе у живого организма;

(B)_x-(G)_y– ковалентно связывают с N-концом в NP; и

при введении млекопитающим, (B)_x-(G)_y-NP повышает cGMP крови до уровня выше чем соответствующий родительский NP при введении в эквивалентной дозе (например, доза в моль/кг, доза в мг/кг или доза как в моль/кг, так и в мг/кг).

В некоторых вариантах осуществления в формуле (B)_x-(G)_y-NP, x=0; и y необязательно представляет собой 1, 2 или 3; NP необязательно выбирают из ID последовательности 1, 19, 41 и 57. Например, NP имеет ID последовательности 1; NP имеет ID последовательности 19; NP имеет ID последовательности 41; или ID последовательности 57.

В некоторых вариантах осуществления в формуле (B)_x-(G)_y-NP, y=3; В необязательно представляет собой лизин, и x необязательно представляет собой 1, 2, 3 или 4; NP необязательно выбирают из ID последовательности 1, 19, 41 и 57. Например, NP имеет ID последовательности 1; NP имеет ID последовательности 19; NP имеет ID последовательности 41; или ID последовательности 57.

В некоторых вариантах осуществления, когда В представляет собой лизин или аргинин, каждый «В» в (B)_x может представлять собой одно и то же или различное.

Например, (B)x может представлять собой K, R, RR, KK, KR, RK, RRR, KKK, KRR, RKR, RRK, KKR, KRK, RKK, RRRR, KKKK, KRRR, RKRR, RRKR, RRRK, KKRR, RKKR, RRKK, KRRK, KKKR, RKKK, KRKK, KKRK, KKKR, RRRR или KKKK.

В некоторых вариантах осуществления производное натрийуретического пептида в соответствии с раскрытием может представлять собой производное натрийуретического пептида как определено в любом одном из ID последовательностей с 2 до 18, с 20 до 34, с 42 до 56 и с 58 до 72.

В некоторых вариантах осуществления производное натрийуретического пептида в соответствии с раскрытием может представлять собой производное натрийуретического пептида как определено в любом одном из ID последовательностей с 73 до 86, с 87 до 95, с 96 до 104, с 105 до 113 и с 114 до 122.

В одном из вариантов осуществления производное натрийуретического пептида представляет собой то, что определено в одном из ID последовательности 9, ID последовательности 10, ID последовательности 11, ID последовательности 14, ID последовательности 18, ID последовательности 56 и ID последовательности 72.

В одном из вариантов осуществления производное натрийуретического пептида представляет собой то, что определено в одном из ID последовательности 2, ID последовательности 3, ID последовательности 4, ID последовательности 5, ID последовательности 8 и ID последовательности 44.

В некоторых вариантах осуществления сGMP-увеличивающие производные натрийуретического пептида, имеющие формулу жирный ацил-(B)x-(G)3-NP или (B)x-(G)y-NP, можно в общем представлять формулой X-пептид.

В одном из аспектов, в настоящем описании предоставлены сGMP-увеличивающие производные натрийуретического пептида, имеющие формулу X-пептид, или их композиции, где фрагмент пептида выбирают из (a) ANP, (b) BNP и (c) CNP; и X выбирают из G, GG, GGG, BGGG, BBGGG, BBBGGG и BBBBGGG, прикрепляемых к N-концу фрагмента пептида. В некоторых вариантах осуществления в сGMP-увеличивающих производных натрийуретического пептида формулы X-пептид, фрагмент пептида выбирают из (a) ANP, (b) BNP и (c) CNP и X выбирают из GG, GGG, BGGG, BBGGG, BBBGGG и BBBBGGG, прикрепляемых к N-концу фрагмента пептида. В некоторых вариантах осуществления в сGMP-увеличивающих производных натрийуретического пептида формулы X-пептид, фрагмент пептида выбирают из (a) ANP, (b) BNP и (c) CNP и X выбирают из GGG, BGGG, BBGGG, BBBGGG и BBBBGGG, прикрепляемых к N-концу фрагмента пептида. В некоторых вариантах осуществления в сGMP-увеличивающих производных натрийуретического пептида формулы X-пептид, фрагмент пептида выбирают из (a) ANP, (b) BNP и (c) CNP и X выбирают из BGGG, BBGGG, BBBGGG и BBBBGGG, прикрепляемых к N-концу фрагмента пептида. В некоторых вариантах осуществления в сGMP-увеличивающих производных натрийуретического пептида формулы X-пептид, фрагмент пептида выбирают из (a) ANP, (b) BNP и (c) CNP и X выбирают из BBGGG, BBBGGG и BBBBGGG, прикрепляемых к N-

концу фрагмента пептида. В некоторых вариантах осуществления в сGMP-увеличивающих производных натрийуретического пептида формулы X-пептид, фрагмент пептида выбирают из (a) ANP, (b) BNP и (c) CNP и X выбирают из BBBGGG и BBBBGGG, прикрепляемых к N-концу фрагмента пептида. В некоторых вариантах осуществления в сGMP-увеличивающих производных натрийуретического пептида формулы X-пептид, фрагмент пептида выбирают из (a) ANP, (b) BNP и (c) CNP и X представляет собой BBBBGGG, прикрепляемый к N-концу фрагмента пептида. В указанных выше вариантах осуществления для сGMP-увеличивающих производных натрийуретического пептида формулы X-пептид, последняя G представляет собой глицин и В представляет собой лизин или аргинин. В некоторых вариантах осуществления в любом из указанных выше вариантов осуществления для сGMP-увеличивающих производных натрийуретического пептида формулы X-пептид, последняя G представляет собой глицин и В представляет собой лизин (см., например, SEQ ID №№ 5–8, 21–26, 45–48 и 61–64). сGMP-увеличивающие производных натрийуретического пептида формулы X-пептид могут увеличивать уровень сGMP крови после введения млекопитающим при уровне, который схож или выше чем их родительский натрийуретический пептид (ANP, BNP или CNP). В некоторых вариантах осуществления сGMP-увеличивающие производные натрийуретического пептида формулы X-пептид увеличивают уровень сGMP крови после введения млекопитающим при уровне, который выше чем их родительский натрийуретический пептид (ANP, BNP или CNP). Родительский натрийуретический пептид ANP, BNP и CNP может иметь последовательности, встречающиеся в природе у позвоночных животных, или более конкретно встречающийся у млекопитающих натрийуретических пептид (например, SEQ ID 1, 19, 41 или 57).

В другом аспекте в настоящем описании предоставлены сGMP-увеличивающие производные натрийуретического пептида, имеющие формулу X-пептид, или их композиции, где фрагмент пептида выбирают из (a) ANP, (b) BNP и (c) CNP и X выбирают из $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{COKKKKGGG}$, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{COKKKKGGG}$, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COKKKKGGG}$ и $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COKKKKGGG}$, прикрепляемых к N-концу фрагмента пептида. В некоторых вариантах осуществления в сGMP-увеличивающих производных натрийуретического пептида формулы X-пептид, фрагмент пептида выбирают из (a) ANP, (b) BNP и (c) CNP и X выбирают из $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{COKKKKGGG}$ и $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COKKKKGGG}$, прикрепляемых к N-концу фрагмента пептида. В некоторых вариантах осуществления в сGMP-увеличивающих производных натрийуретического пептида формулы X-пептид, фрагмент пептида выбирают из (a) ANP, (b) BNP и (c) CNP и X представляет собой $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COKKKKGGG}$, прикрепляемый к N-концу фрагмента пептида. В указанных выше вариантах осуществления для сGMP-увеличивающих производных натрийуретического пептида формулы X-пептид, последняя G представляет собой глицин, К представляет собой лизин, и группы $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{[10, 12, 14 \text{ или } 16]}\text{CO}$ представляют собой стандартную химическую формулу для алкилкарбонила и нижний индекс [10, 12, 14 или 16] представляет число групп CH_2 в цепи алкила. сGMP-увеличивающие

производные натрийуретического пептида формулы X–пептид могут увеличивать уровень cGMP крови после введения млекопитающим при уровне, который схож или выше чем их родительский натрийуретический пептид (ANP, BNP или CNP). В некоторых вариантах осуществления cGMP–увеличивающие производные натрийуретического пептида формулы X–пептид увеличивают уровень cGMP крови после введения млекопитающим при уровне, который выше чем их родительский натрийуретический пептид (ANP, BNP или CNP). Родительский натрийуретический пептид ANP, BNP и CNP может иметь последовательности, встречающиеся в природе у позвоночных животных, или более конкретно встречающийся у млекопитающих натрийуретический пептид (например, SEQ ID 1, 19, 41 или 57).

В еще одном аспекте в настоящем описании предоставлены cGMP–увеличивающие производные натрийуретического пептида, имеющие формулу X–пептид, или их композиции, где фрагмент пептида выбирают из (a) ANP, (b) BNP и (c) CNP и X выбирают из $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{CORRRRGGG}$, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{CORRRRGGG}$, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{CORRRRGGG}$ и $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{CORRRRGGG}$, прикрепляемых к N–концу фрагмента пептида. В некоторых вариантах осуществления в cGMP–увеличивающих производных натрийуретического пептида формулы X–пептид, фрагмент пептида выбирают из (a) ANP, (b) BNP и (c) CNP и X выбирают из $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{CORRRRGGG}$ и $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{CORRRRGGG}$, прикрепляемых к N–концу фрагмента пептида. В некоторых вариантах осуществления в cGMP–увеличивающих производных натрийуретического пептида формулы X–пептид, фрагмент пептида выбирают из (a) ANP, (b) BNP и (c) CNP и X представляет собой $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{CORRRRGGG}$, прикрепляемый к N–концу фрагмента пептида. В указанных выше вариантах осуществления для cGMP–увеличивающих производных натрийуретического пептида формулы X–пептид, последняя G представляет собой глицин, R представляет собой аргинин, и группы $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{[10, 12, 14 \text{ или } 16]}\text{CO}$ представляют собой стандартную химическую формулу для алкилкарбонила и [10, 12, 14 или 16] представляет число групп CH_2 в цепи алкила. cGMP–увеличивающие производные натрийуретического пептида формулы X–пептид могут увеличивать уровень cGMP крови после введения млекопитающим при уровне, который схож или выше чем их родительский натрийуретический пептид (ANP, BNP или CNP). В некоторых вариантах осуществления cGMP–увеличивающие производные натрийуретического пептида формулы X–пептид увеличивают уровень cGMP крови после введения млекопитающим при уровне, который выше чем их родительский натрийуретический пептид (ANP, BNP или CNP). Родительский натрийуретический пептид ANP, BNP и CNP может иметь последовательности, встречающиеся в природе у позвоночных животных, или более конкретно встречающийся у млекопитающих натрийуретический пептид (например, SEQ ID 1, 19, 41 или 57).

