

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 540 326**

51 Int. Cl.:

**A61K 38/10** (2006.01)

**A61P 1/00** (2006.01)

**A61P 5/00** (2006.01)

**A61P 9/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **03.12.2010 E 10796208 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.04.2015 EP 2506865**

54 Título: **Agonistas de guanilato ciclasa útiles para el tratamiento de hipercolesterolemia**

30 Prioridad:

**03.12.2009 US 630654**

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

**09.07.2015**

73 Titular/es:

**SYNERGY PHARMACEUTICALS INC. (100.0%)  
420 Lexington Avenue Suite 1609  
New York, NY 10170, US**

72 Inventor/es:

**SHAILUBHAI, KUNWAR**

74 Agente/Representante:

**SUGRAÑES MOLINÉ, Pedro**

**ES 2 540 326 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 de guanilato ciclasa útiles para el tratamiento de hipercolesterolemia

**5 CAMPO DE LA INVENCION**

La presente invención se refiere al uso terapéutico de agonistas de guanilato ciclasa C (GC-C) para reducir la absorción de grasas, triglicéridos, ácidos biliares y colesterol. Los agonistas pueden usarse bien solos o bien en combinación con inhibidores de la biosíntesis del colesterol en el cuerpo humano para prevenir o tratar un ataque cardiaco, aterosclerosis, enfermedad cardiaca coronaria (CHD), piedras en la vesícula, hipertensión, obesidad y otras enfermedades cardiovasculares. Además, los agonistas de GC-C pueden usarse también en combinación con inhibidores de la absorción del colesterol y el ácido biliar del intestino.

**15 ANTECEDENTES DE LA INVENCION**

La uroguanilina, guanilina y péptidos ST bacterianos son péptidos estructuralmente relacionados que se unen con un receptor de guanilato ciclasa y estimulan la producción intracelular de guanosín monofosfato cíclico (GMPc) (1,6). Esto da como resultado la activación del regulador de conductancia transmembrana de fibrosis quística (CFTR), un canal de membrana apical para flujo de salida de cloruro de enterocitos que revisten el tracto intestinal (1-6). La activación del CFTR y la posterior potenciación de la secreción transepitelial de cloruro conducen a la estimulación de la secreción de sodio y agua al lumen intestinal (3). Por lo tanto, actuando como reguladores paracrinos de la actividad de CFTR, los agonistas del receptor de GMPc regulan el transporte de fluidos y electrolitos en el tracto GI (1-6; Patente de Estados Unidos 5.489.670). Por lo tanto, la activación mediada por GMPc de CFTR y la señalización aguas abajo desempeñan un papel importante en el funcionamiento normal de la fisiología del intestino. Por lo tanto, cualquier anomalía en este proceso podría conducir potencialmente a trastornos gastrointestinales tales como síndrome del intestino irritable, enfermedad inflamatoria del intestino, exceso de acidez y cáncer (25, 26).

El proceso de renovación epitelial implica la proliferación, migración, diferenciación, senescencia y con el tiempo pérdida de células del GI en el lumen (7, 8). La mucosa del GI puede dividirse en tres zonas distintas basándose en el índice de proliferación de células epiteliales. Una de estas zonas, la zona proliferativa, consiste en células madre indiferenciadas responsables de proporcionar una fuente constante de células nuevas. Las células madre migran hacia arriba hacia el lumen al que se extruyen. A medida que migran, las células pierden su capacidad para dividirse y se diferencian para llevar a cabo funciones especializadas en la mucosa del GI (9). La renovación de la mucosa del GI es muy rápida produciéndose renovación completa en un periodo de 24-48 horas (9). Durante este proceso las células mutadas y no deseadas se reemplazan con células nuevas. Por lo tanto, la homeostasis de la mucosa del GI está regulada por mantenimiento continuo del equilibrio entre tasas de proliferación y apoptótica (8).

Las tasas de proliferación celular y apoptosis en el epitelio del intestino pueden aumentarse o reducirse en una amplia diversidad de circunstancias diferentes, por ejemplo, en respuesta a estímulos fisiológicos tales como envejecimiento, señales inflamatorias, hormonas, péptidos, factores de crecimiento, productos químicos y hábitos dietéticos. Además, una tasa de proliferación potenciada se asocia con frecuencia con una reducción del tiempo de renovación y una expansión de la zona proliferativa (10). Se ha observado que el índice de proliferación es mucho mayor en casos patológicos de colitis ulcerosa y otros trastornos de GI (11). Por lo tanto, la hiperplasia intestinal es el promotor principal de la inflamación gastrointestinal y carcinogénesis.

Además de un papel para la uroguanilina y guanilina como moduladores de la secreción de iones y fluido intestinal, estos péptidos también pueden estar implicados en la renovación continua de la mucosa del GI manteniendo el equilibrio entre la proliferación y la apoptosis en las células que revisten la mucosa del GI. Por lo tanto, cualquier alteración de este proceso de renovación, debido a producción reducida de uroguanilina y/o guanilina puede conducir a la inflamación del GI y cáncer (25, 26). Esto es coherente con datos previamente publicados en el documento WO 01/25266, que sugieren que un péptido con el dominio activo de uroguanilina puede actuar como un inhibidor del desarrollo de pólipos en el colon y puede constituir un tratamiento de cáncer de colon. Sin embargo, datos recientes también sugieren que la uroguanilina se une también con un receptor actualmente desconocido, que es distinto del receptor de GC-C (3, 4). Los ratones knockout que carecen de este receptor de guanilato ciclasa muestran resistencia a péptidos ST en el intestino, pero los efectos de la uroguanilina y los péptidos ST no se alteran en el riñón *in vivo* (3). Estos resultados se vieron apoyados además por el hecho de que la despolarización de membrana inducida por guanilina se bloquea por genisteína, un inhibidor de tirosina quinasa, mientras que no se efectuó hiperpolarización inducida por uroguanilina (12, 13). Por lo tanto, no está claro si las actividades anti-cáncer de colon y antiinflamatoria de uroguanilina y sus análogos están mediadas por la unión con uno o ambos de estos receptores.

El síndrome del intestino irritable (SII) y el estreñimiento idiopático crónico son condiciones patológicas que pueden provocar una gran cantidad de incomodidad intestinal y malestar pero a diferencia de las enfermedades de EII tales como colitis ulcerosa y enfermedad de Crohn, el SII no provoca la grave inflamación o cambios en el tejido intestinal y no se cree que aumente el riesgo de cáncer colorrectal. En el pasado, la enfermedad inflamatoria del intestino (EII), enfermedad celiaca y síndrome del intestino irritable (SII) se consideraron trastornos completamente

- 5 separados. Ahora, con la descripción de la inflamación, aunque de grado bajo, en SII y del solapamiento sintomático entre SII y enfermedad celiaca, este argumento se ha puesto en cuestión. La gastroenteritis bacteriana aguda es el factor de riesgo más fuerte identificado hasta la fecha para el desarrollo posterior del síndrome de intestino irritable postinfeccioso (SII-PI). Los factores de riesgo clínicos incluyen enfermedad aguda prolongada y la ausencia de vómitos. Una susceptibilidad determinada genéticamente a estímulos inflamatorios también puede ser un factor de riesgo para el síndrome del intestino irritable. La patofisiología subyacente indica aumento de la permeabilidad intestinal e inflamación de grado bajo, así como movilidad y sensibilidad visceral alteradas (27). Por lo tanto, el SII se considera ahora una EII de grado bajo.
- 10 La serotonina (5-hidroxitriptamina [5-HT]) es un modulador clave de la función intestinal y se sabe que desempeña un papel importante en la patofisiología del SII. Se ha mostrado que la actividad de 5-HT está regulada por GMPc (28). Estudios recientes han mostrado mejoras medibles en pacientes con SII tratados con inhibidores de la recaptación de serotonina selectivos y agentes serotoninérgicos (alosetron, tegaserod) (29, 30). La mayoría del contenido de serotonina en el cuerpo se encuentra en el intestino y no en el sistema nervioso central. Este hecho plantea la cuestión de si la modulación de la acción de serotonina en el intestino podría influir en el SII u otros síntomas del intestino funcionales. Recientemente, se ha sugerido que la inflamación de la mucosa desempeña un papel fundamental en la patofisiología del SII (31). Por lo tanto, se cree que el agonista de GC-C también podría ser útil en el tratamiento de SII.
- 15 20 La diabetes mellitus (DM) es un grupo de enfermedades metabólicas caracterizadas por hiperglucemia, resultante de defectos en la secreción de insulina, acción de insulina, o ambos. La hiperglucemia crónica de la diabetes está asociada con daño a largo plazo, disfunción e insuficiencia de diversos órganos, especialmente los ojos, riñones, nervios, corazón y vasos sanguíneos. Factores de riesgo bien conocidos de la DM de tipo 2 son el historial familiar, obesidad, edad, raza, prediabetes [glucosa en ayunas alterada (IFG) y/o tolerancia a la glucosa alterada (IGT)], DM gestacional, y síndrome de ovario poliquístico. Algunos estudios previos han evaluado posibles relaciones entre la resistencia a insulina y la serotonina (32). Las investigaciones sobre ratas diabéticas han revelado disfunciones en receptores de serotonina en los intestinos tanto grueso como delgado (33). Además, se ha indicado una asociación entre la resistencia a insulina y la inflamación (34). A la luz de estos datos, los inventores plantean la hipótesis de que el SII puede estar asociado con niveles de tolerancia a la glucosa, dando como resultado DM de tipo 2. Por lo tanto, los agonistas de GC-C también pueden ser útiles en la prevención y el control de DM de tipo 2.
- 25 30 Además, hay numerosas investigaciones que han apoyado el papel de la inflamación crónica en la patogénesis de DM de tipo 2 (35-37). En estos estudios, se ha observado que la inflamación crónica podría acompañar a aumento de los niveles de proteína sensible a C y citocinas inflamatorias. Los datos también han indicado una correlación en la que la prediabetes era común en pacientes con SII, lo que sugirió que el proceso de inflamación crónica podría ser responsable de la progresión a DM. Se ha indicado previamente que la condición prediabética aparece más habitualmente en el grupo de SII que en el grupo de control (35). También se ha descubierto que los niveles de HDL y LDL son mayores en el grupo de SII en comparación con el grupo de control (35). Debido a que la prediabetes es un precursor de DM de tipo 2, los pacientes con SII pueden considerarse como un grupo de alto riesgo para DM de tipo 2. Por lo tanto, los tratamientos para SII también podrían prevenir y controlar la progresión de la condición prediabética a DM de tipo 2.
- 35 40 La hipercolesterolemia se ha reconocido como un factor de riesgo importante para enfermedad cardíaca coronaria (CHD). En ensayos clínicos, se ha demostrado que la reducción de colesterol LDL en suero reduce la incidencia de CHD e invierte las lesiones ateroscleróticas. Dos clases principales de agentes hipercolesterolémicos clínicamente útiles son los inhibidores de 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A (HMG-CoA) reductasa (por ejemplo, estatinas) y los secuestradores de ácido biliar. Ambos inducen actividad del receptor de LDL hepático aumentando la demanda de colesterol hepático. Debido a que el principal determinante del nivel de colesterol en suero es la actividad del receptor de LDL hepático (38), estos agentes pueden compartir un mecanismo común que conduce a la reducción del colesterol en suero.
- 45 50 En el caso de secuestradores de ácido biliar tales como colestiramina y colestipol, el mecanismo de acción parece deberse a la inhibición de la circulación enterohepática, el transporte de ácidos biliares entre hígado e intestino. Se sintetizan ácidos biliares de colesterol en el hígado y se secretan al flujo biliar para facilitar la digestión y absorción de lípidos, seguido de reabsorción casi cuantitativa (~95 %) del intestino. El ~5 % restante de los ácidos biliares entran en el colon y se excretan. El cotransportador de Nal ileal/ácido biliar (IBAT) mantiene la reabsorción de ácidos biliares del intestino y, por lo tanto, se espera que su inhibidor muestre efectos farmacológicos similares a los de los secuestradores de ácido biliar. Los ácidos biliares son moléculas de detergentes que facilitan la excreción biliar del colesterol, producto secundario del metabolismo y xenobiótica, y absorción intestinal de grasa y nutrientes solubles en grasa. Cuando se ingieren alimentos, se estimula que la vesícula biliar se contraiga dando como resultado la secreción de bilis al lumen del intestino delgado (duodeno), donde actúa como un detergente para formar micelas de nutrientes solubles en grasa, colesterol dietético y lípidos. Las micelas cumplen una función importante en la digestión y en la absorción de grasa que consiste principalmente en triglicéridos y colesterol de la dieta.
- 55 60 El sistema digestivo es responsable en gran medida del mantenimiento del equilibrio de colesterol en el cuerpo. Se producen sales biliares por modificación enzimática de colesterol y se secretan al intestino. La reabsorción de sales
- 65

biliares del intestino es muy eficaz y el 95-98 % de sales biliares se reciclan de vuelta al hígado. Por lo tanto, solamente el 2-5 % de las sales biliares escapan al reciclado y se excretan en las heces. Esta cantidad de pérdida de sales biliares se repone rápidamente en el hígado mediante conversión enzimática de colesterol. Por lo tanto, se ha usado la inhibición de sales biliares del intestino como el enfoque para reducir el colesterol en suero. Además, los inhibidores de absorción de colesterol también reducen la absorción de colesterol en la dieta. Son inhibidores de la absorción de colesterol conocidos los esteroides y estanoles de plantas. Además, también se usan inhibidores del cotransportador de Na<sup>+</sup> ileal/ácido biliar (IBAT) para reducir el colesterol en plasma. Los niveles de colesterol en plasma pueden reducirse mediante la inhibición de la síntesis de colesterol así como mediante la inhibición de la absorción ileal del colesterol de la dieta y reabsorción de sales viales. La ciclación enterohepática tiene por lo tanto una gran influencia en el colesterol en plasma y la grasa corporal.

El tránsito del intestino delgado prolongado, con pacientes con estreñimiento crónico, SII-c, y vaciado de la vesícula biliar alterado, debería impedir la ciclación enterohepática, lo que podría asociarse con niveles aumentados de colesterol en plasma, triglicéridos y lípidos. Además, el tránsito ralentizado a través del intestino distal (íleon, ciego y colon) también puede conducir a la conversión aumentada de ácidos biliares en desoxicolato, que en sí mismo puede ralentizar el tránsito del intestino delgado. La absorción de ácido desoxicólico del colon sucede solamente por difusión pasiva. Cuando se inyecta ácido cólico radiactivo en el colon en una laparotomía, la mayor parte de él se absorbió y se volvió a secretar en la bilis principalmente como desoxicolato durante las primeras 24 horas pero su absorción del colon continuó durante varios días (39). Además, la presencia prolongada de desoxicolato a mayor nivel en el colon también puede provocar enfermedades inflamatorias y cáncer.

Dada la prevalencia de enfermedades asociadas con hipercolesterolemia, obesidad y afecciones inflamatorias, la inhibición de la absorción ileal de colesterol y la reducción de la reabsorción de sales biliares del intestino podrían ser altamente útiles para mejorar las opciones de tratamiento para obesidad, enfermedades cardiovasculares, diabetes de tipo 2, piedras en la vesícula y enfermedades hepáticas.

## SUMARIO DE LA INVENCIÓN

La presente invención se basa en el desarrollo de agonistas del receptor de guanilato ciclasa (SEC ID N°: 1-249). Los agonistas son análogos de uroguanilina, guanilina, linfoguanilina y péptidos de ST y tienen propiedades superiores tales como por ejemplo alta resistencia a degradación en el extremo N terminal y C terminal de carboxipeptidasas y/o por otras enzimas proteolíticas presentes en los jugos intestinales humanos estimulados y jugos gástricos humanos. La presente divulgación se refiere en parte al uso de agonistas de GC-C para inhibir la absorción de ácido biliar del intestino. Por lo tanto, los agonistas de GC-C también pueden usarse solos o en combinación con estatinas (es decir, Lipitor, Zocor y Crestor) para reducción de colesterol en seres humanos.

La invención proporciona un agonista del receptor de guanilato ciclasa que tiene la secuencia de SEC ID N°: 1 en el que dicha secuencia es un biciclo [4, 12; 7, 15] para uso en un método para prevenir o tratar la hipercolesterolemia. Opcionalmente, dicho tratamiento o prevención comprende además administrar una dosis eficaz de un inhibidor de una fosfodiesterasa específica de GMPc; o un fibrato, un agente de alteración de lípidos o un inhibidor de la HMG - CoA reductasa; o un agente antidiabético; o un agente antiobesidad. El agente adicional se administra bien simultánea o bien secuencialmente con el agonista del receptor de guanilato ciclasa.

Los péptidos pueden estar en una composición farmacéutica en forma de dosis unitaria, junto con uno o más vehículos, excipientes o diluyentes farmacéuticamente aceptables. La expresión "forma de dosis unitaria" se refiere a una entidad de suministro de un único fármaco, por ejemplo, un comprimido, cápsula, solución o formulación de inhalación. La cantidad de péptido presente debería ser suficiente para tener un efecto terapéutico positivo cuando se administra a un paciente (típicamente, entre 100 µg y 3 g). Lo que constituye un "efecto terapéutico positivo" dependerá de la afección particular que se trate e incluirá cualquiera mejora significativa en una afección ya reconocida por un experto en la materia. Por ejemplo, puede constituir una reducción de la inflamación, encogimiento de pólipos o tumores, una reducción de las lesiones metastásicas, etc.

El inhibidor de GMPc-PDE incluye por ejemplo sulfona de sulfinac, zaprinast y motapizona, vardenifilo y sildenafil. Además, los péptidos agonistas de GC-C pueden usarse en combinación con inhibidores de transportadores de nucleótidos cíclicos.

Otras características y ventajas de la invención resultaron evidentes a partir de y están abarcadas por la siguiente descripción detallada y reivindicaciones.

## BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

La Figura 1 muestra la ciclación enterohepática de ácidos biliares.

La Figura 2 muestra la estimulación de la síntesis de GMP cíclico en células CaCo-2 por SP-304.

La Figura 3 muestra el efecto del tiempo de preincubación en la absorción de <sup>3</sup>H-taurocolato por células CaCo-2.

La Figura 4 muestra la cinética de la absorción de <sup>3</sup>H-taurocolato por la monocapa de CaCo-2.

La Figura 5 muestra el resultado de gráficas de barras de la absorción de <sup>3</sup>H-taurocolato por monocapa de CaCo-2.

5

La Figura 6 muestra la absorción de <sup>3</sup>H-taurocolato en células CaCo-2.

#### DESCRIPCIÓN DETALLADA

10 La presente invención se basa en el desarrollo de agonistas de guanilato ciclasa-C (GC-C). Los agonistas son análogos de uroguanilina, guanilina, linfoguanilina y péptidos ST y tienen propiedades superiores tales como por ejemplo alta resistencia a degradación en el extremo N terminal y C terminal de carboxipeptidasas y/o por otras enzimas proteolíticas tales como las presentes en el fluido intestinal humano estimulado (SIF) y fluido gástrico humano simulado (SGF).

15

La GC-C se expresa en diversas células incluyendo en células epiteliales gastrointestinales y en tejidos extra intestinales incluyendo riñón, pulmón, páncreas, hipófisis, glándula adrenal, hígado en desarrollo, corazón y tejidos reproductivos masculino y femenino (revisado en Vaandrager 2002 Mol Cell Biochem 230: 73-83). La GC-C es un regulador clave del equilibrio de fluidos y electrolitos en el intestino y en el riñón. En el intestino, cuando se estimula, la GC-C provoca un aumento en el GMPc epitelial intestinal. Este aumento en el GMPc provoca una reducción de la absorción de agua y sodio y un aumento de la secreción de ión potasio y cloruro, lo que conduce a cambios en el transporte de fluidos y electrolitos intestinales y aumento de la movilidad intestinal.

20

La presente divulgación se refiere en parte al uso de agonistas de GC-C para inhibir la absorción de ácido biliar del intestino. Por lo tanto, pueden usarse agonistas de GC-C solos o en combinación con estatinas (Lipitor, Zocor y Crestor) para reducción de colesterol en seres humanos.

25

Los agonistas de guanilato ciclasa-c incluyen secuencias de aminoácidos representadas por las Fórmulas I-XX así como las secuencias de aminoácidos resumidas posteriormente en las Tablas I, II, III, IV, V, VI y VII. Los agonistas de guanilato ciclasa-C se denominan colectivamente en el presente documento "péptidos GCRA".

30

Tabla I. Péptidos GCRA (SP-304 y derivados)

Nombre	Posición de enlaces disulfuro	Estructura	SEC ID N°:
SP-304	C4:C12, C7:C15	Asn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Leu <sup>16</sup>	1
SP-326	C3:C11, C6:C14	Asp <sup>1</sup> -Glu <sup>2</sup> -Cys <sup>3</sup> -Glu <sup>4</sup> -Leu <sup>5</sup> -Cys <sup>6</sup> -Val <sup>7</sup> -Asn <sup>8</sup> -Val <sup>9</sup> -Ala <sup>10</sup> -Cys <sup>11</sup> -Thr <sup>12</sup> -Gly <sup>13</sup> -Cys <sup>14</sup> -Leu <sup>15</sup>	2
SP-327	C2:C10, C5:C13	Asp <sup>1</sup> -Glu <sup>2</sup> -Cys <sup>3</sup> -Glu <sup>4</sup> -Leu <sup>5</sup> -Cys <sup>6</sup> -Val <sup>7</sup> -Asn <sup>8</sup> -Val <sup>9</sup> -Ala <sup>10</sup> -Cys <sup>11</sup> -Thr <sup>12</sup> -Gly <sup>13</sup> -Cys <sup>14</sup>	3
SP-328	C2:C10, C5:C13	Glu <sup>1</sup> -Cys <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Leu <sup>4</sup> -Cys <sup>5</sup> -Val <sup>6</sup> -Asn <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Ala <sup>9</sup> -Cys <sup>10</sup> -Thr <sup>11</sup> -Gly <sup>12</sup> -Cys <sup>13</sup> -Leu <sup>14</sup>	4
SP-329	C2:C10, C5:C13	Glu <sup>1</sup> -Cys <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Leu <sup>4</sup> -Cys <sup>5</sup> -Val <sup>6</sup> -Asn <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Ala <sup>9</sup> -Cys <sup>10</sup> -Thr <sup>11</sup> -Gly <sup>12</sup> -Cys <sup>13</sup>	5
SP-330	C1:C9, C4:C12	Cys <sup>1</sup> -Glu <sup>2</sup> -Leu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Val <sup>5</sup> -Asn <sup>6</sup> -Val <sup>7</sup> -Ala <sup>8</sup> -Cys <sup>9</sup> -Thr <sup>10</sup> -Gly <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Leu <sup>13</sup>	6
SP-331	C1:C9, C4:C12	Cys <sup>1</sup> -Glu <sup>2</sup> -Leu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Val <sup>5</sup> -Asn <sup>6</sup> -Val <sup>7</sup> -Ala <sup>8</sup> -Cys <sup>9</sup> -Thr <sup>10</sup> -Gly <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup>	7
SP-332	C4:C12, C7:C15	Asn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -dLeu <sup>16</sup>	8
SP-333	C4:C12, C7:C15	dAsn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -dLeu <sup>16</sup>	9
SP-334	C4:C12, C7:C15	dAsn <sup>1</sup> -dAsp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -dLeu <sup>16</sup>	10
SP-335	C4:C12, C7:C15	dAsn <sup>1</sup> -dAsp <sup>2</sup> -dGlu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -dLeu <sup>16</sup>	11
SP-336	C4:C12, C7:C15	dAsn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Leu <sup>16</sup>	12
SP-337	C4:C12, C7:C15	dAsn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -dLeu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -dLeu <sup>16</sup>	13
SP-338	C4:C12, C7:C15	Asn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup>	14
SP-342	C4:C12, C7:C15	PEG3-Asn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -dLeu <sup>16</sup> -PEG3	15
SP-343	C4:C12, C7:C15	PEG3-dAsn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -dLeu <sup>16</sup> -PEG3	16
SP-344	C4:C12, C7:C15	PEG3-dAsn <sup>1</sup> -dAsp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -dLeu <sup>16</sup> -PEG3	17
SP-347	C4:C12, C7:C15	dAsn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -dLeu <sup>16</sup> -PEG3	18
SP-348	C4:C12, C7:C15	PEG3-Asn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -dLeu <sup>16</sup>	19
SP-350	C4:C12, C7:C15	PEG3-dAsn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -dLeu <sup>16</sup>	20
SP-352	C4:C12, C7:C15	Asn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -dLeu <sup>16</sup> -PEG3	21
SP-358	C4:C12, C7:C15	PEG3-dAsn <sup>1</sup> -dAsp <sup>2</sup> -dGlu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -dLeu <sup>16</sup> -PEG3	22
SP-359	C4:C12, C7:C15	PEG3-dAsn <sup>1</sup> -dAsp <sup>2</sup> -dGlu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -dLeu <sup>16</sup>	23
SP-360	C4:C12, C7:C15	dAsn <sup>1</sup> -dAsp <sup>2</sup> -dGlu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -dLeu <sup>16</sup> -PEG3	24
SP-361	C4:C12, C7:C15	dAsn <sup>1</sup> -dAsp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -dLeu <sup>16</sup> -PEG3	25
SP-362	C4:C12, C7:C15	PEG3-dAsn <sup>1</sup> -dAsp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -dLeu <sup>16</sup>	26
SP-368	C4:C12, C7:C15	dAsn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -dNal <sup>16</sup>	27
SP-369	C4:C12, C7:C15	dAsn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -dLeu <sup>16</sup>	28
SP-370	C4:C12, C7:C15	dAsn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -dLeu <sup>16</sup>	29
SP-371	C4:C12, C7:C15	dAsn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -dLeu <sup>16</sup>	30
SP-372	C4:C12, C7:C15	dAsn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Ser <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -dLeu <sup>16</sup>	31
N1	C4:C12, C7:C15	PEG3-dAsn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Tyr <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -dLeu <sup>16</sup> -PEG3	32
N2	C4:C12, C7:C15	PEG3-dAsn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Tyr <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -dLeu <sup>16</sup>	33
N3	C4:C12, C7:C15	dAsn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Tyr <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -dLeu <sup>16</sup> -PEG3	34
N4	C4:C12, C7:C15	PEG3-dAsn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Ser <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -dLeu <sup>16</sup> -PEG3	35
N5	C4:C12, C7:C15	PEG3-dAsn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Ser <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -dLeu <sup>16</sup>	36
N6	C4:C12, C7:C15	dAsn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Ser <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -dLeu <sup>16</sup> -PEG3	37
N7	C4:C12, C7:C15	Asn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Ser <sup>16</sup>	38
N8	C4:C12, C7:C15	PEG3-Asn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Ser <sup>16</sup> -PEG3	39
N9	C4:C12, C7:C15	PEG3-Asn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Ser <sup>16</sup>	40
N10	C4:C12, C7:C15	Asn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Ser <sup>16</sup> -PEG3	41

Nombre	Posición de enlaces disulfuro	Estructura	SEC ID N°:
N11	C4:C12, C7:C15	PEG3-Asn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -dSer <sup>16</sup> -PEG3	42
N12	C4:C12, C7:C15	PEG3-Asn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -dSer <sup>16</sup>	43
N13	C4:C12, C7:C15	Asn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -dSer <sup>16</sup> -PEG3	44
Fórmula I	C4:C12, C7:C15	Asn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Xaa <sup>5</sup> -Xaa <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Xaa <sup>8</sup> -Xaa <sup>9</sup> -Xaa <sup>10</sup> -Xaa <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Xaa <sup>13</sup> -Xaa <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Xaa <sup>16</sup>	45
Fórmula II	C4:C12, C7:C15	Xaa <sub>n1</sub> -Cys <sup>4</sup> -Xaa <sup>5</sup> -Xaa <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Xaa <sup>8</sup> -Xaa <sup>9</sup> -Xaa <sup>10</sup> -Xaa <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Xaa <sup>13</sup> -Xaa <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Xaa <sub>n2</sub> <sup>16</sup>	46
Fórmula III	4:12, 7:15	Xaa <sub>n1</sub> -Maa <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Xaa <sup>6</sup> -Maa <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Maa <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Maa <sup>15</sup> -Xaa <sub>n2</sub>	47
Fórmula IV	4:12, 7:15	Xaa <sub>n1</sub> -Maa <sup>4</sup> -Xaa <sup>5</sup> -Xaa <sup>6</sup> -Maa <sup>7</sup> -Xaa <sup>8</sup> -Xaa <sup>9</sup> -Xaa <sup>10</sup> -Xaa <sup>11</sup> -Maa <sup>12</sup> -Xaa <sup>13</sup> -Xaa <sup>14</sup> -Maa <sup>15</sup> -Xaa <sub>n2</sub>	48
Fórmula V	C4:C12, C7:C15	Asn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Asp <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Xaa <sup>5</sup> -Xaa <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Xaa <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Xaa <sup>10</sup> -Xaa <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Xaa <sup>13</sup> -Xaa <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Xaa <sup>16</sup>	49
Fórmula VI	C4:C12, C7:C15	dAsn <sup>1</sup> -Glu <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Xaa <sup>5</sup> -Xaa <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -X <sup>38</sup> -Asn <sup>9</sup> -Xaa <sup>11</sup> -Xaa <sup>12</sup> -Cys <sup>13</sup> -Xaa <sup>14</sup> -Xaa <sup>15</sup> -Cys <sup>16</sup> -d-Xaa <sup>16</sup>	50
Fórmula VII	C4:C12, C7:C15	dAsn <sup>1</sup> -dGlu <sup>2</sup> -Asp <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Xaa <sup>5</sup> -Xaa <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Xaa <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Xaa <sup>10</sup> -Xaa <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Xaa <sup>13</sup> -Xaa <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -d-Xaa <sup>16</sup>	51
Fórmula VIII	C4:C12, C7:C15	dAsn <sup>1</sup> -dAsp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Xaa <sup>5</sup> -Xaa <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Xaa <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Xaa <sup>10</sup> -Xaa <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Xaa <sup>13</sup> -Xaa <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -d-Xaa <sup>16</sup>	52
Fórmula VIII	C4:C12, C7:C15	dAsn <sup>1</sup> -dAsp <sup>2</sup> -dGlu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Xaa <sup>5</sup> -Xaa <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Xaa <sup>8</sup> -Tyr <sup>9</sup> -Xaa <sup>10</sup> -Xaa <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Xaa <sup>13</sup> -Xaa <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -d-Xaa <sup>16</sup>	53
Fórmula IX	C4:C12, C7:C15	dAsn <sup>1</sup> -dGlu <sup>2</sup> -dGlu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Xaa <sup>5</sup> -Xaa <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Xaa <sup>8</sup> -Tyr <sup>9</sup> -Xaa <sup>10</sup> -Xaa <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Xaa <sup>13</sup> -Xaa <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -d-Xaa <sup>16</sup>	54



Tabla II. Linactolide y derivados

Nombre	Posición de enlaces disulfuro	Estructura	SEC ID N°.
SP-339 (linactolide)	C1:C6, C2:C10, C5:13	Cys <sup>1</sup> -Cys <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Tyr <sup>4</sup> -Cys <sup>5</sup> -Cys <sup>6</sup> -Asn <sup>7</sup> -Pro <sup>8</sup> -Ala <sup>9</sup> -Cys <sup>10</sup> -Thr <sup>11</sup> -Gly <sup>12</sup> -Cys <sup>13</sup> -Tyr <sup>14</sup>	55
SP-340	C1:C6, C2:C10, C5:13	Cys <sup>1</sup> -Cys <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Tyr <sup>4</sup> -Cys <sup>5</sup> -Cys <sup>6</sup> -Asn <sup>7</sup> -Pro <sup>8</sup> -Ala <sup>9</sup> -Cys <sup>10</sup> -Thr <sup>11</sup> -Gly <sup>12</sup> -Cys <sup>13</sup>	56
SP-349	C1:C6, C2:C10, C5:13	PEG3-Cys <sup>1</sup> -Cys <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Tyr <sup>4</sup> -Cys <sup>5</sup> -Cys <sup>6</sup> -Asn <sup>7</sup> -Pro <sup>8</sup> -Ala <sup>9</sup> -Cys <sup>10</sup> -Thr <sup>11</sup> -Gly <sup>12</sup> -Cys <sup>13</sup> -Tyr <sup>14</sup> -PEG3	57
SP-353	C3:C8, C4:C12, C7:15	Asn <sup>1</sup> -Phe <sup>2</sup> -Cys <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Ser <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Cys <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Pro <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Tyr <sup>16</sup>	58
SP-354	C3:C8, C4:C12, C7:15	Asn <sup>1</sup> -Phe <sup>2</sup> -Cys <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Phe <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Cys <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Pro <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Tyr <sup>16</sup>	59
SP-355	C1:C6, C2:C10, C5:13	Cys <sup>1</sup> -Cys <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Tyr <sup>4</sup> -Cys <sup>5</sup> -Cys <sup>6</sup> -Asn <sup>7</sup> -Pro <sup>8</sup> -Ala <sup>9</sup> -Cys <sup>10</sup> -Thr <sup>11</sup> -Gly <sup>12</sup> -Cys <sup>13</sup> -dTyr <sup>14</sup>	60
SP-357	C1:C6, C2:C10, C5:13	PEG3-Cys <sup>1</sup> -Cys <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Tyr <sup>4</sup> -Cys <sup>5</sup> -Cys <sup>6</sup> -Asn <sup>7</sup> -Pro <sup>8</sup> -Ala <sup>9</sup> -Cys <sup>10</sup> -Thr <sup>11</sup> -Gly <sup>12</sup> -Cys <sup>13</sup> -Tyr <sup>14</sup>	61
SP-374	C3:C8, C4:C12, C7:15	Asn <sup>1</sup> -Phe <sup>2</sup> -Cys <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Thr <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Cys <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Pro <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Tyr <sup>16</sup>	62
SP-375	C3:C8, C4:C12, C7:15	Asn <sup>1</sup> -Phe <sup>2</sup> -Cys <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Ser <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Cys <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Pro <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -dTyr <sup>16</sup>	63
SP-376	C3:C8, C4:C12, C7:15	dAsn <sup>1</sup> -Phe <sup>2</sup> -Cys <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Ser <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Cys <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Pro <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -dTyr <sup>16</sup>	64
SP-377	C3:C8, C4:C12, C7:15	dAsn <sup>1</sup> -Phe <sup>2</sup> -Cys <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Ser <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Cys <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Pro <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -dTyr <sup>16</sup>	65
SP-378	C3:C8, C4:C12, C7:15	Asn <sup>1</sup> -Phe <sup>2</sup> -Cys <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Thr <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Cys <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Pro <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -dTyr <sup>16</sup>	66
SP-379	C3:C8, C4:C12, C7:15	dAsn <sup>1</sup> -Phe <sup>2</sup> -Cys <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Thr <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Cys <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Pro <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Tyr <sup>16</sup>	67
SP-380	C3:C8, C4:C12, C7:15	dAsn <sup>1</sup> -Phe <sup>2</sup> -Cys <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Thr <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Cys <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Pro <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -dTyr <sup>16</sup>	68
SP-381	C3:C8, C4:C12, C7:15	Asn <sup>1</sup> -Phe <sup>2</sup> -Cys <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Phe <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Cys <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Pro <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -dTyr <sup>16</sup>	69
SP-382	C3:C8, C4:C12, C7:15	dAsn <sup>1</sup> -Phe <sup>2</sup> -Cys <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Phe <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Cys <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Pro <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Tyr <sup>16</sup>	70
SP-383	C3:C8, C4:C12, C7:15	dAsn <sup>1</sup> -Phe <sup>2</sup> -Cys <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Phe <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Cys <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Pro <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -dTyr <sup>16</sup>	71
SP-384	C1:C6, C2:C10, C5:13	Cys <sup>1</sup> -Cys <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Tyr <sup>4</sup> -Cys <sup>5</sup> -Cys <sup>6</sup> -Asn <sup>7</sup> -Pro <sup>8</sup> -Ala <sup>9</sup> -Cys <sup>10</sup> -Thr <sup>11</sup> -Gly <sup>12</sup> -Cys <sup>13</sup> -Tyr <sup>14</sup> -PEG3	72
N14	C1:C6, C2:C10, C5:13	PEG3-Cys <sup>1</sup> -Cys <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Tyr <sup>4</sup> -Cys <sup>5</sup> -Cys <sup>6</sup> -Asn <sup>7</sup> -Pro <sup>8</sup> -Ala <sup>9</sup> -Cys <sup>10</sup> -Thr <sup>11</sup> -Gly <sup>12</sup> -Cys <sup>13</sup> -PEG3	73
N15	C1:C6, C2:C10, C5:13	PEG3-Cys <sup>1</sup> -Cys <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Tyr <sup>4</sup> -Cys <sup>5</sup> -Cys <sup>6</sup> -Asn <sup>7</sup> -Pro <sup>8</sup> -Ala <sup>9</sup> -Cys <sup>10</sup> -Thr <sup>11</sup> -Gly <sup>12</sup> -Cys <sup>13</sup>	74
N16	C1:C6, C2:C10, C5:13	Cys <sup>1</sup> -Cys <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Tyr <sup>4</sup> -Cys <sup>5</sup> -Cys <sup>6</sup> -Asn <sup>7</sup> -Pro <sup>8</sup> -Ala <sup>9</sup> -Cys <sup>10</sup> -Thr <sup>11</sup> -Gly <sup>12</sup> -Cys <sup>13</sup> -PEG3	75
N17	C3:C8, C4:C12, C7:15	PEG3-Asn <sup>1</sup> -Phe <sup>2</sup> -Cys <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Ser <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Cys <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Pro <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Tyr <sup>16</sup> -PEG3	76
N18	C3:C8, C4:C12, C7:15	PEG3-Asn <sup>1</sup> -Phe <sup>2</sup> -Cys <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Ser <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Cys <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Pro <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Tyr <sup>16</sup>	77
N19	C3:C8, C4:C12, C7:15	Asn <sup>1</sup> -Phe <sup>2</sup> -Cys <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Ser <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Cys <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Pro <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Tyr <sup>16</sup> -PEG <sup>3</sup>	78
N20	C3:C8, C4:C12, C7:15	PEG3-Asn <sup>1</sup> -Phe <sup>2</sup> -Cys <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Phe <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Cys <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Pro <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Tyr <sup>16</sup> -PEG3	79
N21	C3:C8, C4:C12, C7:15	PEG3-Asn <sup>1</sup> -Phe <sup>2</sup> -Cys <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Phe <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Cys <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Pro <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Tyr <sup>16</sup>	80
N22	C3:C8, C4:C12, C7:15	Asn <sup>1</sup> -Phe <sup>2</sup> -Cys <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Phe <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Cys <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Pro <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Tyr <sup>16</sup> -PEG <sup>3</sup>	81
N23	C3:C8, C4:C12, C7:15	PEG3-Asn <sup>1</sup> -Phe <sup>2</sup> -Cys <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Tyr <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Cys <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Pro <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Tyr <sup>16</sup> -PEG3	82
N24	C3:C8, C4:C12, C7:15	PEG3-Asn <sup>1</sup> -Phe <sup>2</sup> -Cys <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Tyr <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Cys <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Pro <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Tyr <sup>16</sup>	83
N25	C3:C8, C4:C12, C7:15	Asn <sup>1</sup> -Phe <sup>2</sup> -Cys <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Tyr <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Cys <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Pro <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Tyr <sup>16</sup> -PEG3	84
N26	C1:C6, C2:C10, C5:13	Cys <sup>1</sup> -Cys <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Ser <sup>4</sup> -Cys <sup>5</sup> -Cys <sup>6</sup> -Asn <sup>7</sup> -Pro <sup>8</sup> -Ala <sup>9</sup> -Cys <sup>10</sup> -Thr <sup>11</sup> -Gly <sup>12</sup> -Cys <sup>13</sup> -Tyr <sup>14</sup>	85
N27	C1:C6, C2:C10, C5:13	Cys <sup>1</sup> -Cys <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Phe <sup>4</sup> -Cys <sup>5</sup> -Cys <sup>6</sup> -Asn <sup>7</sup> -Pro <sup>8</sup> -Ala <sup>9</sup> -Cys <sup>10</sup> -Thr <sup>11</sup> -Gly <sup>12</sup> -Cys <sup>13</sup> -Tyr <sup>14</sup>	86
N28	C1:C6, C2:C10, C5:13	Cys <sup>1</sup> -Cys <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Ser <sup>4</sup> -Cys <sup>5</sup> -Cys <sup>6</sup> -Asn <sup>7</sup> -Pro <sup>8</sup> -Ala <sup>9</sup> -Cys <sup>10</sup> -Thr <sup>11</sup> -Gly <sup>12</sup> -Cys <sup>13</sup>	87
N29	C1:C6, C2:C10, C5:13	Cys <sup>1</sup> -Cys <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Phe <sup>4</sup> -Cys <sup>5</sup> -Cys <sup>6</sup> -Asn <sup>7</sup> -Pro <sup>8</sup> -Ala <sup>9</sup> -Cys <sup>10</sup> -Thr <sup>11</sup> -Gly <sup>12</sup> -Cys <sup>13</sup>	88
N30	1:6, 2:10, 5:13	Pen <sup>1</sup> -Pen <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Tyr <sup>4</sup> -Pen <sup>5</sup> -Pen <sup>6</sup> -Asn <sup>7</sup> -Pro <sup>8</sup> -Ala <sup>9</sup> -Pen <sup>10</sup> -Thr <sup>11</sup> -Gly <sup>12</sup> -Pen <sup>13</sup> -Tyr <sup>14</sup>	89
N31	1:6, 2:10, 5:13	Pen <sup>1</sup> -Pen <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Tyr <sup>4</sup> -Pen <sup>5</sup> -Pen <sup>6</sup> -Asn <sup>7</sup> -Pro <sup>8</sup> -Ala <sup>9</sup> -Pen <sup>10</sup> -Thr <sup>11</sup> -Gly <sup>12</sup> -Pen <sup>13</sup>	90
Fórmula X	C9:C14, C10:C18, C13:21	Xaa <sup>1</sup> -Xaa <sup>2</sup> -Xaa <sup>3</sup> -Xaa <sup>4</sup> -Xaa <sup>5</sup> -Xaa <sup>6</sup> -Asn <sup>7</sup> -Tyr <sup>8</sup> -Cys <sup>9</sup> -Cys <sup>10</sup> -Xaa <sup>11</sup> -Tyr <sup>12</sup> -Cys <sup>13</sup> -Xaa <sup>14</sup> -Xaa <sup>15</sup> -Xaa <sup>16</sup> -Xaa <sup>17</sup> -Cys <sup>18</sup> -Xaa <sup>19</sup> -Xaa <sup>20</sup> -Cys <sup>21</sup> -Xaa <sup>22</sup>	91
Fórmula XI	C9:C14, C10:C18,	Xaa <sup>1</sup> -Xaa <sup>2</sup> -Xaa <sup>3</sup> -Xaa <sup>4</sup> -Xaa <sup>5</sup> -Xaa <sup>6</sup> -Asn <sup>7</sup> -Phe <sup>8</sup> -Cys <sup>9</sup> -Cys <sup>10</sup> -Xaa <sup>11</sup> -Phe <sup>12</sup> -Cys <sup>13</sup> -Cys <sup>14</sup> -Xaa <sup>15</sup> -Xaa <sup>16</sup> -Xaa <sup>17</sup> -	92



