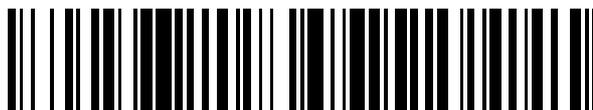


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 566 830**

51 Int. Cl.:

**C07K 7/08** (2006.01)  
**A61K 47/48** (2006.01)  
**C07K 14/58** (2006.01)  
**C07K 14/63** (2006.01)  
**C07K 19/00** (2006.01)  
**C12N 15/09** (2006.01)  
**C12P 21/02** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **22.05.2009 E 09750669 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.01.2016 EP 2277890**

54 Título: **Péptido capaz de extender la semivida de péptido de interés en plasma**

30 Prioridad:

**23.05.2008 JP 2008136106**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

**15.04.2016**

73 Titular/es:

**DAIICHI SANKYO COMPANY, LIMITED (100.0%)**  
**3-5-1, Nihonbashi Honcho, Chuo-ku**  
**Tokyo, JP**

72 Inventor/es:

**WAKABAYASHI, NAOMI y**  
**SATO, SEIJI**

74 Agente/Representante:

**ARIAS SANZ, Juan**

**ES 2 566 830 T3**

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Péptido capaz de extender la semivida de péptido de interés en plasma

5 La presente invención se define en las reivindicaciones.

Se describe un péptido que es capaz de dar utilidad terapéutica mejorando la farmacocinética *in vivo* del péptido objeto y dar la farmacocinética *in vivo* que cumple el objeto de tratamiento, un péptido quimérico donde la farmacocinética *in vivo* se mejora y la actividad fisiológica del péptido objeto está disponible, una composición farmacéutica que contiene el péptido quimérico y proceso para producir el péptido quimérico.

Incluso cuando un péptido fisiológico que se puede aplicar como un fármaco está presente, parte del péptido tiene una semivida corta en plasma y, en su aplicación para fines terapéuticos, es necesario intentar el logro por medio de la administración continua por medios intravenosos o subcutáneos o por administración de una preparación DDS de un tipo de liberación sostenida. Por tanto, son necesarios mucho tiempo y coste durante un periodo de tiempo largo para la aplicación real.

Por ejemplo, como un ejemplo donde la semivida en plasma del péptido fisiológicamente activo se extiende y se realiza el desarrollo como un fármaco, hay un caso de péptido similar a glucagón 1 (documento no de patente 1). En estudios clínicos para clarificar la acción del péptido fisiológicamente activo, se ha usado mucho la administración intravenosa de liberación sostenida (documento no de patente 2) y, para el tratamiento de diabetes mellitus de tipo 2, se ha creado un péptido donde la semivida se extiende por lo cual es posible administración subcutánea embolada. Como tal, para desarrollar como un agente de tratamiento real, hay un caso donde es necesario el desarrollo de derivados donde se extiende la semivida y, en tal caso, los derivados del péptido fisiológicamente activo se sintetizan químicamente o, incluso en el caso de un tipo diferente de péptido natural, se ha desarrollado el que tiene una semivida larga (documentos no de patente 3 a 5).

Cuando un péptido fisiológicamente activo que tiene una semivida corta se va a aplicar como fármaco, hay un intento donde se une a una proteína que tiene una semivida larga de modo que la semivida del péptido fisiológicamente activo se hace casi la semivida de la proteína. Por ejemplo, un intento tal como que la proteína fisiológicamente activa objeto y la proteína se unen a través de un espaciador que tiene un grupo de unión a seroalbúmina ha estado en una fase de prueba (documento no de patente 6).

Según esto, para someter el péptido fisiológicamente activo que tiene una semivida corta a uso práctico, se ha esperado que la farmacocinética *in vivo* mejore añadiendo una sustancia que sea capaz de extender la semivida por lo cual el péptido fisiológicamente activo que era incapaz de mostrar un efecto terapéutico en el estado de la técnica se aplica a un fin médico.

Ya se han llevado a cabo ampliamente intentos donde el péptido fisiológicamente activo que tiene una semivida corta se modifica de modo que se aplique como un fármaco. Se ha intentado estabilizar el péptido, dar una propiedad de sostenimiento mediante una mejora en la preparación, etc., y también se han conocido ejemplos donde la implementación práctica tuvo éxito.

Por otra parte, grelina es una hormona que se encontró en el estómago en 1999, tiene una secuencia de aminoácidos que comprende 28 residuos y es un péptido que tiene una estructura química muy inusual donde el tercer aminoácido desde el amino terminal de la secuencia está acilado con ácido graso (documento no de patente 6 y documento de patente 1). La grelina es una hormona endógena del cerebro y aparato digestivo (documento no de patente 7) que actúa sobre un receptor del secretagogo de la hormona de crecimiento 1a (GHS-R1a) (documento no de patente 7) para fomentar la secreción de hormona de crecimiento (GH) de la hipófisis.

Además, la grelina se aisló y purificó primero de ratas como un GHS endógeno para GHS-R1a. Además, también se ha aislado grelina que tiene la estructura primaria similar de animales vertebrados diferentes de la rata tal como ser humano, ratón, cerdo, ave doméstica, anguila, ganado, caballo, oveja, rana, trucha arcoíris o perro y la secuencia de aminoácidos de los mismos ya se conoce (documento de patente 1 y documento no de patente 8). Todas la grelinas anteriores es un péptido donde un grupo hidroxilo de cadena lateral del residuo de serina o residuo de treonina en la posición 3 está acilado por ácido graso tal como ácido octanoico o ácido decanoico y, con respecto al péptido fisiológicamente activo que tiene tal estructura hidrofólicamente modificada, no hay ejemplo de que se aisle de un cuerpo vivo excepto grelina.

En estudios recientes, se ha clarificado que la grelina fomenta el apetito, que una administración subcutánea de grelina aumenta el peso corporal y la grasa corporal (documentos no de patente 9 a 11) y que está disponible una acción tal como mejorar la función cardiaca (documentos no de patente 12 a 14). Además, la grelina tiene una acción promotora para la secreción de GH y una acción promotora para el apetito y se ha esperado que una acción donde la grasa se quema a través de la acción de GH de modo que se convierta en energía o un efecto donde la acción anabólica de GH se exprese de modo que se potencia es músculo se pueda producir más eficazmente por el fomento del apetito (documento no de patente 15).

Sin embargo, el estado actual es que, aunque se muestra que el centro activo de la grelina es una fracción N-terminal que tiene un grupo acilo (documento de patente 1), aún hay puntos ambiguos para la significación fisiológica de la fracción C-terminal.

5

#### Lista de referencias

[Bibliografía de patentes]

10 [PTL 1] WO 01/078475

[Bibliografía no de patente]

- 15 [NPL 1] Mojsov S, Weir GC, Habener JF. J Clin Invest. 1987, 79(2) :616-619.  
 [NPL 2] Nauck MA, Heimesaat MM, Orskov C, Holst JJ, Ebert R, Creutzfeldt W., J Clin Invest. 1993, 91 (1) :301-307.  
 [NPL 3] O'Harte FP, Mooney MH, Lawlor A, Flatt PR., Biochim Biophys Acta. 2000, 6:1474(1) :13-22.  
 [NPL 4] Madsbad S, Schmitz O, Ranstam J, Jakobsen G, Matthews DR., Diabetes Care. 2004, 27(6) :1335-1342.  
 [NPL 5] DeFronzo RA, Ratner RE, Han J, Kim DD, Fineman MS, Baron AD., Diabetes Care. 2005, 28(5) :1092-1100.  
 20 [NPL 6] Kim JG, Baggio LL, Bridon DP, Castaigne JP, Robitaille MF, Jette L, Benquet C, Drucker DJ., Diabetes. 2003, 52(3):751-759.  
 [NPL 7] Kojima M, Hosoda H, Date Y, Nakazato M, Matsuo H, Kangawa K., 1: Nature. 1999, 9:402(6762):656-660.  
 [NPL 8] Kojima M, Samukawa K., Seikagaku. 2007, 79(9):853-867.  
 [NPL 9] Choi K, Roh SG, Hong YH, Shrestha YB, Hishikawa D, Chen C, Kojima M, Kangawa K, Sasaki S., Endocrinology. 2003, 144(3):754-9.  
 25 [NPL 10] Neary NM, Small CJ, Wren AM, Lee JL, Druce MR, Palmieri C, Frost GS, Ghatei MA, Coombes RC, Bloom SR., J Clin Endocrinol Metab. 2004, 89(6):2832-6.  
 [NPL 11] Akamizu T, Iwakura H, Ariyasu H, Hosoda H, Murayama T, Yokode M, Teramukai S, Seno H, Chiba T, Noma S, Nakai Y, Fukunaga M, Nakai Y, Kangawa K., FD Clinical Study Team. Eur J Endocrinol. 2008, 158(4):491-8.  
 30 [NPL 12] Nagaya N, Kojima M, Uematsu M, Yamagishi M, Hosoda H, Oya H, Hayashi Y, Kangawa K., Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 2001, 80(5):R1483-7.  
 [NPL 13] Nagaya N, Miyatake K, Uematsu M, Oya H, Shimizu W, Hosoda H, Kojima M, Nakanishi N, Mori H, Kangawa K., 1: J Clin Endocrinol Metab. 2001, 86(12):5854-5859.  
 [NPL 14] Nagaya N, Uematsu M, Kojima M, Ikeda Y, Yoshihara F, Shimizu W, Hosoda H, Hirota Y, Ishida H, Mori H, Kangawa K., Circulation. 2001, 18:104(12):1430-1435.  
 35 [NPL 15] Korbonits M, Goldstone AP, Gueorquiev M, Grossman AB, Front Neuroendocrinol., 2004, 25:27-68.  
 [NPL 16] Nguyen Allen et al.: "The pharmacokinetics of an albumin-binding Fab (AB.Fab) can be modulated as a function of affinity for albumin", PROTEIN ENGINEERING, DESIGN & SELECTION: PEDS JUL 2006, vol. 19, no. 7, 1 de julio, 2006 (01-07-2006), páginas 291-297.  
 40 [NPL 17] Dennis M. S. et al.: "Albumin binding as a general strategy for improving the pharmacokinetics of proteins", JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, THE AMERICAN SOCIETY OF BIOLOGICAL CHEMISTS, INC., BALTIMORE, MD, US, vol. 277, no. 38, 20 de septiembre 2002 (20-09-2002), páginas 35035-35043.

45 Un objeto es proporcionar un péptido que tiene una acción de extender la semivida de un péptido fisiológicamente activo que no es adecuado como un fármaco debido a su corta semivida en plasma; un péptido quimérico que tiene una actividad fisiológica del péptido objeto y que se puede usar prácticamente como fármaco debido a su extensión de la semivida en plasma; y un proceso para producir el péptido quimérico.

50 Los presentes inventores han intentado desarrollar un péptido que puede extender su semivida en plasma mediante la adición de un péptido que tiene una actividad fisiológica dirigida (de aquí en adelante se llamará el péptido objeto) que se tenía que inyectar por vía intravenosa o subcutánea continuamente para aplicarse como un fármaco debido a su corta semivida en plasma y han encontrado una secuencia de aminoácidos que se va a convertir en un motivo de extensión de semivida en la fracción C terminal de la secuencia de aminoácidos de grelina. El péptido que tiene una secuencia de aminoácidos que es capaz de extender la semivida se llama un péptido de extensión de la semivida en 55 la presente invención.

60 Por tanto, se ha encontrado que, cuando el péptido de extensión de la semivida se une a un lado N terminal, lado C terminal o ambos terminales del péptido objeto (tal como el péptido natriurético auricular (ANP), péptido natriurético de tipo C (CNP) o motilina), la semivida en plasma se puede extender mientras que la actividad fisiológica del péptido objeto aún se conserva. En la presente invención, un péptido que se produce uniendo el péptido de extensión de la semivida con el péptido objeto y tiene una semivida extendida en plasma comparado con el péptido objeto donde la actividad del péptido objeto aún se puede conservar se llama un péptido quimérico.

65 También se ha encontrado que la secuencia de aminoácidos que se refiere al péptido de extensión de la vida media se puede usar no solo en el caso basado en la secuencia de aminoácidos natural sino también en el caso basado en

la secuencia invertida donde el N terminal y C terminal de la misma están invertidos o en el caso basado en la secuencia en que el N terminal y el C terminal están parcialmente invertidos.

5 Se ha encontrado además que el péptido quimérico tiene resistencia a una enzima que descompone el péptido objeto (tal como endopeptidasa neutra) y, igual que en el caso de un péptido objeto de un nativo, no muestra propiedad antigénica incluso tras administración repetida, sino que se puede usar de forma segura.

10 Además, cuando el péptido objeto de un péptido nativo y quimérico se administran a individuos en la misma dosis y el mismo método de uso, se puede lograr una acción fisiológica diana suficiente en el cuerpo vivo si un péptido de extensión de la semivida se une al péptido de modo que extienda la semivida incluso cuando la dosis es incapaz de dar una acción fisiológica diana suficiente mediante el uso del péptido objeto solo. Como resultado, se ha mostrado que el método de uso que no es una inyección continua puede dar la adaptabilidad como fármaco. Por tanto, se ha encontrado que, cuando el péptido de extensión de la semivida según la presente invención se añade al péptido objeto donde una administración intravenosa o subcutánea continua es necesaria debido a su corta semivida, ahora es posible una administración embolada y, además, la actividad objeto se puede alcanzar fácilmente en el péptido quimérico comparado con el péptido objeto de un nativo.

20 La presente invención se ha alcanzado basada en el descubrimiento anterior y se refiere a un péptido quimérico, que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 118, 119, 120, 121, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 139, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 154, 155, 156, 157 o 158; y una composición farmacéutica en la que dicho péptido quimérico o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo es un ingrediente eficaz, en donde preferiblemente (a) el péptido quimérico es un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 106, 107 o 108, y la enfermedad es una enfermedad seleccionada de insuficiencia cardíaca aguda, insuficiencia cardíaca crónica, arterioesclerosis obliterante, cardiopatía isquémica, hipertensión, edema, miocardiopatía, retinitis, enfermedad renal diabética, nefroesclerosis e infarto de miocardio; (b) el péptido quimérico es un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 109, 110, 124, 125, 126, 127, 129, 130, 157 o 158, y la enfermedad es una enfermedad seleccionada de condrodisplasia atípica, restenosis tras PTCA tras estenosis de la arteria coronaria, hipertensión pulmonar, enfermedad obliterante de la arteria periférica, artrosis, artritis reumatoide, fibrosis pulmonar, fibrosis hepática, fibrosis renal, infarto de miocardio y miocarditis; o (c) el péptido quimérico es un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID: 111, 112, 113, 114, 115, 116, 118, 119, 120, 121, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 139, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 154, 155 o 156, y la enfermedad es una enfermedad seleccionada de dispepsia funcional, esofagitis por reflujo, parálisis de motilidad gástrica diabética, síndrome del intestino irritable de tipo estreñimiento, pseudoíleo crónico, íleo posoperatorio, gastritis crónica y gastritis atrófica.

Se describen los siguientes puntos:

Punto 1:

40 Un péptido de los siguientes (I) o (II)

45 (I) Un péptido representado por la fórmula B, A-B, B-C o A-B-C en la que A, B y C está representado cada uno por los siguientes (1), (2) y (3) y, cuando se une a otro péptido objeto, es capaz de extender la semivida en plasma comparado con el péptido objeto donde la actividad fisiológica aún se conserva.

50 (II) Un péptido que comprende una secuencia invertida del péptido de (I); una secuencia que está representada por A-B en (I) y A o B está invertido; una secuencia que está representada por B-C en (I) y B o C está invertido; o una secuencia que está representada por A-B-C en (I) y A, B, C, A y B, B y C o A y C está invertida.

(1) A es un péptido que comprende de 1 a 14 de cualquier aminoácido

(2) B es un péptido representado por la fórmula 1: (Wk-Xl-Y-Zm-Wn)-(Wo-Xp-Y-Zq-Wr)s

55 (En la fórmula 1, W es un aminoácido básico; X y Z son cualquier aminoácido; Y es un aminoácido ácido; k es 1 o 2; l es un número entero de  $4 \geq l \geq 0$ ; m es un número entero de  $2 \geq m \geq 0$ ;  $4 \geq l + m \geq 0$ ; n es 1 o 2; o es 1 o 2; p es un número entero de  $4 \geq p \geq 0$ ; q es un número entero de  $2 \geq q \geq 0$ ;  $4 \geq p + q \geq 0$ ; r es 1 o 2; y s es 0 o 1).

(3) C es un péptido que comprende de 2 a 14 de cualquier aminoácido.

60 Punto 2:

El péptido según el punto 1, en donde B es un péptido donde s es 1 en la fórmula 1.

Punto 3:

65 El péptido según el punto 2, en donde o es 0, p es 0, q es 0 y r es 2 en la fórmula 1.

Punto 4:

5 El péptido según el punto 1, en donde C contiene de 4 a 9 secuencias de aminoácidos que son capaces de tomar una estructura de hélice  $\alpha$ .

Punto 5:

10 El péptido según el punto 4, en donde C tiene una secuencia de Pro entre su terminal y la secuencia de aminoácidos capaz de tomar una estructura de hélice  $\alpha$ .

Punto 6:

15 El péptido representado por la fórmula B, A-B, B-C o A-B-C y, en la fórmula, A, B y C cada uno es el siguiente (1) o (2) y, cuando está unido a otro péptido, su semivida se puede extender donde la actividad fisiológica aún se conserva.

20 (1) A es una secuencia de aminoácidos de uno o más números de aminoácidos 1 a 4 que sigue a B en SEQ ID NO: 34 o una secuencia de aminoácidos donde uno o algunos aminoácido(s) en la anterior secuencia de aminoácidos se deletiona(n), sustituye(n) y/o añade(n);

B es una secuencia de aminoácidos de números de aminoácidos 5 a 9 en SEQ ID NO: 34 o una secuencia de aminoácidos donde uno o algunos aminoácido(s) en la anterior secuencia de aminoácidos se deletiona(n), sustituye(n) y/o añade(n); y

25 C es una secuencia de aminoácidos de uno o más números de aminoácidos 10 a 17 que sigue a B en SEQ ID NO: 34 o una secuencia de aminoácidos donde uno o algunos aminoácido(s) en la anterior secuencia de aminoácidos se deletiona(n), sustituye(n) y/o añade(n).

30 (2) A es una secuencia de aminoácidos de uno o más números de aminoácidos 1 a 8 que sigue a B en SEQ ID NO: 67 o una secuencia de aminoácidos donde uno o algunos aminoácido(s) en la anterior secuencia de aminoácidos se deletiona(n), sustituye(n) y/o añade(n);

B es una secuencia de aminoácidos de números de aminoácidos 9 a 13 en SEQ ID NO: 67 o una secuencia de aminoácidos donde uno o algunos aminoácido(s) en la anterior secuencia de aminoácidos se deletiona(n), sustituye(n) y/o añade(n); y

35 C es una secuencia de aminoácidos de uno o más números de aminoácidos 14 a 17 que sigue a B en SEQ ID NO: 67 o una secuencia de aminoácidos donde uno o algunos aminoácido(s) en la anterior secuencia de aminoácidos se deletiona(n), sustituye(n) y/o añade(n).

Punto 7:

40 El péptido según el punto 6, en donde está representado por la fórmula: B en la que

45 B es una secuencia seleccionada del grupo que consiste en los números de aminoácidos 5 a 9 en SEQ ID NO: 34, 36, 39 a 41, 47, 48, 50 y 53 a 57; los números de aminoácidos 4 a 8 en SEQ ID NO: 35, 37, 38, 42 a 46, 49 y 52; los números de aminoácidos 2 a 6 en SEQ ID NO: 58 a 60; los números de aminoácidos 3 a 6 en SEQ ID NO: 61 y 62; los números de aminoácidos de 3 a 7 en SEQ ID NO: 63 a 65; y los números de aminoácidos 1 a 3 en SEQ ID NO: 66.

Punto 8:

50 El péptido según el punto 6, en donde está representado por la fórmula: A-B o B-C en la que

55 B es una secuencia seleccionada del grupo que consiste en los números de aminoácidos 5 a 9 en SEQ ID NO: 34, 36, 39 a 41, 47, 48, 50 y 53 a 57; los números de aminoácidos 4 a 8 en SEQ ID NO: 35, 37, 38, 42 a 46, 49 y 52; los números de aminoácidos 2 a 6 en SEQ ID NO: 58 a 60; los números de aminoácidos 3 a 6 en SEQ ID NO: 61 y 62; los números de aminoácidos de 3 a 7 en SEQ ID NO: 63 a 65; y los números de aminoácidos 1 a 3 en SEQ ID NO: 66,

60 A es una secuencia seleccionada del grupo que consiste en una secuencia que comprende al menos un aminoácido que continúa del lado C terminal de los números de aminoácidos 1 a 4 en SEQ ID NO: 34, 36, 39 a 41, 47, 48, 50 y 52 a 57; una secuencia que comprende al menos un aminoácido que continúa del lado C terminal de los números de aminoácidos 1 a 3 en SEQ ID NO: 35, 37, 38, 42 a 46, 49 y 52; una secuencia de número de aminoácido 1 en SEQ ID NO: 58 a 60; y una secuencia que comprende al menos un aminoácido que continúa del lado C terminal de los números de aminoácidos 1 a 2 en SEQ ID NO: 61 a 65,

65 C es una secuencia seleccionada del grupo que consiste en una secuencia que comprende al menos un aminoácido que continúa del lado N-terminal de los números de aminoácidos 10 a 17 en SEQ ID NO: 34, 36, 39 a 41, 47, 48, 50

y 53 a 54; una secuencia que comprende al menos un aminoácido que continúa del lado N-terminal de los números de aminoácidos 9 a 16 en SEQ ID NO: 35, 37, 38, 42 a 46, 49 y 52; una secuencia que comprende al menos un aminoácido que continúa del lado N-terminal de los números de aminoácidos 10 a 16 en SEQ ID NO: 57; una secuencia que comprende al menos un aminoácido que continúa del lado N-terminal de los números de aminoácidos 7 a 20 en SEQ ID NO: 58; una secuencia que comprende al menos un aminoácido que continúa del lado N-terminal de los números de aminoácidos 7 a 13 en SEQ ID NO: 61; una secuencia que comprende al menos un aminoácido que continúa del lado N-terminal de los números de aminoácidos 8 a 14 en SEQ ID NO: 63; una secuencia que comprende al menos un aminoácido que continúa de lado N-terminal de los números de aminoácidos 4 a 18 en SEQ ID NO: 66.

Punto 9:

El péptido según el punto 6, en donde está representado por la fórmula: A-B-C y, en la fórmula A, B y C son los mismos que en el punto 8.

Punto 10:

El péptido según el punto 6, en donde está representado por la fórmula: B y, en la fórmula,

B es una secuencia seleccionada del grupo que consiste en números de aminoácido 9 a 13 en SEQ ID NO: 67 a 87; números de aminoácido 15 a 19 en SEQ ID NO: 91; números de aminoácido 8 a 11 en SEQ ID NO: 94; números de aminoácido 16 a 18 en SEQ ID NO: 99.

Punto 11:

El péptido según el punto 6, en donde está representado por la fórmula: A-B o B-C y, en la fórmula,

B es una secuencia seleccionada del grupo que consiste en números de aminoácido 9 a 13 en SEQ ID NO: 67 a 87; números de aminoácidos 8 a 12 en SEQ ID NO: 90; números de aminoácido 15 a 19 en SEQ ID NO: 91; números de aminoácido 8 a 11 en SEQ ID NO: 94; números de aminoácido 8 a 12 en SEQ ID NO: 96; y números de aminoácido 16 a 18 en SEQ ID NO: 99,

A es una secuencia seleccionada del grupo que consiste en una secuencia que comprende al menos un aminoácido que continúa del lado C terminal de números de aminoácido 1 a 8 en SEQ ID NO: 67 a 87; una secuencia que comprende al menos un aminoácido que continúa del lado C terminal de números de aminoácido 1 a 7 en SEQ ID NO: 90; una secuencia que comprende al menos un aminoácido que continúa del lado C terminal de números de aminoácido 1 a 14 en SEQ ID NO: 91; una secuencia que comprende al menos un aminoácido que continúa del lado C terminal de números de aminoácido 1 a 7 en SEQ ID NO: 94 y 96; una secuencia que comprende al menos un aminoácido que continúa del lado C terminal de números de aminoácido 1 a 15 en SEQ ID NO: 99 y

C es una secuencia seleccionada del grupo que consiste en una secuencia que comprende al menos un aminoácido que continúa del lado N terminal de los números de aminoácido 14 a 17 en SEQ ID NO: 67, 69, 72 a 74, 80, 81, 83 y 86 a 87; una secuencia que comprende al menos un aminoácido que continúa del lado N terminal de los números de aminoácido 14 a 16 en SEQ ID NO: 68, 70, 71, 75 a 79, 82 y 85; una secuencia que comprende al menos un aminoácido que continúa del lado N terminal de los números de aminoácido 13 a 16 en SEQ ID NO: 90; un número de aminoácido 20 en SEQ ID NO: 91; una secuencia que comprende al menos un aminoácido que continúa del lado N terminal de los números de aminoácidos 12 a 13 en SEQ ID NO: 94; y una secuencia que comprende al menos un aminoácido que continúa del lado N terminal de los números de aminoácidos 13 a 14 en SEQ ID NO: 96.

Punto 12:

El péptido según el punto 6, en donde está representado por la fórmula: A-B-C y, en la fórmula A, B y C son los mismos que en el punto 11.

Punto 13:

El péptido según el punto 6, en donde está representado por la fórmula: B y, en la fórmula,

B es una secuencia seleccionada del grupo que consiste en los números de aminoácido 5 a 9 en SEQ ID NO: 34, 36, 39 a 41, 47, 48, 50 y 53 a 57; números de aminoácido 4 a 8 en SEQ ID NO: 35, 37, 38, 42 a 46, 49 y 52; y números de aminoácido 2 a 6 en SEQ ID NO: 58 a 60.

Punto 14:

El péptido según el punto 6, en donde está representado por la fórmula: A-B o B-C y, en la fórmula,

## ES 2 566 830 T3

B es una secuencia seleccionada del grupo que consiste en los números de aminoácido 5 a 9 en SEQ ID NO: 34, 36, 39 a 41, 47, 48, 50 y 53 a 57; números de aminoácido 4 a 8 en SEQ ID NO: 35, 37, 38, 42 a 46, 49 y 52; y números de aminoácido 2 a 6 en SEQ ID NO: 58 a 60,

5 A es una secuencia seleccionada del grupo que consiste en una secuencia que comprende al menos un aminoácido que continúa del lado C terminal de los números de aminoácido 1 a 4 en SEQ ID NO: 34, 36, 39 a 41, 47, 48, 50 y 53 a 57; una secuencia que comprende al menos un aminoácido que continúa del lado C terminal de los números de aminoácido 1 a 3 en SEQ ID NO: 35, 37, 38, 42 a 46, 49 y 52; y un número de aminoácido 1 en SEQ ID NO: 58 a 60 y

10 C es una secuencia seleccionada del grupo que consiste en una secuencia que comprende al menos un aminoácido que continúa del lado N terminal de los números de aminoácido 10 a 17 en SEQ ID NO: 34, 36, 39 a 41, 47, 48, 50 y 53 a 54; una secuencia que comprende al menos un aminoácido que continúa del lado N terminal de los números de aminoácido 9 a 16 en SEQ ID NO: 35, 37, 38, 42 a 46, 49 y 52; una secuencia que comprende al menos un aminoácido que continúa del lado N terminal de los números de aminoácido 10 a 16 en SEQ ID NO: 57; y una secuencia que comprende al menos un aminoácido que continúa del lado N terminal de los números de aminoácido 7 a 20 en SEQ ID NO: 58.

Punto 15:

20 El péptido según el punto 14, en donde está representado por la fórmula: A-B-C y, en la fórmula A, B y C son los mismos que en el punto 14.

Punto 16:

25 El péptido según el punto 6, en donde está representado por la fórmula: B y, en la fórmula,

B es una secuencia seleccionada del grupo que consiste en los números de aminoácido 9 a 13 en SEQ ID NO: 67 a 87; números de aminoácido 8 a 12 en SEQ ID NO: 90; y números de aminoácido 15 a 19 en SEQ ID NO: 91.

30 Punto 17:

El péptido según el punto 6, en donde está representado por la fórmula: A-B o B-C y, en la fórmula,

35 B es una secuencia seleccionada del grupo que consiste en los números de aminoácido 9 a 13 en SEQ ID NO: 67 a 87; números de aminoácido 8 a 12 en SEQ ID NO: 90; y números de aminoácido 15 a 19 en SEQ ID NO: 91,

40 A es una secuencia seleccionada del grupo que consiste en una secuencia que comprende al menos un aminoácido que continúa del lado C terminal de los números de aminoácido 1 a 8 en SEQ ID NO: 67 a 87; una secuencia que comprende al menos un aminoácido que continúa del lado C terminal de los números de aminoácido 1 a 7 en SEQ ID NO: 90; y una secuencia que comprende al menos un aminoácido que continúa del lado C terminal de los números de aminoácido 1 a 14 en SEQ ID NO: 91 y

45 C es una secuencia seleccionada del grupo que consiste en una secuencia que comprende al menos un aminoácido que continúa del lado N terminal de los números de aminoácido 14 a 17 en SEQ ID NO: 67, 68, 72 a 74, 80, 81 83 y 86 a 87; una secuencia que comprende al menos un aminoácido que continúa del lado N terminal de los números de aminoácido 14 a 16 en SEQ ID NO: 68, 70, 71, 75 a 79, 82 y 85; una secuencia que comprende al menos un aminoácido que continúa del lado N terminal de los números de aminoácido 13 a 16 en SEQ ID NO: 90; y un número de aminoácido 20 en SEQ ID NO: 91.

50 Punto 18:

El péptido según el punto 6, en donde está representado por la fórmula: A-B-C y, en la fórmula A, B y C son los mismos que en el punto 17.

55 Punto 19:

El péptido según el punto 6, en donde está representado por la fórmula: B y, en la fórmula,

60 B es una secuencia seleccionada del grupo que consiste en los números de aminoácido 5 a 9 en SEQ ID NO: 34, 36, 39 a 41, 47, 48 y 50; y números de aminoácido 4 a 8 en SEQ ID NO: 35, 37, 38, 42 a 46, 49 y 52.

