

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 539 132**

51 Int. Cl.:

C07K 7/00 (2006.01)
C07K 7/64 (2006.01)
A61K 38/04 (2006.01)
A61K 38/12 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61P 29/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.03.2002 E 08170852 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.03.2015 EP 2103624**

54 Título: **Agonistas del receptor de guanilato ciclasa para el tratamiento de inflamación tisular y carcinogénesis**

30 Prioridad:

29.03.2001 US 279438 P
29.03.2001 US 279437 P
27.06.2001 US 300850 P
10.07.2001 US 303806 P
25.07.2001 US 307358 P
17.01.2002 US 348646 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
26.06.2015

73 Titular/es:

SYNERGY PHARMACEUTICALS, INC. (100.0%)
SUITE 450 2 EXECUTIVE DRIVE
SOMERSET, NJ 08873, US

72 Inventor/es:

SHAILUBHAI, KUNWAR;
NIKIFOROVICH, GREGORY y
JACOB, GARY S.

74 Agente/Representante:

SUGRAÑES MOLINÉ, Pedro

ES 2 539 132 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

Agonistas del receptor de guanilato ciclasa para el tratamiento de inflamación tisular y carcinogénesis

5 La presente invención se refiere al uso terapéutico de agonistas del receptor de guanilato ciclasa como un medio para potenciar la producción intracelular de GMPc. Puede usarse un péptido bicíclico (4, 12; 7,15) que consiste en la secuencia de SEC ID N°: 20 bien en solitario o en combinación con inhibidores de fosfodiesterasa específicos de GMPc en el tratamiento de trastornos inflamatorios del tracto gastrointestinal tales como colitis ulcerosa y asma.

10 **Antecedentes de la invención**

15 Los péptidos uroguanilina, guanilina y ST bacteriano son péptidos estructuralmente relacionados que se unen al receptor de guanilato ciclasa y estimulan la producción intracelular del guanosin monofosfato cíclico (GMPc) (1-6). Esto da como resultado la activación del regulador de la conductancia transmembrana de la fibrosis quística (CFTR), un canal de membrana apical para la salida de cloro de enterocitos que recubren el tracto intestinal (1-6). La activación del CFTR y la potenciación posterior de la secreción transepitelial de cloro conducen a la estimulación del sodio y a la secreción de agua en el lumen intestinal. Por lo tanto, sirviendo como reguladores paracrinos de actividad CFTR, los agonistas del receptor de GMPc regulan el transporte de fluido y electrolitos en el tracto GI (1-6; patente US 5.489.670).

20 El proceso de renovación epitelial implica la proliferación, migración, diferenciación, senescencia y eventual pérdida de células del GI en el lumen (7, 8). La mucosa GI puede dividirse en tres áreas distintas basándose en el índice de proliferación de las células epiteliales. Una de estas zonas, la zona proliferativa, consta de células madre indiferenciadas responsables de proporcionar una fuente constante de nuevas células. Las células madre migran hacia la parte superior del lumen del cual se extruyen. A la vez que migran, las células pierden su capacidad de dividirse y comienzan a diferenciarse realizando funciones especializadas de la mucosa GI (9). La renovación de la mucosa GI es muy rápida produciéndose la renovación completa en un periodo de 24-48 horas (9). Durante este proceso las células mutadas e indeseadas se reemplazan por nuevas células. Por tanto, la homeostasis de la mucosa GI se regula por un mantenimiento continuo del equilibrio entre las tasas de proliferación y apoptóticas (8).

30 Las tasas de proliferación y apoptosis celular en el epitelio intestinal pueden aumentar o disminuir en una amplia variedad de circunstancias distintas, por ejemplo, en respuesta a estímulos fisiológicos tales como envejecimiento, señales inflamatorias, hormonas, péptidos, factores de crecimiento, agentes químicos y hábitos alimenticios. Además, una tasa de proliferación potenciada se asocia frecuentemente con una reducción en el tiempo de renovación y una expansión del área proliferativa (10). Se ha observado que el índice de proliferación es mucho más elevado en casos patológicos de colitis ulcerosa y otros trastornos GI (11). Por tanto, la hiperplasia intestinal es el principal promotor de la inflamación gastrointestinal y la carcinogénesis.

40 Además de una función de la uroguanilina y guanilina como moduladores del fluido intestinal y de la secreción de iones, estos péptidos también pueden estar implicados en la renovación continua de la mucosa GI. Datos anteriormente publicados en el documento WO 01/25266 sugieren que un péptido con el dominio activo de uroguanilina que puede funcionar como un inhibidor del desarrollo de pólipos en el colon y puede constituir un tratamiento del cáncer de colon. Sin embargo, el mecanismo mediante el cual se reivindica que se produce esto es cuestionable, ya que el documento WO 01/25266 enseña péptidos agonistas de uroguanilina que se unen específicamente al receptor de guanilato ciclasa, denominado GC-C, que se describió por primera vez como el receptor de la enterotoxina termoestable de *E. coli* (ST) (4). Los ratones knockout que carecen de este receptor de guanilato ciclasa muestran resistencia a ST en el intestino, pero los efectos de la uroguanilina y ST no están alterados en el riñón *in vivo* (3). Estos resultados se confirmaron posteriormente por el hecho de que la despolarización de la membrana inducida por la guanilina se bloqueó por genisteína, un inhibidor de tirosina quinasa, aunque la hiperpolarización inducida por uroguanilina estaba afectada (12,13). Tomados en su conjunto estos datos sugieren que la uroguanilina también se une al receptor normalmente desconocido, que es distinto de GC-C.

55 Otros documentos han descrito que la producción de uroguanilina y guanilina disminuye drásticamente en pólipos colónicos precancerosos y tejidos tumorales (14-17). Además, se ha mostrado que los genes tanto de uroguanilina como de guanilina están localizados en regiones del genoma frecuentemente asociadas con pérdida de heterocigosidad en el carcinoma de colon humano (18-20). Considerándolos en su conjunto, estos hallazgos indican que la uroguanilina, la guanilina y otros péptidos con actividad similar pueden usarse en la prevención o el tratamiento de crecimientos colónicos anómalos. Esta propuesta se reforzó mediante un estudio reciente que demostraba que la administración oral de uroguanilina inhibía la formación de pólipos en ratones (15,16). Shailubhai *et al* (Cancer Resarch 16 (18); páginas 515-517 ((2000)) se refieren a los péptidos de uroguanilina, guanilina y ST en la supresión de la formación de pólipos. El documento WO 01/25266 notifica los péptidos de uroguanilina, guanilina y ST y su uso en el tratamiento del cáncer colorrectal.

65 Los péptidos de uroguanilina y guanilina también parecen promover la apoptosis controlando el flujo iónico celular. Las alteraciones en la apoptosis se han asociado con progresión tumoral en el fenotipo metastásico. Aunque el

cáncer gastrointestinal primario (GI) está limitado al intestino delgado, colon y recto, éste puede metastatizar y propagarse a dichas localidades como hueso, ganglios linfáticos, hígado, pulmón, peritoneo, ovarios, cerebro. Potenciando el eflujo de K⁺ y el influjo de Ca⁺⁺, la uroguanilina y péptidos relacionados pueden promover la muerte de células transformadas y por lo tanto inhibir la metástasis.

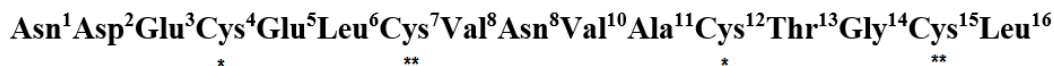
Una de las manifestaciones clínicas de la actividad de CFTR reducida es la inflamación de las vías respiratorias (21). Este efecto puede deberse a la regulación de CFTR de la expresión de NF-kB, quimiocinas y citocinas (22-25). Informes recientes también sugieren que el canal CFTR está implicado en el transporte y mantenimiento del glutatión reducido, un antioxidante que desempeña una función importante en la protección contra la inflamación causada por estrés oxidativo (39). Se esperaría que la potenciación de los niveles intracelulares de GMPc regulase negativamente estos estímulos inflamatorios mediante la activación de la guanilato ciclase o mediante la inhibición de fosfodiesterasa específica de GMPc. Por tanto, los agonistas de tipo uroguanilina deben ser útiles en la prevención y el tratamiento de enfermedades inflamatorias pulmonares (por ejemplo asma), intestinales (por ejemplo, colitis ulcerosa y enfermedad de Crohn), pancreáticas y de otros órganos. Ohbayashi *et al* (Life Sciences 62 (20): páginas 1833-1844 (1998) explican la fuerza del efecto broncodilatador de la uroguanilina en cobayas sensibilizadas.

Generalmente, puede llegarse a la conclusión de que los agonistas de receptor de guanilato ciclase tales como uroguanilina tienen posible valor terapéutico en el tratamiento de una amplia diversidad de afecciones inflamatorias, cáncer (particularmente cáncer de colon) y como agentes anti-metastáticos. El desarrollo de nuevos agonistas es por lo tanto de sustancial importancia clínica.

Sumario de la invención

De acuerdo con la presente invención, se proporciona un péptido que es un péptido bicíclico (4, 12; 7, 15) que consta de la secuencia de SEC ID N°: 20 para su uso en el método de prevención o tratamiento de la inflamación del tracto gastrointestinal en un paciente.