Nombre	Posición de enlaces disulfuro	Estructura	SEC ID N°.
	C13;21	Cys <sup>18</sup> -Xaa <sup>19</sup> -Xaa <sup>20</sup> -Cys <sup>21</sup> -Xaa <sup>22</sup>	
Fórmula XII	C3:C8, C4:C12, C7:15	Asn <sup>1</sup> -Phe <sup>2</sup> -Cys <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Xaa <sup>5</sup> -Phe <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Cys <sup>8</sup> -Xaa <sup>9</sup> -Xaa <sup>10</sup> -Xaa <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Xaa <sup>13</sup> -Xaa <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Xaa <sup>16</sup>	93
Fórmula XIII	3:8, 4:12, C:15	Asn <sup>1</sup> -Phe <sup>2</sup> -Pen <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Xaa <sup>5</sup> -Phe <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Pen <sup>8</sup> -Xaa <sup>9</sup> -Xaa <sup>10</sup> -Xaa <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Xaa <sup>13</sup> -Xaa <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Xaa <sup>16</sup>	94
Fórmula XIV	3:8, 4:12, 7:15	Asn <sup>1</sup> -Phe <sup>2</sup> -Maa <sup>3</sup> -Maa <sup>4</sup> -Xaa <sup>5</sup> -Xaa <sup>6</sup> -Maa <sup>7</sup> -Maa <sup>8</sup> -Xaa <sup>9</sup> -Xaa <sup>10</sup> -Maa <sup>11</sup> -Maa <sup>12</sup> -Xaa <sup>13</sup> -Xaa <sup>14</sup> -Maa <sup>15</sup> -Xaa <sup>16</sup>	95
Fórmula XV	1:6, 2:10, 5:13	Maa <sup>1</sup> -Maa <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Xaa <sup>4</sup> -Maa <sup>5</sup> -Maa <sup>6</sup> -Asn <sup>7</sup> -Pro <sup>8</sup> -Ala <sup>9</sup> -Maa <sup>10</sup> -Thr <sup>11</sup> -Gly <sup>12</sup> -Maa <sup>13</sup> -Tyr <sup>14</sup>	96
Fórmula XVI	1:6, 2:10, 5:13	Maa <sup>1</sup> -Maa <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Xaa <sup>4</sup> -Maa <sup>5</sup> -Maa <sup>6</sup> -Asn <sup>7</sup> -Pro <sup>8</sup> -Ala <sup>9</sup> -Maa <sup>10</sup> -Thr <sup>11</sup> -Gly <sup>12</sup> -Maa <sup>13</sup>	97
Fórmula XVII	1:6, 2:10, 5:13	Xaa <sup>1,3</sup> -Maa <sup>1</sup> -Maa <sup>2</sup> -Xaa <sup>3</sup> -Xaa <sup>4</sup> -Maa <sup>5</sup> -Maa <sup>6</sup> -Xaa <sup>7</sup> -Xaa <sup>8</sup> -Maa <sup>9</sup> -Maa <sup>10</sup> -Xaa <sup>11</sup> -Xaa <sup>12</sup> -Maa <sup>13</sup> -Xaa <sup>14</sup>	98

Tabla III. Péptidos GCRA

Nombre	Posición de enlaces disulfuro	Estructura	SEC ID N°.
SP-363	C4:C12, C7:C15	dAsn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -dLeu-AMIDA <sup>16</sup>	99
SP-364	C4:C12, C7:C15	dAsn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -dSer <sup>16</sup>	100
SP-365	C4:C12, C7:C15	dAsn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -dSer-AMIDA <sup>16</sup>	101
SP-366	C4:C12, C7:C15	dAsn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -dTyr <sup>16</sup>	102
SP-367	C4:C12, C7:C15	dAsn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -dTyr-AMIDA <sup>16</sup>	103
SP-373	C4:C12, C7:C15	Pyglu <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -dLeu-AMIDA <sup>16</sup>	104
SP-304 diPEG	C4:C12, C7:C15	PEG3-Asn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Leu <sup>16</sup> -PEG3	105
SP-304 N-PEG	C4:C12, C7:C15	PEG3-Asn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Leu <sup>16</sup>	106
SP-304 C-PEG	C4:C12, C7:C15	Asn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Val <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Val <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Leu <sup>16</sup> -PEG3	107



Nombre	Posición de enlaces disulfuro	Estructura	SEC ID N°:
N72	C4:C12, C7:C15	Asp <sup>1</sup> -Glu <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ile <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Met <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Leu <sup>16</sup>	149
N73	C4:C12, C7:C15	Gln <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Asp <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ile <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Met <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Leu <sup>16</sup>	150
N74	C4:C12, C7:C15	Gln <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ile <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Met <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Leu <sup>16</sup>	151
N75	C4:C12, C7:C15	Gln <sup>1</sup> -Glu <sup>2</sup> -Asp <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ile <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Met <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Leu <sup>16</sup>	152
N76	C4:C12, C7:C15	Gln <sup>1</sup> -Glu <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ile <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Met <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Leu <sup>16</sup>	153
N77	C4:C12, C7:C15	Lys <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Asp <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ile <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Met <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Leu <sup>16</sup>	154
N78	C4:C12, C7:C15	Lys <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ile <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Met <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Leu <sup>16</sup>	155
N79	C4:C12, C7:C15	Lys <sup>1</sup> -Glu <sup>2</sup> -Asp <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ile <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Met <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Leu <sup>16</sup>	156
N80	C4:C12, C7:C15	Lys <sup>1</sup> -Glu <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ile <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Met <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Leu <sup>16</sup>	157
N81	C4:C12, C7:C15	Glu <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Asp <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ile <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Met <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Ser <sup>16</sup>	158
N82	C4:C12, C7:C15	Glu <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ile <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Met <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Ser <sup>16</sup>	159
N83	C4:C12, C7:C15	Glu <sup>1</sup> -Glu <sup>2</sup> -Asp <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ile <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Met <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Ser <sup>16</sup>	160
N84	C4:C12, C7:C15	Glu <sup>1</sup> -Glu <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ile <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Met <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Ser <sup>16</sup>	161
N85	C4:C12, C7:C15	Asp <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Asp <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ile <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Met <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Ser <sup>16</sup>	162
N86	C4:C12, C7:C15	Asp <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ile <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Met <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Ser <sup>16</sup>	163
N87	C4:C12, C7:C15	Asp <sup>1</sup> -Glu <sup>2</sup> -Asp <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ile <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Met <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Ser <sup>16</sup>	164
N88	C4:C12, C7:C15	Asp <sup>1</sup> -Glu <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ile <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Met <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Ser <sup>16</sup>	165
N89	C4:C12, C7:C15	Gln <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Asp <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ile <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Met <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Ser <sup>16</sup>	166
N90	C4:C12, C7:C15	Gln <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ile <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Met <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Ser <sup>16</sup>	167
N91	C4:C12, C7:C15	Gln <sup>1</sup> -Glu <sup>2</sup> -Asp <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ile <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Met <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Ser <sup>16</sup>	168
N92	C4:C12, C7:C15	Gln <sup>1</sup> -Glu <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ile <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Met <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Ser <sup>16</sup>	169
N93	C4:C12, C7:C15	Lys <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Asp <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ile <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Met <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Ser <sup>16</sup>	170
N94	C4:C12, C7:C15	Lys <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ile <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Met <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Ser <sup>16</sup>	171
N95	C4:C12, C7:C15	Lys <sup>1</sup> -Glu <sup>2</sup> -Asp <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ile <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Met <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Ser <sup>16</sup>	172
N96	C4:C12, C7:C15	Lys <sup>1</sup> -Glu <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ile <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Met <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Ser <sup>16</sup>	173

Tabla V. Guanilina y análogos

Nombre	Posición de enlaces disulfuro	Estructura	SEC ID N°:
Fórmula XIX	4:12,7:15	Xaa <sup>1</sup> -Xaa <sup>2</sup> -Xaa <sup>3</sup> -Xaa <sup>4</sup> -Xaa <sup>5</sup> -Xaa <sup>6</sup> -Maa <sup>7</sup> -Xaa <sup>8</sup> -Xaa <sup>9</sup> -Xaa <sup>10</sup> -Xaa <sup>11</sup> -Maa <sup>12</sup> -Xaa <sup>13</sup> -Xaa <sup>14</sup> -Maa <sup>15</sup>	174
Guanilina	C4:C12, C7:C15	Ser <sup>1</sup> -His <sup>2</sup> -Thr <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Ile <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ala <sup>8</sup> -Phe <sup>9</sup> -Ala <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Ala <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup>	175
N97	C4:C12, C7:C15	Ser <sup>1</sup> -His <sup>2</sup> -Thr <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Ile <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ala <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Ala <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Ala <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup>	176
N98	C4:C12, C7:C15	Ser <sup>1</sup> -His <sup>2</sup> -Thr <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ala <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Ala <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Ala <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup>	177
N99	C4:C12, C7:C15	Ser <sup>1</sup> -His <sup>2</sup> -Thr <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Val <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ala <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Ala <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Ala <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup>	178
N100	C4:C12, C7:C15	Ser <sup>1</sup> -His <sup>2</sup> -Thr <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Ty <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ala <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Ala <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Ala <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup>	179
N101	C4:C12, C7:C15	Ser <sup>1</sup> -His <sup>2</sup> -Thr <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Ile <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ala <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Ala <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Ala <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup>	180
N102	C4:C12, C7:C15	Ser <sup>1</sup> -His <sup>2</sup> -Thr <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ala <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Ala <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Ala <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup>	181
N103	C4:C12, C7:C15	Ser <sup>1</sup> -His <sup>2</sup> -Thr <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Val <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ala <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Ala <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Ala <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup>	182
N104	C4:C12, C7:C15	Ser <sup>1</sup> -His <sup>2</sup> -Thr <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Ty <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ala <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Ala <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Ala <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup>	183
N105	C4:C12, C7:C15	Ser <sup>1</sup> -His <sup>2</sup> -Thr <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Ile <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ala <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Ala <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Ala <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup>	184
N106	C4:C12, C7:C15	Ser <sup>1</sup> -His <sup>2</sup> -Thr <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ala <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Ala <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Ala <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup>	185
N107	C4:C12, C7:C15	Ser <sup>1</sup> -His <sup>2</sup> -Thr <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ala <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Ala <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Ala <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup>	186
N108	C4:C12, C7:C15	Ser <sup>1</sup> -His <sup>2</sup> -Thr <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Val <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ala <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Ala <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Ala <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup>	187
N109	C4:C12, C7:C15	Ser <sup>1</sup> -His <sup>2</sup> -Thr <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Ile <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ala <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Ala <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Ala <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup>	188
N110	C4:C12, C7:C15	Ser <sup>1</sup> -His <sup>2</sup> -Thr <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ala <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Ala <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Ala <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup>	189
N111	C4:C12, C7:C15	Ser <sup>1</sup> -His <sup>2</sup> -Thr <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Val <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ala <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Ala <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Ala <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup>	190
N112	C4:C12, C7:C15	Ser <sup>1</sup> -His <sup>2</sup> -Thr <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Ty <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ala <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Ala <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Ala <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup>	191
N113	C4:C12, C7:C15	Asn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Ile <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ala <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Ala <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Ala <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup>	192
N114	C4:C12, C7:C15	Asn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ala <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Ala <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Ala <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup>	193
N115	C4:C12, C7:C15	Asn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Val <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ala <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Ala <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Ala <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup>	194
N116	C4:C12, C7:C15	Asn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Ty <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ala <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Ala <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Ala <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup>	195
N117	C4:C12, C7:C15	Asn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Ile <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ala <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Ala <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Ala <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup>	196
N118	C4:C12, C7:C15	Asn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ala <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Ala <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Ala <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup>	197
N119	C4:C12, C7:C15	Asn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Val <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ala <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Ala <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Ala <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup>	198
N120	C4:C12, C7:C15	Asn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Ty <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ala <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Ala <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Ala <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup>	199
N121	C4:C12, C7:C15	Asn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Ile <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ala <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Ala <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Ala <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup>	200
N122	C4:C12, C7:C15	Asn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ala <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Ala <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Ala <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup>	201
N123	C4:C12, C7:C15	Asn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Val <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ala <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Ala <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Ala <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup>	202
N124	C4:C12, C7:C15	Asn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Ty <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ala <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Ala <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Ala <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup>	203
N125	C4:C12, C7:C15	Asn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Ile <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ala <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Ala <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Ala <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup>	204
N126	C4:C12, C7:C15	Asn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ala <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Ala <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Ala <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup>	205
N127	C4:C12, C7:C15	Asn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Val <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ala <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Ala <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Ala <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup>	206
N128	C4:C12, C7:C15	Asn <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Ty <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ala <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Ala <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Ala <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup>	207



Tabla VI. Linfoguaniлина y análogos

Nombre	Posición de enlaces disulfuro	Estructura	SEC ID N°
Fórmula XX	4:12, 7:15	Xaa <sup>1</sup> -Xaa <sup>2</sup> -Xaa <sup>3</sup> -Maa <sup>4</sup> -Xaa <sup>5</sup> -Xaa <sup>6</sup> -Maa <sup>7</sup> -Xaa <sup>8</sup> -Xaa <sup>9</sup> -Xaa <sup>10</sup> -Xaa <sup>11</sup> -Maa <sup>12</sup> -Xaa <sup>13</sup> -Xaa <sup>14</sup> -Xaa <sup>15</sup>	208
Linfoguaniлина	C4:C12	Gln <sup>1</sup> -Glu <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Leu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ile <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Met <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Tyr <sup>15</sup>	209
N129	C4:C12	Gln <sup>1</sup> -Glu <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Thr <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ile <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Met <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Tyr <sup>15</sup>	210
N130	C4:C12	Gln <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Thr <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ile <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Met <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Tyr <sup>15</sup>	211
N131	C4:C12	Gln <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Asp <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Thr <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ile <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Met <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Tyr <sup>15</sup>	212
N132	C4:C12	Gln <sup>1</sup> -Glu <sup>2</sup> -Asp <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Thr <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ile <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Met <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Tyr <sup>15</sup>	213
N133	C4:C12	Gln <sup>1</sup> -Glu <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Glu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ile <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Met <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Tyr <sup>15</sup>	214
N134	C4:C12	Gln <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Glu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ile <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Met <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Tyr <sup>15</sup>	215
N135	C4:C12	Gln <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Asp <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Glu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ile <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Met <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Tyr <sup>15</sup>	216
N136	C4:C12	Gln <sup>1</sup> -Glu <sup>2</sup> -Asp <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Glu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ile <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Met <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Tyr <sup>15</sup>	217
N137	C4:C12	Gln <sup>1</sup> -Glu <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Tyr <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ile <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Met <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Tyr <sup>15</sup>	218
N138	C4:C12	Gln <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Tyr <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ile <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Met <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Tyr <sup>15</sup>	219
N139	C4:C12	Gln <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Asp <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Tyr <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ile <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Met <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Tyr <sup>15</sup>	220
N140	C4:C12	Gln <sup>1</sup> -Glu <sup>2</sup> -Asp <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Tyr <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ile <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Met <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Tyr <sup>15</sup>	221
N141	C4:C12	Gln <sup>1</sup> -Glu <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Ile <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ile <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Met <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Tyr <sup>15</sup>	222
N142	C4:C12	Gln <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Ile <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ile <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Met <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Tyr <sup>15</sup>	223
N143	C4:C12	Gln <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Asp <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Ile <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ile <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Met <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Tyr <sup>15</sup>	224
N144	C4:C12	Gln <sup>1</sup> -Glu <sup>2</sup> -Asp <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Ile <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ile <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Met <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Tyr <sup>15</sup>	225
N145	C4:C12, C7:C15	Gln <sup>1</sup> -Glu <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Thr <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ile <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Met <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Ser <sup>16</sup>	226
N146	C4:C12, C7:C15	Gln <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Thr <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ile <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Met <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Ser <sup>16</sup>	227
N147	C4:C12, C7:C15	Gln <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Asp <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Thr <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ile <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Met <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Ser <sup>16</sup>	228
N148	C4:C12, C7:C15	Gln <sup>1</sup> -Glu <sup>2</sup> -Asp <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Thr <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ile <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Met <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Ser <sup>16</sup>	229
N149	C4:C12, C7:C15	Gln <sup>1</sup> -Glu <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Glu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ile <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Met <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Ser <sup>16</sup>	230
N150	C4:C12, C7:C15	Gln <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Glu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ile <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Met <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Ser <sup>16</sup>	231
N151	C4:C12, C7:C15	Gln <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Asp <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Glu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ile <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Met <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Ser <sup>16</sup>	232
N152	C4:C12, C7:C15	Gln <sup>1</sup> -Glu <sup>2</sup> -Asp <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Glu <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ile <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Met <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Ser <sup>16</sup>	233
N153	C4:C12, C7:C15	Gln <sup>1</sup> -Glu <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Tyr <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ile <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Met <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Ser <sup>16</sup>	234
N154	C4:C12, C7:C15	Gln <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Tyr <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ile <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Met <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Ser <sup>16</sup>	235
N155	C4:C12, C7:C15	Gln <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Asp <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Tyr <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ile <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Met <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Ser <sup>16</sup>	236
N156	C4:C12, C7:C15	Gln <sup>1</sup> -Glu <sup>2</sup> -Asp <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Tyr <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ile <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Met <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Ser <sup>16</sup>	237
N157	C4:C12, C7:C15	Gln <sup>1</sup> -Glu <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Ile <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ile <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Met <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Ser <sup>16</sup>	238
N158	C4:C12, C7:C15	Gln <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Glu <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Ile <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ile <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Met <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Ser <sup>16</sup>	239
N159	C4:C12, C7:C15	Gln <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Asp <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Ile <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ile <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Met <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Ser <sup>16</sup>	240
N160	C4:C12, C7:C15	Gln <sup>1</sup> -Glu <sup>2</sup> -Asp <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Ile <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Ile <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Met <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Ser <sup>16</sup>	241

**Tabla VII. Péptido ST y análogos**

Nombre	Posición de enlaces disulfuro	Estructura	SEC ID Nº.
Péptido ST	C3:C8, C4:C12, C7:15	Asn <sup>1</sup> -Ser <sup>2</sup> -Ser <sup>3</sup> -Asn <sup>4</sup> -Ser <sup>5</sup> -Ser <sup>6</sup> -Asn <sup>7</sup> -Tyr <sup>8</sup> -Cys <sup>9</sup> -Cys <sup>10</sup> -Glu <sup>11</sup> -Lys <sup>12</sup> -Cys <sup>13</sup> -Cys <sup>14</sup> -Asn <sup>15</sup> -Pro <sup>16</sup> -Ala <sup>17</sup> -Cys <sup>18</sup> -Thr <sup>19</sup> -Gly <sup>20</sup> -Cys <sup>21</sup> -Tyr <sup>22</sup>	242
N161	C3:C8, C4:C12, C7:15	PEG3-Asn <sup>1</sup> -Phe <sup>2</sup> -Cys <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Thr <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Cys <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Pro <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Tyr <sup>16</sup> -PEG3	243
N162	C3:C8, C4:C12, C7:15	PEG3-Asn <sup>1</sup> -Phe <sup>2</sup> -Cys <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Thr <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Cys <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Pro <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Tyr <sup>16</sup>	244
N163	C3:C8, C4:C12, C7:15	Asn <sup>1</sup> -Phe <sup>2</sup> -Cys <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Thr <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Cys <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Pro <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Tyr <sup>16</sup> -PEG3	245
N164	C3:C8, C4:C12, C7:15	Asn <sup>1</sup> -Phe <sup>2</sup> -Cys <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Tyr <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Cys <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Pro <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Tyr <sup>16</sup>	246
N165	C3:C8, C4:C12, C7:15	dAsn <sup>1</sup> -Phe <sup>2</sup> -Cys <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Tyr <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Cys <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Pro <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -dTyr <sup>16</sup>	247
N166	C3:C8, C4:C12, C7:15	Asn <sup>1</sup> -Phe <sup>2</sup> -Cys <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Tyr <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Cys <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Pro <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -dTyr <sup>16</sup>	248
N167	C3:C8, C4:C12, C7:15	dAsn <sup>1</sup> -Phe <sup>2</sup> -Cys <sup>3</sup> -Cys <sup>4</sup> -Glu <sup>5</sup> -Tyr <sup>6</sup> -Cys <sup>7</sup> -Cys <sup>8</sup> -Asn <sup>9</sup> -Pro <sup>10</sup> -Ala <sup>11</sup> -Cys <sup>12</sup> -Thr <sup>13</sup> -Gly <sup>14</sup> -Cys <sup>15</sup> -Tyr <sup>16</sup>	249



Los péptidos GCRA descritos en el presente documento se unen con la guanilato ciclasa (GC-C) y estimulan la producción intracelular de guanosín monofosfato cíclico (GMPc). Opcionalmente, los péptidos GCRA inducen a apoptosis. En algunos aspectos, los péptidos GCRA estimulan la producción de GMPc intracelular a niveles mayores que los agonistas de GC-C de origen natural (por ejemplo, uroguanilina, guanilina, linfoguanilina y péptidos ST) y/o SP-304.

Por ejemplo, los péptidos GCRA estimulan 5, 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 75 %, 90 % o más GMPc intracelular en comparación con agonistas de GC-C de origen natural y/o SP-304. Los términos inducido y estimulado se usan indistintamente a lo largo de la memoria descriptiva. Los péptidos GCRA descritos en el presente documento son más estables que los agonistas de GC-C de origen natural y/o SP-304. Por más estable se entiende que el péptido se degrada menos y/o más lentamente en fluido gastrointestinal simulado y/o fluido intestinal simulado en comparación con agonistas de GC-C de origen natural y/o SP-304. Por ejemplo, el péptido GCRA de la invención degrada 2 %, 3 %, 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 75 %, 90 % o menos en comparación con agonistas de GC-C de origen natural y/o SP-304.

Los péptidos GCRA descritos en el presente documento tienen valor terapéutico en el tratamiento de una amplia diversidad de trastornos y afecciones incluyendo por ejemplo trastornos del metabolismo de lípidos, trastornos biliares, trastornos gastrointestinales, trastornos inflamatorios, trastornos pulmonares, cáncer, trastornos cardiacos, incluyendo trastornos cardiovasculares, trastornos oculares, trastornos orales, trastornos sanguíneos, trastornos hepáticos, trastornos cutáneos, trastornos de próstata, trastornos endocrinos, aumentando la movilidad gastrointestinal y obesidad. El trastorno de metabolismo de lípidos incluyendo, pero sin limitación, dislipidemia, hiperlipidemia, hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia, sitosterolemia, hipercolesterolemia familiar, xantoma, hiperlipidemia combinada, deficiencia en lecitina colesterol aciltransferasa, enfermedad de tangier, abetalipoproteinemia, disfunción eréctil, enfermedad de hígado graso y hepatitis. Los trastornos biliares incluyen trastornos de la vesícula biliar tales como, por ejemplo, piedras en la vesícula, colangitis de cáncer de vesícula biliar o colangitis esclerosante primaria; o trastornos del conducto biliar, tales como por ejemplo, colecistitis, cáncer de conducto biliar o fascioliasis. Los trastornos gastrointestinales incluyen por ejemplo, síndrome del intestino irritable (SII), dispepsia no ulcerosa, pseudo-obstrucción intestinal crónica, dispepsia funcional, pseudo-obstrucción colónica, reflujo duodenogástrico, enfermedad de reflujo gastroesofágico (GERD), inflamación del íleo (por ejemplo, íleo postoperatorio), gastroparesis, ardor de estómago (alta acidez en el tracto GI), estreñimiento (por ejemplo, estreñimiento asociado con el uso de medicamentos tales como opioides, fármacos de osteoartritis, fármacos de osteoporosis; estreñimiento postquirúrgico, estreñimiento asociado con trastornos neuropáticos. Los trastornos inflamatorios incluyen inflamación de tejidos y órganos tales como inflamación del riñón (por ejemplo, nefritis), inflamación del sistema gastrointestinal (por ejemplo, enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa); enterocolitis necrotizante (NEC); inflamación pancreática (por ejemplo, pancreatitis), inflamación pulmonar (por ejemplo, bronquitis o asma) o inflamación cutánea (por ejemplo, psoriasis, eccema). Los trastornos pulmonares incluyen por ejemplo enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) y fibrosis. El cáncer incluye carcinogénesis tisular y orgánica incluyendo metástasis tales como por ejemplo cáncer gastrointestinal (por ejemplo, cáncer gástrico, cáncer esofágico, cáncer pancreático, cáncer colorrectal, cáncer intestinal, cáncer anal, cáncer hepático, cáncer de vesícula biliar o cáncer de colon; cáncer de pulmón; cáncer de tiroides; cáncer de piel (por ejemplo, melanoma); cáncer oral; cáncer del tracto urinario (por ejemplo cáncer de la vejiga o cáncer de riñón); cáncer de sangre (por ejemplo mieloma o leucemia) o cáncer de próstata. Los trastornos cardiacos incluyen por ejemplo, insuficiencia cardiaca congestiva, hipertensión cardiaca traqueal, alto colesterol o altos triglicéridos. Los trastornos cardiovasculares incluyen por ejemplo aneurisma, angina, aterosclerosis, accidente cerebrovascular (ictus), enfermedad cerebrovascular, insuficiencia cardiaca congestiva, enfermedad de las arterias coronarias, infarto de miocardio (ataque cardiaco), o enfermedad vascular periférica. Los trastornos hepáticos incluyen por ejemplo cirrosis y fibrosis. Además, el agonista de GC-C también puede ser útil para facilitar la regeneración hepática en pacientes con trasplante de hígado. Los trastornos oculares incluyen por ejemplo presión intraocular aumentada, glaucoma, degeneración retiniana por ojos secos, trastornos de las glándulas lacrimales o inflamación del ojo. Los trastornos cutáneos incluyen por ejemplo xerosis. Los trastornos orales incluyen por ejemplo boca seca (xerostomía), síndrome de Sjögren, enfermedades de las encías (por ejemplo, enfermedad periodontal) o bloqueo o disfunción del conducto de las glándulas salivares. Los trastornos de próstata incluyen por ejemplo hiperplasia prostática benigna (BPH). Los trastornos endocrinos incluyen por ejemplo diabetes mellitus, hipertiroidismo, hipotiroidismo y fibrosis quística.

Como se usa en el presente documento, la expresión "receptor de guanilato ciclasa (GCR)" se refiere a la clase de receptor de guanilato ciclasa C en cualquier tipo celular con el que se unan los péptidos agonistas de la invención o agonistas naturales descritos en el presente documento. Como se usa en el presente documento, el "receptor de guanilato ciclasa intestinal" se encuentra exclusivamente en las células epiteliales que revisten la mucosa de GI. Se espera que la uroguanilina, guanilina y péptidos ST se unan con estos receptores y puedan inducir la apoptosis. La posibilidad de que pueda haber diferentes receptores para cada péptido agonista no se excluye. Por lo tanto, la expresión se refiere a la clase de receptores de guanilato ciclasa en células epiteliales.

Como se usa en el presente documento, se entiende que la expresión "agonista de GCR" se refiere a péptidos y/u otros compuestos que se unen con un receptor de guanilato ciclasa intestinal y estimulan el transporte de fluidos y electrolitos. Esta expresión también abarca fragmentos y pro-péptidos que se unen con GCR y estimulan la secreción de fluidos y agua.

Como se usa en el presente documento, se entiende que la expresión “sustancialmente equivalente” se refiere a un péptido que tiene una secuencia de aminoácidos equivalente a la del dominio de unión en el que ciertos restos pueden suprimirse o reemplazarse con otros aminoácidos sin alterar la capacidad del péptido para unirse con un receptor de guanilato ciclasa intestinal y estimular el transporte de fluidos y electrolitos.

La adición de vehículos (por ejemplo, solución salina tamponada con fosfato o PBS) y otros componentes de la composición de la presente invención está dentro del nivel de experiencia de la técnica. Además del compuesto, dichas composiciones pueden contener vehículos farmacéuticamente aceptables y otros ingredientes que se sabe que facilitan la administración y/o potencian la captación. Otras formulaciones, tales como microesferas, nanopartículas, liposomas y sistemas basados en inmunología, también pueden usarse de acuerdo con la presente invención. Otros ejemplos incluyen formulaciones con polímeros (por ejemplo, polietilenglicol 20 % p/v) o celulosa, o formulaciones entéricas.

La presente invención se basa en varios conceptos. El primero es que hay un mecanismo dependiente de GMPc que regula el equilibrio entre la proliferación celular y la apoptosis y que una reducción en los niveles de GMPc, debido a una deficiencia de uroguanilina/guanilina y/o debido 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 fosfolípidos de membrana, que conduce a la activación de la fosfolipasa citoplasmática A2 (cPLA2), ciclooxigenasa-2 (COX-2) y posiblemente 5-lipoxigenasa (5-LO) durante el proceso de inflamación, está regulada negativamente por un mecanismo dependiente de GMPc, que conduce a niveles reducidos de prostaglandinas y leucotrienos, y que el aumento de los niveles intracelulares de GMPc puede producir por lo tanto una respuesta antiinflamatoria. Además, se cree que un mecanismo dependiente de GMPc está implicado en el control de procesos proinflamatorios. Por lo tanto, puede usarse la elevación de los niveles intracelulares de GMPc como un medio para tratar y controlar los trastornos del metabolismo de lípidos, trastornos biliares, trastornos gastrointestinales, trastornos inflamatorios, trastornos pulmonares, cáncer, trastornos cardíacos incluyendo trastornos cardiovasculares, trastornos oculares, trastornos orales, trastornos sanguíneos, trastornos hepáticos, trastornos prostáticos, trastornos endocrinos, aumento de la movilidad gastrointestinal y obesidad. El trastorno de metabolismo de lípidos incluyendo, pero sin limitación, dislipidemia, hiperlipidemia, hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia, sitosterolemia, hipercolesterolemia familiar, xantoma, hiperlipidemia combinada, deficiencia de lecitina colesterol aciltransferasa, enfermedad de tangier, abetalipoproteinemia, disfunción eréctil, enfermedad de hígado graso, y hepatitis. Los trastornos biliares incluyen trastornos de la vesícula biliar tales como, por ejemplo, piedras en la vesícula, colangitis de cáncer de vesícula biliar o colangitis esclerosante primaria; o trastornos del conducto biliar, tales como por ejemplo, colecistitis, cáncer de conducto biliar o fascioliasis. Los trastornos gastrointestinales incluyendo por ejemplo, síndrome del intestino irritable (SII), dispepsia no ulcerosa, pseudo-obstrucción intestinal crónica, dispepsia funcional, pseudo-obstrucción colónica, reflujo duodenogástrico, enfermedad de reflujo gastroesofágico (GERD), inflamación del íleo (por ejemplo, íleo postoperatorio), gastroparesia, ardor de estómago (alta acidez en el tracto GI), estreñimiento (por ejemplo, estreñimiento asociado con el uso de medicamentos tales como opioides, fármacos para osteoartritis, fármacos para osteoporosis; estreñimiento postquirúrgico, estreñimiento asociado con trastornos neuropáticos. Los trastornos inflamatorios incluyen inflamación de tejidos y órganos tales como inflamación de riñón (por ejemplo, nefritis), inflamación del sistema gastrointestinal (por ejemplo, enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa); enterocolitis necrotizante (NEC); inflamación pancreática (por ejemplo, pancreatitis), inflamación pulmonar (por ejemplo, bronquitis o asma) o inflamación cutánea (por ejemplo, psoriasis, eccema). Los trastornos pulmonares incluyen por ejemplo enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) y fibrosis. El cáncer incluye carcinogénesis tisular y orgánica incluyendo metástasis tales como por ejemplo cáncer gastrointestinal (por ejemplo, cáncer gástrico, cáncer esofágico, cáncer pancreático, cáncer colorrectal, cáncer intestinal, cáncer anal, cáncer hepático, cáncer de la vesícula biliar o cáncer de colon; cáncer de pulmón; cáncer tiroideo; cáncer de piel (por ejemplo, melanoma); cáncer oral; cáncer del tracto urinario (por ejemplo cáncer de vejiga o cáncer de riñón); cáncer de la sangre (por ejemplo mieloma o leucemia) o cáncer de próstata. Los trastornos cardíacos incluyen por ejemplo, insuficiencia cardíaca congestiva, hipertensión cardíaca traqueal, colesterol alto o triglicéridos altos. Los trastornos cardiovasculares incluyen por ejemplo aneurisma, angina, aterosclerosis, accidente cerebrovascular (ictus), enfermedad cerebrovascular, insuficiencia cardíaca congestiva, enfermedad de las arterias coronarias, infarto de miocardio (ataque cardíaco), o enfermedad vascular periférica. Los trastornos hepáticos incluyen por ejemplo cirrosis y fibrosis. Además, el agonista de GC-C también puede ser útil para facilitar la regeneración del hígado en pacientes con trasplante de hígado. Los trastornos oculares incluyen por ejemplo presión intraocular aumentada, glaucoma, degeneración retiniana por ojos secos, trastornos de las glándulas lacrimales o inflamación del ojo. Los trastornos cutáneos incluyen por ejemplo xerosis. Los trastornos orales incluyen por ejemplo boca seca (xerostomía), síndrome de Sjögren, enfermedades de las encías (por ejemplo, enfermedad periodontal), o bloqueo o disfunción del conducto de las glándulas salivares. Los trastornos de próstata incluyen por ejemplo hiperplasia prostática benigna (BPH). Los trastornos endocrinos incluyen por ejemplo diabetes mellitus, hipertiroidismo, hipotiroidismo y fibrosis quística.

Sin desear quedar ligado a ninguna teoría, se prevé que el transporte de iones a través de la membrana plasmática pueda demostrar ser un regulador importante del equilibrio entre la proliferación celular y la apoptosis que se verá afectado por agentes que alteran las concentraciones de GMPc. Se ha mostrado que la uroguanilina estimula el flujo de salida de K<sup>+</sup>, el flujo de entrada de Ca<sup>++</sup> y el transporte de agua en el tracto gastrointestinal (3). Además, también se ha mostrado que el péptido natriurético auricular (ANP), un péptido que también se une con un receptor

de guanilato ciclasa específico, induce la apoptosis en células mesangiales de rata, y que induce la apoptosis en miocitos cardiacos por mecanismo de GMPc (21-24).