Punto 20:

65 El péptido según el punto 6, en donde está representado por la fórmula: A-B o B-C y, en la fórmula,

## ES 2 566 830 T3

B es una secuencia seleccionada del grupo que consiste en los números de aminoácido 5 a 9 en SEQ ID NO: 34, 36, 39 a 41, 47, 48 y 50; y números de aminoácido 4 a 8 en SEQ ID NO: 35, 37, 38, 42 a 46, 49 y 52,

5 A es una secuencia seleccionada del grupo que consiste en una secuencia que comprende al menos un aminoácido que continúa del lado C terminal de los números de aminoácido 1 a 4 en SEQ ID NO: 34, 36, 39 a 41, 47, 48 y 50; y una secuencia que comprende al menos un aminoácido que continúa del lado C terminal de los números de aminoácido 1 a 3 en SEQ ID NO: 35, 37, 38, 42 a 46, 49 y 52 y

10 C es una secuencia seleccionada del grupo que consiste en una secuencia que comprende al menos un aminoácido que continúa del lado N terminal de los números de aminoácido 10 a 17 en SEQ ID NO: 34, 36, 39 a 41, 47, 48 y 50; y una secuencia que comprende al menos un aminoácido que continúa del lado N terminal de los números de aminoácido 9 a 16 en SEQ ID NO: 35, 37, 38, 42 a 46, 49 y 52.

15 Punto 21:

El péptido según el punto 6, en donde está representado por la fórmula: A-B-C y, en la fórmula A, B y C son los mismos que en el punto 20.

20 Punto 22:

El péptido según el punto 6, en donde está representado por la fórmula: B y, en la fórmula,

B es una secuencia seleccionada del grupo que consiste en los números de aminoácido 9 a 13 en SEQ ID NO: 67 a 85.

25 Punto 23:

El péptido según el punto 6, en donde está representado por la fórmula: A-B o B-C y, en la fórmula,

30 B es una secuencia seleccionada del grupo que consiste en los números de aminoácido 9 a 13 en SEQ ID NO: 67 a 85,

A es una secuencia seleccionada del grupo que consiste en una secuencia que comprende al menos un aminoácido que continúa del lado C terminal de los números de aminoácido 1 a 8 en SEQ ID NO: 67 a 85 y

35 C es una secuencia seleccionada del grupo que consiste en una secuencia que comprende al menos un aminoácido que continúa del lado N terminal de los números de aminoácido 14 a 17 en SEQ ID NO: 67, 69, 72 a 74, 80, 81 y 83 y una secuencia que comprende al menos un aminoácido que continúa del lado N terminal de los números de aminoácido 14 a 16 en SEQ ID NO: 68, 70, 71, 75 a 79, 82 y 85.

40 Punto 24:

El péptido según el punto 6, en donde está representado por la fórmula: A-B-C y, en la fórmula A, B y C son los mismos que en el punto 23.

45 Punto 25:

El péptido según el punto 6, en donde está representado por la fórmula: B y, en la fórmula,

50 B es una secuencia de los números de aminoácido 5 a 9 en SEQ ID NO: 34.

Punto 26:

El péptido según el punto 6, en donde está representado por la fórmula: A-B o B-C y, en la fórmula,

55 B es una secuencia de los números de aminoácido 5 a 9 en SEQ ID NO: 34,

A es una secuencia que comprende al menos un aminoácido que continúa del lado C terminal de los números de aminoácido 1 a 4 en SEQ ID NO: 34 y

60 C es secuencia que comprende al menos un aminoácido que continúa del lado N terminal de los números de aminoácido 10 a 17 en SEQ ID NO: 34.

Punto 27:

65

El péptido según el punto 6, en donde está representado por la fórmula: A-B-C y, en la fórmula A, B y C son los mismos que en el punto 26.

Punto 28:

5

El péptido según el punto 6, en donde está representado por la fórmula: B y, en la fórmula,

B es una secuencia de los números de aminoácido 9 a 13 en SEQ ID NO: 67.

10 Punto 29:

El péptido según el punto 6, en donde está representado por la fórmula: A-B o B-C y, en la fórmula,

15

B es una secuencia de los números de aminoácido 9 a 13 en SEQ ID NO: 67,

A es una secuencia que comprende al menos un aminoácido que continúa del lado C terminal de los números de aminoácido 1 a 8 en SEQ ID NO: 67 y

20

C es secuencia que comprende al menos un aminoácido que continúa del lado N terminal de los números de aminoácido 14 a 17 en SEQ ID NO: 67.

Punto 30:

25

El péptido según el punto 6, en donde está representado por la fórmula: A-B-C y, en la fórmula A, B y C son los mismos que en el punto 29.

Punto 31:

30

Un péptido quimérico donde un péptido seleccionado del grupo que consiste en los péptidos mencionados en cualquiera de los puntos 1 a 30 está unido al N terminal, C terminal o ambos del péptido objeto y su semivida en plasma se extiende comparado con el péptido objeto mientras que la actividad fisiológica del péptido objeto aún se conserva.

Punto 32:

35

El péptido quimérico según el punto 31, en donde el péptido seleccionado del grupo que consiste en los péptidos mencionados en cualquiera de los puntos 1 a 30 está unido al N terminal del péptido objeto.

Punto 33:

40

El péptido quimérico según el punto 31, en donde el péptido seleccionado del grupo que consiste en los péptidos mencionados en cualquiera de los puntos 1 a 30 está unido al C terminal del péptido objeto.

Punto 34:

45

El péptido quimérico según el punto 31, en donde el péptido seleccionado del grupo que consiste en los péptidos mencionados en cualquiera de los puntos 1 a 30 está unido a ambos terminales del péptido objeto.

Punto 35:

50

El péptido quimérico según cualquiera de los puntos 31 a 34, en donde el péptido objeto es un péptido natriurético auricular, un péptido natriurético de tipo C o motilina o derivados de los mismos.

Punto 36:

55

Una composición farmacéutica en la que el péptido quimérico mencionado en cualquiera de los puntos 31 a 35 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo es un ingrediente eficaz.

Punto 37:

60

La composición farmacéutica según el punto 36, en donde el péptido quimérico es el péptido mencionado en el punto 35.

Punto 38:

65

## ES 2 566 830 T3

La composición farmacéutica según el punto 37, en donde el péptido objeto en el péptido quimérico es un péptido natriurético auricular o un derivado del mismo.

Punto 39:

5 La composición farmacéutica según el punto 38, en donde es para el tratamiento de enfermedades seleccionadas de insuficiencia cardiaca aguda, insuficiencia cardiaca crónica, arterioesclerosis obliterante, cardiopatía isquémica, hipertensión, edema, miocardiopatía, retinitis, enfermedad renal diabética, nefroesclerosis e infarto de miocardio.

10 Punto 40:

La composición farmacéutica según el punto 37, en donde el péptido objeto en el péptido quimérico es un péptido natriurético de tipo C o un derivado del mismo.

15 Punto 41:

20 La composición farmacéutica según el punto 40, en donde es para el tratamiento de enfermedades seleccionadas de condrodisplasia atípica, restenosis después de PTCA después de estenosis de arteria coronaria, hipertensión pulmonar, enfermedad obliterante de la arteria periférica, artrosis, artritis reumatoide, fibrosis pulmonar, fibrosis hepática, fibrosis renal, infarto de miocardio y miocarditis.

Punto 42:

25 La composición farmacéutica según el punto 37, en donde el péptido objeto en el péptido quimérico es motilina o un derivado de la misma.

Punto 43:

30 La composición farmacéutica según el punto 42, en donde es para el tratamiento de enfermedades seleccionadas de dispepsia funcional, esofagitis por reflujo, parálisis de motilidad gástrica diabética, síndrome del intestino irritable de tipo estreñimiento, pseudoíleo crónico, íleo posoperatorio, gastritis crónica y gastritis atrófica.

Punto 44:

35 Un proceso para producir un péptido quimérico donde la semivida en plasma se extiende comparada con el péptido objeto y está disponible una actividad fisiológica del péptido objeto, caracterizado en que, un péptido seleccionado del grupo que consiste en los péptidos mencionados en cualquiera de los puntos 1 a 30 se une al N terminal, C terminal o ambos del péptido objeto.

40 Punto 45:

El proceso según el punto 44, en donde un péptido seleccionado del grupo que consiste en los péptidos mencionados en cualquiera de los puntos 1 a 30 se une al N terminal del péptido objeto.

45 Punto 46:

El proceso según el punto 44, en donde un péptido seleccionado del grupo que consiste en los péptidos mencionados en cualquiera de los puntos 1 a 30 se une al C terminal del péptido objeto.

50 Punto 47:

El proceso según el punto 44, en donde un péptido seleccionado del grupo que consiste en los péptidos mencionados en cualquiera de los puntos 1 a 30 se une a ambos terminales del péptido objeto.

55 Punto 48:

El proceso según cualquiera de los puntos 44 a 47, en donde el péptido objeto es un péptido natriurético o motilina o derivados de los mismos.

60 Punto 49:

El proceso según el punto 48, en donde el péptido objeto es un péptido natriurético auricular o un derivado del mismo.

65 Punto 50:

## ES 2 566 830 T3

El proceso según el punto 48, en donde el péptido objeto es un péptido natriurético de tipo C o un derivado del mismo.

Punto 51:

5

El proceso según el punto 48, en donde el péptido objeto es motilina o un derivado de la misma.

Punto 52:

10 Un método para el tratamiento de una enfermedad que se puede tratar por el péptido objeto contenido en una composición farmacéutica, que comprende la administración de la composición farmacéutica seleccionada de las composiciones farmacéuticas mencionadas en cualquiera de los puntos 36 a 43 a un individuo.

Punto 53:

15

El método para el tratamiento según el punto 52, en donde la composición farmacéutica es la composición farmacéutica mencionada en el punto 37.

Punto 54:

20

El método para el tratamiento según el punto 53, en donde la composición farmacéutica es la composición farmacéutica mencionada en el punto 38.

Punto 55:

25

El método para el tratamiento según el punto 54, en donde la enfermedad es una enfermedad seleccionada de insuficiencia cardiaca aguda, insuficiencia cardiaca crónica, arterioesclerosis obliterante, cardiopatía isquémica, hipertensión, edema, miocardiopatía, retinitis, enfermedad renal diabética, nefroesclerosis e infarto de miocardio.

Punto 56:

30

El método para el tratamiento según el punto 53, en donde la composición farmacéutica es la composición farmacéutica mencionada en el punto 40.

Punto 57:

35

El método para el tratamiento según el punto 56, en donde la enfermedad es una enfermedad seleccionada de condrodisplasia, restenosis después de PTCA después de estenosis de arteria coronaria, hipertensión pulmonar, enfermedad obliterante de la arteria periférica, artrosis, artritis reumatoide, fibrosis pulmonar, fibrosis hepática, fibrosis renal, infarto de miocardio y miocarditis.

40

Punto 58:

45 El método para el tratamiento según el punto 53, en donde la composición farmacéutica es la composición farmacéutica mencionada en el punto 42.

Punto 59:

50 El método para el tratamiento según el punto 58, en donde la enfermedad es una enfermedad seleccionada de dispepsia funcional, esofagitis por reflujo, parálisis de motilidad gástrica diabética, síndrome del intestino irritable de tipo estreñimiento, pseudoíleo crónico, íleo posoperatorio, gastritis crónica y gastritis atrófica.

Punto 60:

55 Un método para la extensión de la semivida en plasma del péptido objeto, caracterizado en que, el péptido seleccionado de los péptidos mencionados en cualquiera de los puntos 1 a 30 se une al N terminal, C terminal o ambos del péptido objeto.

Punto 61:

60

El método según el punto 60, en donde un péptido seleccionado del grupo que consiste en los péptidos mencionados en cualquiera de los puntos 1 a 30 se une al N terminal del péptido objeto.

Punto 62:

65

El método según el punto 60, en donde un péptido seleccionado del grupo que consiste en los péptidos mencionados en cualquiera de los puntos 1 a 30 se une al C terminal del péptido objeto.

Punto 63:

5 El método según el punto 60, en donde un péptido seleccionado del grupo que consiste en los péptidos mencionados en cualquiera de los puntos 1 a 30 se une a ambos terminales del péptido objeto.

Punto 64:

10 El método según cualquiera de los puntos 60 a 63, en donde el péptido objeto es un péptido natriurético o motilina o derivados de los mismos.

Punto 65:

15 El método según el punto 64, en donde el péptido objeto es un péptido natriurético auricular o un derivado del mismo.

Punto 66:

20 El método según el punto 64, en donde el péptido objeto es un péptido natriurético de tipo C o un derivado del mismo.

Punto 67:

25 El método según el punto 64, en donde el péptido objeto es motilina o un derivado de la misma.

30 Cuando el péptido donde se extiende la semivida según la presente invención se añade a un péptido objeto que tiene una semivida corta, la farmacocinética *in vivo* mejora y se logra un producto que tiene una semivida que es práctico como fármaco. Puesto que su propiedad antigénica es casi la misma que las del péptido objeto de un nativo, tiene una excelente seguridad y muestra resistencia a enzimas que descomponen un péptido fisiológicamente activo *in vivo*. Cuando se usa el péptido donde se extiende la semivida, es posible ahora reducir mucho el coste y tiempo que ha sido necesario para el desarrollo de péptidos fisiológicamente activos donde la farmacocinética *in vivo* se mejora. Además, es posible que un método de administración para el péptido fisiológicamente activo usado para el tratamiento mediante una administración intravenosa continua o una administración subcutánea continua se realice en una administración embolada de una sola vez por cual ahora se espera mejorar el cumplimiento del individuo (paciente) y de un campo médico.

40 [Figura 1] Esta es una figura que muestra cambios en la concentración de inmunorreactividad de ANP en plasma cuando ANP o un ANP quimérico (A a C) del mismo (0,1 mg/kg) se administra por vía intravenosa o subcutánea a ratas macho.

45 [Figura 2] Esta es una figura que muestra cambios en la concentración de inmunorreactividad de CNP en plasma cuando CNP-22 nativo o un CNP quimérico (A y B) del mismo (0,1 mg/kg) se administra por vía intravenosa o subcutánea a ratas macho.

50 [Figura 3] Esta es una figura que muestra cambios en la concentración de inmunorreactividad de CNP en plasma y en la concentración GMPc en plasma cuando CNP-22 nativo o un CNP quimérico (B) del mismo (0,1 mg/kg) se administra por vía subcutánea a ratas macho.

[Figura 4] Esta es una figura que muestra la influencia del inhibidor de NEP en los cambios en la concentración de inmunorreactividad de CNP en plasma cuando CNP-22 nativo o un CNP quimérico (B) del mismo (0,02 mg/kg) se administra por vía intravenosa a ratas macho.

55 [Figura 5] Esta es una figura que muestra cambios en la longitud corporal, longitud de la cola y peso corporal cuando CNP-22 nativo o un CNP quimérico (B) del mismo (0,25 mg/kg) se administra por vía subcutánea dos veces al día durante 29 días a ratones hembra repetidamente.

60 [Figura 6] Esta es una figura que muestra cambios en la concentración de inmunorreactividad de motilina en plasma cuando motilina o una motilina quimérica de la misma (A a M) (10 nmol/kg) se administra por vía intravenosa a ratas macho.

[Figura 7] Esta es una figura que muestra cambios en la concentración de inmunorreactividad de CNP en plasma cuando CNP-22 nativo o un CNP quimérico (C a I) (10 nmol/kg) se administra por vía intravenosa a ratas macho.

65

[Figura 8] Esta es una figura que muestra cambios en la concentración de inmunorreactividad de CNP en plasma cuando una motilina quimérica (N a V, X a Z y I a XIII) (10 nmol/kg) se administra por vía intravenosa.

5 [Figura 9] Esta es una figura que muestra cambios en la concentración de inmunorreactividad de CNP en plasma cuando CNP-22 nativo o un CNP quimérico (D, J y K) (20 nmol/kg) se administra por vía intravenosa a ratas macho.

[Figura 10] Esta es una figura que muestra cambios en la longitud corporal, longitud de la cola y peso corporal cuando un CNP quimérico (D y J) (50 y 200 nmol/kg) se administra por vía subcutánea una vez al día durante 56 días repetidamente a ratones hembra.

10 [Figura 11] Esta es una figura que muestra una imagen total del cuerpo después de que un CNP quimérico (J) (50 y 200 nmol/kg) se administre por vía subcutánea una vez al día durante 56 días repetidamente a ratones hembra.

15 [Figura 12] Esta es una figura que muestra cambios en la longitud corporal, longitud de la cola y peso corporal cuando un CNP quimérico (D) (12,5, 50 y 200 nmol/kg) se administra por vía subcutánea una vez al día durante 28 días repetidamente a ratas hembra.

[Figura 13] Esta es una figura que muestra cambios en la concentración de inmunorreactividad de CNP en plasma cuando CNP-22 nativo, CNP-53 nativo o un CNP quimérico (D) (10 nmol/kg) se administran por vía intravenosa a ratas macho.

20

La presente invención se define por las reivindicaciones. También se describe lo siguiente:

25 (1) Péptido que extiende la semivida

El péptido que extiende la semivida está representado por B, A-B, B-C y A-B-C y, en las fórmulas, A, B y C son los siguientes (1) a (3) y es un péptido que es capaz de extender la semivida en plasma, cuando se une a otro péptido objeto (péptido fisiológicamente activo), comparado con el péptido objeto mientras que la actividad fisiológicamente activa del péptido aún se conserva.

30 (1) Como se muestra por la secuencia de aminoácidos (14 aminoácidos: tabla 5) en las posiciones 1 a 14 en el fragmento C terminal (SEQ ID NO: 91) derivado de grelina de rana, motilina quimérica (A a F y G a K) (están en la tabla 14), MG-d12/14 (Tabla 16), CNP quimérico (J) y CNP quimérico (K) (tabla 17), A puede estar ausente o puede estar presente una secuencia de aminoácidos en cualquier número. Respecto a la longitud cuando la secuencia está presente, se puede seleccionar una secuencia de aproximadamente 1 a 14 aminoácido(s) y es preferiblemente de 3 a 10 aminoácidos y, más preferiblemente, 3 aminoácidos. Ejemplos específicos incluyen VQQ y AGSVDHKGKQ.

35 (2) B es una parte que corresponde que corresponde a la estructura (secuencia central: parte de secuencia RKESKK) necesaria para una acción para extender la semivida del péptido derivado de grelina humana que se mencionará posteriormente y ejemplos para B del péptido derivado de grelina humana incluyen los siguientes. Los péptidos específicos mencionados posteriormente se describen en las tablas 16 y 17.

40 Como muestran motilina quimérica (T) (MG-17E/N), (U) (MG-17E/Q) y (W) (MD-dES), el E (Glu) en RKESKK es un aminoácido esencial. Además, como muestran motilina quimérica (V) (MG-ES/DS), (X) (MG-17E/D), CNP quimérico (J) y CNP quimérico (K), también puede ser D (Asp). Por tanto, un aminoácido ácido funcionará para el aminoácido en la posición del E (Glu) anterior y Glu es preferido.

45 Como muestran motilina quimérica (O) (MG-18S/F), (P) (MG-18S/T), (Q) (MG-18S/P), (R) (MG-18S/L) y (S) (MG-18S/A), la S (Ser) en RKESKK se puede sustituir con un aminoácido que tenga cualquier cadena lateral tal como aminoácido aromático, aminoácido hidrofóbico y aminoácido no cargado polar. Por tanto, el aminoácido en la posición anterior de S (Ser) puede ser un aminoácido que tenga cualquier estructura de cadena lateral. Es preferiblemente Ser, Pro, Leu, Phe o Ala, más preferiblemente Ser, Thr, Pro o Ala y, lo más preferiblemente, Ser. Además, como muestra el péptido MG-dS, el aminoácido en la posición de la S (Ser) anterior puede estar ausente.

50 Como muestran motilina quimérica (X) (MG-17E/D), R (Arg) y K (Lys) en RKESKK pueden ser sustituidas siempre que sea un aminoácido básico.

55 RKESKK se caracteriza por contener un grupo de aminoácidos básicos (una secuencia continua de dos aminoácidos básicos) y un aminoácido ácido y, como se muestra en motilina quimérica (Z) (MG-i17G), (I) (MG-i19G), (II) (MG-i17G2) y (III) (MG-i17G2-i19G), la distancia entre los grupos se puede expandir por inserción de cualquier aminoácido.

60 Como se muestra en cada péptido mencionado en las tablas 16 y 17, la distancia entre los grupos de aminoácidos básicos se prefiere que sea en tal nivel que esté(n) presente(s) de 1 a 5 aminoácido(s).

65

Además, cualquier aminoácido puede estar presente entre el grupo de aminoácidos básicos y E (Glu) en RKESKK como se muestra en motilina quimérica (Z) (MG-i17G), (I) (MG-i19G), (II) (MG-i17G2), (III) (MG-i17G2-i19G), (IV) (MG-dPP), (V) (MG-dPPH1), (VI) (MG-H1), (VII) (MG-H3), (VIII) (MGH4), (XI) (MG-d12/14), (XII) (MGP1), (XIII) (MGP)<sub>2</sub> etc., y CNP quimérico (K). Por ejemplo, se puede hacer que existan G, A, Y, SP y/o V entre el grupo de aminoácidos básicos (parte correspondiente a RK) y E y, entre E y el grupo de aminoácidos básicos (parte correspondiente a KK), se puede hacer que exista S, H y/o P.

En vista de lo anterior, la estructura B (secuencia central: parte RKESKK para ser humano) necesaria para una acción de extensión de semivida tiene, en primer lugar, una secuencia representada por la siguiente fórmula 2

Fórmula 2: Wk-XI-Y-Zm-Wn

En la fórmula, W es un aminoácido básico; X y Z es cada uno cualquier aminoácido; e Y es un aminoácido ácido. cada uno de k, l, m y n es 0 o un número natural, k es 1 o 2,  $4 \geq l \geq 0$ ,  $2 \geq m \geq 0$  (donde l y m son  $4 \geq l + m \geq 0$ ) y n es 1 o 2.

Como se muestra en motilina quimérica (Y) (MG-BR), el modo de alineamiento de RKESKK se puede invertir (KKSEKR).

Además, como se muestra en motilina quimérica (XII) (MGP1) y (XIII) (MGP2), puesto que se potencia una acción de extensión de la semivida cuando la secuencia central se alinea en dos tándems (tal como KKAYSPK + ERK), también es un medio eficaz en alcanzar extensión de la semivida más larga que secuencias centrales plurales estén disponibles en una molécula como se muestra por la siguiente fórmula.

Según esto, la estructura (secuencia central: parte RKESKK) necesaria para una acción de extensión de semivida se expresa por la siguiente fórmula 1:

Fórmula 1: (Wk-XI-Y-Zm-Wn) + (Wo-Xp-Y-Zq-Wr)s

En la fórmula, W, X, Y, Z, K, l, m y n son los mismos que esos en la anterior fórmula 2 y s es 0 o 1. Además, o, p, q y r es cada uno 0 o un número natural  $2 \geq o \geq 0$ ,  $4 \geq p \geq 0$ ,  $2 \geq q \geq 0$  (donde p y q son  $4 \geq p + q \geq 0$ ) y r es 1 o 2.

El aminoácido ácido es E (Glu) o D (Asp) y, preferiblemente, E (Glu). Con respecto a X y Z que son cualquier aminoácido, X y Z pueden ser iguales o diferentes y, cuando son plurales, cada uno de ellos puede ser igual o diferente. Preferiblemente, X y Z es cada uno Ser, Pro, Leu, Phe o Ala, más preferiblemente Ser, Thr, Pro o Ala y, lo más preferiblemente, Ser. Con respecto al aminoácido básico W, ambos W pueden ser iguales o diferentes y, cuando hay plurales, cada uno de ellos puede ser igual o diferente. W es preferiblemente R (Arg) o K (Lys).

Preferiblemente, en la fórmula 1, s es 1; o, p y q es cada uno 0; y r es 2.

C se puede seleccionar de cualquier secuencia de números de aminoácidos tal como aproximadamente de 2 a 14 aminoácidos como se muestra en la secuencia de aminoácidos (dos aminoácidos: tabla 14) en las posiciones 22 a 23 en motilina quimérica (J), la secuencia de aminoácidos (14 aminoácidos: tabla 5) en las posiciones 7 a 20 en el fragmento C terminal (SEQ ID NO: 58) derivado de grelina de rana y la motilina quimérica (VI) (MG-H1), (VII) (MG-H3) y (VIII) (MG-H4) alineada con una secuencia (tal como AK (o E) LAALK (o E) A) predicha que forma una estructura en hélice  $\alpha$  por un método conocido para predecir la estructura secundaria (tal como el método de Chou-Fasman: Biochemistry. 15 enero 1974; 13 (2): 222-45 Prediction of protein conformation. Chou PY, Fasman GD; o el método de Garnier: J Mol Biol. 25 Mar. 1978;120(1):97-120. Analysis of the accuracy and implications of simple methods for predicting the secondary structure of globular proteins. Garnier J, Osguthorpe DJ, Robseon B. etc.).

Se prefiere que sea cualquier secuencia que comprende de 3 a 11 aminoácidos que puede formar una estructura de hélice  $\alpha$ , más preferiblemente KKPPAKLQPR (una secuencia que comprende los aminoácidos en las posiciones 22 a 29 desde el extremo N en motilina quimérica (C)) o PPAELAALAEA (una secuencia que comprende los aminoácidos en las posiciones 22 a 31 desde el extremo N en motilina quimérica (VII) (MG-H3)) y, aún más preferiblemente, PPAELAALAEA. También es posible usar cualquier secuencia que pueda formar una estructura en lámina mediante el anterior método de predicción.

Además, cuando no está presente Pro entre la secuencia de aminoácidos correspondiente a la fórmula C del péptido de extensión de la semivida y la secuencia de aminoácidos correspondiente a la fórmula B del mismo, se prefiere que la secuencia Pro (números de Pro en un intervalo en los que los números de aminoácidos de C se vuelven de 2 a 14 o, preferiblemente, Pro-Pro) se alinee en el sitio terminal de la secuencia de aminoácidos correspondiente a la fórmula C como se muestra por una comparación de motilina quimérica (IV) (MG-dPP) con motilina quimérica (D), una comparación de motilina quimérica (V) (MG-dPPH1) con motilina quimérica (VI) (MG-H1) y una comparación de motilina quimérica (IX) (MG-dPPS) con motilina quimérica (X) (MG-S).

- Además, puesto que un CNP quimérico que contiene una secuencia correspondiente a B (secuencia central) de la fórmula del péptido de extensión de la semivida también muestra una acción de extensión de semivida como se muestra en el CNP quimérico (J) y (K), los expertos en la materia pueden predecir fácilmente que la misma acción de extensión de semivida se puede conseguir cuando los requisitos para A y C de la fórmula del péptido de extensión de la semivida introducidos de la comparación en semividas de motilina quimérica se aplica a CNP quimérico. Los expertos en la materia también pueden predecir fácilmente que la misma acción de extensión de la semivida se puede conseguir cuando los requisitos para B y C de la fórmula del péptido de extensión de la semivida introducidos de la comparación de las semividas de CNP quimérico se aplica a motilina quimérica.
- Además, los expertos en la materia también pueden predecir fácilmente que la misma acción de extensión de la semivida se puede conseguir cuando los requisitos para A, B y C de la fórmula del péptido de extensión de la semivida se aplica al péptido quimérico de otros péptidos objeto.
- A, B y/o C pueden estar cada uno en la dirección normal o la dirección invertida. Por tanto, A, B y C cada uno independientemente pueden estar en una dirección normal o en una dirección invertida o A-B, B-C y A-B-C pueden estar en la dirección normal o la dirección invertida como un todo. La dirección normal y el orden invertido usados aquí significa que la dirección de la secuencia desde el N terminal al C terminal está invertida una respecto a la otra.
- Cuando el péptido es un B único, incluye el caso donde una secuencia que satisface los requisitos de A y/o C está presente en el lado del péptido objeto.
- En el péptido de extensión de la semivida, el preferido es un péptido de los siguientes (1) o (2).
- (1) A es una secuencia de aminoácidos de uno o más números de aminoácidos 1 a 4 que sigue a B en SEQ IDNO: 34 o una secuencia de aminoácidos donde uno o algunos aminoácido(s) en la secuencia de aminoácidos anterior se deletiona(n), sustituye(n) y/o añade(n);
- B es una secuencia de aminoácidos de uno o más números de aminoácidos 5 a 9 en SEQ ID NO: 34 o una secuencia de aminoácidos donde uno o algunos aminoácido(s) en la secuencia de aminoácidos anterior se deletiona(n), sustituye(n) y/o añade(n); y
- C es una secuencia de uno o más números de aminoácidos 10 a 17 que siguen a B en SEQ IDNO: 34 o una secuencia de aminoácidos donde uno o algunos aminoácido(s) en la secuencia de aminoácidos anterior se deletiona(n), sustituye(n) y/o añade(n).
- (2) A es una secuencia de aminoácidos de uno o más números de aminoácidos 1 a 8 que sigue a B en SEQ IDNO: 67 o una secuencia de aminoácidos donde uno o algunos aminoácido(s) en la secuencia de aminoácidos anterior se deletiona(n), sustituye(n) y/o añade(n);
- B es una secuencia de aminoácidos de uno o más números de aminoácidos 9 a 13 en SEQ ID NO: 67 o una secuencia de aminoácidos donde uno o algunos aminoácido(s) en la secuencia de aminoácidos anterior se deletiona(n), sustituye(n) y/o añade(n); y
- C es una secuencia de uno o más números de aminoácidos 14 a 17 que siguen a B en SEQ IDNO: 67 o una secuencia de aminoácidos donde uno o algunos aminoácido(s) en la secuencia de aminoácidos anterior se deletiona(n), sustituye(n) y/o añade(n).
- SEQ ID NO: 67 es una secuencia invertida de SEQ ID NO: 34.
- B es una secuencia central esencial.
- En otras palabras, el péptido de extensión de la semivida es un péptido que contiene una secuencia de aminoácidos de números de aminoácido 5 a 9 en SEQ ID NO: 34 o una secuencia de aminoácidos de números de aminoácidos 9 a 13 en SEQ ID NO: 67 que es una secuencia invertida de la anterior y que comprende 17 o menos aminoácidos o un péptido en que uno o algunos aminoácido(s) en la secuencia de aminoácidos anterior se deletiona(n), sustituye(n) y/o añade(n) en la secuencia de aminoácidos. El término "uno o algunos" usado en el presente documento anteriormente significa de 1 a 35 por ejemplo, preferiblemente de 1 a 15, más preferiblemente de 1 a 10, aún más preferiblemente de 1 a 8, aún más preferiblemente de 1 a 6, aún más preferiblemente de 1 a 5, aún más preferiblemente de 1 a 4, aún más preferiblemente de 1 a 3 y, aún más preferiblemente de 1 a 2.
- El péptido de extensión de la semivida incluye un péptido de extensión de la semivida que comprende una secuencia parcial C terminal de grelina de mamíferos tal como ser humano, mono, ganado, caballo, cerdo, perro, ciervo, oveja, cabra, gato, conejo, rata, *Suncus* (rata almizclera) o ballena, aves tal como pavo o aves domésticas, reptiles tal como tortuga, anfibios tal como rana y peces tal como anguila, bagre o tiburón.