El péptido para su uso es un péptido bicíclico (4, 12; 7, 15) que tiene la secuencia de SEC ID N°: 20. La secuencia es la siguiente (véase también la tabla 3):



y en el que hay un enlace disulfuro entre la cisteína en la posición 4 y la cisteína en la posición 12; y un segundo enlace disulfuro entre la cisteína en la posición 7 y la cisteína en la posición 15 (SEC ID N°: 20). Se ha descubierto que este péptido tiene actividad biológica potenciada como un agonista de la producción de GMPc debido a su unión potenciada constante por el receptor de guanilato ciclase, y es superior a la uroguanilina con respecto a la estabilidad para la temperatura y las proteasas y con respecto a su actividad biológica en el intervalo de pH fisiológicamente favorable (pH de 6 a 7) en el intestino grueso.

La presente invención, se basa por lo tanto, en el desarrollo de nuevos agonistas del receptor de guanilato ciclase. Los agonistas son análogos de uroguanilina, muchos de los cuales tienen propiedades superiores bien en cuanto a una mejor activación, estabilidad, actividad a pH bajo del receptor o a efectos adversos reducidos. El péptido puede usarse para tratar afecciones que responden a niveles intracelulares potenciados de GMPc. Los niveles intracelulares de GMPc pueden aumentarse potenciando la producción intracelular de GMPc y/o inhibiendo su degradación mediante fosfodiesterasas específicas de GMPc. De acuerdo con la invención, las afecciones específicas que pueden tratarse o prevenirse incluyen colitis ulcerosa y enfermedad de Crohn.

El péptido puede estar en una composición farmacéutica en forma de dosis unitaria, junto con uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables. La expresión "forma de dosis unitaria" se refiere a una sola entidad de administración del fármaco, por ejemplo, un comprimido, una cápsula, una solución o una formulación de inhalación. La cantidad de péptido presente debe de ser suficiente para que tenga un efecto terapéutico positivo cuando se administra a un paciente (típicamente, entre 100 µg y 3 g). Lo que constituye un "efecto terapéutico positivo" que depende de la afección particular que vaya a tratarse e incluirá cualquier mejora significativa en una afección fácilmente reconocida por un experto en la materia. Por ejemplo, puede constituir una reducción en la inflamación.

La invención también abarca terapia combinada utilizando el péptido de la invención administrado junto con un inhibidor de la fosfodiesterasa dependiente de GMPc. Estos agentes deben estar presentes en cantidades conocidas en la técnica que sean terapéuticamente eficaces cuando se administren a un paciente.

Como ejemplos de inhibidores de fosfodiesterasa dependientes de GMPc se incluyen sulfon suldinac, zaprinast y motapizona.

El péptido de la invención puede usarse en un método de tratamiento, prevención o retraso de la aparición de la inflamación asociada con el tracto GI. En una realización preferida, la invención se dirige al péptido para su uso en el tratamiento de un trastorno inflamatorio en el tracto gastrointestinal de un mamífero. El trastorno inflamatorio puede clasificarse como una enfermedad inflamatoria intestinal y más particularmente puede ser enfermedad de Crohn o colitis ulcerosa. La administración puede ser entérica, y emplea formulaciones ajustadas para que se dirijan a enterocitos.

El péptido de la invención para su uso en los métodos descritos anteriormente puede administrarse bien por vía oral, sistémica o local. Las formas de dosificación incluyen preparaciones por inhalación o inyección, soluciones, suspensiones, emulsiones, comprimidos, cápsulas, bálsamos tópicos y lociones, composiciones transdérmicas, otras formulaciones peptídicas conocidas y análogos peptídicos pegilados. Una dosificación eficaz de la composición típicamente estará aproximadamente 1 µg y aproximadamente 10 µg por kilogramo de peso corporal, preferentemente entre da aproximadamente 10 µg a 5 mg del compuesto por kilogramo de peso corporal. Los ajustes de la dosificación se realizarán usando métodos que son rutinarios en la técnica y se basarán en la composición particular que vaya a usarse y las consideraciones clínicas. Los agonistas pueden administrarse bien como el único agente activo o en combinación con otros fármacos, por ejemplo, un inhibidor de la fosfodiesterasa dependiente de GMPc. En todos los casos, deben administrarse fármacos adicionales a una dosificación que sea terapéuticamente eficaz usando la técnica existente como guía. Los fármacos pueden administrarse en una sola composición o secuencialmente.

Descripción detallada de la invención

La presente invención se basa en diversos conceptos. El primero es que existe un mecanismo dependiente de GMPc que regula el equilibrio entre proliferación celular y apoptosis y que la reducción de los niveles de GMPc, debidos a un déficit de uroguanilina/guanilina y/o debidos a la activación de fosfodiesterasas específicas de GMPc, es una etapa temprana y crítica en la transformación neoplásica. Un segundo concepto es que la liberación de ácido araquidónico de los fosfolípidos de membrana, que conduce a activación de cPLA2, COX-2 y posiblemente del lipoxigenasa 5 durante el proceso de inflamación, se regula negativamente mediante un mecanismo dependiente de GMPc, lo que conduce a niveles reducidos de prostaglandinas y leucotrienos, y aumenta los niveles intracelulares de GMPc que pueden por lo tanto producir una respuesta anti-inflamatoria. Además, se piensa que un mecanismo dependiente de GMPc está implicado en el control de los procesos inflamatorios. Por lo tanto, la elevación de los niveles intracelulares de GMPc puede usarse como un medio de tratamiento y control de enfermedades intestinales inflamatorias tales como la colitis ulcerosa y la enfermedad de Crohn.

Sin pretender ligarse a ninguna teoría, se contempla que se puede demostrar que el transporte de iones a través de la membrana plasmática es un importante regulador del equilibrio entre la proliferación celular y la apoptosis estará afectado por las composiciones que alteran las concentraciones de GMPc. Se ha observado que la uroguanilina estimula el eflujo de K⁺, influjo de Ca⁺⁺ y transporte de agua en el tracto gastrointestinal (3). Además, también se ha observado que el péptido natriurético auricular (ANP), un péptido que también se une a un receptor de guanilato ciclasa específico, induce la apoptosis en células mesangiales de rata e induce la apoptosis en miocitos cardíacos mediante un mecanismo de GMPc (26-29). Se piensa que la unión de los agonistas presentes a un receptor de guanilato ciclasa estimula la producción de GMPc. Se espera que esta interacción ligando-receptor, mediante la activación de una cascada de proteína quinasas dependientes de GMPc y CFTR, induzca entonces la apoptosis en células diana. Por lo tanto, se espera que la administración del péptido definido por SEC ID N^o: 2 o SEC ID N^o: 20, como se muestra en las Tablas 2 y 3, elimine o al menos, retrase, la aparición de las enfermedades inflamatorias del tracto GI.

Como se usa en el presente documento, la expresión "receptor de guanilato ciclasa" se refiere a la clase de receptores de la guanilato ciclasa en cualquier tipo de célula a la cual se unen los péptidos agonistas de la invención o agonistas naturales descritos en el presente documento.

Como se usa en el presente documento, la expresión "agonista de receptor de guanilato ciclasa" se refiere a péptidos y/u otros compuestos que se unen a un receptor de guanilato ciclasa y estimulan la producción de GMPc. La expresión también incluye todos los péptidos que tienen secuencias de aminoácidos sustancialmente equivalentes a al menos una parte del dominio de unión que comprende los restos de aminoácidos de 3-15 de la SEC ID N^o: 1. Esta expresión también incluye fragmentos y pro-péptidos que se unen al receptor de guanilato ciclasa y estimulan la producción de GMPc. La expresión "sustancialmente equivalente" se refiere a un péptido que tiene una secuencia de aminoácidos equivalente a la del dominio de unión en la que pueden eliminarse o reemplazarse determinados restos por otros aminoácidos sin afectar a la capacidad del péptido para unirse a un receptor de guanilato ciclasa y estimular la producción de GMPc.

Estrategia y diseño de nuevos agonistas de receptor de guanilato ciclasa

La uroguanilina es un péptido secretado por las células calciformes y otras células epiteliales que recubren la mucosa gastrointestinal como pro-uroguanilina, una forma funcionalmente inactiva. El pro-péptido humano se convierte posteriormente en un péptido de 16 aminoácidos funcionalmente activo expuesto en la SEC ID N^o: 1 (la

secuencia de la uroguanilina humana, véase la Tabla 2) en el lumen del intestino mediante proteasas endógenas. Dado que la uroguanilina es un péptido termo-resistente, ácido-resistente, y resistente a proteólisis, la administración oral o sistémica de este péptido y/u otros péptidos similares a la secuencia peptídica de 16 aminoácidos funcionalmente activa de la SEC ID N^o: 1, puede emplearse de un modo eficaz en métodos de tratamiento.

Más adelante se describen péptidos similares, pero distintos, a la uroguanilina, incluyendo algunos que producen propiedades potenciadoras de GMPc superiores y/u otras características beneficiosas (por ejemplo estabilidad para la temperatura mejorada, estabilidad para proteasas mejorada, o una actividad superior a un pH preferido) en comparación con los péptidos de uroguanilina anteriormente conocidos. Los péptidos pueden usarse para inhibir la inflamación GI y para el tratamiento o prevención de la aparición de formación de pólipos asociados con la inflamación intestinal. También pueden tratarse los tejidos epiteliales susceptibles a la formación de células cancerosas. Los agonistas del receptor de guanilato ciclasa descritos tienen las secuencias de aminoácidos mostradas en las Tablas 2 y 3. El "dominio de unión" para la interacción agonista-receptor incluye los restos de aminoácidos de 3-15 de SEC ID N^o: 1.