5 La unión de los presentes agonistas con un receptor de guanilato ciclasa estimula la producción de GMPc. Esta interacción de ligando-receptor, mediante la activación de una cascada de proteína quinasas dependientes de GMPc y CFTR, induce apoptosis en células diana. Por lo tanto, la administración de los péptidos nuevos definidos por las Fórmulas I-XX y los enumerados en las Tablas I-VII son útiles en la eliminación, o al menos retardo, de la aparición de trastornos del metabolismo de lípidos, trastornos biliares, trastornos gastrointestinales, trastornos inflamatorios, trastornos pulmonares, cáncer, trastornos cardiacos incluyendo trastornos cardiovasculares, trastornos oculares, 10 trastornos orales, trastornos sanguíneos, trastornos hepáticos, trastornos prostáticos, trastornos endocrinos, aumento de la movilidad gastrointestinal y obesidad. El trastorno de metabolismo de lípidos incluyendo, pero sin limitación, dislipidemia, hiperlipidemia, hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia, sitosterolemia, hipercolesterolemia familiar, xantoma, hiperlipidemia combinada, deficiencia de lecitina colesterol aciltransferasa, enfermedad de tangier, abetalipoproteinemia, disfunción eréctil, enfermedad de hígado graso, y hepatitis. Los trastornos biliares incluyen 15 trastornos de la vesícula biliar tales como, por ejemplo, piedras en la vesícula, colangitis de cáncer de vesícula biliar o colangitis esclerosante primaria; o trastornos del conducto biliar, tales como por ejemplo, colecistitis, cáncer de conducto biliar o fascioliasis. Los trastornos gastrointestinales incluyen por ejemplo, síndrome del intestino irritable (SII), dispepsia no ulcerosa, pseudo-obstrucción intestinal crónica, dispepsia funcional, pseudo-obstrucción colónica, reflujo duodenogástrico, enfermedad de reflujo gastroesofágico (GERD), inflamación del íleo (por ejemplo, íleo postoperatorio), gastroparesia, ardor de estómago (alta acidez en el tracto GI), estreñimiento (por ejemplo, estreñimiento asociado con el uso de medicamentos tales como opioides, fármacos para osteoartritis, fármacos para osteoporosis; estreñimiento postquirúrgico, estreñimiento asociado con trastornos neuropáticos. Los trastornos inflamatorios incluyen inflamación de tejidos y órganos tales como inflamación de riñón (por ejemplo, nefritis), inflamación del sistema gastrointestinal (por ejemplo, enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa); enterocolitis 20 necrotizante (NEC); inflamación pancreática (por ejemplo, pancreatitis), inflamación pulmonar (por ejemplo, bronquitis o asma) o inflamación cutánea (por ejemplo, psoriasis, eccema). Los trastornos pulmonares incluyen por ejemplo enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) y fibrosis. El cáncer incluye carcinogénesis tisular y orgánica incluyendo metástasis tales como por ejemplo cáncer gastrointestinal (por ejemplo, cáncer gástrico, cáncer esofágico, cáncer pancreático, cáncer colorrectal, cáncer intestinal, cáncer anal, cáncer hepático, cáncer de la vesícula biliar o cáncer de colon; cáncer de pulmón; cáncer tiroideo; cáncer de piel (por ejemplo, melanoma); cáncer oral; cáncer del tracto urinario (por ejemplo cáncer de vejiga o cáncer de riñón); cáncer de la sangre (por ejemplo mieloma o leucemia) o cáncer de próstata. Los trastornos cardiacos incluyen por ejemplo, insuficiencia cardiaca congestiva, hipertensión cardiaca traqueal, colesterol alto o triglicéridos altos. Los trastornos cardiovasculares incluyen por ejemplo aneurisma, angina, aterosclerosis, accidente cerebrovascular (ictus), enfermedad 35 cerebrovascular, insuficiencia cardiaca congestiva, enfermedad de las arterias coronarias, infarto de miocardio (ataque cardiaco), o enfermedad vascular periférica. Los trastornos hepáticos incluyen por ejemplo cirrosis y fibrosis. Además, el agonista de GC-C también puede ser útil para facilitar la regeneración del hígado en pacientes con trasplante de hígado. Los trastornos oculares incluyen por ejemplo presión intraocular aumentada, glaucoma, degeneración retiniana de ojos secos, trastornos de las glándulas lacrimales o inflamación del ojo. Los trastornos cutáneos incluyen por ejemplo xerosis. Los trastornos orales incluyen por ejemplo boca seca (xerostomía), síndrome de Sjögren, enfermedades de las encías (por ejemplo, enfermedad periodontal), o bloqueo o disfunción del conducto de las glándulas salivares. Los trastornos de próstata incluyen por ejemplo hiperplasia prostática benigna (BPH). Los trastornos endocrinos incluyen por ejemplo diabetes mellitus, hipertiroidismo, hipotiroidismo y fibrosis quística.

45 La uroguanilina es una hormona peptídica en circulación con actividad natriurética y se ha descubierto que estimula el transporte de fluidos y electrolitos de una manera similar a otra familia de enterotoxinas termoestables (péptidos ST) secretadas por cepas patógenas de *E. coli* y otras bacterias entéricas que activan el receptor de guanilato ciclasa y provocan diarrea secretora. A diferencia de los péptidos ST bacterianos, la unión de uroguanilina con el receptor de guanilato ciclasa depende del pH fisiológico del intestino. Por lo tanto, se espera que la uroguanilina 50 regule el transporte de fluidos y electrolitos de una manera dependiente de pH y sin provocar diarrea grave.

## PÉPTIDOS GCRA

55 Se desvela un péptido GCRA. Los péptidos GCRA son análogos, uroguanilina, guanilina, linfoguanilina y péptidos ST. No se implica ninguna longitud particular por el término "péptido". En algunas realizaciones, el péptido GCRA es de menos de 25 aminoácidos de longitud, por ejemplo, menos de o igual a 20, 15, 14, 13, 12, 11, 10 o 5 aminoácidos de longitud.

60 Los péptidos GCRA pueden ser polímeros de L-aminoácidos, D-aminoácidos o una combinación de ambos. Por ejemplo, en diversas realizaciones, los péptidos son péptidos D retroinversos. La expresión "isómero retroinverso" se refiere a un isómero de un péptido lineal en el que la dirección de la secuencia se invierte y la quiralidad de cada resto de aminoácido se invierte. Véase, por ejemplo, Jameson *et al.*, Nature, 368, 744-746 (1994); Brady *et al.*, Nature, 368, 692-693 (1994). El resultado neto de la combinación de D-enantiómeros y síntesis inversa es que las posiciones de grupos carbonilo y amino en cada enlace amida se intercambian, mientras que la posición de los grupos de cadena lateral en cada carbono alfa se conserva. A no ser que se indique específicamente de otro modo, se supone que cualquier secuencia de L aminoácido dada puede convertirse en un péptido D retroinverso 65

sintetizando un inverso de la secuencia para la secuencia de L-aminoácidos nativa correspondiente. Por ejemplo, un péptido GCRA incluye la secuencia definida por las Fórmulas I-XX y las enumeradas en las Tablas I-VII.

5 Por inducción de la producción de GMPc se entiende que el péptido GCRA induce la producción de GMPc intracelular. GMPc intracelular se mide por métodos conocidos en la técnica. Por ejemplo, el péptido CGRA de la invención estimula 5 %, 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 75 %, 90 % o más GMPc intracelular en comparación con agonistas de GC-C de origen natural. Naturalmente, de forma opcional, los péptidos GCRA estimulan 5 %, 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 75 %, 90 % o más GMPc intracelular en comparación con SP-304. En realizaciones adicionales, el péptido GCRA estimula la apoptosis, por ejemplo, muerte celular programada o activa el regulador de conductancia transmembrana de fibrosis quística (CFTR). Los péptidos GCRA descritos en el presente documento son más estables que los agonistas de GC-C de origen natural y/o SP-304. Por más estables se entiende que el péptido se degrada menos y/o más lentamente en fluido gástrico simulado y/o fluido intestinal simulado en comparación con agonistas de GC-C de origen natural y/o SP-304. Por ejemplo, el péptido GCRA degrada 2 %, 3 %, 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 75 %, 90 % o menos en comparación con agonistas de GC-C de origen natural y/o SP-304.

Como se usa en el presente documento se entiende que PEG3, 3 PEG, indica polietilenglicol tal como incluyendo ácido aminoetiloxi-etiloxi-acético (AeeA).

20 Como se usa en el presente documento, se entiende que el término "AMIDA" indica que el ácido carboxílico terminal se reemplaza con un grupo amida, es decir, el COOH terminal se reemplaza con CONH<sub>2</sub>.

Como se usa en el presente documento (por ejemplo, en las Fórmulas I-XX) X<sub>aa</sub> es cualquier aminoácido natural, no natural o análogo de aminoácido; M<sub>aa</sub> es una Cisteína (Cys), Penicilamina (Pen) homocisteína, o 3-mercaptoprolina. Se entiende que X<sub>aa<sub>n1</sub></sub> indica una secuencia de aminoácidos de cualquier aminoácido natural, no natural o análogo de aminoácido que sea de uno, dos o tres restos de longitud; se entiende que X<sub>aa<sub>na</sub></sub> indica una secuencia de aminoácidos de cualquier aminoácido natural, no natural o análogo de aminoácido que sea de cero o un resto de longitud; y se entiende que X<sub>aa<sub>n3</sub></sub> indica una secuencia de aminoácidos de cualquier aminoácido natural, no natural o análogo de aminoácido que sea de cero, uno, dos, tres, cuatro, cinco o seis restos de longitud. Adicionalmente, cualquier aminoácido representado por X<sub>aa</sub>, puede ser un L-aminoácido, un D-aminoácido, un aminoácido metilado, un aminoácido fluorado o cualquier combinación de los mismos. Preferentemente el aminoácido en el extremo N terminal, C terminal o ambos son D-aminoácidos. Opcionalmente, cualquier péptido GCRA representado por las Fórmulas I-XX puede contener uno o más restos de polietilenglicol en el extremo N terminal, C terminal o ambos. Un polietilenglicol ejemplar incluye ácido aminoetiloxi-etiloxi-acético y polímeros del mismo.

35 Los ejemplos específicos de péptidos agonistas de GCC incluyen un péptido seleccionado del grupo designado por SEC ID N<sup>o</sup>: 1-249.

40 Los péptidos agonistas de GCC incluyen péptidos que tienen la secuencia de aminoácidos de Fórmula I, en la que al menos un aminoácido de Fórmula I es un D-aminoácido o un aminoácido metilado y/o el aminoácido en la posición 16 es una serina. Preferentemente, el aminoácido en la posición 16 de Fórmula I es un D-aminoácido o un aminoácido metilado. Por ejemplo, el aminoácido en la posición 16 de Fórmula I es una d-leucina o una d-serina. Opcionalmente, uno o más de los aminoácidos en posiciones 1-3 de Fórmula I son D-aminoácidos o aminoácidos metilados o una combinación de D-aminoácidos o aminoácidos metilados. Por ejemplo, Asn<sup>1</sup>, Asp<sup>2</sup> o Glu<sup>3</sup> (o una combinación de los mismos) de Fórmula I es un D-aminoácido o un aminoácido metilado. Preferentemente, el aminoácido en la posición X<sub>aa<sup>6</sup></sub> de Fórmula I es una leucina, serina o tirosina.

50 Como alternativa, los péptidos agonistas de GCC incluyen péptidos que tienen la secuencia de aminoácidos de Fórmula II, en la que al menos un aminoácido de Fórmula II es un D-aminoácido o un aminoácido metilado. Preferentemente, el aminoácido indicado por X<sub>aa<sub>n2</sub></sub> de Fórmula II es un D-aminoácido o un aminoácido metilado. En algunas realizaciones, el aminoácido indicado por X<sub>aa<sub>n2</sub></sub> de Fórmula II es una leucina, una d-leucina, una serina o una d-serina. Preferentemente, el o los aminoácidos indicados por X<sub>aa<sub>n1</sub></sub> de Fórmula II son un D-aminoácido o un aminoácido metilado. Preferentemente, el aminoácido en la posición X<sub>aa<sup>6</sup></sub> de Fórmula II es una leucina, una serina o una tirosina.

55 Los péptidos agonistas de GCC incluyen péptidos que tienen la secuencia de aminoácidos de Fórmula III, en la que al menos un aminoácido de Fórmula III es un D-aminoácido o un aminoácido metilado y/o M<sub>aa</sub> no es una cisteína. Preferentemente, el aminoácido indicado por X<sub>aa<sub>n2</sub></sub> de Fórmula III es un D-aminoácido o un aminoácido metilado. En algunas realizaciones, el aminoácido indicado por X<sub>aa<sub>n2</sub></sub> de Fórmula III es una leucina, una d-leucina, una serina o una d-serina. Preferentemente, el o los aminoácidos indicados por X<sub>aa<sub>n1</sub></sub> de Fórmula III son un D-aminoácido o un aminoácido metilado. Preferentemente, el aminoácido en la posición X<sub>aa<sup>6</sup></sub> de Fórmula III es una leucina, una serina o una tirosina.

65 Los péptidos agonistas de GCC incluyen péptidos que tienen la secuencia de aminoácidos de Fórmula IV, en la que al menos un aminoácido de Fórmula IV es un D-aminoácido o un aminoácido metilado y/o M<sub>aa</sub> no es una cisteína. Preferentemente, el X<sub>aa<sub>n2</sub></sub> de Fórmula IV es un D-aminoácido o un aminoácido metilado. En algunas realizaciones,

el aminoácido indicado por Xaa<sub>n2</sub> de Fórmula IV es una leucina, una d-leucina, una serina o una d-serina. Preferentemente, el o los aminoácidos indicados por Xaa<sub>n1</sub> de Fórmula IV son un D-aminoácido o un aminoácido metilado. Preferentemente, el aminoácido indicado Xaa<sup>6</sup> de Fórmula IV es una leucina, una serina o una tirosina.

5 Los péptidos agonistas de GCC incluyen péptidos que tienen la secuencia de aminoácidos de Fórmula V, en la que al menos un aminoácido de Fórmula V es un D-aminoácido o un aminoácido metilado. Preferentemente, el aminoácido en la posición 16 de Fórmula V es un D-aminoácido o un aminoácido metilado. Por ejemplo, el aminoácido en la posición 16 (es decir, Xaa<sup>16</sup>) de Fórmula V es una d-leucina o una d-serina. Opcionalmente, uno o más de los aminoácidos en la posición 1-3 de Fórmula V son D-aminoácidos o aminoácidos metilados o una combinación de D-aminoácidos o aminoácidos metilados. Por ejemplo, Asn<sup>1</sup>, Asp<sup>2</sup> o Glu<sup>3</sup> (o una combinación de los mismos) de Fórmula V es un D-aminoácido o un aminoácido metilado. Preferentemente, el aminoácido indicado en Xaa<sup>6</sup> de Fórmula V es una leucina, una serina o una tirosina.

15 Los péptidos agonistas de GCC incluyen péptidos que tienen la secuencia de aminoácidos de Fórmula VI, VII, VIII o IX. Preferentemente, el aminoácido en la posición 6 de Fórmula VI, VII, VIII o IX es una leucina, una serina o una tirosina. En algunos aspectos el aminoácido en la posición 16 de Fórmula VI, VII, VIII o IX es una leucina o una serina. Preferentemente, el aminoácido en la posición 16 de Fórmula V es un D-aminoácido o un aminoácido metilado.

20 Los péptidos agonistas de GCC incluyen péptidos que tienen la secuencia de aminoácidos de Fórmula X, XI, XII, XIII, XIV, XV, XVI o XVII. Opcionalmente, uno o más aminoácidos de Fórmulas X, XI, XII, XIII, XIV, XV, XVI o XVII es un D-aminoácido o un aminoácido metilado. Preferentemente, el aminoácido en el carboxilo terminal de los péptidos de acuerdo con Fórmulas X, XI, XII, XIII, XIV, XV, XVI o XVII es un D-aminoácido o un aminoácido metilado. Por ejemplo, el aminoácido en el extremo carboxilo terminal de los péptidos de acuerdo con Fórmulas X, XI, XII, XIII, XIV, XV, XVI o XVII es una D-tirosina.

25 Preferentemente, el aminoácido indicado por Xaa<sup>6</sup> de Fórmula XIV es una tirosina, fenilalanina o una serina. Más preferentemente, el aminoácido indicado por Xaa<sup>6</sup> de Fórmula XIV es una fenilalanina o una serina. Preferentemente, el aminoácido por Xaa<sup>4</sup> de Fórmula XV, XVI o XVII es una tirosina, una fenilalanina o una serina. Más preferentemente, el aminoácido en la posición Xaa<sup>4</sup> de Fórmula V, XVI o XVII es una fenilalanina o una serina.

30 Los péptidos GCRA incluyen péptidos que contienen la secuencia de aminoácidos de Fórmula XVIII. Preferentemente, el aminoácido en la posición 1 de Fórmula XVIII es un ácido glutámico, ácido aspártico, glutamina o lisina. Preferentemente, el aminoácido en la posición 2 y 3 de Fórmula XVIII es un ácido glutámico o un ácido aspártico. Preferentemente, el aminoácido en la posición 5 es un ácido glutámico. Preferentemente, el aminoácido en la posición 6 de Fórmula XVIII es una isoleucina, valina, serina, treonina o tirosina. Preferentemente, el aminoácido en la posición 8 de Fórmula XVIII es una valina o isoleucina. Preferentemente, el aminoácido en la posición 9 de Fórmula XVIII es una asparagina. Preferentemente, el aminoácido en la posición 10 de Fórmula XVIII es una valina o una metionina. Preferentemente, el aminoácido en la posición 11 de Fórmula XVIII es una alanina. Preferentemente, el aminoácido en la posición 13 de Fórmula XVIII es una treonina. Preferentemente, el aminoácido en la posición 14 de Fórmula XVIII es una glicina. Preferentemente, el aminoácido en la posición 16 de Fórmula XVIII es una leucina, serina o treonina.

45 Como alternativa, los péptidos GCRA incluyen péptidos que contienen la secuencia de aminoácidos de Fórmula XIX. Preferentemente, el aminoácido en la posición 1 de Fórmula XIX es una serina o asparagina. Preferentemente, el aminoácido en la posición 2 de Fórmula XIX es una histidina o un ácido aspártico. Preferentemente, el aminoácido en la posición 3 de Fórmula XIX es una treonina o un ácido glutámico. Preferentemente, el aminoácido en la posición 5 de Fórmula XIX es un ácido glutámico. Preferentemente, el aminoácido en la posición 6 de Fórmula XIV es una isoleucina, leucina, valina o tirosina. Preferentemente, el aminoácido en la posición 8, 10, 11 o 13 de Fórmula XIX es una alanina. Preferentemente, el aminoácido en la posición 9 de Fórmula XIX es una asparagina o una fenilalanina. Preferentemente, el aminoácido en la posición 14 de Fórmula XIX es una glicina.

50 Los péptidos GCRA incluyen péptidos que contienen la secuencia de aminoácidos de Fórmula XX. Preferentemente, el aminoácido en la posición 1 de Fórmula XX es una glutamina. Preferentemente, el aminoácido en la posición 2 o 3 de Fórmula XX es un ácido glutámico o un ácido aspártico. Preferentemente, el aminoácido en la posición 5 de Fórmula XX es un ácido glutámico. Preferentemente, el aminoácido en la posición 6 de Fórmula XX es treonina, glutamina, tirosina, isoleucina o leucina. Preferentemente, el aminoácido en la posición 8 de Fórmula XX es isoleucina o valina. Preferentemente, el aminoácido en la posición 9 de Fórmula XX es asparagina. Preferentemente, el aminoácido en la posición 10 de Fórmula XX es metionina o valina. Preferentemente, el aminoácido en la posición 11 de Fórmula XX es alanina. Preferentemente, el aminoácido en la posición 13 de Fórmula XX es una treonina. Preferentemente, el aminoácido en la posición 1 de Fórmula XX es una glicina. Preferentemente, el aminoácido en la posición 15 de Fórmula XX es una tirosina. Opcionalmente, el aminoácido en la posición 15 de Fórmula XX es de dos aminoácidos de longitud y es Cisteína (Cys), Penicilamina (Pen) homocisteína, o 3-mercaptoprolina y serina, leucina o treonina.

65

Uno o más aminoácidos de los péptidos GCRA pueden reemplazarse por un aminoácido de origen no natural o un análogo de aminoácido de origen natural o no natural. Hay muchos aminoácidos más allá de los 20 convencionales (Ala, Arg, Asn, Asp, Cys, Gln, Glu, Gly, His, Ile, Leu, Lys, Met, Phe, Pro, Ser, Thr, Trp, Tyr y Val). Algunos son de origen de natural y otros no. (Véase, por ejemplo, Hunt, *The Non-Protein Amino Acids: In Chemistry and Biochemistry of the Amino Acids*, Barrett, Chapman y Hall, 1985). Por ejemplo, un aminoácido aromático puede reemplazarse por 3,4-dihidroxi-L-fenilalanina, 3-yodo-L-tirosina, triyodotironina, L-tirosina, fenilglicina (Phg) o nor-tirosina (norTyr). Phg y norTyr y otros aminoácidos incluyendo Phe y Tyr pueden sustituirse por, por ejemplo, un halógeno -CH<sub>3</sub>, -OH, -CH<sub>2</sub>NH<sub>3</sub>, -C(O)H, -CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, -CN, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, -SH, u otro grupo. Cualquier aminoácido puede sustituirse por la forma D del aminoácido.

Con respecto a aminoácidos de origen no natural o análogos de aminoácidos de origen natural y no natural, varias sustituciones en el polipéptido y agonistas descritos en el presente documento son posibles solas o en combinación.

Por ejemplo, pueden sustituirse restos de glutamina con gamma-hidroxi-Glu o gamma-carboxi-Glu. Los restos de tirosina pueden sustituirse con un aminoácido alfa sustituido tal como L-alfa-metilfenilalanina o por análogos tales como: 3-amino-Tyr; Tyr(CH<sub>3</sub>); Tyr(PO<sub>3</sub>(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); Tyr(SO<sub>3</sub>H) beta-ciclohexil-Ala; beta-(1-ciclopentenil)-Ala; beta-ciclopentil-Ala; beta-ciclopropil-Ala; beta-quinolil-Ala; beta-(2-tiazolil)-Ala; beta-(triazol-1-il)-Ala; beta-(2-piridil)-Ala; beta-(3-Piridil)-Ala; amino-Phe; fluoro-Phe; ciclohexil-Gli; tBu-Gli; beta-(3-benzotienil)-Ala; beta-(2-tienil)-Ala; 5-Metil-Trp; y A-metil-Trp. Los restos de prolina pueden sustituirse con homopro (ácido L-pipecólico); hidroxi-Pro; 3,4-deshidro-Pro; 4-fluoro-Pro; o alfa-metil-Pro o un análogo de aminoácido ciclado N(alfa)-C(alfa) con la estructura: n = 0, 1, 2, 3. Los restos de alanina pueden sustituirse con un aminoácido alfa-sustituido o N-metilado tal como ácido alfa-amino isobutírico (aib), L/D-alfa-etilalanina (L/D-isovalina), L/D-metilvalina, o L/D-alfa-metilleucina o un aminoácido no natural tal como beta-fluoro-Ala. La alanina también puede sustituirse con: n = 0, 1, 2, 3. Los restos de glicina pueden sustituirse con ácido alfa-amino isobutírico (aib) o L/D-alfa-etilalanina (L/D-isovalina).

Los ejemplos adicionales de aminoácidos no naturales incluyen: un análogo no natural de tirosina; un análogo no natural de glutamina; un análogo no natural de fenilalanina; un análogo no natural de serina; un análogo no natural de treonina; un aminoácido alquilo, arilo, acilo, azido, ciano, halo, hidrazina, hidrazida, hidroxilo, alquenilo, alquinilo, éter, tiol, sulfonilo, seleno, éster, tioácido, borato, boronato, fosfo, fosfono, fosfino, heterocíclico, enona, imina, aldehído, hidroxilamina, ceto o amino sustituido o cualquier combinación de los mismos; un aminoácido con un reticulador fotoactivable; un aminoácido con marcaje de espín; un aminoácido fluorescente; un aminoácido con un grupo funcional nuevo; un aminoácido que interacciona de forma covalente o no covalente con otra molécula; un aminoácido de unión a metal; un aminoácido que está amidado en un sitio que no está amidado de forma natural, un aminoácido que contiene metal; un aminoácido radiactivo; un aminoácido fotoactivable y/o fotoisomerizable; un aminoácido que contiene biotina o análogo de biotina; un aminoácido modificado con carbohidrato o glucosilado; un aminoácido que contiene ceto; aminoácidos que comprenden polietilenglico o poliéter; un aminoácido sustituido con átomo pesado (por ejemplo, un aminoácido que contiene deuterio, tritio, <sup>13</sup>C, <sup>15</sup>N o <sup>18</sup>O); un aminoácido químicamente escindible o fotoescindible; un aminoácido con una cadena lateral alargada; un aminoácido que contiene un grupo tóxico; un aminoácido sustituido con azúcar, por ejemplo, una serina sustituida con azúcar o similares; un aminoácido que contiene azúcar con enlaces de carbono; un aminoácido redox-activo; un ácido que contiene α-hidroxi; un aminoácido que contiene amino tio ácido; un aminoácido α, α disustituido; un β-aminoácido; un aminoácido cíclico distinto de prolina; una O-metil-L-tirosina; una L-3-(2-naftil)alanina; una 3-metil-fenilalanina; una p-acetil-L-fenilalanina; una O-4-alil-L-tirosina; una 4-propil-L-tirosina; una tri-O-acetil-GlcNAc β-serina; una L-Dopa; una fenilalanina fluorada; una isopropil-L-fenilalanina; una p-azido-L-fenilalanina; una p-acil-L-fenilalanina; una p-benzoil-L-fenilalanina; una L-fosfoserina; una fosfonoserina; una fosfotirosina; una p-yodofenilalanina; una 4-fluorofenilglicina; una p-bromofenilalanina; una p-amino-L-fenilalanina; una isopropil-L-fenilalanina; L-3-(2-naftil)alanina; D-3-(2-naftil)alanina (dNal); un análogo de fenilalanina que contiene amino-, isopropilo-, u O-alilo-; una dopa, O-metil-L-tirosina; un aminoácido glucosilado; una p-(propargiloxi)fenilalanina; dimetil-lisina; hidroxi-prolina; ácido mercaptopropiónico; metil-lisina; 3-nitro-tirosina; norleucina; ácido piroglutámico; Z (carbобензоxilo); ε-acetil-lisina; β-alanina; derivado de aminobenzoílo; ácido aminobutírico (Abu); citrulina; ácido aminohexanoico; ácido aminoisobutírico (AIB); ciclohexilalanina; d-ciclohexilalanina; hidroxiprolina; nitro-arginina; nitro-fenilalanina; nitro-tirosina; norvalina; octahidroindol carboxilato; ornitina (Orn); penicilamina (PEN); tetrahidroisoquinolina; aminoácidos protegidos con acetamidometilo y aminoácidos pegilados. Pueden encontrarse ejemplos adicionales de aminoácidos no naturales y análogos de aminoácidos en los documentos U.S. 20030108885, U.S. 20030082575, US20060019347 (párrafos 410-418) y las referencias citadas en los mismos. Los polipéptidos pueden incluir modificaciones adicionales incluyendo las descritas en el documento US20060019347, párrafo 589.

Un aminoácido puede reemplazarse por un aminoácido no esencial, de origen natural, por ejemplo, taurina.

Como alternativa, los péptidos GCRA son péptidos cíclicos. Se preparan péptidos cíclicos GCRA por métodos conocidos en la técnica. Por ejemplo, se consigue con frecuencia macrociclación formando un enlace amida entre los extremos N y C del péptido, entre una cadena lateral y el extremo N o C terminal [por ejemplo, con K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub> a pH 8,5] (Samson *et al.*, *Endocrinology*, 137: 5182-5185 (1996)), o entre dos cadenas laterales de aminoácidos, tales como cisteína. Véase, por ejemplo, DeGrado, *Adv Protein Chem*, 39: 51-124 (1988). En diversos aspectos los péptidos GCRA son biciclos [4,12; 7,15].

En algunos péptidos GCRA uno o ambos miembros de uno o ambos pares de restos Cys que normalmente forman un enlace disulfuro pueden reemplazarse por homocisteína, penicilamina, 3-mercaptoprolina (Kolodziej *et al.* 1996 Int J Pept Protein Res 48: 274);  $\beta$ ,  $\beta$  dimetilcisteína (Hunt *et al.* 1993 Int JPept Protein Res 42: 249) o ácido diaminopropiónico (Smith *et al.* 1978 J Med Chem 2 1: 117) para formar reticulaciones internas alternativas en las posiciones de los enlaces disulfuro normales.

Además, uno o más enlaces disulfuro pueden reemplazarse por reticulaciones covalentes alternativas, por ejemplo, un enlace amida (-CH<sub>2</sub>CH(O)NHCH<sub>2</sub>- o -CH<sub>2</sub>NHCH(O)CH<sub>2</sub>-), un enlace éster, un enlace tioéster, un puente de lactama, un enlace de carbamoilo, un enlace de urea, un enlace de tiourea, un enlace de fosfonato éster, un enlace de alquilo (-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-), un enlace de alqueno (-CH<sub>2</sub>CH=CHCH<sub>2</sub>-), un enlace de éter (-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>- o -CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-), un enlace de tioéter (-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>SCH<sub>2</sub>- o -CH<sub>2</sub>SCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-), un enlace de amina (-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NHCH<sub>2</sub>- o -CH<sub>2</sub>NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-) o un enlace de tioamida (-CH<sub>2</sub>CH(S)HNHCH<sub>2</sub>- o -CH<sub>2</sub>NHCH(S)CH<sub>2</sub>-). Por ejemplo, Ledu *et al.* (Proc Nat'l Acad. Sci. 100: 11263-78, 2003) describen métodos para preparar lactama y reticulaciones de amida. Los péptidos GCRA ejemplares que incluyen un puente de lactama incluyen por ejemplo SP-370.

Los péptidos GCRA pueden tener uno o más enlaces polipeptídicos convencionales reemplazados por un enlace alternativo. Dichos reemplazos pueden aumentar la estabilidad del polipéptido. Por ejemplo, el reemplazo del enlace polipeptídico entre un resto amino terminal de un resto aromático (por ejemplo, Tyr, Phe, Trp) con un enlace alternativo pueden reducir la escisión por carboxi peptidasas y pueden aumentar la semivida en el tracto digestivo. Los enlaces que pueden reemplazar enlaces polipeptídicos incluyen: un enlace retro-inverso (C(O)-NH en lugar de NH-C(O)); un enlace de amida reducido (NH-CH<sub>2</sub>); un enlace de tiometileno (S-CH<sub>2</sub> o CH<sub>2</sub>-S); un enlace de oxometileno (O-CH<sub>2</sub> o CH<sub>2</sub>-O); un enlace de etileno (CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>); un enlace de tioamida (C(S)-NH); un enlace de transolefina (CH=CH); un enlace de transolefina fluoro sustituido (CF=CH); un enlace de cetometileno (C(O)-CHR o CHR-C(O) en la que R es H o CH<sub>3</sub>); y un enlace de fluoro-cetometileno (C(O)-CFR o CFR-C(O) en la que R es H o F o CH<sub>3</sub>).

Los péptidos GCRA pueden modificarse usando modificaciones convencionales. Pueden realizarse modificaciones en el extremo amino (N-) o carboxilo (C-) terminal, de forma interna o una combinación de cualquiera de las anteriores. En un aspecto descrito en el presente documento, puede haber más de un tipo de modificación en el polipéptido. Las modificaciones incluyen pero sin limitación: acetilación, amidación, biotilación, cinnamoylación, farnesilación, formilación, miristoilación, palmitoilación, fosforilación (Ser, Tyr o Thr), estearoilación, succinilación, sulfurilación y ciclación (mediante enlaces disulfuro o ciclación con amida), y modificación por Cys3 o Cys5. Los péptidos GCRA descritos en el presente documento también pueden modificarse por 2,4-dinitrofenilo (DNP), DNP-lisina, modificación por 7-amino-4-metil-coumarina (AMC), fluoresceína, NBD (7-nitrobenz-2-Oxa-1,3-diazol), *p*-nitro-anilida, rodamina B, EDANS (ácido 5-((2-aminoetil)amino)naftaleno-1-sulfónico), dabcylo, dabsilo, dansilo, texas red, FMOC, y Tamra (tetrametilrodamina). Los péptidos GCRA descritos en el presente documento también pueden conjugarse con, por ejemplo, polietilenglicol (PEG); grupos alquilo (por ejemplo, grupos alquilo sencillos o ramificados C1-C20); radicales de ácidos grasos; combinaciones de PEG, grupos alquilo y radicales de ácidos grasos (véase, Patente de Estados Unidos 6.309.633; Soltero *et al.*, 2001 Innovations in Pharmaceutical Technology 106-110); BSA y KLH (Hemocianina de Lapa Californiana). La adición de PEG y otros polímeros que pueden usarse para modificar polipéptidos se describe en el documento US2006019347 Sección IX.

Se desvelan péptidos que son biológica o funcionalmente equivalentes a los péptidos descritos en el presente documento. Se entiende que la expresión "biológicamente equivalente" o "funcionalmente equivalente" significa que las composiciones de la presente invención son capaces de demostrar algunos de o todos de los efectos moduladores de producción de GMPc.

Los péptidos GCRA también pueden incluir derivados de péptidos GCRA que se pretende que incluyan formas híbridas y modificadas de péptidos GCRA en los que ciertos aminoácidos se han suprimido o reemplazado y modificaciones tales como en las que uno o más aminoácidos se han cambiado a un aminoácido modificado o aminoácido poco habitual y modificaciones tales como glucosilación siempre que la forma modificada conserve la actividad biológica de péptidos GCRA. Conservando la actividad biológica, se entiende que GMPc y/o apoptosis se inducen por el péptido GCRA, aunque no necesariamente al mismo nivel de potencia que el de un péptido GCRA de origen natural identificado.

Son variantes preferidas las que tienen sustituciones de aminoácidos conservativas realizadas en uno o más restos de aminoácidos no esenciales predichos. Una "sustitución de aminoácido conservativa" es una en la que el resto de aminoácido se reemplaza con un resto de aminoácido que tiene una cadena lateral similar. Se han definido en la técnica familias de restos de aminoácidos que tienen cadenas laterales similares. Estas familias incluyen aminoácidos con cadenas laterales básicas (por ejemplo, lisina, arginina, histidina), cadenas laterales ácidas (por ejemplo, ácido aspártico, ácido glutámico), cadenas laterales polares sin carga (por ejemplo, glicina, asparagina, glutamina, serina, treonina, tirosina, cisteína), cadenas laterales no polares (por ejemplo, alanina, valina, leucina, isoleucina, prolina, fenilalanina, metionina, triptófano), cadenas laterales beta ramificadas (por ejemplo, treonina, valina, isoleucina) y cadenas laterales aromáticas (por ejemplo, tirosina, fenilalanina, triptófano, histidina). Por lo tanto, un resto de aminoácido no esencial predicho en un polipéptido GCRA se reemplaza con otro resto de aminoácido de la misma familia de cadena lateral. Como alternativa, en otra realización, pueden introducirse



mutaciones aleatoriamente a lo largo de toda o parte de una secuencia codificante de GCRA, tal como por mutagénesis de saturación, y los mutantes resultantes pueden explorarse para identificar mutantes que conservan la actividad.

- 5 También se incluyen dentro del significado de sustancialmente homólogos cualquier péptido GCRA que pueda aislarse según la reactividad cruzada con anticuerpos para el péptido GCRA.

### PREPARACIÓN DE PÉPTIDOS GCRA

- 10 Los péptidos GCRA se preparan fácilmente usando técnicas de clonación modernas, o pueden sintetizarse por métodos de estado sólido o por mutagénesis dirigida. Un péptido GCRA puede incluir formas negativas dominantes de un polipéptido.

15 En general, puede realizarse síntesis química usando técnicas convencionales de síntesis peptídica en fase sólida o en fase en solución, en las que se produce un enlace peptídico a través de la condensación directa del grupo amino de un aminoácido con el grupo carboxilo del otro aminoácido con la eliminación de una molécula de agua. La síntesis de enlaces peptídicos por condensación directa, como se ha formulado anteriormente, requiere supresión del carácter reactivo del grupo amino del primer y del grupo carboxilo del segundo aminoácido. Los sustituyentes de enmascaramiento deben permitir su retirada rápida, sin inducir degradación de la molécula peptídica lábil.

20 En síntesis de fase en solución, puede usarse una amplia diversidad de métodos de acoplamiento y grupos de protección (véase, Gross y Meienhofer, eds., "The Peptides: Analysis, Synthesis, Biology," Vol. 1-4 (Academic Press, 1979); Bodansky y Bodansky, "The Practice of Peptide Synthesis," 2ª ed. (Springer Verlag, 1994)). Además, son posibles la purificación intermedia y aumento de escala lineal. Los expertos habituales en la materia apreciarán que la síntesis en solución requiere consideración de grupos protectores de cadena principal y cadena lateral y método de activación. Además, es necesaria una selección de segmentos cuidadosa para minimizar la racemización durante la condensación del segmento. También son un factor las consideraciones de solubilidad. La síntesis peptídica de fase sólida usa un polímero insoluble para apoyo durante la síntesis orgánica. La cadena peptídica con soporte polimérico permite el uso de etapas de lavado y filtración sencillas en lugar de purificaciones laboriosas en etapas intermedias. Puede realizarse en general síntesis peptídica en fase sólida de acuerdo con el método de Merrifield *et al.*, J. Am. Chem. Soc., 1963, 85: 2149, que implica ensamblar una cadena peptídica lineal en un soporte de resina usando aminoácidos protegidos. La síntesis peptídica en fase sólida utiliza típicamente la estrategia de Boc o Fmoc, que se conoce bien en la técnica.

35 Los expertos habituales en la materia reconocerán que, en síntesis de fase sólida, las reacciones de desprotección y acoplamiento deben llegar hasta su compleción y los grupos de bloqueo de cadena lateral deben ser estables en toda la síntesis. Además, la síntesis de fase sólida es en general más adecuada cuando se deben hacer péptidos a pequeña escala.

40 Puede conseguirse acetilación del extremo N terminal haciendo reaccionar el péptido final con anhídrido acético antes de escindir de la resina. Se consigue C-amidación usando una resina apropiada tal como resina de metilbenzidrilamina usando la tecnología de Boc.

45 Como alternativa los péptidos GCRA se producen por técnicas de clonación modernas. Por ejemplo, los péptidos GCRA se producen en bacterias incluyendo, sin limitación, *E. coli*, o en otros sistemas existentes para producción de polipéptido o proteínas (por ejemplo, *Bacillus subtilis*, sistemas de expresión de baculovirus usando células Sf9 de *Drosophila*, sistemas de expresión fúngicos filamentosos o de levadura, sistemas de expresión de células de mamífero), o pueden sintetizarse químicamente. Si el péptido GCRA o el péptido variante va a producirse en bacterias, por ejemplo, *E. coli*, la molécula de ácido nucleico que codifica el polipéptido puede codificar también una secuencia líder que permita la secreción del polipéptido maduro de la célula. Por lo tanto, la secuencia que codifica el polipéptido puede incluir la pre secuencia y la pro secuencia de, por ejemplo, un polipéptido ST bacteriano de origen natural. El polipéptido secretado, maduro, puede purificarse del medio de cultivo.

55 La secuencia que codifica un péptido GCRA descrito en el presente documento puede insertarse en un vector capaz de suministrar y mantener la molécula de ácido nucleico en una célula bacteriana. La molécula de ADN puede insertarse en un vector de replicación autónoma (los vectores adecuados incluyen, por ejemplo, pGEM3Z y pcDNA3 y derivados de los mismos). El ácido nucleico vector puede ser un ADN bacteriano o bacteriófago tal como bacteriófago fagos lambda o M13 y derivados de los mismos. La construcción de un vector que contiene un ácido nucleico descrito en el presente documento puede seguirse de transformación de una célula hospedadora tal como una bacteria. Los huéspedes bacterianos adecuados incluyen pero sin limitación, *E. coli*, *B subtilis*, *Pseudomonas*, *Salmonella*. La construcción genética también incluye, además de la molécula de ácido nucleico codificante, elementos que permiten la expresión, tales como un promotor y secuencias reguladoras. Los vectores de expresión pueden contener secuencias de control de la transcripción que controlan el inicio de la transcripción, tales como secuencias promotoras, potenciadoras, operadoras y represoras.

65

Los expertos en la materia conocen bien una diversidad de secuencias de control de la transcripción. El vector de expresión puede incluir también una secuencia reguladora de la traducción (por ejemplo, una secuencia 5' no traducida, una secuencia 3' no traducida, o un sitio de entrada de ribosomas interno). El vector puede tener capacidad de replicación autónoma o puede integrarse en el ADN del hospedador para asegurar la estabilidad durante la producción de polipéptidos.