Respecto a la delección, sustitución y/o adición de uno o algunos aminoácido(s) en la secuencia de aminoácidos de A, B y C cada uno de SEQ ID NO: 34 o SEQ ID NO: 67, los expertos en la materia pueden seleccionar apropiadamente la posición y tipo de del aminoácido adecuado para realizar la modificación como tal por comparación entre las secuencias de aminoácidos derivadas de varias especies.

La secuencia de aminoácidos de grelina derivada de varios organismos, péptido de extensión de la semivida de la parte C terminal de la misma, longitud completa de la secuencia central B, longitud completa de la secuencia A que puede estar presente en el lado N terminal de la secuencia central y longitud completa de la secuencia C que puede estar presente en el lado C terminal de la secuencia central se muestran en las siguientes tablas 1 a 7.

Tabla 1

Especie	No. de secuencia de grelina	No. de aminoácido de cada parte del No. de secuencia (dirección normal) del péptido de extensión de semivida	No. de aminoácido de cada parte del No. de secuencia (dirección invertida) del péptido de extensión de semivida
Ser humano	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 34 A: 1 a 4 B: 5 a 9 C: 10 a 17	SEQ ID NO: 67 A: 1 a 8 B: 9 a 13 C: 14 a 17
	SEQ ID NO: 2	SEQ ID NO: 35 A: 1 a 3 B: 4 a 8 C: 9 a 16	SEQ ID NO: 68 A: 1 a 8 B: 9 a 13 C: 14 a 16
Mono	SEQ ID NO: 3	SEQ ID NO: 36 A: 1 a 4 B: 5 a 9 C: 10 a 17	SEQ ID NO: 69 A: 1 a 8 B: 9 a 13 C: 14 a 17
Ganado	SEQ ID NO: 4	SEQ ID NO: 37 A: 1 a 3 B: 4 a 8 C: 9 a 16	SEQ ID NO: 70 A: 1 a 8 B: 9 a 13 C: 14 a 16
	SEQ ID NO: 5	SEQ ID NO: 38 A: 1 a 3 B: 4 a 8 C: 9 a 16	SEQ ID NO: 71 A: 1 a 8 B: 9 a 13 C: 14 a 16
Caballo	SEQ ID NO: 6	SEQ ID NO: 39 A: 1 a 4 B: 5 a 9 C: 10 a 17	SEQ ID NO: 72 A: 1 a 8 B: 9 a 13 C: 14 a 17
Cerdo	SEQ ID NO: 7	SEQ ID NO: 40 A: 1 a 4 B: 5 a 9 C: 10 a 17	SEQ ID NO: 73 A: 1 a 8 B: 9 a 13 C: 14 a 17

Tabla 2

Especie	No. de secuencia de grelina	No. de aminoácido de cada parte del No. de secuencia (dirección normal) del péptido de extensión de semivida	No. de aminoácido de cada parte del No. de secuencia (dirección invertida) del péptido de extensión de semivida
Perro	SEQ ID NO: 8	SEQ ID NO: 41 A: 1 a 4 B: 5 a 9 C: 10 a 17	SEQ ID NO: 74 A: 1 a 8 B: 9 a 13 C: 14 a 17
Ciervo	SEQ ID NO: 9	SEQ ID NO: 42 A: 1 a 3 B: 4 a 8 C: 9 a 16	SEQ ID NO: 75 A: 1 a 8 B: 9 a 13 C: 14 a 16
	SEQ ID NO: 10	SEQ ID NO: 43 A: 1 a 3 B: 4 a 8 C: 9 a 16	SEQ ID NO: 76 A: 1 a 8 B: 9 a 13 C: 14 a 16

Oveja	SEQ ID NO: 11	SEQ ID NO: 44 A: 1 a 3 B: 4 a 8 C: 9 a 16	SEQ ID NO: 77 A: 1 a 8 B: 9 a 13 C: 14 a 16
Cabra	SEQ ID NO: 12	SEQ ID NO: 45 A: 1 a 3 B: 4 a 8 C: 9 a 16	SEQ ID NO: 78 A: 1 a 8 B: 9 a 13 C: 14 a 16
Gato	SEQ ID NO: 13	SEQ ID NO: 46 A: 1 a 3 B: 4 a 8 C: 9 a 16	SEQ ID NO: 79 A: 1 a 8 B: 9 a 13 C: 14 a 16
Conejo	SEQ ID NO: 14	SEQ ID NO: 47 A: 1 a 4 B: 5 a 9 C: 10 a 17	SEQ ID NO: 80 A: 1 a 8 B: 9 a 13 C: 14 a 17

Tabla 3

Especie	No. de secuencia de grelina	No. de aminoácido de cada parte del No. de secuencia (dirección normal) del péptido de extensión de semivida	No. de aminoácido de cada parte del No. de secuencia (dirección invertida) del péptido de extensión de semivida
Rata	SEQ ID NO: 15	SEQ ID NO: 48 A: 1 a 4 B: 5 a 9 C: 10 a 17	SEQ ID NO: 81 A: 1 a 8 B: 9 a 13 C: 14 a 17
	SEQ ID NO: 16	SEQ ID NO: 49 A: 1 a 3 B: 4 a 8 C: 9 a 16	SEQ ID NO: 82 A: 1 a 8 B: 9 a 13 C: 14 a 16
	SEQ ID NO: 17	SEQ ID NO: 50 A: 1 a 4 B: 5 a 9 C: 10 a 17	SEQ ID NO: 83 A: 1 a 8 B: 9 a 13 C: 14 a 17
Suncus	SEQ ID NO: 18	SEQ ID NO: 51 A: 1 a 2 B: 3 a 8 C: 9 a 15	SEQ ID NO: 84 A: 1 a 7 B: 8 a 13 C: 14 a 15
Ballena	SEQ ID NO: 19	SEQ ID NO: 52 A: 1 a 3 B: 4 a 8 C: 9 a 16	SEQ ID NO: 85 A: 1 a 8 B: 9 a 13 C: 14 a 16
Pavo	SEQ ID NO: 20	SEQ ID NO: 53 A: 1 a 4 B: 5 a 9 C: 10 a 17	SEQ ID NO: 86 A: 1 a 8 B: 9 a 13 C: 14 a 17

5 Tabla 4

Especie	No. de secuencia de grelina	No. de aminoácido de cada parte del No. de secuencia (dirección normal) del péptido de extensión de semivida	No. de aminoácido de cada parte del No. de secuencia (dirección invertida) del péptido de extensión de semivida
Ave doméstica	SEQ ID NO: 21	SEQ ID NO: 54 A: 1 a 4 B: 5 a 9 C: 10 a 17	SEQ ID NO: 87 A: 1 a 8 B: 9 a 13 C: 14 a 17
	SEQ ID NO: 22	SEQ ID NO: 55 A: 1 a 4 B: 5 a 9 C: 10 a 15	SEQ ID NO: 88 A: 1 a 6 B: 7 a 11 C: 12 a 15
	SEQ ID NO: 23	SEQ ID NO: 56	SEQ ID NO: 89

ES 2 566 830 T3

		A: 1 a 4 B: 5 a 9 C: 10 a 13	A: 1 a 4 B: 5 a 9 C: 10 a 13
Tortuga	SEQ ID NO: 24	SEQ ID NO: 57 A: 1 a 4 B: 5 a 9 C: 10 a 16	SEQ ID NO: 90 A: 1 a 7 B: 8 a 12 C: 13 a 16

Tabla 5

Especie	No. de secuencia de grelina	No. de aminoácido de cada parte del No. de secuencia (dirección normal) del péptido de extensión de semivida	No. de aminoácido de cada parte del No. de secuencia (dirección invertida) del péptido de extensión de semivida
Rana	SEQ ID NO: 25	SEQ ID NO: 58 A: 1 B: 2 a 6 C: 7 a 20	SEQ ID NO: 91 A: 1 a 14 B: 15 a 19 C: 20
	SEQ ID NO: 26	SEQ ID NO: 59 A: 1 B: 2 a 6 C: 7 a 18	SEQ ID NO: 92 A: 1 a 12 B: 13 a 17 C: 18
	SEQ ID NO: 27	SEQ ID NO: 60 A: 1 B: 2 a 6 C: 7 a 17	SEQ ID NO: 93 A: 1 a 11 B: 12 a 16 C: 17

5 Tabla 6

Especie	No. de secuencia de grelina	No. de aminoácido de cada parte del No. de secuencia (dirección normal) del péptido de extensión de semivida	No. de aminoácido de cada parte del No. de secuencia (dirección invertida) del péptido de extensión de semivida
Anguila	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 61 A: 1 a 2 B: 3 a 6 C: 7 a 13	SEQ ID NO: 94 A: 1 a 7 B: 8 a 11 C: 12 a 13
	SEQ ID NO: 29	SEQ ID NO: 62 A: 1 a 2 B: 3 a 6 C: 7 a 10	SEQ ID NO: 95 A: 1 a 4 B: 5 a 8 C: 9 a 10

Tabla 7

Especie	No. de secuencia de grelina	No. de aminoácido de cada parte del No. de secuencia (dirección normal) del péptido de extensión de semivida	No. de aminoácido de cada parte del No. de secuencia (dirección invertida) del péptido de extensión de semivida
Bagre	SEQ ID NO: 30	SEQ ID NO: 63 A: 1 a 2 B: 3 a 7 C: 8 a 14	SEQ ID NO: 96 A: 1 a 7 B: 8 a 12 C: 13 a 14
	SEQ ID NO: 31	SEQ ID NO: 64 A: 1 a 2 B: 3 a 7 C: 8 a 12	SEQ ID NO: 97 A: 1 a 5 B: 6 a 10 C: 11 a 12
	SEQ ID NO: 32	SEQ ID NO: 65 A: 1 a 2 B: 3 a 7 C: 8 a 11	SEQ ID NO: 98 A: 1 a 4 B: 5 a 9 C: 10 a 11
Tiburón	SEQ ID NO: 33	SEQ ID NO: 66 A: cero	SEQ ID NO: 99 A: 1 a 15

ES 2 566 830 T3

		B: 1 a 3 C: 4 a 18	B: 16 a 18 C: cero
--	--	-----------------------	-----------------------

Las secuencias de aminoácidos de grelina derivadas de varios organismos en las tablas 1 a 7 se muestran a continuación. Las subrayadas son las partes correspondientes al péptido de extensión de semivida.

Ser humano	<u>GSSFLSPEHQRVQQRKESKKPPAKLQPR</u>	(SEQ ID NO: 1)
	<u>GSSFLSPEHQRVQ-RKESKKPPAKLQPR</u>	(SEQ ID NO: 2)
Mono	<u>GSSFLSPEHQRAQQRKESKKPPAKLQPR</u>	(SEQ ID NO: 3)
Ganado	<u>GSSFLSPEHQKLQ-RKEAKKPSGRLKPR</u>	(SEQ ID NO: 4)
	<u>GSSFLSPEHQKLQ-RKEPKKPSGRLKPR</u>	(SEQ ID NO: 5)
Caballo	<u>GSSFLSPEHHKVQHRKESKKPPAKLQPR</u>	(SEQ ID NO: 6)
Cerdo	<u>GSSFLSPEHQVQQRKESKKPAAKLKPR</u>	(SEQ ID NO: 7)
Perro	<u>GSSFLSPEHQKLQQRKESKKPPAKLQPR</u>	(SEQ ID NO: 8)
Ciervo	<u>GSSFLSPEHQKLQ-RKEPKKPSGRLKPR</u>	(SEQ ID NO: 9)
	<u>GSSFLSPDHQKLQ-RKEPKKPSGRLKPR</u>	(SEQ ID NO: 10)
Oveja	<u>GSSFLSPEHQKLQ-RKEPKKPSGRLKPR</u>	(SEQ ID NO: 11)
Cabra	<u>GSSFLSPEHQKLQ-RKEPKKPSGRLKPR</u>	(SEQ ID NO: 12)
Gato	<u>GSSFLSPEHQKVQ-RKESKKPPAKLQPR</u>	(SEQ ID NO: 13)
Conejo	<u>GSSFLSPEHQVQQRKESKKPAAKLKPR</u>	(SEQ ID NO: 14)
Rata	<u>GSSFLSPEHQKAQQRKESKKPPAKLQPR</u>	(SEQ ID NO: 15)
	<u>GSSFLSPEHQKAQ-RKESKKPPAKLQPR</u>	(SEQ ID NO: 16)
	<u>GSSFLSPEHQKTQQRKESKKPPAKLQPR</u>	(SEQ ID NO: 17)
Suncus	<u>GSSFLSPEHQGP-KKDPRKPPKLQPR</u>	(SEQ ID NO: 18)
Ballena	<u>GSSFLSPEHQKLQ-RKEAKKPSGRLKPR</u>	(SEQ ID NO: 19)
Pavo	<u>GSSFLSPAYKNIQQQKDRKPTARLHPR</u>	(SEQ ID NO: 20)
Ave doméstica	<u>GSSFLSPTYKNIQQQKDRKPTARLHRR</u>	(SEQ ID NO: 21)
	<u>GSSFLSPTYKNIQQQKDRKPTARLH</u>	(SEQ ID NO: 22)
	<u>GSSFLSPTYKNIQQQKDRKPTAR</u>	(SEQ ID NO: 23)
Tortuga	<u>GSSFLSPEYQNTQQRKDPKHKHTK-LNRR</u>	(SEQ ID NO: 24)
Rana	<u>GLTFLSPADMQKIAERQSQNKL RHGNNMNR</u>	(SEQ ID NO: 25)
	<u>GLTFLSPADMQKIAERQSQNKL RHGNNM</u>	(SEQ ID NO: 26)
	<u>GLTFLSPADMQKIAERQSQNKL RHGNNM</u>	(SEQ ID NO: 27)
Anguila	<u>GSSFLSPS-QRPQG-KD-KKP-PRVGRR</u>	(SEQ ID NO: 28)
	<u>GSSFLSPS-QRPQG-KD-KKP-PRV-NH<sub>2</sub></u>	(SEQ ID NO: 29)
Bagre	<u>GSSFLSPT-QKPQNR-GDRKPP-RVGRR</u>	(SEQ ID NO: 30)
	<u>GSSFLSPT-QKPQNR-GDRKPP-RVG</u>	(SEQ ID NO: 31)
	<u>GSSFLSPT-QKPQNR-GDRKPP-RV-NH<sub>2</sub></u>	(SEQ ID NO: 32)
Tiburón	<u>GVSFHPRLKEKDDNSSGNSRKS NPKR</u>	(SEQ ID NO: 33)

5 Las secuencias de aminoácidos del péptido de extensión de la semivida (secuencias normales) derivadas de varios organismos en las tablas 1 a 7 se muestran a continuación. Las subrayadas son las partes correspondientes a la secuencia central B, el lado N-terminal de la secuencia central B es la parte correspondiente a la secuencia A y el lado C terminal de la secuencia central B es la parte correspondiente a la secuencia C.

10	Ser humano	<u>VQQRKESKKPPAKLQPR</u>	(SEQ ID NO: 34)
		<u>VQ-RKESKKPPAKLQPR</u>	(SEQ ID NO: 35)
	Mono	<u>AQQRKESKKPPAKLQPR</u>	(SEQ ID NO: 36)
	Ganado	<u>LQ-RKEAKKPSGRLKPR</u>	(SEQ ID NO: 37)
		<u>LQ-RKEPKKPSGRLKPR</u>	(SEQ ID NO: 38)
	Caballo	<u>VQHRKESKKPPAKLQPR</u>	(SEQ ID NO: 39)
	Cerdo	<u>VQQRKESKKPAAKLKPR</u>	(SEQ ID NO: 40)
	Perro	<u>LQQRKESKKPPAKLQPR</u>	(SEQ ID NO: 41)
	Ciervo	<u>LQ-RKEPKKPSGRLKPR</u>	(SEQ ID NO: 42)
		<u>LQ-RKEPKKPSGRLKPR</u>	(SEQ ID NO: 43)
	Oveja	<u>LQ-RKEPKKPSGRLKPR</u>	(SEQ ID NO: 44)
	Cabra	<u>LQ-RKEPKKPSGRLKPR</u>	(SEQ ID NO: 45)
	Gato	<u>VQ-RKESKKPPAKLQPR</u>	(SEQ ID NO: 46)
	Conejo	<u>VQQRKESKKPAAKLKPR</u>	(SEQ ID NO: 47)
	Rata	<u>AQQRKESKKPPAKLQPR</u>	(SEQ ID NO: 48)
		<u>AQ-RKESKKPPAKLQPR</u>	(SEQ ID NO: 49)
		<u>TQQRKESKKPPAKLQPR</u>	(SEQ ID NO: 50)
	Suncus	<u>GP-KKDPRKPPKLQPR</u>	(SEQ ID NO: 51)
	Ballena	<u>LQ-RKEAKKPSGRLKPR</u>	(SEQ ID NO: 52)
	Pavo	<u>IQQQKDRKPTARLHPR</u>	(SEQ ID NO: 53)
	Ave doméstica	<u>IQQQKDRKPTARLHRR</u>	(SEQ ID NO: 54)

	<u>IQQQKDTRKPTAR</u> LH	(SEQ ID NO: 55)
	IQQQ <u>KDTRKPTAR</u>	(SEQ ID NO: 56)
Tortuga	TQQR <u>KDPKKHTK</u> -LNRR	(SEQ ID NO: 57)
Rana	<u>QKIAERQSQNKLR</u> HGNNMNR	(SEQ ID NO: 58)
	<u>QKIAERQSQNKLR</u> HGNNM	(SEQ ID NO: 59)
	<u>QKIAERQSQNKLR</u> HGNNM	(SEQ ID NO: 60)
Anguila	<u>QK-KD-KKP</u> -PRVGRR	(SEQ ID NO: 61)
	<u>QK-KD-KKP</u> -PRV	(SEQ ID NO: 62)
Bagre	<u>QNR-GDRKPP</u> -RVGRR	(SEQ ID NO: 63)
	<u>QNR-GDRKPP</u> -RVG	(SEQ ID NO: 64)
	<u>QNR-GDRKPP</u> -RV	(SEQ ID NO: 65)
Tiburón	<u>KEKDDNSSGNSR</u> SNPKR	(SEQ ID NO: 66)

Las secuencias de aminoácidos del péptido de extensión de la semivida (secuencias invertidas) derivadas de varios organismos en las tablas 1 a 7 se muestran a continuación. Las subrayadas son las partes correspondientes a la secuencia central B, el lado N-terminal de la secuencia central B es la parte correspondiente a la secuencia A y el lado C terminal de la secuencia central B es la parte correspondiente a la secuencia C.

5

Ser humano	RPQLKAPP <u>KKSEKR</u> QV	(SEQ ID NO: 67)
	RPQLKAPP <u>KKSEKR</u> -QV	(SEQ ID NO: 68)
Mono	RPQLKAPP <u>KKSEKR</u> QQA	(SEQ ID NO: 69)
Ganado	RPKLRGSP <u>KKAEKR</u> -QL	(SEQ ID NO: 70)
	RPKLRGSP <u>KKPEKR</u> -QL	(SEQ ID NO: 71)
Caballo	RP KLKAPP <u>KKSEKR</u> HQV	(SEQ ID NO: 72)
Cerdo	RPKLKAAP <u>KKSEKR</u> QV	(SEQ ID NO: 73)
Perro	RPQLKAPP <u>KKSEKR</u> QQL	(SEQ ID NO: 74)
Ciervo	RPKLRGSP <u>KKPEKR</u> -QL	(SEQ ID NO: 75)
	RPKLRGSP <u>KKPEKR</u> -QL	(SEQ ID NO: 76)
Oveja	RPKLRGSP <u>KKPEKR</u> -QL	(SEQ ID NO: 77)
Cabra	RPKLRGSP <u>KKPEKR</u> -QL	(SEQ ID NO: 78)
Gato	RPQLKAPP <u>KKSEKR</u> -QV	(SEQ ID NO: 79)
Conejo	RPKLKAAP <u>KKSEKR</u> QV	(SEQ ID NO: 80)
Rata	RPQLKAPP <u>KKSEKR</u> QQA	(SEQ ID NO: 81)
	RPQLKAPP <u>KKSEKR</u> -QA	(SEQ ID NO: 82)
	RPQLKAPP <u>KKSEKR</u> QQT	(SEQ ID NO: 83)
Suncus	RPQLKPP <u>KRPDKK</u> - PG	(SEQ ID NO: 84)
Ballena	RPKLRGSP <u>KKAEKR</u> -QL	(SEQ ID NO: 85)
Pavo	RPHLRATP <u>KRTDKQQQI</u>	(SEQ ID NO: 86)
Ave doméstica	RRHLRATP <u>KRTDKQQQI</u>	(SEQ ID NO: 87)
	HLRATP <u>KRTDKQQQI</u>	(SEQ ID NO: 88)
	RATP <u>KRTDKQQQI</u>	(SEQ ID NO: 89)
Tortuga	RRNL-KTH <u>KKPDKR</u> QQT	(SEQ ID NO: 90)
Rana	RRNMNGHRLKNQSQREAIKQ	(SEQ ID NO: 91)
	NMNGHRLKNQSQREAIKQ	(SEQ ID NO: 92)
	MNGHRLKNQSQREAIKQ	(SEQ ID NO: 93)
Anguila	RRGVRP- <u>PKK-DK</u> -GQ	(SEQ ID NO: 94)
	VRP- <u>PKK-DK</u> -GQ	(SEQ ID NO: 95)
Bagre	RRGVR-PP <u>KRDG</u> -RNQ	(SEQ ID NO: 96)
	GVR-PP <u>KRDG</u> -RNQ	(SEQ ID NO: 97)
	VR-P <u>PKRDG</u> -RNQ	(SEQ ID NO: 98)
Tiburón	RKPNSKRSNGSSND <u>DKEK</u>	(SEQ ID NO: 99)

Se prefiere que el péptido de extensión de la semivida como tal se use para el individuo de la especie de la que deriva el péptido. Para seres humanos, por ejemplo, se prefiere usar la secuencia C terminal de grelina derivada de ser humano. Cuando el péptido de extensión de la semivida comprende la secuencia AB, BC o ABC, se prefiere usar la secuencia A, B y C derivada de la misma especie del organismo, aunque también es posible usar un péptido quimera en el que las secuencias A, B y C derivan de diferentes especies. En el péptido quimera, la combinación de secuencias derivadas de mamíferos, aves, reptiles y anfibios es preferida, la combinación de secuencias derivadas de mamíferos es más preferida y la combinación de secuencias derivadas de ser humano es aún más preferida.

10

15

En la presente invención, la expresión que dice que, cuando está unido a un péptido objeto, su actividad fisiológica se conserva significa que, cuando está unido a cualquiera de extremo N, el extremo C o ambos extremos del péptido objeto, no menos del 1% de la actividad del péptido objeto aún se conserva. La expresión que dice que la semivida del péptido objeto se extiende significa que, cuando está unido a cualquiera de extremo N, el extremo C o ambos extremos del péptido objeto, la semivida resultante se extiende comparada con el péptido objeto incluso un poco.

20

(2) Péptido quimérico

5 Cuando el péptido de extensión de la semivida anteriormente ilustrado se une al lado N terminal, lado C terminal o ambos lados terminales del péptido que tiene una actividad fisiológica, se prepara el péptido quimérico que tiene una farmacocinética mejorada *in vivo*. Cuando el péptido de extensión de la semivida se une a ambos extremos, ambos péptidos pueden ser iguales o diferentes.

10 A y/o C pueden estar unidos al extremo N y/o al extremo C del péptido objeto. Alternativamente, la adición de A y/o C a la cadena lateral de un aminoácido contenido en B tal como el grupo amino de lisina, grupo carboxilo de ácido glutámico o ácido aspártico, etc., también es una opción. Para la adición, también es posible seleccionar un enlace peptídico u otro método de unión apropiado si se desea.

15 Respecto al péptido objeto, es posible usar un derivado que es un péptido que tiene una secuencia de aminoácidos donde uno o algunos aminoácido(s) se deleciona(n), sustituye(n) y/o añade(n) en la secuencia de aminoácidos respecto al péptido fisiológicamente activo natural o el péptido y que tiene la actividad fisiológica del péptido. A menos que se mencione específicamente en la presente especificación, no hay limitación particular para los números de aminoácido(s) que se sustituye(n) etc., en "uno o más se sustituye(n), deleciona(n), inserta(n) y/o añade(n)" respecto al aminoácido siempre que el péptido que comprende la secuencia de aminoácidos o un derivado del mismo tenga una función deseada y, por ejemplo, los números son de aproximadamente 1 a 4, o de aproximadamente 1 a 2 y la selección de sitios plurales también es posible. En el caso de sustitución etc., al aminoácido que tiene la propiedad similar (carga y/o polaridad), es probable que la función deseada no se pierda incluso cuando muchos aminoácidos se sustituyan. "Aminoácido" en la presente especificación incluye todos los aminoácidos tal como L-aminoácido, D-aminoácido,  $\alpha$ -aminoácido,  $\beta$ -aminoácido,  $\gamma$ -aminoácido, aminoácido natural o aminoácido sintético.

20 Cuando el péptido objeto es un derivado de un péptido fisiológicamente activo natural, su aminoácido tiene una homología de preferiblemente no menor del 70%, más preferiblemente no menor del 80%, aún más preferiblemente no menor del 90%, en particular preferiblemente no menor del 95% y lo más preferiblemente no menor del 97% comparado con la secuencia de aminoácidos nativa.

30 B puede ser el único unido siempre que la estructura del péptido objeto al que el péptido de extensión de la semivida cumpla el requisito estructural de A y/o C.

35 Ejemplos del péptido objeto adecuado incluyen péptido natriurético o, preferiblemente, péptido natriurético auricular (ANP; aunque su origen no está limitado, un ejemplo es ANP humano de SEQ ID NO: 100), péptido natriurético cerebral (BNP; aunque su origen no está limitado, un ejemplo es BNP humano de SEQ ID NO: 160), péptido natriurético de tipo C (CNP; aunque su origen no está limitado, un ejemplo es CNP-22 de SEQ ID NO: 101), motilina (aunque su origen no está limitado, un ejemplo es motilina humana de SEQ ID NO: 102), péptido glucagónico 1 (GLP-1; aunque su origen no está limitado, un ejemplo es GLP-1 (7-36) amida humano de SEQ ID NO: 103), hormona paratiroidea (PTH; aunque su origen no está limitado, un ejemplo es PTH (1-34) humana de SEQ ID NO: 104) y calcitonina (CT; aunque su origen no está limitado, un ejemplo es CT humana de SDEQ ID NO: 105) que son péptidos fisiológicamente activos que tienen semivida corta o un derivado de los mismos.

45 El derivado se puede seleccionar por tal medio que se haga actuar en las células incubadas que expresan un receptor del péptido fisiológicamente activo original y después se mide una sustancia marcadora en el líquido de cultivo. En el caso de ANP o CNP, por ejemplo, la selección es posible por tal medio que se hace actuar en las células incubadas que expresan GC-A o GC-B que es un receptor de los mismos y después se mide el GMP cíclico en el líquido de cultivo. En el caso del péptido activo que actúa sobre las células que expresan GPC-R tal como motilina o GLP-1, es posible seleccionar midiendo la activación de un sistema de transducción de señales tal como la medida de AMP cíclico en líquido de cultivo o medida del calcio intracelular.

50 La presente invención también incluye una sal del péptido quimérico. Aunque se puede usar cualquier sal siempre que la sal sea no tóxica, se prefiere una sal farmacéuticamente aceptable y su ejemplo incluye sal con base inorgánica, sal con base orgánica, sal con ácido inorgánico, sal con ácido orgánico y sal con aminoácido básico o ácido.

55 Los ejemplos preferidos de la sal con base inorgánica incluyen sal de metal alcalino tal como sal de sodio o sal de potasio; sal de metal alcalinotérreo tal como sal de calcio o sal de magnesio; y sal tal como sal de aluminio o sal de amonio.

60 Los ejemplos preferidos de la sal con base orgánica incluyen sal con trimetilamina, trietilamina, piridina, picolina, etanolamina, dietanolamina, trietanolamina, dicitohexilamina o N,N'-dibenciletildiamina.

65 Los ejemplos preferidos de la sal con ácido inorgánico incluyen sal con ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido nítrico, ácido sulfúrico o ácido fosfórico.

Los ejemplos preferidos de la sal con ácido orgánico incluyen sal con ácido fórmico, ácido acético, ácido trifluoroacético, ácido fumárico, ácido oxálico, ácido tartárico, ácido maleico, ácido cítrico, ácido succínico, ácido málico, ácido metanosulfónico, ácido bencenosulfónico o ácido p-toluenosulfónico.

- 5 Los ejemplos preferidos de la sal con aminoácido básico incluyen sal con arginina, lisina u ornitina. Los ejemplos preferidos de la sal con aminoácido ácido incluyen sal con ácido aspártico o ácido glutámico.

Entre las sales anteriores, las sales preferidas son esas con base inorgánica y la sal de sodio y sal de potasio son las más preferidas.

- 10 Un péptido quimérico o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo donde ANP y BNP son objetos es eficaz para el tratamiento de insuficiencia cardiaca aguda y empeoramiento agudo de insuficiencia cardiaca crónica basado en una acción fisiológica a través de NPRA (GCA) que es un receptor para ANP y BNP y, en años recientes, su muy alto efecto se ha notado para una mejora de pronóstico después de infarto de miocardio. Además de lo anterior, se puede usar como un ingrediente eficaz de un agente de tratamiento para arterioesclerosis obliterante, cardiopatía isquémica, hipertensión, edema, miocardiopatía, retinitis, enfermedad renal diabética, nefroesclerosis, infarto de miocardio, etc.