Se aplicó un modelo molecular al diseño de nuevos agonistas del receptor de guanilato ciclasa usando los métodos detallados en (30). Estos consistían en cálculos de energía de tres compuestos de los que se sabía que interactuaban con los receptores de guanilato ciclasa, es decir para la uroguanilina humana, biciclo [4,12; 7,15] Asn¹-Asp²-Asp³-Cys⁴-Glu⁵-Leu⁶-Cys⁷-Val⁸-Asn⁹-Val¹⁰-Ala¹¹-Cys¹²-Thr¹³-Gly¹⁴-Cys¹⁵-Leu¹⁶ (UG, SEC ID N^o: 1); guanilina humana, biciclo [4,12; 7,15] Pro¹-Gly²-Thr³-Cys⁴-Glu⁵-Ile⁶-Cys⁷-Ala⁸-Tyr⁹-Ala¹⁰-Ala¹¹-Cys¹²-Thr¹³-Gly¹⁴-Cys¹⁵ (GU, SEC ID N^o: 22); y la enterotoxina termoestable pequeña de *E. coli*, triciclo [6,10; 7,15; 11-18] Asn¹-Ser²-Ser³-Asn⁴-Tyr⁵-Cys⁶-Cys⁷-Glu⁸-Leu⁹-Cys¹⁰-Cys¹¹-Asn¹²-Pro¹³-Ala¹⁴-Cys¹⁵-Thr¹⁶-Gly¹⁷-Cys¹⁸-Tyr¹⁹ (ST, SEC ID N^o: 23). Se usaron comparaciones geométricas de todas las posibles conformaciones de baja energía para estos tres compuestos para revelar las estructuras en 3D comunes que servían como "moldes" para la conformación bioactiva, es decir, para la conformación presumiblemente adoptada por GU, UG y ST durante la interacción con el receptor. Esto permitió el diseño de nuevos análogos con una población conformacional significativamente aumentada de la conformación bioactiva a expensas de otras conformaciones de baja energía seleccionando sustituciones individuales para los diversos aminoácidos.

Los cálculos de energía se realizaron mediante el uso de procedimientos de construcción (30). Se usó el potencial de campo ECEPP/2 (31,32) asumiendo una geometría de valencia rígida con enlaces trans-peptídicos planares, incluyendo el de Pro¹³ en ST. Se permitió que el ángulo ω variara en Pro¹³. Se incluyeron hidrógenos alifáticos y aromáticos generalmente incluidos en centros atómicos unitarios de tipo CH_n; se describieron explícitamente los átomos de H_a y los hidrógenos de amida.

El esquema de cálculo principal implicó diversas etapas sucesivas. En primer lugar, se consideraron las secuencias de los dos fragmentos del modelo monocíclico (tres fragmentos para ST), *Ac-ciclo* (Cysⁱ -...-Cys^j) -NMe, todos los restos excepto Cys, Gly y Pro estaban reemplazados por alaninas; los valores i y j corresponden a las secuencias de GU, UG y ST. En esta etapa, se consideraron todas las posibles combinaciones de mínimos locales para la estructura peptídica para cada uno de los restos de aminoácidos, es decir, el mínimo en el mapa de Ramachandran de los tipos *E*, *F*, *C*, *D*, *A* y *A** (de acuerdo con la notación en (33)) para el resto de Ala; de los tipos *E**, *F**, *C**, *D**, *A*, *E*, *F*, *C D* y *A** para el resto Gly; y de los tipos *F*, *C* y *A* para Pro. Para cada conformación estructural, se descubrió una posibilidad óptima para cerrar un ciclo que empleaba las funciones posibles parabólicas intrínsecas potenciales para el campo de fuerza ECEPP comprobando un perfil de energía de rotación alrededor del ángulo diedral χ_1 para el resto de D-Cys.

En total, se consideraron aproximadamente unas 180.000 conformaciones para cada uno de los restos cíclicos. Después, se seleccionaron los confórmers que satisfacían el criterio $E - E_{\min} < \Delta E = 15$ kcal/mol y se diferenciaban en más de 40° en al menos un valor de cualquier ángulo diédrico estructural (de aproximadamente 3.000 a 8.000 conformaciones para los distintos fragmentos de modelo). En la siguiente etapa, se solaparon las conformaciones seleccionadas de los fragmentos monocíclicos coincidentes para crear posibles conformaciones de los fragmentos del modelo bicíclico (los fragmentos tricíclicos en el caso de ST). Típicamente, este procedimiento produjo aproximadamente de 20.000-30.000 conformaciones. Todas estas conformaciones se sometieron a un nuevo ciclo de cálculos de energía, que dio como resultado 191 conformaciones que satisfacían el criterio $E - E_{\min} < \Delta E = 20$ kcal/mol para el fragmento del modelo ST y en 6.965 conformaciones que satisfacían el mismo criterio para el fragmento del modelo GU/UG. Después de esto, se restablecieron las cadenas laterales que se habían perdido en los fragmentos de los modelos, y se realizaron los cálculos de energía de nuevo, optimizándose los valores de ángulo diédrico de los grupos de cadena lateral (excepto para el ángulo χ_1 de los restos Cys) y de los grupos terminales de la estructura antes de la minimización de la energía para alcanzar sus disposiciones espaciales más favorables, empleando un algoritmo anteriormente descrito (34). Para el fragmento UG 4-15, 632 conformaciones satisficieron el criterio de $\Delta E = 20$ kcal/mol; 164 de las cuales satisficieron el criterio más riguroso de $\Delta E = 12$ kcal/mol, que corresponde al criterio aceptado de 1 kcal/mol/resto (30). Se realizó una elongación posterior del fragmento UG 4-15 a 3-16, y después de toda la molécula de UG por el mismo procedimiento de construcción. Finalmente, se descubrieron 31 conformaciones estructurales de UG que satisfacían el criterio de $\Delta E = 16$ kcal/mol.

Se realizaron comparaciones geométricas de confórmeros del siguiente modo. Se evaluó el mejor ajuste en la superposición en los centros atómicos en un par de confórmeros para comprobar el nivel de similitud geométrica entre los dos confórmeros, de acuerdo con (35). El criterio de similitud geométrica fue el valor de rms que se calculó para un par de conformaciones A y B del siguiente modo:

5

$$\text{rms} = 1/N \sum N_i = 1 [(x^{Ai} - x^{Bi})^2 + (y^{Ai} - y^{Bi})^2 + (z^{Ai} - z^{Bi})^2]^{1/2}$$

en el que N es el número de pares de átomos C α seleccionados para la superposición, y x, y y z son coordenadas cartesianas. Mediante el criterio de similitud geométrica de rms < 2,0 Å, las conformaciones de baja energía del fragmento conformacional rígido UG 4-15 cayeron en siete familias conformacionales. Una de ellas consistía en los mismos seis confórmeros que son similares tanto a 1UYA como a 1ETN; esta familia contiene también el confórmero de energía más baja de UG. (1UYA y 1ETN son las estructuras en 3D definidas experimentalmente de UG y ST, respectivamente, de las que se sabe que poseen una alta actividad biológica (36,37); las estructuras en 3D estaban disponibles en el Banco de Datos de Proteínas).

15

Tabla 1. Los valores de los ángulos diédricos (en grados) de la estructura peptídica en la conformación "molde" de UG

Resto	Ángulo	Nº de confórmeros					
		1	3	9	22	25	27
Cys ⁴	Ψ	-37	-41	-40	-55	-38	-54
	Φ	-71	-67	-72	-69	-68	-70
Glu ⁵	Ψ	-50	-47	-48	-33	-43	-22
	Φ	-86	-86	-85	-81	-88	-91
Leu ⁶	Ψ	163	165	160	153	160	156
	Φ	-79	-82	-79	-83	-79	-81
Cys ⁷	Ψ	74	68	78	67	75	72
	Φ	-120	-114	-126	-124	-125	-128
Val ⁸	Ψ	-65	-57	-62	-55	-60	-64
	Φ	-83	-95	-82	-88	-89	-82
Asn ⁹	Ψ	119	113	134	118	111	116
	Φ	-84	-82	-97	-90	-82	-82
Val ¹⁰	Ψ	-21	-13	-16	-4	-15	-16
	Φ	-79	-86	-87	-89	-85	-80
Ala ¹¹	Ψ	-32	-21	-35	-35	-18	-27
	Φ	-86	-92	-78	-79	-95	-90
Cys ¹²	Ψ	-52	-53	-55	-57	-53	-54
	Φ	-129	-121	-127	119	-118	-130
Thr ¹³	Ψ	111	153	141	155	141	119
	Φ	-64	-78	-78	-80	-78	-68
Gly ¹⁴	Ψ	83	64	68	62	67	78
	Φ	-139	-160	-150	-156	-78	-131
Cys ¹⁵	Φ						

Los ángulos Φ y Ψ diédricos, valores que determinan la forma en 3D general de este fragmento UG, son similares (Tabla 1). Esto permite realizar diseños preliminares de nuevos análogos que se dirigen a estabilizar esta familia particular de conformaciones empleando las limitaciones conformacionales locales conocidas impuestas por diversos tipos de aminoácidos.