В некоторых вариантах осуществления в настоящем описании предоставлены cGMP–увеличивающие производные натрийуретического пептида, имеющие формулу X–пептид; или композиция, содержащая, состоящая по существу из или состоящая из cGMP–

увеличивающих производных натрийуретического пептида, имеющих формулу X-пептид; где фрагмент пептида представляет собой ANP, BNP или CNP; и X представляет собой GG (G=глицин), прикрепляемый к N-концу фрагмента пептида. В некоторых вариантах осуществления фрагмент пептида представляет собой ANP. В некоторых вариантах осуществления фрагмент пептида представляет собой BNP. В некоторых вариантах осуществления фрагмент пептида представляет собой CNP. X-пептид может увеличивать уровень cGMP крови после введения млекопитающим при уровне, который схож или выше чем (например, выше чем) их родительский натрийуретический пептид. Например, когда X-пептид представляет собой ID последовательности 3, X-пептид увеличивает уровень cGMP крови после введения млекопитающим при уровне, который схож или выше чем (например, выше чем) их родительский натрийуретический пептид ANP SLRRSSCFGGRMDRIGASGLGCNSFRY (ID последовательности 1). В качестве другого примера, X-пептид представляет собой ID последовательности 21, X-пептид увеличивает уровень cGMP крови после введения млекопитающим при уровне, который схож или выше чем их родительский натрийуретический пептид ANP SLRRSSCFGGRIDRIGASGLGCNSFRY (ID последовательности 1). В качестве примера, когда X-пептид представляет собой ID последовательности 43, X-пептид увеличивает уровень cGMP крови после введения млекопитающим при уровне, который схож или выше чем (например, выше чем) их родительский натрийуретический пептид BNP SPKMVQSGSGCFGRKMDRISSSSGLGCKVLRRH (ID последовательности 41). В качестве примера, когда X-пептид представляет собой ID последовательности 59, X-пептид увеличивает уровень cGMP крови после введения млекопитающим при уровне, который схож или выше чем (например, выше чем) их родительский натрийуретический пептид CNP GLSKGCFGLKLDRIGSMSGLGC (ID последовательности 57).

В некоторых вариантах осуществления в настоящем описании предоставлены cGMP-увеличивающие производные натрийуретического пептида, имеющие формулу X-пептид; или композиция, содержащая, состоящая по существу из или состоящая из cGMP-увеличивающих производных натрийуретического пептида, имеющих формулу X-пептид; где фрагмент пептида представляет собой ANP, BNP или CNP; и X представляет собой G (глицин), прикрепляемый к N-концу фрагмента пептида. В некоторых вариантах осуществления фрагмент пептида представляет собой ANP. В некоторых вариантах осуществления фрагмент пептида представляет собой BNP. В некоторых вариантах осуществления фрагмент пептида представляет собой CNP. X-пептид может увеличивать уровень cGMP крови после введения млекопитающим при уровне, который схож или выше чем (например, выше чем) их родительский натрийуретический пептид. В качестве примера, когда X-пептид представляет собой ID последовательности 2, X-пептид увеличивает уровень cGMP крови после введения млекопитающим при уровне, который схож или выше чем (например, выше чем) их родительский натрийуретический пептид ANP SLRRSSCFGGRMDRIGASGLGCNSFRY (ID последовательности 1). В качестве другого примера, когда X-пептид представляет собой ID последовательности 20, X-

пептид увеличивает уровень cGMP крови после введения млекопитающим при уровне, который схож или выше чем (например, выше чем) их родительский натрийуретический пептид ANP SLRRSSCFGGRIDRIGASGLGCNSFRY (ID последовательности 19). В качестве примера, когда X-пептид представляет собой ID последовательности 42, X-пептид увеличивает уровень cGMP крови после введения млекопитающим при уровне, который схож или выше чем (например, выше чем) их родительский натрийуретический пептид BNP SPKMOVQSGCFGRKMDRISSSSGLGCKVLRNH (ID последовательности 41). В качестве примера, когда X-пептид представляет собой ID последовательности 58, X-пептид увеличивает уровень cGMP крови после введения млекопитающим при уровне, который схож или выше чем (например, выше чем) их родительский натрийуретический пептид CNP GLSKGCFGLKLDRISSMSGLGC (ID последовательности 57).

В некоторых вариантах осуществления в настоящем описании предоставлены cGMP-увеличивающие производные натрийуретического пептида, имеющие формулу X-пептид; или композиция, содержащая, состоящая по существу из или состоящая из cGMP-увеличивающих производных натрийуретического пептида, имеющих формулу X-пептид; где фрагмент пептида представляет собой ANP, BNP или CNP; и X представляет собой GGG (G=глицин), прикрепляемый к N-концу фрагмента пептида. В некоторых вариантах осуществления фрагмент пептида представляет собой BNP. В некоторых вариантах осуществления фрагмент пептида представляет собой CNP. X-пептид может увеличивать уровень cGMP крови после введения млекопитающим при уровне, который схож или выше чем (например, выше чем) их родительский натрийуретический пептид. В качестве примера, когда X-пептид представляет собой ID последовательности 4, X-пептид увеличивает уровень cGMP крови после введения млекопитающим при уровне, который схож или выше чем (например, выше чем) их родительский натрийуретический пептид ANP SLRRSSCFGGRMDRIGASGLGCNSFRY (ID последовательности 1). В качестве примера, когда X-пептид представляет собой ID последовательности 22, X-пептид увеличивает уровень cGMP крови после введения млекопитающим при уровне, который схож или выше чем (например, выше чем) их родительский натрийуретический пептид ANP SLRRSSCFGGRIDRIGASGLGCNSFRY (ID последовательности 19). В качестве примера, когда X-пептид представляет собой ID последовательности 44, X-пептид увеличивает уровень cGMP крови после введения млекопитающим при уровне, который схож или выше чем (например, выше чем) их родительский натрийуретический пептид BNP SPKMOVQSGCFGRKMDRISSSSGLGCKVLRNH (ID последовательности 41). В качестве другого примера, когда X-пептид представляет собой ID последовательности 60, X-пептид увеличивает уровень cGMP крови после введения млекопитающим при уровне, который схож или выше чем (например, выше чем) их родительский натрийуретический пептид CNP GLSKGCFGLKLDRISSMSGLGC (ID последовательности 57).

В некоторых вариантах осуществления в настоящем описании предоставлены cGMP-увеличивающие производные натрийуретического пептида, имеющие формулу X-пептид; или композиция, содержащая, состоящая по существу из или состоящая из cGMP-

увеличивающих производных натрийуретического пептида, имеющих формулу X-пептид; где фрагмент пептида представляет собой ANP, BNP или CNP; и X представляет собой KGGG (K=лизин, G=глицин), прикрепляемый к N-концу фрагмента пептида. В некоторых вариантах осуществления фрагмент пептида представляет собой BNP. В некоторых вариантах осуществления фрагмент пептида представляет собой CNP. X-пептид может увеличивать уровень cGMP крови после введения млекопитающим при уровне, который схож или выше чем (например, выше чем) их родительский натрийуретический пептид. В качестве примера, когда X-пептид представляет собой ID последовательности 5, X-пептид увеличивает уровень cGMP крови после введения млекопитающим при уровне, который схож или выше чем (например, выше чем) их родительский натрийуретический пептид ANP SLRRSSCFGGRMDRIGAQSGLGCNSFRY (ID последовательности 1). В качестве примера, когда X-пептид представляет собой ID последовательности 23, X-пептид увеличивает уровень cGMP крови после введения млекопитающим при уровне, который схож или выше чем (например, выше чем) их родительский натрийуретический пептид ANP SLRRSSCFGGRIDRIGAQSGLGCNSFRY (ID последовательности 19). В качестве примера, когда X-пептид представляет собой ID последовательности 45, X-пептид увеличивает уровень cGMP крови после введения млекопитающим при уровне, который схож или выше чем (например, выше чем) их родительский натрийуретический пептид BNP SPKMVQSGCFGRKMDRISSSSGLGCKVLRRH (ID последовательности 41). В качестве другого примера, В качестве примера, когда X-пептид представляет собой ID последовательности 61, X-пептид увеличивает уровень cGMP крови после введения млекопитающим при уровне, который схож или выше чем (например, выше чем) их родительский натрийуретический пептид CNP GLSKGCFGLKLDRI GSM SGLGC (ID последовательности 57).

В некоторых вариантах осуществления в настоящем описании предоставлены cGMP-увеличивающие производные натрийуретического пептида, имеющие формулу X-пептид; или композиция, содержащая, состоящая по существу из или состоящая из cGMP-увеличивающих производных натрийуретического пептида, имеющих формулу X-пептид; где фрагмент пептида представляет собой ANP, BNP или CNP; и X представляет собой KGGG (K=лизин, G=глицин), прикрепляемый к N-концу фрагмента пептида. В некоторых вариантах осуществления фрагмент пептида представляет собой ANP. В некоторых вариантах осуществления фрагмент пептида представляет собой BNP. В некоторых вариантах осуществления фрагмент пептида представляет собой CNP. X-пептид может увеличивать уровень cGMP крови после введения млекопитающим при уровне, который схож или выше чем (например, выше чем) их родительский натрийуретический пептид. В качестве примера, когда X-пептид представляет собой ID последовательности 6, X-пептид увеличивает уровень cGMP крови после введения млекопитающим при уровне, который схож или выше чем (например, выше чем) их родительский натрийуретический пептид ANP SLRRSSCFGGRMDRIGAQSGLGCNSFRY (ID последовательности 1). В качестве примера, когда X-пептид представляет собой ID

последовательности 24, X-пептид увеличивает уровень cGMP крови после введения млекопитающим при уровне, который схож или выше чем (например, выше чем) их родительский натрийуретический пептид ANP SLRRSSCFGGRIDRIGASGLGCNSFRY (ID последовательности 19). В качестве примера, когда X-пептид представляет собой ID последовательности 46, X-пептид увеличивает уровень cGMP крови после введения млекопитающим при уровне, который схож или выше чем (например, выше чем) их родительский натрийуретический пептид BNP SPKMOVQSGSGCFGRKMDRISSSSSGLGCKVLRRH (ID последовательности 41). В качестве другого примера, когда X-пептид представляет собой ID последовательности 62, X-пептид увеличивает уровень cGMP крови после введения млекопитающим при уровне, который схож или выше чем (например, выше чем) их родительский натрийуретический пептид CNP GLSKGCFGLKLDRISSMSGLGC (ID последовательности 57).