- 20 Un péptido quimérico o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo donde CNP es un péptido objeto es eficaz para su aplicación para prevenir la restenosis después de PTCA después de estenosis de arteria coronaria y condrodisplasia atípica basado en una acción fisiológica a través de NPRB (GCB) que es un receptor para CNP y también para tratar hipertensión pulmonar, enfermedad obliterante de la arteria periférica, artrosis, artritis reumatoide, fibrosis pulmonar, fibrosis hepática, fibrosis renal, infarto de miocardio y miocarditis y se puede usar como un ingrediente eficaz para tal agente de tratamiento.

- 25 Un péptido quimérico o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo donde motilina es un péptido objeto es eficaz para su aplicación a dispepsia funcional, esofagitis por reflujo, parálisis de motilidad gástrica diabética, síndrome de intestino irritable de tipo estreñimiento, pseudoíleo crónico, íleo posoperatorio, gastritis crónica y gastritis atrófica basado en una acción fisiológica a través de motilina-R que es un receptor para motilina y se puede usar como un ingrediente eficaz de tal agente de tratamiento.

- 30 Un péptido quimérico o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo donde GLP-1 es un péptido objeto es eficaz para su aplicación a diabetes mellitus etc., y se puede usar como un ingrediente eficaz para tal agente de tratamiento. Un péptido quimérico o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo donde PTH es un péptido objeto es eficaz para su aplicación a hipotiroidismo, etc., y se puede usar como un ingrediente eficaz para tal agente de tratamiento.

### (3) Proceso para producir un péptido quimérico

- 40 También se describe un proceso para producir un péptido quimérico donde la semivida en plasma se extiende y la actividad fisiológica del péptido objeto está disponible en el que el péptido de extensión de la semivida de la presente invención como se ha mencionado anteriormente se une al lado N terminal, lado C terminal o ambos extremos del péptido objeto.

- 45 El péptido quimérico se puede producir por un método convencional (referencia, por ejemplo, a J. Med. Chem., 43, pp 4370-4376, 2000). Por ejemplo, se puede producir por una técnica de ADN recombinante y/o síntesis química. En un proceso de producción usando una técnica de ADN recombinante, por ejemplo, se incuban células huésped transformadas por un vector de expresión que tiene el ADN que codifica el péptido quimérico y el péptido objetivo se recoge del producto cultivado después de lo cual el péptido quimérico se puede producir.

- 50 Los ejemplos del vector en el que el gen se integra incluye vector de *Escherichia coli* (pBR 322, pUC18, pUC19, etc.), vector de *Bacillus subtilis* (pUB110, pTP5, pC194, etc.), vector de levadura (tipo Yep, tipo YRp, tipo Yip, etc.) y vector de células animales (retrovirus, virus vaccinia, etc.) aunque cualquier otro vector se puede usar siempre que pueda mantener establemente el gen objeto en las células huésped. El vector se transduce en células huésped apropiadas. Respecto al método para integrar el gen objeto diana en un plásmido o un método para introducirlo en las células huésped, se puede utilizar un método mencionado en Molecular Cloning (Sambrook, et al., 1989), por ejemplo.

- 60 Al expresar el gen del péptido quimérico en el plásmido anterior, un promotor está unido a la región 5' del gen para funcionar.

- 65 Respecto al promotor, se puede usar cualquiera siempre que sea un promotor apropiado correspondiente a las células huésped usadas para la expresión del gen objeto. Cuando, por ejemplo, la célula huésped que se va a transformar es el género *Escherichia*, se puede usar el promotor lac, el promotor trp, el promotor lpp, el promotor  $\lambda$  PL, el promotor recA, etc. Cuando es el género *Bacillus*, se puede usar el promotor SP01, el promotor SP02, etc.

Cuando es levadura, se puede usar el promotor GAP, promotor PH05, promotor ADH, etc. Cuando es una célula animal, se puede usar un promotor derivado de SV40, promotor derivado de retrovirus, etc.

Las células huésped se transforman usando un vector que contiene el gen objeto producido como antes. Respecto a la célula huésped, se pueden usar bacterias (tal como el género *Escherichia* o el género *Bacillus*), levadura (tal como el género *Saccharomyces*, género *Pichia* o género *Candida*), célula animal (tal como célula CHO o célula COS), etc. Respecto a un medio para la incubación, el medio líquido es apropiado y es particularmente preferido que el medio contenga fuente de carbono, fuente de nitrógeno, etc., necesarias para el crecimiento de las células transformadas que se van a incubar. Si se desea, se pueden añadir al medio vitaminas, factores que fomentan el crecimiento, suero, etc.

Después de la incubación, el péptido quimérico se separa y purifica por un método convencional a partir de los productos incubados. Por ejemplo, al extraer la sustancia objeto de los de los microbios o células incubados, los microbios o células se recogen después de la incubación y se resuspenden en un tampón que contiene un modificador de proteína (tal como clorhidrato de guanidina) y los microbios o células se disgregan por onda ultrasónica o similar seguido por someter a separación centrífuga. Al purificar la sustancia diana del líquido sobrenadante, se realizan medios de separación y purificación tal como filtración en gel, ultrafiltración, diálisis, SDS-PAGE o varias cromatografías mediante una combinación apropiada de los mismos considerando el peso molecular, solubilidad, carga (punto isotónico) afinidad etc., de la sustancia objeto.

El péptido quimérico también se puede sintetizar químicamente por métodos convencionales. Por ejemplo, se condensa un aminoácido que tiene grupos protectores por un método de fase líquida y/o un método de fase sólida para elongar la cadena peptídica, todos los grupos protectores se eliminan por un ácido y el producto crudo resultante se purifica para dar el producto diana. Con respecto a un método que se puede usar para la producción del péptido quimérico, se conocen ya varios métodos y el péptido quimérico como la sustancia también se puede producir fácilmente por métodos conocidos. Por ejemplo, se puede usar una síntesis peptídica clásica o se puede realizar un método de fase sólida por lo cual el producto se puede producir fácilmente.

Además, se puede usar un proceso de producción en el que se combinan una técnica de ADN recombinante y una síntesis química. Por tanto, cuando se añade un péptido de extensión de semivida a la cadena lateral de un aminoácido sobre el péptido objeto (tal como el grupo amino de un residuo de lisina o el grupo carboxílico de ácido glutámico o ácido aspártico), la producción se realiza por una síntesis química mientras, en otras partes, la producción se realiza usando una técnica de ADN recombinante y, después de eso, los fragmentos se fusionan para producir el producto.

Tal método también se puede comprender como un método donde el péptido de extensión de la semivida mencionado anteriormente en el presente documento se une al lado N terminal, lado C terminal o ambos lados terminales del péptido objeto por lo cual la semivida en plasma del péptido objeto se alarga.

#### (4) Preparaciones farmacéuticas

El péptido quimérico de la presente invención se puede usar como un fármaco para animales (individuos) incluyendo seres humanos. El péptido quimérico de la presente invención o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo se mezcla con un soporte farmacéuticamente aceptable por lo cual se puede fabricar una composición farmacéutica (preparación farmacéutica). No hay limitación para la forma farmacéutica y, por ejemplo, la preparación se usa como preparación sólida o preparación líquida para administración oral o como una preparación de inyección para uso parenteral.

Los ejemplos de la preparación sólida para administración oral incluyen comprimidos, píldoras, cápsulas, polvo diluido y gránulos mientras que los ejemplos de la preparación líquida incluyen para administración oral incluyen jarabe.

Respecto al soporte farmacéuticamente aceptable, varias sustancias soporte orgánicas o inorgánicas que se han usado comúnmente como materiales para la preparación se pueden usar y los ejemplos de las mismas en la preparación sólida incluyen excipiente, lubricante, aglutinante y agente disgregante mientras que ejemplos de las mismas en la preparación líquida incluyen solvente, ayuda de solubilización, agente de suspensión, agente isotonzante, tampón y agente analgésico. Si es necesario, también se pueden usar aditivos para la preparación tales como antiséptico, antioxidante, agente colorante o edulcorante.

Los ejemplos apropiados del excipiente incluyen lactosa, azúcar, D-manitol, almidón, celulosa cristalina y anhídrido de ácido silícico ligero.

Los ejemplos apropiados del lubricante incluyen estearato de magnesio, estearato de calcio, talco y sílice coloidal.

Los ejemplos apropiados del aglutinante incluyen celulosa microcristalina, azúcar, D-manitol, dextrina, hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa y polivinilpirrolidona.

Los ejemplos apropiados del agente disgregante incluyen almidón, carboximetilcelulosa, carboximetilcelulosa cálcica, croscarmelosa sódica y carboximetil almidón sódico.

5 Los ejemplos apropiados del solvente incluyen agua para inyección, alcohol, propilenglicol, Macrogol, aceite de sésamo y aceite de maíz.

Los ejemplos apropiados de la ayuda de solubilización incluyen polietilenglicol, propilenglicol, D-manitol, benzoato de bencilo, etanol, trisaminometano, colesterol, trietanolamina, carbonato de sodio y citrato de sodio.

10 Los ejemplos apropiados del agente de suspensión incluyen tensioactivo tal como estearil trietanolamina, laurilsulfato de sodio, ácido laurilaminopropiónico, lecitina, cloruro de benzalconio, cloruro de bencetonio y monoestearato de glicerol; y polímero hidrofílico tal como alcohol polivinílico, polivinilpirrolidona, carboximetilcelulosa sódica, metilcelulosa, hidroximetilcelulosa, hidroxietilcelulosa, e hidroxipropilcelulosa.

15 Los ejemplos apropiados del agente isotinizante incluyen cloruro de sodio, glicerol y D-manitol.

Los ejemplos apropiados del tampón incluyen un tampón líquido tal como fosfato, acetato, carbonato o citrato.

20 Los ejemplos apropiados del agente analgésico incluyen alcohol bencílico.

Los ejemplos apropiados del antiséptico incluyen p-hidroxibenzoatos, clorobutanol, alcohol bencílico, alcohol fenético, ácido deshidroacético y ácido sórbico.

25 Los ejemplos apropiados del antioxidante incluyen sulfito y ácido ascórbico.

Respecto a la forma farmacéutica del fármaco de la presente invención, se prefiere una forma farmacéutica que sea adecuada para administración parenteral. Los ejemplos de las formas farmacéuticas adecuadas para administración parenteral incluyen preparación de inyección para administración intravenosa, administración intracutánea, administración subcutánea o administración muscular, goteo, supositorio, adsorbente percutáneo, adsorbente permucoso y agente inhalante. Entre las anteriores, la forma farmacéutica de una inyección es preferida y, particularmente cuando el individuo es humano en el caso de tratamiento en casa, la forma farmacéutica tal como adsorbente permucoso, agente inhalante o supositorio también es preferida. Los expertos en la materia conocen varias formas farmacéuticas como tales por lo cual los expertos en la materia pueden seleccionar apropiadamente la forma farmacéutica que es adecuada para la vía de administración y uso deseados, si es necesario, uno o más aditivo(s) farmacéutico(s) son utilizables en el campo relacionado para fabricar la preparación en la forma de una composición farmacéutica.

40 Por ejemplo, un fármaco en la forma de inyección o goteo se puede preparar y proporcionar de tal manera que el péptido quimérico dotado con una semivida larga que es un ingrediente eficaz se disuelve en agua destilada para inyección junto con uno o más aditivo(s) farmacéutico(s) apropiado(s) tal como tampón, solución de azúcar, agente isotonzante, agente ajustador de pH, agente analgésico o agente antiséptico, se somete a esterilización por filtración (a través de un filtro) y se carga en ampollas o viales o la solución sometida a esterilización por filtración se liofiliza para preparar una preparación liofilizada. Los ejemplos del aditivo utilizable para ello incluyen sacáridos tal como glucosa, manitol, xilitol o lactosa; polímero hidrofílico tal como polietilenglicol; alcohol tal como glicerol; aminoácido tal como glicina; proteína tal como seroalbúmina; sal tal como NaCl y citrato de sodio; ácido tal como ácido acético, ácido tartárico, ácido ascórbico o ácido hialurónico; tensioactivo tal como Tween 80; y agente reductor tal como sulfito de sodio. La preparación como tal se puede usar como preparación para inyección o preparación de goteo mediante la adición de agua destilada para inyección o solución salina fisiológica a la misma para disolver en uso real. Para una administración permucosa, una preparación intranasal (preparación para administrar a través de la nariz) tal como gota intranasal o spray intranasal también es adecuada. Para una administración perpulmonar, también es adecuado agente inhalante.

55 La cantidad del péptido quimérico o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en la preparación varía dependiendo de la forma farmacéutica y es habitualmente desde aproximadamente 0,001 a 1000 mg, preferiblemente de aproximadamente 0,01 a 100 mg, más preferiblemente de aproximadamente 0,1 a 100 mg, y en particular preferiblemente, de aproximadamente 1 a 100 mg.

60 Se prefiere que la dosis anterior se administre de una a tres veces al día o de una a siete veces a la semana y el periodo para la administración varía dependiendo del tipo del péptido objeto y no está particularmente limitado.

La dosis del péptido quimérico o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo según la presente invención se puede determinar apropiadamente dependiendo del tipo del péptido objeto y también de la semivida del péptido quimérico.

65

Como tal, la presente invención incluye un método para el tratamiento de la enfermedad que se puede tratar por el péptido objeto contenido en la composición farmacéutica, por ejemplo, administrando la composición farmacéutica anteriormente mencionada de la presente invención a individuos.

5 La presente invención se ilustrará ahora en más detalle por medio de los siguientes ejemplos.

Ejemplo 1 (Cambio en la concentración de inmunorreactividad de ANP de ANP nativo o ANP quimérico en plasma)

10 Se investigaron cambios en la concentración de inmunorreactividad de ANP en plasma cuando se administraron un ANP nativo y un péptido quimérico (ANP quimérico) al se le confirió un péptido de extensión de la semivida.

15 El experimento se realizó usando ratas en las que se insertó previamente un tubo de polietileno (PE-50; fabricado por Clay Adams) en la arteria de muslo en condición anestesiada con Nembutal. Como sistema de prueba, ratas macho de una cepa SD de 7 semanas de edad (suministradas por Nippon Charles River) se sometieron al experimento donde un grupo comprendía tres ratas. ANP nativo ( $\alpha$ -hANP, SEQ ID NO: 100) o un ANP quimérico (A, B y C) se administró cada uno a la rata por vía intravenosa o subcutánea (lomo) en una dosis de 0,1 mg/kg y se recogió sangre durante el tiempo desde antes de la administración hasta 90 a 180 minutos después de la administración mediante un tubo de polietileno insertado en la arteria. Se añadieron un estabilizante y EDTA (fabricado por Dojin Laboratories) y aprotinina (fabricada por Bayer) como anticoagulantes a la sangre recogida, se separó el plasma por medio de separación centrífuga y se midió la concentración en plasma por un radioinmunoensayo (RIA) competitivo (Fig. 1). En ese momento, se usó un anticuerpo policlonal de conejo (#8) que reconoce una parte del anillo de ANP como un anticuerpo y se usó  $^{125}\text{I}$ -[Tyr $^{28}$ ]  $\alpha$ -ANP como compuesto marcador.

20 Cada secuencia de aminoácidos de ANP quimérico (A, B y C) es como sigue y todas ellas conservaron una actividad agonista de tipo receptor de guanilato ciclasa (receptor de GC-A) humano.

25 ANP quimérico (A): CFGGRMDRIGAQSGLGCNSFRYVQQRKESKKPPAKLQPR (enlace S-S entre los miembros subrayados) (SEQ ID No: 106)

30 ANP quimérico (B): VQQRKESKKPPAKLQPRCFGGRMDRIGAQSGLGCNSFRY (enlace S-S entre los miembros subrayados) (SEQ ID No: 107)

35 ANP quimérico (C): RPQLKAPPKKSEKRQVCFGGRMDRIGAQSGLGCNSFRY (enlace S-S entre los miembros subrayados) (SEQ ID No: 108)

40 Se calcularon los parámetros farmacocinéticos a partir de los cambios resultantes en las concentraciones de inmunorreactividad en plasma. En ese momento, se usó WinNonlin Professional Ver. 4.0.1 (fabricado por Pharsight Corporation, EE UU) como software analítico. El método para el cálculo de cada parámetro se menciona como sigue.

45 Se calcularon la concentración al tiempo 0 (C0; valor extrapolado, ng/ml), área bajo la curva para concentración en plasma frente al tiempo (AUC; ng-min/ml) y semivida de extinción (T1/2; minuto(s)) como sigue. C0 se calculó como un valor en el tiempo 0 por medio de extrapolación a partir de los cambios en la concentración de inmunorreactividad en plasma en cada periodo de recogida de sangre. AUC se calculó por un método trapezoidal usando las concentraciones de inmunorreactividad en plasma en todos los puntos de medida (t) y se determinó un valor extrapolado hasta el tiempo infinito. T1/2 se calculó por medio de un método de mínimos cuadrados de la inclinación de una línea recta que une varios puntos en una fase de desaparición de la concentración de inmunorreactividad en plasma. En el caso de una administración subcutánea, no se determinó C0, sino que se determinaron la concentración máxima en plasma (Cmax; ng/ml) y el tiempo al que se alcanza la concentración máxima en plasma (Tmax; min). Cmax era el valor más alto en la concentración de inmunorreactividad en plasma en cada una de las fases de recogida de sangre y, respecto a Tmax, se adoptó un tiempo de recogida de sangre donde la concentración mostró Cmax.

50 El resultado se muestra en las siguientes tablas 8 y 9.

55 Tabla 8.

Parámetros farmacocinéticos cuando se administran ANP nativo y ANP quimérico (A, B y C) del mismo por vía intravenosa durante un tiempo (0,1 mg/kg) a ratas macho (N = 3)

60

Péptido	Dosis (mg/kg)		C0 (ng/ml)	AUC 0→∞ (ng/min/ml)	T1/2 (min)	Valor P
ANP nativo	0,1	Valor medio ± desviación estándar	993 ± 208	1498 ± 90	2,88 ± 0,13	-
ANP quimérico (A)	0,1	Valor medio ± desviación estándar	1235 ± 71	11777 ± 1374	24,0 ± 2,5*	[0,000]

ANP quimérico (B)	0,1	Valor medio ± desviación estándar	1572 ± 361	10527 ± 969	40,0 ± 12,4*	[0,007]
ANP quimérico (C)	0,1	Valor medio ± desviación estándar	1533 ± 442	8867 ± 930	27,2 ± 3,8*	[0,000]

\* Se advirtió diferencia significativa de la semivida de desaparición de ANP nativa en la prueba de la T ( $P < 0,05$ ).

Tabla 9.

- 5 Parámetros farmacocinéticos cuando se administran ANP nativo y ANP quimérico (A, B y C) del mismo por vía subcutánea (0,1 mg/kg) a ratas macho (N = 3)

Péptido	Dosis (mg/kg)		Cmax (ng/ml)	Tmax (min)	AUC 0→∞ (ng/min/ml)	T1/2 (min)	Valor P
ANP nativo	0,1	Valor medio ± desviación estándar	22,3 ± 5,3	8,3 ± 2,9	535 ± 157	11,2 ± 2,0	-
ANP quimérico (A)	0,1	Valor medio ± desviación estándar	63,3 ± 31,8	5,0 ± 0,0	2041 ± 535	46,4 ± 8,0*	[0,002]
ANP quimérico (B)	0,1	Valor medio ± desviación estándar	64,5 ± 40,7	16,7 ± 5,8	3985 ± 2252	57,3 ± 7,1*	[0,000]
ANP quimérico (C)	0,1	Valor medio ± desviación estándar	55,1 ± 10,3	20,0 ± 0,0	3402 ± 860	37,8 ± 7,8*	[0,007]

\* Se advirtió diferencia significativa de la semivida de desaparición de ANP nativa en la prueba de la T ( $P < 0,05$ ).

- 10 Cuando se administró ANP quimérico (A, B y C) por vía intravenosa, cualquiera de esos derivados mostró una concentración creciente en plasma comparado con el ANP nativo que mostró una propiedad sostenida.

Además, cuando se administró el ANP quimérico (A, B y C) por vía subcutánea, cualquiera de esos derivados mostró una concentración creciente en plasma comparado con el ANP nativo que mostró una propiedad sostenida.

- 15 Ejemplo 2 (Cambios en la concentración en plasma y actividad biológica de CNP-22 nativo y CNP quimérico)

Se investigaron cambios en la concentración de inmunorreactividad en plasma de CNP-22 nativo y péptido quimérico (CNP quimérico) donde se añadió un péptido de extensión de la semivida a CNP.

- 20 El experimento se realizó de la misma manera que en el ejemplo 1 que se usaron ratas donde un tubo de polipropileno se insertó previamente en la arteria del muslo en una condición de anestesia con Nembutal y se usaron ratas de la cepa SD macho de 7 semanas de edad (compradas de Nippon Charles River) donde un grupo comprendía 3 ratas. Se administró CNP-22 nativo (SEQ ID NO: 101) o un CNP quimérico (A y B) cada uno a la rata por vía intravenosa (cola) o subcutánea (lomo) en una dosis de 0,1 mg/kg y se recogió sangre durante el tiempo desde antes de la administración hasta 90 a 180 minutos después de la administración mediante un tubo de polietileno insertado en la arteria del muslo. Se añadieron EDTA (fabricado por Dojin Laboratories) y aprotinina (fabricada por Bayer) como estabilizante y anticoagulante, respectivamente a la sangre recogida, el plasma se separó por medio de separación centrífuga y se midió la concentración en plasma por un RIA competitivo. En ese momento, se usó un anticuerpo policlonal de conejo (#2) que reconoce una parte de anillo de CNP-22 como un anticuerpo y se usó  $^{125}\text{I}$ -[Tyr<sup>0</sup>] CNP como compuesto marcador. El análisis farmacocinético se llevó a cabo por el mismo método que en el ejemplo 1.

- 35 Las secuencias de aminoácidos de CNP quimérico (A y B) son como sigue y ambas tienen una actividad agonista de tipo receptor de guanilato ciclasa B (receptor de GC-B) humano.

CNP quimérico (A): RPQLKAPPKSEKRQVCFGLKLD RIGSMSGLGC (enlace S-S entre los miembros subrayados) (SEQ ID No: 109)

- 40 CNP quimérico (B): CFGLKLD RIGSMSGLGC VQQRKESKPPAKLQPR (enlace S-S entre los miembros subrayados) (SEQ ID No: 110)

Los resultados se muestran en la figura 2 y las siguientes tablas 10 y 11.

- 45 Tabla 10.

Parámetros farmacocinéticos cuando se administran CNP-22 nativo y CNP quimérico (A y B) del mismo por vía intravenosa (0,1 mg/kg) a ratas macho (N = 3)

Péptido	Dosis (mg/kg)		C0 (ng/ml)	AUC 0→∞ (ng/min/ml)	T1/2 (min)	Valor P
CNP-22 nativo	0,1	Valor medio ± desviación estándar	1018 ± 273	1537 ± 602	2,93 ± 0,23	-
CNP quimérico (A)	0,1	Valor medio ± desviación estándar	1034 ± 358	6423 ± 553	21,7 ± 6,1*	[0,006]
CNP quimérico (B)	0,1	Valor medio ± desviación estándar	1466 ± 749	9194 ± 557	36,2 ± 2,3*	[0,000]

\* Se advirtió diferencia significativa de la semivida de desaparición de CNP-22 nativo en la prueba de la T (P < 0,05).

Tabla 11.

5 Parámetros farmacocinéticos cuando se administran CNP-22 nativo y CNP quimérico (A y B) del mismo por vía subcutánea (0,1 mg/kg) a ratas macho (N = 3)

Péptido	Dosis (mg/kg)		Cmax (ng/ml)	Tmax (min)	AUC 0→∞ (ng/min/ml)	T1/2 (min)	Valor P
CNP-22 nativo	0,1	Valor medio ± desviación estándar	55,6 ± 4,5	5,0 ± 0,0	1063 ± 75	7,8 ± 0,9*	-
CNP quimérico (A)	0,1	Valor medio ± desviación estándar	27,9 ± 2,7	13,3 ± 5,8	1491 ± 493	20,7 ± 7,5*	[0,042]
CNP quimérico (B)	0,1	Valor medio ± desviación estándar	32,8 ± 7,9	10,0 ± 0,0	1688 ± 617	24,0 ± 9,7*	[0,045]

\* Se advirtió diferencia significativa de la semivida de desaparición de CNP-22 nativo en la prueba de la T (P < 0,05).

10 Después de la administración intravenosa, el CNP-22 nativo disminuyó rápidamente en plasma en una semivida corta mientras que, en el CNP quimérico, se retuvo una concentración aproximadamente 100 veces mayor en plasma comparado con el CNP-22 nativo incluso después de 90 minutos desde la administración.

15 Por otra parte, cuando el CNP-22 nativo y los CNP quiméricos se administraron por vía subcutánea, la concentración máxima en plasma fue aproximadamente 1/2 en la administración del CNP quimérico comparado con el CNP-22 nativo y la desaparición del plasma fue lenta. Del resultado anterior, es ahora aparente que, en ratas, el CNP quimérico muestra una semivida larga tanto en la administración intravenosa como en la administración subcutánea comparado con el CNP-22 nativo.

20 El CNP-22 nativo y el CNP quimérico (B) (la estructura ya se ha mencionado) se administraron por vía subcutánea y se midió la concentración de GMPC en plasma que refleja la actividad biológica por RIA competitivo (documentos). La administración de fármaco y la recogida de la sangre se hicieron igual a esas en la medida de la concentración de inmunorreactividad de CNP-22 en plasma. Al medir la concentración de GMPC en plasma, se usó el kit de ensayo de GMPC de Yamasa (fabricado por Yamasa Shoyu) como kit de medida. El resultado se muestra en la figura 3.

25 La concentración de inmunorreactividad de CNP en plasma después de la administración subcutánea de CNP-22 nativo subió rápidamente seguido por disminución rápida y casi desapareció después de 60 minutos desde la administración. La concentración de GMPC en plasma subió ligeramente más despacio que la concentración de inmunorreactividad de CNP en plasma y, después de alcanzar su pico después de 15 a 30 minutos desde la administración, disminuyó rápidamente.

30 Por otra parte, cuando se administró CNP quimérico por vía subcutánea, el valor máximo de la concentración de inmunorreactividad de CNP en plasma fue menor que el de CNP-22 nativo. La concentración de GMPC en plasma también fue aproximadamente el 60% del caso del CNP-22 nativo y se retuvo a un nivel predeterminado durante 30 a 90 minutos después de la administración.

### Ejemplo 3 (Resistencia de CNP-22 nativo y CNP quimérico a peptidasa)

40 Se investigó la resistencia de CNP-22 nativo y CNP quimérico a peptidasa.

45 El experimento se realizó en N = 2 para cada muestra. Se prepararon CNP-22 nativo, CNP quimérico (A, B) (estructura ya mencionada; concentración final: 0,5 µg/ml) y 100 µl de solución de reacción (medio: MES 20 mM, pH 6,5) de endopeptidasa neutra recombinante de tipo humano (hNEP, fabricada por R&D Systems, Inc., EE UU). La muestra de valor inicial se hirvió durante 5 minutos inmediatamente después de la preparación. La muestra para la evaluación de estabilidad se sometió a una reacción enzimática en un recipiente a temperatura constante ajustada a 37°C durante 1 hora y después se hirvió durante 5 minutos. Se añadió agua destilada (100 µl) a la muestra

después de hervir seguido por mezclar bien y se analizaron 50 µl de la misma en un sistema de agua-acetonitrilo usando un sistema de cromatografía líquida de alta resolución LC-10A (fabricado por Shimadzu). Los datos analíticos se analizaron por un Chromato-Pack (CRA-10A, fabricado por Shimadzu) y se calculó el área de la zona del pico de la sustancia sin cambiar. El área de la zona media de la sustancia sin cambiar cuando se hizo reaccionar a 37°C se dividió por el área de la zona media de la muestra hervida para calcular la tasa residual de la sustancia sin cambiar después de 1 hora. El resultado se muestra en la siguiente tabla 12.

Tabla 12

Estabilidad de CNP-22 nativo y su CNP quimérico (A, B) a hNEP (valor medio de N = 2)

Péptido	Valor inicial (%)	Tasa residual (%)
CNP-22 nativo	100%	16,7%
CNP quimérico (A)	100%	84,3%
CNP quimérico (B)	100%	83,8%

La tasa residual del CNP-22 nativo sin cambiar en la muestra después de la reacción de 1 hora en un recipiente a temperatura constante ajustada a 37°C donde se añadió hNEP a una solución de CNP-22 nativo disminuyó a un nivel del 16,7% del valor inicial mientras que las tasas residuales de los CNP quiméricos (A y B) fueron 84,3% y 83,8%, respectivamente por lo cual se confirmó que cada uno de ellos mostró una resistencia al metabolismo de hNEP que el CNP-22 nativo.

Además, se evaluó la resistencia a NEP *in vivo* del CNP-22 nativo y CNP quimérico (B) usando el efecto por el uso conjunto con un inhibidor de NEP que afecta cambios en la concentración de inmunorreactividad de CNP en plasma después de la administración intravenosa como un índice.

Esta prueba también se llevó a cabo usando ratas en las que se insertó un tubo de polietileno (PE-50, fabricado por Clay Adams, EE UU) en la arteria del muslo para recoger sangre y ratas en las que se insertó un tubo de polietileno (PE-10, fabricado por Clay Adams, EE UU) en la vena del muslo para la administración de un inhibidor de NEP en condición de anestesia usando Nembutal. Como sistema de prueba, se usaron ratas de la cepa SD machos de 7 semanas de edad (Nippon Charles River; peso corporal: aprox. 250 g) para el experimento donde un grupo comprendía 3 ratas. De la vena del muslo, se administró por vía intravenosa un medio (manitol al 5%; 10 µl/min/cuerpo) o un inhibidor de NEP (30 µg/100 µl/min/cuerpo) a velocidad constante. El tiempo para la administración fue desde 10 minutos antes de la administración de CNP-22 nativo o el CNP quimérico (B) hasta terminar la recogida de sangre que fue 60 minutos después de la administración. El CNP-22 nativo y el CNP quimérico (B) se administró cada uno en la vena de la cola a una dosis de 20 µg/kg y se recogió sangre antes de empezar la administración del inhibidor de NEP (-10 minutos), antes de la administración de CNP (0 minuto) y hasta después de 60 minutos desde la administración mediante una cánula en la arteria del muslo. Después de añadir un estabilizante y un anticoagulante a la sangre recogida, se centrifugó para dar plasma y la concentración de inmunorreactividad en plasma se midió por el RIA competitivo anteriormente mencionado. El análisis farmacocinético se llevó a cabo por el mismo método que en el ejemplo 1.