5 Por ejemplo, se sabe que la Gly es más flexible conformacionalmente en comparación con cualquier otro resto de L-aminoácido, dado que la Gly puede adoptar conformaciones con cualquiera de las cuatro combinaciones de signos para Φ y Ψ , es decir, -, +; -, -; +, +; y +, -. La última combinación está prohibida estéricamente para los L-aminoácidos, como Ala. Por lo tanto, la sustitución de Gly¹⁴ por Ala¹⁴ debe limitar la flexibilidad conformacional en la posición 14 conservando las conformaciones descritas en la Tabla 1. También, la sustitución por Aib (α -Me-Ala, di- α -metil-alanina) debe limitar la flexibilidad conformacional local únicamente mediante dos regiones, es decir, para -, - y +, +, siendo la primera compatible con los conformeros de Ala¹¹ en la Tabla 1. Por lo tanto, una sustitución más deseable es Aib¹¹. En la Pro, el valor de Φ se fija a -75°; este resto es también similar a la valina por sus propiedades hidrófobas. Por lo tanto, la Val¹⁰ puede reemplazarse por Pro¹⁰, que añade más limitaciones conformacionales locales a los conformeros de UG en la Tabla 1. El reemplazo por Pro también requiere que el resto anterior posea solamente valores de Ψ positivos; la Asn⁹ en la Tabla 1 cumple este requisito. El resto Pro ya existe en la posición correspondiente de ST. Todas las sustituciones sugeridas dentro de la SEC ID N°: 1 mostradas más adelante (por ejemplo, Pro¹⁰, Aib¹⁰ o Ala¹⁴) no cambian la naturaleza química de los aminoácidos no alifáticos (tales como Asn, Asp o Thr), lo cual puede ser importante para la interacción real con el receptor. Las sustituciones anteriores deben conducir únicamente a limitaciones conformacionales que modifican el equilibrio conformacional en UG hacia la forma "molde" en 3D sugerida.

Basándose en las estructuras en 3D definidas en la Tabla 1, se definió un farmacóforo tridimensional para la uroguanilina, lo que permitió la determinación de las distancias entre los grupos funcionales de uroguanilina de los que se cree que interaccionan directamente con el receptor. Esos grupos de los que se cree que interaccionan directamente con el receptor son grupos de restos laterales en las posiciones 3, 5, 9 y 13 de la secuencia estructural. Preferentemente, los restos son Glu3, Glu5, Asn9, y Thr13, como se muestra en SEC ID N°: 2 y SEC ID N°: 20. Por tanto, se describe un farmacóforo tridimensional de uroguanilina en el que la disposición espacial de las cuatro cadenas laterales de los restos en las posiciones 3, 5, 9 y 13 pueden crearse de tal manera que las distancias entre estas cadenas laterales permiten una actividad biológica opcional. Esas distancias (medidas como distancias entre los átomos C β de los restos correspondientes) son las siguientes: de 5,7 a 7,6 Å para la distancia 3-5, de 4,0 a 6,0 Å para 3-9; de 7,7 a 8,3 Å para 3-13, de 9,4 a 9,5 Å para 5-9, de 9,4 a 9,5 Å para 5-13, y de 5,8 a 6,3 Å para 9-13.

35 Las distancias anteriores dependen solamente de las conformaciones de la estructura peptídica. En algunos casos, sin embargo, las conformaciones de las cadenas laterales en sí mismas son también importantes. Por ejemplo, los cálculos mostraron que no hay diferencia conformacional entre las estructuras de UG (SP301), [Glu²]-UG (SP303), [Glu³]-UG (SP304) y [Glu², Glu³]-UG (SP302) en cuanto a sus conformaciones de baja energía. Sin embargo, existe una diferencia distinta en las posiciones espaciales de los β -carboxilos del Asp y los γ -carboxilos del Glu en la posición 3. Es decir, los γ -carboxilos de los restos Glu en la posición 3 están claramente extendidos "hacia afuera" de la mayoría de las moléculas a mayor distancia que los β -carboxilos correspondientes de los restos Asp. La observación anterior sugiere contundentemente que el grupo carboxilo cargado negativamente de la cadena lateral en la posición 3 interacciona específicamente con un sitio de unión cargado positivamente en el receptor; por lo tanto, los análogos que contienen Glu3 en lugar de Asp3 deben ser más activos. Al mismo tiempo, para garantizar la eficacia de esta interacción particular, debe equilibrarse bien un sistema entero de interacciones electrostáticas de largo alcance entre el ligando y el receptor. Dado que la cadena lateral Glu² presenta más posibilidades conformacionales en comparación con la cadena lateral Asp², este equilibrio puede cambiar ligeramente en SP302 (doble sustitución de Asp por Glu) en comparación con SP304 (una sola sustitución de Asp³ por Glu³).

50

Tabla 3

SEC ID N°: 6	X1 Glu Glu Cys X2 X3 Cys X4 Asn X5 X6 Cys X7 X8 Cys X9
SEC ID N°: 7	X1 Glu Asp Cys X2 X3 Cys X4 Asn X5 X6 Cys X7 X8 Cys X9
SEC ID N°: 8	X1 Asp Glu Cys X2 X3 Cys X4 Asn X5 X6 Cys X7 X8 Cys X9
SEC ID N°: 9	X1 Asp Asp Cys X2 X3 Cys X4 Tyr X5 X6 Cys X7 X8 Cys X9
SEC ID N°: 10	X1 Glu Glu Cys X2 X3 Cys X4 Tyr X5 X6 Cys X7 X8 Cys X9
SEC ID N°: 11	X1 Asp Glu Cys X2 X3 Cys X4 Tyr X5 X6 Cys X7 X8 Cys X9
SEC ID N°: 12	X1 Glu Asp Cys X2 X3 Cys X4 Tyr X5 X6 Cys X7 X8 Cys X9
SEC ID N°: 13	X1 Asp Asp Cys X2 X3 Cys X4 Gln X5 X6 Cys X7 X8 Cys X9
SEC ID N°: 14	X1 Glu Glu Cys X2 X3 Cys X4 Gln X5 X6 Cys X7 X8 Cys X9
SEC ID N°: 15	X1 Asp Glu Cys X2 X3 Cys X4 Gln X5 X6 Cys X7 X8 Cys X9
SEC ID N°: 16	X1 Glu Asp Cys X2 X3 Cys X4 Gln X5 X6 Cys X7 X8 Cys X9
SEC ID N°: 17	Glu Cys X2 X3 Cys X4 Asn X5 X6 Cys X7 X8 Cys X9

SEC ID N°: 18

Glu Cys X2 X3 Cys X4 Asn X5 X6 Cys X7 X8 Cys

SEC ID N°: 19

X1 Glu Cys X2 X3 Cys X4 Asn X5 X6 Cys X7 X8 Cys X9**1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16**

SEC ID N°: 20

Asn Asp Glu Cys Glu Leu Cys Val Asn Val Ala Cys Thr Gly Cys Leu

SEC ID N°: 21

Glu Cys Glu Leu Cys Val Asn Val Ala Cys Thr Gly Cys Leu**1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16**

X1 a X9 puede ser cualquier aminoácido. Los puentes disulfuro se forman entre restos de Cys y 4 y 12 y entre 7 y 15, respectivamente. La SEC ID N°: 18 representa el requisito de longitud mínimo para que estos péptidos se unan al receptor de guanilato ciclasa.

5

Composiciones y formulaciones farmacéuticas

El agonista del receptor de guanilato ciclasa de la presente invención (Tabla 3; SEC ID N°: 20), puede combinarse o formularse con diversos excipientes, vehículos o adyuvantes para administración oral, local o sistémica. Las composiciones peptídicas pueden administrarse en soluciones, polvos, suspensiones, emulsiones, comprimidos, cápsulas, parches transdérmicos, pomadas u otras formulaciones. Las formulaciones y formas de dosificación pueden realizarse usando métodos bien conocidos en la técnica (véase, por ejemplo Remington's Pharmaceutical Sciences, 16ª ed., A. Oslo ed., Easton, PA (1980)).

Los inhibidores de fosfodiesterasa dependientes de GMPc pueden ser moléculas pequeñas, péptidos, proteínas u otros compuestos que impiden específicamente la degradación del GMPc. Los compuestos inhibidores incluyen suldinac sulfona, zaprinast, motapizona y otros compuestos que bloquean la actividad enzimática de las fosfodiesterasas específicas de GMPc. Uno o más de estos compuestos puede combinarse con un agonista de receptor de guanilato ciclasa ejemplificado en la SEC ID N°: 20.

La selección de transportadores (por ejemplo, solución salina tamponada con fosfato o PBS) y otros componentes adecuados para su uso en las composiciones entra bien dentro del nivel de experiencia en esta técnica. Además de contener uno o más agonistas del receptor de guanilato ciclasa, dichas composiciones pueden incorporar transportadores farmacéuticamente aceptables y otros ingredientes de los que se sabe que facilitan la administración y/o potencian la captación. También pueden usarse otras formulaciones, tales como microesferas, nanopartículas, liposomas, proteínas o péptidos pegilados y sistemas basados en inmunología. Los ejemplos incluyen formulaciones que emplean polímeros (por ejemplo, polietilenglicol al 20 % p/v) o celulosa, o formulaciones entéricas y análogos peptídicos pegilados para aumentar la semivida sistémica y la estabilidad.

Métodos de tratamiento

El término "tratamiento" se refiere a reducir o aliviar síntomas en un sujeto, a la prevención de síntomas, del empeoramiento o progresión, o prevención del desarrollo de una enfermedad. Para un sujeto dado, puede determinarse una mejora en un síntoma, su empeoramiento, regresión o progresión mediante cualquier medición objetiva o subjetiva típicamente empleada por un experto en la materia. Por tanto, el tratamiento eficaz incluiría la terapia de enfermedades existentes, control de enfermedades reduciendo o deteniendo su progresión, prevención de aparición de la enfermedad, reducción en el número o gravedad de los síntomas o una combinación de los mismos. El efecto puede mostrarse en un estudio controlado usando uno o más criterios estadísticamente significativos.