В некоторых вариантах осуществления в настоящем описании предоставлены cGMP-увеличивающие производные натрийуретического пептида, имеющие формулу X-пептид; или композиция, содержащая, состоящая по существу из или состоящая из cGMP-увеличивающих производных натрийуретического пептида, имеющего формулу X-пептид; где фрагмент пептида представляет собой ANP, BNP или CNP; и X представляет собой KKKGGG (K=лизин, G=глицин), прикрепляемый к N-концу фрагмента пептида. В некоторых вариантах осуществления фрагмент пептида представляет собой ANP. В некоторых вариантах осуществления фрагмент пептида представляет собой BNP. В некоторых вариантах осуществления фрагмент пептида представляет собой CNP. X-пептид может увеличивать уровень cGMP крови после введения млекопитающим при уровне, который схож или выше чем (например, выше чем) их родительский натрийуретический пептид. В качестве примера, когда X-пептид представляет собой ID последовательности 7, X-пептид увеличивает уровень cGMP крови после введения млекопитающим при уровне, который схож или выше чем (например, выше чем) их родительский натрийуретический пептид SLRRSSCFGGRMDRIGASGLGCNSFRY (ID последовательности 1). В качестве другого примера, когда X-пептид представляет собой ID последовательности 25, X-пептид увеличивает уровень cGMP крови после введения млекопитающим при уровне, который схож или выше чем (например, выше чем) их родительский натрийуретический пептид ANP SLRRSSCFGGRIDRIGASGLGCNSFRY (ID последовательности 19). В качестве примера, когда X-пептид представляет собой ID последовательности 47, X-пептид увеличивает уровень cGMP крови после введения млекопитающим при уровне, который схож или выше чем (например, выше чем) их родительский натрийуретический пептид BNP SPKMOVQSGSGCFGRKMDRISSSSSGLGCKVLRRH (ID последовательности 41). В качестве еще одного другого примера, когда X-пептид представляет собой ID последовательности 63, X-пептид увеличивает уровень cGMP крови после введения млекопитающим при уровне, который схож или выше чем (например, выше чем) их родительский натрийуретический пептид CNP GLSKGCFGLKLDRISSMSGLGC (ID последовательности

57).

В некоторых вариантах осуществления в настоящем описании предоставлены cGMP–увеличивающие производные натрийуретического пептида, имеющие формулу X–пептид; или композиция, содержащая, состоящая по существу из или состоящая из cGMP–увеличивающих производных натрийуретического пептида, имеющих формулу X–пептид; где фрагмент пептида представляет собой ANP, BNP или CNP; и X представляет собой KKKKGGG (K=лизин, G=глицин), прикрепляемый к N–концу фрагмента пептида. В некоторых вариантах осуществления фрагмент пептида представляет собой ANP. В некоторых вариантах осуществления фрагмент пептида представляет собой BNP. В некоторых вариантах осуществления фрагмент пептида представляет собой CNP. X–пептид может увеличивать уровень cGMP крови после введения млекопитающим при уровне, который схож или выше чем (например, выше чем) их родительский натрийуретический пептид. В качестве примера, когда X–пептид представляет собой ID последовательности 8, X–пептид увеличивает уровень cGMP крови после введения млекопитающим при уровне, который схож или выше чем (например, выше чем) их родительский натрийуретический пептид ANP SLRRSSCFGGRMDRIGAQSGLGCNSFRY (ID последовательности 1). В качестве другого примера, когда X–пептид представляет собой ID последовательности 26, X–пептид увеличивает уровень cGMP крови после введения млекопитающим при уровне, который схож или выше чем (например, выше чем) их родительский натрийуретический пептид ANP SLRRSSCFGGRIDRIGAQSGLGCNSFRY (ID последовательности 19). В качестве еще одного другого примера, когда X–пептид представляет собой ID последовательности 48, X–пептид увеличивает уровень cGMP крови после введения млекопитающим при уровне, который схож или выше чем (например, выше чем) их родительский натрийуретический пептид BNP SPKMVQSGSGCFGRKMDRISSSSGLGCKVLRH (ID последовательности 41). В качестве другого примера, когда X–пептид представляет собой ID последовательности 64, X–пептид увеличивает уровень cGMP крови после введения млекопитающим при уровне, который схож или выше чем (например, выше чем) их родительский натрийуретический пептид CNP GLSKGCFGLKLDRI GMSGLGC (ID последовательности 57).

В некоторых вариантах осуществления в настоящем описании предоставлены cGMP–увеличивающие производные натрийуретического пептида, имеющие формулу X–пептид; или композиция, содержащая, состоящая по существу из или состоящая из cGMP–увеличивающих производных натрийуретического пептида, имеющих формулу X–пептид; где фрагмент пептида представляет собой ANP, BNP или CNP; и X представляет собой $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_p\text{COKKGGG}$ (K=лизин, G=глицин и $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_p\text{CO}$ представляет стандартную химическую формулу для алкилкарбонила, где p представляет собой от 10 до 22 (например, или от 10 до 16) и представляет число повторяющихся групп CH_2 в цепи алкила), прикрепляемый к N–концу фрагмента пептида. В некоторых вариантах осуществления фрагмент пептида представляет собой ANP или BNP. В некоторых

вариантах осуществления фрагмент пептида представляет собой ANP. В некоторых вариантах осуществления фрагмент пептида представляет собой BNP. В некоторых вариантах осуществления фрагмент пептида представляет собой CNP. X-пептид может увеличивать уровень cGMP крови после введения млекопитающим при уровне, который схож или выше чем (например, выше чем) их родительский натрийуретический пептид. В некоторых вариантах осуществления родительский натрийуретический пептид ANP представляет собой SLRRSSCFGGRMDRIGAQSGLGCNSFRY (ID последовательности 1), и некоторые репрезентативные cGMP-увеличивающие производные натрийуретического пептида представляют собой ID последовательности №№ 9, 10, 73 и 74. В качестве примера, когда X-пептид представляет собой ID последовательности 9 (фрагмент пептида представляет собой ANP и X представляет собой $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{COKKGGG}$, прикрепляемый к N-концу фрагмента пептида), X-пептид увеличивает уровень cGMP крови после введения млекопитающим при уровне, который схож или выше чем (например, выше чем) их родительский натрийуретический пептид ANP SLRRSSCFGGRMDRIGAQSGLGCNSFRY (ID последовательности 1). В качестве примера, когда X-пептид представляет собой ID последовательности 10 (фрагмент пептида представляет собой ANP и X представляет собой $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COKKGGG}$, прикрепляемый к N-концу фрагмента пептида), X-пептид увеличивает уровень cGMP крови после введения млекопитающим при уровне, который схож или выше чем (например, выше чем) их родительский натрийуретический пептид ANP SLRRSSCFGGRMDRIGAQSGLGCNSFRY (ID последовательности 1). В некоторых вариантах осуществления родительский натрийуретический пептид ANP представляет собой SLRRSSCFGGRIDRIGAQSGLGCNSFRY (ID последовательности 19) и некоторые репрезентативные cGMP-увеличивающие производные натрийуретического пептида представляют собой ID последовательности 75–78. В качестве примера, когда X-пептид представляет собой ID последовательности 75 (фрагмент пептида представляет собой ANP и X представляет собой $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{COKKGGG}$, прикрепляемый к N-концу фрагмента пептида), X-пептид увеличивает уровень cGMP крови после введения млекопитающим при уровне, который схож или выше чем (например, выше чем) их родительский натрийуретический пептид ANP SLRRSSCFGGRIDRIGAQSGLGCNSFRY (ID последовательности 19). В качестве другого примера, когда X-пептид представляет собой ID последовательности 78 (фрагмент пептида представляет собой ANP и X представляет собой $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COKKGGG}$, прикрепляемый к N-концу фрагмента пептида), X-пептид увеличивает уровень cGMP крови после введения млекопитающим при уровне, который схож или выше чем (например, выше чем) их родительский натрийуретический пептид ANP SLRRSSCFGGRIDRIGAQSGLGCNSFRY (ID последовательности 19). В некоторых вариантах осуществления родительский натрийуретический пептид BNP представляет собой SPKMVQGS GCFGRKMDRISSSSGLGCKVLRRH (ID последовательности 41), и некоторые репрезентативные cGMP-увеличивающие производные натрийуретического

пептида представляют собой ID последовательности 79–82. В качестве примера, когда X–пептид представляет собой ID последовательности 79 (фрагмент пептида представляет собой BNP и X представляет собой $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{COKKGGG}$, прикрепляемый к N–концу фрагмента пептида), X–пептид увеличивает уровень cGMP крови после введения млекопитающим при уровне, который схож или выше чем (например, выше чем) их родительский натрийуретический пептид BNP SPKMVQGS GCFGRKMDRISSSSGLGCKVLRH (ID последовательности 41). В качестве другого примера, когда X–пептид представляет собой ID последовательности 82 (фрагмент пептида представляет собой BNP и X представляет собой $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COKKGGG}$, прикрепляемый к N–концу фрагмента пептида), X–пептид увеличивает уровень cGMP крови после введения млекопитающим при уровне, который схож или выше чем (например, выше чем) их родительский натрийуретический пептид BNP SPKMVQGS GCFGRKMDRISSSSGLGCKVLRH (ID последовательности 41).