La secuencia codificante de proteínas que incluye un péptido GCRA descrito en el presente documento también puede fusionarse con un ácido nucleico que codifica un marcador de actividad polipeptídico, por ejemplo, glutatión S-transferasa (GST), proteína de unión a maltosa E, proteína A, marcador FLAG, hexa-histidina, marcador myc o el marcador HA de gripe, para facilitar la purificación. La fusión de indicador o marcador de afinidad une la fase de lectura del polipéptido de interés con la fase de lectura del gen que codifica el marcador de afinidad de modo que se genere una fusión de traducción. La expresión del gen de fusión da como resultado la traducción de un único polipéptido que incluye tanto el polipéptido de interés como el marcador de afinidad. En algunos casos en los que se utilizan marcadores de afinidad, se fusionará la secuencia de ADN que codifica un sitio de reconocimiento de proteasa entre las fases de lectura para el marcador de afinidad y el polipéptido de interés.

También pueden usarse construcciones genéticas y métodos adecuados para la producción de formas inmaduras y maduras de los péptidos GCRA y variantes descritas en el presente documento en el sistema de expresión de proteínas distinto de bacterias, y bien conocidos por los expertos en la materia, para producir polipéptidos en un sistema biológico.

Los péptidos desvelados en el presente documento pueden modificarse mediante unión de una segunda molécula que confiere una propiedad deseada al péptido, tal como semivida aumentada en el cuerpo, por ejemplo, pegilación. Dichas modificaciones también quedan dentro del alcance del término "variante" como se usa en el presente documento.

## MÉTODOS TERAPÉUTICOS

La invención proporciona un agonista de receptor de guanilato ciclasa que tiene la secuencia de SEC ID N°: 1 en el que dicha secuencia es un biciclo [4,12;7,15] para uso en un método para tratar o prevenir la hipercolesterolemia.

También se desvelan métodos tanto profilácticos como terapéuticos para tratar a un sujeto en riesgo de (o susceptible a) un trastorno o que tenga un trastorno asociado que está mediado por agonistas del receptor de guanilato ciclasa. Los trastornos mediados por los agonistas del receptor de guanilato ciclasa incluyen específicamente hipercolesterolemia, aterosclerosis, obesidad, diabetes de tipo 2 y enfermedades hepáticas. Los trastornos mediados por los agonistas del receptor de guanilato ciclasa incluyen trastornos del metabolismo de lípidos, trastornos biliares, trastornos gastrointestinales, trastornos inflamatorios, trastornos pulmonares, cáncer, trastornos cardiacos incluyendo trastornos cardiacos cardiovasculares, trastornos oculares, trastornos orales, trastornos de la sangre, trastornos hepáticos, trastornos prostáticos, trastornos endocrinos, aumento de la movilidad gastrointestinal y obesidad. El trastorno del metabolismo de lípidos incluye, pero sin limitación, dislipidemia, hiperlipidemia, hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia, sitosterolemia, hipercolesterolemia familiar, xantoma, hiperlipidemia combinada, deficiencia de lecitina colesterol aciltransferasa, enfermedad de tangier, abetalipoproteinemia, disfunción eréctil, enfermedad de hígado graso y hepatitis. Los trastornos biliares incluyen trastornos de la vesícula biliar tales como, por ejemplo, piedras en la vesícula, colangitis de cáncer de vesícula biliar o colangitis esclerosante primaria; o trastornos del conducto biliar, tales como por ejemplo, colecistitis, cáncer de conducto biliar o fascioliasis. Los trastornos gastrointestinales incluyen por ejemplo, síndrome del intestino irritable (SII), dispepsia no ulcerosa, pseudo-obstrucción intestinal crónica, dispepsia funcional, pseudo-obstrucción colónica, reflujo duodenogástrico, enfermedad de reflujo gastroesofágico (GERD), inflamación del íleo (por ejemplo, íleo postoperatorio), gastroparesia, ardor de estómago (alta acidez en el tracto GI), estreñimiento (por ejemplo, estreñimiento asociado con el uso de medicamentos tales como opioides, fármacos para osteoartritis, fármacos para osteoporosis; estreñimiento postquirúrgico, estreñimiento asociado con trastornos neuropáticos. Los trastornos inflamatorios incluyen inflamación de tejidos y órganos tales como inflamación de riñón (por ejemplo, nefritis), inflamación del sistema gastrointestinal (por ejemplo, enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa); enterocolitis necrotizante (NEC); inflamación pancreática (por ejemplo, pancreatitis), inflamación pulmonar (por ejemplo, bronquitis o asma) o inflamación cutánea (por ejemplo, psoriasis, eccema). Los trastornos pulmonares incluyen por ejemplo enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) y fibrosis. El cáncer incluye carcinogénesis tisular y orgánica incluyendo metástasis tales como por ejemplo cáncer gastrointestinal (por ejemplo, cáncer gástrico, cáncer esofágico, cáncer pancreático, cáncer colorrectal, cáncer intestinal, cáncer anal, cáncer de hígado, cáncer de vesícula biliar o cáncer de colon; cáncer de pulmón; cáncer de tiroides; cáncer de piel (por ejemplo, melanoma); cáncer oral; cáncer del tracto urinario (por ejemplo cáncer de vejiga o cáncer de riñón); cáncer de la sangre (por ejemplo mieloma o leucemia) o cáncer de próstata. Los trastornos cardiacos incluyen por ejemplo, insuficiencia cardiaca congestiva, hipertensión cardiaca traqueal, colesterol alto o triglicéridos altos. Los trastornos cardiovasculares incluyen por ejemplo aneurisma, angina, aterosclerosis, accidente cerebrovascular (ictus), enfermedad cerebrovascular, insuficiencia cardiaca congestiva, enfermedad de las arterias coronarias, infarto de miocardio (ataque cardiaco), o enfermedad vascular periférica. Los trastornos hepáticos incluyen por ejemplo cirrosis y fibrosis. Además, el agonista de GC-C también puede ser útil para facilitar la regeneración del hígado en pacientes

con trasplante de hígado. Los trastornos oculares incluyen por ejemplo presión intraocular aumentada, glaucoma, degeneración retiniana de ojos secos, trastornos de las glándulas lacrimales o inflamación del ojo. Los trastornos cutáneos incluyen por ejemplo xerosis. Los trastornos orales incluyen por ejemplo boca seca (xerostomía), síndrome de Sjögren, enfermedades de las encías (por ejemplo, enfermedad periodontal), o bloqueo o disfunción de los conductos de las glándulas salivares. Los trastornos de próstata incluyen por ejemplo hiperplasia prostática benigna (BPH). Los trastornos endocrinos incluyen por ejemplo diabetes mellitus, hipertiroidismo, hipotiroidismo y fibrosis quística.

Los adultos sanos normales sintetizan el colesterol a una velocidad de aproximadamente 1 g/día y consumen aproximadamente 0,3 g/día. Se mantiene un nivel relativamente constante de colesterol en el cuerpo (150-200 mg/dl) por su síntesis de novo en el hígado, absorción en el intestino y por retirada del colesterol de la sangre. El hígado desempeña un papel central en el mantenimiento del equilibrio de esteroides en todo el cuerpo porque no solamente es el órgano que recibe la mayoría del colesterol absorbido por el intestino delgado, sino que también es el sitio para la degradación y excreción del colesterol a través de la bilis.

Se ha documentado bien que la manipulación dietética o farmacológica de la circulación enterohepática del colesterol o los ácidos biliares puede provocar potencialmente cambios notables en la velocidad a la que el hígado sintetiza colesterol, convierte colesterol en ácidos biliares, incorpora colesterol en lipoproteínas de muy baja densidad, esterifica y almacena colesterol, o secreta colesterol no esterificado directamente a la bilis. Dichos cambios en la manipulación enterohepática del colesterol pueden conducir a desplazamientos clínicamente significativos en la concentración de colesterol de lipoproteína de baja densidad (LDL-C) en circulación y en el grado de saturación de colesterol biliar. El intestino desempeña un papel importante en la regulación de la homeostasis del colesterol y puede conseguirse aproximadamente 36 % de reducción del colesterol en plasma por la inhibición total de colesterol del intestino. En seres humanos y roedores sanos, más del 90 % de ácidos biliares se reabsorben por el intestino delgado y vuelven al hígado para secretarse de nuevo a la bilis. Este reciclaje de ácido biliar eficaz tiene lugar principalmente en el íleon a través de un proceso activo que implica a una glucoproteína de membrana de borde en cepillo integral de 48 kDa denominada transportador de ácido biliar dependiente de sodio apical (HBT) o transportador de ácido biliar-ileal (IDAT).

La absorción del colesterol es un proceso multi-etapa, en el que el colesterol se miceliza en primer lugar por ácidos biliares en el lumen del intestino y después se absorbe por enterocitos. Por lo tanto, desempeñan un papel importante en la absorción de colesterol de la dieta. Ezetimibe (Zetia®) es un inhibidor bien conocido del transportador de ácido biliar y se ha usado ampliamente como un fármaco reductor de colesterol eficaz para tratar a pacientes con hipercolesterolemia.

El término "tratamiento" se refiere a reducir o aliviar síntomas en un sujeto, prevenir el empeoramiento o progresión de síntomas, y/o prevenir la enfermedad en un sujeto que esté libre de la misma. Para un sujeto dado, la mejora en un síntoma, su empeoramiento, regresión o progresión puede determinarse por cualquier medida objetiva o subjetiva. La eficacia del tratamiento puede medirse como una mejora en la morbilidad o mortalidad (por ejemplo, alargamiento de la curva de supervivencia para una población seleccionada). Por lo tanto, el tratamiento eficaz incluiría terapia de enfermedad existente, control de enfermedad por ralentización o detención de su progresión, prevención de la aparición de la enfermedad, reducción del 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.

El GMPc intracelular se produce por exposición, por ejemplo, contacto de un tejido (por ejemplo, tejido gastrointestinal) o célula con agonistas de GCRA. Por inducción se entiende un aumento en la producción de GMPc en comparación con un tejido o célula que no ha estado en contacto con el péptido GCRA o variante. Los tejidos o células se ponen en contacto directamente con un péptido GCRA o variante. Como alternativa, el péptido GCRA o variante se administra de forma sistémica. El péptido GCRA o variante se administra de forma sistémica. El péptido GCRA o variante se administra en una cantidad suficiente para aumentar la concentración de GMPc intracelular. La producción de GMPc se mide por un ensayo basado en células conocido en la técnica (25).

Los trastornos se tratan, previene o alivian administrando a un sujeto, por ejemplo, un mamífero tal como un ser humano que lo necesite, una dosis terapéuticamente eficaz de un péptido GCRA. Los péptidos GCRA pueden 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 entidad de suministro de fármaco individual, por ejemplo, un comprimido, cápsula, solución o formulación de inhalación. La cantidad de péptido presente debería ser suficiente para tener un efecto terapéutico positivo cuando se administra a un paciente (típicamente, entre 10 µg y 3 g). Lo que constituye un "efecto terapéutico positivo" dependerá de la afección particular que se trate e incluirá cualquier mejora significativa en una afección fácilmente reconocida por un experto en la materia.

Los péptidos de GCRA pueden administrarse solos o en combinación con otros agentes. Por ejemplo, los péptidos GCRA pueden administrarse en combinación con inhibidores de fosfodiesterasa dependiente de GMPc, tales como, por ejemplo, sulfona de sudinac, zaprinast, motapizona, vardenafilo o sildenafil; uno o más agentes quimioterapéuticos adicionales; o fármacos antiinflamatorios tales como, por ejemplo, esteroides o fármacos

antiinflamatorios no esteroideos (AINE), tales como aspirina.

Puede conseguirse terapia de combinación administrando dos o más agentes, por ejemplo, un péptido GCRA descrito en el presente documento y otro compuesto, cada uno de los cuales se formula y se administra por separado, o administrando dos o más agentes en una única formulación. Otras combinaciones están abarcadas por terapia de combinación. Por ejemplo, dos agentes pueden formularse juntos y administrarse junto con una formulación separada que contiene un tercer agente. Aunque los dos o más agentes en la terapia de combinación pueden administrarse de forma simultánea, no es necesario. Por ejemplo, la administración de un primer agente (o combinación de agentes) puede preceder a la administración de un segundo agente (o combinación de agentes) en minutos, horas, días o semanas. Por lo tanto, los dos o más agentes pueden administrarse en un intervalo de minutos entre sí o en un intervalo de 1, 2, 3, 6, 9, 12, 15, 18 o 24 horas entre sí o en un intervalo de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 14 días entre sí o en un intervalo de 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 semanas entre sí. En algunos casos son posibles intervalos aún más largos. Aunque en muchos casos es deseable que los dos o más agentes usados en una terapia de combinación estén presentes dentro del cuerpo del paciente al mismo tiempo, no es necesario.

Los péptidos GCRA descritos en el presente documento pueden combinarse con inhibidores de fosfodiesterasa, por ejemplo, sulfona de sulindac, Zaprinast, sildenafilo, vardenafilo o tadalafilo para potenciar adicionalmente los niveles de GMPc en los tejidos u órganos diana.

La terapia de combinación también puede incluir dos o más administraciones de uno o más de los agentes usados en la combinación. Por ejemplo, si se usan el agente X y el agente Y en una combinación, se pueden administrar secuencialmente en cualquier combinación una o más veces, por ejemplo, en el orden X-Y- X, X-X-Y, Y-X-Y, Y-Y-X, X-X-Y-Y, etc.

La terapia de combinación también puede incluir la administración de uno del agonista de GC-C con azotioprina y/u otros agentes inmunomoduladores. Los agentes inmunomoduladores pueden incluir fármacos de moléculas pequeñas y productos biológicos tales como Remicade, Humaira, Cimzia, etc.

La terapia de combinación también puede incluir la administración de dos o más agentes mediante vías o localizaciones diferentes. Por ejemplo, (a) un agente se administra por vía oral y otros agentes se administran por vía intravenosa o (b) un agente se administra por vía oral y otro se administra por vía local. En cada caso, los agentes pueden administrarse simultánea o secuencialmente. Las dosificaciones aproximadas para algunos de los agentes de terapia de combinación descritos en el presente documento se encuentran en la columna de "Dosis Recomendada de BNF" de las tablas en las páginas 11-17 del documento WO011/76632 (los datos en las tablas se atribuyen al Formulario Nacional Británico de marzo 2000) y también pueden encontrarse en otros formularios convencionales y otros directorios de prescripción de fármacos. Para algunos fármacos, la dosis recetada habitual para una indicación variará algo entre países.

Los péptidos GCRA, solos o en combinación, pueden combinarse con cualquier vehículo o medio farmacéuticamente aceptable. Por lo tanto, pueden combinarse con materiales que no producen una reacción adversa, alérgica o de otro modo no deseada cuando se administran a un paciente. Los vehículos o medios usados pueden incluir disolventes, dispersantes, recubrimientos, agentes promotores de la absorción, agentes de liberación controlada y uno o más excipientes inertes (que incluyen almidones, polioles, agentes de granulación, celulosa microcristalina (por ejemplo, cephère, perlas Celphère®), diluyentes, lubricantes, aglutinantes, agentes disgregantes y similares), etc. Si se desea, las dosificaciones de comprimidos de las composiciones desveladas pueden recubrirse por técnicas acuosas o no acuosas convencionales.

Una composición farmacéutica de la invención se formula para que sea compatible con su vía pretendida de administración. Los ejemplos de vías de administración incluyen administración parenteral, por ejemplo, intravenosa, intradérmica, subcutánea, oral (por ejemplo, inhalación), transdérmica (tópica), transmucosa y rectal. Las soluciones o suspensiones usadas para aplicación parenteral, intradérmica o subcutánea pueden incluir los siguientes componentes: un diluyente estéril tal como agua para inyección, solución salina, aceites fijos, polietilenglicoles, glicerina, propilenglicol u otros disolventes sintéticos; agentes antibacterianos tales como alcohol bencílico o metil parabenos; antioxidantes tales como ácido ascórbico o bisulfito sódico; agentes quelantes tales como ácido etilenediamintetraacético, tampones tales como acetatos, citratos o fosfatos, y agentes para el ajuste de la tonicidad tales como cloruro sódico o dextrosa. El pH puede ajustarse con ácidos o bases, tales como ácido clorhídrico o hidróxido sódico. La preparación parenteral puede incluirse en ampollas, jeringas desechables o viales de dosis múltiple hechos de vidrio o plástico.

Las composiciones farmacéuticas adecuadas para uso inyectable incluyen soluciones acuosas estériles (cuando sean solubles en agua) o dispersiones y polvos estériles para la preparación extemporánea de soluciones o dispersiones inyectables estériles. Para administración intravenosa, los vehículos adecuados incluyen solución salina fisiológica, agua bacteriostática, Cremophor EL™ (BASF, Parsippany, N.J.) o solución salina tamponada con fosfato (PBS). En todos los casos, la composición debe ser estéril y debería ser fluida en la medida en que exista fácil inyectabilidad. Debe ser estable en las condiciones de fabricación y almacenamiento y debe conservarse frente a la acción contaminante de microorganismos tales como bacterias y hongos. El vehículo puede ser un disolvente o

medio de dispersión que contenga, por ejemplo, agua, etanol, poliol (por ejemplo, glicerol, propilenglicol, y polietilenglicol líquido y similares) y mezclas adecuadas de los mismos. La fluidez apropiada puede mantenerse, por ejemplo, mediante el uso de un recubrimiento tal como lecitina, mediante el mantenimiento del tamaño de partícula requerido en el caso de dispersión y mediante el uso de tensioactivos. Puede conseguirse prevención de la acción de microorganismos por diversos agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabenos, clorobutanol, fenol, ácido ascórbico, timerosal y similares. En muchos casos, será preferible incluir agentes isotónicos, por ejemplo, azúcares, polialcoholes tales como manitol, sorbitol, cloruro sódico en la composición. La absorción prolongada de las composiciones inyectables puede obtenerse incluyendo en la composición un agente que retarde la absorción, por ejemplo, monoestearato de aluminio y gelatina.

Pueden prepararse soluciones inyectables estériles incorporando el compuesto activo (por ejemplo, un agonista de GCRA) en la cantidad requerida en un disolvente apropiado con uno o una combinación de ingredientes enumerados anteriormente, según se requiera, seguido de esterilización por filtración. En general, se preparan dispersiones incorporando el compuesto activo en un vehículo estéril que contenga un medio de dispersión básico y los otros ingredientes requeridos de los enumerados anteriormente. En el caso de polvos estériles para la preparación de soluciones inyectables estériles, los métodos de preparación son secado al vacío y liofilización que produce un polvo de principio activo más cualquier ingrediente deseado adicional de una solución previamente esterilizada por filtración del mismo.

Las composiciones orales incluyen en general un diluyente inerte o un vehículo comestible, tales como manitol, fructooligosacáridos, polietilenglicol y otros excipientes. Pueden incluirse en cápsulas de gelatina o comprimirse en comprimidos. Para el fin de la administración terapéutica oral, el compuesto activo puede incorporarse con excipientes y usarse en forma de comprimidos, trociscos o cápsulas. También pueden prepararse composiciones orales usando un vehículo fluido para uso como un colutorio, en el que el compuesto en el vehículo fluido se aplica por vía oral y se agita y se expectora o se traga. Pueden incluirse como parte de la composición agentes de unión farmacéuticamente compatibles y/o materiales adyuvantes. Los comprimidos, píldoras, cápsulas, trociscos y similares pueden contener cualquiera de los siguientes ingredientes o compuestos de una naturaleza similar: un aglutinante tal como celulosa microcristalina, goma de tragacanto o gelatina; un excipiente tal como almidón o lactosa, un agente disgregante tal como ácido algínico, Primogel, o almidón de maíz; un lubricante tal como estearato de magnesio o Sterotes; un emoliente tal como dióxido de silicio coloidal; un agente edulcorante tal como sacarosa o sacarina; o un agente saporífero tal como menta piperita, metil salicilato, o saporífero de naranja.

Para administración por inhalación, los compuestos se suministran en forma de una pulverización de aerosol a partir de un recipiente presurizado o dosificador que contiene un propulsor adecuado, por ejemplo un gas tal como dióxido de carbono, o un nebulizador.

La administración sistémica también puede ser por medios transmucosos o transdérmicos. Para administración transmucosa o transdérmica, se usan penetrantes apropiados para la barrera para permear en la formulación. Dichos penetrantes se conocen en general en la técnica e incluyen, por ejemplo, para administración transmucosa, detergentes, sales biliares y derivados de ácido fusídico. La administración transmucosa puede conseguirse a través del uso de pulverizaciones nasales o supositorios. Para administración transdérmica, los compuestos activos se formulan en ungüentos, pomadas, geles o cremas como se conocen en general en la técnica.

Los compuestos también pueden prepararse en forma de supositorios (por ejemplo, con bases de supositorio convencionales tales como manteca de cacao y otros glicéridos) o enemas de retención para suministro rectal.

En una realización, los compuestos activos se preparan con vehículos que protegerán el compuesto contra la rápida eliminación del cuerpo, tal como una formación de liberación controlada, incluyendo implantes y sistemas de suministro microencapsulado. Pueden usarse polímeros biodegradables, biocompatibles, tales como etilenvinil acetato, polianhídridos, ácido poliglicólico, colágeno, poliortoésteres y ácido poliláctico. Resultarán evidentes para los expertos en la materia métodos para la preparación de dichas formulaciones. Los materiales también pueden obtenerse comercialmente de Alza Corporation y Nova Pharmaceuticals, Inc. Liposomal. También pueden usarse suspensiones liposómicas (incluyendo liposomas dirigidos a células infectadas con anticuerpos monoclonales para antígenos virales) como vehículos farmacéuticamente aceptables. Estos pueden prepararse de acuerdo con métodos conocidos por los expertos en la materia, por ejemplo, como se describe en la Patente de Estados Unidos N° 4.522.811.

Es especialmente ventajoso formular composiciones orales o parenterales en forma unitaria de dosificación para mayor facilidad de administración y uniformidad de dosificación. La forma unitaria de dosificación como se usa en el presente documento se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como dosificaciones unitarias para el sujeto para tratar; conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada de compuesto activo que se ha calculado que produce el efecto terapéutico deseado en asociación con el vehículo farmacéutico requerido. La especificación para las formas unitarias de dosificación de la invención está dictada por y depende directamente de las características únicas del compuesto activo y el efecto terapéutico particular para conseguir.

Las composiciones farmacéuticas pueden incluirse en un recipiente, envase, o dosificador junto con instrucciones para administración.

- 5 Las composiciones también pueden incluir opcionalmente otros ingredientes terapéuticos, agentes anti-apelmazantes, conservantes, agentes edulcorantes, colorantes, saporíferos, desecantes, plastificantes, colorantes, emolientes, anti-adherentes, agentes antiestáticos, tensioactivos (agentes humectantes), antioxidantes, agentes de recubrimiento de películas y similares. Cualquiera de dichos ingredientes opcionales debe ser compatible con el compuesto descrito en el presente documento para asegurar la estabilidad de la formulación.
- 10 La composición puede contener otros aditivos según sea necesario, incluyendo por ejemplo lactosa, glucosa, fructosa, galactosa, trehalosa, sacarosa, maltosa, rafinosa, maltitol, melezitosa, estaquiosa, lactitol, palatinita, almidón, xilitol, manitol, mioinositol, y similares, e hidratos de los mismos, y aminoácidos, por ejemplo, alanina, glicina y betaína, y polipéptidos y proteínas, por ejemplo albúmina.
- 15 Los ejemplos de excipientes para uso como los vehículos farmacéuticamente aceptables y los vehículos inertes farmacéuticamente aceptables y los ingredientes adicionales anteriormente mencionados incluyen, pero sin limitación, aglutinantes, cargas, disgregantes, lubricantes, agentes antimicrobianos y agentes de recubrimiento tales como: AGLUTINANTES: almidón de maíz, almidón de patata, otros almidones, gelatina, gomas naturales y sintéticas tales como goma arábiga, xantana, alginato sódico, ácido alginico, otros alginatos, tragacanto en polvo, goma guar, celulosa y sus derivados (por ejemplo, etilcelulosa, acetato de celulosa, carboximetil celulosa cálcica, carboximetil celulosa sódica), polivinil pirrolidona (por ejemplo, povidona, crospovidona, copovidona, etc), metilcelulosa, Metocel, almidón pre-gelatinizado (por ejemplo, STARCH 1500® y STARCH 1500 LM®, vendido por Colorcon, Ltd.), hidroxipropilmetil celulosa, celulosa microcristalina (FMC Corporation, Marcus Hook, PA, Estados Unidos) o mezclas de los mismos, CARGAS: talco, carbonato cálcico (por ejemplo, gránulos o polvo), fosfato cálcico dibásico, fosfato cálcico tribásico, sulfato de calcio (por ejemplo, gránulos o polvo), celulosa microcristalina, celulosa en polvo, dextratos, caolín, manitol, ácido silícico, sorbitol, almidón, almidón pre-gelatinizado, dextrosa, fructosa, miel, anhidrato de lactosa, monohidrato de lactosa, lactosa y aspartamo, lactosa y celulosa, lactosa y celulosa microcristalina, maltodextrina, maltosa, manitol, celulosa microcristalina; goma guar, melaza, sacarosa o mezclas de los mismos, DISGREGANTES: agar-agar, ácido alginico, carbonato cálcico, celulosa microcristalina, croscarmelosa sódica, crospovidona, polacrilina potásica, glicolato de almidón sódico, almidón de patata o tapioca, otros almidones, almidón pre-gelatinizado, arcillas, otras alginas, otras celulosas, gomas (como gellan), hidroxipropil celulosa de baja sustitución, o mezclas de los mismos, LUBRICANTES: estearato de calcio, estearato de magnesio, aceite mineral, aceite mineral ligero, glicerina, sorbitol, manitol, polietilenglicol, otros glicoles, ácido esteárico, lauril sulfato sódico, estearil fumarato sódico, lubricantes de ácidos grasos basado en vegetales, talco, aceite vegetal hidrogenado (por ejemplo, aceite de cacahuete, aceite de semilla de algodón, aceite de girasol, aceite de sésamo, aceite de oliva, aceite de maíz y aceite de soja), estearato de cinc, etil oleato, etil laurato, agar, gel de sílice siloide (AEROSIL 200, W.R. Grace Co., Baltimore, MD Estados Unidos), un aerosol coagulado de sílice sintético (Deaussa Co., Plano, TX Estados Unidos), un dióxido de sílice pirógeno (CAB-O-SIL, Cabot Co., Boston, MA Estados Unidos), o mezclas de los mismos, AGENTES ANTI-APELMAZANTES: silicato de calcio, silicato de magnesio, dióxido de silicio, dióxido de silicio coloidal, talco o mezclas de los mismos, AGENTES ANTIMICROBIANOS: cloruro de benzalconio, cloruro de bencetonio, ácido benzoico, alcohol bencílico, butil parabeno, cloruro de cetilpiridinio, cresol, clorobutanol, ácido deshidroacético, etilparabeno, metilparabeno, fenol, alcohol feniletílico, fenoxietanol, acetato fenilmercúrico, nitrato fenilmercúrico, sorbato potásico, propilparabeno, benzoato sódico, deshidroacetato sódico, propionato sódico, ácido sórbico, timersol, timo, o mezclas de los mismos, y AGENTES DE RECUBRIMIENTO: carboximetil celulosa sódica, acetato ftalato de celulosa, etilcelulosa, gelatina, glaseado farmacéutico, hidroxipropil celulosa, hidroxipropil metilcelulosa (hipromelosa), ftalato de hidroxipropil metil celulosa, metilcelulosa, polietilenglicol, ftalato de polivinil acetato, shellac, sacarosa, dióxido de titanio, cera de carnauba, cera microcristalina, goma gellan, maltodextrina, metacrilatos, celulosa microcristalina y carragenina o mezclas de los mismos.
- 50 La formulación también puede incluir otros excipientes y categorías de los mismos incluyendo pero sin limitación L-histidina, Pluronic®, Poloxámeros (tales como Lutrol® y Poloxamer 188), ácido ascórbico, glutatión, potenciadores de la permeabilidad (por ejemplo, lípidos, colato sódico, acilcarnitina, salicilatos, sales biliares mixtas, micelas de ácidos grasos, quelantes, ácido graso, tensioactivos, glicéridos de cadena media), inhibidores de proteasa (por ejemplo, inhibidor de tripsina de soja, ácidos orgánicos), agentes reductores de pH y potenciadores de la absorción eficaces para promover la biodisponibilidad (incluyendo pero sin limitación los descritos en los documentos US6086918 y US5912014), cremas y lociones (como maltodextrina y carrageninas); materiales para comprimidos masticables (como dextrosa, fructosa, lactosa monohidrato, lactosa y aspartamo, lactosa y celulosa, maltodextrina, maltosa, manitol, celulosa microcristalina y goma guar, sorbitol cristalino); parenterales (como manitol y povidona); plastificantes (como dibutil sebacato, plastificantes para recubrimientos, ftalato de polivinilacetato); lubricantes en polvo (como gliceril behenato); cápsulas de gelatina blanda (como solución especial de sorbitol); esferas para recubrimiento (como esferas de azúcar); agentes de esferonización (como gliceril behenato y celulosa microcristalina); agentes de suspensión/gelificantes (como carragenina, goma gellan, manitol, celulosa microcristalina, povidona, glicolato de almidón sódico, goma xantana; edulcorantes (aspartamo, aspartamo y lactosa, dextrosa, fructosa, miel, maltodextrina, maltosa, manitol, melaza, sorbitol cristalino, solución especial de sorbitol, sacarosa); agentes de granulación húmeda (como carbonato cálcico, lactosa anhidrida, lactosa monohidrato, maltodextrina, manitol, celulosa microcristalina, povidona, almidón), caramelo, carboximetilcelulosa sódica,
- 65

saporífero de crema de cereza y saporífero de cereza, ácido cítrico anhídrido, ácido cítrico, azúcar glas, D&C Rojo N° 33, D&C Amarillo N° 10 Aluminum Lake, edetato disódico, alcohol etílico 15 %, FD&C Amarillo N° 6 aluminum lake, FD&C Azul N° 1 Aluminum Lake, FD&C C Azul N° 1, FD&C C Azul N° 2 aluminum lake, FD&C Verde N° 3, FD&C Rojo N° 40, FD&C Amarillo N° 6 Aluminum Lake, FD&C Amarillo N° 6, FD&C Amarillo N° 10, glicerol palmitoestearato, glicerol monoestearato, carmín de índigo, lecitina, manitol, metil y propil parabenos, glicirrinato de mono amonio, saporífero de naranja natural y artificial, glaseado farmacéutico, poloxámero 188, Polidextrosa, polisorbato 20, polisorbato 80, polividona, almidón de maíz pregelatinizado, almidón pregelatinizado, óxido de hierro rojo, sacarina sódica, carboximetil éter sódico, cloruro sódico, citrato sódico, fosfato sódico, saporífero de fresa, óxido de hierro negro sintético, óxido de hierro rojo sintético, dióxido de titanio y cera blanca.

Las formas de dosificación oral sólida pueden tratarse opcionalmente con sistemas de recubrimiento (por ejemplo, sistema de recubrimiento de película Opadry® fx, por ejemplo azul Opadry® (OY-LS-20921), blanco Opadry® (YS-2-7063), blanco Opadry® (YS-1-7040) y tinta negra (S-1-8 106).

Los agentes en su forma libre o como una sal pueden combinarse con un polímero tal como ácido poliláctico-glicólico (PLGA), ácido poli-(l)-láctico-glicólico-tartárico (P(l)LGT) (documento WO 01/12233), ácido poliglicólico (documento U.S. 3.773.919), ácido poliláctico (documento U.S. 4.767.628), poli( $\epsilon$ -caprolactona) y poli(alquilen óxido) (documento U.S. 20030068384) para crear una formulación de liberación sostenida. Dichas formulaciones pueden usarse para implantes que liberan un polipéptido u otro agente durante un periodo de varios días, varias semanas o varios meses dependiendo del polímero, el tamaño de partícula del polímero, y el tamaño del implante (véase, por ejemplo, documento U.S. 6.620.422). Otras formulaciones de liberación sostenida y polímeros para uso se describen en los documentos EP 0 467 389 A2, WO 93/24150, U.S. 5.612.052, WO 97/40085, WO 03/075887, WO 01/01964A2, U.S. 5.922.356, WO 94/155587, WO 02/074247A2, WO 98/25642, U.S. 5.968.895, U.S. 6.180.608, U.S. 20030171296, U.S. 20020176841, U.S. 5.672.659, U.S. 5.893.985, U.S. 5.134.122, U.S. 5.192.741, U.S. 5.192.741, U.S. 4.668.506, U.S. 4.713.244, U.S. 5.445.832, U.S. 4.931.279, U.S. 5.980.945, WO 02/058672, WO 97/26015, WO 97/04744 y US20020019446. En dichas formulaciones de liberación sostenida se combinan micropartículas (Delie y Blanco-Prieto 2005 Molecule 10:65-80) de polipéptido con micropartículas de polímero. Pueden colocarse uno o más implantes de liberación sostenida en el intestino grueso, el intestino delgado, o ambos. El documento US 6.011.0 1 y WO 94/06452 describen una formulación de liberación sostenida que proporciona polietilenglicoles (es decir, PEG 300 y PEG 400) o triacetina. El documento WO 03/053401 describe una formulación que puede potenciar la biodisponibilidad y proporcionar liberación controlada del agente dentro del tracto GI. Se describen formulaciones de liberación controlada adicionales en los documentos WO 02/38129, EP 326151, U.S. 5.236.704, WO 02/30398, WO 98/13029; U.S. 20030064105, U.S. 20030138488A1, U.S. 20030216307A1, U.S. 6.667.060, WO 01/49249, WO 01/49311, WO 01/49249, WO 01/49311 y U.S. 5.877.224, materiales que pueden incluir los descritos en el documento WO0404119 (incluyendo el recubrimiento de sello y entérico descrito en el presente documento) y recubrimientos sensibles a pH que consiguen suministro en el colon incluyendo los descritos en los documentos US4.910.021 y WO9001329. El documento US4910021 describe el uso de un material sensible a pH para recubrir una cápsula. El documento WO9001329 describe el uso de recubrimientos sensibles a pH en perlas que contienen ácido, en las que el ácido en el núcleo de la perla prolonga la disolución de recubrimiento sensible a pH. La Patente de Estados Unidos N° 5.175.003 desvela una mezcla de polímero de mecanismo doble compuesta de materiales entéricos sensible a pH y plastificantes formadores de película capaces de conferir permeabilidad al material entérico, para su uso en sistemas de suministro de fármaco; un microgránulo de matriz compuesto de una mezcla de polímero de mecanismo doble permeado con un fármaco y en ocasiones recubriendo un núcleo farmacéuticamente neutro; un microgránulo recubierto con membrana que comprende un sedimento de matriz recubierto con una envoltura de mezcla de polímero de mecanismo doble de la misma o diferente composición; y una forma de dosificación farmacéutica que contiene microgránulos de matriz. El microgránulo de matriz libera fármacos solubles en ácido por difusión en pH ácido y por disgregación a niveles de pH nominales de aproximadamente 5,0 o mayores.

Los péptidos GCRA descritos en el presente documento pueden formularse en los sistemas de liberación controlada diana desencadenada por pH descritos en el documento WO04052339. Los agentes descritos en el presente documento pueden formularse de acuerdo con la metodología descrita en cualquiera de los documentos WO03105812 (polímeros hidratables extruidos); WO0243767 (translocadores de membrana escindibles por enzimas); WO03007913 y WO0308629 (sistemas mucoadhesivos); WO02072075 (formulación laminada en bicapa que comprende agente reductor de pH y potenciador de la absorción); WO04064769 (polipéptidos amidados); WO0506315 (suspensión de lípidos sólidos con propiedades pseudotrópicas y/o tixotrópicas tras la fusión); WO03035029 y WO03035041 (formas de dosificación que se retienen en el estómago, erosionables); US5007790 y US5972389 (formas de dosificación de liberación sostenida); WO041 1271 1 (composiciones de liberación extendida oral); WO05027878, WO02072033, y WO02072034 (composiciones de liberación retardada con goma natural o sintética); WO05030182 (formulaciones de liberación controlada con una velocidad de liberación creciente); WO05048998 (sistema de microencapsulación; Patente de Estados Unidos 5.952.314 (biopolímero); US 5.108.758 (suministro de matriz de amilosa vidriosa); US 5.840.860 (suministro basado en almidón modificado). Documentos JP10324642 (sistema de suministro que comprende quitosano y material resistente gástrico tal como gliadina de trigo o zeína); US 5.866.619 y US 6.368.629 (polímero que contiene sacáridos); US 6.531.152 (describe un sistema de suministro de fármaco que contiene un núcleo soluble en agua (pectinato cálcico u otros polímeros insolubles en agua) y un recubrimiento externo que estalla (por ejemplo, polímero hidrófobo-Eudragrit)); US 6.234.464; US



6.403.130 (el recubrimiento con polímero que contiene caseína y pectina alta metoxi; WO0174 175 (producto de reacción de Maillard); WO05063206 (formulación de solubilidad creciente); WO04019872 (proteínas de fusión de transferencia).

5 Los péptidos GCRA descritos en el presente documento pueden formularse usando tecnología de sistema de retención gastrointestinal (GIRES; Merrion Pharmaceuticals). GIRES comprende una forma de dosificación de liberación controlada dentro de un bolsillo inflable, que se coloca en una cápsula farmacológica para administración oral. Tras la disolución de la cápsula, un sistema generador de gas infla el bolsillo en el estómago donde se mantiene durante 16-24 horas, liberando todo el tiempo agentes descritos en el presente documento.

10 Los péptidos GCRA descritos en el presente documento pueden formularse en un dispositivo osmótico incluyendo los desvelados en los documentos US4.503.030, US5.609.590 y US5.358.502. El documento US4.503.030 desvela un dispositivo osmótico para distribuir un fármaco a ciertas regiones de pH del tracto gastrointestinal. Más particularmente, la invención se refiere a un dispositivo osmótico que comprende una pared formada por una composición sensible a pH semipermeable que rodea un compartimento que comprende un fármaco, conectando un pasaje a través de la pared el exterior del dispositivo con el compartimento. El dispositivo suministra el fármaco a una velocidad controlada en la región del tracto gastrointestinal que tiene un pH de menos de 3,5, y el dispositivo se autodestruye y libera todo su fármaco en la región del tracto gastrointestinal que tiene un pH mayor de 3,5, proporcionando de este modo disponibilidad total para absorción de fármacos. Las Patentes de Estados Unidos N° 5.609.590 y 5.358.502 desvelan un dispositivo de estallido osmótico para distribuir un agente beneficioso a un ambiente acuoso. El dispositivo comprende un agente beneficioso y agente osmótico rodeado al menos en parte por una membrana semipermeable. El agente beneficioso también puede actuar como el agente osmótico. La membrana semipermeable es permeable al agua y sustancialmente impermeable al agente beneficioso y agente osmótico. Se une un medio desencadenante a la membrana semipermeable (por ejemplo, une dos mitades de una cápsula). El medio desencadenante se activa por un pH de 3 a 9 y desencadena el suministro eventual, pero repentino, del agente beneficioso. Estos dispositivos permiten la liberación desencadenada por pH del núcleo de agente beneficioso como una embolada por estallido osmótico.