La terapia combinada con uno o más procedimientos médicos/quirúrgicos y/o al menos un agente quimioterapéutico distinto puede practicarse con la invención. Otros agentes adecuados útiles en la terapia combinada incluyen fármacos anti-inflamatorios tales como, por ejemplo, esteroides o fármacos anti-inflamatorios no esteroideos (AINE), tales como aspirina y similar. Los métodos profilácticos para la prevención o reducción de la incidencia de recaídas también se consideran tratamiento.

Los cánceres que se espera que respondan a las composiciones incluyen carcinoma mamario, colorrectal, de pulmón, de ovario, pancreático, prostático, renal, de estómago, de vejiga, de hígado, esofágico y testicular. Ejemplos adicionales de enfermedades que implican tejidos cancerosos o precancerosos que deberían responder a un agente terapéutico que comprende al menos un agonista de receptor de guanilato ciclasa incluyen: carcinoma (por ejemplo de células basales, basoescomoso, Brown-Pearce, ductal, tumor de Ehrlich, *in situ*, de Krebs, de células de Merkel, pulmonar microcítico o no microcítico, de células de avena, papilar, bronquiolar, de células escamosas, de células transicionales, de Walker), leucemia (por ejemplo, de linfocitos B, linfocitos T, HTLV, linfocítico crónico o agudo, de mastocitos, mieloides), histiocitoma, histiocitosis, enfermedad de Hodgkin, linfoma no Hodgkin, plasmacitoma, reticuloendoteliosis, adenoma, adeno-carcinoma, adenofibroma, adenolinfoma, ameloblastoma, angioqueratoma,

hiperplasia angioliñoide con eosinofilia, angioma esclerosante, angiomatosis, apudoma, branquioma, síndrome carcinoide maligno, enfermedad cardíaca carcinoidea, carcinosarcoma, cementoma, colangioma, colesteatoma, condrosarcoma, condroblastoma, condrosarcoma, cordoma, coristoma, craneofaringioma, condroma, cilindroma, cistoadenocarcinoma, cistoadenoma, cistosarcoma filodes, disgerminoma, ependimoma, sarcoma de Ewing, fibroma, fibro-sarcoma, tumor de células gigantes, ganglioneuroma, glioblastoma, glomangioma, tumor de células granulosas, ginandroblastoma, hamartoma, hemangioendotelioma, hemangioma, hemangiopericitoma, hemangiosarcoma, hepatoma, tumor de células de islotes, sarcoma de Kaposi, leiomioma, leiomiosarcoma, leucosarcoma, tumor de células de Leydig, lipoma, liposarcoma, linfangioma, linfangioma, linfangiosarcoma, meduloblastoma, meningioma, mesenquimoma, mesonefoma, mesotelioma, mioblastoma, mioma, miosarcoma, mixoma, mixosarcoma, neurilemoma, neuroma, neuroblastoma, neuroepitelioma, neurofibroma, neurofibromatosis, odontoma, osteoma, osteosarcoma, papiloma, paraganglioma, paraganglioma no cromafín, pinealoma, rabiomioma, rabiomiosarcoma, tumor de células de Sertoli, teratoma, tumor de células tecales, y otras enfermedades en las que las células se han vuelto displásicas, inmortalizadas o transformado.

Puede administrarse un bolo de la composición de la invención a lo largo de un periodo de tiempo corto. Una vez al día es un régimen de dosificación conveniente para tratar, entre otras, algunos de los estados patológicos mencionados anteriormente. Como alternativa, la dosis diaria eficaz puede dividirse en dosis múltiples para los fines de administración, por ejemplo, de dos a doce dosis al día. El nivel de dosis seleccionado para su uso dependerá de la biodisponibilidad, actividad y estabilidad del compuesto, de la vía de administración, de la gravedad de la enfermedad que vaya a tratarse, y de la afección del sujeto que requiere el tratamiento. Se contempla que una dosificación diaria será típicamente de entre 10 µg y aproximadamente 2 mg (por ejemplo, de aproximadamente 100 µg a 1 mg) del compuesto por kilogramo de peso corporal. La cantidad de compuesto administrada depende de factores conocidos por una persona experta en la materia, tales como, por ejemplo, las propiedades químicas del compuesto, vía de administración, localización y tipo de cáncer y similares. El sujeto mamífero puede ser cualquier animal o un paciente humano. Por tanto, se contemplan tanto los tratamientos veterinarios como médicos de acuerdo con la invención.

La invención se describirá ahora adicionalmente a través de los ejemplos no limitativos.

30 Ejemplo

Materiales y Métodos

Cultivo celular: se obtuvieron células T84 de carcinoma de colon humano de la American Type Culture Collection de pase 52. Las células crecieron en una mezcla 1:1 de medio de Ham F-12 y medio Eagle modificado de Dulbecco (DMEM) complementado con suero bovino fetal al 10 %, 100 U de penicilina/ml, y 100 µg/ml de estreptomina. Las células se alimentaron con medio reciente cada tres días y se dividieron a una confluencia de aproximadamente el 80 %.

Ensayo basado en células T84 para determinar los niveles intracelulares de GMPc: los análogos peptídicos se sintetizaron a medida mediante Multiple Peptide Systems, San Diego, CA., y de Princeton Biomolecules, Langhorne, PA. La actividad biológica de los péptidos sintéticos se analizó como se ha indicado anteriormente (15). En resumen, las monocapas confluentes de células T-84 en placas de 24 pocillos se lavaron dos veces con 250 µl de DMEM que contenía HEPES 50 mM (pH 7,4), se pre-incubaron a 37 °C durante 10 min con 250 µl de DMEM que contenía HEPES 50 mM (pH 7,4) e isobutilmetilxantina (IBMX) 1 mM, seguido por incubación con análogos peptídicos (de 0,1 nM a 10 µM) durante 30 min. Se aspiró el medio, y la reacción se finalizó mediante la adición de ácido perclórico al 3 %. Después de la centrifugación y neutralización con NaOH 0,1 N, se usó el sobrenadante directamente para las mediciones de GMPc usando un kit de ELISA (Caymen Chemical, Ann Arbor, MI.).

50 Resultados

Los péptidos mostrados en la Tabla 4 se sintetizaron a de forma personalizada y se purificaron (pureza > 95 %) usando un procedimiento publicado (38). Los análogos peptídicos se evaluaron en el ensayo basado en células T84 con respecto a su capacidad para potenciar los niveles intracelulares de GMPc. Como se muestra en la Tabla 4, SP304 (SEC ID N°: 20) dio la mejor potenciación del GMPc intracelular de todos los análogos ensayados. SP316 (SEC ID N°: 21) fue el segundo en eficacia, mientras que las actividades biológicas de SP301, SP302 y SP303 fueron algo más débiles. Los análogos peptídicos SP306 y SP310 no fueron activos en este ensayo. Estos resultados indican que SP304 es el péptido más fuerte para potenciar el GMPc. Estos resultados también sugieren que el resto de cisteína en la posición 7 no puede sustituirse con penicilamina como un componente del enlace disulfuro [7,15] y que el resto Asn 13 en la posición 9 no puede cambiarse por una Gln.

Tabla 4: Agonistas peptídicos evaluados con respecto a la actividad biológica en el bioensayo de células T84

SEC ID N ^o .*	Código de Compuesto	Nivel GMPc** (pmol/pocillo)
1	SP 301	205
6	SP 302	225
7	SP 303	195
20	SP 304	315
14	SP 306	0
4	SP 310	0
21	SP 316	275

* Las SEC ID para SP301, SP304 y SP316 son las secuencias de aminoácidos exactas para estos análogos como se proporciona en el texto.

** Se observó un nivel GMPc intracelular en células T84 después del tratamiento con una solución 1 micromolar del agonista peptídico respectivo durante 30 minutos. El valor observado para S304 fue estadísticamente significativo con un valor de $p > 0,5$.

5 Para examinar la estabilidad térmica, se calentaron soluciones 10 micromolar de análogos peptídicos a 95 °C durante hasta 90 minutos. A tiempos específicos durante el tratamiento, las muestras se ensayaron con respecto a su eficacia biológica en el ensayo basado en células-T84. La actividad biológica de la SP301, SP302, SP303 y SP304 no cambió significativamente después de 60 minutos de calentamiento. Después de 90 minutos, las actividades de SP301, SP302 y SP303 se redujeron a aproximadamente el 80 % de sus valores originales, mientras que la actividad biológica de SP304 permaneció inalterada. Esto indica que SP304 es más estable a la termodesnaturalización en comparación con otros péptidos ensayados. Basándose en cálculos de energía y en la estructura en 3D, se esperaba que el grupo carboxilo cargado negativamente de la cadena lateral en la posición 3 de la SEC ID N^o: 1 interaccionase específicamente con un sitio de unión cargado positivamente en el receptor. En caso de que pueda potenciarse esta interacción, los análogos que contiene Glu3 en lugar de Asp3 deberían ser más activos, como se descubrió en el caso de SP304. Al mismo tiempo, para garantizar la eficacia de esta interacción particular, se debe equilibrar bien un sistema completo de interacciones electrostáticas de amplio alcance entre ligando y receptor. Dado que la cadena lateral Glu² presenta más posibilidades conformacionales en comparación con la cadena lateral Asp², este equilibrio puede cambiar ligeramente en SP302 (sustitución doble de Asp por Glu) en comparación con SP304 (una sola sustitución de Asp³ por Glu³). De hecho, la actividad biológica de SP304 es la mejor entre los análogos evaluados.