В некоторых вариантах осуществления в настоящем описании предоставлены cGMP–увеличивающие производные натрийуретического пептида, имеющие формулу X–пептид; или композиция, содержащая, состоящая по существу из или состоящая из cGMP–увеличивающих производных натрийуретического пептида, имеющих формулу X–пептид; где фрагмент пептида представляет собой ANP, BNP или CNP; и X представляет собой $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_p\text{COKKKGGG}$ (K=лизин, G=глицин, группы $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_p\text{CO}$ представляют собой стандартную химическую формулу для алкилкарбонила, где p представляет собой от 10 до 22 (например, или от 10 до 16) и представляет число повторяющихся групп CH_2 в цепи алкила), прикрепляемый к N–концу фрагмента пептида. В некоторых вариантах осуществления фрагмент пептида представляет собой ANP или BNP. В некоторых вариантах осуществления фрагмент пептида представляет собой ANP. В некоторых вариантах осуществления фрагмент пептида представляет собой BNP. В некоторых вариантах осуществления фрагмент пептида представляет собой CNP. X–пептид может увеличивать уровень cGMP крови после введения млекопитающим при уровне, который схож или выше чем (например, выше чем) их родительский натрийуретический пептид. В некоторых вариантах осуществления родительский натрийуретический пептид представляет собой CNP, имеющий последовательность GLSKGCFGLKLD RIGSMSGLGC (ID последовательности 57), и некоторые репрезентативные cGMP–увеличивающие производные натрийуретического пептида представляют собой ID последовательности 83–85. В качестве примера, когда X–пептид представляет собой ID последовательности 83 (фрагмент пептида представляет собой CNP и X представляет собой $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{COKKKGGG}$, прикрепляемый к N–концу фрагмента пептида), X–пептид увеличивает уровень cGMP крови после введения млекопитающим при уровне, который схож или выше чем (например, выше чем) их родительский натрийуретический пептид CNP GLSKGCFGLKLD RIGSMSGLGC (ID последовательности 57). В качестве другого примера, когда X–пептид представляет собой ID последовательности 85 (фрагмент пептида представляет собой CNP и X представляет собой $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COKKKGGG}$,

прикрепляемый к N-концу фрагмента пептида), X-пептид увеличивает уровень cGMP крови после введения млекопитающим при уровне, который схож или выше чем (например, выше чем) их родительский натрийуретический пептид CNP GLSKGCFGLKLDRI GMSGLGC (ID последовательности 57). В некоторых вариантах осуществления родительский натрийуретический пептид представляет собой ANP, имеющий последовательность SLRRSSCFGGRMDRIGAQSGLGCNSFRY (ID последовательности 1), и некоторые репрезентативные cGMP-увеличивающие производные натрийуретического пептида представляют собой ID последовательности 11–14. В качестве примера, когда X-пептид представляет собой ID последовательности 11 (фрагмент пептида представляет собой ANP и X представляет собой $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{COKKKGGG}$, прикрепляемый к N-концу фрагмента пептида), X-пептид увеличивает уровень cGMP крови после введения млекопитающим при уровне, который схож или выше чем (например, выше чем) их родительский натрийуретический пептид ANP SLRRSSCFGGRMDRIGAQSGLGCNSFRY (ID последовательности 1). В качестве примера, когда X-пептид представляет собой ID последовательности 14 (фрагмент пептида представляет собой ANP и X представляет собой $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COKKKGGG}$, прикрепляемый к N-концу фрагмента пептида), X-пептид увеличивает уровень cGMP крови после введения млекопитающим при уровне, который схож или выше чем (например, выше чем) их родительский натрийуретический пептид ANP SLRRSSCFGGRMDRIGAQSGLGCNSFRY (ID последовательности 1). В некоторых вариантах осуществления родительский натрийуретический пептид представляет собой ANP, имеющий последовательность SLRRSSCFGGRIDRIGAQSGLGCNSFRY (ID последовательности 19), и некоторые репрезентативные cGMP-увеличивающие производные натрийуретического пептида представляют собой ID последовательности 27–30. В качестве примера, когда X-пептид представляет собой ID последовательности 27 (фрагмент пептида представляет собой ANP и X представляет собой $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{COKKKGGG}$, прикрепляемый к N-концу фрагмента пептида), X-пептид увеличивает уровень cGMP крови после введения млекопитающим при уровне, который схож или выше чем (например, выше чем) их родительский натрийуретический пептид ANP SLRRSSCFGGRIDRIGAQSGLGCNSFRY (ID последовательности 19). В качестве примера, когда X-пептид представляет собой ID последовательности 30 (фрагмент пептида представляет собой ANP и X представляет собой $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COKKKGGG}$, прикрепляемый к N-концу фрагмента пептида), X-пептид увеличивает уровень cGMP крови после введения млекопитающим при уровне, который схож или выше чем (например, выше чем) их родительский натрийуретический пептид ANP SLRRSSCFGGRIDRIGAQSGLGCNSFRY (ID последовательности 19). В некоторых вариантах осуществления родительский натрийуретический пептид представляет собой BNP, имеющий последовательность SPKMVQGS GCFGRKMDRISSSSGLGCKVLRH (ID последовательности 41), и некоторые репрезентативные cGMP-увеличивающие производные натрийуретического пептида представляют собой ID последовательности

49–52. В качестве примера, когда X–пептид представляет собой ID последовательности 49 (фрагмент пептида представляет собой BNP и X представляет собой $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{COKKKGGG}$, прикрепляемый к N–концу фрагмента пептида), X–пептид увеличивает уровень cGMP крови после введения млекопитающим при уровне, который схож или выше чем (например, выше чем) их родительский натрийуретический пептид BNP SPKMOVQSGSGCFGRKMDRISSSSGLGCKVLRH (ID последовательности 41). В качестве примера, когда X–пептид представляет собой ID последовательности 52 (фрагмент пептида представляет собой BNP и X представляет собой $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COKKKGGG}$, прикрепляемый к N–концу фрагмента пептида), X–пептид увеличивает уровень cGMP крови после введения млекопитающим при уровне, который схож или выше чем (например, выше чем) их родительский натрийуретический пептид BNP SPKMOVQSGSGCFGRKMDRISSSSGLGCKVLRH (ID последовательности 41). В некоторых вариантах осуществления родительский натрийуретический пептид представляет собой CNP, имеющий последовательность GLSKGCFGLKLDRI GMSGLGC (ID последовательности 57), и некоторые репрезентативные cGMP–увеличивающие производные натрийуретического пептида представляют собой ID последовательности 65–68. В качестве примера, когда X–пептид представляет собой ID последовательности 65 (фрагмент пептида представляет собой CNP и X представляет собой $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{COKKKGGG}$, прикрепляемый к N–концу фрагмента пептида), X–пептид увеличивает уровень cGMP крови после введения млекопитающим при уровне, который схож или выше чем (например, выше чем) их родительский натрийуретический пептид CNP GLSKGCFGLKLDRI GMSGLGC (ID последовательности 57). В качестве примера, когда X–пептид представляет собой ID последовательности 68 (фрагмент пептида представляет собой CNP и X представляет собой $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COKKKGGG}$, прикрепляемый к N–концу фрагмента пептида), X–пептид увеличивает уровень cGMP крови после введения млекопитающим при уровне, который схож или выше чем (например, выше чем) их родительский натрийуретический пептид CNP GLSKGCFGLKLDRI GMSGLGC (ID последовательности 57).

В некоторых вариантах осуществления в настоящем описании предоставлены cGMP–увеличивающие производные натрийуретического пептида, имеющие формулу X–пептид; или композиция, содержащая, состоящая по существу из или состоящая из cGMP–увеличивающих производных натрийуретического пептида, имеющих формулу X–пептид; где фрагмент пептида представляет собой ANP, BNP или CNP; и X представляет собой $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_p\text{COKKKKKGGG}$ (K=лизин, G=глицин, группы $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_p\text{CO}$ представляют собой стандартную химическую формулу для алкилкарбонила, где p представляет собой от 10 до 22 (например, или от 10 до 16) и представляет число повторяющихся групп CH_2 в цепи алкила), прикрепляемый к N–концу фрагмента пептида. В некоторых вариантах осуществления фрагмент пептида представляет собой ANP или BNP. В некоторых вариантах осуществления фрагмент пептида представляет собой ANP. В некоторых вариантах осуществления фрагмент пептида представляет собой BNP. В некоторых

вариантах осуществления фрагмент пептида представляет собой CNP. X-пептид может увеличивать уровень cGMP крови после введения млекопитающим при уровне, который схож или выше чем (например, выше чем) их родительский натрийуретический пептид. В некоторых вариантах осуществления родительский натрийуретический пептид представляет собой ANP, имеющий последовательность SLRRSSCFGGRMDRIGAQSGLGCNSFRY (ID последовательности 1), и некоторые репрезентативные cGMP-увеличивающие производные натрийуретического пептида представляют собой ID последовательности 15–18. В качестве примера, когда X-пептид представляет собой ID последовательности 15 (фрагмент пептида представляет собой ANP и X представляет собой $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{COKKKKGGG}$, прикрепляемый к N-концу фрагмента пептида), X-пептид увеличивает уровень cGMP крови после введения млекопитающим при уровне, который схож или выше чем (например, выше чем) их родительский натрийуретический пептид ANP SLRRSSCFGGRMDRIGAQSGLGCNSFRY (ID последовательности 1). В качестве примера, когда X-пептид представляет собой ID последовательности 18 (фрагмент пептида представляет собой ANP и X представляет собой $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COKKKKGGG}$, прикрепляемый к N-концу фрагмента пептида), X-пептид увеличивает уровень cGMP крови после введения млекопитающим при уровне, который схож или выше чем (например, выше чем) их родительский натрийуретический пептид ANP SLRRSSCFGGRMDRIGAQSGLGCNSFRY (ID последовательности 1). В некоторых вариантах осуществления родительский натрийуретический пептид представляет собой ANP, имеющий последовательность SLRRSSCFGGRIDRIGAQSGLGCNSFRY (ID последовательности 19), и некоторые репрезентативные cGMP-увеличивающие производные натрийуретического пептида представляют собой ID последовательности 31–34. В качестве примера, когда X-пептид представляет собой ID последовательности 31 (фрагмент пептида представляет собой ANP и X представляет собой $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{COKKKKGGG}$, прикрепляемый к N-концу фрагмента пептида), X-пептид увеличивает уровень cGMP крови после введения млекопитающим при уровне, который схож или выше чем (например, выше чем) их родительский натрийуретический пептид ANP SLRRSSCFGGRIDRIGAQSGLGCNSFRY (ID последовательности 19). В качестве примера, когда X-пептид представляет собой ID последовательности 34 (фрагмент пептида представляет собой ANP и X представляет собой $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COKKKKGGG}$, прикрепляемый к N-концу фрагмента пептида), X-пептид увеличивает уровень cGMP крови после введения млекопитающим при уровне, который схож или выше чем (например, выше чем) их родительский натрийуретический пептид ANP SLRRSSCFGGRIDRIGAQSGLGCNSFRY (ID последовательности 19). В некоторых вариантах осуществления родительский натрийуретический пептид представляет собой BNP, имеющий последовательность SPKMVQSGCFGRKMDRISSSSGLGCKVLRRH (ID последовательности 41), и некоторые репрезентативные cGMP-увеличивающие производные натрийуретического пептида представляют собой ID последовательности 53–56. В качестве примера, когда X-