Los resultados se muestran en la figura 4 y en la siguiente tabla 13.

Tabla 13

Influencia de un inhibidor de NEP en los parámetros farmacocinéticos cuando CNP-22 nativo y CNP quimérico (B) (aprox. 0,02 mg/kg) se administró cada uno por vía intravenosa a ratas macho (N = 3)

Péptido	Dosis (mg/kg)		C0 (ng/ml)	AUC 0→∞ (ng·min/ml)	T1/2 (min)
CNP-22 nativo	0,02	Valor medio ± desviación estándar	145 ± 20	202 ± 24	1,96 ± 0,05
Inhibidor de NEP (-)					
CNP-22 nativo	0,02	Valor medio ± desviación estándar	131 ± 32	758 ± 88	9,94 ± 1,40
Inhibidor de NEP (+)					
CNP quimérico (B)	0,02	Valor medio ± desviación estándar	253 ± 15	1470 ± 3	14,9 ± 3,1
Inhibidor de NEP (-)					
CNP quimérico (B)	0,02	Valor medio ± desviación estándar	203 ± 71	1342 ± 168	12,7 ± 1,2
Inhibidor de NEP (+)					

La concentración de inmunorreactividad de CNP en plasma cuando el CNP-22 nativo se administró por vía intravenosa aumento significativamente cuando se usó junto un inhibidor de NEP. La AUC cuando se usó junto con un inhibidor de NEP era aproximadamente 3,7 veces y la semivida era aproximadamente 5 veces comparado con el caso donde el inhibidor no se usó.

Por otra parte, cambios en la concentración de inmunorreactividad de CNP en plasma cuando se administró el CNP quimérico no cambiaron incluso cuando se usó junto con un inhibidor de NEP y se confirmó que, en el cuerpo de la rata, el CNP quimérico (B) apenas se descomponía por NEP comparado con el CNP-22 nativo (tabla 13).

#### 5 Ejemplo 4 (Acción promotora de extensión de CNP-22 nativo y CNP quimérico) (1)

Se investigó una acción promotora de extensión de CNP-22 nativo y CNP quimérico usando ratones.

10 En el experimento, se usaron ratones S/VAF Crij:CD1 (ICR) hembras de tres semanas de edad (Nippon Charles River) donde un grupo comprendía diez ratones y se usaron en total 30 ratones para el experimento. Los animales (dos semanas de edad) se compraron junto con tres ratones madre y diez crías de ratones con una madre ratón y se criaron juntos durante una semana y después se destetaron. Durante el periodo de administración, cada grupo en 5 ratones x 2 jaulas se crio en una jaula transparente. Respecto al agua, se dio agua del grifo a voluntad para beber y, respecto al pienso, se dio pienso sólido (CRF-1 fabricado por Oriental Yeast Industry) libremente a ingerir. Se administraron repetidamente medio, CNP-22 nativo o CNP quimérico (B) (estructura ya mencionada) dos veces al día durante 29 días por vía subcutánea desde el lomo en una dosis de 10 ml/kg, 0,25 mg/kg o 0,25 mg/kg, respectivamente y se midieron la longitud del cuerpo, la longitud de la cola y el peso corporal durante el periodo de administración. El resultado se muestra en la figura 5.

20 Como se muestra en la figura 5, la longitud del cuerpo de los ratones a los se les administró repetidamente un CNP quimérico (B) donde un péptido de extensión de la semivida se unió a CNP por vía subcutánea aumentó significativamente comparado con un grupo al que se administró medio, mientras que la longitud del cuerpo del grupo al que se administró CNP-22 nativo no mostró diferencia del grupo al que se administró el medio.

25 Por otra parte, con respecto al peso corporal, no hubo diferencia entre todos los grupos administrados.

#### Ejemplo 5 (Antigenicidad de CNP-22 nativo y CNP quimérico)

30 Para investigar si se producía un anticuerpo a CNP-22 nativo o CNP quimérico (B) usando suero recogido de los ratones después de terminar la administración repetida durante cuatro semanas en el ejemplo 4, se evaluó la antigenicidad de cada uno de ellos por medio de un ELISA indirecto.

35 Se añadió una solución de péptido (100 µl) ajustada a 1,0 ng/µl usando NaCHO<sub>3</sub> 50 mM a pH 8,5 a una placa de 96 pocillos (fabricada por Nalge Nunc International; Dinamarca) tratada con Maxisoap y sometida a una operación de recubrimiento durante la noche a 4°C. Se llevó a cabo el bloqueo a temperatura ambiente durante 1 hora usando Block Ace al 2,0% (fabricado por Snow Brand Milk). Después del bloqueo, se añadió una muestra de suero diluida a un nivel de 10<sup>2</sup> a 10<sup>5</sup> veces y la mezcla se sometió a una reacción antígeno-anticuerpo a temperatura ambiente durante 1 hora. Después de lavar los pocillos, se añadió a los mismos un anticuerpo anti-IgG de ratón HRP (fabricado por Zymed Laboratories, EE UU). La reacción antígeno-anticuerpo se realizó durante 1 hora a temperatura ambiente, después los pocillos se lavaron y se añadió a los mismos un sustrato ABTS (fabricado por KPL, EE UU). Después de la reacción a temperatura ambiente durante 1 hora, se midió la absorbancia a 405 nm por Spectra Max 190 (fabricado por Molecular Devices, EE UU) y se analizó el grado de coloración como un valor de anticuerpo.

45 Como resultado, incluso cuando el CNP-22 nativo o el CNP quimérico se administró repetidamente por vía subcutánea (lomo) en una dosis de 0,25 mg/kg dos veces al día durante 29 días, no se advirtió subida el valor de anticuerpo a CNP-22 nativo ni a CNP quimérico (B).

#### Ejemplo 6 (Semivida en plasma de motilina nativa y motilina quimérica) (1)

50 Se investigaron cambios en las concentraciones de inmunorreactividad de motilina cuando se administraron por vía intravenosa motilina nativa (SEQ ID NO: 102) y 13 tipos de motilinas quiméricas A a M (SEQ ID NO: 111 a 123) donde péptido de extensión de semivida en varias semividas que comprenderían de 5 a 22 residuos de aminoácidos se unieron a una secuencia de aminoácidos de números de aminoácidos 1 a 12 de SEQ ID NO: 102 que era el centro activo de motilina nativa. El experimento se llevó a cabo usando ratas en las que un tubo de polietileno (PE-50 fabricado por Clay Adams) se insertó previamente en la arteria del muslo en condición de anestesia con Nembutal. Respecto al sistema de prueba, se usaron ratas de la cepa SD machos (Nippon Charles River) de 7 semanas de edad donde un grupo comprendía 3 ratas. Se administró motilina de tipo humano o un derivado de la misma en una dosis de 10 nmol/kg en la vena de la cola de la rata y se recogió sangre antes de la administración y hasta 60 minutos después de la administración por un tubo de polietileno insertado en la arteria del muslo. A la sangre recogida se añadieron EDTA (Fabricado por Dojin Laboratories) y aprotinina (fabricada por Bayer) como un estabilizante y un anticoagulante, respectivamente y el plasma se separó de la misma por separación centrífuga. Se midió la concentración de inmunorreactividad de motilina en el plasma por un radioinmunoensayo (RIA) competitivo (Fig. 6). En ese momento, se usó un anticuerpo policlonal de conejo (#870623) que específicamente reconoce los números de aminoácido 1 a 12 de motilina nativa mostrada por SEQ ID NO: 102 como anticuerpo y, como compuesto marcado, se usó <sup>125</sup>I-[Tyr<sup>7</sup>] motilina de tipo humano.

Se muestran las secuencias de aminoácidos, pesos moleculares y tiempo medio para la desaparición del plasma para motilina nativa y motilina quimérica (A a M) en la siguiente tabla 14.

5 Tabla 14

Lista de secuencias de aminoácidos, pesos moleculares y tiempo medio para la desaparición del plasma para motilina quimérica tras la administración intravenosa a ratas.

10 (Valor medio  $\pm$  desviación estándar, N = 3)

Péptido	Secuencia de aminoácidos	Peso Mol.	T1/2 (min)		Valor P
			Valor medio	$\pm$ DE	
Motilina nativa	FVPIFTYGELQRMQEKERNKGQ	2699,05	3,26	$\pm$ 0,95*	-
Motilina quimérica (A)	FVPIFTYGELQRSPEHQRVQQRKESKKPPAKLQPR	4204,79	11,74	$\pm$ 3,36*	0,014
Motilina quimérica (B)	FVPIFTYGELQREHQRVQQRKESKKPPAKLQPR	4020,60	11,14	$\pm$ 0,73*	0,000
Motilina quimérica (C)	FVPIFTYGELQRQRVQQRKESKKPPAKLQPR	3754,35	8,90	$\pm$ 0,53*	0,001
Motilina quimérica (D)	FVPIFTYGELQRVQQRKESKKPPAKLQPR	3470,03	8,90	$\pm$ 0,50*	0,001
Motilina quimérica (E)	FVPIFTYGELQRQRKESKKPPAKLQPR	3242,77	8,03	$\pm$ 0,73*	0,002
Motilina quimérica (F)	FVPIFTYGELQRKESKKPPAKLQPR	2958,46	9,37	$\pm$ 0,58*	0,000
Motilina quimérica (G)	FVPIFTYGELQRSKKPPAKLQPR	2701,17	5,25	$\pm$ 1,32 NS	0,101
Motilina quimérica (H)	FVPIFTYGELQRVQQRKESKKPAKLQ	3216,73	10,43	$\pm$ 0,14*	0,000
Motilina quimérica (I)	FVPIFTYGELQRVQQRKESKKPPAK	2975,45	5,76	$\pm$ 0,66*	0,018
Motilina quimérica (J)	FVPIFTYGELQRVQQRKESKKPP	2776,20	6,34	$\pm$ 0,48*	0,008
Motilina quimérica (K)	FVPIFTYGELQRVQQRKESKK	2581,97	6,14	$\pm$ 2,37*	0,032
Motilina quimérica (L)	FVPIFTYGELQRVQQRKES	2325,62	4,89	$\pm$ 4,26 NS	0,296
Motilina quimérica (M)	FVPIFTYGELQRVQQRK	2109,43	2,39	$\pm$ 2,37 NS	0,272

\* En la prueba de la t, estaba disponible una diferencia significativa del tiempo medio de desaparición de motilina nativa ( $p < 0,05$ ).

NS: En la prueba de la t, no estaba disponible una diferencia significativa del tiempo medio de desaparición de motilina nativa ( $p > 0,05$ ).

15 El resultado se muestra también en la figura 6.

20 Todos los 13 tipos de motilinas quiméricas que se evaluaron conservaron la actividad agonista del receptor de motilina. Con respecto a la motilina quimérica (G, L y M), no se pudo confirmar una acción de extensión del tiempo medio de desaparición significativo *in vivo* que motilina nativa y se confirmó que, cuando la estructura de la secuencia de aminoácidos ESKK se perdía, la acción desaparecía. Con respecto a otros motivos, todos ellos tenían una acción de extender la semivida *in vivo* comparado con la motilina nativa y, entre ellos, el hecho de si la estructura de RKESKK se mantiene o no tiene la mayor influencia en la acción de extensión para la semivida.

25 Ejemplo 7 (Semivida de CNP-22 nativo y CNP quimérico en plasma) (1)

30 Se investigaron cambios en las concentraciones de inmunorreactividad de CNP en plasma cuando se administraron por vía intravenosa el CNP-22 nativo mostrado en SEQ ID NO: 101 y siete tipos de CNP quiméricos (C a I) (SEQ ID NO: 124 a 130) en los que un péptido de extensión de semivida que comprendía 17 residuos de aminoácidos se unió al extremo N, extremo C o ambos extremos del péptido que comprende la secuencia de aminoácidos 6 a 22 desde el extremo N de SEQ ID NO: 101 que era el centro activo de CNP-22 nativo.

35 El experimento se llevó a cabo usando ratas en las que un tubo de polietileno (PE-50 fabricado por Clay Adams) se insertó previamente en la arteria del muslo en condición de anestesia con Nembutal. Respecto al sistema de prueba, se usaron ratas de la cepa SD machos (Nippon Charles River) de 7 semanas de edad donde un grupo comprendía 3

ratas. Se administró CNP-22 nativo o CNP quimérico en una dosis de 10 nmol/kg en la vena de la cola de la rata y se recogió sangre antes de la administración y hasta 60 minutos después de la administración por un tubo de polietileno insertado en la arteria del muslo. A la sangre recogida se añadieron EDTA (Fabricado por Dojin Laboratories) y aprotinina (fabricada por Bayer) como un estabilizante y un anticoagulante, respectivamente y el plasma se separó de la misma por separación centrífuga. Se midió la concentración de inmunorreactividad de CNP en el plasma por un radioinmunoensayo (RIA) competitivo. En ese momento, se usó un anticuerpo policlonal de conejo (#2) que específicamente reconoce la estructura parcial de anillo del CNP-22 nativo como anticuerpo y, como compuesto marcado, se usó <sup>125</sup>I-[Tyr<sup>0</sup>] CNP.

Se muestran las secuencias de aminoácidos, pesos moleculares y tiempo medio para la desaparición del plasma para CNP quimérico en la siguiente tabla 15.

Tabla 15

Lista de secuencias de aminoácidos, pesos moleculares y tiempo medio para la desaparición del plasma para CNP-22 nativo y CNP quimérico (C a I) tras la administración intravenosa a ratas en una dosis de 10 nmol/kg.

(Valor medio ± desviación estándar, N = 3)

Péptido	Secuencia de aminoácidos	Peso Mol.	T1/2 (min)		Valor P
			Valor medio	±DE	
CNP-22 nativo	GLSKG <u>C</u> FGLKLDRI GMSGLG <u>C</u>	2197,6	4,34	±0,20	-
CNP quimérico (C)	<u>C</u> FGLKLDRI GMSGLG <u>C</u> <b>VQQRKESKKPPAKLQPR</b>	3755,5	15,03	±4,31*	0,013
CNP quimérico (D)	GLSKG <u>C</u> FGLKLDRI GMSGLG <u>C</u> <b>VQQRKESKKPPAKLQPR</b>	4198,0	20,30	±3,09*	0,001
CNP quimérico (E)	<b>VQQRKESKKPPAKLQPR</b> <u>C</u> FGLKLDRI GMSGLG <u>C</u> <b>VQQRKESKKPPAKLQPR</b>	5755,9	18,40	±2,05*	0,000
CNP quimérico (F)	<b>RPQLKAPPKSEKRQVQ</b> <u>C</u> FGLKLDRI GMSGLG <u>C</u> <b>VQQRKESKKPPAKLQPR</b>	5755,9	17,38	±1,00*	0,000
CNP quimérico (G)	<b>VQQRKESKKPPAKLQPR</b> <u>C</u> FGLKLDRI GMSGLG <u>C</u>	3755,5	17,75	±3,99*	0,004
CNP quimérico (H)	<b>RPQLKAPPKSEKRQVQ</b> <u>C</u> FGLKLDRI GMSGLG <u>C</u>	3755,5	14,86	±2,64*	0,002
CNP quimérico (I)	<u>C</u> FGLKLDRI GMSGLG <u>C</u> <b>VQQRKESKKPPAKLQPR-amida</b>	3754,5	14,50	±0,85*	0,000

En todos ellos, se formó enlace S-S en los residuos de cisteína en cursiva subrayados para formar una estructura cíclica.

\* En la prueba de la t, estaba disponible una diferencia significativa del tiempo medio de desaparición de CNP-22 nativo (p < 0,05).

El resultado se muestra también en la figura 7.

Todos los CNP quiméricos (C a I) evaluados conservaron la actividad agonista del receptor de CNP humano.

Todos los CNP quiméricos evaluados en este momento mostraron semivida de desaparición más larga que CNP-22 nativo. Por tanto, se encontró que el péptido de extensión de semivida evaluado en este momento mostró una acción de extensión para la semivida cuando estaba unido a cualquiera del lado N terminal y lado C terminal o a ambos lados y que, incluso cuando la secuencia de aminoácidos estaba invertida, la propiedad no se deterioraba. También se encontró que, incluso cuando la estructura C terminal estaba amidada, una acción de extensión para la semivida aún estaba disponible por lo cual, dependiendo de la estructura del péptido diana, se pudo seleccionar un sistema de unión.

Ejemplo 8 (Semivida en plasma de motilina nativa y motilina quimérica en plasma) (2)

Se investigaron cambios en las concentraciones de inmunorreactividad de motilina cuando se administraron por vía intravenosa motilina nativa (SEQ ID NO: 102) y 26 tipos de motilinas quiméricas (N a Z y I a XIII) (SEQ ID NO: 131 a

156) donde un péptido de extensión de semivida en varias semividas que comprendía de 14 a 22 residuos de aminoácidos se unieron a una secuencia de aminoácidos de números de aminoácidos 1 a 12 de SEQ ID NO: 102 que era el centro activo de motilina nativa.

5 El experimento se llevó a cabo usando ratas en las que un tubo de polietileno (PE-50 fabricado por Clay Adams) se insertó previamente en la arteria del muslo en condición de anestesia con Nembutal. Respecto al sistema de prueba, se usaron ratas de la cepa SD machos (Nippon Charles River) de 7 semanas de edad donde un grupo comprendía 3 ratas. Se administró motilina humana o un derivado de la misma en una dosis de 10 nmol/kg en la vena de la cola de la rata y se recogió sangre periódicamente antes de la administración y hasta 60 minutos después de la administración por un tubo de polietileno insertado en la arteria del muslo. A la sangre recogida se añadieron EDTA (Fabricado por Dojin Laboratories) y aprotinina (fabricada por Bayer) como un estabilizante y un anticoagulante, respectivamente y el plasma se separó de la misma por separación centrífuga. Se midió la concentración de inmunorreactividad de motilina en el plasma por un radioinmunoensayo (RIA) competitivo (Fig. 8). En ese momento, se usó un anticuerpo policlonal de conejo (#870623) que específicamente reconoce los números de aminoácido 1 a 12 de motilina nativa mostrada por SEQ ID NO: 102 como anticuerpo y, como compuesto marcado, se usó <sup>125</sup>I-[Tyr<sup>7</sup>] motilina humana.

Se muestran las secuencias de aminoácidos, pesos moleculares y tiempo medio para la desaparición del plasma para motilina nativa y motilina quimérica (N a Z y I a XIII) en la siguiente tabla 16 y figura 8.

Tabla 16

Lista de secuencias de aminoácidos, pesos moleculares y tiempo medio para la desaparición del plasma para motilina quimérica tras la administración intravenosa a ratas.

(Valor medio ± desviación estándar, N = 3)

Péptido	Secuencia de aminoácidos	Peso Mol.	T1/2 (min)		Valor P
			Valor medio	±DE	
Motilina nativa	FVPIFTYGELQRMQEKERNKGQ	2699,1	3,26	±0,95	-
Motilina quimérica (D)	FVPIFTYGELQRVQQRKESKKPPAKLQPR	3470,0	8,90	±0,50*	0,001
Motilina quimérica (N) (MG-dS)	FVPIFTYGELQRVQQRKEKKPPAKLQPR	3383,0	9,12	±1,22*	0,003
Motilina quimérica (O) (MG-18S/F)	FVPIFTYGELQRVQQRKEFKKPPAKLQPR	3530,2	7,73	±1,14*	0,007
Motilina quimérica (P) (MG-18S/T)	FVPIFTYGELQRVQQRKETKKPPAKLQPR	3484,1	9,67	±0,13*	0,000
Motilina quimérica (Q) (MG-18S/P)	FVPIFTYGELQRVQQRKEPKKPPAKLQPR	3480,1	9,65	±0,96*	0,001
Motilina quimérica (R) (MG-18S/L)	FVPIFTYGELQRVQQRKELKKPPAKLQPR	3496,2	9,13	±0,67*	0,001
Motilina quimérica (S) (MG-18S/A)	FVPIFTYGELQRVQQRKEAKKPPAKLQPR	3454,1	9,29	±0,30*	0,000
Motilina quimérica (T) (MG-17E/N)	FVPIFTYGELQRVQQRKNSKKPPAKLQPR	3455,1	5,47	±0,22*	0,017
Motilina quimérica (U) (MG-17E/Q)	FVPIFTYGELQRVQQRKQSKKPPAKLQPR	3469,1	5,66	±0,66*	0,023
Motilina quimérica (V) (MG-17ES/DS)	FVPIFTYGELQRVQQRKDSKKPPAKLQPR	3456,1	10,14	±0,92*	0,001
Motilina quimérica (W) (MG-dES)	FVPIFTYGELQRVQQRKKKPPAKLQPR	3253,9	5,39	±1,23 <sup>NS</sup>	0,077
Motilina quimérica (X) (MG-17E/D)	FVPIFTYGELQRVQQRKDSRRPPAKLQPR	3512,1	7,89	±0,34*	0,001

Motilina quimérica (Y) (MG-BR)	FVPIFTYGELQQRVQKKSEKRPPAKLQPR	3470,1	11,60	±1,18*	0,001
Motilina quimérica (Z) (MG-i17G)	FVPIFTYGELQQRVQQRKGESKPPAKLQPR	3527,1	10,53	±1,66*	0,003
Motilina quimérica (I) (MG-i19G)	FVPIFTYGELQQRVQQRKESGKPPAKLQPR	3527,1	11,55	±2,00*	0,003
Motilina quimérica (II) (MG-i17G2)	FVPIFTYGELQQRVQQRKGGESKPPAKLQPR	3584,1	11,50	±0,64*	0,000
Motilina quimérica (III) (MG-i17G2-19iG)	FVPIFTYGELQQRVQQRKGGESGKPPAKLQPR	3641,2	10,65	±0,72*	0,000
Motilina quimérica (IV) (MG-dPP)	FVPIFTYGELQQRVQQRKESKKAKLQPR	3196,8	7,73	±0,52*	0,002
Motilina quimérica (V) (MG-dPPH1)	FVPIFTYGELQQRVQQRKESKKAKLAALKA	3349,0	8,94	±0,68*	0,001
Motilina quimérica (VI) (MG-H1)	FVPIFTYGELQQRVQQRKESKKPPAKIAALKA	3543,2	9,94	±0,30*	0,000
Motilina quimérica (VII) (MG-H3)	FVPIFTYGELQQRVQQRKESKKPPAELAALKA	3545,1	12,78	±0,27*	0,000
Motilina quimérica (VIII) (MG-H4)	FVPIFTYGELQQRVQQRKESKKPPAELAALKA	3544,2	11,56	±0,93*	0,000
Motilina quimérica (IX) (MG-dPPS)	FVPIFTYGELQQRVQQRKESKKMITIR	3196,8	4,39	±0,38 <sup>NS</sup>	0,170
Motilina quimérica (X) (MG-S)	FVPIFTYGELQQRVQQRKESKKPPMITIR	3391,0	5,25	±0,45*	0,031
Motilina quimérica (XI) (MG-d12/14)	FVPIFTYGELQQRKESKKPPAKLAALKA	3031,6	10,29	±1,00*	0,001
Motilina quimérica (XII) (MGP1)	FVPIFTYGELQQRVQKKAYSPDKERKPPALQPR	3916,5	13,03	±0,98*	0,000
Motilina quimérica (XIII) (MGP2)	FVPIFTYGELQQRVQKKAYSPDKERKPPAKLQPR	4044,7	13,09	±2,90*	0,005

\* En la prueba de la t, estaba disponible una diferencia significativa del tiempo medio de desaparición de motilina nativa ( $p < 0,05$ ).

NS: En la prueba de la t, no estaba disponible una diferencia significativa del tiempo medio de desaparición de motilina nativa ( $p > 0,05$ ).

5 Del resultado para la motilina quimérica (XI) (MG-d12/14) junto con el resultado para las motilinas quiméricas (A a M) del ejemplo 6, se mostró que, con respecto a A en la fórmula del péptido de extensión de semivida de la presente invención, que puede no estar presente o que puede tener una secuencia de cualquier número de aminoácidos. Respecto a la longitud cuando la secuencia está presente, se mostró que era la longitud de aproximadamente 1 a 9 aminoácido(s), preferiblemente de 3 a 9 aminoácidos, más preferiblemente 3 aminoácidos y, lo más preferiblemente, Val-Gln-Gln.

15 Del resultado para las motilinas quiméricas (T) (MG-17E/N), (U) (MG-17E/Q) y (W) (MG-Des), se mostró que E (Glu) en RKESKK en la estructura (secuencia central: parte de la secuencia RKESKK) necesaria para la extensión de la semivida de la presente invención es un aminoácido que es necesario para la acción de extensión de la semivida y que, de los resultados para las motilinas quiméricas (V) (MG-ES/ED) y (X) (MG-17E/D), el aminoácido se puede sustituir con D (Asp). Por tanto, se mostró que el aminoácido en la posición del anterior E (Glu) puede ser un aminoácido ácido.

Del resultado para las motilinas quiméricas (O) (MG-18S/F), (P) (MG-18S/T), (Q) (MG-18S/P), (R) (MG-18S/L) y (S) (MG-18S/A), se mostró que S (Ser) en RKESKK se puede sustituir con T (Thr), P (Pro), L (Leu), F (Phe) o A (Ala). Por tanto, se mostró que el aminoácido en la posición de la anterior S (Ser) se puede sustituir por un aminoácido que tiene cualquier estructura de cadena lateral tal como aminoácido aromático, aminoácido hidrofóbico o aminoácido no cargado polar. También se mostró que, del resultado para motilina quimérica (N) (MG-dS), el aminoácido en la posición de la anterior S (Ser) puede no estar presente.

Del resultado para la motilina quimérica (X) (MG-17E/D), se mostró que cada uno de R (Arg) y K (Lys) en RKESKK se puede sustituir con cualquier aminoácido básico.

Es característico que la parte de secuencia RKESKK contiene un grupo de aminoácidos básicos (una secuencia continuada de dos aminoácidos básicos) y un aminoácido ácido y, del resultado para las motilinas quiméricas (Z) (MG-i17G), (I) (MG-i19G), (II) (MG-117G2) y (III) (MG-i17G2-i19G), se mostró que la distancia en el grupo se puede expandir por inserción de cualquier aminoácido.

Del resultado de cada péptido quimérico mencionado en la tabla 16, se mostró que la distancia en el grupo de aminoácidos básicos es de 1 a 5 aminoácidos.

Del resultado para la motilina quimérica (Y) (MG-BR), se mostró que el alineamiento de RKESKK se puede invertir (KKSEKR).

Del resultado para las motilinas quiméricas (XII) (MGP1) y (XIII) (MGP2), se mostró que la acción para extender la semivida se potencia incluso cuando dos secuencias correspondientes a la secuencia central se alinean en tándem y se mostró que la presencia de secuencias centrales plurales en una molécula también es un medio eficaz para lograr la extensión más larga de la semivida en sangre.

Las motilinas quiméricas (VI) (MG-H1), (VII) (MG-H3) y (VII) (MG-H4) son péptidos donde, en la parte que respecta a C en la fórmula del péptido de extensión de la semivida según la presente invención, se puede predecir que una secuencia que forma una estructura de hélice  $\alpha$  por un método conocido para predecir la estructura secundaria (método de Chou-Fasman: Biochemistry. 15 de enero 1974;13(2):222-45 Prediction of protein conformation. Chou PY, Fasman GD, o método de Garnier: J Mol Biol. 25 de marzo de 1978; 120 (1): 97-120. Analysis of the accuracy and implications of simple methods for predicting the secondary structure of globular proteins. Garnier J, Osguthorpe DJ, Robson B.) se alinea en relación a las dos Pro (secuencia Pro-Pro). Del resultado de esos péptidos quiméricos, se mostró que, respecto a C en la fórmula del péptido de extensión de la semivida de la presente invención, es preferido alinear cualquier secuencia de aminoácidos que pueda formar una estructura de hélice  $\alpha$ .

Además, como se muestra por comparación de la motilina quimérica (IV) (MG-dPP) con la motilina quimérica D, la comparación de la motilina quimérica (V) (MG-dPPH1) con la motilina quimérica (VI) (MG-H1) y la comparación de la motilina quimérica (IX) (MG-dPPS) con la motilina quimérica (X) (MG-S), se mostró que, cuando no está presente P (Pro) en el N terminal de la secuencia de aminoácidos correspondiente a la fórmula C del péptido de extensión de la semivida de la presente invención, es preferido alinear una secuencia de P (Pro) (en números de Pro en tal intervalo que haga los números de aminoácidos de C de 2 a 14 o, preferiblemente, Pro-Pro) en el sitio.

#### Ejemplo 9 (Semivida de CNP-22 nativo y CNP quimérico en plasma) (2)

Se investigaron cambios en la concentración de inmunorreactividad de CNP en plasma cuando se administraron por vía intravenosa el CNP-22 nativo mostrado en SEQ ID NO: 101 y de CNP quiméricos (D, J y K) (J del CNP quimérico es SEQ ID NO: 157 y K del CNP quimérico es SEQ ID NO: 158) en los que un péptido de extensión de semivida que comprendía 17 o 20 residuos de aminoácidos se unió al extremo C del péptido que comprende la secuencia de aminoácidos 6 a 22 desde el extremo N de SEQ ID NO: 101 que era el centro activo de CNP-22 nativo.

El experimento se llevó a cabo usando ratas en las que un tubo de polietileno (PE-50 fabricado por Clay Adams) se insertó en la arteria del muslo en condición de anestesia con Nembutal. Respecto al sistema de prueba, se usaron ratas de la cepa SD machos (Nippon Charles River) de 7 semanas de edad donde un grupo comprendía 3 ratas. Se administró CNP-22 nativo o CNP quimérico en una dosis de 20 nmol/kg en la vena de la cola de la rata y se recogió sangre antes de la administración y hasta 90 minutos después de la administración por un tubo de polietileno insertado en la arteria del muslo. A la sangre recogida se añadieron EDTA (fabricado por Dojin Laboratories) y aprotinina (fabricada por Bayer) como un estabilizante y un anticoagulante, respectivamente y el plasma se separó de la misma por separación centrífuga. Se midió la concentración de inmunorreactividad de CNP en el plasma por un radioinmunoensayo (RIA) competitivo. En ese momento, se usó un anticuerpo policlonal de conejo (#2) que específicamente reconoce la estructura parcial de anillo del CNP-22 nativo como anticuerpo y, como compuesto marcado, se usó  $^{125}\text{I}$ -[Tyr<sup>0</sup>] CNP.