20 Los péptidos sintéticos SP301, SP302, SP303 y SP304 también se ensayaron con respecto a sus actividades a distintos valores de pH del ensayo basado en células-T84. Mientras que todos de estos péptidos mostraron una producción intracelular potenciada de GMPc a un pH que variaba de 5 a 7, SP304 mostró la mayor potenciación en el intervalo entre 6,5 y 7. Es importante observar que el pH fisiológico del intestino grueso está en un intervalo similar y por lo tanto, debe esperarse que SP304 sea específicamente eficaz para el tratamiento del cáncer de colon.

25 También se evaluaron péptidos usados bien en solitario o en combinación con inhibidores de fosfodiesterasa dependiente de GMPc (por ejemplo, zaprinast o sulindac sulfona) en ensayos basados en células T84 para la potenciación de los niveles intracelulares de GMPc. Las combinaciones de un inhibidor de fosfodiesterasa dependiente de GMPc con SP304 presentaron un efecto drástico en la potenciación de los niveles de GMPc en estos experimentos. El péptido sintético SP304 aumentó sustancialmente el nivel del GMPc por encima del nivel alcanzado en presencia de zaprinast o solamente sulindac sulfona. El tratamiento de los pocillos con SP304 en combinación bien con zaprinast o sulindac sulfona dio como resultado aumentos sinérgicos en los niveles intracelulares de GMPc. Estos aumentos fueron estadísticamente significativos, con valores de p de $< 0,5$. Estos datos indican que los tratamientos que combinan un agonista peptídico de un receptor de guanilato ciclasa con uno o más inhibidores de fosfodiesterasa dependientes de GMPc dan como resultado un aumento mayor que el aditivo en concentraciones de GMPc.

40 Aunque la invención se ha descrito con detalle y con referencia a realizaciones específicas de la misma, será obvio para los expertos habituales en la técnica que pueden realizarse diversos cambios y modificaciones sin alejarse de la esencia y el alcance de la invención.

Referencias

1. Currie, *et al.*, Proc. Nat'l Acad. Sci. EE.UU. 89:947-951 (1992).
2. Hamra, *et al.*, Proc. Nat'l Acad. Sci. EE.UU. 90:10464-10468 (1993).
3. Forte, L., Reg. Pept. 81:25-39 (1999).

4. Schulz, *et al.*, Cell 63:941-948 (1990).
5. Guba, *et al.*, Gastroenterology 111:1558-1568 (1996).
- 5 6. Joo, *et al.*, Am. J. Physiol. 274:G633-G644 (1998).
7. Evan, *et al.*, Nature (London) 411:342-348 (2001).
8. Eastwood, G., J. Clin. Gastroenterol. 14:S29-33 (1992).
- 10 9. Lipkin, M. Arch. Fr. Mal. Appl Dig. 61:691-693 (1972).
10. Wong, *et al.*, Gut 50:212-217 (2002).
- 15 11. Potten, *et al.*, Stem Cells 15:82-93.
12. Basoglu, *et al.*, en: Procedimientos del 2º congreso de la FEBS, del 29 de junio al 4 de julio de 1999, Praga, República Checa, <http://www.1f2.cuni.cz/physiolres/feps/basoglu.htm>.
- 20 13. Sindic, *et al.*, J. Biol. Chem. 11 de marzo de 2002, manuscrito M110627200 (en prensa).
14. Zhang, *et al.*, Science 276:1268-1272 (1997).
15. Shailubhai, *et al.*, Cancer Res. 60:5151-5157 (2000).
- 25 16. Shailubhai, *et al.*, en: Proceedings of the 1999 AACR. Conferencia Internacional de la NCI-EORTC. Noviembre de 1999, Resumen N° 0734.
17. Cohen, *et al.*, Lab. Invest. 78:101-108 (1998).
- 30 18. Sciaky, *et al.*, Genomics 26:427-429 (1995).
19. Whitaker, *et al.*, Genomics 45:348-354 (1997).
- 35 20. Leister, *et al.*, Cancer Res. 50:7232-7235 (1990).
21. Cheng, *et al.*, Cell 63:827-834 (1990).
22. Welsh, *et al.*, Cell 73:1251-1254 (1993).
- 40 23. Weber, *et al.*, Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol. 281(1):L71-78 (2001).
24. Venkatakrishnan, *et al.*, Am. J. Respir. Cell Mol. Biol. 23(3):396-403 (2000).
- 45 25. Hudson, *et al.*, Free Radic. Biol. Med. 30:1440-1461 (2001).
26. Bhakdi, *et al.*, Infect. Immun. 57:3512-3519 (1989).
27. Hughes, *et al.*, J. Biol. Chem. 272:30567-30576 (1997).
- 50 28. Cermak, *et al.*, Pflugers Arch, 43:571-577 (1996).
29. Wu, *et al.*, J. Biol. Chem. 272:14860-14866 (1997).
- 55 30. Nikiforovich, G., Int. J. Pept. Prot. Res. 44:513-531 (1994).
31. Dunfield, *et al.*, J. Phys. Chem. 82:2609-2616 (1978).
32. Nemethy, *et al.*, J. Phys. Chem. 87:1883-1887 (1983).
- 60 33. Zimmerman, *et al.*, Biopolymers 16:811-843 (1977).
34. Nikiforovich, *et al.*, Biopolymers 31:941-955 (1991).
- 65 35. Nyburg, S., Acta Crystallographica B30 (parte 1):251-253 (1974).

36. Chino, *et al.*, FEBS Letters 421:27-31 (1998).
37. Schulz, *et al.*, J. Peptide Res. 52:518-525 (1998).
- 5 38. Klodt, *et al.*, J. Peptide Res. 50:222-230 (1997).
39. Shailubhai, I., Curr. Opin. Drug Discov. Devel. 5:261-268 (2002).

10 Las realizaciones de la descripción incluyen:

1. Un péptido que consiste esencialmente en la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de SEC ID N°: 2-SEC ID N°: 21.
- 15 2. El péptido de la realización 1, en el que dicho péptido es un biciclo (4,12; 7,15) que tiene la secuencia de SEC ID N°: 20.
3. El péptido de cualquiera de la reivindicaciones 1 o la reivindicación 2 en el que dicho péptido consta de la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de SEC ID N°: 2-SEC ID N°: 21.
- 20 4. Un método para prevenir o tratar un trastorno inflamatorio del tracto gastrointestinal en un paciente que comprende administrar a dicho paciente una dosis eficaz de un agonista del receptor de guanilato ciclasa que tiene la secuencia de una cualquiera de SEC ID N°: 2-ID SEC N°: 21; uroguanilina; guanilina; o un péptido ST de *E. Coli*.
- 25 5. El método de la realización 4, en el que dicho péptido es un péptido bicíclico (4,12; 7,15) que tiene la secuencia de SEC ID N°: 20.
6. El método de la realización 4, en el que dicho trastorno inflamatorio del tracto gastrointestinal es una enfermedad inflamatoria intestinal seleccionada del grupo que consiste en: colitis ulcerosa y enfermedad de Crohn.
- 30 7. El método de la realización 4 que adicionalmente comprende administrar a dicho paciente una dosis eficaz de un inhibidor de fosfodiesterasa dependiente de GMPc simultáneamente o secuencialmente con dicho agonista del receptor de guanilato ciclasa.
- 35 8. El método de la reivindicación 7, en el que dicha fosfodiesterasa dependiente de GMPc se selecciona del grupo que consiste en suldinac sulfona, zaprinast, y motapizona.
- 40 9. Una composición farmacéutica en forma de dosis unitaria que comprende un péptido agonista de receptor de guanilato ciclasa que tiene la secuencia de una cualquiera de las SEC ID N°: 2-21 presentes en una cantidad terapéuticamente eficaz.
- 45 10. Una composición farmacéutica en forma de dosis unitaria que comprende:
- a) un péptido agonista de receptor de guanilato ciclasa que tiene la secuencia de una cualquiera de: SEC ID N°: 2-21; uroguanilina; o un péptido ST de *E. Coli*; y
- b) al menos un compuesto seleccionado del grupo que consiste en: un inhibidor de fosfodiesterasa dependiente de GMPc, un agente anti-inflamatorio, un agente antiviral y un agente anticanceroso;
- 50 en el que dicho agonista del receptor de guanilato ciclasa y dicho compuesto están presentes cada uno en una cantidad terapéuticamente eficaz.
11. La composición farmacéutica de cualquiera de las realizaciones 9 o 10, en el que dicha forma de dosis unitaria se selecciona del grupo que consiste en un comprimido, una cápsula, una solución o una formulación por inhalación.
- 55 12. La composición farmacéutica de cualquiera de las realizaciones 9 o 10, que comprende adicionalmente uno o más excipientes.
- 60 13. Un conjugado peptídico que comprende polietilenglicol (PEG) unido a un péptido que tiene la secuencia de cualquiera de las SEC ID N°: 2-SEC ID N°: 21; uroguanilina; guanilina o un péptido ST de *E. Coli*.
- 65 14. Un método para el tratamiento de inflamación gastrointestinal en un paciente que comprende administrar a dicho paciente una cantidad terapéuticamente eficaz del conjugado peptídico de la realización 13.