пептид представляет собой ID последовательности 53 (фрагмент пептида представляет собой BNP и X представляет собой $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{COKKKKGGG}$, прикрепляемый к N-концу фрагмента пептида), X-пептид увеличивает уровень cGMP крови после введения млекопитающим при уровне, который схож или выше чем (например, выше чем) их родительский натрийуретический пептид BNP SPKMOVQSGSGCFGRKMDRISSSSGLGCKVLRRH (ID последовательности 41). В качестве примера, когда X-пептид представляет собой ID последовательности 56 (фрагмент пептида представляет собой BNP и X представляет собой $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COKKKKGGG}$, прикрепляемый к N-концу фрагмента пептида), X-пептид увеличивает уровень cGMP крови после введения млекопитающим при уровне, который схож или выше чем (например, выше чем) их родительский натрийуретический пептид BNP SPKMOVQSGSGCFGRKMDRISSSSGLGCKVLRRH (ID последовательности 41). В некоторых вариантах осуществления родительский натрийуретический пептид представляет собой CNP, имеющий последовательность GLSKGCFGLKLDRI GSMSGLGC (ID последовательности 57), и некоторые репрезентативные cGMP-увеличивающие производные натрийуретического пептида представляют собой ID последовательности 69–72. В качестве примера, когда X-пептид представляет собой ID последовательности 69 (фрагмент пептида представляет собой CNP и X представляет собой $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{COKKKKGGG}$, прикрепляемый к N-концу фрагмента пептида), X-пептид увеличивает уровень cGMP крови после введения млекопитающим при уровне, который схож или выше чем (например, выше чем) их родительский натрийуретический пептид CNP GLSKGCFGLKLDRI GSMSGLGC (ID последовательности 57). В качестве примера, когда X-пептид представляет собой ID последовательности 72 (фрагмент пептида представляет собой CNP и X представляет собой $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COKKKKGGG}$, прикрепляемый к N-концу фрагмента пептида), X-пептид увеличивает уровень cGMP крови после введения млекопитающим при уровне, который схож или выше чем (например, выше чем) их родительский натрийуретический пептид CNP GLSKGCFGLKLDRI GSMSGLGC (ID последовательности 57).

Фармацевтические композиции и способы использования

Раскрытие предусматривает фармацевтическую композицию, содержащую натрийуретический пептид в соответствии с раскрытием и эксципиент. Фармацевтическая композиция может представлять собой фармацевтическую композицию, содержащую, состоящую по существу из или состоящую из одного или нескольких производных натрийуретического пептида, указанных выше, и эксципиента, для парентерального введения при дозе производных натрийуретического пептида меньше чем 1,5 мг/кг массы тела в сутки или при дозе производных натрийуретического пептида меньше чем 0,3 мг/кг массы тела в сутки, чтобы увеличивать cGMP для лечения заболевания.

В некоторых вариантах осуществления доза производных натрийуретического пептида составляет более чем 0,0001 мг/кг массы тела в сутки. Например, доза производных натрийуретического пептида может составлять более чем 0,0001 мг/кг и/или

меньше чем 1,5 мг/кг массы тела в сутки. В некоторых вариантах осуществления доза производных натрийуретического пептида составляет более чем 0,0001 мг/кг и/или меньше чем 1,0 мг/кг массы тела в сутки или больше чем 0,0001 мг/кг и/или меньше чем 0,5 мг/кг массы тела в сутки. В некоторых вариантах осуществления доза производных натрийуретического пептида составляет более чем 0,0001 мг/кг и/или меньше чем 0,3 мг/кг массы тела в сутки.

В некоторых вариантах осуществления заболевание выбирают из гипертензии, сосудистого застоя и заболевания сердца. В определенных вариантах осуществления заболевание представляет собой заболевание сердца.

В еще одном дополнительном аспекте настоящее раскрытие отличается способом лечения заболевания у пациента, включающим, состоящим по существу из или состоящим из парентерального введения пациенту одного или нескольких производных натрийуретического пептида, указанных выше, или фармацевтической композиции, содержащей, состоящей по существу из или состоящей из одного или нескольких производных натрийуретического пептида, указанных выше, при дозе производных натрийуретического пептида меньше чем 1,5 мг/кг массы тела в сутки или при дозе производных натрийуретического пептида меньше чем 0,3 мг/кг массы тела в сутки для того, чтобы увеличивать сGMP крови у пациента. В некоторых вариантах осуществления заболевание выбирают из гипертензии, сосудистого застоя и заболевания сердца. В определенных вариантах осуществления заболевание представляет собой заболевание сердца.

В еще одном дополнительном аспекте, настоящее раскрытие отличается способом увеличения сGMP крови у пациента, включающим, состоящим по существу из или состоящим из парентерального введения пациенту, нуждающемуся в этом, одного или нескольких натрийуретических производных, указанных выше, или фармацевтической композиции, содержащей, состоящей по существу из или состоящей из одного или нескольких производных натрийуретического пептида, указанных выше, при дозе производных натрийуретического пептида меньше чем 1,5 мг/кг массы тела в сутки или при дозе производных натрийуретического пептида меньше чем 0,3 мг/кг массы тела в сутки.

В еще одном аспекте в настоящем раскрытии описаны фармацевтические композиции, содержащие (состоящие по существу из или состоящие из) любого из сGMP–увеличивающих производных натрийуретического пептида, имеющих формулу X–пептид, описанную выше вместе с одним или несколькими подходящими эксципиентами, для парентерального и/или подкожного использования в дозе (сGMP–увеличивающего производного) меньше чем 1,5 мг/кг массы тела в сутки (например, меньше чем 0,3 мг/кг массы тела в сутки) для того, чтобы увеличивать сGMP, например, чтобы увеличивать сGMP у млекопитающих для того, чтобы лечить заболевания, которые можно улучшать посредством увеличения сGMP (например, сGMP крови). Также предусмотрены способы лечения заболеваний, которые можно улучшать посредством увеличения сGMP

(например, сGMP крови), и/или увеличения сGMP (например, сGMP крови), включающие (состоящие по существу из или состоящие из) парентерального и/или подкожного введения любых сGMP–увеличивающих производных натрийуретического пептида, имеющих формулу X–пептид, описанную выше вместе с одним или несколькими подходящими эксципиентами, при дозе (сGMP–увеличивающего производного) меньше чем 1,5 мг/кг массы тела в сутки (например, меньше чем 0,3 мг/кг массы тела в сутки). В некоторых вариантах осуществления заболевания, которые можно улучшать посредством увеличения сGMP (например, сGMP крови) включают, состоят по существу из или состоят из гипертензии, сосудистого застоя, заболевания сердца; и лечение может включать, состоять по существу из или состоять из парентерального и/или подкожного введения любого из сGMP–увеличивающих производных натрийуретического пептида, имеющих формулу X–пептид, описанную выше, вместе с одним или несколькими подходящими эксципиентами, при дозе (сGMP–увеличивающего производного) меньше чем 1,5 мг/кг массы тела в сутки (например, меньше чем 0,3 мг/кг массы тела в сутки). В некоторых вариантах осуществления сGMP–увеличивающее производное натрийуретического пептида, имеющее формулу X–пептид, в фармацевтической композиции или используемое в способах лечения, выбирают из ID последовательности 2–18, 20–35, 37, 38, 42–56 и 58–85, которое вводят при дозе, указанной выше. В некоторых вариантах осуществления сGMP–увеличивающее производное натрийуретического пептида, имеющее формулу X–пептид, в фармацевтической композиции или используемое в способах лечения выбирают из ID последовательности 2–8, 20–26, 42–48 и 58–64, которое вводят при дозе, указанной выше. В некоторых вариантах осуществления сGMP–увеличивающее производное натрийуретического пептида, имеющее формулу X–пептид, в фармацевтической композиции или используемое в способах лечения выбирают из ID последовательности 9–18, 27–35, 37, 38, 49–56 и 65–122, которое вводят при дозе, указанной выше. В некоторых вариантах осуществления сGMP–увеличивающее производное натрийуретического пептида, имеющее формулу X–пептид, в фармацевтической композиции или используемое в способах лечения выбирают из ID последовательности 9, 10, 73–89, 96–98, 105–107 и 114–116, которое вводят при дозе, указанной выше. В некоторых вариантах осуществления сGMP–увеличивающее производное натрийуретического пептида, имеющее формулу X–пептид, в фармацевтической композиции или используемое в способах лечения выбирают из ID последовательности 9, 75, 79 и 83, которое вводят при дозе, указанной выше. В некоторых вариантах осуществления сGMP–увеличивающее производное натрийуретического пептида, имеющее формулу X–пептид, в фармацевтической композиции или используемое в способах лечения выбирают из ID последовательности 10, 78, 82 и 86, которое вводят при дозе, указанной выше. В некоторых вариантах осуществления сGMP–увеличивающее производное натрийуретического пептида, имеющее формулу X–пептид, в фармацевтической композиции или используемое в способах лечения представляет собой ID последовательности 10, которое вводят при дозе, указанной выше. В некоторых

[illegible]

ПРИМЕР

Многие возможные пути доступны для того, чтобы увеличивать cGMP *in vivo* для терапевтических целей, такие как введение экзогенного cGMP или лигандов, которые увеличивают продуцирование эндогенного cGMP или снижают его разрушение. Экзогенный лиганд может стремиться влиять на многие различные эндогенные мишени/рецепторы, включая стимуляцию пути оксида азота (I), ингибирование фосфодиэстеразы, которая разрушает cGMP, или стимуляцию различных рецепторов натрийуретических пептидов (NPRA или NPRB).