Se muestran las secuencias de aminoácidos, pesos moleculares y tiempo medio para la desaparición del plasma para CNP quimérico en la siguiente tabla 17 y la figura 9.

Tabla 17

Lista de secuencias de aminoácidos, pesos moleculares y tiempo medio para la desaparición del plasma para CNP-22 nativo y CNP quimérico (D, J y K) tras la administración intravenosa a ratas en una dosis de 20 nmol/kg.

5 (Valor medio  $\pm$  desviación estándar, N = 3)

Péptido	Secuencia de aminoácidos	Peso Mol.	T1/2 (min)		Valor P
			Valor medio	$\pm$ DE	
CNP-22 nativo	GLSKGCFGLKLD RIGSMSGLG C	2198	1,60	$\pm$ 0,50	-
CNP quimérico (D)	GLSKGCFGLKLD RIGSMSGLG CVQQRKESKKPPAKLQPR	4198	43,59	$\pm$ 10,58*	0,002
CNP quimérico (J) (Producto sustituido por ED)	GLSKGCFGLKLD RIGSMSGLG CVQQRKDSKKPPAKLQPR	4184	31,24	$\pm$ 4,79*	0,000
CNP quimérico (K) (CO1-KR)	CFGLKLD RIGSMSGLG CAGSVDHKGKQRKVVDHPKR	3880	18,03	$\pm$ 4,72*	0,004

\* En la prueba de la t, estaba disponible una diferencia significativa del tiempo medio de desaparición de CNP-22 nativo ( $p < 0,05$ ).

10 Todos los CNP quiméricos evaluados en este momento mostraron una semivida significativamente más larga para la desaparición que el CNP-22 nativo.

15 Del resultado del CNP quimérico (J), se mostró que, con respecto a E (Glu) en RKESKK respecto a B (secuencia central) de la fórmula del péptido de extensión de la semivida de la presente invención, D (Asp) es aceptable en lugar de E.

20 Además, del resultado del CNP quimérico (K), se mostró que cualquier aminoácido (por ejemplo, Val (que puede estar en plural), H o P) puede estar presente entre E y el grupo de aminoácidos básicos (RK, KK) en RKESKK respecto a B (secuencia central) de la fórmula del péptido de extensión de la semivida de la presente invención. Además, se mostró que la parte en relación a A de la fórmula del péptido de extensión de la semivida de la presente invención no requiere particularmente una secuencia específica de aminoácidos sino que se puede usar cualquier aminoácido. Por ejemplo, los números de aminoácidos de la parte con relación a A será aceptable siempre que están dentro de 10.

#### 25 Ejemplo 10 (Acción promotora de extensión de CNP quimérico) (2)

Se investigó la dependencia de la dosis de la acción de extensión-elongación de los CNP quiméricos (D, J) usando ratones.

30 En el experimento, se usaron ratones S/VAF Crj:CD1 (ICR) hembras de tres semanas de edad (Nippon Charles River) donde un grupo comprendía diez ratones y se usaron en total 30 ratones para el experimento. Los animales (dos semanas de edad) se compraron junto con tres ratones madre y diez crías de ratón con una madre ratón se criaron juntos durante una semana y después se destetaron. Durante el periodo de administración, cada grupo en 5 ratones x dos jaulas se crio en una jaula transparente. Respecto al agua, se dio agua del grifo a voluntad para beber y, respecto al pienso, se dio pienso sólido (CRF-1 fabricado por Oriental Yeast Industry) libremente a ingerir. Se administraron repetidamente medio o CNP quimérico (D, J) (estructura ya mencionada) una vez al día durante 56 días por vía subcutánea desde el lomo en una dosis de 5 ml/kg, 50 nmol/kg o 200 nmol/kg, respectivamente y se midieron la longitud del cuerpo, la longitud de la cola y el peso corporal durante el periodo de administración. El resultado se muestra en la figura 10 y la foto de la longitud del cuerpo entero de los ratones al día siguiente de la terminación de la administración de CNP quimérico J se muestra en la figura 11.

40 Como se muestra en la figura 10, cuando se administraron por vía subcutánea repetidamente los CNP quiméricos (D, J), cada uno donde se unió un péptido de extensión de semivida a CNP-22 nativo, la longitud del cuerpo y la longitud de la cola de los ratones aumentaron significativamente de una manera dependiente de la dosis.

#### 45 Ejemplo 11 (Acción promotora de extensión de CNP quimérico) (3)

Se investigó la acción promotora de extensión de CNP quimérico usando ratas.

En el experimento, se usaron ratas SD (IGS) hembras de tres semanas de edad (Nippon Charles River) donde un grupo comprendía cinco ratas y se usaron en total 20 ratas para el experimento. Los animales (17 días de edad) se compraron y diez crías de rata con una madre rata se sometieron a cría preliminar y después se destetaron. Durante el periodo de administración, cada grupo se crio en una jaula colgante de aluminio. Respecto al agua, se dio agua del grifo a voluntad para beber y, respecto al pienso, se dio pienso sólido (CRF-1 fabricado por Oriental Yeast Industry) libremente a ingerir. Se administraron repetidamente medio o CNP quimérico (D) (estructura ya mencionada) una vez al día durante 56 días por vía subcutánea desde el lomo en una dosis de 5 ml/kg, 50 nmol/kg o 200 nmol/kg, respectivamente y se midieron la longitud del cuerpo, la longitud de la cola y el peso corporal durante el periodo de administración. El resultado se muestra en la figura 12.

Como se muestra en la figura 12, la longitud del cuerpo de las ratas a las que se administró repetidamente por vía subcutánea un CNP quimérico (D) donde un péptido de extensión de la semivida estaba unido a CNP-22 nativo en una dosis de 12,5, 50 y 200 nmol/1 ml/kg aumentó significativamente comparado con el grupo al que se administró medio.

Ejemplo 12 (Comparación de la semivida en plasma de CNP-22 nativo y CNP-53 nativo y CNP quimérico)

Cambios en la concentración de inmunorreactividad de CNP en plasma cuando el CNP-22 nativo mostrado en SEQ ID NO: 101 se administró solo o junto con inhibidor de endopeptidasa neutra (NEP) y se comparó con cambios en la concentración de inmunorreactividad de CNP en plasma cuando se administraron por vía intravenosa CNP-53 nativo (SEQ ID NO: 159) y el CNP quimérico (D) (estructura ya mencionada).

El experimento se realizó usando ratas en las que un tubo de polietileno (PE-50 fabricado por Clay Adams) se insertó previamente en la arteria del muslo en condición de anestesia con Nembutal. En el grupo donde el CNP-22 nativo se administró solo o junto con un inhibidor de NEP, el tubo de polietileno (PE-10, fabricado por Clay Adams) también se insertó en la vena del muslo. Respecto al sistema de prueba, se usaron ratas de la cepa SD machos (Nippon Charles River) de 7 semanas de edad donde un grupo comprendía tres ratas. Respecto al inhibidor de NEP, se usó DL-tiorfán (Fabricado por Sigma) y, durante el periodo desde 10 minutos antes del inicio de la administración del CNP-22 nativo hasta 60 minutos después del inicio de la administración donde terminó la recogida de sangre, manitol al 5% (100 µl/min/cuerpo) o inhibidor de NEP (30 µg/100 µl/min/cuerpo) se sometió a administración intravenosa de velocidad constante durante 70 minutos usando una bomba de infusión (CFV 2100, fabricada por Nippon Kodan K. K.). Se administró CNP-22 nativo, CNP-53 nativo o CNP quimérico (D) en la vena de la cola en una dosis de 10 nmol/kg cada uno y se recogió sangre antes de la administración y 60 minutos después de la administración de un tubo de polietileno insertado en la arteria del muslo. A la sangre recogida se añadieron EDTA (Fabricado por Dojin Laboratories) y aprotinina (fabricada por Bayer) como un estabilizante y un anticoagulante, respectivamente y el plasma se separó de por medio de separación centrífuga. Se midió la concentración de inmunorreactividad de CNP en el plasma por un radioinmunoensayo (RIA) competitivo. En ese momento, se usó un anticuerpo policlonal de conejo (#2) que específicamente reconoce la estructura parcial de anillo que es la estructura común para CNP-22 nativo y CNP-53 nativo como anticuerpo mientras que, como compuesto marcador, se usó <sup>125</sup>I-[Tyr<sup>0</sup>] CNP-22.

Se muestran las secuencias de aminoácidos, pesos moleculares y tiempo medio para la desaparición del plasma para CNP-22 nativo, el CNP-53 nativo y el CNP quimérico (D) en la siguiente tabla 18 y la figura 13.

Tabla 18

Lista de secuencias de aminoácidos, de CNP-22 nativo, CNP-53 nativo y CNP quimérico (D) y semivida para la desaparición del plasma donde se administraron por vía intravenosa en una dosis de 0 nmol/kg.

(Valor medio ± desviación estándar, N = 3)

Péptido	Secuencia de aminoácidos	Peso Mol.	Uso junto inh. NEP	T1/2 (min)		Valor P
				Valor medio	±DE	
CNP-22 nativo	GLSKGCFGLKLDRI <sup>S</sup> GMSGLG <sup>C</sup>	2198	no	1,11	±0,16	-
			sí	16,25	±2,22*	0,000
CNP-53 nativo	DLRVDTKSRAAWARLLQEHPNARKYKGANKKGLSKGGLSKGCFGLKLDRI <sup>S</sup> GMSGLG <sup>C</sup>	5802	no	15,72	±1,49*	0,000
CNP quimérico (D)	GLSKGCFGLKLDRI <sup>S</sup> GMSGLG <sup>C</sup> VQQRKESKPPAKLOPR	4198	no	20,30	±3,09*	0,000

En todos ellos, se formó enlace S-S en los residuos de cisteína en cursiva subrayados para formar una estructura cíclica.

\* En la prueba de la t, estaba disponible una diferencia significativa del tiempo medio de desaparición de CNP nativo (sin inhibidor de NEP) (p < 0,05).

5 De la tabla 18 y la figura 13, se mostró que el CNP quimérico (D) tenía semivida más larga que cualquiera del CNP-22 nativo, el CNP-22 junto con el inhibidor de NEP y el CNP-53 nativo. Puesto que el CNP-53 nativo tiene resistencia a NEP, su semivida es más larga que la del CNP-22 nativo y, puesto que el patrón farmacocinético cuando se usó el CNP-22 nativo junto con el inhibidor de NEP era casi el mismo en ambos, es probable que la secuencia de aminoácidos que produce una resistencia a NEP esté presente en las posiciones 1 a 21 del CNP-53 nativo. Además, en las posiciones 1 a 21 del CNP-53 nativo hay una secuencia (RKYYKGANKK) similar a la fórmula B (correspondiente a una secuencia central) de la presente invención.

10 Puesto que el CNP quimérico (D) mostró mejor perfil farmacocinético que el CNP-53 nativo, se mostró que el alineamiento de aminoácido ácido entre los grupos de aminoácidos básicos representado por la fórmula B es necesario para mostrar la característica de semivida más larga.

15 Cuando el péptido de extensión de semivida según la presente invención se añade al péptido objeto que tiene una semivida corta, la farmacocinética *in vivo* mejora y el producto tiene una semivida práctica como un fármaco.

**Lista de secuencias**

20 <110> Daiichi Sankyo Company, Limited

<120> Péptido capaz de extender la semivida de un péptido de interés en plasma

<130> S1216 EP

25 <140> EP 09 75 0669.5

<141> 22-05-2009

<150> JP 2008-136106

<151> 23-05-2008

30 <160> 160

<170> PatentIn versión 3.1

35 <210> 1

<211> 28

<212> PRT

<213> Homo sapiens

40 <400> 1

Gly Ser Ser Phe Leu Ser Pro Glu His Gln Arg Val Gln Gln Arg Lys  
 1 5 10 15

Glu Ser Lys Lys Pro Pro Ala Lys Leu Gln Pro Arg  
 20 25

<210> 2

<211> 27

<212> PRT

45 <213> Homo sapiens

<400> 2

Gly Ser Ser Phe Leu Ser Pro Glu His Gln Arg Val Gln Arg Lys Glu  
 1 5 10 15

Ser Lys Lys Pro Pro Ala Lys Leu Gln Pro Arg  
 20 25

50 <210> 3

<211> 28

<212> PRT

<213> Simio

55 <400> 3

ES 2 566 830 T3

Gly Ser Ser Phe Leu Ser Pro Glu His Gln Arg Ala Gln Gln Arg Lys  
 1 5 10 15

Glu Ser Lys Lys Pro Pro Ala Lys Leu Gln Pro Arg  
 20 25

<210> 4  
 <211> 27  
 <212> PRT  
 <213> Bovino

5

<400> 4

Gly Ser Ser Phe Leu Ser Pro Glu His Gln Lys Leu Gln Arg Lys Glu  
 1 5 10 15

Ala Lys Lys Pro Ser Gly Arg Leu Lys Pro Arg  
 20 25

10

<210> 5  
 <211> 27  
 <212> PRT  
 <213> Bovino

15

<400> 5

Gly Ser Ser Phe Leu Ser Pro Glu His Gln Lys Leu Gln Arg Lys Glu  
 1 5 10 15

Pro Lys Lys Pro Ser Gly Arg Leu Lys Pro Arg  
 20 25

20

<210> 6  
 <211> 28  
 <212> PRT  
 <213> Equino

<400> 6

Gly Ser Ser Phe Leu Ser Pro Glu His His Lys Val Gln His Arg Lys  
 1 5 10 15

Glu Ser Lys Lys Pro Pro Ala Lys Leu Lys Pro Arg  
 20 25

25

<210> 7  
 <211> 28  
 <212> PRT  
 <213> Porcino

30

<400> 7

Gly Ser Ser Phe Leu Ser Pro Glu His Gln Lys Val Gln Gln Arg Lys  
 1 5 10 15

Glu Ser Lys Lys Pro Ala Ala Lys Leu Lys Pro Arg  
 20 25

35

<210> 8  
 <211> 28  
 <212> PRT  
 <213> Canino

<400> 8

Gly Ser Ser Phe Leu Ser Pro Glu His Gln Lys Leu Gln Gln Arg Lys  
 1 5 10 15

Glu Ser Lys Lys Pro Pro Ala Lys Leu Gln Pro Arg  
 20 25

5 <210> 9  
 <211> 27  
 <212> PRT  
 <213> Cérvido

<400> 9  
 Gly Ser Ser Phe Leu Ser Pro Glu His Gln Lys Leu Gln Arg Lys Glu  
 1 5 10 15

10 Pro Lys Lys Pro Ser Gly Arg Leu Lys Pro Arg  
 20 25

<210> 10  
 <211> 27  
 <212> PRT  
 15 <213> Cérvido

<400> 10  
 Gly Ser Ser Phe Leu Ser Pro Asp His Gln Lys Leu Gln Arg Lys Glu  
 1 5 10 15

Pro Lys Lys Pro Ser Gly Arg Leu Lys Pro Arg  
 20 25

20 <210> 11  
 <211> 27  
 <212> PRT  
 <213> Ovino

25 <400> 11  
 Gly Ser Ser Phe Leu Ser Pro Glu His Gln Lys Leu Gln Arg Lys Glu  
 1 5 10 15

Pro Lys Lys Pro Ser Gly Arg Leu Lys Pro Arg  
 20 25

30 <210> 12  
 <211> 27  
 <212> PRT  
 <213> Cabra

<400> 12  
 Gly Ser Ser Phe Leu Ser Pro Glu His Gln Lys Leu Gln Arg Lys Glu  
 1 5 10 15

Pro Lys Lys Pro Ser Gly Arg Leu Lys Pro Arg  
 20 25

35 <210> 13  
 <211> 27  
 <212> PRT  
 <213> Felino

40 <400> 13

ES 2 566 830 T3

Gly Ser Ser Phe Leu Ser Pro Glu His Gln Lys Val Gln Arg Lys Glu  
1 5 10 15

Ser Lys Lys Pro Pro Ala Lys Leu Gln Pro Arg  
20 25

<210> 14  
<211> 28  
<212> PRT  
<213> Conejo

<400> 14

Gly Ser Ser Phe Leu Ser Pro Glu His Gln Lys Val Gln Gln Arg Lys  
1 5 10 15

Glu Ser Lys Lys Pro Ala Ala Lys Leu Lys Pro Arg  
20 25

<210> 15  
<211> 28  
<212> PRT  
<213> Murino

<400> 15

Gly Ser Ser Phe Leu Ser Pro Glu His Gln Lys Ala Gln Gln Arg Lys  
1 5 10 15

Glu Ser Lys Lys Pro Pro Ala Lys Leu Gln Pro Arg  
20 25

<210> 16  
<211> 27  
<212> PRT  
<213> Murino

<400> 16

Gly Ser Ser Phe Leu Ser Pro Glu His Gln Lys Ala Gln Arg Lys Glu  
1 5 10 15

Ser Lys Lys Pro Pro Ala Lys Leu Gln Pro Arg  
20 25

<210> 17  
<211> 28  
<212> PRT  
<213> Murino

<400> 17

Gly Ser Ser Phe Leu Ser Pro Glu His Gln Lys Thr Gln Gln Arg Lys  
1 5 10 15

Glu Ser Lys Lys Pro Pro Ala Lys Leu Gln Pro Arg  
20 25

<210> 18  
<211> 26  
<212> PRT  
<213> Suncus murinus

<400> 18

ES 2 566 830 T3

Gly Ser Ser Phe Leu Ser Pro Glu His Gln Lys Gly Pro Lys Lys Asp  
 1 5 10 15

Pro Arg Lys Pro Pro Lys Leu Gln Pro Arg  
 20 25

<210> 19  
 <211> 27  
 5 <212> PRT  
 <213> Cetáceos

<400> 19  
 Gly Ser Ser Phe Leu Ser Pro Glu His Gln Lys Leu Gln Arg Lys Glu  
 1 5 10 15

Ala Lys Lys Pro Ser Gly Arg Leu Lys Pro Arg  
 20 25

10 <210> 20  
 <211> 28  
 <212> PRT  
 <213> Meleagrididae

15 <400> 20  
 Gly Ser Ser Phe Leu Ser Pro Ala Tyr Lys Asn Ile Gln Gln Gln Lys  
 1 5 10 15

Asp Thr Arg Lys Pro Thr Ala Arg Leu His Pro Arg  
 20 25

20 <210> 21  
 <211> 28  
 <212> PRT  
 <213> Pollo

<400> 21  
 Gly Ser Ser Phe Leu Ser Pro Thr Tyr Lys Asn Ile Gln Gln Gln Lys  
 1 5 10 15

25 Asp Thr Arg Lys Pro Thr Ala Arg Leu His Arg Arg  
 20 25

30 <210> 22  
 <211> 26  
 <212> PRT  
 <213> Pollo

<400> 22  
 Gly Ser Ser Phe Leu Ser Pro Thr Tyr Lys Asn Ile Gln Gln Gln Lys  
 1 5 10 15

Asp Thr Arg Lys Pro Thr Ala Arg Leu His  
 20 25

35 <210> 23  
 <211> 24  
 <212> PRT  
 <213> Pollo

40 <400> 23

ES 2 566 830 T3

Gly Ser Ser Phe Leu Ser Pro Thr Tyr Lys Asn Ile Gln Gln Gln Lys  
 1 5 10 15

Asp Thr Arg Lys Pro Thr Ala Arg  
 20

5 <210> 24  
 <211> 27  
 <212> PRT  
 <213> Tortuga

<400> 24  
 Gly Ser Ser Phe Leu Ser Pro Glu Tyr Gln Asn Thr Gln Gln Arg Lys  
 1 5 10 15

10 Asp Pro Lys Lys His Thr Lys Leu Asn Arg Arg  
 20 25

<210> 25  
 <211> 30  
 <212> PRT  
 <213> Rana

15 <400> 25  
 Gly Leu Thr Phe Leu Ser Pro Ala Asp Met Gln Lys Ile Ala Glu Arg  
 1 5 10 15

Gln Ser Gln Asn Lys Leu Arg His Gly Asn Met Asn Arg Arg  
 20 25 30

20 <210> 26  
 <211> 28  
 <212> PRT  
 <213> Rana

<400> 26  
 Gly Leu Thr Phe Leu Ser Pro Ala Asp Met Gln Lys Ile Ala Glu Arg  
 1 5 10 15

25 Gln Ser Gln Asn Lys Leu Arg His Gly Asn Met Asn  
 20 25

<210> 27  
 <211> 27  
 <212> PRT  
 <213> Rana

<400> 27  
 Gly Leu Thr Phe Leu Ser Pro Ala Asp Met Gln Lys Ile Ala Glu Arg  
 1 5 10 15

Gln Ser Gln Asn Lys Leu Arg His Gly Asn Met  
 20 25

35 <210> 28  
 <211> 24  
 <212> PRT  
 <213> Anguila

40 <400> 28

ES 2 566 830 T3

Gly Ser Ser Phe Leu Ser Pro Ser Gln Arg Pro Gln Gly Lys Asp Lys  
 1 5 10 15

Lys Pro Pro Arg Val Gly Arg Arg  
 20

5 <210> 29  
 <211> 21  
 <212> PRT  
 <213> Anguila

10 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (21).. (21)  
 <223> Amidación del residuo C terminal

<400> 29

Gly Ser Ser Phe Leu Ser Pro Ser Gln Arg Pro Gln Gly Lys Asp Lys  
 1 5 10 15

Lys Pro Pro Arg Val  
 20

15 <210> 30  
 <211> 25  
 <212> PRT  
 <213> Bagre

20 <400> 30  
 Gly Ser Ser Phe Leu Ser Pro Thr Gln Lys Pro Gln Asn Arg Gly Asp  
 1 5 10 15

Arg Lys Pro Pro Arg Val Gly Arg Arg  
 20 25

25 <210> 31  
 <211> 23  
 <212> PRT  
 <213> Bagre

<400> 31

Gly Ser Ser Phe Leu Ser Pro Thr Gln Lys Pro Gln Asn Arg Gly Asp  
 1 5 10 15

Arg Lys Pro Pro Arg Val Gly  
 20

30 <210> 32  
 <211> 22  
 <212> PRT  
 <213> Bagre

35 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (22).. (22)  
 <223> Amidación del residuo C terminal

40 <400> 32  
 Gly Ser Ser Phe Leu Ser Pro Thr Gln Lys Pro Gln Asn Arg Gly Asp  
 1 5 10 15

Arg Lys Pro Pro Arg Val  
 20

<210> 33

ES 2 566 830 T3

<211> 26  
 <212> PRT  
 <213> Tiburón

5 <400> 33  
 Gly val Ser Phe His Pro Arg Leu Lys Glu Lys Asp Asp Asn Ser Ser  
 1 5 10 15

Gly Asn Ser Arg Lys Ser Asn Pro Lys Arg  
 20 25

<210> 34  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

10 <400> 34  
 val Gln Gln Arg Lys Glu Ser Lys Lys Pro Pro Ala Lys Leu Gln Pro  
 1 5 10 15

**Arg**

15 <210> 35  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

20 <400> 35  
 val Gln Arg Lys Glu Ser Lys Lys Pro Pro Ala Lys Leu Gln Pro Arg  
 1 5 10 15

<210> 36  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> Simio

25 <400> 36  
 Ala Gln Gln Arg Lys Glu Ser Lys Lys Pro Pro Ala Lys Leu Gln Pro  
 1 5 10 15

**Arg**

30 <210> 37  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Bovino

35 <400> 37  
 Leu Gln Arg Lys Glu Ala Lys Lys Pro Ser Gly Arg Leu Lys Pro Arg  
 1 5 10 15

<210> 38  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Bovino

40 <400> 38  
 Leu Gln Arg Lys Glu Pro Lys Lys Pro Ser Gly Arg Leu Lys Pro Arg  
 1 5 10 15

<210> 39  
 <211> 17  
 <212> PRT

50

ES 2 566 830 T3

<213> Equino

<400> 39

Val Gln His Arg Lys Glu Ser Lys Lys Pro Pro Ala Lys Leu Lys Pro  
1 5 10 15

Arg

5

<210> 40

<211> 17

<212> PRT

<213> Porcino

10

<400> 40

Val Gln Gln Arg Lys Glu Ser Lys Lys Pro Ala Ala Lys Leu Lys Pro  
1 5 10 15

Arg

15

<210> 41

<211> 17

<212> PRT

<213> Canino

20

<400> 41

Leu Gln Gln Arg Lys Glu Ser Lys Lys Pro Pro Ala Lys Leu Gln Pro  
1 5 10 15

Arg

25

<210> 42

<211> 16

<212> PRT

<213> Cérvido

<400> 42

Leu Gln Arg Lys Glu Pro Lys Lys Pro Ser Gly Arg Leu Lys Pro Arg  
1 5 10 15

30

<210> 43

<211> 16

<212> PRT

<213> Cérvido

35

<400> 43

Leu Gln Arg Lys Glu Pro Lys Lys Pro Ser Gly Arg Leu Lys Pro Arg  
1 5 10 15

40

<210> 44

<211> 16

<212> PRT

<213> Ovino

<400> 44

Leu Gln Arg Lys Glu Pro Lys Lys Pro Ser Gly Arg Leu Lys Pro Arg  
1 5 10 15

45

<210> 45

<211> 16

<212> PRT

50

<213> Cabra

<400> 45

ES 2 566 830 T3

**Leu Gln Arg Lys Glu Pro Lys Lys Pro Ser Gly Arg Leu Lys Pro Arg**  
**1 5 10 15**

<210> 46  
 <211> 16  
 5 <212> PRT  
 <213> Felino

<400> 46  
**Val Gln Arg Lys Glu Ser Lys Lys Pro Pro Ala Lys Leu Gln Pro Arg**  
**1 5 10 15**

10 <210> 47  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> Conejo

15 <400> 47  
**Val Gln Gln Arg Lys Glu Ser Lys Lys Pro Ala Ala Lys Leu Lys Pro**  
**1 5 10 15**

**Arg**

20 <210> 48  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> Murino

<400> 48  
**Ala Gln Gln Arg Lys Glu Ser Lys Lys Pro Pro Ala Lys Leu Gln Pro**  
**1 5 10 15**

25 **Arg**

<210> 49  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 30 <213> Murino

<400> 49  
**Ala Gln Arg Lys Glu Ser Lys Lys Pro Pro Ala Lys Leu Gln Pro Arg**  
**1 5 10 15**

35 <210> 50  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> Murino

40 <400> 50  
**Thr Gln Gln Arg Lys Glu Ser Lys Lys Pro Pro Ala Lys Leu Gln Pro**  
**1 5 10 15**

**Arg**

45 <210> 51  
 <211> 15  
 <212> PRT  
 <213> Suncus murinus

<400> 51  
**Gly Pro Lys Lys Asp Pro Arg Lys Pro Pro Lys Leu Gln Pro Arg**  
**1 5 10 15**

50 <210> 52

ES 2 566 830 T3

<211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Cetáceos

5 <400> 52  
**Leu** Gln Arg Lys Gln Ala Lys Lys Pro Ser Gly Arg Leu Lys Pro Arg  
 1 5 10 15

<210> 53  
 <211> 17

10 <212> PRT  
 <213> Meleagridae

<400> 53  
**Ile** Gln Gln Gln Lys Asp Thr Arg Lys Pro Thr Ala Arg Leu His Pro  
 1 5 10 15

**Arg**

15 <210> 54  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> Pollo

20 <400> 54  
**Ile** Gln Gln Gln Lys Asp Thr Arg Lys Pro Thr Ala Arg Leu His Arg  
 1 5 10 15

**Arg**

25 <210> 55  
 <211> 15  
 <212> PRT  
 <213> Pollo

30 <400> 55  
**Ile** Gln Gln Gln Lys Asp Thr Arg Lys Pro Thr Ala Arg Leu His  
 1 5 10 15

35 <210> 56  
 <211> 13  
 <212> PRT  
 <213> Pollo

<400> 56  
**Ile** Gln Gln Gln Lys Asp Thr Arg Lys Pro Thr Ala Arg  
 1 5 10

40 <210> 57  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Tortuga

45 <400> 57  
**Thr** Gln Gln Arg Lys Asp Pro Lys Lys His Thr Lys Leu Asn Arg Arg  
 1 5 10 15

50 <210> 58  
 <211> 20  
 <212> PRT  
 <213> Rana

<400> 58

ES 2 566 830 T3

Gln Lys Ile Ala Glu Arg Gln Ser Gln Asn Lys Leu Arg His Gly Asn  
1 5 10 15

Met Asn Arg Arg  
20

5 <210> 59  
<211> 18  
<212> PRT  
<213> Rana

<400> 59

Gln Lys Ile Ala Glu Arg Gln Ser Gln Asn Lys Leu Arg His Gly Asn  
1 5 10 15

Met Asn

10 <210> 60  
<211> 17  
<212> PRT  
<213> Rana

15 <400> 60

Gln Lys Ile Ala Glu Arg Gln Ser Gln Asn Lys Leu Arg His Gly Asn  
1 5 10 15

Met

20 <210> 61  
<211> 13  
<212> PRT  
<213> Anguila

<400> 61

25 Gln Gly Lys Asp Lys Lys Pro Pro Arg Val Gly Arg Arg  
1 5 10

30 <210> 62  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Anguila

<400> 62

Gln Gly Lys Asp Lys Lys Pro Pro Arg Val  
1 5 10

35 <210> 63  
<211> 14  
<212> PRT  
<213> Bagre

40 <400> 63

Gln Asn Arg Gly Asp Arg Lys Pro Pro Arg Val Gly Arg Arg  
1 5 10

45 <210> 64  
<211> 12  
<212> PRT  
<213> Bagre

<400> 64

Gln Asn Arg Gly Asp Arg Lys Pro Pro Arg Val Gly  
1 5 10

ES 2 566 830 T3

5 <210> 65  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> Bagre

<400> 65  
 Gln Asn Arg Gly Asp Arg Lys Pro Pro Arg Val  
 1 5 10

10 <210> 66  
 <211> 18  
 <212> PRT  
 <213> Tiburón

15 <400> 66  
 Lys Glu Lys Asp Asp Asn Ser Ser Gly Asn Ser Arg Lys Ser Asn Pro  
 1 5 10 15

Lys Arg

20 <210> 67  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 67  
 Arg Pro Gln Leu Lys Ala Pro Pro Lys Lys Ser Glu Lys Arg Gln Gln  
 1 5 10 15