LISTADO DE SECUENCIAS

- <110> SYNERGY PHARMACEUTICALS
- 5 <120> AGONISTAS DEL RECEPTOR DE GUANILATO CICLASA PARA EL TRATAMIENTO DE INFLAMACION TISULAR Y CARCINOGENESIS.
- <130> 81361/141030
- 10 <140>
<141>
- <160> 23
- 15 <170> Patent In Ver. 2.1
- <210> 1
<211> 16
<212> PRT
20 <213> *Homo sapiens*
- <220>
<221> ENLACE DISULFURO
<222> (4)..(12)
- 25 <220>
<221> ENLACE DISULFURO
<222> (7)..(15)
- 30 <400> 1
- Asn Asp Asp Cys Glu Leu Cys Val Asn Val Ala Cys Thr Gly Cys Leu**
1 5 10 15
- 35 <210> 2
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
- 40 <220>
<223> Descripción de la secuencia artificial: péptido agonista sintético del receptor de guanilato ciclasa
- <220>
<221> ENLACE DISULFURO
<222> (4)..(12)
- 45 <220>
<221> ENLACE DISULFURO
<222> (7)..(15)
- 50 <220>
<221> MOD_RES
<222> (2)
<223> Asp o Glu
- 55 <220>
<221> MOD_RES
<222> (3)
<223> Asp o Glu
- 60 <220>
<221> MOD RES
<222> (10)
<223> Val o Pro

ES 2 539 132 T3

<220>
 <221> MOD RES
 <222> (11)
 <223> Ala o Aib
 5

<220>
 <221> MOD RES
 <222> (14)
 <223> Gly o Ala
 10

<400> 2

Asn Xaa Xaa Cys Glu Leu Cys Val Asn Xaa Xaa Cys Thr Xaa Cys Leu
1 5 10 15

15 <210> 3
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: péptido agonista sintético del receptor de guanilato ciclasa

25 <220>
 <221> ENLACE DISULFURO
 <222> (4)..(12)

30 <220>
 <221> ENLACE DISULFURO
 <222> (7)..(15)

35 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2)
 <223> Asp o Glu

40 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (3)
 <223> Asp o Glu

45 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (7)
 <223> Mpt

50 <220>
 <221> MOD RES
 <222> (10)
 <223> Val o Pro

55 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (11)
 <223> Ala o Aib

60 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (14)
 <223> Gly o Ala
 <400> 3

ES 2 539 132 T3

Asn Xaa Xaa Cys Glu Leu Xaa Val Asn Xaa Xaa Cys Thr Xaa Cys Leu
 1 5 10 15

5 <210> 4
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: péptido agonista sintético del receptor de guanilato ciclasa

15 <220>
 <221> ENLACE DISULFURO
 <222> (4)..(12)

20 <220>
 <221> ENLACE DISULFURO
 <222> (7)..(15)

25 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2)
 <223> Asp o Glu

30 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (3)
 <223> Asp o Glu

35 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (4)
 <223> Cys o Pen

40 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (7)
 <223> Cys o Pen

45 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (4)
 <223> Cys o Pen

50 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (7)
 <223> Cys o Pen

55 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (10)
 <223> Val o Pro

60 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (11)
 <223> Ala o Aib

65 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (12)
 <223> Cys o Pen

70 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (14)
 <223> Gly o Ala

75 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (15)
 <223> Cys o Pen

ES 2 539 132 T3

<400> 4

Asn Xaa Xaa Xaa Glu Leu Xaa Val Asn Xaa Xaa Xaa Thr Xaa Xaa Leu
 1 5 10 15

- 5 <210> 5
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
- 10 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: péptido agonista sintético del receptor de guanilato ciclasa
- 15 <220>
 <221> ENLACE DISULFURO
 <222> (4)..(12)
- 20 <220>
 <221> ENLACE DISULFURO
 <222> (7)..(15)
- 25 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2)
 <223> Asp o Glu
- 30 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (3)
 <223> Asp o Glu
- 35 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (4)
 <223> Dpr, Cys, Pen, Asp o Glu
- 40 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (7)
 <223> Dpr, Cys, Pen, Asp o Glu
- 45 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (10)
 <223> Val o Pro
- 50 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (11)
 <223> Ala o Aib
- 55 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (12)
 <223> Dpr, Cys, Pen, Asp o Glu
- 60 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (14)
 <223> Gly o Ala
- 60 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (15)
 <223> Dpr, Cys, Pen, Asp o Glu

ES 2 539 132 T3

<400> 5

Asn Xaa Xaa Xaa Glu Leu Xaa Val Asn Xaa Xaa Xaa Thr Xaa Xaa Leu
 1 5 10 15

5 <210> 6
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: péptido agonista sintético del receptor de guanilato ciclasa

15 <220>
 <221> ENLACE DISULFURO
 <222> (4)..(12)

20 <220>
 <221> ENLACE DISULFURO
 <222> (7)..(15)

25 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)
 <223> Cualquier aminoácido

30 <220>
 <221> MOD RES
 <222> (5)..(6)
 <223> Cualquier aminoácido

35 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (8)
 <223> Cualquier aminoácido

40 <220>
 <221> MOD RES
 <222> (10)..(11)
 <223> Cualquier aminoácido

45 <220>
 <221> MOD RES
 <222> (13)..(14)
 <223> Cualquier aminoácido

50 <220>
 <221> MOD RES
 <222> (16)
 <223> Cualquier aminoácido

<400> 6

Xaa Glu Glu Cys Xaa Xaa Cys Xaa Asn Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa
 1 5 10 15

55 <210> 7
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

60 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: péptido agonista sintético del receptor de guanilato ciclasa

<220>
 <221> ENLACE DISULFURO
 <222> (4)..(12)

5

<220>
 <221> ENLACE DISULFURO
 <222> (7)..(15)

10

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)
 <223> Cualquier aminoácido

15

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (5)..(6)
 <223> Cualquier aminoácido

20

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (8)
 <223> Cualquier aminoácido

25

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (10)..(11)
 <223> Cualquier aminoácido

30

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (13)..(14)
 <223> Cualquier aminoácido

35

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (16)
 <223> Cualquier aminoácido

40

<400> 7

Xaa Glu Asp Cys Xaa Xaa Cys Xaa Asn Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa
1 5 10 15

45

<210> 8
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

50

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: péptido agonista sintético del receptor de guanilato ciclasa

55

<220>
 <221> ENLACE DISULFURO
 <222> (4)..(12)

60

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)
 <223> Cualquier aminoácido

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (5)..(6)
 <223> Cualquier aminoácido
 5

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (8)
 <223> Cualquier aminoácido
 10

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (10)..(11)
 <223> Cualquier aminoácido
 15

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (13)..(14)
 <223> Cualquier aminoácido
 20

<220>
 <221> MOD RES
 <222> (16)
 <223> Cualquier aminoácido
 25

<400> 8

Xaa Asp Glu Cys Xaa Xaa Cys Xaa Asn Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa
1 5 10 15

<210> 9
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 30

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: péptido agonista sintético del receptor de guanilato ciclasa
 35

<220>
 <221> ENLACE DISULFURO
 <222> (4)..(12)
 40

<220>
 <221> ENLACE DISULFURO
 <222> (7)..(15)
 <221> MOD_RES
 <222> (1)
 <223> Cualquier aminoácido
 45

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (5)..(6)
 <223> Cualquier aminoácido
 50

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (8)
 <223> Cualquier aminoácido
 55

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (10)..(11)
 <223> Cualquier aminoácido
 60

ES 2 539 132 T3

<220>
 <221> MOD RES
 <222> (13)..(14)
 <223> Cualquier aminoácido
 5

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (16)
 <223> Cualquier aminoácido
 10

<400> 9

 Xaa Asp Asp Cys Xaa Xaa Cys Xaa Tyr Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa
 1 5 10 15

<210> 10
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 15

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: péptido agonista sintético del receptor de guanilato ciclasa
 20

<220>
 <221> ENLACE DISULFURO
 <222> (4)..(12)
 25

<220>
 <221> ENLACE DISULFURO
 <222> (7)..(15)
 30

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)
 <223> Cualquier aminoácido
 35

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (5)..(6)
 <223> Cualquier aminoácido
 40

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (8)
 <223> Cualquier aminoácido
 45

<220>
 <221> MOD RES
 <222> (10)..(11)
 <223> Cualquier aminoácido
 50

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (13)..(14)
 <223> Cualquier aminoácido
 55

<220>
 <221> MOD RES
 <222> (16)
 <223> Cualquier aminoácido
 60

<400> 10

ES 2 539 132 T3

Xaa Glu Glu Cys Xaa Xaa Cys Xaa Tyr Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa
1 5 10 15

5 <210> 11
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: péptido agonista sintético del receptor de guanilato ciclasa

15 <220>
 <221> ENLACE DISULFURO
 <222> (4)..(12)

20 <220>
 <221> ENLACE DISULFURO
 <222> (7)..(15)

25 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)
 <223> Cualquier aminoácido

30 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (5)..(6)
 <223> Cualquier aminoácido

35 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (8)
 <223> Cualquier aminoácido

40 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (10)..(11)
 <223> Cualquier aminoácido

45 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (13)..(14)
 <223> Cualquier aminoácido

50 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (16)
 <223> Cualquier aminoácido

<400> 11

Xaa Asp Glu Cys Xaa Xaa Cys Xaa Tyr Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa
1 5 10 15

55 <210> 12
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

60 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: péptido agonista sintético del receptor de guanilato ciclasa