Осуществляли исследование для того, чтобы определять, оказывает ли пролонгированное присутствие ANP в крови замедленный фармакодинамический эффект, отражаемый в повышении концентрации cGMP крови, и чтобы определять, будет ли это повышение пропорциональным уровню ANP. Определяли уровень cGMP крови относительно ANP. К удивлению, несмотря на повышенный уровень ANP в часы 2 и 8, уровень cGMP не оставался повышенным, что указывает на то, что длительно действующие составы нативного ANP для поддержания уровня ANP крови на повышенном уровне могут не работать, как ожидалось. Эта проблема не задокументирована в литературе, и отсутствовала причина для решения этой ранее неизвестной проблемы. Существует две возможности для объяснения этого наблюдения: 1) обнаруживаемый ANP может быть неактивным или 2) переполнение рецептора ANP может вести к истощению рецептора. Чтобы исследовать, будет ли переполнение рецепторов ANP вести к утрате ответа в более поздний момент времени и одновременно исключить первую возможность, осуществляли исследование, чтобы установить, можно ли восстанавливать повышение cGMP плазмы после второго введения свежего и (заведомо) активного ANP. Для этого исследования использовали 4 группы мышей Balb/c ($n=3$ /группа; самки в возрасте 5–6 недель; 18–25 г) и оценивали уровни cGMP в различные моменты времени после введения ANP со вторым введением ANP и без него. Высокую дозу специально использовали для того, чтобы гарантировать, что если наступало истощение рецептора, это происходило при первой дозе и нулевой или минимальный ответ возникал после второй дозы. Оценивали два последующих *s.c.* (подкожных) введения ANP, сформулированного в полимерном эксципиенте (для того чтобы увеличивать стабильность *in vivo*). Кровь брали перед дозированием (0 часов), через 2 часа и 8 часов после дозирования. 2 группы дозирования получали вторую дозу через 6 часов. Образцы крови ($\square 100$ мкл/точка) брали из ретроорбитального синуса и помещали в охлажденные пробирки, содержащие EDTA дикалия. Образцы крови центрифугировали на 13000 об./мин в течение 10 минут при 4°C для того, чтобы отделять плазму. Образцы плазмы анализировали на cGMP с использованием набора cGMP ELISA (GE Healthcare Life Sciences, Marlborough, MA) в соответствии с протоколом производителя. Полная процедура включала: 1) измерить базовый уровень cGMP перед введением; 2) инъецировать ANP и измерить максимальный ответ через 2 часа; 3) инъецировать второй ANP через 6 часов и измерить максимальный ответ cGMP через 8 часов, чтобы видеть,

если будет достигнуто дополнительное повышение cGMP. Если дополнительно имело место повышение, которое по меньшей мере равно или больше момента времени 2 часа, то имела место утрата ответа и рецептор может не быть истощен даже при высокой дозе. Если ответ через 8 часов меньше чем ответ через 2 часа, то разумно предположить, что происходило истощение рецептора; 4) инъектировать более высокую дозу, чтобы видеть ответ на дозу. Если ответ на дозу не наблюдали, то рецептор был истощен или насыщен. Однако известно, что комплексы ANP–рецептор подвергались интернализации клетками, что может вести к истощению, если запас рецептора ограничен. Уровень ANP, ассоциированный с cGMP, также измеряли для того, чтобы подтверждать, что истощение рецептора было результатом отсутствия восприимчивости, если это имеет место. Ассоциированный уровень ANP измеряли с использованием набора для анализа ELISA (GE Healthcare Life Sciences, Marlborough, MA) в соответствии с протоколом производителя. Результаты этого исследования представлены в таблице 1.

Результаты показывали, что, когда предпринимали попытку стимуляции NPRA с использованием экзогенно вводимого предсердного натрийуретического пептида (ANP), способность натрийуретического пептида увеличивать cGMP *in vivo* выглядела ограниченной кажущимся истощением рецептора при непрерывной лигандной стимуляции при высокой дозе. Когда мышам давали болюс ANP (12 мг/кг; s.c.), уровень cGMP крови возрастал приблизительно на 80 пмоль/мл выше базового уровня через 2 часа и возвращался к базовому уровню (40 пмоль/мл) через 8 часов. Однако когда второй болюс ANP давали через 6 часов, уровень cGMP крови не возрастал на ожидаемые дополнительные 80 пмоль/мл через 8 часов, если не происходило истощение рецептора (см. таблицу 1).

Таблица 1. Результаты, показывающие, что имело место кажущееся истощение рецептора ANP.

	Базовый уровень 0 ч Уровень cGMP пмоль/мл (SEM) Уровень ANP нг/мл (SEM)	2 ч Уровень cGMP пмоль/мл (SEM) Уровень ANP нг/мл (SEM)	8 ч Уровень cGMP пмоль/мл (SEM) Уровень ANP нг/мл (SEM)	Время инъекции
ANP 6 мг/кг (s.c; n=3)	Уровень cGMP: 42,4 (5,6) уровень ANP: 0,096 (0)	Уровень cGMP: 106,1 (10,3) уровень ANP: 32,62 (4,92)	Уровень cGMP: 34,9 (3,6) уровень ANP: 57,51 (65,96)	Одна инъекция только в 0 часов
ANP 6 мг/кг (s.c; n=3)	Уровень cGMP: 45,5 (7,0)	Уровень cGMP: 134,9 (25,5)	Уровень cGMP: 87,6 (3,3)	Инъекция в 0 ч и 6 часов

	уровень ANP: 0,096 (0)	уровень ANP: 32,62 (4,92)	уровень ANP: 89,15	
ANP 12 мг/кг (s.c; n=3)	Уровень cGMP: 45,5 (7,0) уровень ANP: 0,096 (0)	Уровень cGMP: 122,0 (29,4) уровень ANP: 67,24 (6,92)	Уровень cGMP: 45,5 (6,0) уровень ANP: 115,02 (3,98)	Одна инъекция только в 0 часов
ANP 12 мг/кг (s.c; n=3)	Уровень cGMP: 45,5 (7,0) уровень ANP: 0,096 (0)	Уровень cGMP: 113,6 (3,1)* уровень ANP: 67,24 (6,92)*	Уровень cGMP: 70,1 (16,2)* уровень ANP: 182 (10,2)*	Инъекция в 0 часов и 6 часов

*Следует отметить, что уровень cGMP крови через 2 часа после введения однократной дозы составлял 113 пмоль/мл при соответствующем уровне ANP 67 нг/мл. Однако если отсутствовало истощение рецептора, можно ожидать, что при втором введении через 6 часов уровень cGMP через 8 часов (2 часа после второго введения) будет значительно выше чем 113 пмоль/мл (если не таким же), вместо этого cGMP был значительно ниже. Более низкий уровень cGMP показывал истощение рецептора, что ведет к отсутствию или ограниченному физиологическому ответу, как отражено в измеряемых уровнях cGMP.

Уровни ANP через 2 часа усредняли для всех групп, которые получали одну и ту же дозу, поскольку во всех случаях они получали одно и то же лечение вплоть до 2 часов. Уровни ANP через 8 часов в тех группах, которые получали второе введение, совпадали с суммой уровней через 2 часа и 8 часов из группы одного введения.

Эта новая находка показывала, что, возможно, NPRA (рецептор ANP) может быть истощен при непрерывной стимуляции высокой дозой ANP. В данной области известно, что эффект истощения/интернализации рецептора может быть частью естественного механизма отрицательной обратной связи биологической системы. Единственный известный путь для измерения этой системы состоит в том, чтобы увеличивать экспрессию рецептора NPRA, что сейчас невозможно у не рекомбинантного организма, который нуждается в лечении для того, чтобы увеличивать cGMP крови. Это подсказанное исследование новых лигандов, которые потенциально более активны в отношении увеличения cGMP и могут ограничивать кажущееся истощение рецептора, наблюдали в таблице 1. Нелогично направленно воздействовать на рецептор, который доподлинно истощается (по причине низкого уровня экспрессии) при стимуляции из-за интернализации рецептора, однако будет полезно обнаружить лиганд, который может замедлять интернализацию/истощение рецептора, например, посредством изменения существующего лиганда ANP с использованием модификации, которая может замедлять или предотвращать интернализацию/истощение рецептора, при этом сохраняя или усиливая активность лиганда ANP. Однако изменения существующего пептида ANP

имеют непредсказуемые и неочевидные исходы в отношении активности, так что единственный путь для обнаружения активных лигандов для увеличения cGMP крови с ограниченным эффектом интернализации рецептора состоял в итеративном тестировании изменения индивидуального натрийуретического пептида *in vivo*.

Создавали различные производные ANP и осуществляли их скрининг на увеличение силы *in vivo* при ограничении эффектов кажущегося истощения рецептора (или, возможно, могут действовать на другие cGMP–увеличивающие рецепторы) посредством изучения уровня cGMP крови в конкретные моменты времени. Любые новые производные, которые активны (указывает уровень cGMP крови через 2 часа) и не вызывают интернализации рецептора (указывает уровень cGMP через 6 часов) по сравнению с контролем родительского пептида ANP, следует квалифицировать как новые потенциальные средства, увеличивающие cGMP крови. Создавали различные производные и тестировали их *in vivo* для того, чтобы определять уровень cGMP крови через 2 часа и 6 часов после подкожного введения мышам 15 мг/кг (что представляет собой аллометрический эквивалент дозы человека 1,5 мг/кг), с целью найти производные, которые можно использовать в терапии для увеличения cGMP крови.

Многие из защищенных аминокислотных остатков, которые можно использовать при синтезе различных производных ANP по этому раскрытию, коммерчески доступны у поставщиков аминокислот. Кроме того, все пептиды, которые являются предметом настоящего раскрытия можно синтезировать с помощью внешних общих поставщиков пептидов, таких как Anaspec, San Jose CA, USA, Polypeptide laboratories, Torrance, CA, или ChemPep Inc, Miami, FL. Все пептиды, которые являются предметом настоящего раскрытия синтезировали в соответствии с описаниями строения и получали, очищали и обрабатывали в соответствии с подробными инструкциями. Синтез пептидов по настоящему раскрытию могут легко выполнять специалисты в данной области и, предпочтительно, через твердофазный синтез. В кратком изложении, защищенную аминокислоту, соответствующую C–концу пептида, подлежащего получению (с помощью Fmoc или Boc, как известно в данной области), сначала иммобилизуют или конъюгируют со смолой через карбоксильную группу. За этим следует снятие защитной группы с α –аминогруппы для того, чтобы сделать возможным последующее добавление второй защищенной аминокислоты, после чего следует снятие защитной группы с α –аминогруппы, добавление третьей защищенной аминокислоты, после чего следует снятие защитной группы второй аминокислоты, и так далее до тех пор, пока не будет добавлена последняя N–концевая аминокислота или жирная кислота. Отщепление от смолы, снятие защитных групп с функциональных групп аминокислот и очистка схожи со стандартным синтезом пептидов, как известно в данной области. Очистки можно добиваться, используя любые стандартные подходы, такие как жидкостная хроматография высокого давления с обращенной фазой (RP HPLC) на колонках с алкилированным диоксидом кремния, например, C4–C18 диоксидом кремния. Такое фракционирование на колонке в целом выполняют посредством запуска линейных градиентов, например, 10–90%,

возрастающего % органического растворителя, например, ацетонитрила, в водном буфере, обычно содержащим небольшое количество (например, 0,1%) средства для образования пары ионов, такого как трифторуксусная кислота (TFA) или триэтиламин (TEA). Альтернативно, ионно-обменную HPLC можно использовать для разделения пептидных частиц на основе их зарядовых характеристик. Собирают фракции колонки, и те, которые содержат пептид желаемой/требуемой чистоты, необязательно объединяют с эталоном для детектора тандемной масс-спектрометрии. Затем пептид обрабатывают установленным образом для замены расщепляющей кислоты (например, TFA) на фармацевтически приемлемый анион кислоты и для того, чтобы сделать возможным формирование внутримолекулярных дисульфидных мостиков в разбавленном растворе с использованием подходящего окислителя. Формирование этого внутримолекулярного дисульфидного мостика можно подтвердить посредством анализа HPLC/MS.

