

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **044180**

(13) **B1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента
2023.07.28

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

(21) Номер заявки
201992226

(22) Дата подачи заявки
2018.03.21

(54) **АГОНИСТЫ NPRA, КОМПОЗИЦИИ И ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ**

(31) **62/475,147**

(56) **US-A1-20150307578**
US-A1-20120220528
US-A1-20010027181

(32) **2017.03.22**

(33) **US**

(43) **2020.02.12**

(86) **PCT/US2018/023491**

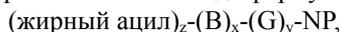
(87) **WO 2018/175534 2018.09.27**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
ФАРМЕЙН КОРПОРЕЙШН (US)

(72) Изобретатель:
Кастилло Джерардо М., Нисимото-Ашфилд Акико, Болотин Элайджа (US)

(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(57) 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, (жирный ацил)₂- ковалентно связывают с N-концом в (B)_x; (жирный ацил)₂-(B)_x- ковалентно связывают с N-концом в (G)_y и (жирный ацил)₂-(B)_x-(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.

B1

044180

044180

B1

Перекрестная ссылка на связанную заявку

По заявке на данное изобретение испрашивают приоритет предварительной заявки США № 62/475,147, поданной 22 марта 2017 г., описание которой включено в настоящий документ 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 повысить сGMP *in vivo* для того, чтобы лечить различные сердечно-сосудистые 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 M.A., *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.*, 2006, vol. 15,14-21; Yashibayashi M. et al., *Eur. J. Endocrinol.*, 1996, vol 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 увеличению 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 сGMP, 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.

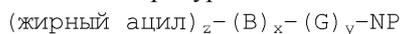
BNP представляет собой пептид из 32 аминокислот, который впервые обнаружен в головном мозге, но впоследствии обнаружены его продуцирование и секреция преимущественно в кардиомиоцитах. Секреция BNP возрастает у пациентов с сердечной недостаточностью, и BNP облегчает различные симптомы, ассоциированные 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 изобретение стремится удовлетворить эту потребность и предусматривает дополнительные связанные преимущества. Например, настоящее изобретение предусматривает новые композиции с, к удивлению, увеличенной активностью, как измеряют по увеличению сGMP.

Краткое изложение

Настоящее изобретение 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; В представляет собой лизин или аргинин; G представляет собой глицин; NP представляет собой натрийуретический пептид; если присутствует, (жирный ацил)₂- ковалентно связывают с N-концом в (В)_x; (жирный ацил)₂-(В)_x- ковалентно связывают с N-концом в (G)_y; и (жирный ацил)₂-(В)_x-(G)_y- ковалентно связывают с N-концом в NP.

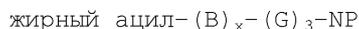
В одном из вариантов осуществления производное натрийуретического пептида или композиция, содержащая производное натрийуретического пептида, увеличивает уровень сGMP крови при парентеральном введении млекопитающему до уровня выше, чем натрийуретический пептид NP при парентеральном введении млекопитающему 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, 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 выбрать 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 В представляет собой лизин.

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



(II),

где жирный ацил имеет от 12 до 24 (например, от 12 до 18) атомов углерода; В представляет собой лизин или аргинин (например, В 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 (В)_x; жирный ацил-(В)_x- ковалентно связывают с N-концом в (G)₃; жирный ацил-(В)_x-(G)₃- ковалентно связывают с N-концом в NP.

При введении млекопитающим производное натрийуретического пептида или композиция, содержащая производное натрийуретического пептида, обычно увеличивает 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 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-(В)_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-(В)_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.

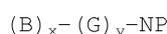
В некоторых вариантах осуществления в жирном ациле-(В)_x-(G)₃-NP, $x=2$; NP необязательно выбирают из ID последовательности 1, 19, 41 и 57. Например, в некоторых вариантах осуществления В пред-

довательности 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):



(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;

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

При введении млекопитающим $(B)_x-(G)_y-NP$ или композиция, содержащая производное натрийуретического пептида $(B)_x-(G)_y-NP$, 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 $(B)_x-(G)_y-NP$, $x=0$ 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 $(B)_x-(G)_y-NP$, $y=3$; 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 $(B)_x-(G)_y$ - 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 изобретение 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 изобретение также предусматривает производное натрийуретического пептида в соот-

ветствии 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 композицией, содержащей производное натрийуретического пептида в соответствии с раскрытием, при дозе меньше чем 1,5 мг/кг массы тела в сутки.