### AGENTES EJEMPLARES PARA TERAPIA DE COMBINACIÓN

30 *Agentes analgésicos*

Los péptidos GCRA descritos en el presente documento pueden usarse en terapia de combinación con un agente analgésico, por ejemplo, un compuesto analgésico o un polipéptido analgésico. Estos polipéptidos y compuestos pueden administrarse con los péptidos GCRA descritos en el presente documento (simultánea o secuencialmente). También pueden opcionalmente unirse covalentemente o ligarse a un agente descrito en el presente documento para crear conjugados terapéuticos. Entre los agentes analgésicos útiles están: bloqueadores del canal de calcio, antagonistas del receptor de 5HT (por ejemplo, antagonistas del receptor de 5HT3, 5HT4 y 5HT1), agonistas de receptores opioides (loperamida, fedotozina y fentanilo), antagonistas de receptores de NK1, agonistas de receptores de CCK (por ejemplo, loxiglumida), antagonistas de receptores de NK1, antagonistas de receptores de NK3, inhibidores de la recaptación de serotonina-norepinefrina (NSRI), agonistas del receptor vainilloide y cannabinoide, y sialorfina. Se describen en la bibliografía agentes analgésicos en las diversas clases.

45 Entre los polipéptidos analgésicos útiles están los polipéptidos relacionados con sialorfina, incluyendo los que comprenden la secuencia de aminoácidos QHNPR (SEC ID N°: 250), incluyendo: VQHNPR (SEC ID N°: 251); VRQHNPR (SEC ID N°: 252); VRGQHNPR (SEC ID N°: 253); VRGPQHNPR (SEC ID N°: 254); VRGPRQHNPR (SEC ID N°: 255); VRGPRRQHNPR (SEC ID N°: 256); y RQHNPR (SEC ID N°: 257). Los polipéptidos relacionados con sialorfina se unen con neprilisina e inhiben la degradación mediada por neprilisina de sustancia P y Met-enkefalina. Por lo tanto, los compuestos o polipéptidos que son inhibidores de neprilisina son agentes analgésicos útiles que pueden administrarse con los polipéptidos descritos en el presente documento en una co-terapia o unirse con los polipéptidos descritos en el presente documento, por ejemplo, mediante un enlace covalente. Se describen sialorfina y polipéptidos relacionados en la Patente de Estados Unidos 6.589.750; documentos U.S. 20030078200 A1; y WO 02/051435 A2.

55 Pueden administrarse antagonistas y agonistas de receptores opioides con los péptidos con los péptidos GCRA descritos en el presente documento en co-terapia o unirse con el agente descrito en el presente documento, por ejemplo, por un enlace covalente. Por ejemplo, se cree que los antagonistas de receptores opioides tales como naloxona, naltrexona, metil naloxona, nalmeveno, cipridime, beta funaltrexamina, naloxonazina, naltrindol y norbinaltorfimina son útiles en el tratamiento de SII. Puede ser útil formular antagonistas opioides de este tipo en una formulación de liberación retardada y sostenida de modo que la liberación inicial del antagonista sea en el intestino delgado de medio a distal y/o colon ascendente. Dichos antagonistas se describen en el documento WO 01/32180 A2. El pentapéptido de encefalina (HOE825; Tyr-D-Lys-Gly-Phe-L-homoserina) es un agonista de los receptores opioides mu y delta y se cree que es útil para aumentar la movilidad intestinal (Eur. J. Pharm. 219:445, 1992), y este polipéptido puede usarse junto con los polipéptidos descritos en el presente documento. También es útil trimebutina que se cree que se une con los receptores opioides mu/delta/kappa y activan la liberación de motilina y modulan la liberación de gastrina, polipéptido intestinal vasoactivo, gastrina y glucagones. Pueden usarse agonistas de los

receptores opioides kappa tales como fedotozina, asimadolina y cetociclazocina y compuestos descritos en los documentos en los documentos WO03/097051 y WO05/007626 con o unidos con los polipéptidos descritos en el presente documento. Además, pueden usarse agonistas de receptores opioides mu tales como morfina, difeniloxilato, frakefamida (H-Tyr-D-Ala-Phe(F)-Phe-NH<sub>2</sub>; documento WO 01/019849 A1) y loperamida.

5 Tyr-Arg (kiotorfina) es un dipéptido que actúa estimulando la liberación de met-enkefalinas para inducir un efecto analgésico (J. Biol. Chem 262: 8165, 1987). La kiotorfina puede usarse con o unida con los péptidos GCRA descritos en el presente documento.

10 Puede usarse un polipéptido derivado de cromogranina (CgA 47-66; Véase, por ejemplo, Ghia *et al.* 2004 Regulatory polypeptides 119: 199) con o unido con los péptidos GCRA descritos en el presente documento.

Los agonistas del receptor de CCK tales como caeruleína de anfibios y otras especies son agentes analgésicos útiles que pueden usarse con o unidos con los péptidos GCRA descritos en el presente documento.

15 Los polipéptidos de conotoxina representan una gran clase de polipéptidos analgésicos que actúan en canales de calcio abiertos por tensión, receptores de NMDA o receptores nicotínicos. Estos polipéptidos pueden usarse con o unidos con los polipéptidos descritos en el presente documento.

20 Los análogos peptídicos de timulina (Solicitud FR 2830451) pueden tener actividad analgésica y pueden usarse con o unidos con los polipéptidos descritos en el presente documento.

Los antagonistas del receptor de CCK (CCKa o CCKb), incluyendo loxiglumida y dexloxiglumida (el isómero R de loxiglumida) (documento WO 88/05774) pueden tener actividad analgésica y pueden usarse con o unidos con los polipéptidos descritos en el presente documento.

25 Otros agentes analgésicos útiles incluyen agonistas de 5-HT<sub>4</sub> tales como tegaserod (Zelnorm®), mosaprida, metoclopramida, zacoprida, cisaprida, renzaprida, derivados de benzimidazolona tales como BIMU 1 y BIMU 8, y lorexapride. Dichos agonistas se describen en los documentos: EP1321 142 A1, WO 03/053432A1, EP 505322 A1, EP 505322 B1, US 5.510.353, EP 507672 A1, EP 507672 B1 y US 5.273.983.

30 Pueden usarse bloqueadores de canales de calcio tales como ziconotida y compuestos relacionados descritos en, por ejemplo, los documentos EP625162B1, US 5.364.842, US 5.587.454, US 5.824.645, US 5.859.186, US 5.994.305, US 6087.091, US 6.136.786, WO 93/13128 A1, EP 1336409 A1, EP 835126 A1, EP 835126 B1, US 5.795.864, US 5.891.849, US 6.054.429, WO 97/01351 A1, con o unidos con los polipéptidos descritos en el presente documento.

Pueden usarse diversos antagonistas de los receptores de NK-1, NK-2 y NK3 (para una revisión véase Giardina *et al.* 2003. Drugs 6: 758) con o unidos con los polipéptidos descritos en el presente documento.

40 Pueden usarse antagonistas de receptores de NK1 tales como: aprepitant (Merck & Co Inc), vofopitant, ezlopitant (Pfizer, Inc.), R-673 (Hoffmann-La Roche Ltd), SR-48968 (Sanofi Synthelabo), CP-122.721 (Pfizer, Inc.), GW679769 (Glaxo Smith Kline), TAK-637 (Takeda/Abbot), SR-14033, y compuestos relacionados descritos en, por ejemplo, los documentos EP 873753 A1, US 20010006972 A1, US 20030109417 A1, WO 01/52844 A1, con o unidos con los polipéptidos descritos en el presente documento.

Pueden usarse antagonistas de receptores de NK-2 tales como nepadutant (Menarini Ricerche SpA), saredutant (Sanof - Synthelabo), GW597599 (Glaxo Smith Kline), SR-144190 (Sanof-Synthelabo) y UK-290795 (Pfizer Inc) con o unidos con los polipéptidos descritos en el presente documento.

50 Pueden usarse antagonistas de receptores de NK-3 tales como osanetant (SR-142801; Sanofi-Synthelabo), SSR-241586, talnetant y compuestos relacionados descritos en, por ejemplo, los documentos WO 02/094187 A2, EP 876347 A1, WO 97/21680 A1, US 6.277.862, WO 98/1 1090, WO 95/28418, WO 97/19927, y Boden *et al.* (J Med Chem. 39: 1664-75, 1996) con o unidos con los polipéptidos descritos en el presente documento.

55 Pueden usarse inhibidores de la recaptación de norepinefrina-serotonina (NSRI) tales como milnacipran y compuestos relacionados descritos en el documento WO 03/077897 A1 con o unidos con los polipéptidos descritos en el presente documento.

60 Pueden usarse antagonistas de receptores vainilloides tales como arvanilo y compuestos relacionados descritos en el documento WO 01/64212 A1 con o unidos con los polipéptidos descritos en el presente documento.

Los polipéptidos y compuestos analgésicos pueden administrarse con los polipéptidos y agonistas descritos en el presente documento (simultánea o secuencialmente). Los agentes analgésicos también pueden unirse covalentemente con los polipéptidos y agonistas descritos en el presente documento para crear conjugados terapéuticos. Cuando el analgésico sea un polipéptido y esté unido covalentemente con un agente descrito en el

65

presente documento, el polipéptido resultante también puede incluir al menos un sitio de escisión de tripsina. Cuando está presente dentro del polipéptido, el polipéptido analgésico pueda estar precedido por (si está en el extremo carboxilo terminal) o seguido por (si está en el extremo amino terminal) un sitio de escisión de tripsina que permita la liberación del polipéptido analgésico.

Además de polipéptidos relacionados con sialorfina, los polipéptidos analgésicos incluyen: AspPhe, endomorfina-1, endomorfina-2, nocistatina, dalargina, lupron, ziconotida y sustancia P.

#### *Agentes para tratar trastornos gastrointestinales*

Los ejemplos de agentes terapéuticos adicionales para tratar trastornos gastrointestinales y otros incluyen agentes para tratar el estreñimiento (por ejemplo, un activador de canal de cloruro tal como el ácido graso bicíclico), Lubiprostona (anteriormente conocido como SPI-0211; Sucampo Pharmaceuticals, Inc.; Bethesda, MD), un laxante (por ejemplo, un laxante formador de volumen (por ejemplo, polisacáridos no de almidón, comprimido COLONEL (policarbofilo cálcico), Plantago Ovata®, Equalactin® (Policarbofilo Cálcico)), fibra (por ejemplo FIBERCON® (Policarbofilo Cálcico), un laxante osmótico, un laxante estimulante (tal como difenilmetanos (por ejemplo bisacodilo), antraquinonas (por ejemplo cáscara, senna), y laxantes tensioactivos (por ejemplo, aceite de ricino, docusatos), un agente emoliente/lubricante (tales como aceite mineral, glicerina y docusatos), MiraLax (Braintree Laboratories, Braintree MA), dexloxiglumida (Forest Laboratories, también conocido como CR 2017 Rottapharm (Rotta Research Laboratorium SpA)), laxantes salinos, enemas, supositorios, y CR 3700 (Rottapharm (Rotta Research Laboratorium SpA), agentes reductores de ácidos tales como inhibidores de bomba de protones (por ejemplo, omeprazol (Prilosec®), esomeprazol (Nexium®), lansoprazol (Prevacid®), pantoprazol (Protonix®) y rabeprazol (Aciphex®)) y antagonista del receptor de Histamina H2 (también conocido como bloqueadores de receptor de H2 incluyendo cimetidina, ranitidina, famotidina y nizatidina); agentes procinéticos incluyendo itoprida, octreotida, betanecol, metoclopramida (Reglan®), domperidona (Motilium®), eritromicina (y derivados de la misma) o cisaprida (propulsid®); homólogos de polipéptidos de Prokineticina, variantes y quimeras de los mismos incluyendo los descritos en el documento US 7.052.674 que pueden usarse con o unirse con los polipéptidos descritos en el presente documento; agentes pro-movilidad tales como el polipéptido derivado de vasostatina, cromogranina A (4-16) (Véase, por ejemplo, Ghia *et al.* 2004 Regulatory polypeptides 121: 31) o agonistas de motilina (por ejemplo, GMP-611 o fumarato de mitemcinal) o moduladores de receptor de orfanina FQ/nociceptina (documento US20050169917); otros péptidos que pueden unirse con y/o activar GC-C incluyendo los descritos en el documento USA20050287067; agonistas o antagonistas de los receptores de 5HT (por ejemplo 5HT1, 5HT2, 5HT3, 5HT4) completos o parciales (incluyendo, antagonistas de 5HT1A (por ejemplo AGI-OOI (AGI therapeutics), antagonistas de 5HT2B (por ejemplo PGN 1091 y PGN1 164 (Pharmagene Laboratories Limited), y agonistas del receptor 5HT4 (tales como tegaserod (ZELNORM®), prucaloprida, mosaprida, metoclopramida, zacoprida, cisaprida, renzaprida, derivados de benzimidazolona tales como BIMU 1 y BIMU 8, y lirezaprida). Dichos agonistas/moduladores se describen en los documentos: EP1321142 A1, WO 03/053432A1, EP 505322 A1, EP 505322 B1, US 5.510.353, EP 507672 A1, EP 507672 B1, US 5.273.983, y US 6.951.867); agonistas del receptor 5HT3 tales como MKC-733; y antagonistas del receptor 5HT3 tales como DDP-225 (MCI-225; Dynogen Pharmaceuticals, Inc.), cilansetron (Calmactin®), alosetron (Lotronex®), Ondansetron HCl (Zofran®), Dolasetron (ANZEMET®), palonosetron (Aloxi®), Granisetron (Kytril®), YM060 (ramosetron; Astellas Pharma Inc.; el ramosetron puede proporcionarse como una dosis diaria de 0,002 a 0,02 mg como se describe en el documento EP01588707) y ATI-7000 (Aryx Therapeutics, Santa Clara CA); agonistas del receptor muscarínico; agentes antiinflamatorios; antiespasmódicos incluyendo pero sin limitación fármacos anticolinérgicos (como dicitromina (por ejemplo Colimex®, Formulex®), Lomine®, Protylol®, Visceral®, Spasmoban®, Bentlyl®, Bentlylol®), hiosciamina (por ejemplo IB-Stat®, Nulev®, Levsin®, Levbid®, Levsinex Timecaps®, Levsin/SL®, Anaspaz®, A-Spas S/L®, Cystospaz®, Cystospaz-M®, Donnamar®, Colidrops Liquid Pediatric®, Gastroed®, Hyco Elixir®, Hyosol®, Hyospaz®, Hyosyne®, Losamine®, Medispaz®, Neosol®, Spacol®, Spasdel®, Symax®, Symax SL®), Donnatal (por ejemplo Donnatal Extentabs®), clidinio (por ejemplo Quarzan, en combinación con Libro = Librax), metantelina (por ejemplo Bantina), Mepenzolato (por ejemplo Cantilo), homatropina (por ejemplo hycodan, Homapin), bromuro de Propantelina (por ejemplo Pro-Bantina), Glicopirrolato (por ejemplo Robinul®, Robinul Forte®), escopolamina (por ejemplo Transderm-Scop®, Transderm-V®), hiosina-N-butilbromuro (por ejemplo Buscopan®), Pirenzepina (por ejemplo Gastrozepin®) Bromuro de Propantelina (por ejemplo Propanthel®), dicitloverina (por ejemplo Merbentlyl®), bromuro de glicopirronio (por ejemplo Glycopyrrolate®), hidrobromuro de hioscina, metobromuro de hioscina, metantelinio, y octatropina); aceite de menta piperita; y relajantes de músculo liso directos como bromuro de cimetropio, mebeverina (DUSPATAL®, DUSPATALIN®, COLOFAC MR®, COLOTAL®), bromuro de otilonio (otilonio), pinaverio (por ejemplo Dicitel® (bromuro de pinaverio; Solvay S. A.)), Spasfon® (floroglucinol hidratado y trimetilfloroglucinol) y trimebutina (incluyendo maleato de trimebutina (Modulon®); antidepresivos, incluyendo pero sin limitación los enumerados en el presente documento, así como antidepresivos tricíclicos como amitriptilina (Elavil®), desipramina (Norpramin®), imipramina (Tofranil®), amoxapina (Asendin®), nortriptilina; los inhibidores de recaptación de serotonina selectivos (SSRT) como paroxetina (Paxil®), fluoxetina (Prozac®), sertralina (Zoloft®), y citralopram (Celexa®); y otros como doxepina (Sinequan®) y trazodona (Desyrel®); agentes analgésicos que actúan de forma central tales como agonistas de receptores opioides, antagonistas de receptores opioides (por ejemplo, naltrexona); agentes para el tratamiento de enfermedad Inflamatoria del intestino; agentes para el tratamiento de

enfermedad de Crohn y/o colitis ulcerosa (por ejemplo, alequel (Enzo Biochem. Inc.; Farmingsale, NY), el polipéptido antiinflamatorio RDP58 (Genzyme, Inc.; Cambridge, MA), y TRAFICET-ENT™ (ChemoCentryx, Inc.; San Carlos, CA); agentes que tratan el dolor gastrointestinal o visceral; agentes que aumentan los niveles de GMPc (como se describe en el documento US20040121994) como antagonistas de receptores adrenérgicos, agonistas de receptores de dopamina e inhibidores de PDE (fosfodiesterasa) incluyendo, pero sin limitación los desvelados en el presente documento; purgantes que extraen fluidos al intestino (por ejemplo, VISICOL®, una combinación de fosfato sódico monobásico monohidrato y fosfato sódico dibásico anhidrato); antagonistas del receptor del Factor Liberador de Corticotropina (CRF) (incluyendo NBI-34041 (Neurocrine Biosciences, San Diego, CA), CRH9-41, astressina, R121919 (Janssen Pharmaceutical CP154,526, NBI-27914, Antalarmina, DM696 (Bristol-Myers Squibb) CP-316.311 (Pfizer, Inc.), SB723620 (GSK), GW876008 (Neurocrine/Glaxo Smith Kline), ONO-2333Ms (Ono Pharmaceuticals), TS-041 (Janssen), AAG561 (Novartis) y los desvelados en los documentos US 5.063.245, US 5.861.398, US20040224964, US20040198726, US20040176400, US20040171607, US20040110815, US20040006066, y US20050209253); polipéptidos de tipo glucagón (glp-1) y análogos de los mismos (incluyendo, exendina-4 y GTP-010 (Gastrotech Pharma A) e inhibidores de DPP-IV (DPP-IV media en la inactivación de glp-1); tofisopam, R-tofisopam enantioméricamente puro, y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos (documento US20040229867); antidepresivos tricíclicos del tipo dibenzotiazepina incluyendo pero sin limitación Dextofisopam® (Vela Pharmaceuticals), tianeptina (Stablon®) y otros agentes descritos en el documento US 6.683.072; ácido (*E*)-4 (1,3bis(ciclohexilmetil)-1,2,3,4,-tetrahidro-2,6-diono-9*H*-purin-8-il)cinámico nonaetilenglicol metil éter éster y compuestos relacionados descritos en el documento WO 02/067942; el probiótico PROBACTRIX® (The BioBalance Corporation; Nueva York, NY) que contiene microorganismos útiles en el tratamiento de trastornos gastrointestinales; fármacos antidiarreicos incluyendo pero sin limitación loperamida (Imodium, Pepto Diarrhea), difenoxilato con atropina (Lomotil., Lomocot), colestiramina (Questran, Cholybar), atropina (Co-fenotropo, Diarsed, Difenoxilato, Lofeno, Logen, Lonox, Vi-Atro, inyección de sulfato de atropina) y Xifaxan® (rifaximina; Salix Pharmaceuticals Ltd), TZP-201 (Tranzyme Pharma Inc.), el bloqueador del receptor de acetilcolina neuronal (nAChR) AGI-004 (AGI therapeutics), y subsalicilato de bismuto (Pepto-bismol); fármacos ansiolíticos incluyendo pero sin limitación toAtivan (lorazepam), alprazolam (Xanax®), clordiazepóxido/clidinio (Librium®, Librax®), clonazepam (Klonopin®), clorazepato (Tranxene®), diazepam (Valium®), estazolam (ProSom®), flurazepam (Dalmane®), oxazepam (Serax®), prazepam (Centrax®), temazepam (Restoril®), triazolam (Halcion®; Bedelix® (Montmorilonita beidelítica; Ipsen Ltd), Solvay SLV332 (ArQule Inc), YKP (SK Pharma), Asimadolina (Tioga Pharmaceuticals/Merck), AGI-003 (AGI Therapeutics); antagonistas de neurokinina incluyendo los descritos en el documento US20060040950; moduladores del canal de potasio incluyendo los descritos en el documento US7.002.015; el modulador de serotonina AZD7371 (AstraZeneca Plc); antagonistas del receptor muscarínico M3 tales como darifenacina (Enablex; Novartis AG y zamifenacina (Pfizer); terapias herbales y naturales incluyendo pero sin limitación acidófilos, té de camomila, aceite de onagra, semillas de hinojo, ajeno, consuelda, y compuestos de Bao-Ji-Wan (magnolol, honokiol, imperatorina e isoimperatorina) como en el documento US6923992; y composiciones que comprenden lisina y un agente antitensión para tratamiento de síndrome del intestino irritable como se describe en el documento EPO 1550443.

#### *Insulina y agentes moduladores de insulina*

Los péptidos GCRA descritos en el presente documento pueden usarse en terapia de combinación con insulina y compuestos relacionados incluyendo insulina de primate, roedor o conejo incluyendo variantes biológicamente activas de los mismos incluyendo variantes alélicas, más preferentemente insulina humana disponible en forma recombinante. Las fuentes de insulina humana incluyen formulaciones farmacéuticamente aceptables y estériles tales como las disponibles de Eli Lilly (Indianápolis, Ind. 46285) como Humulin™ (insulina humana de origen de ADNr). Véase, el THE PHYSICIAN'S DESK REFERENCE, 55ª Ed. (2001) Medical Economics, Thomson Healthcare (que desvela otras insulinas humanas adecuadas).

Los péptidos GCRA descritos en el presente documento también pueden usarse en terapia de combinación con agentes que pueden reforzar los efectos de la insulina o los niveles de un sujeto tras la administración, por ejemplo de glipizida y/o rosiglitazona. Los polipéptidos y agonistas descritos en el presente documento pueden usarse en terapia de combinación con SYMLIN® (acetato de pramlintide) y Exenatide® (exendina-4 sintética; un polipéptido de 39 aminoácidos).

#### *Agentes para el tratamiento de íleo postoperatorio*

Los péptidos GCRA descritos en el presente documento pueden usarse en terapia de combinación con agentes (por ejemplo, Entereg™ (alvimopan; anteriormente denominado ado lor/ ADL 8-2698), conivaptan y agentes relacionados descritos en el documento US 6.645.959) usados para el tratamiento del íleo postoperatorio y otros trastornos.

#### *Agente anti-hipertensivo*

Los péptidos GCRA descritos en el presente documento pueden usarse en terapia de combinación con un agente anti-hipertensivo incluyendo pero sin limitación: (1) diuréticos, tales como tiazidas, incluyendo clortalidona, clortiazida, diclorofenamida, hidroflumetiazida, indapamida, politiazida, e hidroclortiazida; diuréticos con acción

sobre el asa de Henle, tales como bumetanida, ácido etacrínico, furosemida, y torsemida; agentes ahorradores de poasio, tal como amilorida, y triamtereno; inhibidores de anhidrasa carbónica, osmóticos (tales como glicerina) y antagonistas de aldosterona, tales como espironolactona, epirenona, y similares; (2) bloqueadores beta-adrenérgicos tales como acebutolol, atenolol, betaxolol, bevantolol, bisoprolol, bopindolol, carteolol, carvedilol, celiprolol, esmolol, indenolol, metaprolol, nadolol, nebivolol, penbutolol, pindolol, propanolol, sotalol, tertatolol, tilisolol, y timolol, y similares; (3) bloqueadores del canal de calcio tales como amlodipina, aranidipina, azelnidipina, barnidipina, benidipina, bepridilo, cinaldipina, clevidipina, diltiazem, efonidipina, felodipina, gallopamilol, isradipina, lacidipina, lemidipina, lercanidipina, nicardipina, nifedipina, nilvadipina, nimodipina, nisoldipina, nitrendipina, manidipina, pranidipina, y verapamilol y similares; (4) inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (ACE) tales como benazeprilo; captoprilo; ceranaprilo; cilazaprilo; delaprilo; enalaprilo; enalaprilo; fosinoprilo; imidaprilo; lisinoprilo; losinoprilo; moexiprilo; quinaprilo; quinaprilat; ramiprilo; perindoprilol; perinciprilo; quaniprilo; spiraprilo; tenocaprilo; trandolaprilo, y zofenoprilo, y similares; (5) inhibidores de endopeptidasa neutra tales como omapatrilat, cadoxatrilol y ecadotrilol, fosidotrilol, sampatrilat, AVE7688, ER4030, y similares; (6) antagonistas de endotelina tales como tezotentalol, A308165 e YM62899, y similares; (7) vasodilatadores tales como hidralazina, clonidina, minoxidilo, y alcohol nicotínico, y similares; (8) antagonistas del receptor de angiotensina II tales como arosartan, candesartan, eprosartan, irbesartan, losartan, olmesartan, prazosartan, tasosartan, telmisartan, valsartan, y EXP-3137, FI6828K y RNH6270, y similares; (9) bloqueadores  $\alpha/\beta$  adrenérgicos tales como nipradilol, arotinolol y amosulalol, y similares; (10) bloqueadores alfa 1, tales como terazosin, urapidilo, prazosin, tamsulosin, bunazosin, trimazosin, doxazosin, naftopidilo, indoramin, WHP 164, y XENOIO, y similares; (11) agonistas alfa 2 tales como lofedidina, tiamenidina, moxonidina, rilmenidina y guanobenz, y similares; (12) inhibidores de aldosterona y similares; y (13) agentes de unión a angiotensina-2 tales como los desvelados en el documento WO03/030833. Los agentes antihipertensores específicos que pueden usarse en combinación con polipéptidos y agonistas descritos en el presente documento incluyen, pero sin limitación: diuréticos, tales como tiazidas (por ejemplo, clortalidona, ciclotiazida (CAS RN 2259-96-3), clortiazida (CAS RN 72956-09-3, que puede prepararse como se desvela en el documento US2809194), diclorofenamida, hidroflumetiazida, indapamida, politiazida, bendroflumetazida, meticlotiazida, poltiazida, triclorometazida, clortalidona, indapamida, metolazona, quinetazona, altiazida (CAS RN 5588-16-9, que puede prepararse como se desvela en la Patente Británica N° 902.658), benziazida (CAS RN 91-33-8, que puede prepararse como se desvela en el documento US3108097), butiazida (que puede prepararse como se desvela en la Patente Británica N° 861.367) e hidrocortiazida), diuréticos que afectan al asa de Henle (por ejemplo bumetanida, ácido etacrínico, furosemida, y torasemida), agentes ahorradores de potasio (por ejemplo, amilorida y triamtereno (CAS Número 396-01-O)), y antagonistas de aldosterona (por ejemplo espironolactona, (CAS Número 52-01-7), epirenona, y similares); bloqueadores  $\beta$ -adrenérgicos tales como Amiodarona (Cordarona, Pacerona), clorhidrato de bunolol (CAS RN 31969-05-8, Parke-Davis), acebutolol ( $\pm$ N-[3-Acetil-4-[2-hidroxi-3-[(1-metiletil)amino]propoxil]fenil]-butanamida, o ( $\pm$ )-3'-Acetil-4'-[2-hidroxi-3-(isopropilamino) propoxil] butirranilida), clorhidrato de acebutolol (por ejemplo Sectral®, Wiet-Aierst), clorhidrato de alprenolol (CAS RN 13707-88-5 véase Solicitud de Patente de Países Bajos N° 6.605.692), atenolol (por ejemplo Tenormin®, AstraZenoca), clorhidrato de carteolol (por ejemplo Cartrol® Filmtab®, Abbott), clorhidrato de Celiprolol (CAS RN 57470-78-7, véase también en el documento US4034009), clorhidrato de cetamolol (CAS RN 77590-95-5, véase también documento USA4059622), clorhidrato de labetalol (por ejemplo Normodyne®, Schering), clorhidrato de esmolol (por ejemplo Brevibloc®, Baxter), clorhidrato de levobetaxolol (por ejemplo Suspensión Oftálmica Betaxon™, Alcon), clorhidrato de levobunolol (por ejemplo Betagan® Liquifilm® con C CAP® Compliance Cap, Allergan), nadolol (por ejemplo Nadolol, Milan), practolol (CAS RN 6673-35-4, véase también documento US3408387), clorhidrato de propranolol (CAS RN 318-98-9), clorhidrato de sotalol (por ejemplo Betapace AF™, Berlex), timolol (2-Propanol, 1-[(1,1-dimetiletil)amino]-3-[[4-(4-morfolinil)-1,2,5-tiadiazol-3-il]oxi]-, hemihidrato, (S)-, CAS RN 91524-16-2), sal de timolol maleato (S)-I-[(1,1-dimetiletil) amino]-3-[[4-(4-morfolinil)-1,2,5-tiadiazol-3-il]oxi]-2-propanol(Z)-2-butenodioato (1:1), CAS RN 26921-17-5), bisoprolol (2-Propanol, 1-[4-[[2-(1-metiletoxi)etoxi]-metil]fenoxil]-3-[(1-metiletil)amino]-, ( $\pm$ ), CAS RN 66722-44-9), bisoprolol Fumarato (tal como ( $\pm$ )-1-[4-[[2-(1-metiletoxi)etoxi]metil]fenoxil]-3-[(1-metiletil)amino]-2-propanol (E)-2-butenodioato (2:1) (sal), por ejemplo, Zebeta™, Lederle Consumer), nebivolol (2H-I-Benzopiran-2-metanol,  $\alpha\alpha'$ -[imino-bis(metilen)]bis[6-fluoro-3,4-dihidro-, CAS RN 99200-09-6 véase también Patente de Estados Unidos N° 4.654.362), clorhidrato de cicprololol, tal como 2-Propanol, 1-[4-[2-(ciclopropilmetoxi)etoxi]fenoxil]-3-[1-metiletil)amino]-, clorhidrato, A.A.S. RN 63686-79-3), clorhidrato de dexpropranolol (2-Propanol,1-[1-metiletil-amino]-3-(1-naftaleniloxi)-clorhidrato (CAS RN 13071-11-9), clorhidrato de diacetolol (Acetamida, N-[3-acetil-4-[2-hidroxi-3-[(1-metil-etil)amino]propoxil] fenil]-, monoclorhidrato CAS RN 69796-04-9), clorhidrato de dilevalol (Benzamida, 2-hidroxi-5-[1-hidroxi-2-[1-metil-3-fenilpropil]amino]etil]-, monoclorhidrato, CAS RN 75659-08-4), clorhidrato de exaprolol (2-Propanol, 1-(2-ciclohexilfenoxil)-3-[(1-metiletil)amino]-, clorhidrato CAS RN 59333-90-3), flestolol sulfato (ácido Benzoico, 2-fluoro-, 3-[[2-[aminocarbonil]amino]- dimetiletil]amino]-2-hidroxipropil éster, (+)- sulfato (1:1) (sal), CAS RN 88844-73-9; clorhidrato de metalol (Metanosulfonamida, N-[4-[1-hidroxi-2-(metilamino)propil]fenil]-, monoclorhidrato CAS RN 7701-65-7), metoprolol 2-Propanol, 1-[4-(2- metoxietil)fenoxil]-3-[1-metiletil)amino]-; CAS RN 37350-58-6), tartrato de metoprolol (tal como 2-Propanol, 1-[4-(2-metoxietil)fenoxil]-3-[(1-metiletil)amino]-, por ejemplo, Lopressor®, Novartis), pamatolol sulfato (ácido Carbámico, [2-[4-[2-hidroxi-3-[(1-metiletil)amino]propoxil]fenil]-etil]-, metil éster, ( $\pm$ ) sulfato (sal) (2:1), CAS RN 59954-01-7), penbutolol sulfato (2-Propanol, 1-(2-ciclopropilfenoxil)-3-[1,1-dimetiletil)amino] 1, (S)-, sulfato (2:1) (sal), CAS RN 38363-32-5), practolol (Acetamida, N-[4-[2-hidroxi-3-[(1-metiletil)amino]propoxil]fenil]-. CAS RN 6673-35-4); clorhidrato de tiprenolol (Propanol, 1-[(1-metiletil)amino]-3-[2-(metiltio)-fenoxil]-, clorhidrato, ( $\pm$ ), CAS RN 39832-43-4), tolamolol (Benzamida, 4-[2-[[2-hidroxi-3-(2-metilfenoxil)-propil]amino]etoxil]-, CAS RAN 38103-61-6), bopindolol, indenolol, pindolol,

propranolol, tertatolol, y tilisolol, y similares; bloqueadores del canal de calcio tales como sal de besilato de amlodipina (tal como 3-etil-5-metil-2-(2-aminoetoximetil)-4-(2-clorofenir)-1,4-dihidro-6-metil-3,5-piridindicarboxilato bencenosulfonato, por ejemplo, Norvasc®, Pfizer), maleato de cletiazem (1,5-Benzotiazepina-4(5H)-ona, 3-(acetiloxi)-8-cloro-5-[2-(dimetilamino)etil]-2,3-dihidro-2-(4-metoxifenil)-(2S-cis)-, (Z)-2-butenodioato (1:1), véase también documento US4567195), isradipina (ácido 3,5-Piridindicarboxílico, 4-(4-benzofurazanil)-1,4-dihidro-2,6-dimetil-, metil 1-metiletil éster, (±)-4(4-benzofurazanil)-1,4-dihidro-2,6-dimetil-3, 5-piridinadicarboxilato, véase también documento US4466972); nimodipina (tal como isopropilo (2- metoxietil) 1,4- dihidro-2,6- dimetil-4-(3-nitrofenil)-3,5-piridina-dicarboxilato, por ejemplo Nimotop®, Bayer), felodipina (tal como etil metil 4-(2,3-diclorofenil)-1,4-dihidro-2,6-dimetil-3,5-piridindicarboxilato-, por ejemplo Plendil® de Liberación Extendida, AstraZeneca LP), nilvadipina (ácido 3,5-Piridindicarboxílico, 2-ciano-1,4-dihidro-6-metil-4-(3-nitrofenil)-3-metil 5-(1-metiletil) éster, véase también documento US3799934), nifedipina (tal como ácido 3,5-piridindicarboxílico, 1,4-dihidro-2,6-dimetil-4-(2-nitrofenil)-, dimetil éster, por ejemplo Comprimidos de Liberación Extendida Procardia XL®, Pfizer), clorhidrato de diltiazem (tal como 1,5-Benzotiazepin-4(5H)-ona, 3-(acetiloxi)-5[2-(dimetilamino)etil]-2,-3-dihidro-2(4-metoxifenil)-, monoclorhidrato, (+)-cis, por ejemplo, Tiazac®, Forest), clorhidrato de verapamil (tal como benceno-acetronitrilo, (alfa)-[[3-[[2-(3,4-dimetoxifenil)etil]metilamino]propil]-3,4-dimetoxi-(alfa)-(1-metiletil) clorhidrato, por ejemplo, Isoptin® SR, Knoll Labs), clorhidrato de teludipina (ácido 3,5-Piridindicarboxílico, 2-[[dimetilamino)metil]4-[2-[(1E)-3-(1,1-dimetiletoxi)-3-oxo-1-propenil]fenil]-1,4-dihidro-6-metil-, dietil éster, monoclorhidrato) CAS RN 108700-03-4), belfosdilo (ácido Fosfónico, [2-(2-fenoxi etil)-1,3-propano-diil]bis-, tetrabutyl éster CAS RN 103486-79-9), fostedilo (ácido Fosfónico, [[4-(2-benzotiazolil)fenil]metil]-, dietil éster CAS RN 75889-62-2), aranidipina, azelnidipina, barnidipina, benidipina, bepridilo, cinaldipina, clevidipina, efonidipina, galopamil, lacidipina, lemildipina, lercanidipina, monatepil maleato (1-Piperazinbutanamida, N-(6,11-dihidrodibenzo(b,e)tiepin-11-il)-4-(4-fluorofenil)-, (+)-, (Z)-2-butenodioato (1:1) (±)-N-(6,11-Dihidrodibenzo(b,e)tiep- in-11-il)-4-(p-fluorofenil)-1-piperazinbutiramida maleato (1:1) CAS RN 132046-06-1), nicardipina, nisoldipina, nitrendipina, manidipina, pranidipina y similares; antagonistas del canal de calcio T tales como mibefradilo; inhibidores de la enzima convertora de angiotensina (ACE) tales como benazeprilo clorhidrato de benazeprilo (tal como monoclorhidrato de ácido 3-[[1-(etoxicarbonil)-3-fenil-(1S)-propil]amino]-2,3,4,5-tetrahidro-2-oxo-1H-(3S)-benzazepin-1-acético, por ejemplo, Lotrel®, Novartis), captopril (tal como 1-[(2S)-3-mercaptopropionil]-L-prolina, por ejemplo, Captopril, Mylan, CAS RN 62571-86-2 y otros desvelados en el documento US4046889), ceranapril (y otros desvelados en el documento US4452790), cetapril (alaceprilo, Dainippon desvelado en Eur. Therap. Res. 39: 671 (1986); 40: 543 (1986)), cilzapril (Hoffman-LaRoche) desvelado en J. Cardiovasc. Pharmacol. 9: 39 (1987), indalapril (clorhidrato de delapril (2H-1,2,4-Benzotiazepin-7-sulfonamida, 3-biciclo[2.2.1]hept-5-en-2-il-6-cloro-3,4-dihidro-,1,1-dióxido CAS RN 2259-96-3); desvelado en el documento US4385051), enalapril (y otros desvelados en el documento US4374829), enalapril, enalaprilat, fosinopril, ((tal como L-prolina, 4-ciclohexil-1-[[[2-metil-1-(1-oxopropoxi)propoxi](4-fenilbutil) fosinil]acetil]-, sal sódica, por ejemplo, Monopril, Bristol-Myers Squibb y otros desvelados en el documento US4168267), fosinopril sódico (L-Prolina, 4-ciclohexil-1-[[[(R)-[(1S)-2-metil-1-(1-oxopropoxi)propox], imidapril, indolapril (Schering, desvelado en J. Cardiovasc. Pharmacol. 5: 643, 655 (1983)), lisinopril (Merck), losinopril, moexipril, clorhidrato de moexipril (ácido 3-Isoquinolincarboxílico, 2-[[2(S)-2-[[[(1S)-1-(etoxicarbonil)-3-fenilpropil]amino]-1-oxopropil]-1,2,3,4-tetrahidro-6,7-dimetoxi-, monoclorhidrato, (3S)- CAS RN 82586-52-5), quinapril, quinaprilat, ramipril (Hoechst) desvelado en el documento EP 79022 y Curr. Ther. Res. 40: 74 (1986)), perindopril erbumina (tal como ácido 2S,3aS,7aS-1-[(S)-N-[(S)- 1 - Carboxibutil]alanil]hexahidro-indolincarboxílico, 1-etil éster, compuesto con *terc*-butilamina (1:1), por ejemplo, Aceon®, Solvay), perindopril (Servier, desvelado en Eur. J. clin. Pharmacol. 31: 519 (1987)), quanipril (desvelado en el documento US4344949), espirapril (Schering, desvelado en el documento Acta. Pharmacol. Toxicol. 59 (Sup. 5): 173 (1986)), tenocapril, trandolapril, zofenopril (y otros desvelados en el documento US4316906), rentiapril (fentiapril, desvelado en el documento Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. 10: 131 (1983)), pivopril, YS980, teprotida (potenciador de Bradiquinina BPP9a CAS RN 35115-60-7), BRL 36.378 (Smith Klina Beecham, véase EP80822 y EP60668), MC-838 (Chugai, véase CA. 102:72588v y Jap. J. Pharmacol. 40: 373 (1986)), CGS 14824 (Ciba-Geigy, ácido 3-[[1-etoxicarbonil-3-fenil-(1S)-propil]amino]-2,3,4,5-tetrahidro-2-oxo-1-(3S)-benzazepin-1 acético HCl, véase Patente del Reino Unido Nº 2103614), CGS 16,617 (Ciba-Geigy, ácido 3(S)-[[[(1S)-5-amino-1-carboxipentil]amino]-2,3,4, - 5-tetrahidro-2-oxo-1H-1-benzazepin-1-etanoico, véase documento US4473575), Ru 44570 (Hoechst, véase Arzneimittelforschung 34: 1254 (1985)), R 31-2201 (Hoffman-LaRoche véase FEBS Lett. 165: 201 (1984)), C1925 (Pharmacologist 26: 243, 266 (1984)), WY-44221 (Wyeth, véase J. Med. Chem. 26: 394 (1983)), y los desvelados en el documento USA2003006922 (párrafo 28), US4337201, US4432971 (fosfonamidatos): inhibidores de endopeptidasa neutra tales como omapatrilat (Vanlev®), CGS 30440, cadoxatril y ecadotril, fasidotril (también conocido como aladotril o alatriopril), sampatrilat, mixanprilo, y gemopatrilat, AVE7688, ER4030, y los desvelados en los documentos US5362727, US5366973, US5225401, US4722810, US5223516, US4749688, US5552397, US5504080, US5612359, US5525723, EP0599444, EP0481522, EP0599444, EP0595610, EP0534363, EP534396, EP534492, EP0629627; antagonistas de endotelina tales como tezosentan, A308165, y YM62899, y similares; vasodilatadores tales como hidralazina (apresolina), clonidina (clorhidrato de clonidina (1H-Imidazol-2-amina. N-(2,6-diclorofenil)4,5-dihidro-, monoclorhidrato CAS RN 4205-91-8). Catapres, minoxidilo (loniten), alcohol nicotínico (roniacol), clorhidrato de diltiazem (tal como 1,5-Benzotiazepin-4(5H)-ona, 3-(acetiloxi)-5[2-(dimetilamino)etil]-2,-3-dihidro-2(4-metoxifenil)-, monoclorhidrato, (+)-cis, por ejemplo, Tiazac®, Forest), dinitrato de isosorbida (tal como 1,4:3,6-dianhidro-D-glucitol 2,5-dinitrato, por ejemplo, Isordil® Titrados®, Wyeth-Ayerst), mononitrato de sosorbida (tal como 1,4:3,6-dianhidro-D-glucito-1,5-nitrato, un nitrato orgánico, por ejemplo, Ismo®, Wyeth-Ayerst), nitroglicerina (tal como 2,3 propanotriol trinitrato, por ejemplo, Nitrostat® Parke- Davis), clorhidrato de verapamil (tal como

bencenoacetnitrilo, (±)-(alfa)[3-[[2-(3,4 dimetoxifenil)etil]metilamino]propil]-3,4-dimetoxi-(alfa)-(1-metiletil) clorhidrato, por ejemplo, Covera HS® de Liberación Extendida, Searle), cromonar (que puede prepararse como se desvela en el documento US3282938), clonitato (Annalen 1870 155), droprenilamina (que puede prepararse como se desvela en el documento DE2521113), lidoflazina (que puede prepararse como se desvela en el documento US3267104);