Для 2-точечной оценки cGMP по различным производным, тестовые образцы перед лиофилизацией растворяли в воде (Lonza, Wakersville, MD). Перед использованием, лиофилизированный тестовый образец растворяли в солевом растворе, затем подкожно инъецировали 15 мг/кг самкам мышей CD-1 в возрасте 6–8 недель (n=3). Образцы крови брали через 2 и 6 часов с использованием пробирки для сбора крови K2EDTA. Затем пробирку для сбора центрифугировали на 13000 об./мин в течение 10 минут при 4°C для того, чтобы отделять плазму. Плазму анализировали с использованием cGMP Direct Biotrak EIA (GE Healthcare Life Sciences, Marlborough, MA). Следует отметить, что используя аллометрическое масштабирование при экспоненте 0,7 [доза у другого вида=доза мыши/((масса мыши/усредненная масса другого биологического вида)^{0,7})], 15 мг/кг у мышей эквивалентно приблизительно 7,5 мг/кг дозы крысы, приблизительно 2,5 мг/кг дозы собаки и 1,5 мг/кг дозы человека. В целях настоящего раскрытия 15 мг/кг у мышей, как представлено в релевантных примерах данных, следует понимать как эквивалент приблизительно 7,5 мг/кг дозы крысы, которая является эквивалентом приблизительно 2,5 мг/кг дозы собаки, которая является эквивалентом приблизительно 1,5 мг/кг дозы человека. Поскольку ответ cGMP мышей на 15 мг/кг дозу вновь обнаруженных производных (см. таблицу 2) достаточно высок, будет разумно использовать суточные дозы, которые ниже чем 15 мг/кг для мышей, 7,5 мг/кг для крысы, 2,5 мг/кг для собаки и 1,5 мг/кг для человека, поскольку любая более высокая доза может вести к слишком большому увеличению cGMP, которое может вести к слишком большому или даже опасному падению кровяного давления, если не сформулировать в системе доставки с очень медленным высвобождением. Фактически, на основе ответа cGMP, более предпочтительно использовать суточные дозы, которые ниже 5 мг/кг для мышей, 1,5 мг/кг для крысы, 0,5 мг/кг для собаки и 0,3 мг/кг для человека. Дополнительно, уровень cGMP крови предпочтительно превышает нормальный базовый уровень в 1,5–3 раза. Нормальный базовый уровень cGMP в крови или плазме составлял приблизительно 20–50 пмоль/мл, но мог слегка варьировать в зависимости от набора для анализа, используемого для измерения уровня.

Результаты представлены в таблице 2. Итеративное тестирование и модификации на С–конце или изменение L–аргинина около N–конца на D–аргинин (ID последовательности 39 и 40) вело к утрате или снижению активности. Дополнительно, изменение аминокислоты на С–конце (ID последовательности 37 и 38) вело к ограниченному увеличению активности. Достаивание N–конца (ID последовательности 2–8, 44, 42, 60, 58) с использованием различного числа глицинов и основных аминокислот неожиданно не вело к утрате активности по сравнению с ANP. Однако различные ANP с достроенными N–концами с использованием глицина, основной аминокислоты и добавлением жирной кислоты неожиданно увеличивали силу (см. данные для 2 часов в таблице 2; ID последовательности 9, 10, 11, 14, 15, 18, 56, 72) и предотвращали кажущееся истощение/интернализацию рецептора (см. данные для 6 часов в таблице 2; ID последовательности 15, 18). Схожие результаты наблюдали с использованием других натрийуретических пептидов (достроенные BNP и CNP; ID последовательности 56, 72). Модификации с использованием жирной кислоты без глицина имели слегка увеличенную активность, но не достоверный эффект на кажущуюся интернализацию рецептора по сравнению с контрольным ANP (см. данные для 6 часов в таблице 2; ID последовательности 35).

Таблица 2. Сила (сGMP 2 ч) и истощение рецептора с помощью (сGMP 6 ч) различных пептидов.

ID последовательности	Пептидная последовательность	сGMP крови in vivo (пмоль/мл) минус базовый уровень (30 пмоль/мл; n=12) у мышей (n=3)	
		2 часа (SEM)	6 часов (SEM)
Нет	Нет [30,3 пмоль/мл – базовый уровень составляет 30,3 пмоль/мл (SEM 2,2; n=12)]	0 (2,2)	0 (2,2)
1) ANP	SLRRSSCFGGRMDRIGAQSGLGCNSFRY	37,86 (24,54)	–2,44 (17,16)
2) G–ANP	GSLRRSSCFGGRMDRIGAQSGLGCNSFRY	44,08 (18,37)	–13,85 (4,76)
3) GG–ANP	GGSLRRSSCFGGRMDRIGAQSGLGCNSFRY	46,79 (31,36)	0,16 (14,42)
4) GGG–ANP	GGGSLRRSSCFGGRMDRIGAQSGLGCNSFRY	41,66 (23,27)	–11,79 (2,0)
5) KGGG–ANP	KGGGSLRRSSCFGGRMDRIGAQSGLGCNSFRY	59,96 (45,75)	44,34 (34,71)
6) KKGGG–	KKGGGSLRRSSCFGGRMDRIGAQ	28,6 (25,15)	–4,81 (4,37)

ANP	SGLGCNSFRY		
7) KKKGGG– ANP	KKKGGGSLRRSSCFGGRMDRIGA QSGLCNSFRY	23,40 (16,18)	–1,19 (4,36)
8) KKKKGGG– ANP	KKKKGGGSLRRSSCFGGRMDRIG AQSGLCNSFRY	53,00 (32,17)	15,25 (12,73)
35) C18– KKKK–ANP	CH ₃ (CH ₂) ₁₆ CO– KKKKSLRRSSCFGGRMDRIGAQS GLGCNSFRY	45,00 (17,17)	12,79 (6,65)
36) C18– KKKK–ANP (пр.)	CH ₃ (CH ₂) ₁₆ CO– KKKKSLRRSSCFGGRMDRIGAQS GLGCNSFrY	неактивный	неактивный
9) C12KKGGG– ANP	CH ₃ (CH ₂) ₁₀ CO– KKGGGSLRRSSCFGGRMDRIGAQ SGLGCNSFRY	163,62 (53,29)	4,78 (6,18)
10) C18KKGGG– ANP	CH ₃ (CH ₂) ₁₆ CO– KKGGGSLRRSSCFGGRMDRIGAQ SGLGCNSFRY	183,12 (53,29)	14,78 (6,18)
11) C12KKKGG G–ANP	CH ₃ (CH ₂) ₁₀ CO– KKKGGGSLRRSSCFGGRMDRIGA QSGLCNSFRY	136,16 (38,48)	10,28 (5,58)
14) C18KKKGG G–ANP	CH ₃ (CH ₂) ₁₆ CO– KKKGGGSLRRSSCFGGRMDRIGA QSGLCNSFRY	574,25 (72,22)	255,75 (9,35)
15) C12KKKKG GG–ANP	CH ₃ (CH ₂) ₁₀ CO– KKKKGGGSLRRSSCFGGRMDRIG AQSGLCNSFRY	60,52 (25,29)	3,36 (11,04)
18) C18KKKKG GG–ANP	CH ₃ (CH ₂) ₁₆ CO– KKKKGGGSLRRSSCFGGRMDRIG AQSGLCNSFRY	355,17 (77,44)	231,65 (64,45)
37) C18– RRR– ANP(пр.)	CH ₃ (CH ₂) ₁₆ CO–RRR– SGRGGGCFGGRMDRIGAQSGLG CNSFRY	45,61 (30,45)	10,16 (6,53)
38) C18–	CH ₃ (CH ₂) ₁₆ CO–RRR–	33,56 (13,03)	7,97 (6,01)

RRR– ANP(пр.)	SGRGSGCFGGRMDRIGAQSGLG CNSFRY		
39) C18– RRR– ANP(пр.)	CH ₃ (CH ₂) ₁₆ CO–RRR– SLPRSSCFGGRMDRIGAQSGLG CNSFRY–NH ₂	неактивный	Неактивный
40) C18– RRR– ANP(пр.)	CH ₃ (CH ₂) ₁₆ CO–RRR– SLPRSSCFGGRM DRIGAQSGLG CNSFrY–NH ₂	Неактивный	неактивный
41) BNP	SPKMVQSGCFGGRKMDRISSSSG LGCKVLRRH	49,77 (19,06)	8,20 (7,80)
56) C18KKKKG GG–BNP	CH ₃ (CH ₂) ₁₆ COKKKKGGGSPKMVQ GSGCFGGRKMDRISSSSGLGCKVL RRH	479,02 (96,56)	321,23 (46,78)
44) GGG– BNP	GGGSPKMVQSGCFGGRKMDRISS SSGLGCKVLRRH	66,59 (4,18)	–5,01 (9,18)
42) G–BNP	GSPKMVQSGCFGGRKMDRISSSS GLGCKVLRRH	18,04 (4,68)	2,14 (7,06)
82) C18– KKGGG– BNP	CH ₃ (CH ₂) ₁₆ COKKGGGSPKMVQGS GCFGGRKMDRISSSSGLGCKVLRR H	282,58 (34,04)	343,62 (55,24)
52) C18– KKKGGG– BNP	CH ₃ (CH ₂) ₁₆ COKKKGGGSPKMVQG SGCFGGRKMDRISSSSGLGCKVLR RH	801,3 (93,1)	653,17 (67,48)
113) C24– KKKKGGG– BNP	CH ₃ (CH ₂) ₂₂ COKKKKGGGSPKMVQ GSGCFGGRKMDRISSSSGLGCKVL RRH	119,14 (36,08)	108,33 (34,96)
57) CNP	GLSKGCFGLKLDRIGSMGSLGC	93,75 (9,85)	24,55 (5,39)
72) C18KKKKGG G–CNP	CH ₃ (CH ₂) ₁₆ COKKKKGGGGLSKGC FGLKLDRIGSMGSLGC	544,99 (119,32)	368,29 (47,63)
60) GGG– CNP	GGGGLSKGCFGLKLDRIGSMGSL GC	49,98 (24,34)	16,85 (11,74)