Настоящее изобретение дополнительно предусматривает способ лечения заболевания у пациента, способ включает парентеральное введение пациенту производного натрийуретического пептида в соответствии с раскрытием или композицией, 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 изобретение дополнительно предусматривает способ увеличения сGMP крови у пациента, способ включает парентеральное введение пациенту, нуждающемуся в этом, производного натрийуретического пептида в соответствии с раскрытием или композицией, 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 изобретение также предусматривает использование производного натрийуретического пептида в соответствии с раскрытием или композицией, 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 сGMP крови и/или внутриклеточный сGMP *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 изобретению 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 изобретении 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 NO: 1 (ANP человека), SEQ ID NO: 19 (ANP грызуна), SEQ ID NO: 41 (BNP человека) и SEQ ID NO: 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 ч) 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 ч 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 ч 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 документе, 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 три 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 иметь формулу $CH_3(CH_2)_nC(O)-(B)_x-(G)_3-NP$, 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 дозы мышей эквивалентно приблизительно 7,5 мг/кг дозы крысы, приблизительно 2,5 мг/кг дозы собаки и 1,5 мг/кг дозе 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 и 0,3 мг/кг в разделах "Краткое изложение" и "Формула изобретения" интерпретируют как дозу человека, если не указано иное.

Композиции

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

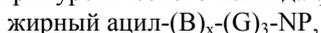
В одном из вариантов осуществления в формуле (I) z представляет собой 1, x представляет собой 3 или 4 и y представляет собой 3, B представляет собой лизин. В формуле (I) NP может представлять собой ANP человека (ID последовательности 1). В формуле (I) жирный ацил может содержать 12, 18, 20, 22 или

24 атомов углерода.

Настоящее изобретение 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 В 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 cGMP-увеличивающее производное натрийуретического пептида формулы



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

В представляет собой лизин или аргинин (например, В 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 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 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 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 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 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.

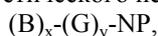
В некоторых вариантах осуществления в формуле жирный ацил-(B) $_x$ -(G) $_3$ -NP, $x=2$; NP необязательно выбирают из ID последовательности 1, 19, 41 и 57. Например, в некоторых вариантах осуществления В представляет собой лизин и NP представляет собой ID последовательности 1; В представляет собой лизин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



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 $y=3$; B 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 B представляет собой лизин или аргинин, каждый " B " в $(B)_x$ может представлять собой одно и то же или различное. Например, $(B)_x$ может представлять собой K, R, RR, KK, KR, RRR, KKK, KRR, RKR, RRR, KKR, KRK, RRR, KKK, KRR, RKRR, RRKR, RRRK, KKRR, RKRR, RRKK, KRRK, 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 cGMP-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 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 G, GG, GGG, BGGG, BBGGG, BBBGGG и BBBBGGG, 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 GG, GGG, BGGG, BBGGG, BBBGGG и BBBBGGG, 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 GGG, BGGG, BBGGG, BBBGGG и BBBBGGG, 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 BGGG, BBGGG, BBBGGG и BBBBGGG, 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 BBBGGG и BBBBGGG, 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 BBBBGGG, 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 и B представляет собой лизин или аргинин. В некоторых вариантах осуществления в любом из указанных выше вариантов осуществления для cGMP-увеличивающих производных натрийуретического пептида формулы X-пептид, последняя G представляет собой глицин и B представляет собой лизин (см., например, SEQ ID NO: 5-8, 21-26, 45-48 и 61-64). cGMP-увеличивающие производных 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 родитель-

ский 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 NO: 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 $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COKKKKGGG}$ 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 представляет собой и $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COKKKKGGG}$, 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, K 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 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 натрийуретический пептид (например, SEQ ID NO: 1, 19, 41 или 57).

В еще одном 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 $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{CORRRRGGG}$, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{CORRRRGGG}$, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{CORRRRGGG}$ и $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{CORRRRGGG}$, прикрепляемых к N-концу фрагмента пептида. В некоторых вариантах осуществления в сGMP-увеличивающих производных натрийуретического пептида формулы X-пептид, фрагмент пептида выбирают из (a) ANP, (b) BNP и (c) CNP и X выбирают из $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{CORRRRGGG}$ и $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{CORRRRGGG}$, 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 $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{CORRRRGGG}$, 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, 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. сGMP-увеличивающие производные 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 натрийуретический пептид (например, SEQ ID NO: 1, 19, 41 или 57).