5 prenilamina (que puede prepararse como se desvela en el documento US3152173), propatil nitrato (que puede prepararse como se desvela en la Patente Francesa N° 1.103.113), clorhidrato de mioflazina (1-Piperazinacetamida, 3-(aminocarbonil)<sub>4</sub>-[4,4-bis(4-fluorofenil)butil]-N-(2,6-diclorofenil)-, diclorhidrato CAS RN 83898-67-3), mixidina (Bencenoetanamina, 3,4-dimetoxi-N-(1-metil-2-pirrolidinilideno)-Pirrolidina, 2-[(3,4-dimetoxifenil)imino]-1-metil-1-

10 metil-2-[(3,4-dimetoxifenil)imino]pirrolidina CAS RN 27737-38-8), molsidomina (1,2,3-Oxadiazolio, 5-[(etoxicarbonil)amino]-3-(4-morfolinil)-, sal interna CAS RN 25717-80-0), mononitrato de isosorbida (D-Glucitol, 1,4:3,6-dianhidro-, 5-nitrato CAS RN 16051-77-7), eritritil tetranitrato (1,2,3,4-Butanotetrol, tetranitrato, (2R,3S)-rel-CAS RN 7297-25-8), clonitrato (1,2-Propanodiol, 3-cloro-, dinitrato (7Cl, 8Cl, 9Cl) CAS RN 2612-33-1), dipiridamol Etanol, 2,2',2'',2''''-[(4,8-di-1-piperidinilpirimido[5,4-d]pirimidin-2,6-diil)dinitrilo]tetrakis- CAS RN 58-32-2), nicorandilo (CAS RN 65141-46-0 3-), piridincarboxamida (N-[2-(nitrooxi)etil]-Nisoldipina 3,5- ácido Piridindicarboxílico, 1,4-

15 dihidro-2,6-dimetil-4-(2-nitrofenil)-, metil 2-metilpropil éster CAS RN 63675-72-9), ácido nifedipin 3,5-Piridindicarboxílico, 1,4-dihidro-2,6-dimetil-4-(2-nitrofenil)-, dimetil éster CAS RN 21829-25-4), maleato de perhexilina (Piperidina, 2-(2,2-diciclohexiletil)-, (2Z)-2-butenodioato (1:1) CAS RN 6724-53-4), clorhidrato de oxprenolol (2-Propanol, 1-[(1-metiletil)amino]-3-[2-(2-propeniloxi)fenoxi]-, clorhidrato CAS RN 6452-73-9), pentritinol (1,3-Propanodiol, 2,2-bis[(nitrooxi)metil]-, mononitrato (éster) CAS RN 1607-17-6), verapamilo (Bencenoacetnitrilo, α-[3-[[2-(3,4-dimetoxifenil)etil]-metilamino]propil]-3, 4-dimetoxi-α-(1-metiletil)- CAS RN 52-53-9) y similares; antagonistas del receptor de angiotensina II tales como, aprosartan, zolasartan, olmesartan, prazosartan, FI6828K, RNH6270, candesartan (ácido 1H-Benzimidazol-7-carboxílico, 2-etoxi-1-[[2'-(1H-tetrazol-5-il)[1,1'-bifenil]4-il]metil]- CAS RN 139481-59-7), candesartan cilexetilo ((+/-)-1-(ciclohexilcarboniloxi)etil-2-etoxi-1-[[2'-(1H-tetrazol-5-il)bifenil-4-il]-1H-benzimidazol carboxilato, CAS RN 145040-37-5, documentos US5703110 y US5196444), eprosartan (ácido 3-[1-4-carboxifenilmetil]-2-n-butyl-imidazol-5-il)-(2-tienilmetil) propenoico, documentos US5185351 y US5650650), irbesartan (2-n-butyl-3-[[2'-(1h-tetrazol-5-il)bifenil-4-il]metil]1,3-diazaespiro[4,4]non-1-en-4-ona, documentos US5270317 y USA5352788), losartan (2-N-butyl-4-cloro-5-hidroximetil-1-[[2'-(1H-tetrazol-5-il)bifenil-4-il]-metil]imidazol, sal potásica, documentos US5138069, US5153197 y US5128355), tasosartan (5,8-dihidro-2,4-dimetil-8-[[2'-(1H-tetrazol-5-il)[1,r-bifenil]4-il]metil]-pirido[2,3-d]pirimidin-7(6H)-ona, documento US5149699), telmisartan (ácido 4'-[(1,4-diinetal-2'-propil-(2,6'-bi-1H-benzimidazol)-r-il)]-[1,1'-bifenil]-2-carboxílico, CAS RN 1444701-48-4, documento USA5591762), milfasartan, abitesartan, valsartan (Diovan® (Novartis), (S)-N-valeril-N-[[2'-(1H-tetrazol-5-il)bifenil-4-il]metil]valina, documento US5399578), EXP-3137 (ácido 2-N-butyl-4-cloro-1-[[2'-(1H-tetrazol-5-il)bifenil-4-il]-metil]imidazol-5-carboxílico, documentos US5138069, US5153197 y US5128355), 3-(2'-(tetrazol-5-il)-1,r-bifen-4-il)metil-5,7-dimetil-2-etil-3H-imidazo[4,5-b]piridina, ácido 4'[2-etil-4-metil-6-(5,6,7,8-tetrahidroimidazol[1,2-a]piridin-2-il)-benzimidazol-1-il]-metil]-l,r-bifenil]-2-carboxílico, 2-butyl-6-(1-metoxi-1-metiletil)-2-[[2'-(1H-tetrazol-5-il)bifenil-4-il]metil]quinazolin-4(3H)-ona, 3-[2'-carboxibifenil-4-il]metil]-2-ciclopropil-7-metil-3H-imidazo[4,5-b]piridina, ácido 2-butyl-4-cloro-1-[[2'-(1H-tetrazol-5-il)bifenil-4-il]metil]imidazol-carboxílico, sal potásica de ácido 2-butyl-4-cloro-1-[[2'-(1H-tetrazol-5-il) [1,1'-bifenil]-4-il]metil]-1 H-imidazol-5-carboxílico-1-(etoxicarboniloxi)etil éster, 2-butyl-4-(metiltilio)-1-[[2-[[[(propilamino)carbonil]amino]-sulfonil](1,1'-bifenil)-4-il]metil]-1H-imidazol-5-carboxilato dipotásico, metil-2-[[4-butyl-2-metil-6-oxo-5-[[2'-(1H-tetrazol-5-il)-[1,1'-bifenil]-4-il]metil]-1-(6H)-pirimidinil]metil]-3-tiofencarboxilato, 5-[[3,5-dibutyl-1H-1,2,4-triazol-1-il]metil]-2-[[2-(1H-tetrazol-5-ilfenil)]piridina, 6-butyl-2-(2-feniletil)-5[[2'-(1H-tetrazol-5-il)[1,1'-bifenil]-4-metil]pirimidin-4(3H)-ona D, L, sal de lisina, 5-metil-7-n-propil-8-[[2'-(1H-tetrazol-5-il)bifenil-4-il]metil]-[1,2,4]-triazolo[1,5-c]pirimidin-2(3H)-ona, sal potásica de 2,7-dietil-5-[[2'-(5-tetrazoli)bifenil-4-il]metil]-5H-pirazolo[1,5-b][1,2,4]triazol, ácido 2-[[2-butyl-4,5-dihidro-4-oxo-3-[[2'-(1H-tetrazol-5-il)-4-bifenilmetil]-3H-imidazol[4,5-c]piridin-5-il]metil]benzoico, etil éster, sal potásica, 3-metoxi-2,6-dimetil-4-[[2'-(1H-tetrazol-5-il)-1,1'-bifenil-4-il]metil]metoxi]piridina, ácido 2-etoxi-1-[[2'-(5-oxo-2,5-dihidro-1,2,4-oxadiazol-3-il)bifenil-4-il]metil]-1H-benzimidazol-7-carboxílico, ácido 1-[N-(2'-(1H-tetrazol-5-il)bifenil-4-il-metil)-N-valerolilaminometil]ciclopentano-1-carboxílico, 7-metil-2-n-propil-3-[[2'1H-tetrazol-5-il)bifenil-4-il]metil]-3H-imidazo[4,5-b]piridina, benzoato de 2-[5-[[2-etil-5,7-dimetil-3H-imidazo[4,5-b]piridina-3-il]metil]-2-quinolinil]sodio, 2-butyl-6-cloro-4-hidroximetil-5-metil-3-[[2'-(1H-tetrazol-5-il)bifenil-4-il]metil]piridina, ácido 2-[[[2-butyl-1-[(4-carboxifenil)metil]-1H-imidazol-5-il]metil]amino]benzoico tetrazol-5-il)bifenil-4-il]metil]pirimidin-6-ona, 4(S)-[4-(carboximetil)fenoxi]-N-[2(R)-[4-(2-sulfobenzamido)imidazol-1-il]octanoil]-L-prolina, 1-(2,6-dimetilfenil)-4-butyl-1,3-dihidro-3-[[6-[[2-(1H-1-tetrazol-5-il)fenil]-3-piridinil]metil]-2H-imidazol-2-ona, 5,8-etanol, 8-dimetil-2-n-propil-5,6,7,8-tetrahidro-1-[[2'-(1H-tetrazol-5-il)bifenil-4-il]metil]-1H, 4H-1,3,4a,8a-tetrazaciclopentanaftaleno-9-ona, 4-[1-2'-(1,2,3,4-tetrazol-5-il)bifen-4-il]metilamino]-5,6,7,8-tetrahidro-2-trifilquinazolina, 2-(2-clorobenzoil)imino-5-etil-3-[[2'-(1H-tetrazol-5-il)bifenil-4-il]metil]-1,3,4-tiadiazolina, sal dipotásica de ácido 2-[5-etil-3-[[2-(1H-tetrazol-5-il)bifenil-4-il]metil]-1,3,4-tiazolin-2-iliden]aminocarbonil-1-ciclopentencarboxílico, y ácido 2-butyl-4-[N-metil-N-(3-metilcrotonoil)amino]-1-[[2'-(1H-tetrazol-5-il)bifenil-4-il]metil]-1 H-imidazol-5-carboxílico 1-etoxicarboniloxietil éster, los desvelados en las publicaciones de patente EP475206, EP497150, EP539086, EP539713, EP535463, EP535465, EP542059, EP497121, EP535420, EP407342, EP415886, EP424317, EP435827, EP433983, EP475898, EP490820, EP528762, EP324377, EP323841, EP420237, EP500297, EP426021, EP480204, EP429257, EP430709, EP434249, EP446062, EP505954, EP524217, EP514197, EP514198, EP514193, EP514192, EP450566, EP468372, EP485929, EP503162, EP533058, EP467207, EP399731, EP399732, EP412848, EP453210, EP456442, EP470794, EP470795, EP495626, EP495627, EP499414, EP499416, EP499415, EP511791, EP516392, EP520723, EP520724, EP539066, EP438869, EP505893, EP530702, EP400835, EP400974, EP401030, EP407102, EP411766, EP409332, EP412594, EP419048, EP480659, EP481614, EP490587,



EP467715, EP479479, EP502725, EP503838, EP505098, EP505111, EP513.979 EP507594, EP510812,  
 EP511767, EP512675, EP512676, EP512870, EP517357, EP537937, EP534706, EP527534, EP540356,  
 EP461040, EP540039, EP465368, EP498723, EP498722, EP498721. EP515265, EP503785, EP501892,  
 EP519831, EP532410, EP498361, EP432737, EP504888, EP508393, EP508445, EP403159, EP403158,  
 5 EP425211, EP427463, EP437103, EP481448, EP488532, EP501269, EP500409, EP540400, EP005528,  
 EP028834, EP028833, EP411507, EP425921, EP430300, EP434038, EP442473, EP443568, EP445811,  
 EP459136, EP483683, EP518033, EP520423, EP531876, EP531874, EP392317, EP468470, EP470543,  
 EP502314, EP529253, EP543263, EP540209, EP449699, EP465323, EP521768, EP415594, WO92/14468,  
 WO93/08171, WO93/08169, WO91/00277, WO91/00281, WO91/14367, WO92/00067, WO92/00977, WO92/20342,  
 10 WO93/04045, WO93/04046, WO91/15206, WO92/14714, WO92/09600, WO92/16552, WO93/05025, WO93/03018,  
 WO91/07404, WO92/02508, WO92/13853, WO91/19697, WO91/11909, WO91/12001, WO91/11999, WO91/15209,  
 WO91/15479, WO92/20687, WO92/20662, WO92/20661, WO93/01177, WO91/14679, WO91/13063, WO92/13564,  
 WO91/17148, WO91/18888, WO91/19715, WO92/02257, WO92/04335, WO92/0516, WO92/07852, WO92/15577,  
 WO93/03033, WO91/16313, WO92/00068, WO92/02510, WO92/09278, WO92/10179, WO92/10180, WO92/10186,  
 15 WO92/10181, WO92/10097, WO92/10183, WO92/10182, WO92/10187, WO92/10184, WO92/10188, WO92/10180,  
 WO92/10185, WO92/20651, WO93/03722, WO93/06828, WO93/03040, WO92/19211, WO92/22533, WO92/06081,  
 WO92/05784, WO93/00341, WO92/04343, WO92/04059, US5104877, US5187168, US5149699, US5185340,  
 US4880804, US5138069, US4916129, US5153197, US5173494, US5137906, US5155126, US5140037,  
 US5137902, US5157026, US5053329, US5132216, US5057522, USA5066586, US5089626, US5049565,  
 20 US5087702, US5124335, US5102880, US5128327, US5151435, US5202322, US5187159, US5198438,  
 US5182288, US5036048, US5140036, US5087634, US5196537, US5153347, US5191086, US5190942,  
 US5177097, US5212177, US5208234, US5208235, USA5212195, US5130439, US5045540, US5041152 y  
 US5210204, y sales y ésteres farmacéuticamente aceptables de los mismos; bloqueadores  $\alpha/\beta$  adrenérgicos tales  
 como nipradilol, arotinilol, amosulalol, tosilito de bretilio (CAS RN: 61-75-6), mesilito de dihidroergtamina (tal como  
 25 ergotaman-3', 6',18-triona, 9-10-dihidro-12'-hidroxi-2'-metil-5'-(fenilmetil)-, (5'( $\alpha$ ))-, monometanosulfonato, por  
 ejemplo, Inyección de DHE 45®, Novartis), carvedilol (tal como ( $\pm$ )-1-(Carbazol-4-iloxi)-3-[[2-(o-  
 metoxifenoxi)etil]amino]-2-propanol, por ejemplo, Coreg®, SmithKline Beecham), labetalol (tal como monoclóhidrato  
 de 5-[1-hidroxi-2-[(1-metil-3-fenilpropil)amino] etil]salicilamida, por ejemplo, Normodyne®, Schering), tosilito de  
 30 bretilio (Benzenometanamino, 2-bromo-N-etil-N,N-dimetil-, sal con ácido 4-metilbencenosulfónico (1:1) CAS RN 61-  
 75-6), mesilito de fentolamina (Fenol, 3-[[4,5-dihidro-1H-imidazol-2-il]metil]-(4-metilfenil)amino)-,  
 monometanosulfonato (sal) CAS RN 65-28-1), tartrato de solipertina (5H-1,3-Dioxolo[4,5-f]indol, 7-[2-[4-(2-  
 metoxifenil)-1-piperazinil]etil]-, (2R,3R)-2, 3-dihidrobutanodioato (1:1) CAS RN 5591-43-5), clorhidrato de zolertina  
 (Piperazina, 1-fenil-4-[2-(1H-tetrazol-5-il)etil]-, monoclóhidrato de (8Cl, 9Cl) CAS RN 7241-94-3) y similares;  
 35 bloqueadores de receptor  $\alpha$  adrenérgico, tales como alfuzosina (CAS RN: 81403-68-1), terazosina, urapidilo,  
 prazosina (Minipress®), tamsulosina, bunazosina, trimazosina, doxazosina, naftopidilo, indoramina, WHP 164,  
 XENOIO, clorhidrato de fenspirida (que puede prepararse como se desvela en el documento US3399192),  
 proroxano (CAS RN 33743-96-3), y clorhidrato de labetalol y combinaciones de los mismos; agonistas  $\alpha 2$  tales  
 como metildopa, metildopa HCL, lofexidina, tiamenidina, moxonidina, rilmenidina, guanobenz y similares; inhibidores  
 40 de aldosterona y similares; inhibidores de renina incluyendo Aliskiren (SPPIOO; Novartis/Speedel); agentes de unión  
 a angiopoyetina-2 tales como los desvelados en el documento WO03/030833; agentes anti-angina tales como  
 ranolazina (clorhidrato 1-Piperazinacetamida, N-(2,6-dimetilfenil)-4-[2-hidroxi-3-(2-metoxifenoxi)propil]-, diclorhidrato  
 CAS RN 95635-56-6), clorhidrato de betaxolol (2-Propanol, 1-[4-[2(ciclopropilmetoxi)etil]fenoxi]-3-[(1-metiletil)amino]-  
 , clorhidrato CAS RN 63659-19-8), clorhidrato de butoprozina (Metanona, [4-[3(dibutilamino)propoxi]fenil](2-etil-3-  
 45 indolizil)-, monoclóhidrato CAS RN 62134-34-3), cinapazet maleatel-ácido Piperazinacético, 4-[1-oxo-3-(3,4,5-  
 trimetoxifenil)-2-propenil]-, etiléster, (2Z)-2-butenodioato (1:1) CAS RN 50679-07-7), tosifeno (Bencenosulfonamida,  
 4-metil-N-[[[(1S)-1-metil-2-feniletil]amino]carbonil]- CAS RN 32295-184), verapamil clorhidrato (Bencencetonitrilo,  
 $\alpha$ -[3-[[2-(3,4-dimetoxifenil)etil]metilamino]propil]-3,4-dimetoxi- $\alpha$ -(1-metiletil)-, monoclóhidrato CAS RN 152-114),  
 molsidomina (1,2,3-Oxadiazolio 5-[(etoxicarbonil)amino]-3-(4-morfolinil)-, sal interna CAS RN 25717-80-0), y  
 50 clorhidrato de ranolazina (1-Piperazinacetamida, N-(2,6-dimetilfenil)-4-[2-hidroxi-3-(2-metoxifenoxi)propil]-,  
 diclorhidrato CAS RN 95635-56-6); tosifeno (Bencenosulfonamida, 4-metil-N-[[[(1S)-1-metil-2-feniletil]amino]carbonil]-  
 CAS RN 32295-184); estimulantes adrenérgicos tales como clorhidrato de guanfacina (tal como clorhidrato de N-  
 amidino-2-(2,6-diclorofenil)acetamida, por ejemplo, Comprimidos Tenex® disponibles de Robins);  
 metildopahidroclorotiazida (tal como levo-3-(3,4-dihidroxifenil)-2-metilalanina) combinado con Hidroclorotiazida (tal  
 como 6-cloro-3,4-dihidro-2H-1,2,4-benzotiadiazina-7-sulfonamida 1,1-dióxido, por ejemplo, la combinación como, por  
 55 ejemplo, Comprimidos Aldoril® disponibles de Merck), metildopaclorotiazida (tal como 6-cloro-2H-1, 2,4-  
 benzotiadiazin-7-sulfonamida 1,1-dióxido y metildopa como se ha descrito anteriormente, por ejemplo, Aldoclor®,  
 Merck), clorhidrato de clonidina (tal como clorhidrato de 2-(2,6-diclorofenilamino)-2-imidazolina y clortalidona (tal  
 como 2-cloro-5-(1-hidroxi-3-oxo-1-isoindolinil) bencenosulfonamida), por ejemplo, Combipres®, Boehringer  
 Ingelheim), clorhidrato de clonidina (tal como clorhidrato de 2-(2,6-diclorofenilamino)-2-imidazolina, por ejemplo,  
 60 Catapres®, Boehringer Ingelheim), clonidina (1H-Imidazol-2-amina, N-(2,6-diclorofenil)4,5-dihidro-CAS RN 4205-90-  
 7), Hyzaar (Merck; una combinación de losartan e hidroclorotiazida), Co-Diovan (Novartis; una combinación de  
 valsartan e hidroclorotiazida, Lotrel (Novartis; una combinación de benazeprilo y amlodipina) y Caduet (Pfizer; una  
 combinación de amlodipina y atorvastatina), y los agentes desvelados en el documento US20030069221.



1,2,4-triazolo[4,3-a][1,2,3,4]annuleno, y los compuestos desvelados en los documentos WO01/90091, WOO 1/90090, WOO 1/90092 y WO02/072084; antagonistas de 5HT tales como los de los documentos WO03/037871, WO03/037887, y similares; modulares de 5HT $\alpha$  tales como carbidopa, benserazida y los desvelados en los documentos US6207699, WO03/031439, y similares; agonistas de 5HT $2c$  (receptor de serotonina 2c), tales como BVT933, DPCA37215, IK264, PNU 22394, WAY161503, R-1065, SB 243213 (Glaxo Smith Kline) e YM 348 y los desvelados en los documentos US3914250, WO00/77010, WO02/36596, WO02/48124, WO02/10169, WO01/66548, WO02/44152, WO02/51844, WO02/40456 y WO02/40457; moduladores del receptor de 5HT $6$ , tales como los de los documentos WO03/030901, WO03/035061, WO03/039547, y similares; acil-estrógenos, tales como oleoil-estróna, desvelados en Mar-Grasa, M. *et al*, Obesity Research, 9: 202-9 (2001) y la Solicitud de Patente Japonesa N $^{\circ}$  JP 2000256190; compuestos bicíclicos anorexigénicos tales como 1426 (Aventis) y 1954 (Aventis), y los compuestos desvelados en los documentos WO00/18749, WO01/32638, WO01/62746, WO01/62747 y WO03/015769; agonistas inversos/antagonistas de CB 1 (receptor canabinoide-1) tales como rimonabant (Acomplia; Sanofi), SR-147778 (Sanofi), SR-141716 (Sanofi), BAY 65-2520 (Bayer), y SLV 319 (Solway), y los desvelados en las publicaciones de patente US4973587, US5013837, US5081122, US5112820, US5292736, US5532237, US5624941, USA6028084, US6509367, US6509367, WO96/33159, WO97/29079, WO98/31227, WO98/33765, WO98/37061, WO98/41519, WO98/43635, WO98/43636, WO99/02499, WO00/10967, WO00/10968, WO01/09120, WO01/58869, WO01/64632, WO01/64633, WO01/64634, WO01/70700, WO01/96330, WO02/076949, WO03/006007, WO03/007887, WO03/020217, WO03/026647, WO03/026648, WO03/027069, WO03/027076, WO03/027114, WO03/037332, WO03/040107, WO03/086940, WO03/084943 y EP658546; agonistas de CCK-A (colecistokinina-A), tales como AR-R15849, GI 181771 (GSK), JMV-180, A-71378, A-71623 y SR146131 (Sanofi), y los descritos en el documento US5739106; CNTF (factores neurotróficos Ciliares), tales como GI-181771 (Glaxo-SmithKline), SRI46131 (Sanofi Synthelabo), butabindida, PD 170.292 y PD 149164 (Pfizer); derivados de CNTF, tales como Axokine $^{\circ}$  (Regeneron), y los desvelados en los documentos WO94/09134, WO98/22128 y WO99/43813; inhibidores de dipeptidil peptidasa IV (DP-IV), tales como tiarolidida de isoleucina, pirrolidida de valina, NVP-DPP728, LAF237, P93/01, P 3298, TSL 225 (ácido triptofil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-3-carboxílico; desvelado en Yamada *et al*, Bioorg. & Med. Chem. Lett. 8 (1998) 1537-1540), TMC-2A/2B/2C, inhibidores de CD26, FE 999011, P9310/K364, VIP 0177, SDZ 274-444, 2-cianopirrolididas y 4-cianopirrolididas como se desvela en Ashworth *et al*. Bioorg. & Med. Chem. Lett., Vol. 6, N $^{\circ}$  22, pp 1163-1166 y 2745-2748 (1996) y los compuestos desvelados en las publicaciones de patente WO99/38501, WO99/46272, WO99/67279 (Probiodrug), WO99/67278 (Probiodrug), WO99/61431 (Probiodrug), WO02/083128, WO02/062764, WO03/000180, WO03/000181, WO03/000250, WO03/002530, WO03/002531, WO03/002553, WO03/002593, WO03/004498, WO03/004496, WO03/017936, WO03/024942, WO03/024965, WO03/033524, WO03/037327 y EP1258476; antagonistas/agonistas del receptor de secretagogos de hormona del crecimiento, tales como NN703, hexarelina, MK- 0677 (Merck), SM-130686, CP-424391 (Pfizer), LY 444.711 (Eli Lilly), L-692.429 y L-163.255, y tales como los desvelados en el documento USSN 09/662448, solicitud provisional de Estados Unidos 60/203335, documentos US6358951, US2002049196, US2002/022637, WO01/56592 y WO02/32888; agonistas inversos/antagonistas de H3 (histamina H3), tales como tioperamida, 3-(1H-imidazol-4-il)propil N-(4-pentenil)carbamatato, clobenpropit, yodofenpropit, imoproxifan, GT2394 (Gliatech), y A331440, O-[3-(1H-imidazol-4-il)propanol]carbamatatos (Kiec-Kononowicz, K. *et al.*, Pharmazie, 55: 349-55 (2000)), antagonistas del receptor de histamina H3 que contienen piperidina (Lazewska, D. *et al.*, Pharmazie, 56: 927-32 (2001)), derivados de benzofenona y compuestos relacionados (Sasse, A. *et al.*, Arch. Pharm. (Weinheim) 334: 45-52 (2001)), N-fenilcarbamatatos sustituidos (Reidemeister, S. *et al.*, Pharmazie, 55: 83-6 (2000)), y derivados de proxifan (Sasse, A. *et al.*, J. Med. Chem. 43: 3335-43 (2000)) y moduladores del receptor de histamina H3 tales como los desvelados en los documentos WO02/15905, WO03/024928 y WO03/024929; derivados de leptina, tales como los desvelados en los documentos US5552524, US5552523, US5552522, US5521283, WO96/23513, WO96/23514, WO96/23515, WO96/23516, WO96/23517, WO96/23518, WO96/23519 y WO96/23520; leptina, incluyendo leptina humana recombinante (PEG-OB, Hoffman La Roche) y leptina humana de metionilo recombinante (Amgen); inhibidores de lipasa, tales como tetrahidrolipstatina (orlistat/Xenical $^{\circ}$ ), Triton WRI 339, RHC80267, lipstatina, teasaponina, dietilumbelliferil fosfato, FL-386, WAY-121898, Bay-N-3176, valilactona, esteracina, ebelactona A, ebelactona B, y RHC 80267, y los desvelados en las publicaciones de patente WO01/77094, US4598089, US4452813, USUS5512565, US5391571, US5602151, US4405644, US4189438 y US4242453; moduladores del metabolismo de lípidos tales como ácido maslínico, eritrodilol, ácido ursólico, uvaol, ácido betulínico, betulina y similares y compuestos desvelados en el documento WO03/011267; agonistas de Mc4r (receptor de melanocortina 4), tales como CHIR86036 (Chiron), ME-10142, ME-10145, y HS-131 (Melacure), y los desvelados en las Publicaciones de PCT N $^{\circ}$  WO99/64002, WO00/74679, WOO 1/991752, WOO 1/25192, WOO 1/52880, WOO 1/74844, WOO 1/70708, WO01/70337, WO01/91752, WO02/059095, WO02/059107, WO02/059108, WO02/059117, WO02/06276, WO02/12166, WO02/11715, WO02/12178, WO02/15909, WO02/38544, WO02/068387, WO02/068388, WO02/067869, WO02/081430, WO03/06604, WO03/007949, WO03/009847, WO03/009850, WO03/013509 y WO03/031410; moduladores de Mc5r (receptor de melanocortina 5), tales como los desvelados en los documentos WO97/19952, WO00/15826, WO00/15790, US20030092041; antagonistas del receptor de la hormona concentradora de melanina 1 (MCHR), tales como T-226296 (Takeda), SB 568849, SNP-7941 (Synaptic), y los desvelados en las publicaciones de patente WOO 1/21169, WO01/82925, WO01/87834, WO02/051809, WO02/06245, WO02/076929, WO02/076947, WO02/04433, WO02/51809, WO02/083134, WO02/094799, WO03/004027, WO03/13574, WO03/15769, WO03/028641, WO03/035624, WO03/033476, WO03/033480, JP13226269 y JP1437059; modulares de mGluR5 tales como los desvelados en los documentos WO03/029210, WO03/047581, WO03/048137, WO03/051315, WO03/051833, WO03/053922, WO03/059904, y similares; agentes serotoninérgicos, tales como fenfluramina (tales como Pondimin $^{\circ}$  (Bencenoetanamina, N-etil-alfa-metil-3-

(trifluorometil)-, clorhidrato), Robbins), dexfenfluramina (tal como Redux® (Bencenoetanamina, N-etil-alfa-metil-3-(trifluorometil)-, clorhidrato), Interneuron) y sibutramina ((Meridia®, Knoll/Reductil™) incluyendo mezclas racémicas, como isómeros ópticamente puros (+) y (-), y sales, disolventes, hidratos, clatratos y profármacos de los mismos farmacéuticamente aceptables incluyendo sales de monohidrato de clorhidrato de sibutramina de los mismos, y los compuestos desvelados en los documentos US4746680, USA4806570, y US5436272, US20020006964, WOO 1/27068, y WOO 1/62341; inhibidores del transporte de NE (norepinefrina), tales como GW 320659, despiramina, talsupram y nomifensina; antagonistas de NPY 1, tales como BIBP3226, J-115814, BIBO 3304, LY-357897, CP-671906, GI-264879A, y los desvelados en los documentos US6001836, WO96/14307, WO01/23387, WO99/51600, WO01/85690, WO01/85098, WO01/85173), y WO01/89528; antagonistas de NPY5 (neuropéptido Y Y5), tales como 152.804, GW-569180A, GW-594884A, GW-587081X, GW-548118X, FR235208, FR226928, FR240662, FR252384, 1229U91, GI-264879A, CGP71683A, LY-377897, LY-366377, PD-160170. SR-120562A, SR-120819A, JCF-104 y H409/22 y los compuestos desvelados en las publicaciones de patente US6140354, US6191160, US6218408, USA6258837, US6313298, US6326375, USA6329395, US6335345, USA6337332, USA6329395, USA6340683, EP01010691, EP-01044970, WO97/19682, WO97/20820, WO97/20821, WO97/20822, WO97/20823, WO98/27063, WO00/107409, WO00/185714, WO00/185730, WO00/6488 WO00/68197, WO00/69849, WO01/113917, WO01/09120, WO01/14376, WO01/85714, WO01/85730, WO01/07409, WO01/02379, WO01/23388, WO01/23389, WO01/44201, WO01/62737, WO01/62738, WO01/09120, WO02/20488, WO02/22592, WO02/48152, WO02/49648, WO02/05180 WO02/094789 WO03/009845, WO03/014083, WO03/022849, WO03/028726 y Norman *et al*, J. Med. Chem. 43: 4288-4312 (2000); antagonistas de opioides, tales como nalmefeno (REVEX®), 3-metoxinaltrexona, metilnaltrexona, naloxona y naltrexona (por ejemplo PT901; Pain Therapeutics, Inc.) y los desvelados en los documentos US20050004155 y WO00/21509; antagonistas de orexina, tales como SB-334867-A y los desvelados en las publicaciones de patente WO01/96302, WO01/68609, WO02/44172, WO02/51232, WO02/51838, WO02/089800, WO02/090355, WO03/023561, WO03/032991 y WO03/037847; inhibidores de PDE (por ejemplo, compuestos que ralentizan la degradación de AMP cíclico (AMPC) y/o GMP cíclico (GMPc) mediante inhibición de las fosfodiesterasas, lo que puede conducir a un aumento relativo de la concentración intracelular de AMPC y GMPc; son posibles inhibidores de PDE las sustancias que van a enumerarse entre la clase consistente en los inhibidores de PDE3, la clase consistente en los inhibidores de PDE4 y/o la clase consistente en los inhibidores de PDE5, en particular las sustancias que pueden designarse como tipos mixtos de inhibidores de PDE3/4 o como tipos mixtos de inhibidores de PDE3/4/5) tales como los desvelados en las publicaciones de patente DE1470341, DE2108438, DE2123328, DE2305339, DE2305575, DE2315801, DE2402908, DE2413935, DE2451417, DE2459090, DE2646469, DE2727481, DE2825048, DE2837161, DE2845220, DE2847621, DE2934747, DE3021792, DE3038166, DE3044568, EP000718, EP0008408, EP0010759, EP0059948, EP0075436, EP0096517, EPO112987, EPO1 16948, EP0150937, EP0158380, EP0161632, EP0161918, EP0167121, EP0199127, EP0220044, EP0247725, EP0258191, EP0272910, EP0272914, EP0294647, EP0300726, EP0335386, EP0357788, EP0389282, EP0406958, EP0426180, EP0428302, EP0435811, EP0470805, EP0482208, EP0490823, EP0506194, EP0511865, EP0527117, EP0626939, EP0664289, EP0671389, EP0685474, EP0685475, EP0685479, JP92234389, JP94329652. JP95010875, US4963561, US5141931, WO9117991, WO9200968, WO9212961, WO9307146, WO9315044, WO9315045, WO9318024, WO9319068, WO9319720, WO9319747, WO9319749, WO9319751, WO9325517, WO9402465, WO9406423, WO9412461, WO9420455, WO9422852, WO9425437, WO9427947, WO9500516, WO9501980, WO9503794, WO9504045, WO9504046, WO9505386, WO9508534, WO9509623, WO9509624, WO9509627, WO9509836 WO9514667, WO9514680, WO9514681, WO9517392, WO9517399, WO9519362, WO9522520, WO9524381, WO9527692, WO9528926, WO9535281, WO9535282, WO9600218, WO9601825, WO9602541, WO9611917, DE3142982. DE1 116676, DE2162096, EP0293063. EP0463756, EP0482208, EP0579496, EP0667345 US6331543, US20050004222 (incluyendo los desvelados en fórmulas I-XIII y párrafos 37-39, 85-0545 y 557-577), WO9307124, EP0163965, EP0393500, EP0510562, EP0553174, WO9501338 y WO9603399, así como inhibidores de PDE5 (tales como RX-RA-69, SCH-51866, KT-734, vesnarinona, zaprinast, SKF-96231, ER-21355, BF/GP-385, NM-702 y sildenafil (Viagra™)), inhibidores de PDE4 (tales como etazolato, IC163197, RP73401, imazolidinona (RO-20-1724), MEM 1414 (R1533/R1500; Pharmacia Roche), denbufilina, rolipram, oxagrelato, nitraquazona, Y-590, DH-6471, SKF-94120, motapizona, lixazinona, indolidano, olprinona, atizoram, KS-506-G, dipamfilina, BMY-43351, atizoram, arofilina, filaminast, PDB-093, UCB-29646, CDP-840, SKF-107806, piclamilast, RS-17597, RS-25344-000, SB-207499, TIBENELAST, SB-210667, SB-211572, SB-211600, SB-212066, SB-212179, GW-3600, CDP-840, mopidamol, anagrelida, ibudilast, amrinona, pimobendano, cilostazol, quazinona y N-(3,5-dicloropirid-4-il)-3-ciclopropilmetoxi-4-difluorometoxibenzamida, inhibidores de PDE3 (tales como IC1153, 100, bemorandano (RWJ 22867), MCI-154, UD-CG 212, sulmazol, ampizona, cilostamida, carbazerano, piroximona, imazodan, C1-930, siguazodan, adibendan, saterinona, SKF-95654, SDZ-MKS-492, 349-U-85, emoradan, EMD-53998, EMD-57033, NSP-306, NSP-307, revizinona, NM-702, WIN-62582 y WIN-63291, enoximona y milrinona, inhibidores de PDE3/4 (tales como benafentrina, trequinsina, ORG-30029, zardaverina, L-686398, SDZ-ISQ-844, ORG-20241, EMD-54622 y tolafentrina) y otros inhibidores de PDE (tales como vinpocetina, papaverina, enprofilina, cilomilast, fenoximona, pentoxifilina, roflumilast, tadalafilo (Cialis®), teofilina y vardenafilo (Levitra®)); agonistas de Neuropéptido Y2 (NPY2) incluyendo pero sin limitación: polipéptido MY y fragmentos y variantes de los mismos (por ejemplo YY3-36 (PYY3-36) (N. Engl. J. Med. 349:941, 2003; IKPEAPGE DASPEELNRY YASLRHYLNL VTRQRY (SEC ID N° 258)) y agonistas de PYY tales como los desvelados en los documentos WO02/47712, WO03/026591, WO03/057235 y WO03/027637; inhibidores de la recaptación de serotonina, tales como, paroxetina, fluoxetina (Prozac™), fluvoxamina, sertralina, citalopram e imipramina y los desvelados en los documentos US6162805, USA6365633, WO03/00663, WOO 1/27060 y WOO 1/162341; β