25 val

<210> 68  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 68  
 Arg Pro Gln Leu Lys Ala Pro Pro Lys Lys Ser Glu Lys Arg Gln Val  
 1 5 10 15

35 <210> 69  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

40 <400> 69  
 Arg Pro Gln Leu Lys Ala Pro Pro Lys Lys Ser Glu Lys Arg Gln Gln  
 1 5 10 15

Ala

45 <210> 70  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Bovino

<400> 70  
 Arg Pro Lys Leu Arg Gly Ser Pro Lys Lys Ala Glu Lys Arg Gln Leu  
 1 5 10 15

50 <210> 71  
 <211> 16  
 <212> PRT

ES 2 566 830 T3

<213> Bovino

<400> 71  
Arg Pro Lys Leu Arg Gly Ser Pro Lys Lys Pro Glu Lys Arg Gln Leu  
1 5 10 15

5

<210> 72  
<211> 17  
<212> PRT  
<213> Equino

10

<400> 72  
Arg Pro Lys Leu Lys Ala Pro Pro Lys Lys Ser Glu Lys Arg His Gln  
1 5 10 15

val

15

<210> 73  
<211> 17  
<212> PRT  
<213> Porcino

<400> 73  
Arg Pro Lys Leu Lys Ala Ala Pro Lys Lys Ser Glu Lys Arg Gln Gln  
1 5 10 15

20

val

<210> 74  
<211> 17  
<212> PRT

25

<213> Canino

<400> 74  
Arg Pro Gln Leu Lys Ala Pro Pro Lys Lys Ser Glu Lys Arg Gln Gln  
1 5 10 15

Leu

30

<210> 75  
<211> 16  
<212> PRT  
<213> Cérvido

35

<400> 75  
Arg Pro Lys Leu Arg Gly Ser Pro Lys Lys Pro Glu Lys Arg Gln Leu  
1 5 10 15

<210> 76  
<211> 16  
<212> PRT

40

<213> Cérvido

<400> 76  
Arg Pro Lys Leu Arg Gly Ser Pro Lys Lys Pro Glu Lys Arg Gln Leu  
1 5 10 15

45

<210> 77  
<211> 16  
<212> PRT  
<213> Ovino

50

<400> 77

ES 2 566 830 T3

**Arg Pro Lys Leu Arg Gly Ser Pro Lys Lys Pro Glu Lys Arg Gln Leu**  
**1 5 10 15**

5 <210> 78  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Cabra

<400> 78

**Arg Pro Lys Leu Arg Gly Ser Pro Lys Lys Pro Glu Lys Arg Gln Leu**  
**1 5 10 15**

10 <210> 79  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Felino

15 <400> 79

**Arg Pro Gln Leu Lys Ala Pro Pro Lys Lys Ser Glu Lys Arg Gln Val**  
**1 5 10 15**

20 <210> 80  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> Conejo

<400> 80

**Arg Pro Lys Leu Lys Ala Ala Pro Lys Lys Ser Glu Lys Arg Gln Gln**  
**1 5 10 15**

25 **Val**

30 <210> 81  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> Murino

<400> 81

**Arg Pro Gln Leu Lys Ala Pro Pro Lys Lys Ser Glu Lys Arg Gln Gln**  
**1 5 10 15**

**Ala**

35 <210> 82  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Murino

40 <400> 82

**Arg Pro Gln Leu Lys Ala Pro Pro Lys Lys Ser Glu Lys Arg Gln Ala**  
**1 5 10 15**

45 <210> 83  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> Murino

<400> 83

**Arg Pro Gln Leu Lys Ala Pro Pro Lys Lys Ser Glu Lys Arg Gln Gln**  
**1 5 10 15**

50 **Thr**

<210> 84  
 <211> 15

ES 2 566 830 T3

<212> PRT  
<213> Suncus murinus

<400> 84

5 Arg Pro Gln Leu Lys Pro Pro Lys Arg Pro Asp Lys Lys Pro Gly  
1 5 10 15

<210> 85  
<211> 16  
<212> PRT  
10 <213> Cetáceos

<400> 85

Arg Pro Lys Leu Arg Gly Ser Pro Lys Lys Ala Glu Lys Arg Gln Leu  
1 5 10 15

15 <210> 86  
<211> 17  
<212> PRT  
<213> Meleagrididae

20 <400> 86

Arg Pro His Leu Arg Ala Thr Pro Lys Arg Thr Asp Lys Gln Gln Gln  
1 5 10 15

Ile

25 <210> 87  
<211> 17  
<212> PRT  
<213> Pollo

<400> 87

Arg Arg His Leu Arg Ala Thr Pro Lys Arg Thr Asp Lys Gln Gln Gln  
1 5 10 15

Ile

30 <210> 88  
<211> 15  
<212> PRT  
35 <213> Pollo

<400> 88

His Leu Arg Ala Thr Pro Lys Arg Thr Asp Lys Gln Gln Gln Ile  
1 5 10 15

40 <210> 89  
<211> 13  
<212> PRT  
<213> Pollo

<400> 89

45 Arg Ala Thr Pro Lys Arg Thr Asp Lys Gln Gln Gln Ile  
1 5 10

50 <210> 90  
<211> 16  
<212> PRT  
<213> Tortuga

<400> 90

Arg Arg Asn Leu Lys Thr His Lys Lys Pro Asp Lys Arg Gln Gln Thr  
1 5 10 15

ES 2 566 830 T3

5 <210> 91  
 <211> 20  
 <212> PRT  
 <213> Rana

<400> 91  
 Arg Arg Asn Met Asn Gly His Arg Leu Lys Asn Gln Ser Gln Arg Glu  
 1 5 10 15

Ala Ile Lys Gln  
 20

10 <210> 92  
 <211> 18  
 <212> PRT  
 <213> Rana

15 <400> 92  
 Asn Met Asn Gly His Arg Leu Lys Asn Gln Ser Gln Arg Glu Ala Ile  
 1 5 10 15

Lys Gln

20 <210> 93  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> Rana

<400> 93  
 Met Asn Gly His Arg Leu Lys Asn Gln Ser Gln Arg Glu Ala Ile Lys  
 1 5 10 15

Gln

25 <210> 94  
 <211> 13  
 <212> PRT  
 <213> Anguila

30 <400> 94  
 Arg Arg Gly Val Arg Pro Pro Lys Lys Asp Lys Gly Gln  
 1 5 10

35 <210> 95  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> Anguila

40 <400> 95  
 Val Arg Pro Pro Lys Lys Asp Lys Gly Gln  
 1 5 10

45 <210> 96  
 <211> 14  
 <212> PRT  
 <213> Bagre

<400> 96  
 Arg Arg Gly Val Arg Pro Pro Lys Arg Asp Gly Arg Asn Gln  
 1 5 10

50 <210> 97  
 <211> 12

<212> PRT  
 <213> Bagre

<400> 97  
 5 **Gly Val Arg Pro Pro Lys Arg Asp Gly Arg Asn Gln**  
**1 5 10**

<210> 98  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 10 <213> Bagre

<400> 98  
**Val Arg Pro Pro Lys Arg Asp Gly Arg Asn Gln**  
**1 5 10**

15 <210> 99  
 <211> 18  
 <212> PRT  
 <213> Tiburón

20 <400> 99  
**Arg Lys Pro Asn Ser Lys Arg Ser Asn Gly Ser Ser Asn Asp Asp Lys**  
**1 5 10 15**  
**Glu Lys**

25 <210> 100  
 <211> 28  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

30 <220>  
 <221> DISULFURO  
 <222> (7)..(23)  
 <223> Péptido cíclico: enlace disulfuro de Cys en la posición 7 a Cys en la posición 23

<400> 100  
**Ser Leu Arg Arg Ser Ser Cys Phe Gly Gly Arg Met Asp Arg Ile Gly**  
**1 5 10 15**

35 **Ala Gln Ser Gly Leu Gly Cys Asn Ser Phe Arg Tyr**  
**20 25**

40 <210> 101  
 <211> 22  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> DISULFURO  
 <222> (6)..(22)  
 45 <223> Péptido cíclico: enlace disulfuro de Cys en la posición 6 a Cys en la posición 22

<400> 101  
**Gly Leu Ser Lys Gly Cys Phe Gly Leu Lys Leu Asp Arg Ile Gly Ser**  
**1 5 10 15**

**Met Ser Gly Leu Gly Cys**  
**20**

50 <210> 102  
 <211> 22  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 102

Phe Val Pro Ile Phe Thr Tyr Gly Glu Leu Gln Arg Met Gln Glu Lys  
1 5 10 15

Glu Arg Asn Lys Gly Gln  
20

5 <210> 103  
<211> 30  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

10 <220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (30)..(30)  
<223> AMIDACIÓN del residuo C terminal

15 <400> 103  
His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Gly  
1 5 10 15

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly Arg  
20 25 30

20 <210> 104  
<211> 34  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 104  
Ser Val Ser Glu Ile Gln Leu Met His Asn Leu Gly Lys His Leu Asn  
1 5 10 15

Ser Met Glu Arg Val Glu Trp Leu Arg Lys Lys Leu Gln Asp Val His  
20 25 30

25 Asn Phe  
<210> 105  
<211> 32  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

30 <220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (32)..(32)  
<223> AMIDACIÓN del residuo C terminal

35 <400> 105  
Cys Gly Asn Leu Ser Thr Cys Met Leu Gly Thr Tyr Thr Gln Asp Phe  
1 5 10 15

Asn Lys Phe His Thr Phe Pro Gln Thr Ala Ile Gly Val Gly Ala Pro  
20 25 30

40 <210> 106  
<211> 39  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>

<223> Sintético

<220>  
 <221> DISULFURO

5 <222> (1)..(17)  
 <223> Péptido cíclico: enlace disulfuro de Cys en la posición 1 a Cys en la posición 17

<400> 106  
 Cys Phe Gly Gly Arg Met Asp Arg Ile Gly Ala Gln Ser Gly Leu Gly  
 1 5 10 15

Cys Asn Ser Phe Arg Tyr Val Gln Gln Arg Lys Glu Ser Lys Lys Pro  
 20 25 30

Pro Ala Lys Leu Gln Pro Arg  
 35

10 <210> 107  
 <211> 39  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

15 <220>  
 <223> Sintético

20 <220>  
 <221> DISULFURO  
 <222> (18)..(34)  
 <223> Péptido cíclico: enlace disulfuro de Cys en la posición 18 a Cys en la posición 34

<400> 107  
 Val Gln Gln Arg Lys Glu Ser Lys Lys Pro Pro Ala Lys Leu Gln Pro  
 1 5 10 15

Arg Cys Phe Gly Gly Arg Met Asp Arg Ile Gly Ala Gln Ser Gly Leu  
 20 25 30

25 Gly Cys Asn Ser Phe Arg Tyr  
 35

30 <210> 108  
 <211> 39  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

<220>  
 <223> Sintético

35 <220>  
 <221> DISULFURO  
 <222> (18)..(34)  
 <223> Péptido cíclico: enlace disulfuro de Cys en la posición 18 a Cys en la posición 34

40 <400> 108  
 Arg Pro Gln Leu Lys Ala Pro Pro Lys Lys Ser Glu Lys Arg Gln Gln  
 1 5 10 15  
 Val Cys Phe Gly Gly Arg Met Asp Arg Ile Gly Ala Gln Ser Gly Leu  
 20 25 30

Gly Cys Asn Ser Phe Arg Tyr  
 35

45 <210> 109  
 <211> 34

<212> PRT  
 <213> Artificial

5 <220>  
 <223> Sintético

<220>  
 <221> DISULFURO  
 <222> (18)..(34)  
 10 <223> Péptido cíclico: enlace disulfuro de Cys en la posición 18 a Cys en la posición 34

<400> 109  
 Arg Pro Gln Leu Lys Ala Pro Pro Lys Lys Ser Glu Lys Arg Gln Gln  
 1 5 10 15  
 Val Cys Phe Gly Leu Lys Leu Asp Arg Ile Gly Ser Met Ser Gly Leu  
 20 25 30  
 Gly Cys

15 <210> 110  
 <211> 34  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

20 <220>  
 <223> Sintético

<220>  
 <221> DISULFURO  
 25 <222> (1)..(17)  
 <223> Péptido cíclico: enlace disulfuro de Cys en la posición 1 a Cys en la posición 17

<400> 110  
 Cys Phe Gly Leu Lys Leu Asp Arg Ile Gly Ser Met Ser Gly Leu Gly  
 1 5 10 15  
 Cys Val Gln Gln Arg Lys Glu Ser Lys Lys Pro Pro Ala Lys Leu Gln  
 20 25 30  
 Pro Arg

30 <210> 111  
 <211> 35  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

35 <220>  
 <223> Sintético

<400> 111  
 Phe Val Pro Ile Phe Thr Tyr Gly Glu Leu Gln Arg Ser Pro Glu His  
 1 5 10 15  
 Gln Arg Val Gln Gln Arg Lys Glu Ser Lys Lys Pro Pro Ala Lys Leu  
 20 25 30  
 Gln Pro Arg  
 35

40 <210> 112  
 <211> 33

<212> PRT  
<213> Artificial

5 <220>  
<223> Sintético

<400> 112  
Phe Val Pro Ile Phe Thr Tyr Gly Glu Leu Gln Arg Glu His Gln Arg  
1 5 10 15

Val Gln Gln Arg Lys Glu Ser Lys Lys Pro Pro Ala Lys Leu Gln Pro  
20 25 30

Arg

10 <210> 113  
<211> 31  
<212> PRT  
<213> Artificial

15 <220>  
<223> Sintético

<400> 113  
Phe Val Pro Ile Phe Thr Tyr Gly Glu Leu Gln Arg Gln Arg Val Gln  
1 5 10 15

Gln Arg Lys Glu Ser Lys Lys Pro Pro Ala Lys Leu Gln Pro Arg  
20 25 30

20 <210> 114  
<211> 29  
<212> PRT  
<213> Artificial

25 <220>  
<223> Sintético

<400> 114  
Phe Val Pro Ile Phe Thr Tyr Gly Glu Leu Gln Arg Val Gln Gln Arg  
1 5 10 15

Lys Glu Ser Lys Lys Pro Pro Ala Lys Leu Gln Pro Arg  
20 25

30 <210> 115  
<211> 27  
<212> PRT  
<213> Artificial

35 <220>  
<223> Sintético

40 <400> 115  
Phe Val Pro Ile Phe Thr Tyr Gly Glu Leu Gln Arg Gln Arg Lys Glu  
1 5 10 15

Ser Lys Lys Pro Pro Ala Lys Leu Gln Pro Arg  
20 25

45 <210> 116  
<211> 25  
<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Sintético

5

<400> 116

**Phe Val Pro Ile Phe Thr Tyr Gly Glu Leu Gln Arg Lys Glu Ser Lys**  
**1 5 10 15**

**Lys Pro Pro Ala Lys Leu Gln Pro Arg**  
**20 25**

<210> 117

10

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

15

<223> Sintético

<400> 117

**Phe Val Pro Ile Phe Thr Tyr Gly Glu Leu Gln Arg Ser Lys Lys Pro**  
**1 5 10 15**

**Pro Ala Lys Leu Gln Pro Arg**  
**20**

20

<210> 118

<211> 27

<212> PRT

<213> Artificial

25

<220>

<223> Sintético

<400> 118

**Phe Val Pro Ile Phe Thr Tyr Gly Glu Leu Gln Arg Val Gln Gln Arg**  
**1 5 10 15**

**Lys Glu Ser Lys Lys Pro Pro Ala Lys Leu Gln**  
**20 25**

30

<210> 119

<211> 25

<212> PRT

<213> Artificial

35

<220>

<223> Sintético

<400> 119

**Phe Val Pro Ile Phe Thr Tyr Gly Glu Leu Gln Arg Val Gln Gln Arg**  
**1 5 10 15**

40

**Lys Glu Ser Lys Lys Pro Pro Ala Lys**  
**20 25**

<210> 120

<211> 23

<212> PRT

45

<213> Artificial

<220>

<223> Sintético

ES 2 566 830 T3

<400> 120

**Phe val Pro Ile Phe Thr Tyr Gly Glu Leu Gln Arg val Gln Gln Arg**  
1 5 10 15

**Lys Glu Ser Lys Lys Pro Pro**  
20

5 <210> 121  
<211> 21  
<212> PRT  
<213> Artificial

10 <220>  
<223> Sintético

<400> 121

**Phe val Pro Ile Phe Thr Tyr Gly Glu Leu Gln Arg val Gln Gln Arg**  
1 5 10 15

**Lys Glu Ser Lys Lys**  
20

15 <210> 122  
<211> 19  
<212> PRT  
<213> Artificial

20 <220>  
<223> Sintético

<400> 122

**Phe val Pro Ile Phe Thr Tyr Gly Glu Leu Gln Arg val Gln Gln Arg**  
1 5 10 15

**Lys Glu Ser**

25 <210> 123  
<211> 17  
<212> PRT  
30 <213> Artificial

<220>  
<223> Sintético

35 <400> 123

**Phe val Pro Ile Phe Thr Tyr Gly Glu Leu Gln Arg val Gln Gln Arg**  
1 5 10 15

**Lys**

<210> 124  
<211> 34  
<212> PRT  
40 <213> Artificial

<220>  
<223> Sintético

45 <220>  
<221> DISULFURO  
<222> (1)..(17)  
50 <223> Péptido cíclico: enlace disulfuro de Cys en la posición 1 a Cys en la posición 17

ES 2 566 830 T3

<400> 124

Cys Phe Gly Leu Lys Leu Asp Arg Ile Gly Ser Met Ser Gly Leu Gly  
1 5 10 15

Cys Val Gln Gln Arg Lys Glu Ser Lys Lys Pro Pro Ala Lys Leu Gln  
20 25 30

Pro Arg

5 <210> 125  
<211> 39  
<212> PRT  
<213> Artificial

10 <220>  
<223> Sintético

15 <220>  
<221> DISULFURO  
<222> (6)..(22)  
<223> Péptido cíclico: enlace disulfuro de Cys en la posición 6 a Cys en la posición 22

<400> 125

Gly Leu Ser Lys Gly Cys Phe Gly Leu Lys Leu Asp Arg Ile Gly Ser  
1 5 10 15

Met Ser Gly Leu Gly Cys Val Gln Gln Arg Lys Glu Ser Lys Lys Pro  
20 25 30

Pro Ala Lys Leu Gln Pro Arg  
35

20 <210> 126  
<211> 51  
<212> PRT  
<213> Artificial

25 <220>  
<223> Sintético

30 <220>  
<221> DISULFURO  
<222> (18)..(34)  
<223> Péptido cíclico: enlace disulfuro de Cys en la posición 18 a Cys en la posición 34

<400> 126

Val Gln Gln Arg Lys Glu Ser Lys Lys Pro Pro Ala Lys Leu Gln Pro  
1 5 10 15

Arg Cys Phe Gly Leu Lys Leu Asp Arg Ile Gly Ser Met Ser Gly Leu  
20 25 30

Gly Cys Val Gln Gln Arg Lys Glu Ser Lys Lys Pro Pro Ala Lys Leu  
35 40 45

Gln Pro Arg  
50

35 <210> 127  
<211> 51  
<212> PRT  
<213> Artificial

40

ES 2 566 830 T3

<220>  
<223> Sintético

5 <220>  
<221> DISULFURO  
<222> (18)..(34)  
<223> Péptido cíclico: enlace disulfuro de Cys en la posición 18 a Cys en la posición 34

<400> 127  
Arg Pro Gln Leu Lys Ala Pro Pro Lys Lys Ser Glu Lys Arg Gln Gln  
1 5 10 15

Val Cys Phe Gly Leu Lys Leu Asp Arg Ile Gly Ser Met Ser Gly Leu  
20 25 30

Gly Cys Val Gln Gln Arg Lys Glu Ser Lys Lys Pro Pro Ala Lys Leu  
35 40 45

10 Gln Pro Arg  
50

<210> 128  
<211> 34  
<212> PRT  
15 <213> Artificial

<220>  
<223> Sintético

20 <220>  
<221> DISULFURO  
<222> (18)..(34)  
<223> Péptido cíclico: enlace disulfuro de Cys en la posición 18 a Cys en la posición 34

25 <400> 128  
Val Gln Gln Arg Lys Glu Ser Lys Lys Pro Pro Ala Lys Leu Gln Pro  
1 5 10 15

Arg Cys Phe Gly Leu Lys Leu Asp Arg Ile Gly Ser Met Ser Gly Leu  
20 25 30

Gly Cys

30 <210> 129  
<211> 34  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
<223> Sintético

35 <220>  
<221> DISULFURO  
<222> (18)..(34)  
<223> Péptido cíclico: enlace disulfuro de Cys en la posición 18 a Cys en la posición 34

40 <400> 129

ES 2 566 830 T3

Arg Pro Gln Leu Lys Ala Pro Pro Lys Lys Ser Glu Lys Arg Gln Gln  
 1 5 10 15

Val Cys Phe Gly Leu Lys Leu Asp Arg Ile Gly Ser Met Ser Gly Leu  
 20 25 30

Gly Cys

5 <210> 130  
 <211> 34  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

10 <220>  
 <223> Sintético

15 <220>  
 <221> DISULFURO  
 <222> (18)..(34)  
 <223> Péptido cíclico: enlace disulfuro de Cys en la posición 18 a Cys en la posición 34

20 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (34)..(34)  
 <223> AMIDACIÓN del residuo C terminal

<400> 130  
 Cys Phe Gly Leu Lys Leu Asp Arg Ile Gly Ser Met Ser Gly Leu Gly  
 1 5 10 15

Cys Val Gln Gln Arg Lys Glu Ser Lys Lys Pro Pro Ala Lys Leu Gln  
 20 25 30

Pro Arg

25 <210> 131  
 <211> 28  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

30 <220>  
 <223> Sintético

<400> 131  
 Phe Val Pro Ile Phe Thr Tyr Gly Glu Leu Gln Arg Val Gln Gln Arg  
 1 5 10 15

Lys Glu Lys Lys Pro Pro Ala Lys Leu Gln Pro Arg  
 20 25

35 <210> 132  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

40 <220>  
 <223> síntesis

<400> 132

ES 2 566 830 T3

Phe Val Pro Ile Phe Thr Tyr Gly Glu Leu Gln Arg Val Gln Gln Arg  
 1 5 10 15

Lys Glu Phe Lys Lys Pro Pro Ala Lys Leu Gln Pro Arg  
 20 25

5 <210> 133  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

10 <220>  
 <223> síntesis

<400> 133  
 Phe Val Pro Ile Phe Thr Tyr Gly Glu Leu Gln Arg Val Gln Gln Arg  
 1 5 10 15

Lys Glu Thr Lys Lys Pro Pro Ala Lys Leu Gln Pro Arg  
 20 25

15 <210> 134  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

20 <220>  
 <223> síntesis

<400> 134  
 Phe Val Pro Ile Phe Thr Tyr Gly Glu Leu Gln Arg Val Gln Gln Arg  
 1 5 10 15

Lys Glu Pro Lys Lys Pro Pro Ala Lys Leu Gln Pro Arg  
 20 25

25 <210> 135  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

30 <220>  
 <223> síntesis

<400> 135  
 Phe Val Pro Ile Phe Thr Tyr Gly Glu Leu Gln Arg Val Gln Gln Arg  
 1 5 10 15

Lys Glu Leu Lys Lys Pro Pro Ala Lys Leu Gln Pro Arg  
 20 25

35 <210> 136  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

40 <220>  
 <223> síntesis

45 <400> 136  
 Phe Val Pro Ile Phe Thr Tyr Gly Glu Leu Gln Arg Val Gln Gln Arg  
 1 5 10 15

Lys Glu Ala Lys Lys Pro Pro Ala Lys Leu Gln Pro Arg  
 20 25

- 5 <210> 137  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Artificial
- <220>  
 <223> síntesis
- 10 <400> 137  
**Phe Val Pro Ile Phe Thr Tyr Gly Glu Leu Gln Arg Val Gln Gln Arg**  
**1 5 10 15**
- Lys Asn Ser Lys Lys Pro Pro Ala Lys Leu Gln Pro Arg**  
**20 25**
- 15 <210> 138  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Artificial
- <220>  
 <223> síntesis
- 20 <400> 138  
**Phe val Pro Ile Phe Thr Tyr Gly Glu Leu Gln Arg Val Gln Gln Arg**  
**1 5 10 15**
- Lys Gln Ser Lys Lys Pro Pro Ala Lys Leu Gln Pro Arg**  
**20 25**
- 25 <210> 139  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Artificial
- <220>  
 <223> síntesis
- 30 <400> 139  
**Phe val Pro Ile Phe Thr Tyr Gly Glu Leu Gln Arg Val Gln Gln Arg**  
**1 5 10 15**
- Lys Asp Ser Lys Lys Pro Pro Ala Lys Leu Gln Pro Arg**  
**20 25**
- 35 <210> 140  
 <211> 27  
 <212> PRT  
 <213> Artificial
- 40 <220>  
 <223> síntesis
- <400> 140  
**Phe val Pro Ile Phe Thr Tyr Gly Glu Leu Gln Arg Val Gln Gln Arg**  
**1 5 10 15**
- Lys Lys Lys Pro Pro Ala Lys Leu Gln Pro Arg**  
**20 25**
- 45 <210> 141  
 <211> 29  
 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> síntesis

5

<400> 141

Phe Val Pro Ile Phe Thr Tyr Gly Glu Leu Gln Arg Val Gln Gln Lys  
1 5 10 15

Arg Asp Ser Arg Arg Pro Pro Ala Lys Leu Gln Pro Arg  
20 25

<210> 142

10

<211> 29

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

15

<223> síntesis

<400> 142

Phe Val Pro Ile Phe Thr Tyr Gly Glu Leu Gln Arg Val Gln Gln Lys  
1 5 10 15

Lys Ser Glu Lys Arg Pro Pro Ala Lys Leu Gln Pro Arg  
20 25

20

<210> 143

<211> 30

<212> PRT

<213> Artificial

25

<220>

<223> síntesis

<400> 143

Phe Val Pro Ile Phe Thr Tyr Gly Glu Leu Gln Arg Val Gln Gln Arg  
1 5 10 15

Lys Gly Glu Ser Lys Lys Pro Pro Ala Lys Leu Gln Pro Arg  
20 25 30

30

<210> 144

<211> 30

<212> PRT

<213> Artificial

35

<220>

<223> síntesis

<400> 144

Phe Val Pro Ile Phe Thr Tyr Gly Glu Leu Gln Arg Val Gln Gln Arg  
1 5 10 15

40

Lys Glu Ser Gly Lys Lys Pro Pro Ala Lys Leu Gln Pro Arg  
20 25 30

<210> 145

<211> 31

<212> PRT

45

<213> Artificial

<220>

<223> síntesis

ES 2 566 830 T3

<400> 145

Phe Val Pro Ile Phe Thr Tyr Gly Glu Leu Gln Arg Val Gln Gln Arg  
1 5 10 15

Lys Gly Gly Glu Ser Lys Lys Pro Pro Ala Lys Leu Gln Pro Arg  
20 25 30

5 <210> 146  
<211> 32  
<212> PRT  
<213> Artificial

10 <220>  
<223> síntesis

<400> 146

Phe Val Pro Ile Phe Thr Tyr Gly Glu Leu Gln Arg Val Gln Gln Arg  
1 5 10 15

Lys Gly Gly Glu Ser Gly Lys Lys Pro Pro Ala Lys Leu Gln Pro Arg  
20 25 30

15 <210> 147  
<211> 27  
<212> PRT  
<213> Artificial

20 <220>  
<223> síntesis

<400> 147

Phe Val Pro Ile Phe Thr Tyr Gly Glu Leu Gln Arg Val Gln Gln Arg  
1 5 10 15

Lys Glu Ser Lys Lys Ala Lys Leu Gln Pro Arg  
20 25

25 <210> 148  
<211> 29  
<212> PRT  
<213> Artificial

30 <220>  
<223> síntesis

35 <400> 148

Phe Val Pro Ile Phe Thr Tyr Gly Glu Leu Gln Arg Val Gln Gln Arg  
1 5 10 15

Lys Glu Ser Lys Lys Ala Lys Leu Ala Ala Leu Lys Ala  
20 25

40 <210> 149  
<211> 31  
<212> PRT  
<213> Artificial

45 <220>  
<223> síntesis

<400> 149

ES 2 566 830 T3

Phe Val Pro Ile Phe Thr Tyr Gly Glu Leu Gln Arg Val Gln Gln Arg  
 1 5 10 15

Lys Glu Ser Lys Lys Pro Pro Ala Lys Leu Ala Ala Leu Lys Ala  
 20 25 30

5 <210> 150  
 <211> 31  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

10 <220>  
 <223> síntesis

<400> 150  
 Phe Val Pro Ile Phe Thr Tyr Gly Glu Leu Gln Arg Val Gln Gln Arg  
 1 5 10 15

Lys Glu Ser Lys Lys Pro Pro Ala Glu Leu Ala Ala Leu Glu Ala  
 20 25 30

15 <210> 151  
 <211> 31  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

20 <220>  
 <223> síntesis

<400> 151  
 Phe Val Pro Ile Phe Thr Tyr Gly Glu Leu Gln Arg Val Gln Gln Arg  
 1 5 10 15

Lys Glu Ser Lys Lys Pro Pro Ala Glu Leu Ala Ala Leu Lys Ala  
 20 25 30

25 <210> 152  
 <211> 26  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

30 <220>  
 <223> síntesis

<400> 152  
 Phe Val Pro Ile Phe Thr Tyr Gly Glu Leu Gln Arg Val Gln Gln Arg  
 1 5 10 15

Lys Glu Ser Lys Lys Met Ile Thr Ile Arg  
 20 25

35 <210> 153  
 <211> 28  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

40 <220>  
 <223> síntesis

<400> 153

Phe Val Pro Ile Phe Thr Tyr Gly Glu Leu Gln Arg Val Gln Gln Arg  
 1 5 10 15

Lys Glu Ser Lys Lys Pro Pro Met Ile Thr Ile Arg  
 20 25

5 <210> 154  
 <211> 27  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

10 <220>  
 <223> síntesis

<400> 154  
 Phe Val Pro Ile Phe Thr Tyr Gly Glu Leu Gln Arg Lys Glu Ser Lys  
 1 5 10 15  
 Lys Pro Pro Ala Lys Leu Ala Ala Leu Lys Ala  
 20 25

15 <210> 155  
 <211> 33  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

20 <220>  
 <223> síntesis

<400> 155  
 Phe Val Pro Ile Phe Thr Tyr Gly Glu Leu Gln Arg Val Gln Gln Lys  
 1 5 10 15