В некоторых вариантах осуществления в настоящем описании предоставлены сGMP-увеличивающие производные натрийуретического пептида, имеющие формулу X-пептид; или композиция, содержащая, состоящая по существу из или состоящая из сGMP-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 сGMP 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 сGMP крови после введения млекопитающим при уровне, который схож или выше, чем (например, выше, чем) их родительский натрийуретический пептид ANP

после введения млекопитающим при уровне, который схож или выше, чем (например, выше, чем) их родительский натрийуретический пептид BNP SPKMQVQSGCFGRKMDRISSSSGLGCKVLRH (ID последовательности 41). В качестве еще одного другого примера, когда X-пептид представляет собой ID последовательности 63, X-пептид увеличивает уровень сGMP 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 сGMP-увеличивающие производные натрийуретического пептида, имеющие формулу X-пептид; или композиция, содержащая, состоящая по существу из или состоящая из сGMP-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 сGMP 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 сGMP 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 26, X-пептид увеличивает уровень сGMP крови после введения млекопитающим при уровне, который схож или выше, чем (например, выше, чем) их родительский натрийуретический пептид ANP SLRRSSCFGGRMDRIGASGLGCNSFRY (ID последовательности 19). В качестве еще одного другого примера, когда X-пептид представляет собой ID последовательности 48, X-пептид увеличивает уровень сGMP крови после введения млекопитающим при уровне, который схож или выше, чем (например, выше, чем) их родительский натрийуретический пептид BNP SPKMQVQSGCFGRKMDRISSSSGLGCKVLRH (ID последовательности 41).

В качестве другого примера, когда X-пептид представляет собой ID последовательности 64, X-пептид увеличивает уровень сGMP 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 сGMP-увеличивающие производные натрийуретического пептида, имеющие формулу X-пептид; или композиция, содержащая, состоящая по существу из или состоящая из сGMP-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 $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_p$ представляет стандартную химическую формулу для алкилкарбонила, где p представляет собой от 10 до 22 (например, 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 сGMP 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 SLRRSSCFGGRMDRIGASGLGCNSFRY (ID последовательности 1), и некоторые репрезентативные сGMP-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 сGMP 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 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 сGMP крови после введения млекопитающим при уровне, который схож или выше, чем (например, выше, чем) их родительский натрийуретический пептид ANP SLRRSSCFGGRMDRIGASGLGCNSFRY (ID последовательности 1). В некоторых вариантах осуществления родительский натрийуретический пептид ANP представляет собой SLRRSSCFGGRMDRIGASGLGCNSFRY (ID последовательности 19) и некоторые репрезентативные сGMP-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 $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{COKKGGG}$, прикреп-

ляемый к N-концу фрагмента пептида), X-пептид увеличивает уровень сGMP 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 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 сGMP крови после введения млекопитающим при уровне, который схож или выше, чем (например, выше, чем) их родительский натрийуретический пептид ANP SLRRSSCFGGRMIRIGASGLGCNSFRY (ID последовательности 19). В некоторых вариантах осуществления родительский натрийуретический пептид BNP представляет собой SPKMQVQSGCFGRKMDRISSSSGLGCKVLRH (ID последовательности 41), и некоторые репрезентативные сGMP-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 сGMP крови после введения млекопитающим при уровне, который схож или выше, чем (например, выше, чем) их родительский натрийуретический пептид BNP SPKMQVQSGCFGRKMDRISSSSGLGCKVLRH (ID последовательности 41). В качестве другого примера, когда X-пептид представляет собой ID последовательности 82 (фрагмент пептида представляет собой BNP, и X представляет собой $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{COKKGGG}$, прикрепляемый к N-концу фрагмента пептида), X-пептид увеличивает уровень сGMP крови после введения млекопитающим при уровне, который схож или выше, чем (например, выше, чем) их родительский натрийуретический пептид BNP SPKMQVQSGCFGRKMDRISSSSGLGCKVLRH (ID последовательности 41).