agonistas de hormonas tiroideas, tales como KB-2611 (KaroBioBMS), y los desvelados en los documentos WO02/15845, WO97/21993, WO99/00353, GB98/284425, Solicitud Provisional de Estados Unidos N° 60/183.223, y Solicitud de Patente Japonesa N° JP 2000256190; activadores de UCP-I (proteína de desacoplamiento 1), 2 o 3, tales como ácido fitánico, ácido 4-[(E)-2-(5, 6,7,8- tetrahidro-5,5,8,8-tetrametil-2-naptalenil)-1-propenil]benzoico (TTNPB), ácido retinoico, y los desvelados en el documento WO99/001123; agonistas de  $\beta_3$  (receptor beta adrenérgico 3), tales como AJ9677/TAK677 (Dainippon/Takeda), L750355 (Merck), CP331648 (Pfizer), C-316.243, SB 418790, BRL-37344, L-796568, BMS-196085, BRL-35135A, CGP12177A, BTA-243, GW 427353, Trecadrina, Zeneca D7114, N-5984 (Nisshin Kyorin), LY-377604 (Lilly), SR 59119A, y los desvelados en los documentos US5541204, US5770615, US5491134, US5776983, US488064, USA5705515, US5451677, WO94/18161, WO95/29159, WO97/46556 WO98/04526 y WO98/32753, WO01/74782, WO02/32897, WO03/014113, WO03/016276, WO03/016307, WO03/024948, WO03/024953 y WO03/037881; agentes noradrenérgicos incluyendo, pero sin limitación, dietilpropion (tal como Tenuate® (1- propanona, 2-(dietilamino)-1-fenil-, clorhidrato), Merrell), dextroanfetamina (también conocido como sulfato de dextroanfetamina, dexanfetamina, dexedrina, Dexampex, Ferndex, Oxydess II, Robese, Spancap N° 1), mazindol ((o 5-(p-clorofenil)-2,5-dihidro-3H-imidazo[2,1-a]isoindol-5-ol) tal como Sanorex®, Novartis o Mazanor®, Wyeth Ayerst), fenilpropranolamina (o Bencenometanol, alfa-(1-aminoetil)-clorhidrato), fentermina ((o Fenol, 3-[[4,5-dihidro-1H-imidazol-2-il)etil](4-metilfenil-1)amino], monoclorhidrato) tal como Adipex-P®, Lemmon, FASTIN®, Smith-Kline Beecham e Ionamin®, Medeva), fendimetrazina ((o (2S,3S)-3,4-dimetil-2-fenilmorfolina L-(+)-tartrato (1:1)) tal como Metra® (Forest), Plegine® (Wyeth- Ay erst), Prelu-2® (Boehringer Ingelheim), y Statobex® (Lemmon), tartrato de fendamina (tal como Thephorin® (2,3,4,9-Tetrahidro-2-metil-9-fenil-1H-indenol[2,1-c]piridin L-(+)-tartrato (1:1)), Hoffmann-LaRoche), metanfetamina (tal como Desoxyn®, Abbot (clorhidrato de (S)-N, (alfa)-dimetilbencenoetanamina)), y tartrato de fendimetrazina (tal como Cápsulas de Liberación Lenta de Bontril®, Amarin (-3,4-Dimetil-2-fenilmorfolina Tartrato); inductores/reguladores positivos de la oxidación de ácidos grasos tales como Famoxin® (Genset); inhibidores de monamina oxidasa incluyendo pero sin limitación belfoxatona, moclobemida, brofaromina, fenoxatina, esuprona, befol, toloxatona, pirlindol, amiflamina, sercloremina, bazinaprina, lazabemida, milacemida, caroxazona y ciertos otros compuestos como se desvelan en el documento WO01/12176; y otros agentes anti-obesidad tales como agonistas de 5HT-2, inhibidores de ACC (acetil-CoA carboxilasa) tales como los descritos en el documento WO03/072197, ácido alfa-lipoico (alfa-LA), AOD9604, supresores del apetito tales como los del documento WO03/40107, ATL-962 (Alizyme PLC), benzocaína, clorhidrato de benzfetamina (Didrex), sargazo vejigoso (*Focus vesiculosus*), agonistas de BARS3 (receptor de bombesina subtipo 3), bupropión, cafeína, agonistas de CCK, quitosano, cromo, ácido linoleico conjugado, agonistas de la hormona liberadora de corticotropina, deshidroepiandrosterona, inhibidores de DGATI (diacilglicerol aciltransferasa 1), inhibidores de DGAT2 (diacilglicerol aciltransferase 2), inhibidores del transportador de dicarboxilato, efedra, inhibidores de exendina-4 (un inhibidor de glp-1) FAS (ácido grasa sintasa) (tales como Cerulina y C75), inhibidores de la reabsorción de grasas (tales como los del documento WO03/053451, y similares), inhibidores del transportador de ácidos grasos, fibras solubles en agua naturales (tales como psilio, plantago, guar, avena, pectina), antagonistas de galanina, galega (*Galega Officinalis*, Lila Francesa), *Garcinia cambogia*, camedrio (*Teucrium chamaedrys*), anticuerpos de grelina y antagonistas de grelina (tales como los desvelados en los documentos WO01/87335 y WO02/08250), hormonas polipeptídicas y variantes de las mismas que afectan a la secreción de células de islotes, tales como las hormonas de la familia génica de secretina/polipéptido inhibidor gástrico (GIP)/polipéptido intestinal vasoactivo (VIP)/polipéptido activador de adenilato ciclasa de la hipófisis (PACAP)/polipéptido de tipo glucagón II (GLP- II)/glicentina/glucagón y/o las de la familia génica de adrenomedulina/amilina/calcitonina/polipéptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP) incluyendo agonistas de GLP-1 (polipéptido de tipo glucagón 1) (por ejemplo (1) exendina-4, (2) las moléculas de GLP-1 descritas en el documento US20050130891 incluyendo GLP-1(7-34), GLP-1(7-35), GLP-1(7-36) o GLP-1(7-37) en su forma amidada o carboxilada en el extremo C terminal o como polipéptidos de GLP-1 modificados y modificaciones de los mismos incluyendo los descritos en los párrafos 17-44 del documento US20050130891, y se emplean derivados de GLP-1-(7- 34)COOH y la amida ácida correspondiente que tienen la fórmula general siguiente: R-NH-HAEGTFTSDVSYLEGQAAKEFIWLVK-CONH2 en la que R=H o un compuesto orgánico que tiene de 1 a 10 átomos de carbono. Preferentemente, R es el resto de un ácido carboxílico. Se prefiere particularmente los siguientes restos de ácido carboxílico: formilo, acetilo, propionilo, isopropionilo, metilo, etilo, propilo, isopropilo, *n*-butilo, *sec*-butilo, *terc*-butilo y glp-1 (polipéptido de tipo glucagón 1), antagonistas de glucocorticoides, inhibidores del transportador de glucosa, secretagogos de la hormona del crecimiento (tales como los desvelados y descritos específicamente en el documento US5536716), interleucina-6 (IL-6) y moduladores de la misma (como en el documento WO03/057237, y similares), L-carnitina, agonistas de Mc3r (receptor de melanocortina 3), agonistas/antagonistas de MCH2R (hormona concentradora de melanima 2R), antagonistas de la hormona concentradora de melanima, agonistas de melanocortina (tales como Melanotan II o los descritos en los documentos WO 99/64002 y WO 00/74679), nomame herba, inhibidores del transportador de fosfato, compuesto de phytopharm 57 (CP 644.673), piruvato, inhibidores SCDI (estearoil-CoA desaturasa-1), T71 (Tularik, Inc., Bolder CO), Topiramato (Topimax®, indicado como un anticonvulsivo que se ha mostrado que aumenta la pérdida de peso), moduladores del factor de transcripción (tales como los desvelados en el documento WO03/026576), inhibidores de  $\beta$ -hidroxi esteroide deshidrogenasa-1 ( $\beta$ -HSD-I),  $\beta$ -hidroxi- $\beta$ -metilbutirato, p57 (Pfizer), Zonisamida (Zonegran™, indicado como un antiépiléptico que se ha mostrado que conduce a la pérdida de peso), y los agentes desvelados en el documento US200301 19428 párrafos 20-26.

65

*Agentes antidiabéticos*

Los péptidos GCRA descritos en el presente documento pueden usarse en combinación terapéutica con uno o más agentes antidiabéticos, incluyendo pero sin limitación: agonistas de PPAR $\gamma$  tales como glitazonas (por ejemplo, WAY-120,744, AD 5075, balaglitazona, ciglitazona, darglitazona (CP-86325, Pfizer), englitazona (CP-68722, Pfizer), isaglitazona (MIT/J&J), MCC-555 (Mitsubishi desvelado en el documento USA5594016), pioglitazona (tal como pioglitazona Actos<sup>TM</sup>; Takeda), rosiglitazona (Avandia<sup>TM</sup>; Smith Kline Beecham), maleato de rosiglitazona, troglitazona (Rezulin<sup>®</sup>, desvelado en el documento US4572912), rivoglitazona (CSOI 1, Sankyo), GL-262570 (Glaxo Wellcome), BRL49653 (desvelado en el documento WO98/05331), CLX-0921, 5-BTZD, GW-0207, LG- 100641, JJT-501 (JPNT/P&U), L-895645 (Merck), R-119702 (Sankyo/Pfizer), NN-2344 (Dr. Reddy/NN), YM-440 (Yamanouchi), LY-300512, LY-519818, R483 (Roche), T131 (Tularik), y similares y compuestos desvelados en los documentos US4687777, US5002953, US5741803, US5965584, US6150383, US6150384, US6166042, US6166043, US6172090, US6211205, US6271243, USA6288095, USA6303640, US6329404, US5994554, WO97/10813, WO97/27857, WO97/28115, WO97/28137, WO97/27847, WO00/76488, WO03/000685, WO03/027112, WO03/035602, WO03/048130, WO03/05586 y sales farmacéuticamente de los mismos; biguanidas tales como clorhidrato de metformina (clorhidrato de diamida N,N-dimetilimidocarbonimidica, tal como Glucophage<sup>TM</sup>, Bristol-Myers Squibb); clorhidrato de metformina con gliburida, tal como Glucovance<sup>TM</sup>, Bristol-Myers Squibb); buformina (diamida Imidodicarbonimidica, N-butil-); etoformina (1-Butil-2-etilbiguanida, Schering A. G.); otras formas de sales de metformina (incluyendo cuando la sal se elija del grupo de acetato, benzoato, citrato, ftimarato, embonato, clorofenoxiacetato, glicolato, palmoato, aspartato, metanosulfonato, maleato, paraclorofenoxiisobutirato, formiato, lactato, succinato, sulfato, tartrato, ciclohexanocarboxilato, hexanoato, octanoato, decanoato, hexadecanoato, octodecanoato, bencenosulfonato, trimetoxibenzoato, paratoluenosulfonato, adamantanocarboxilato, glicoxilato, glutamato, pirrolidoncarboxilato, naftalenosulfonato, 1-glucosafosfato, nitrato, sulfato, ditionato y fosfato), y fenformina; inhibidores de proteína tirosina fosfatasa-IB (PTP-IB), tales como A-401,674, KR 61639, OC-060062, OC-83839, OC-297962, MC52445, MC52453, ISIS 113715, y los desvelados en los documentos WO99/585521, WO99/58518, WO99/58522 WO99/61435, WO03/032916, WO03/032982, WO03/041729, WO03/055883, WO02/26707, WO02/26743, JP2002114768, y sales y ésteres farmacéuticamente aceptables de los mismos y ésteres de los mismos; sulfonilureas tales como acetohexamida (por ejemplo Dymelor, Eli Lilly), carbutamida, clorpropamida (por ejemplo Diabinese<sup>®</sup>, Pfizer), gliamilida (Pfizer), gliclazida (por ejemplo Diamcron, Servier Canada Inc), glimepirida (por ejemplo desvelada en el documento US4379785, tal como Amaryl, Aventis), glipentida, glipizida (por ejemplo Glucotrol o Glucotrol XL de Liberación Extendida, Pfizer), gliquidona, glisolamida, gliburida/glibenclamida (por ejemplo Micronasa o Glinasa Prestab, Pharmacia y Upjohn y Diabeta. Aventis), tolazamida (por ejemplo Tolinasas), y tolbutamida (por ejemplo Orinasas), y sales y ésteres farmacéuticamente aceptables de los mismos; meglitinidas tales como repaglinida (por ejemplo Prandin<sup>®</sup>, Novo Nordisk), KAD1229 (PF/Kissei), y nateglinida (por ejemplo Starlix<sup>®</sup>, Novartis), y sales y ésteres farmacéuticamente aceptables de los mismos; inhibidores de  $\alpha$  glucósido hidrolasa (o inhibidores de glucósido) tales como carbosa (por ejemplo Precose<sup>TM</sup>, Bayer desvelado en el documento US4904769), miglitol (tal como GLYSET<sup>TM</sup>, Pharmacia & Upjohn desvelado en el documento USA4639436), camiglibosa (Metil 6-desoxi-6-[(2R,3R,4R,5S)-3,4,5-trihidroxil-2-(hidroximetil)piperidino]-alfa-D-glucopiranosido, Marion Merrell Dow), voglibosa (Takeda), adiposina, emiglitato, pradimicina-Q, salbostatina, CKD-711, MDL-25,637, MDL- 73,945, y MOR 14, y los compuestos desvelados en los documentos US4062950, US4174439, US4254256, US4701559, USA4639436, US5192772, USA4634765, US5157116, US5504078, US5091418, US5217877, US51091 y WOO 1/47528 (poliaminas); inhibidores de  $\alpha$ -amilasa tales como tendamistat, trestatina, y A1-3688, y los compuestos desvelados en los documentos US4451455, US4623714, y US4273765; inhibidores de SGLT2 incluyendo los desvelados en los documentos US6414126 y US6515117; un inhibidor de aP2 tal como el desvelado en el documento US6548529; secretagogos de insulina tales como linogilirida, A-4166, forskilina, dibutiril AMPc, isobutilmetilxantina (IBMX), y sales y ésteres farmacéuticamente aceptables de los mismos; inhibidores de la oxidación de ácidos grasos, tales como clomoxir y etomoxir y sales y ésteres farmacéuticamente aceptables de los mismos; antagonistas de A2, tales como midaglizol, isaglidol, deriglidol, idazoxano, eaoxano y fluparoxano, y sales y ésteres farmacéuticamente aceptables de los mismos; insulina y compuestos relacionados (por ejemplo miméticos de insulina) tales como biota, LP-100, novarapid, insulina detemir, insulina lispro, insulina glargina, insulina zinc en suspensión (lenta y ultralenta), insulina Lys-Pro, GLP-1 (1-36) amida, GLP-1 (73-7) (insulintropina, desvelada en el documento US5614492), LY-315902 (Lilly), GLP-I (7-36)-NH2), AL-401 (Autoimmune), ciertas composiciones como se desvelan en los documentos US4579730, US4849405, US4963526, US5642868, US5763396, US5824638, US5843866, US6153632, US6191105 y WO 85/05029, e insulina de primate, roedor o conejo incluyendo variantes biológicamente activas incluyendo variantes alélicas, más preferentemente insulina humana disponible en forma recombinante (las fuentes de insulina humana incluyen formulaciones farmacéuticamente aceptables y estériles tales como las disponibles de Eli Lilly (Indianápolis, Ind. 46285) como Humulin<sup>TM</sup> (origen de ADN<sub>r</sub> de insulina humana), véase también el THE PHYSICIAN'S DESK REFERENCE, 55<sup>a</sup> Ed. (2001) Medical Economics, Thomson Healthcare (que desvela otras insulinas humanas adecuadas); no-tiazolidinedionas tales como JT-501 y farglitazar (GW-2570/G1- 262579), y sales y ésteres farmacéuticamente aceptables de los mismos; agonistas dobles de PPAR $\alpha/\gamma$  tales como ARHO39242 (Astrazeneca), GW-409544 (Glaxo-Wellcome), BVT-142, CLX-0940, GW-1536, GW-1929, GW-2433, KRP-297 (Kyorin Merck; 5-[(2,4-Dioxo tiazolidinil)metil] metoxi-N-[[4-(trifluorometil)fenil] metil]benzamida), L-796449, LR-90, MK-0767 (Merck/Kyorin/Banyu), SB 219994, muraglitazar (BMS), tesaglitazar (Astrazeneca), reglitazar (JTT-501) y los desvelados en los documentos WO99/16758, WO99/19313, WO99/20614, WO99/38850, WO00/23415,

WO00/23417, WO00/23445, WO00/50414, WO01/00579, WO01/79150, WO02/062799, WO03/004458, WO03/016265, WO03/018010, WO03/033481, WO03/033450, WO03/033453, WO03/043985, WO 031053976, Solicitud de Estados Unidos N° de Serie 09/664.598, presentada el 18 de septiembre de 2000, Murakami *et al.* Diabetes 47, 1841-1847 (1998), y sales y ésteres farmacéuticamente aceptables de los mismos; otros fármacos sensibilizadores de insulina; agonistas del receptor de VPAC2; moduladores de GLK, tales como los desvelados en el documento WO03/015774; moduladores retinoides tales como los desvelados en el documento WO03/OOU249; inhibidores de GSK 3 $\beta$ /GSK 3 (tales como 4-[2-(2-bromofenil)-4-(4-fluorofenil-1H-imidazol-5-il)]piridina y los compuestos desvelados en los documentos WO03/024447, WO03/037869, WO03/037877, WO03/037891, WO03/068773, EP1295884, EP1295885, y similares; inhibidores de glucógeno fosforilasa (HGLPa) tales como CP-368.296, CP-316.819, BAYR3401, y compuestos desvelados en los documentos WOO 1/94300, WO02/20530, WO03/037864, y sales y ésteres farmacéuticamente aceptables de los mismos; promotores del consumo de ATP tales como los desvelados en el documento WO03/007990; inhibidores de TRB3; ligandos del receptor vainilloide tales como los desvelados en el documento WO03/049702; agentes hipoglucémicos tales como los desvelados en los documentos WO03/015781 y WO03/040114; inhibidores de glucógeno sintasa quinasa 3 tales como los desvelados en el documento WO03/035663, agentes tales como los desvelados en los documentos WO99/51225, US20030134890, WO01/24786 y WO03/059870; proteína de unión a ADN sensible a insulina I (IRDBP-I) como se desvela en el documento WO03/057827, y similares; antagonistas de adenosina A2 tales como los desvelados en los documentos WO03/035639, WO03/035640, y similares; agonistas de PPAR $\delta$  tales como GW 501516, GW 590735, y compuestos desvelados en los documentos JP10237049 y WO02/14291; inhibidores de dipeptidil peptidasa IV (DP-IV), tales como tiazolidida de isoleucina, NVP-DPP728A (1-[[[2-[(5-cianopiridin-2-il)amino]etil]amino]acetil]-2-ciano-(S)-pirrolidina, desvelado en Hughes *et al.*, Biochemistry, 38(36), 11597-11603, 1999), P32/98, NVP-LAF-237, P3298, TSL225 (ácido triptofil-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina-3-carboxílico, desvelado en Yamada *et al.*, Bioorg. & Med. Chem. Lett. 8 (1998) 1537-1540), pirrolidida de valina, TMC-2A/2B/2C, inhibidores de CD-26, FE999011, P9310/K364, VIP 0177, DPP4, SDZ 274-444, 2-cianopirrolididas y 4-cianopirrolididas como se desvela en Ashworth *et al.*, Bioorg. & Med. Chem. Let., Vol. 6, N° 22, pp 1163-1166 y 2745-2748 (1996), y los compuestos desvelados en los documentos USA6395767, US6573287, US6395767 (los compuestos desvelados incluyen BMS-477118, BMS-47121 y BMS 538.305), WO99/38501, WO99/46272, WO99/67279, WO99/67278, WO99/61431 WO03/004498, WO03/004496, EP258476, WO02/083128, WO02/062764, WO03/000250, WO03/002530, WO03/002531, WO03/002553, WO03/002593, WO03/000180 y WO03/000180, agonistas de GLP-I tales como exendina-3 y exendina-4 (incluyendo la exendina-4 sintética polipeptídica de 39 aa llamada Exenatide®), y compuestos desvelados en los documentos US2003087821 y NZ 504256, y sales y ésteres farmacéuticamente aceptables de los mismos; péptidos que incluyen amlintide y Symlin® (acetato de pramlintide); y activadores de glucoquinasa tales como los desvelados en los documentos US2002103199 (compuestos heteroaromáticos fusionados) y documento WO02/48106 (compuestos de propionamida isoindolin-1-ona sustituida).

#### *Inhibidores de fosfodiesterasa*

Los péptidos GCRA descritos en el presente documento pueden usarse en terapia de combinación con un inhibidor de fosfodiesterasa. Los inhibidores de PDE son los compuestos que ralentizan la degradación de AMP cíclico (AMPC) y/o GMP cíclico (GMPc) por la inhibición de las fosfodiesterasas, que pueden conducir a un aumento relativo en la concentración intracelular de AMPC y/o GMPc. Son posibles inhibidores de PDE las sustancias que se van a enumerar entre la clase que consiste en los inhibidores de PDE3, la clase que consiste que consiste en los inhibidores de PDE4 y/o la clase que consiste en los inhibidores de PDE5, en particular las sustancias que pueden diseñarse como tipos mixtos de inhibidores de PDE3/4 o como tipos mixtos de inhibidores de PDE3/4/5. Como ejemplo, pueden mencionarse los inhibidores de PDE tal como se describen y/o se reivindican en las siguientes solicitudes de patente y patentes: DE1470341, DE2108438, DE2123328, DE2305339, DE2305575, DE2315801, DE2402908, DE2413935, DE2451417, DE2459090, DE2646469, DE2727481, DE2825048, DE2837161, DE2845220, DE2847621, DE2934747, DE3021792, DE3038166, DE3044568, EP000718, EP0008408, EP0010759, EP0059948, EP00714136, EP0096517, EPO1 12987, EPO1 16948, EP0150937, EP0158380; EP0161632, EP0161918, EP0167121, EP0199127, EP0220044, EP0247725, EP0258191, EP0272910, EP0272914, EP0294647, EP0300726, EP0335386, EP0357788, EP0389282, EP0406958, EP0426180, EP0428302, EP0435811, EP0470805, EP0482208, EP0490823, EP0506194, EP0511865, EP0527117, EP0626939, EP0664289, EP0671389, EP0685474, EP0685475, EP0685479, JP92234389, JP94329652, JP95010875, Patentes de Estados Unidos N° 4.963.561, 5.141.931, WO9117991, WO9200968, WO9212961, WO9307146, WO9315044, WO9315045, WO9318024, WO9319068, WO9319720, WO9319747, WO9319749, WO931975, WO9325517, WO9402465, WO9406423, WO9412461, WO9420455, WO9422852, WO9425437, WO9427947, WO950051 WO9501980, WO9503794, WO9504045, WO9504046, WO9505386, WO9508534, WO9509623, WO9509624, WO9509627, WO9509836, WO9514667, WO9514680, WO9514681, WO9517392, WO9517399, WO9519362, WO9522520, WO9524381, WO9527692, WO9528926, WO9535281, WO9535282, WO9600218, WO9601825, WO9602541, WO9611917, DE3142982, DE1 116676, DE2162096, EP0293063, EP0463756, EP0482208, EP0579496, EP0667345 US6.331.543, US20050004222 (incluyendo los desvelados en las fórmulas I-XIII y los párrafos 37-39, 85-0545 y 557-577) y WO9307124, EP0163965, EP0393500, EP0510562, EP0553174, WO9501338 y WO9603399. Son inhibidores de PDE5 que pueden mencionarse como ejemplo RX-RA-69, SCH-51866, KT-734, vesnarinona, zaprinast, SKF-96231, ER-21355, BF/GP-385, NM-702 y sildenafil (Viagra®). Son inhibidores de PDE4 que pueden mencionarse como ejemplo RO-20-1724, MEM 1414 (R1533/R1500; Pharmacia Roche), DENBUFILINA,

ROLIPRAM, OXAGRELATO, NITRAQUAZONA, Y-590, DH-6471, SKF-94120, MOTAPIZONA, LIXAZINONA, INDOLIDAN, OLPRINONA, ATIZORAM, KS-506-G, DIPAMFILINA, BMY-43351, ATIZORAM, AROFILINA, FILAMINAST, PDB-093, UCB-29646, CDP-840, SKF- 107806, PICLAMILAST, RS- 17597, RS-25344-000, SB-207499, TIBENELAST, SB-210667, SB-211572, SB-211600, SB-212066, SB-212179, GW-3600, CDP-840, MOPIDAMOL, ANAGRELIDA, IBUDILAST, AMRINONA, PIMOBENDÁN, CILOSTAZOL, QUAZINONA y N-(3,5-dicloropirid-4-il)-3-ciclopropilmetoxi-4-difluorometoxibenzamida. Son inhibidores de PDE3 que pueden mencionarse como ejemplo SULMAZOL, AMPIZONA, CILOSTAMIDA, CARBAZERÁN, PIROXIMONA, IMAZODÁN, CI-930, SIGUAZODÁN, ADIBENDÁN, SATERINONA, SKF-95654, SDZ-MKS-492, 349-U-85, EMORADÁN, EMD-53998, EMD-57033, NSP-306, NSP-307, REVIZINONA, NM-702, WIN-62582 y WIN-63291, ENOXIMONA y MILRINONA. Son inhibidores de PDE3/4 que pueden mencionarse como ejemplo BENAFENTRINA, TREQUINSINA, ORG-30029, ZARDA VERINA, L-686398, SDZ-ISQ-844, ORG-20241, EMD-54622 y TOLAFENTRINA. Otros inhibidores de PDE incluyen: cilomilast, pentoxifilina, roflumilast, tadalafilo (Cialis®), teofilina y vardenafilo (Levitra®), zaprinast (específico de PDE5).

#### 15 *Agentes anticontracciones uterinas*

Los péptidos GCRA descritos en el presente documento pueden usarse en terapia de combinación (por ejemplo, para reducir o inhibir las concentraciones uterinas) con un agente tocolítico incluyendo pero sin limitación agentes beta-adrenérgicos, sulfato de magnesio, inhibidores de prostaglandina y bloqueadores del canal de calcio.

#### 20 *Agentes antineoplásicos*

Los péptidos GCRA descritos en el presente documento pueden usarse en terapia de combinación con agentes antineoplásicos incluyendo pero sin limitación agentes alquilantes, epipodofilotoxinas, nitrosoureas, antimetabolitos, alcaloides de la vinca, antibióticos de antraciclina, agentes de mostaza del nitrógeno y similares. Los agentes antineoplásicos particulares pueden incluir tamoxifeno, taxol, etopósido y 5-fluorouracilo.

Los péptidos GCRA descritos en el presente documento pueden usarse en terapia de combinación (por ejemplo como en una composición quimioterapéutica) con un antiviral y terapias de anticuerpos monoclonales.

#### 30 *Agente para combatir la insuficiencia cardíaca congestiva*

Los péptidos GCRA descritos en el presente documento pueden usarse en terapia de combinación (por ejemplo, en la prevención/tratamiento de la insuficiencia cardíaca congestiva u otro método descrito en el presente documento) con el agonista parcial del receptor de nociceptina ORLI descrito en Dooley *et al.* (The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 283 (2): 735-741, 1997). El agonista es un hexapéptido que tiene la secuencia de aminoácidos Ac-RYY (RK) (WI) (RK)-NH<sub>2</sub> ("el polipéptido de Dooley"), en la que los paréntesis muestran una variación permisible de restos de aminoácidos. Por lo tanto el polipéptido de Dooley puede incluir pero sin limitación KYRWR, RYYRWR, KWRYR, RYYRWK, RYYRWK (todos D aminoácidos), RYYRIK, RYYRIR, RYYKIK, RYYKIR, RYYKWR, RYYKWK, RYYRWR, RYYRWK, RYYRIK, RYYKWR, RYYKWK, RYYRWK y KYRWRK, en los que los restos de aminoácidos están en forma L a no ser que se especifique otra cosa. Los péptidos GCRA descritos en el presente documento también pueden usarse en terapia de combinación con modificaciones de conjugados polipeptídicos del polipéptido de Dooley descrito en el documento WO0198324.

#### 45 *Fibrato*

Los péptidos GCRA descritos en el presente documento pueden usarse en terapia de combinación con un fibrato. El término "fibrato" también se usa indistintamente en el presente documento y en la técnica con la expresión "derivado de ácido fíbrico", y significa cualquiera de los derivados de ácido fíbrico útiles en los métodos descritos en el presente documento, por ejemplo, fenofibrato. El fenofibrato es un compuesto de fibrato, otros ejemplos del cual incluyen, por ejemplo, bezafibrato, beclofibrato, benzafibrato, binifibrato, ciprofibrato, clinofibrato, clofibrato, etofibrato, gemcabeno, gemfibrozilo, lifibrol, nicofibrato, pirifibrato, ronifibrato, simfibrato, teofibrato, etc.

#### 55 *Agentes alteradores de lípidos*

Los péptidos GCRA descritos en el presente documento pueden usarse en terapia de combinación con un agente alterador de lípidos. Como se usa en el presente documento, la expresión "agente alterador de lípidos" o "agente de dislipidemia" se refiere a compuestos que incluyen, pero sin limitación, secuestrantes de ácido biliar tales como colestiramina (un copolímero de estireno-divinilbenceno que contiene grupos catiónicos de amonio cuaternario capaces de unirse con ácidos biliares, tales como colestiramina QUESTRAN® o QUESTRAN LIGHT® que están disponibles de Bristol-Myers Squibb), clorhidrato de colesvelam (tal como Comprimidos de WELCHOL® (clorhidrato de polialilamina) reticulados con epiclorohidrina y alquilados con 1-bromodecano y bromuro de (6-bromohexil)-trimetilamonio) que están disponibles de Sankyo), colestipol (un copolímero de dietilentriamina y 1-cloro-2,3-epoxipropano, tal como comprimidos de COLESTID® que están disponibles de Pharmacia), derivados de dialquilaminoalquilo de un dextrano reticulado, LOCHOLEST®, DEAE-Sephadex (SECHOLEX®, POLICEXIDE®),



derivados solubles en agua tales como 3,3-ioeno, N-(cicloalquil)alquilaminas y poliglusam, poliestirenos cuaternizados insolubles, saponinas y mezclas de los mismos y los secuestrantes de ácido biliar desvelados en los documentos WO97/11345, WO98/57652, US3692895 y US5703 188. Los secuestrantes de colesterol inorgánico adecuados incluyen salicilato de bismuto más arcilla de montmorillonita, hidróxido de aluminio y antiácidos de carbonato cálcico.

#### *Inhibidores de HMG-CoA reductasa*

Los péptidos GCRA descritos en el presente documento pueden usarse en terapia de combinación con un inhibidor de HMG-CoA reductasa. Los inhibidores de HMG-CoA reductasa son agentes dislipidémicos que pueden usarse en combinaciones terapéuticas con compuestos descritos en el presente documento. Los inhibidores de HMG-CoA reductasa adecuados para su uso en combinación terapéutica con compuestos descritos en el presente documento incluyen: atorvastatina (LIPITOR®; desvelado en los documentos US4681893, US5385929 y US5686104), atorvastatina cálcica (desvelado en el documento US5273995), dihidrocompactina, (desvelado en el documento US4450171), bervastatina (desvelado en el documento US5082859), carvastatina, cerivastatina (BAYCOL®; desvelado en los documentos US5006530, US5502199 y US5 177080), crilvastatina, dalvastatina (desvelado en el documento EP738510A2), fluvastatina (LESCOL®; desvelado en los documentos US4739073 y US534772), glenvastatina, fluindostatina (desvelado en el documento EP363934A1), velostatina (visinolina; desvelado en los documentos US4448784 y US4450171), lovastatina (mevinolina; MEVACOR® (Merck and Co.) y compuestos relacionados desvelados en el documento US4231938), mevastatina (y compuestos relacionados desvelados en el documento US3983140), compactina (y compuestos relacionados desvelados en el documento US4804770), pravastatina (también conocida como NK-104, itavastatina, nisvastatina, nisbastatina desvelada en el documento US5 102888), pravastatina (PRAVACHOL® (Bristol Myers Squibb) y compuestos relacionados desvelados en el documento US4346227), rivastatina (7-(4-fluorofenil)-2,6-diisopropil-5-metoximetilpiridin-3-il)-3,5-dihidroxi-6-heptanoato sódico), rosuvastatina (CRESTOR®; también conocida como ZD-4522 desvelada en el documento US5260440), atavastatina, visastatina, simvastatina (ZOCOR® (Merck and Co.) y compuestos relacionados como se desvelan en los documentos US4448784 y US4450171), simvastatina, CI-981, compuestos desvelados en los documentos WO03/033481, US4231938, US4444784, US4647576, US4686237, US4499289, US4346227, US5753675, US4613610, EP0221025 y EP491226 e isómeros ópticos o geométricos de los mismos; y sales, N-óxidos, ésteres, sales de amonio cuaternario y profármacos no tóxicos farmacéuticamente aceptables de los mismos. En inhibidores de HMG-CoA reductasa en los que puede existir una forma de ácido abierto, pueden formarse preferentemente formas de sales y ésteres del ácido abierto, y todas estas formas se incluyen dentro del significado de la expresión "inhibidor de HMG-CoA reductasa" como se usa en el presente documento. Las sales farmacéuticamente aceptables con respecto al inhibidor de HMG-CoA reductasa incluyen sales no tóxicas de los compuestos que se preparan en general haciendo reaccionar el ácido libre con una base orgánica o inorgánica adecuada, particularmente las formadas a partir de cationes tales como sodio, potasio, aluminio, calcio, litio, magnesio, cinc y tetrametilamonio, así como las sales formadas a partir de aminas tales como amoniac, etilendiamina, N-metilglucamina, lisina, arginina, ornitina, colina, N,N'-dibenziletildiamina, cloroprocaína, dietanolamina, procaína, N-benzilfenilamina, 1-p-clorobencil-2-pirrolidin-1'-il-metilbenzimidazol, dietilamina, piperazina y tris(hidroxi metil)aminometano. Los ejemplos adicionales de formas salinas de inhibidores de HMG-CoA reductasa pueden incluir, pero sin limitación, acetato, bencenosulfonato, benzoato, bicarbonato, bisulfato, bitartrato, borato, bromuro, edetato cálcico, camsilato, carbonato, cloruro, clavulanato, citrato, diclorhidrato, edetato, edisilato, estolato, esilato, fumarato, gluceptato, gluconato, glutamato, glicilarsanilato, hexilresorcinato, hidrabamina, hidrobromuro, clorhidrato, hidroxinaftoato, yoduro, isotionato, lactato, lactobionato, laurato, malato, maleato, mandelato, mesilato, metilsulfato, mucato, napsilato, nitrato, oleato, oxalato, pamoato, palmitato, pantotenato, fosfato/difosfato, poligalacturonato, salicilato, estearato, subacetato, succinato, tanato, tartrato, teoclato, tosilato, trietioduro y valerato.