Lys Ala Tyr Ser Pro Asp Lys Glu Arg Lys Pro Pro Ala Leu Gln Pro  
 20 25 30

25 **Arg**  
 <210> 156  
 <211> 34  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

30 <220>  
 <223> síntesis

<400> 156  
 Phe Val Pro Ile Phe Thr Tyr Gly Glu Leu Gln Arg Val Gln Gln Lys  
 1 5 10 15

Lys Ala Tyr Ser Pro Asp Lys Glu Arg Lys Pro Pro Ala Lys Leu Gln  
 20 25 30

35 **Pro Arg**  
 <210> 157  
 <211> 39  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

40 <220>  
 <223> síntesis

45 <400> 157

Gly Leu Ser Lys Gly Cys Phe Gly Leu Lys Leu Asp Arg Ile Gly Ser  
 1 5 10 15

Met Ser Gly Leu Gly Cys Val Gln Gln Arg Lys Asp Ser Lys Lys Pro  
 20 25 30

Pro Ala Lys Leu Gln Pro Arg  
 35

- 5 <210> 158
- <211> 36
- <212> PRT
- <213> Artificial

- 10 <220>
- <223> síntesis

<400> 158  
 Cys Phe Gly Leu Lys Leu Asp Arg Ile Gly Ser Met Ser Gly Leu Gly  
 1 5 10 15

Cys Ala Gly Ser Val Asp His Lys Gly Lys Gln Arg Lys Val Val Asp  
 20 25 30

His Pro Lys Arg  
 35

- 15 <210> 159
- <211> 53
- <212> PRT
- <213> Artificial

- 20 <220>
- <223> síntesis

<400> 159  
 Asp Leu Arg Val Asp Thr Lys Ser Arg Ala Ala Trp Ala Arg Leu Leu  
 1 5 10 15

Gln Glu His Pro Asn Ala Arg Lys Tyr Lys Gly Ala Asn Lys Lys Gly  
 20 25 30

Leu Ser Lys Gly Cys Phe Gly Leu Lys Leu Asp Arg Ile Gly Ser Met  
 35 40 45

Ser Gly Leu Gly Cys  
 50

- 25 <210> 160
- <211>
- <212> PRT
- <213> Artificial

- 30 <220>
- <223> síntesis

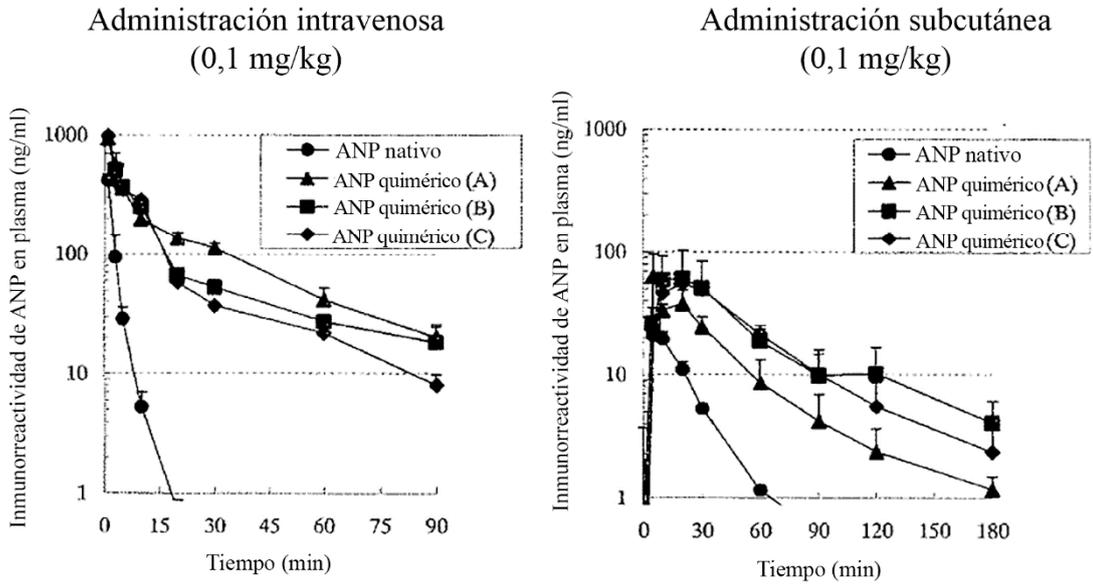
<400> 160  
 Ser Pro Lys Met Val Gln Gly Ser Gly Cys Phe Gly Arg Lys Met Asp  
 1 5 10 15

Arg Ile Ser Ser Ser Gly Leu Gly Cys Lys Val Leu Arg Arg His  
 20 25 30

**REIVINDICACIONES**

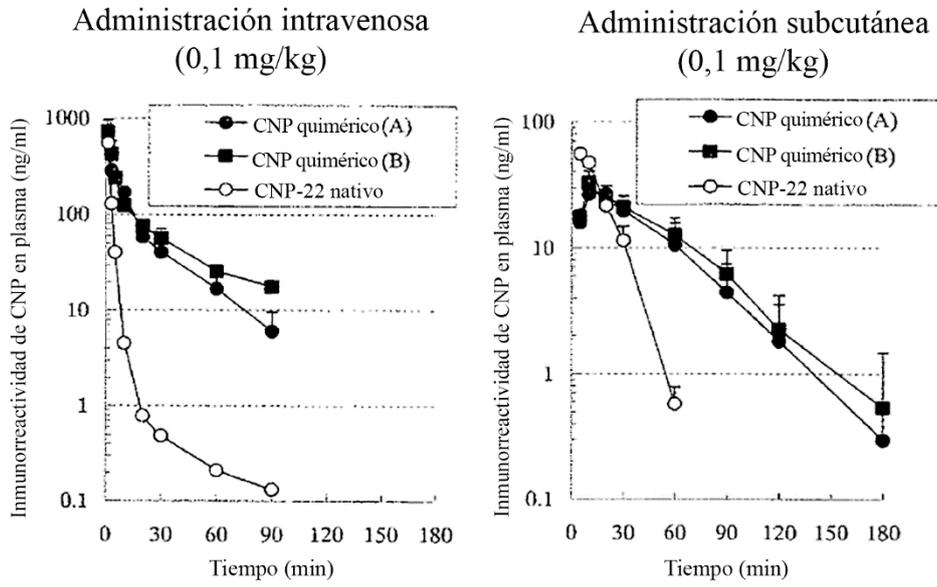
- 5 1. Un péptido quimérico, que comprende la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID: 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 118, 119, 120, 121, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 139, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 154, 155, 156, 157 o 158.
- 10 2. El péptido quimérico de la reivindicación 1, que consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID: 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 118, 119, 120, 121, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 139, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 154, 155, 156, 157 o 158.
- 15 3. Una composición farmacéutica en la que el péptido quimérico de la reivindicación 1 o 2 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo es un ingrediente activo.
- 20 4. La composición farmacéutica según la reivindicación 3 para uso en el tratamiento de una enfermedad, en donde
  - 25 (a) el péptido quimérico es un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID: 106, 107 o 108, y la enfermedad es una enfermedad seleccionada de insuficiencia cardiaca aguda, insuficiencia cardiaca crónica, arterioesclerosis obliterante, cardiopatía isquémica, hipertensión, edema, miocardiopatía, retinitis, enfermedad renal diabética, nefroesclerosis e infarto de miocardio;
  - 30 (b) el péptido quimérico es un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID: 109, 110, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 157 o 158, y la enfermedad es una enfermedad seleccionada de condrodisplasia atípica, restenosis después de PTCA después de estenosis de arteria coronaria, hipertensión pulmonar, enfermedad obliterante arterial periférica, artrosis, artritis reumatoide, fibrosis pulmonar, fibrosis hepática, fibrosis renal, infarto de miocardio y miocarditis; o
  - (c) el péptido quimérico es un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID: 111, 112, 113, 114, 115, 116, 118, 119, 120, 121, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 139, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 154, 155 o 156, y la enfermedad es una enfermedad seleccionada de dispepsia funcional, esofagitis por reflujo, parálisis de motilidad gástrica diabética, síndrome del intestino irritable de tipo estreñimiento, pseudoíleo crónico, íleo posoperatorio, gastritis crónica y gastritis atrófica.

[Fig. 1]



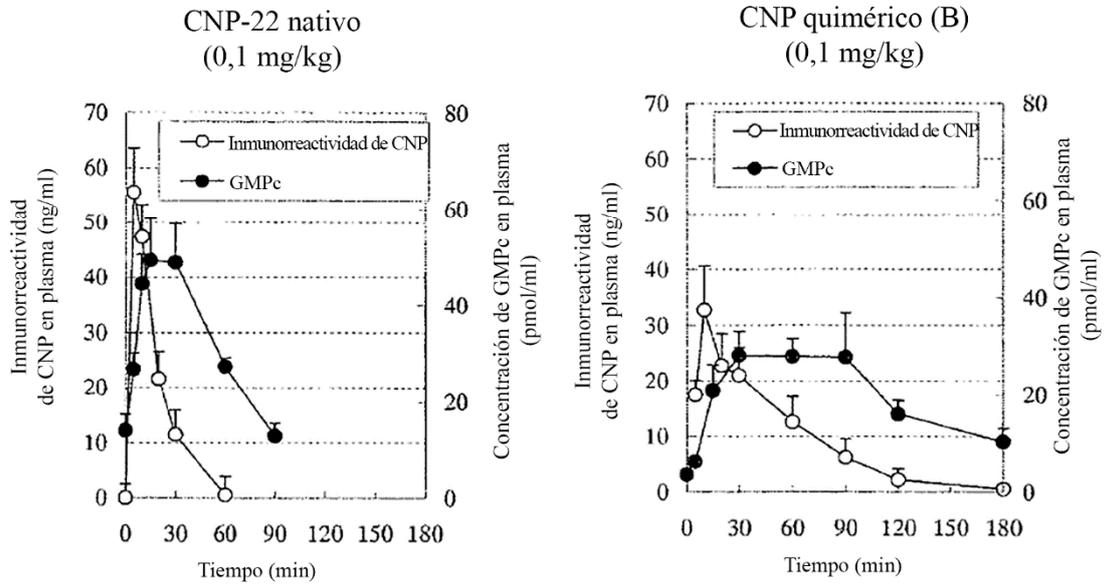
(Valor medio/Desviación estándar, N=3)

[Fig. 2]



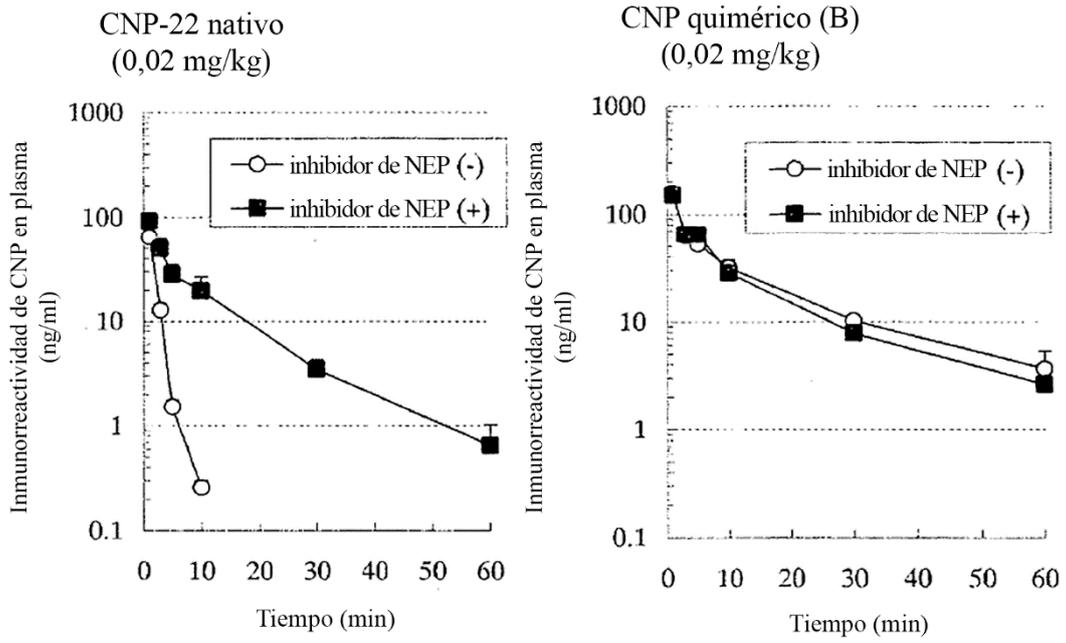
(Valor medio/Desviación estándar, N=3)

[Fig. 3]



(Valor medio/Desviación estándar, N=3)

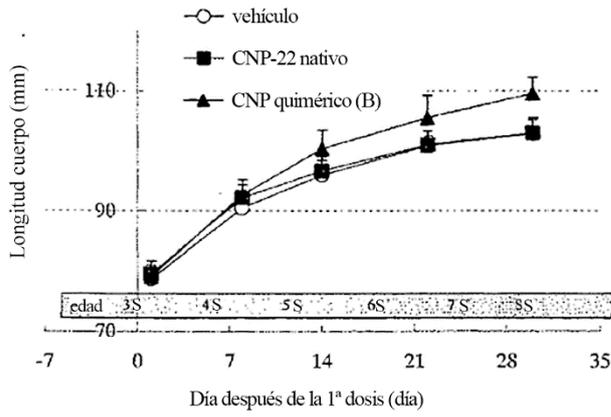
[Fig. 4]



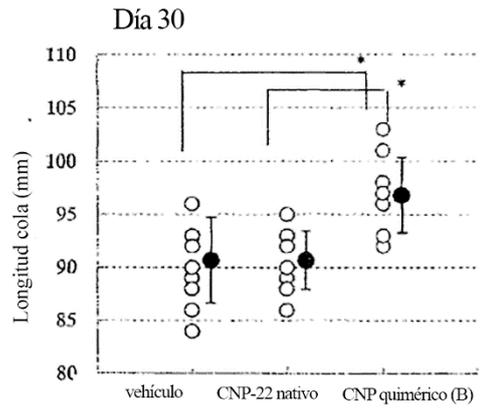
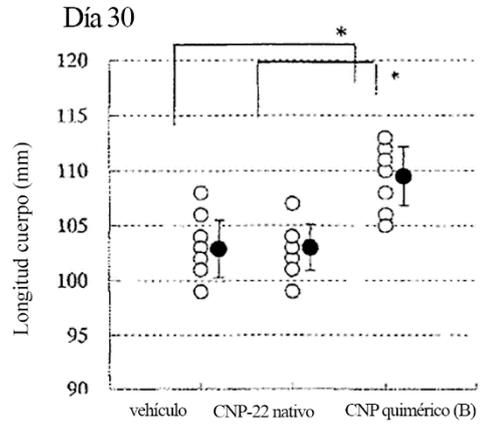
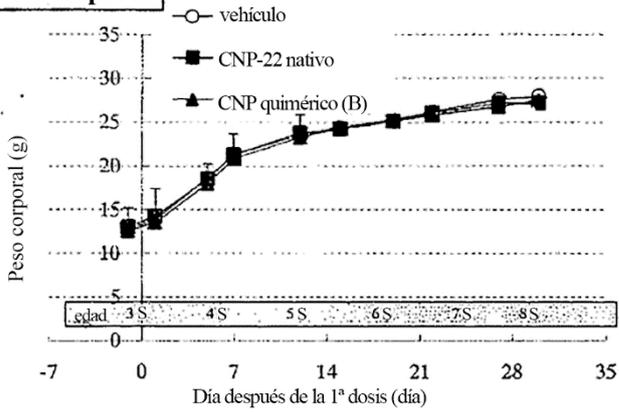
(Valor medio/Desviación estándar, N=3)

[Fig. 5]

**Longitud cuerpo**



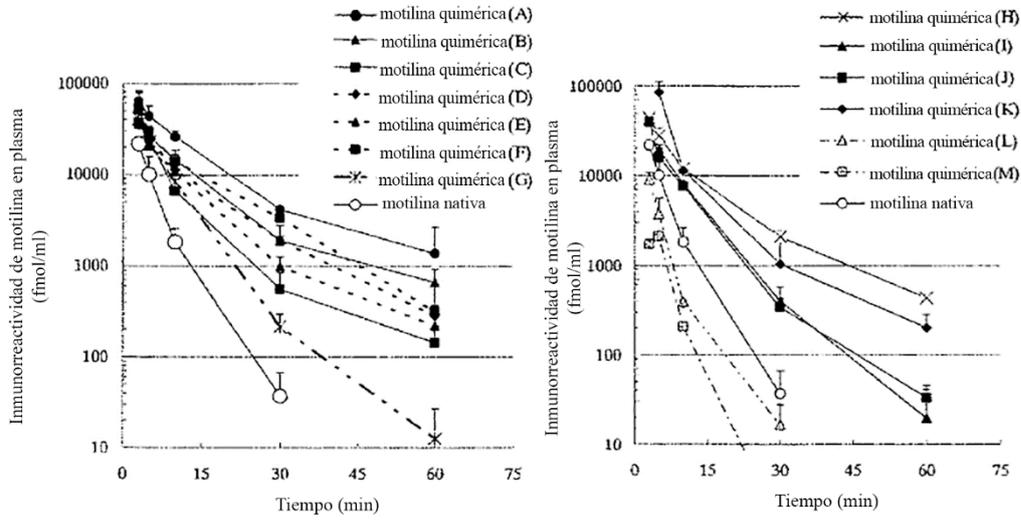
**Peso corporal**



Día 30: el día de la dosis final  
 \* p<0,05 por la prueba de Tukey-Kramer HSD

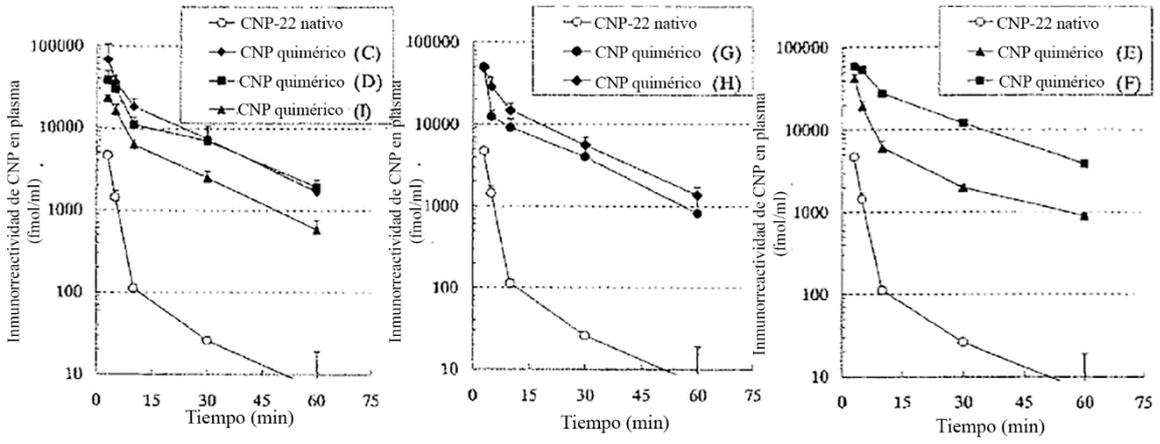
(Valor medio/Desviación estándar, N=10)

[Fig. 6]



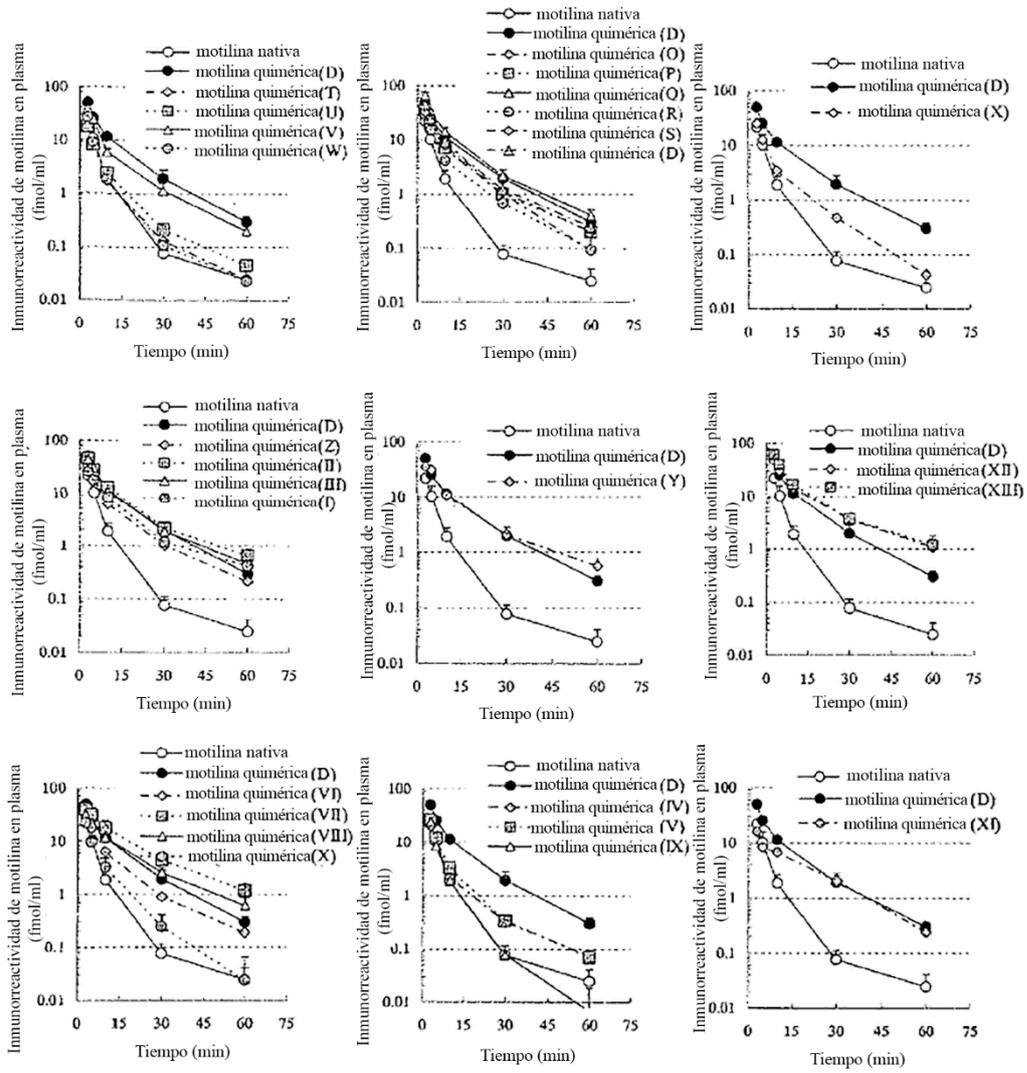
(Valor medio/Desviación estándar, N=3)

[Fig. 7]



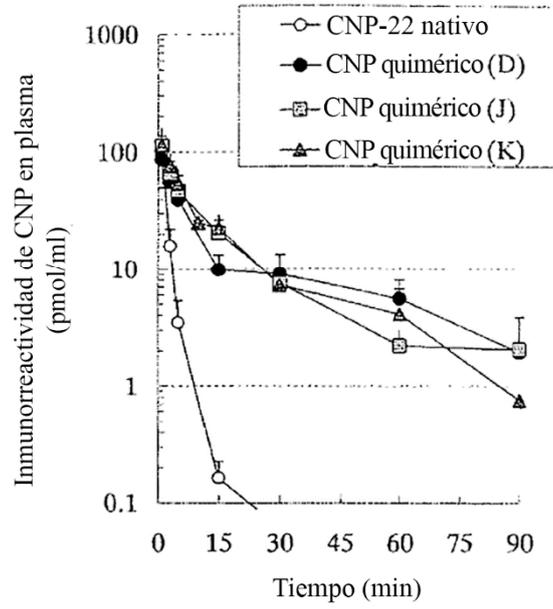
(Valor medio/Desviación estándar, N=3)

[Fig. 8]



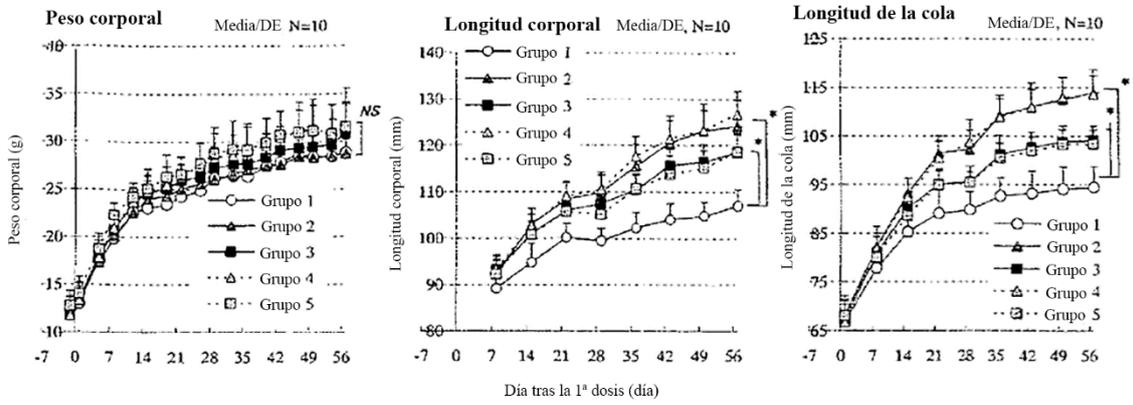
(Valor medio/Desviación estándar, N=3)

[Fig. 9]



(Valor medio/Desviación estándar, N=3)

[Fig. 10]



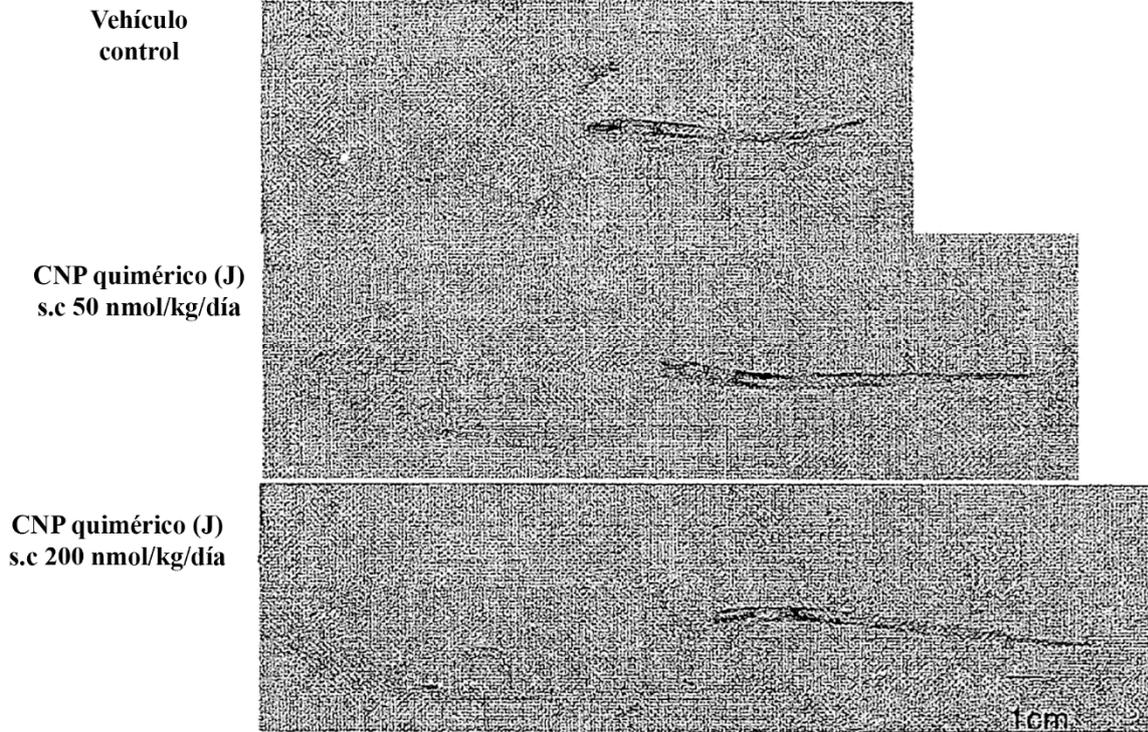
Grupo 1: vehículo control

Grupo 2: CNP quimérico (D), 50 nmol/kg/día  
 Grupo 3: CNP quimérico (D), 200 nmol/kg/día

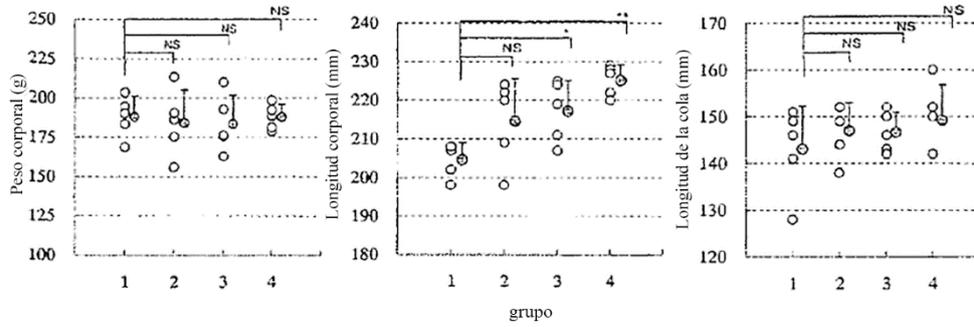
Grupo 4: CNP quimérico (J), 50 nmol/kg/día  
 Grupo 5: CNP quimérico (J), 200 nmol/kg/día

NS: No significativo por la prueba de Dunnett ( $p > 0,05$ )  
 \*: Significativo por la prueba de Dunnett ( $p < 0,01$ )

[Fig. 11]



[Fig. 12]



Grupo 1: Vehículo control

Grupo 2: CNP quimérico (D), 12,5 nmol/kg/día

Grupo 3: CNP quimérico (D), 50 nmol/kg/día

Grupo 4: CNP quimérico (D), 200 nmol/kg/día

○: Datos individuales, N=5, ●: Valor medio/Desviación estándar, N=5

NS: No significativo por la prueba de Dunnet ( $p > 0,05$ )

\*: Significativo por la prueba de Dunnet ( $p < 0,05$ )

\*\* : Significativo por la prueba de Dunnet ( $p < 0,01$ )

[Fig. 13]