В некоторых вариантах осуществления в настоящем описании предоставлены сGMP-увеличивающие производные натрийуретического пептида, имеющие формулу X-пептид; или композиция, содержащая, состоящая по существу из или состоящая из сGMP-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 сGMP 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 GLSKGCFGLKLDRISSMSGLGC (ID последовательности 57), и некоторые репрезентативные сGMP-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 сGMP крови после введения млекопитающим при уровне, который схож или выше, чем (например, выше, чем) их родительский натрийуретический пептид CNP GLSKGCFGLKLDRISSMSGLGC (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 сGMP 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 родительский натрийуретический пептид представляет собой ANP, имеющий последовательность SLRRSSCFGGRIDRIGASGLGCNSFRY (ID последовательности 1), и некоторые репрезентативные сGMP-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 сGMP крови после введения млекопитающим при уровне, который схож или выше, чем (например, выше, чем) их родительский натрийуретический пептид ANP SLRRSSCFGGRIDRIGASGLGCNSFRY (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 сGMP крови после введения млекопитающим при уровне, который схож или выше, чем (например, выше, чем) их родительский натрийуретический пептид ANP SLRRSSCFGGRIDRIGASGLGCNSFRY (ID последовательности 1). В некоторых вариантах осуществления родительский натрийуретический пептид представляет собой ANP, имеющий последовательность SLRRSSCFGGRIDRIGASGLGCNSFRY (ID последовательности 19), и некоторые репрезен-

тативные сGMP-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 сGMP 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 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 сGMP крови после введения млекопитающим при уровне, который схож или выше, чем (например, выше, чем) их родительский натрийуретический пептид ANP SLRRSSCFGGRIDRIGASGLGCNSFRY (ID последовательности 19). В некоторых вариантах осуществления родительский натрийуретический пептид представляет собой BNP, имеющий последовательность SPKMVQSGCFGRKMDRISSSSGLGCKVLRH (ID последовательности 41), и некоторые репрезентативные сGMP-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 сGMP крови после введения млекопитающим при уровне, который схож или выше, чем (например, выше, чем) их родительский натрийуретический пептид BNP SPKMVQSGCFGRKMDRISSSSGLGCKVLRH (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 сGMP крови после введения млекопитающим при уровне, который схож или выше, чем (например, выше, чем) их родительский натрийуретический пептид BNP SPKMVQSGCFGRKMDRISSSSGLGCKVLRH (ID последовательности 41). В некоторых вариантах осуществления родительский натрийуретический пептид представляет собой CNP, имеющий последовательность GLSKGCFGLKLDRI GMSGLGC (ID последовательности 57), и некоторые репрезентативные сGMP-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 сGMP 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 сGMP 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 сGMP-увеличивающие производные натрийуретического пептида, имеющие формулу X-пептид; или композиция, содержащая, состоящая по существу из или состоящая из сGMP-увеличивающих производных натрийуретического пептида, имеющих формулу X-пептид; где фрагмент пептида представляет собой ANP, BNP или CNP и X представляет собой $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_p\text{COKKKKGGG}$ (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 сGMP 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 SLRRSSCFGGRIDRIGASGLGCNSFRY (ID последовательности 1), и некоторые репрезентативные сGMP-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 сGMP крови после введения млекопитающим при уровне, который схож или выше, чем (например, выше, чем) их родительский натрийуретический пептид ANP SLRRSSCFGGRIDRIGASGLGCNSFRY (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 сGMP крови после введе-

ния млекопитающим при уровне, который схож или выше, чем (например, выше, чем) их родительский натрийуретический пептид ANP SLRRSSCFGGRIDRIGASGLGCNSFRY (ID последовательности 1). В некоторых вариантах осуществления родительский натрийуретический пептид представляет собой ANP, имеющий последовательность SLRRSSCFGGRIDRIGASGLGCNSFRY (ID последовательности 19), и некоторые репрезентативные сGMP-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 сGMP 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 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 сGMP крови после введения млекопитающим при уровне, который схож или выше, чем (например, выше, чем) их родительский натрийуретический пептид ANP SLRRSSCFGGRIDRIGASGLGCNSFRY (ID последовательности 19). В некоторых вариантах осуществления родительский натрийуретический пептид представляет собой BNP, имеющий последовательность SPKMVQSGCFGRKMDRISSSSGLGCKVLRH (ID последовательности 41), и некоторые репрезентативные сGMP-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 сGMP крови после введения млекопитающим при уровне, который схож или выше, чем (например, выше, чем) их родительский натрийуретический пептид BNP SPKMVQSGCFGRKMDRISSSSGLGCKVLRH (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 сGMP крови после введения млекопитающим при уровне, который схож или выше, чем (например, выше, чем) их родительский натрийуретический пептид BNP SPKMVQSGCFGRKMDRISSSSGLGCKVLRH (ID последовательности 41). В некоторых вариантах осуществления родительский натрийуретический пептид представляет собой CNP, имеющий последовательность GLSKGCFGLKLDRI GMSGLGC (ID последовательности 57), и некоторые репрезентативные сGMP-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 сGMP 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 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 сGMP крови после введения млекопитающим при уровне, который схож или выше, чем (например, выше, чем) их родительский натрийуретический пептид CNP GLSKGCFGLKLDRI GMSGLGC (ID последовательности 57).