<220>
 <221> ENLACE DISULFURO

<222> (4)..(12)
 <220>
 <221> ENLACE DISULFURO
 5 <222> (7)..(15)
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)
 10 <223> Cualquier aminoácido
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (5)..(6)
 15 <223> Cualquier aminoácido
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (8)
 20 <223> Cualquier aminoácido
 <220>
 <221> MOD RES
 <222> (10)..(11)
 25 <223> Cualquier aminoácido
 <220>
 <221> MOD RES
 <222> (13)..(14)
 30 <223> Cualquier aminoácido
 <220>
 <221> MOD RES
 <222> (16)
 35 <223> Cualquier aminoácido
 <400> 12
 Xaa Glu Asp Cys Xaa Xaa Cys Xaa Tyr Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa
 1 5 10 15
 40 <210> 13
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 45 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: péptido agonista sintético del receptor de guanilato ciclase
 <220>
 <221> ENLACE DISULFURO
 50 <222> (4)..(12)
 <220>
 <221> ENLACE DISULFURO
 55 <222> (7)..(15)
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)
 60 <223> Cualquier aminoácido
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (5)..(6)

<223> Cualquier aminoácido
 <220>
 <221> MOD_RES
 5 <222> (8)
 <223> Cualquier aminoácido
 <220>
 <221> MOD_RES
 10 <222> (10)..(11)
 <223> Cualquier aminoácido
 <220>
 <221> MOD RES
 15 <222> (13)..(14)
 <223> Cualquier aminoácido
 <220>
 <221> MOD RES
 20 <222> (16)
 <223> Cualquier aminoácido
 <400> 13
 <220>
 <221> MOD RES
 25 <222> (16)
 <223> Cualquier aminoácido
 <400> 13
 <220>
 <221> MOD RES
 30 <222> (16)
 <223> Cualquier aminoácido
 <400> 13
 <220>
 <221> MOD RES
 35 <222> (16)
 <223> Cualquier aminoácido
 <400> 13
 <220>
 <221> MOD RES
 40 <222> (16)
 <223> Cualquier aminoácido
 <400> 13
 <220>
 <221> MOD_RES
 45 <222> (1)
 <223> Cualquier aminoácido
 <220>
 <221> MOD_RES
 50 <222> (5)..(6)
 <223> Cualquier aminoácido
 <220>
 <221> MOD_RES
 55 <222> (8)
 <223> Cualquier aminoácido
 <220>
 <221> MOD RES
 60 <222> (10)..(11)
 <223> Cualquier aminoácido
 <220>
 <221> MOD_RES

Xaa Asp Asp Cys Xaa Xaa Cys Xaa Gln Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa
1 5 10 15

ES 2 539 132 T3

<222> (13)..(14)
 <223> Cualquier aminoácido

<220>
 5 <221> MOD RES
 <222> (16)
 <223> Cualquier aminoácido

<400> 14
 10

Xaa Glu Glu Cys Xaa Xaa Cys Xaa Gln Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa
1 5 10 15

<210> 15
 <211> 16
 15 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 20 <223> Descripción de la secuencia artificial: péptido agonista sintético del receptor de guanilato ciclasa

<220>
 <221> ENLACE DISULFURO
 <222> (4)..(12)

25 <220>
 <221> ENLACE DISULFURO
 <222> (7)..(15)

30 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)
 <223> Cualquier aminoácido

35 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (5)..(6)
 <223> Cualquier aminoácido

40 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (8)
 <223> Cualquier aminoácido

45 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (10)..(11)
 <223> Cualquier aminoácido

50 <220>
 <221> MOD RES
 <222> (13)..(14)
 <223> Cualquier aminoácido

55 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (16)
 <223> Cualquier aminoácido

<400> 15
 60

Xaa Asp Glu Cys Xaa Xaa Cys Xaa Gln Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa
1 5 10 15

ES 2 539 132 T3

<210> 16
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 5
 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: péptido agonista sintético del receptor de guanilato ciclasa
 <220>
 <221> ENLACE DISULFURO
 <222> (4)..(12)
 10
 <220>
 <221> ENLACE DISULFURO
 <222> (7)..(15)
 15
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)
 <223> Cualquier aminoácido
 20
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (5)..(6)
 <223> Cualquier aminoácido
 25
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (8)
 <223> Cualquier aminoácido
 30
 <220>
 <221> MOD RES
 <222> (10)..(11)
 <223> Cualquier aminoácido
 35
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (13)..(14)
 <223> Cualquier aminoácido
 40
 <220>
 <221> MOD RES
 <222> (16)
 <223> Cualquier aminoácido
 45
 <400> 16
 Xaa Glu Asp Cys Xaa Xaa Cys Xaa Gln Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa
 1 5 10 15
 50
 <210> 17
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 55
 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: péptido agonista sintético del receptor de guanilato ciclasa
 <220>
 <221> ENLACE DISULFURO
 <222> (2)..(10)
 60

<220>
 <221> ENLACE DISULFURO
 <222> (5)..(13)

5

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (3)..(4)
 <223> Cualquier aminoácido

10

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (6)
 <223> Cualquier aminoácido

15

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (8)..(9)
 <223> Cualquier aminoácido

20

<220>
 <221> MOD RES
 <222> (11)..(12)
 <223> Cualquier aminoácido

25

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (14)
 <223> Cualquier aminoácido

30

<400> 17

Glu Cys Xaa Xaa Cys Xaa Asn Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa
1 5 10

35

<210> 18
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

40

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: péptido agonista sintético del receptor de guanilato ciclasa

45

<220>
 <221> ENLACE DISULFURO
 <222> (2)..(10)

50

<220>
 <221> ENLACE DISULFURO
 <222> (5)..(13)

55

<220>
 <221> MOD RES
 <222> (3)..(4)
 <223> Cualquier aminoácido

60

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (6)
 <223> Cualquier aminoácido

60

<220>
 <221> MOD RES
 <222> (8)..(9)
 <223> Cualquier aminoácido

ES 2 539 132 T3

<220>
 <221> MOD RES
 <222> (11)..(12)
 <223> Cualquier aminoácido
 5
 <400> 18

Glu Cys Xaa Xaa Cys Xaa Asn Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys
1 5 10

 10 <210> 19
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 15 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: péptido agonista sintético del receptor de guanilato ciclasa

 <220>
 <221> ENLACE DISULFURO
 <222> (3)..(11)
 20

 <220>
 <221> ENLACE DISULFURO
 <222> (6)..(14)
 25

 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)
 <223> Cualquier aminoácido
 30

 <220>
 <221> MOD RES
 <222> (4)..(5)
 <223> Cualquier aminoácido
 35

 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (7)
 <223> Cualquier aminoácido
 40

 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (9)..(10)
 <223> Cualquier aminoácido
 45

 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (12)..(13)
 <223> Cualquier aminoácido
 50

 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (15)
 <223> Cualquier aminoácido
 55
 <400> 19

Xaa Glu Cys Xaa Xaa Cys Xaa Asn Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa
1 5 10 15

 60 <210> 20
 <211> 16
 <212> PRT

ES 2 539 132 T3

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Descripción de la secuencia artificial: péptido agonista sintético del receptor de guanilato ciclasa

5

<220>
<221> ENLACE DISULFURO
<222> (4)..(12)

10

<220>
<221> ENLACE DISULFURO
<222> (7)..(15)

<400> 20

15

Asn Asp Glu Cys Glu Leu Cys Val Asn Val Ala Cys Thr Gly Cys Leu
1 5 10 15

<210> 21
<211> 14
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Descripción de la secuencia artificial: péptido agonista sintético del receptor de guanilato ciclasa

20

<220>
<221> ENLACE DISULFURO
<222> (2)..(10)

25

<220>
<221> ENLACE DISULFURO
<222> (5)..(13)

30

<400> 21

35

Glu Cys Glu Leu Cys Val Asn Val Ala Cys Thr Gly Cys Leu
1 5 10

<210> 22
<211> 15
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> ENLACE DISULFURO
<222> (4)..(12)

40

<220>
<221> ENLACE DISULFURO
<222> (7)..(15)

45

<400> 22

50

Pro Gly Thr Cys Glu Ile Cys Ala Tyr Ala Ala Cys Thr Gly Cys
1 5 10 15

55

<210> 23
<211> 19
<212> PRT
<213> *Escherichia coli*

60

<220>
<221> ENLACE DISULFURO

ES 2 539 132 T3

<222> (6)..(10)

<220>

<221> ENLACE DISULFURO

5

<222> (7)..(15)

<220>

<221> ENLACE DISULFURO

10

<222> (11)..(18)

<400> 23

Asn Ser Ser Asn Tyr Cys Cys Glu Leu Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr
1 5 10 15

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un péptido en el que dicho péptido es un péptido bicíclico (4,12; 7,15) que consiste en la secuencia de SEC ID N°: 20 para su uso en un método de prevención o de tratamiento de inflamación del tracto gastrointestinal en un paciente.
2. El péptido para el uso de la reivindicación 1, en el que dicho trastorno inflamatorio del tracto gastrointestinal es una enfermedad inflamatoria intestinal seleccionada de colitis ulcerosa y enfermedad de Crohn.
- 10 3. El péptido para el uso de la reivindicación 1, en el que dicho método de prevención o tratamiento comprende administrar a dicho paciente una dosis eficaz de un inhibidor de fosfodiesterasa dependiente de GMPc bien simultánea o secuencialmente con dicho péptido.
- 15 4. El péptido para el uso de la reivindicación 3, en el que dicho inhibidor de fosfodiesterasa dependiente de GMPc se selecciona de sulindac sulfona, zaprinast y motapizona.
5. El péptido para el uso de la reivindicación 1, en el que el polietilenglicol (PEG) está unido al péptido.