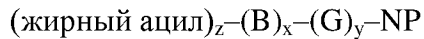
58) G–CNP	GGLSKGCFGLKLDRIGSMSGLGC	27,09 (15,60)	5,10 (6,27)
86) C18– KKGGG– CNP	CH ₃ (CH ₂) ₁₆ COKKGGGGLSKGCFG LKLDRIGSMSGLGC	80,2 (15,69)	42,37 (1,49)
68) C18– KKKGGG– CNP	CH ₃ (CH ₂) ₁₆ COKKKGGGGLSKGCF GLKLDRIGSMSGLGC	330,29 (35,56)	250,33 (16,29)
122) C24– KKKKGGG– CNP	CH ₃ (CH ₂) ₂₂ COKKKKGGGGLSKGC FGLKLDRIGSMSGLGC	251,92 (85,08)	209,24 (47,4)

Как используют в настоящем описании, доза 1,5 мг/кг для человека также будет эквивалентом 15 мг/кг у мышей, как представлено в релевантных примерах данных, которая является эквивалентом приблизительно 7,5 мг/кг дозе крысы, которая является эквивалентом приблизительно 2,5 мг/кг дозе собаки, которая является эквивалентом приблизительно 1,5 мг/кг дозе человека. Поскольку ответ мышей на 15 мг/кг достаточно высок для вновь обнаруженных производных (см. таблицу 2), разумно использовать дозы, которые ниже чем 15 мг/кг для мышей, 7,5 мг/кг для крысы, 2,5 мг/кг для собаки и 1,5 мг/кг для человека, поскольку любая более высокая доза может вести к слишком большому увеличению cGMP, которое может вести к слишком большому или даже опасному падению кровяного давления, если не сформулировать в системе доставки с очень медленным высвобождением. Фактически, поскольку уровень cGMP через 2 часа приблизительно в раз выше, чем до вычитания фона, более разумно в целях безопасности использовать меньше чем 3 мг/кг для мышей, 1,5 мг/кг для крысы, 0,5 мг/кг для собаки и 0,3 мг/кг для человека. Эти дозы являются консервативными ориентирами в отношении не превышения и представлены здесь с надежностью. Эти вновь раскрытые композиции следует использовать в дозах, которые ниже чем дозы нативного натрийуретического пептида, при схожих условиях лечения по причине большей силы. Эта большая сила переходит в преимущества в том отношении, что необходимо меньше материала или меньше затрат, и меньший объем вводимого лекарственного средства или меньше боли у пациентов. Однако точная терапевтическая доза человека, несколько ниже весовой дозы родительского натрийуретического эквивалента, не может быть предсказана и не является очевидной, пока не доступны данные по безопасности из клинических испытаний у человека. Несмотря на то, что процесс аллометрического масштабирования в целом предсказывает корректировку дозы от животных к человеку, точный подбор дозы с целью безопасности у человека не может быть выполнен с использованием только аллометрического масштабирования. Тем не менее, аллометрического масштабирования достаточно для того, чтобы оценивать наибольшую возможную безопасную начальную дозу для достижения терапевтического эффекта.

Несмотря на то, что предпочтительный вариант осуществления раскрытия иллюстрирован и описан, следует принимать во внимание, что различные изменения можно выполнять в нем, не отступая от сущности и объема раскрытия.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Композиция, содержащая производное натрийуретического пептида формулы (I),



(I),

где:

z представляет собой 1, x представляет собой целое от 2 до 4 и y представляет собой 3; или

z представляет собой 0, x представляет собой целое от 0 до 4 и y представляет собой целое от 1 до 3;

жирный ацил содержит от 12 до 24 (например, от 12 до 18) атомов углерода;

В представляет собой лизин или аргинин;

G представляет собой глицин;

NP представляет собой натрийуретический пептид;

если присутствует, $(\text{жирный ацил})_z-$ ковалентно связывают с N-концом в $(\text{В})_x$;

$(\text{жирный ацил})_z-(\text{В})_x-$ ковалентно связывают с N-концом в $(\text{G})_y$; и

$(\text{жирный ацил})_z-(\text{В})_x-(\text{G})_y-$ ковалентно связывают с N-концом в NP.

2. Композиция по п. 1, в которой производное натрийуретического пептида повышает уровень cGMP крови при парентеральном введении млекопитающему до уровня выше чем натрийуретический пептид NP при парентеральном введении млекопитающему в эквивалентной дозе (например, дозе в моль/кг, дозе в мг/кг или дозе как в моль/кг, так и в мг/кг).

3. Композиция по п. 1 или 2, в которой NP выбирают из ANP человека (ID последовательности 1), ANP грызуна (ID последовательности 19), BNP человека (ID последовательности 41) и CNP человека (ID последовательности 57).

4. Композиция по любому одному из п.п. 1-3, в которой NP представляет собой ANP человека (ID последовательности 1).

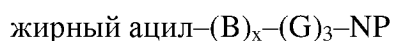
5. Композиция по любому одному из п.п. 1-3, в которой NP представляет собой ANP грызуна (ID последовательности 19).

6. Композиция по любому одному из п.п. 1-3, в которой NP представляет собой BNP человека (ID последовательности 41).

7. Композиция по любому одному из п.п. 1-3, в которой NP представляет собой CNP человека (ID последовательности 57).

8. Композиция по любому одному из п.п. 1-7, в которой В представляет собой лизин.

9. Композиция по любому одному из п.п. 1-8, в которой производное натрийуретического пептида имеет формулу (II)



(II),

где:

жирный ацил содержит от 12 до 24 (например, от 12 до 18) атомов углерода;

В представляет собой лизин или аргинин;

х представляет собой целое от 2 до 4;

G представляет собой глицин;

NP представляет собой натрийуретический пептид;

жирный ацил– ковалентно связывают с N–концом в (B)_х;

жирный ацил–(B)_х– ковалентно связывают с N–концом в (G)₃; и

жирный ацил–(B)_х–(G)₃– ковалентно связывают с N–концом в NP.

10. Композиция по любому одному из п.п. 1-9, в которой х представляет собой 2.

11. Композиция по любому одному из п.п. 1-9, в которой х представляет собой 3.

12. Композиция по любому одному из п.п. 1-9, в которой х представляет собой 4.

13. Композиция по любому одному из п.п. 1-12, в которой жирный ацил содержит 18 атомов углерода.

14. Композиция по любому одному из п.п. 3-13, в которой –(B)_х–(G)₃– выбирают из –KKGGG–, –KKKGGG– и –KKKKGGG–.

15. Композиция по любому одному из п.п. 3-14, где производное натрийуретического пептида представляет собой то, что определено в одном из ID последовательности 9, ID последовательности 10, ID последовательности 11, ID последовательности 14, ID последовательности 18, ID последовательности 56, ID последовательности 82, ID последовательности 52, ID последовательности 113, ID последовательности 68, ID последовательности 122 и ID последовательности 72.

16. Композиция по любому одному из п.п. 3-14, где производное натрийуретического пептида представляет собой то, что определено в одном из ID последовательности 9, ID последовательности 10, ID последовательности 11, ID последовательности 14, ID последовательности 18, ID последовательности 56 и ID последовательности 72.

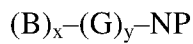
17. Композиция по любому одному из п.п. 3-14, где производное натрийуретического пептида представляет собой то, что определено в одном из ID последовательности 14, ID последовательности 18, ID последовательности 56, ID последовательности 82, ID последовательности 52, ID последовательности 68, ID последовательности 122 и ID последовательности 72.

18. Композиция по любому одному из п.п. 3-14, где производное натрийуретического пептида представляет собой то, что определено в одном из ID последовательности 73, ID последовательности 74, ID последовательности 79, ID последовательности 80, ID последовательности 81, ID последовательности 83, ID последовательности 84 и ID последовательности 85.

19. Композиция по любому одному из п.п. 3-14, где производное натрийуретического пептида представляет собой то, что определено в одном из ID последовательности 93, ID последовательности 94, ID последовательности 95, ID последовательности 102, ID последовательности 103, ID последовательности 104, ID

последовательности 111, ID последовательности 112, ID последовательности 113, ID последовательности 120, ID последовательности 121 и ID последовательности 122.

20. Композиция по любому одному из п.п. 1-8, в которой производное натрийуретического пептида имеет формулу (III),



(III),

где:

B представляет собой лизин или аргинин;

x представляет собой целое от 0 до 4;

G представляет собой глицин;

y представляет собой целое от 1 до 3;

NP представляет собой натрийуретический пептид; и

$(B)_x-(G)_y$ ковалентно связывают с N-концом в NP.

21. Композиция по п. 20, в которой x представляет собой 0.

22. Композиция по п. 20, в которой x представляет собой 1.

23. Композиция по п. 20, в которой x представляет собой 2.

24. Композиция по п. 20, в которой x представляет собой 3.

25. Композиция по п. 20, в которой x представляет собой 4.

26. Композиция по любому одному из п.п. 20-25, в которой y представляет собой 1.

27. Композиция по любому одному из п.п. 20-25, в которой y представляет собой 2.

28. Композиция по любому одному из п.п. 20-25, в которой y представляет собой 3.

29. Композиция по п. 20, в которой $(B)_x-(G)_y$ выбирают из G-, GG-, GGG-, KGGG- и KKKKGGG-.

30. Композиция по любому одному из п.п. 20-29, где производное натрийуретического пептида представляет собой то, что определено в одном из ID последовательности 2, ID последовательности 3, ID последовательности 4, ID последовательности 5, ID последовательности 8 и ID последовательности 44.

31. Композиция по любому одному из п.п. 1-30, которая дополнительно содержит эксципиент.

32. Композиция как определено в любом одном из п.п. 1-31 для применения в лечении заболевания.

33. Композиция по п. 32, где заболевание выбирают из гипертензии, сосудистого застоя и заболевания сердца.

34. Композиция для применения по п. 33, где заболевание представляет собой заболевание сердца.

35. Композиция для применения по любому одному из п.п. 32-34, где лечение заболевания включает парентеральное введение пациенту производного натрийуретического пептида при дозе меньше чем 1,5 мг/кг массы тела в сутки.

36. Способ лечения заболевания у пациента, способ включает парентеральное введение пациенту композиции по любому одному из п.п. 1-30.

37. Способ увеличения cGMP крови у пациента, способ включает парентеральное введение пациенту композиции по любому одному из п.п. 1-30.

38. Способ по п. 36 или п. 37, в котором композицию вводят пациенту при дозе меньше чем 1,5 мг производного натрийуретического пептида/кг массы тела в сутки.

39. Способ по п. 38, в котором композицию вводят пациенту при дозе меньше чем 0,3 мг производного натрийуретического пептида/кг массы тела в сутки.

40. Применение композиции по любому одному из п.п. 1-30 для получения лекарственного средства для лечения заболевания.

41. Применение по п. 40, где заболевание выбирают из гипертензии, сосудистого застоя и заболевания сердца.