Фармацевтические композиции и способы использования

Изобретение 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 сGMP 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 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 и/или меньше чем 1,0 мг/кг массы тела в сутки или больше чем 0,0001 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 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 изобретение отличается способом лечения заболевания у пациента, включающим, состоящим по существу из или состоящим из парентерального введе-

ния 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 сГМР 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 изобретение отличается способом увеличения сГМР 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 изобретении описаны фармацевтические композиции, содержащие (состоящие по существу из или состоящие из) любого из сГМР-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 (сГМР-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 сГМР, например, чтобы увеличивать сГМР у млекопитающих для того, чтобы лечить заболевания, которые можно улучшать посредством увеличения сГМР (например, сГМР крови). Также предусмотрены способы лечения заболеваний, которые можно улучшать посредством увеличения сГМР (например, сГМР крови), и/или увеличения сГМР (например, сГМР крови), включающие (состоящие по существу из или состоящие из парентерального и/или подкожного введения любых сГМР-увеличивающих производных натрийуретического пептида, имеющих формулу X-пептид, описанную выше вместе с одним или несколькими подходящими эксципиентами, при дозе (сГМР-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 сГМР (например, сГМР 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 сГМР-увеличивающих производных натрийуретического пептида, имеющих формулу X-пептид, описанную выше, вместе с одним или несколькими подходящими эксципиентами, при дозе (сГМР-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 сГМР-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 сГМР-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 сГМР-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 сГМР-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 сГМР-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 сГМР-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 сГМР-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 вариантах осуществления сГМР-увеличивающее производное натрийуретического пептида, имеющее формулу X-пептид, в фармацевтической композиции или используемое в способах лечения представляет собой ID последовательности 78, которое вводят при дозе, указанной выше. В некоторых вариантах осуществления сГМР-увеличивающее производное натрийуретического пептида, имеющее формулу X-пептид, в фармацевтической композиции или используемое в способах лечения представляет собой ID последовательности 82, которое вводят при дозе, указанной выше. В некоторых

собой ID последовательности 113, 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 122, которое вводят при дозе, указанной выше.

Следующий пример включен с целью иллюстрации, не ограничения, описанных вариантов осуществления.

Пример

Многие возможные пути доступны для того, чтобы увеличивать сGMP *in vivo* для терапевтических целей, такие как введение экзогенного сGMP или лигандов, которые увеличивают продуцирование эндогенного сGMP 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 сGMP, 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 сGMP крови, и чтобы определять, будет ли это повышение пропорциональным уровню ANP. Определяли уровень сGMP крови относительно ANP. К удивлению, несмотря на повышенный уровень ANP в часы 2 и 8, уровень сGMP 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 сGMP 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 сGMP 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 увеличить стабильность *in vivo*). Кровь брали перед дозированием (0 ч), через 2 и 8 ч после дозирования. Две группы дозирования получали вторую дозу через 6 ч. Образцы крови (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 мин при 4°C для того, чтобы отделять плазму. Образцы плазмы анализировали на сGMP с использованием набора сGMP ELISA (GE Healthcare Life Sciences, Marlborough, MA) в соответствии с протоколом производителя. Полная процедура включала: 1) измерить базовый уровень сGMP перед введением; 2) инъектировать ANP и измерить максимальный ответ через 2 ч; 3) инъектировать второй ANP через 6 ч и измерить максимальный ответ сGMP через 8 ч, чтобы видеть, если будет достигнуто дополнительное повышение сGMP. Если дополнительно имело место повышение, которое по меньшей мере равно или больше момента времени 2 ч, то имела место утрата ответа и рецептор может не быть истощен даже при высокой дозе. Если ответ через 8 ч меньше, чем ответ через 2 ч, 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 сGMP, также измеряли для того, чтобы подтвердить, 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 табл. 1.

Результаты показывали, что, когда предпринимали попытку стимуляции NPRA с использованием экзогенно вводимого предсердного натрийуретического пептида (ANP), способность натрийуретического пептида увеличивать сGMP *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 сGMP крови возрастал приблизительно на 80 пмоль/мл выше базового уровня через 2 ч и возвращался к базовому уровню (40 пмоль/мл) через 8 ч. Однако когда второй болюс ANP давали через 6 ч, уровень сGMP крови не возрастал на ожидаемые дополнительные 80 пмоль/мл через 8 ч, если не происходило истощение рецептора (см. табл. 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 ANP: 0,096 (0)	Уровень cGMP: 134,9 (25,5) уровень ANP: 32,62 (4,92)	Уровень cGMP: 87,6 (3,3) уровень ANP: 89,15	Инъекция в 0 ч и 6 часов
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 ч 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 ч уровень cGMP через 8 ч (2 ч 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 измененных уровнях cGMP.

Уровни ANP через 2 ч 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 ч. Уровни ANP через 8 ч в тех группах, которые получали второе введение, совпадали с суммой уровней через 2 ч и 8 ч 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 табл. 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 ч) и не вызывают интернализации рецептора (указывает уровень cGMP через 6 ч) по сравнению с контролем

родительского пептида ANP, следует квалифицировать как новые потенциальные средства, увеличивающие сGMP крови. Создавали различные производные и тестировали их *in vivo* для того, чтобы определять уровень сGMP крови через 2 и 6 ч 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 сGMP 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, Torgance, 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 С-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 содержащем 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, обязательно объединяют с эталоном для детектора tandemной 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 сGMP 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 ч с использованием пробирки для сбора крови K2EDTA. Затем пробирку для сбора центрифугировали на 13000 об/мин в течение 10 мин при 4°C для того, чтобы отделить плазму. Плазму анализировали с использованием сGMP 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 сGMP мышей на 15 мг/кг дозу вновь обнаруженных производных (см. табл. 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 сGMP, 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 сGMP, 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 сGMP крови предпочтительно превышает нормальный базовый уровень в 1,5-3 раза. Нормальный базовый уровень сGMP 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 табл. 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. Достраивание 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 ч в табл. 2; ID последовательности 9, 10, 11, 14, 15, 18, 56, 72) и предотвращали кажущееся истощение/интернализацию рецептора (см. данные для 6 ч в табл. 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 ч в табл. 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	SLRRSSCFGGRMDRIGASGLGCNSFRY	37,86 (24,54)	-2,44 (17,16)
2) G-ANP	GSLRRSSCFGGRMDRIGASGLGCNSFRY	44,08 (18,37)	-13,85 (4,76)
3) GG-ANP	GGSLRRSSCFGGRMDRIGASGLGCNSFRY	46,79 (31,36)	0,16 (14,42)
4) GGG-ANP	GGGSLRRSSCFGGRMDRIGASGLGCNSFRY	41,66 (23,27)	-11,79 (2,0)
5) KGGG-ANP	KGGGSLRRSSCFGGRMDRIGASGLGCNSFRY	59,96 (45,75)	44,34 (34,71)

6) KKGGG- ANP	KKGGGSLRRSSCFGGRMDRIGAQ SGLGCNSFRY	28,6 (25,15)	-4,81 (4,37)
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- KKKKSLRRSSCFGGRMDRIGAS GLGCNSFRY	45,00 (17,17)	12,79 (6,65)
36) C18- KKKK-ANP (np.)	CH ₃ (CH ₂) ₁₆ CO- KKKKSLRRSSCFGGRMDRIGAS 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(np.)	CH ₃ (CH ₂) ₁₆ CO-RRR- SGRGGGCFGGRMDRIGASGLG CNSFRY	45,61 (30,45)	10,16 (6,53)

38)	C18- RRR- ANP(мр.)	CH ₃ (CH ₂) ₁₆ CO-RRR- SGRGSFCFGRMDRIGASGLG CNSFRY	33,56 (13,03)	7,97 (6,01)
39)	C18- RRR- ANP(мр.)	CH ₃ (CH ₂) ₁₆ CO-RRR- SLPRSSCFGRMDRIGASGLG CNSFRY-NH ₂	неактивный	Неактивный
40)	C18- RRR- ANP(мр.)	CH ₃ (CH ₂) ₁₆ CO-RRR- SLPRSSCFGRM DRIGASGLG CNSFrY-NH ₂	Неактивный	неактивный
41) BNP		SPKMVQSGFCFRKMDRISSSSG LGCKVLRRH	49,77 (19,06)	8,20 (7,80)
56)	C18KKKKG GG-BNP	CH ₃ (CH ₂) ₁₆ COKKKKGGSPKMVQ GSGCFGRKMDRISSSSGLGCKVL RRH	479,02 (96,56)	321,23 (46,78)
44)	GGG- BNP	GGGSPKMVQSGFCFRKMDRIS SSGLGCKVLRRH	66,59 (4,18)	-5,01 (9,18)
42) G-BNP		GSPKMVQSGFCFRKMDRISSS GLGCKVLRRH	18,04 (4,68)	2,14 (7,06)
82)	C18- KKGGG- BNP	CH ₃ (CH ₂) ₁₆ COKKGGSPKMVQS GCFGRKMDRISSSSGLGCKVLR H	282,58 (34,04)	343,62 (55,24)
52)	C18- KKKGGG- BNP	CH ₃ (CH ₂) ₁₆ COKKKGGSPKMVQ SGCFGRKMDRISSSSGLGCKVLR RH	801,3 (93,1)	653,17 (67,48)
113)	C24- KKKKGGG- BNP	CH ₃ (CH ₂) ₂₂ COKKKKGGSPKMVQ GSGCFGRKMDRISSSSGLGCKVL RRH	119,14 (36,08)	108,33 (34,96)
57) CNP		GLSKGCFGLKLDRIGSMSGLGC	93,75 (9,85)	24,55 (5,39)
72)	C18KKKKGG G-CNP	CH ₃ (CH ₂) ₁₆ COKKKKGGGLSKGC FGLKLDRIGSMSGLGC	544,99 (119,32)	368,29 (47,63)
60)	GGG- CNP	GGGGLSKGCFGLKLDRIGSMSGL 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 COKKGGGLSKGCFG LKLDRIGSMSGLGC	80,2 (15,69)	42,37 (1,49)
68)	C18- KKKGGG- CNP	CH ₃ (CH ₂) ₁₆ COKKKGGGLSKGCF GLKLDRIGSMSGLGC	330,29 (35,56)	250,33 (16,29)
122)	C24- KKKKGGG- CNP	CH ₃ (CH ₂) ₂₂ COKKKKGGGLSKGC FGLKLDRIGSMSGLGC	251,92 (85,08)	209,24 (47,4)

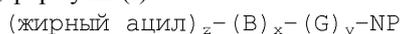
Как используют в настоящем описании, доза 1,5 мг/кг для человека также будет эквивалентом 15 мг/кг у мышей, как представлено в релевантных примерах данных, которая является эквивалентом приблизительно 7,5 мг/кг дозе крысы, которая является эквивалентом приблизительно 2,5 мг/кг дозе собаки, которая является эквивалентом приблизительно 1,5 мг/кг дозе человека. Поскольку ответ мышей на 15 мг/кг достаточно высок для вновь обнаруженных производных (см. табл. 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 сGMP, 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 сGMP через 2 ч 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 неперевышения 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 коррекцию 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 изобретения иллюстрирован и описан, следует принимать во внимание, что различные изменения можно выполнять в нем, не отступая от сущности и объема раскрытия.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Натрийуретический пептид 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 2 до 4 и y представляет собой целое от 1 до 3; жирный ацил содержит от 12 до 24 атомов углерода;

В 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 (В)_x;

(жирный ацил)₂-(В)_x- ковалентно связывают с N-концом в (G)_y и

(жирный ацил)_z-(В)_x-(G)_y- ковалентно связывают с N-концом в NP,

где натрийуретический пептид повышает уровень сGMP крови при парентеральном введении млекопитающему до уровня выше, чем натрийуретический пептид NP при парентеральном введении млекопитающему в эквивалентной дозе.

2. Натрийуретический пептид по п.1, где жирный ацил содержит от 12 до 18 атомов углерода.

3. Натрийуретический пептид по п.1 или 2, где эквивалентная доза представляет собой дозу в моль/кг, дозу в мг/кг или дозу как в моль/кг, так и в мг/кг.

4. Натрийуретический пептид по п.1, где

NP выбирают из ANP человека (SEQ ID NO: 1), ANP грызуна (SEQ ID NO: 19), BNP человека (SEQ ID NO: 41) и CNP человека (SEQ ID NO: 57); или

NP представляет собой ANP человека (SEQ ID NO: 1); или

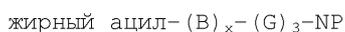
NP представляет собой ANP грызуна (SEQ ID NO: 19); или

NP представляет собой BNP человека (SEQ ID NO: 41); или

NP представляет собой CNP человека (SEQ ID NO: 57).

5. Натрийуретический пептид по любому одному из пп.1-4, где В представляет собой лизин.

6. Натрийуретический пептид по любому одному из пп.1-5, где натрийуретический пептид имеет формулу (II)



(II),

где жирный ацил содержит от 12 до 24 атомов углерода;

В представляет собой лизин или аргинин;

x представляет собой целое от 2 до 4;

G представляет собой глицин;

NP представляет собой натрийуретический пептид;

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

жирный ацил-(В)_x- ковалентно связывают с N-концом в (G)₃;

жирный ацил-(В)_x-(G)₃- ковалентно связывают с N-концом в NP.

7. Натрийуретический пептид по п.6, где жирный ацил содержит от 12 до 18 атомов углерода.

8. Натрийуретический пептид по любому одному из пп.1-7, где жирный ацил содержит 18 атомов углерода.

9. Натрийуретический пептид по п.6 или 7, где -(В)_x-(G)₃-выбирают из -KKGGG-, -KKKGGG- и -KKKKGGG-.

10. Натрийуретический пептид по любому одному из пп.6-9, где

натрийуретический пептид представляет собой одну из SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 56, SEQ ID NO: 82, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 122 и SEQ ID NO: 72; или

натрийуретический пептид представляет собой одну из SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 56 и SEQ ID NO: 72; или

натрийуретический пептид представляет собой одну из SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 56, SEQ ID NO: 82, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 122 и SEQ ID NO: 72; или

натрийуретический пептид представляет собой одну из SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 74, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 84 и SEQ ID NO: 85; или

натрийуретический пептид представляет собой одну из SEQ ID NO: 93, SEQ ID NO: 94, SEQ ID NO: 95, SEQ ID NO: 102, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 104, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 112, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 120, SEQ ID NO: 121 и SEQ ID NO: 122.

11. Натрийуретический пептид по любому одному из пп.1-5, где натрийуретический пептид имеет формулу (III)



(III),

где В представляет собой лизин или аргинин;

x представляет собой целое от 2 до 4;

G представляет собой глицин;

y представляет собой целое от 1 до 3;

NP представляет собой натрийуретический пептид;

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

12. Натрийуретический пептид по п.11, где натрийуретический пептид представляет одну из SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 8 и SEQ ID NO: 44.

13. Фармацевтическая композиция, содержащая натрийуретический пептид по любому одному из пп.1-12 и эксципиент.

14. Применение натрийуретического пептида, как определено в любом одном из пп.1-12, для лечения заболевания, где заболевание выбирают из гипертензии, сосудистого застоя и заболевания сердца.

15. Применение по п.14, где заболевание представляет собой заболевание сердца.

16. Способ лечения гипертензии, сосудистого застоя и заболевания сердца у пациента, включающий парентеральное введение пациенту натрийуретического пептида по любому одному из пп.1-12.

17. Способ по п.16, в котором натрийуретический пептид по любому из пп.1-12 вводят пациенту при дозе от 0,1 до 1,5 мг/кг в сутки.

18. Способ по п.17, где композицию вводят пациенту при дозе от 0,1 до 0,3 мг/кг в сутки.

19. Применение натрийуретического пептида по любому одному из пп.1-12 для получения средства для лечения заболевания, где заболевание выбирают из гипертензии, сосудистого застоя и заболевания сердца.