Otros agentes dislipidémicos que pueden usarse en combinación terapéutica con un compuesto descrito en el presente documento incluyen: inhibidores de HMG-CoA sintasa tales como L-659.699 (ácido (E E)-1-[3'R-(hidroximetil)-4'-oxo-2'R-oxetanil]-3,5,7R-trimetil-2,4-undecadienoico) y los desvelados en los documentos US5 120729, US5064856 y US4847271; inhibidores de la absorción de colesterol tales como esteroleos vegetales, estanoles vegetales y/o ésteres de ácidos grasos de estanoles vegetales tales como sitostanol éster usado en margarina BENEOL®, ésteres de estanol, beta-sitosterol, y glicósidos de esteroles tales como tiquesida. Otros inhibidores de la absorción de colesterol incluyen 1,4-Difenilazetidín-2-onas; 4-biarilil-1-fenilazetidín-2-onas; 4-(hidroxifenil)azetidín-2-onas; 1,4-difenil-3-hidroxi alquil-2-azetidínonas; 4-bifenil-1-fenilazetidín-2-onas; 4-biarilil-1-fenilazetidín-2-onas; y 4-bifenilazetidínonas; inhibidores de acil coenzima A-colesterol acil transferasa (ACAT) tales como avasimibe (Current Opinion in Investigational Drugs. 3(9): 291-297 (2003)), eflucimibe, HL-004, lecimibe, DuP-128, KY505, SMP 797, CL-277.082 (Clin Pharmacol Ther. 48(2): 189-94 (1990)) y similares; y los desvelados en los documentos US55 10379, WO96/26948 y WO96/10559; inhibidores de CETP tales como JTT 705 identificado como en Nature 406, (6792): 203-7(2000), torcetrapib (CP-529.414 descrito en los documentos US20030186952 y WO00/017164), CP 532.632, BAY63-2149, SC 591, SC 795, y similares incluyendo los descritos en Current Opinion in Investigational Drugs. 4(3): 291-297 (2003) y los desvelados en J. Antibiot, 49(8): 815-816(1996), y Bioorg. Med. Chem. Lett, 6: 1951-1954 (1996) y publicaciones de patente US55 12548, US6147090, WO99/20302, WO99/14204, WO99/41237, WO95/04755, WO96/15141, WO96/05227, WO038721, EP796846, EP818197, EP818448, DE19704244,

DE19741051, DE19741399, DE197042437, DE19709125, DE19627430, DE19832159, DE19741400, JP 11049743 y JP 09059155; inhibidores de escualeno sintetasa tales como escualestatina- 1, TAK-475, y los desvelados en los documentos US4871721, US4924024, US57 12396 ( $\alpha$ -fosfono-sulfonatos), Biller *et al.* (1988) J. Med. Chem., 31: 1869 (por ejemplo isoprenoide (fosfinil-metil)fosfonatos), Biller *et al.* (1996) Current Pharmaceutical Design, 2: 1, P. 5  
 Ortiz de Montellano *et al.* (1977) J. Med. Chem. 20: 243 (pirofosfatos de terpenoides), Corey y Volante (1976) J. Am. Chem. Soc., 98: 1291 (análogo A de farnesil difosfato y análogos de presqualeno pirofosfato (PSQ-PP)), McClard *et al.* (1987) J.A.C.S., 109: 5544 (fosfinilfosfonatos), Capson, T. L., PhD dissertation, junio, 1987, Dept. Med. Chem. U of Utah, Resumen, Tabla de contenidos, pp 16, 17, 40-43, 48-51, Sumario, (ciclopropanos), Curr. Op. Ther. Patents (1993) 861, y publicaciones de patente EP0567026A1, EP0645378A1, EP0645377A1, EP0611749A1, EP0705607A2, EP0701725A1 y WO96/09827; antioxidantes tales como probucol (y compuestos relacionados desvelados en el documento US3674836), derivados de probucol tales como AGI-1067 (y otros derivados desvelados en los documentos US6121319 y US6147250), tocoferol, ácido ascórbico,  $\beta$ -caroteno, selenio y vitaminas tales como vitamina B6 o vitamina B12 y sales y ésteres farmacéuticamente aceptables de los mismos; agonistas de PPAR $\alpha$  tales como los desvelados en los documentos US6028109 (compuestos de fluorofenilo), WO00/75103 (compuestos fenilpropiónicos sustituidos), WO98/43081 y derivados de ácido fíbrico (fibratos) tales como beclofibrato, benzafibrato, bezafibrato (Nº de Registro de C.A.S. 41859-67-0, véase documento US3781328), binifibrato (Nº de Registro de 69047-39-8, véase documento BE884722), ciprofibrato (Nº de Registro de C.A.S. 52214-84-3, véase documento US3948973), clinofibrato (Nº de Registro de C.A.S. 30299-08-2, véase US3716583), clofibrato (tal como etil 2-(p-clorofenoxi)-2-metil-propionato, por ejemplo cápsulas de Atromid-S® (Wyeth-Ayerst), etofibrato, fenofibrato (tal como fenofibrato micronizado Tricor® ((ácido 2-[4-(4-clorobenzoil)fenoxi]-2-metilpropanoico, 1-metiletil éster; Abbott Laboratories) o fenofibrato micronizado Lipantil® (Laboratoire Fournier, Francia)), gemcabeno, gemfibrozilo (tal como ácido 5-(2,5-dimetilfenoxi)-2,2-dimetilpentanoico, por ejemplo comprimidos de Lopid® (Parke Davis)), lifibrol, GW 7647, BM 170744, LY5 18674 y los derivados de fibrato y ácido fíbrico desvelados en los documentos WO03/033456, WO03/033481, WO03/043997, WO03/048116 WO03/05397 WO03/059864 y WO03/05875; moduladores del receptor FXR tales como GW 4064, SR 103912, y similares; moduladores del receptor LXR tales como GW 3965, T9013137 y XTC0179628, y los desvelados en los documentos US20030125357, WO03/045382, WO03/053352, WO03/059874, y similares; agonistas de receptores de HM74 y HM74A (HM74A humano es el Nº de Referencia de Genbank AY 148884 y HM74A de rata es EMM\_patAR09 8624) tales como ácido nicotínico (niacina) y derivados de los mismos (por ejemplo, compuestos que comprenden una estructura de piridina-3-carboxilato o una estructura de pirazin-2-carboxilato, incluyendo formas ácidas, sales, ésteres, zwitteriones y tautómeros, cuando estén disponibles) incluyendo pero sin limitación los desvelados en Wise *et al.* (2003) J. Biol. Chem. 278: 9869 (por ejemplo ácido 5-metilpirazol-3-carboxílico y acifran (ácido 4,5-dihidro-5-metil-4-oxo-5-fenil-2-furan carboxílico ácido piradin-3-acético)), así como ácido 5-metil nicotínico, ácido nicotinúrico, niceritrol, nicofuranosa, acipimox (ácido 5-metilpirazin-2-carboxílico 4-óxido), Niaspan® (comprimidos de liberación extendida de niacina; Kos) y los que pueden identificarse fácilmente por los expertos en la materia que se unen con y son agonistas del receptor de HM74A o HM74 (por ejemplo usando los ensayos desvelados en Wise *et al.* (2003) J. Biol. Chem 278: 9869 (unión con nicotina y ensayos de union con [35S]-GTPyS), Soga *et al.* (2003) Biocem. Biophys. Res. Comm. 303: 364 (ensayo de unión a radiomarcador usando el receptor de HM74 que podría adaptarse al receptor de HM74A), Tunaru *et al.* (2003) Nature Medicine 9: 352 (ensayo de movilización de calcio usando el receptor de HM74 que podría adaptarse al receptor de HM74A) y el documento US6420183 (se describen en general ensayos de FLIPR y pueden adaptarse para el receptor de HM74A o HM74); inhibidores del sistema de angiotensina de renina; inhibidores de la absorción de ácido biliar (inhibidores de la recaptación de ácido biliar), tales como BARI 1453, SC435, PHA384640, S8921, AZD7706, y similares; agonistas de PPAR $\delta$  (incluyendo agonistas parciales) tales como GW 501516 y GW 590735, y los desvelados en los documentos US5859051 (acetofenoles), WO03/024395, WO97/28149, WO01/79197, WO02/14291, WO02/46154, WO02/46176, WO02/076957, WO03/016291, WO03/033493, WO99/20275 (compuestos de fenilo de quinolina), WO99/38845 (compuestos de arilo), WO00/63161 (compuestos de fenilo 1,4-disustituidos), WO01/00579 (compuestos de arilo), WO01/12612 y WO01/12187 (compuestos de ácido benzoico), y WO97/31907 (compuesto de ácido 4-hidroxi-fenilalcónico sustituido); inhibidores de la biosíntesis de esteroles tales como DMP-565; inhibidores de la síntesis de triglicéridos; inhibidores del transporte de triglicéridos microsómicos (MTTP), tales como implitapide, LAB687, y CP346086, AEGR 733, implitapide y similares; inhibidores de la expresión del gen de HMG-CoA reductasa (por ejemplo compuestos que reducen la expresión de HMG-CoA reductasa afectando (por ejemplo, bloqueando) la transcripción o traducción de la HMG-CoA reductasa en proteínas o compuestos que pueden biotransformarse en compuestos que tienen los atributos anteriormente mencionados por una o más enzimas en la cascada biosintética de colesterol o pueden conducir a la acumulación de un metabolito de isopreno que tienen las actividades anteriormente mencionadas (dicha regulación se determina fácilmente por los expertos en la materia de acuerdo con ensayos convencionales (Methods of Enzymology, 110: 9-19 1985))) tales como los desvelados en el documento US5041432 (ciertos derivados de lanosterol 15 sustituidos) y E. I. Mercer (1993) Prog. Lip. Res. 32: 357 (esteroles oxigenados que suprimen la biosíntesis de HMG-CoA reductasa); inhibidores de escualeno epoxidasa tales como NB-598 (clorhidrato de (E)-N-etil-N-(6,6-dimetil-2-hepten-4-inil)-3-[(3,3'-bitiofen-5-il)metoxi]benceno-metanamina); inductores del receptor de lipoproteína de baja densidad (LDL) tales como HOE-402 (un derivado de imidazolidinil-pirimidina que estimula directamente la actividad del receptor de LDL, véase Huettinger *et al.* (1993) Arterioscler. Thromb. 13: 1005); inhibidores de la agregación de plaquetas; inhibidores de 5-LO o FLAP; moduladores de PPAR (incluyendo compuestos que pueden tener funcionalidad múltiple para activar diversas combinaciones de PPAR $\alpha$ , PPAR $\gamma$  y PPAR $\delta$ ) tales como los desvelados en los documentos US6008237, US6248781, US6166049, WO00/12491,

WO00/218355, WO00/23415, WO00/23416, WO00/23425, WO00/23442, WO00/23445, WO00/23451, WO00/236331, WO00/236332, WO00/23855 WO00/50392, WO00/53563, WO00/63153, WO00/63190, WO00/63196, WO00/63209, WO00/78312, WO00/78313, WOO 1/04351, WO01/14349, WO01/14350, WO01/16120, WO01/17994, WO01/21181, WO01/21578, WOO 1/25 181, WO01/25225, WO01/25226, WO01/40192, WO0179150, 5 WO02/081428, WO02/100403, WO02/102780, WO02/79162, WO03/016265, WO03/033453, WO03/042194, WO03/043997, WO03/066581, WO97/25042, WO99/07357, WO99/11255 WO99/12534, WO99/15520, WO99/46232 y WO98/05331 (incluyendo GW233 1 o (2-(4-[difluorofenil]-1-heptilureido)etil]fenoxi)-2-metilbutírico)); cromo unido a niacina, como se desvela en el documento WO03/039535; derivados de ácido sustituidos desvelados en el documento WO03/040114; inhibidores de apolipoproteína B tales como los desvelados en los documentos 10 WO02/090347, WO02/28835, WO03/045921, WO03/04757; moduladores del Factor Xa tales como los desvelados en los documentos WO03/047517, WO03/047520, WO03/04808; inhibidores del transporte de ácido biliar ileal ("IBAT") (o inhibidores del transporte de ácido biliar co-dependientes de sodio apical ("ASBT")) tales como benzotiepinas (incluyendo 1,2-benzotiazepinas; 1,4-benzodiazepinas; 1,5-benzotiazepinas; 1,2,5-benzotiadiazepinas); activadores de PPAR $\delta$  tales como los desvelados en el documentos WOO 1/00603 (derivados de tiazol y oxazol (por ejemplo N $^{\circ}$  de Registro de C.A.S. 317318-32-4), documentos WO97/28149 (fluoro, cloro y tiofenoxi fenilacético), US5093365 (análogos de ácidos grasos no-1-oxidables) y WO99/04815. Se presentan ensayos que muestran la eficacia de la terapia y la base para la terapia de combinación con un agente dislipidémico en el documento US2003 0069221 (en el que los agentes dislipidémicos se denominan "agentes cardiovasculares").

## 20 DOSIFICACIÓN

Los niveles de dosificación de principios activos en una composición farmacéutica también pueden variarse para conseguir una concentración transitoria o sostenida del compuesto en un sujeto, especialmente en y en torno al sitio de inflamación o área enferma, y para dar como resultado la respuesta deseada. Está dentro de la experiencia de la 25 técnica iniciar dosis del compuesto a niveles menores de lo requerido para conseguir el efecto deseado y para aumentar gradualmente la dosificación hasta que se consiga el efecto deseado. Se entenderá que el nivel de dosis específico para cualquier sujeto particular dependerá de una diversidad de factores, incluyendo peso corporal, salud general, dieta, historial natural de enfermedad, vía y programa de administración, combinación con uno o más fármacos adicionales, y gravedad de la enfermedad.

Una dosificación eficaz de la composición estará típicamente entre aproximadamente 1  $\mu$ g y aproximadamente 10 mg por kilogramo de peso corporal, preferentemente entre aproximadamente 10  $\mu$ g y 5 mg del compuesto por kilogramo de peso corporal. Pueden realizarse ajustes en la dosificación usando métodos que son rutinarios en la 30 técnica y se basarán en la composición particular que se use y consideraciones clínicas.

Los agonistas del receptor de guanilato ciclasa usados en los métodos descritos anteriormente pueden administrarse por vía oral, por vía sistémica o por vía local. Las formas de dosificación incluyen preparaciones para inhalación o inyección, soluciones, suspensiones, emulsiones, comprimidos, cápsulas, pomadas tópicas y lociones, composiciones transdérmicas, otras formulaciones de péptidos conocidos y análogos peptídicos pegilados. Los 35 agonistas pueden administrarse como el único agente activo o en combinación con otros fármacos, por ejemplo, un inhibidor de fosfodiesterasa dependiente de GMPc y agente antiinflamatorio. En todos los casos, los fármacos adicionales deberían administrarse a una dosificación que sea terapéuticamente eficaz usando la técnica existente como una guía. Los fármacos pueden administrarse en una única composición o secuencialmente.

Los niveles de dosificación del agonista de GCR para su uso en métodos de la presente invención son típicamente de aproximadamente 0,001 mg a aproximadamente 10.000 mg al día, preferentemente de aproximadamente 0,005 mg a aproximadamente 1.000 mg al día. Por ejemplo, una dosificación eficaz del agonista de GCR para su uso en métodos de la presente invención es de 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1,0, 1,5, 2,0, 2,5, 3,0, 3,5, 4,0, 4,5, 5,0, 5,5, 6,0, 6,5, 7,0, 7,5, 8,0, 8,5, 9,0, 9,5, o 10 mg u opcionalmente dos veces al día. Preferentemente el agonista 40 de GCR se proporciona después de una comida, (es decir, 30 minutos). En algunas realizaciones se administra un segundo agente útil para tratar un trastorno del metabolismo de lípidos, un trastorno biliar, una enfermedad cardiovascular, obesidad o un trastorno endocrino. En el presente documento se describen segundos agentes adecuados. En algunos aspectos el segundo agente se administra a menos que lo convencional para tratar el trastorno particular porque el agonista de GCR actúa de forma sinérgica con el segundo agente. Por ejemplo, se proporcionan 2,5, 5, 7,5 o 10 mg de Liptor dos veces al día después de una comida (es decir, 30 minutos). Basándose en la dosis diaria de mg/kg, proporcionada en dosis bien individuales o bien divididas, las dosificaciones varían típicamente de aproximadamente 0,001/75 mg/kg a aproximadamente 10.000/75 mg/kg, preferentemente de 45 aproximadamente 0,005/75 mg/kg a aproximadamente 1.000/75 mg/kg.

La dosis diaria total de cada inhibidor puede administrarse al paciente en una única dosis, o en múltiples subdosis. Típicamente, pueden administrarse subdosis de dos a seis veces al día, preferentemente de dos a cuatro veces al día, y aún más preferentemente de dos a tres veces al día. Las dosis pueden estar en forma de liberación inmediata o forma de liberación sostenida suficientemente eficaz para obtener el control deseado sobre la condición médica.

El régimen de dosificación se selecciona de acuerdo con una diversidad de factores. Estos factores incluyen, pero sin limitación, el tipo, edad, peso, sexo, dieta y condición médica del sujeto, la gravedad de la enfermedad, la vía de 65

administración, consideraciones farmacológicas tales como la actividad, eficacia, farmacocinética y perfiles de toxicología de los inhibidores particulares empleados, si se utiliza un sistema de suministro de fármaco y si los inhibidores se administran con otros principios activos. Por lo tanto, el régimen de dosificación empleado de hecho puede variar ampliamente y por lo tanto desviarse del régimen de dosificación preferido expuesto anteriormente.

5

## EJEMPLOS

### EJEMPLO 1: SÍNTESIS Y PURIFICACIÓN DE PÉPTIDOS GCRA

10 Los péptidos GCRA se sintetizaron usando métodos convencionales para síntesis de péptidos de fase sólida. Se seleccionó una estrategia de grupo protector de Boc/Bzl o Fmoc/tBu dependiendo de la escala del péptido para producir. En el caso de cantidades menores, es posible obtener el producto deseado usando un protocolo de Fmoc/tBu, pero para cantidades mayores (1 g o más), Boc/Bzl es superior.

15 En cada caso el péptido GCRA se inició usando una resina precargada Wang (Fmoc) o Merrifield (Boc) o Pam (Boc). Para productos con Leu C terminal, Fmoc-Leu-Wang (D-1115) o Boc-Leu-resina Pam (D-1230) o Boc-Leu-Merrifield (D-1030). Por lo tanto, para péptidos que contienen la d-Leu C terminal, la resina fue Fmoc-dLeu-Resina Wang (D-2535) y Boc-dLeu-Merrifield, Boc-dLeu-Resina Pam (Bachem Producto D-1230 y D-1590, respectivamente) (SP-332 y análogos relacionados). Para péptidos producidos como amidas C terminales, se usó una resina con enlazador Ramage (Bachem Producto D-2200) (Fmoc) o mBHA (Boc) (Bachem Producto D-1210 se usó y se cargó con el resto C terminal como la primera etapa sintética).

20

#### *Visión en conjunto de Fmoc-tBu*

25 Cada ciclo sintético consistió en desprotección con piperidina al 20 % en DMF. Se realizaron lavados de resina con DMF e IpOH alternantes para hinchar y encoger la resina, respectivamente. La síntesis peptídica elongó la cadena del extremo C al N terminal. La química de activación para cada aminoácido fue con HBTU/DIEA en un exceso cuadruple durante 45 minutos. En químicas automáticas, cada aminoácido se acopló doblemente para maximizar la eficacia del acoplamiento. Para asegurar la posición correcta de enlaces disulfuro, se introdujeron los restos de Cys como Cys(Acm) en las posiciones 15 y 7. Se situó Cys(Trt) en Cys4 y Cys 12. Esta estrategia de grupo protector produce el topoisómero correcto como el producto dominante (75:25). (Para análogos de enterotoxina, se utilizó un tercer grupo protector de enlace disulfuro (Mob)).

30

35 Para péptidos que contenían grupos de Aeea C-terminal (aminoetiloxietiloxiacetilo), estos se acoplaron con un enlazador de amida Ramage usando la misma química de activación anterior usando un derivado de Aeea protegido por Fmoc. La numeración de Cys en estos casos sigue siendo la misma y el posicionamiento de los grupos protectores también. Para los péptidos que contengan la extensión N terminal de Aeea, la numeración de restos Cys aumentará en tres. Cys4 se convierte en Cys7, Cys12 se convierte en Cys15; Cys7 se convierte en Cys10 y Cys 15 se convierte en Cys18. Este último par está protegido con Acm y el par anterior mantiene los grupos Trt.

40

45 Para análogos que contienen sustituciones de D-aminoácidos, estas se introdujeron directamente incorporando el derivado protegido correctamente en la posición deseada usando la misma química de activación descrita en el presente documento. Para estrategias Fmoc, se utilizarían Fmoc-dAsn(Trt)-OH, Fmoc-dAsn(Xan)-OH, Fmoc-dAsp(tBu)-OH, Fmoc-dGlu(tBu)-OH y para estrategias de Boc, Boc-dAsn(Xan)-OH, Boc-dAsn(Trt)-OH, Boc-dAsp(Chx), Boc-dAsp(Bzl)-OH, Boc-dGlu(Chx)-OH y Boc-dGlu(Bzl)-OH.

45

50 Cada péptido se escinde del soporte de fase sólida usando un cóctel de escisión de TFA:H<sub>2</sub>O: Trisisopropilsilano (8,5:0,75:0,75) ml/g de resina durante 2 a TA. El péptido desprotegido en bruto se filtra para retirar las perlas de resina gastadas y se precipita en dietiléter helado.

50

55 Cada enlace disulfuro se introdujo de forma ortogonal. Brevemente, el producto sintético en bruto se disolvió en agua que contenía NH<sub>4</sub>OH para aumentar el pH a 9. Después de la solubilización completa del producto, se realizó el enlace disulfuro entre los restos Cys desprotegidos por Trt por valoración con H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. El producto monocíclico se purificó por RP-HPLC. El producto monocíclico purificado se trató posteriormente con una solución de yodo para retirar simultáneamente los grupos protectores de Acm e introducir el segundo enlace disulfuro.

55

Para análogos de enterotoxina, el grupo Mob se retiró mediante tratamiento del producto dicíclico con TFA 85 % que contenía DMSO 10 % y tianisol 5 % durante 2 h a TA.

60 Cada producto se purificó después por RP-HPLC usando un sistema de tampón de combinación de TEAP en H<sub>2</sub>O frente a MeCN, seguido de TFA en H<sub>2</sub>O frente a MeCN. Las fracciones altamente puras se combinaron y liofilizaron. El producto final se convirtió a una sal de Acetato usando intercambio iónico con resina Dow-Ex cargada con Acetato o usando RP-HPLC usando una etapa de lavado básico con NH<sub>4</sub>OAc seguido de AcOH 1 % en agua frente a MeCN.

60

65 También es posible preparar análogos de enterotoxina usando una metodología de oxidación aleatoria usando Cys(Trt) en Fmoc o Cys(MeB) en Boc. Después de la escisión, los enlaces disulfuro pueden formarse usando partes

65

redox de intercambio de disulfuro tales como glutatión (red/ox) y/o cisteína/cistina. Este proceso producirá un producto plegado en el que los pares disulfuro deben determinarse ya que no habría ninguna manera de conocer su posición directamente.

#### 5 **Proceso de Boc-Bzl**

Se inició la síntesis peptídica en una resina precargada Merrifield o Pam o con mBHA para péptidos producidos como amidas C terminales. Cada ciclo sintético consiste en una etapa de desprotección con TFA al 50 % en MeCl<sub>2</sub>. La resina se lava repetitivamente con MeCl<sub>2</sub> y MeOH. La sal de TFA formada se neutraliza con un lavado básico de TEA al 10 % en MeCl<sub>2</sub>. La resina se lava con MeCl<sub>2</sub> y MeOH y finalmente con DMF antes de las etapas de acoplamiento. Se realiza un ensayo colorimétrico para asegurar la desprotección. Cada acoplamiento está mediado por diisopropil carbodiimida con HOBt para formar el éster activo. Se permite que cada acoplamiento continúe durante 2 h a TA o durante una noche en acoplamientos difíciles. Se realizan reacoplamientos con reactivos de Uronio o Fosfonio hasta que se obtiene un ensayo colorimétrico negativo para aminas primarias libres. La resina se lava después con DMF, MeCl<sub>2</sub> y MeOH y se prepara para la siguiente etapa de fase sólida. La protección con Cys utiliza Cys(Acm) en las posiciones 7 y 15, y Cys(MeB) en Cys 4 y Cys 12.

Se consigue escisión y desprotección simultánea por tratamiento con HF usando anisol como un neutralizante (9:1:1) ml:ml:g (resina) a 0 °C durante 60 min. El péptido se extrae posteriormente de la resina y se precipita en éter helado. La introducción de enlaces disulfuro y purificación sigue exactamente el mismo protocolo descrito anteriormente para el producto producido por *Fmoc*.

#### 25 **EJEMPLO 2: ESTABILIDAD PROTEOLÍTICA *IN VITRO* USANDO DIGESTIÓN CON FLUIDO GÁSTRICO SIMULADO (SGF)**

La estabilidad del péptido GRCA de acuerdo con la invención se determina en presencia de fluido gástrico simulado (SGF). El péptido GRCA (concentración final de 8,5 mg/ml) se incuba en SGF (Proteosa peptona (8,3 g/litro; Difco), D-Glucosa (3,5 g/litro; Sigma), NaCl (2,05 g/litro; Sigma), KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (0,6 g/litro; Sigma), CaCl<sub>2</sub> (0,11 g/litro), KCl (0,37 g/litro; Sigma), bilis porcina (concentración 1 X final 0,05 g/litro; Sigma) en PBS, Lisozima (concentración 1 X final 0,10 g/litro; Sigma) en PBS, Pepsina (concentración 1 X final 0,0133 g/litro; Sigma) en PBS). Se prepara SGF el día del experimento y el pH se ajusta a 2,0 ± 0,1 usando HCl o NaOH según necesario. Después del ajuste de pH, el SGF se esteriliza por filtración con filtros de membrana de 0,22 µm. Se incuba SP-304 (concentración final de 8,5 mg/ml) en SGF a 37 °C durante 0, 15, 30, 45, 60 y 120 min en alícuotas por triplicado. Después de las incubaciones, las muestras se congelan de forma instantánea en hielo seco y después se almacenan en un congelador a -80 °C hasta que se ensayan por duplicado.

#### 40 **EJEMPLO 3: ESTABILIDAD PROTEOLÍTICA *IN VITRO* USANDO DIGESTIÓN DE FLUIDO INTESTINAL SIMULADO (SIF)**

La estabilidad del péptido GRCA también se evalúa frente a digestión con fluido intestinal simulado (SIF). Se preparó solución de SIF por el método descrito en la Farmacopea de Estados Unidos, 24ª edición, p 2236. La receta para preparar solución de SIF es como se describe a continuación. La solución de SIF contiene NaCl (2,05 g/litro; Sigma), KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (0,6 g/litro; Sigma), CaCl<sub>2</sub> (0,11 g/litro), KCl (0,37 g/litro; Sigma) y Pcreatina 10 mg/ml. El pH se ajusta a 6 y la solución se esteriliza por filtración. Se incuba una solución de SP-304 (8,5 mg/ml) en SGF a 37 °C durante 0, 30, 45, 60, 90, 120, 150 y 300 min en alícuotas por triplicado. Después de las incubaciones, las muestras se retiran y se congelan de forma instantánea con hielo seco y después se almacenan en un congelador a -80 °C hasta que se ensayan por duplicado.

La integridad del péptido GRCA se evalúa por HPLC esencialmente usando el método descrito para digestión de SGF.

#### 50 **EJEMPLO 4: ENSAYOS DE ESTIMULACIÓN DE GMP CÍCLICO**

La capacidad del péptido GCRA para unirse con y activar el receptor de GC-C intestinal se ensaya usando la línea celular de carcinoma de colon humano T 84. Se obtienen células de carcinoma de colon T84 humano de la Colección Americana de Cultivos Tipo. Las células se cultivan en una mezcla 1:1 de medio F-12 de Ham y medio de Eagle modificado por Dulbecco (DMEM) complementado con suero de bovino fetal al 10 %, penicilina 100 U/ml y estreptomycin 100 µg/ml. Las células se alimentan con medio nuevo cada tres días y se dividen en una confluencia de aproximadamente 80 %.

La actividad biológica de los péptidos GCRA se ensaya como se ha indicado previamente (15). Brevemente, las monocapas confluyentes de células T-84 en placas de 24 pocillos se lavan dos veces con 250 µl de DMEM que contiene HEPES 50 mM (pH 7,4), se pre-incuban a 37 °C durante 10 min con 250 µl de DMEM que contiene HEPES 50 mM (pH 7,4) e isobutilmetilxantina (IBMX) 1 mM, seguido de incubación con péptidos GCRA (0,1 nM a 10 µM) durante 30 min. El medio se aspira, y la reacción se termina mediante la adición de ácido perclórico al 3 %. Después

de centrifugación y neutralización con NaOH 0,1 N, el sobrenadante se usa directamente para mediciones de GMPc usando un kit de ELISA (Caymen Chemical, Ann Arbor, Mich.).

**EJEMPLO 5: PÉPTIDOS PEGILADOS**

La otra estrategia para hacer a los péptidos más resistentes para digestiones contra proteasas digestivas es pegarlos en el extremo N y C terminal. El péptido GCRA se pega con el grupo de ácido aminoetiloxi-etiloxi-acético (Aeea) en el extremo C terminal (o en el extremo N terminal o en ambos extremos). La síntesis de GMP cíclico en células T84 se mide por el método como se ha descrito anteriormente.

**EJEMPLO 6: COMBINACIÓN DE AGONISTAS DE RECEPTOR DE GUANILATO CICLASA CON INHIBIDORES DE FOSFODIESTERASA**

Generalmente se considera que la regulación de concentraciones intracelulares de nucleótidos cíclicos (es decir, AMPc y GMPc) y por lo tanto, señalización mediante estos segundos mensajeros, está gobernada por sus velocidades de producción frente a sus velocidades de destrucción dentro de las células. Por lo tanto, los niveles de GMPc en tejidos y órganos también pueden regularse por los niveles de expresión de fosfodiesterasas específicas de GMPc (GMPc-PDE), que generalmente se sobreexpresan en cáncer y enfermedades inflamatorias. Por lo tanto, una combinación que consiste en un agonista de GC-C con un inhibidor de GMPc-PDE podría producir un efecto sinérgico en los niveles de GMPc en los tejidos y órganos diana.

La Sulfona de Sulindac (SS) y Zaprinast (ZAP) son dos de los inhibidores conocidos de GMPc-PDE y se ha mostrado que inducen apoptosis en células cancerosas mediante un mecanismo dependiente de GMPc. SS y ZAP en combinación con el péptido GCRA se evalúan para ver si estos inhibidores de PDE tienen algún efecto sinérgico en la acumulación intracelular de GMPc.

**EJEMPLO 7: UN ESTUDIO DE TOXICIDAD PARA HALLAR EL INTERVALO ORAL EN MONOS CYNOMOLGUS**

El objetivo del estudio es determinar la toxicidad de los péptidos GRCA de acuerdo con la invención después de una única administración de sonda oral en mono cynomolgus y permitir la evaluación de la reversibilidad de cualquier cambio después de un periodo de lavado/observación de un mínimo de 7 días. Cada péptido GRCA de acuerdo con la invención se proporcionará a dos niveles de dosis diferentes.

**Diseño experimental**

El artículo de ensayo (por ejemplo, los péptidos GRCA de acuerdo con la invención) y de control/vehículo se administrarán en tres fases separadas por un periodo de observación de un mínimo de 7 días. Cada fase consistirá en una única administración de sonda oral a monos cynomolgus hembra como se indica en las tablas a continuación:

Fase 1:

Se transferirán ocho monos cynomolgus hembra con tratamiento previo de la colonia de Monos de Reserva ITR y se asignarán a cuatro grupos de dosis de la siguiente manera:

Número de grupo	Designación de Grupo	Días de Estudio	Nivel de dosis (mg/kg)	Concentración de dosis (mg/ml)	Volumen de dosis (ml/kg)	Número de animales (Hembras)
1	Control/Vehículo	1	0	0	10	2
		4				
2	Péptidos de Ensayo	1	1	0,1	10	2
		4				
		4				

Después de completar la dosificación de Fase 1, se observará a todos los monos durante 33 días. Tras completar el periodo de observación, se transferirá a todos los monos de vuelta a la Colonia de Monos de Reserva ITR.

Fase 2:

Los mismos ocho monos cynomolgus hembra previamente tratados como se han usado previamente en la Fase 1 se transferirán de la colonia de Monos de Reserva ITR y se les asignará a cuatro grupos de dosificación de la siguiente manera:

Número de grupo	Designación de Grupo	Día del Estudio	Nivel de dosis (mg/kg)	Concentración de dosis (mg/ml)	Volumen de dosis (ml/kg)	Número de animales (Hembras)
1	Control/Vehículo	1	10	1	10	2
2	Péptidos de Ensayo	1	10	1	10	2

Después de completar la dosificación de Fase 2, todos los monos se observarán durante un mínimo de 7 días.

5 **Vía de administración**

La vía de administración oral se ha elegido porque es una vía terapéutica humana preferida.

10 **Preparación de artículos de ensayo de control/vehículo**

Los artículos de ensayo y control/vehículo se prepararán nuevos el día de dosificación en agua destilada fría (mantenida en un baño de agua helada). Se añadirá una cantidad suficiente de polvo del artículo de ensayo a la cantidad apropiada de agua destilada para conseguir la concentración deseada. Las formulaciones de dosis se mezclarán por inversión sencilla.

15 **Análisis de concentración y estabilidad del artículo de ensayo en las formulaciones de dosis**

20 Para una posible confirmación de la concentración y estabilidad del artículo de ensayo en las formulaciones, se tomarán muestras representativas de la mitad de cada concentración, incluyendo el artículo de control/vehículo el primer día de dosificación de cada grupo, como se indica a continuación. Las muestras se recogerán inmediatamente después de la preparación el Día 1 y de nuevo después de completarse la dosificación ese día y se almacenarán congeladas (aproximadamente a 80 °C nominal) en viales de tapones de rosca de 20 ml. Por lo tanto, los viales de formulación de dosis restantes se devolverán al Departamento de Farmacia tan pronto como sea posible después de completar la dosificación.

25 Grupo 1: 1,5 ml por duplicado de la mitad del Día 1 (pre-dosis y post-dosis).

Grupo 2: 1,5 ml por duplicado de la mitad del Día 1 (pre-dosis y post-dosis).

30 Grupo 3: 1,5 ml por duplicado de la mitad del Día 1 (pre-dosis y post-dosis).

Grupo 4: 1,5 ml por duplicado de la mitad del Día 1 (pre-dosis y post-dosis).

35 Las formulaciones se mantendrán en frío en un baño de agua helada durante todos los procedimientos de toma de muestras.

Las formulaciones se agitarán continuamente con una barra de agitación durante un mínimo de 15 minutos antes de la toma de muestras.

40 Las muestras se conservarán congeladas (aproximadamente -80 °C nominales) en ITR hasta que el patrocinador las pida para enviarlas a un laboratorio designado por el patrocinador para su análisis. Las muestras pueden descartarse una vez que se determine por el Analista y el Director del Estudio que ya no son necesarias. La disposición de estas muestras se registrará en los datos sin procesar.

45 Si se analiza, se preparará un informe de Formulación de Dosis por el Investigador Principal (análisis de Formulación) y se proporcionará a ITR para su inclusión en el informe final.

**Sistema de ensayo**

Especie/Cepa/ Fuente:	Mono Cynomolgus ( <i>Macaca fascicularis</i> ) Worldwide Primates Inc., P.O. Box 971279 Miami, Florida, 33187, Estados Unidos y Covance Research Products Inc. P.O. Box 549 Alice, Texas, 78333, Estados Unidos
Nº total de monos en el estudio:	8 hembras previamente tratadas

Intervalo de peso corporal:	2-4 kg al comienzo del tratamiento
Intervalo de edad al comienzo:	Joven adulto al comienzo del tratamiento
Periodo de aclimatación:	Los animales se transferirán de la colonia de monos de reserva de ITR. Se consideran, por lo tanto, completamente aclimatados al ambiente de laboratorio

Los intervalos de edad y pesos corporales reales se indicarán en el informe final.

**Administración de los artículos de ensayo y de control/vehículo**

5 Los artículos de ensayo y de control/vehículo se administrarán por administración de sonda oral usando un tubo de sonda unido a una jeringa en tres Fases separadas por un periodo de lavado/observación de un mínimo de 7 días. Cada sesión de dosificación consistirá en una única administración de sonda oral. El tubo de sonda se lavará con 3 ml de agua de osmosis inversa inmediatamente después de la administración de la formulación de dosis para asegurar que el volumen de dosis completa se ha suministrado al animal. El volumen de dosis será de 10 ml/kg para todos los animales, incluyendo los controles. El volumen real administrado a cada mono el Día 1 de cada Fase se calculará usando los pesos corporales el Día -1 de cada Fase.

15 Las formulaciones de dosificación se mantendrán frías durante la administración de la dosis colocándolas en un baño de agua helada.

20 Las formulaciones de dosificación deben colocarse en una placa de agitación durante un mínimo de 15 minutos antes del comienzo de la dosificación y deben mantenerse en la placa de agitación durante todo el procedimiento de dosificación.

Las formulaciones de dosificación deben usarse en un periodo de 2 horas desde la preparación.

**Observaciones clínicas**

25 Las señales clínicas en la jaula (mala salud, cambios conductuales, etc.) se registrarán como se indica posteriormente excepto en los días de examen clínico detallado, en los que las señales clínicas en jaula matutinas se reemplazarán por un examen clínico detallado (DCE). Durante los exámenes detallados y de señales clínicas en jaula regulares, se prestará especial atención a las heces con respecto a la cantidad de heces producidas, descripción de las heces, etc.

30 Las señales clínicas en jaula se realizarán de la siguiente manera:

Durante el periodo de pretratamiento y durante los periodos de observación de 7 días (mínimo): Tres veces al día con un mínimo de 3 horas entre cada ocasión.

35 El día de la dosificación de Fase 1: pre-dosis, 2, 4, 6, 8 y 24 horas después de la dosificación.

El día de la dosificación de Fase 2: pre-dosis, continuamente durante las primeras 4 horas después de la dosis y a las 6, 8 y 24 horas después de la dosificación.

40 El día de la dosificación de Fase 3: pre-dosis, continuamente durante las primeras 4 horas después de la dosis y a las 6, 8 y 24 horas después de la dosificación.

Se realizará un examen clínico detallado de cada mono, una vez en el momento de la transferencia del animal y una vez una semana después.

45 Los animales cuyo estado de salud se valore que requiera una evaluación adicional se examinará por un Veterinario Clínico, o un técnico que trabaje bajo la supervisión del Veterinario Clínico. Cualquier tratamiento recombinado por el Veterinario se realizará solamente una vez que se haya obtenido la aprobación del Director del Estudio. Cuando sea posible, se consultará con el Patrocinador antes de la administración de fármacos terapéuticos.

50 Se registrarán los pesos corporales para todos los animales una vez al día a partir del día de la transferencia hasta el final del estudio.

Se registrará el consumo de alimentos para todos los animales una vez al día desde el día de la transferencia hasta final del estudio.

55 Las jaulas se limpiarán antes del comienzo del consumo de alimentos diarios para asegurar que no quedan galletas en las jaulas. Se alimentará a los monos con 7 galletas antes de las 12 de la mañana y 7 galletas después de las 12 de la mañana. Se registrará la suma del número total de galletas proporcionadas durante el día.

60 Al día siguiente, se realizará una comprobación visual para ver cuántas galletas quedan en la jaula. Se registrará el número de galletas completas restantes en la tolva de alimentos o en la bandeja. El número de galletas completas



restantes se restará del número total de galletas proporcionadas para calcular el número de galletas comidas.

#### **EJEMPLO 8: MODELO DE RATÓN LACTANTE DE SECRECIÓN INTESTINAL (ENSAYO SUMI)**

5 Los péptidos GCRA descritos en el presente documento pueden ensayarse con respecto a su capacidad para aumentar la secreción intestinal usando un modelo de ratón lactante de secreción intestinal. En este modelo, se administra un péptido GCRA a ratones lactantes que tienen entre siete y nueve días de edad. Después de sacrificarse los ratones, el tracto gastrointestinal del estómago al ciego se disecciona ("vísceras"). Los restos ("cadáver") así como las vísceras se pesan y se calcula la relación de peso de vísceras y cadáver. Si la relación está por encima de 0,09, se puede concluir que el compuesto de ensayo aumenta la secreción intestinal. Los controles para este ensayo pueden incluir SP-304 de tipo silvestre, polipéptido ST y Zelnorm®. Modelo de retorcimiento inducido por fenilbenzoquinona.

15 El modelo de retorcimiento inducido por PBQ puede usarse para evaluar la actividad de control de daño del péptido GCRA descrito en el presente documento. Este modelo se describe en Siegmund *et al.* (1957 Proc. Soc. Exp. Bio. Med. 95: 729-731). Brevemente, una hora después de la dosificación oral con un compuesto de ensayo, por ejemplo, un péptido GCRA, morfina o vehículo, se inyecta una solución de fenilbenzoquinona 0,02 % (PBQ) (12,5 ml/kg) por vía intraperitoneal en el ratón. El número de estiramientos y retorcimientos se registran desde el minuto 5<sup>o</sup> al 10<sup>o</sup> después de la inyección de PBQ, y también pueden contarse entre el minuto 35<sup>o</sup> y 40<sup>o</sup> y entre el minuto 60<sup>o</sup> y 65<sup>o</sup> para proporcionar una evaluación cinética. Los resultados se expresan como el número de estiramientos y retorcimientos (media  $\pm$  ETM) y el porcentaje de variación del umbral nociceptivo calculado a partir del valor medio del grupo tratado con vehículo. La importancia estadística de cualquier diferencia entre los grupos tratados y el grupo de control se determina por un ensayo de Dunnett usando la varianza residual después de un análisis de varianza de una vía ( $P < 0,05$ ) usando el software SigmaStat.

#### **EJEMPLO 9: DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES FARMACOCINÉTICAS DE PÉPTIDOS GCRA**

30 Se extraen muestras de suero de la sangre completa de ratones expuestos (ratones a los que se ha dosificado por vía oral o vía intravenosa con péptidos GCRA descritos en el presente documento) y de control, después se les inyecta directamente (10 ml) en una columna de extracción de fase sólida en línea (SPE) (columna de 25  $\mu$ m Waters Oasis HLB, conexión directa de 2,0 x 15 mm) sin procesamiento adicional. La muestra en la columna SPE se lava con una solución de metanol 5 %, dH<sub>2</sub>O 95 % (2,1 ml/min, 1,0 minutos), después se cargan en una columna analítica 0 usando un interruptor de válvula que coloca la columna de SPE en una ruta de flujo invertida en la columna analítica (columna IS de 5  $\mu$ m Waters Xterra MS C8, 2,1 x 20 mm). La muestra se eluye de la columna analítica con un gradiente de fase inversa (Fase Móvil A: hidróxido de amonio 10 mM en dH<sub>2</sub>O, Fase Móvil B: hidróxido de amonio 10 mM en acetonitrilo 80 % y metanol 20 %; B 20 % durante los primeros 3 minutos después aumentando a B 95 % durante 4 min y manteniendo durante 25 min, todo a un caudal de 0,4 ml/min). A los 9,1 minutos, el gradiente vuelve a las condiciones iniciales de B 20 % durante 1 min. El polipéptido se eluye de la columna analítica y se detecta mediante espectrometría de masas triple-cuadrípulo (MRM, 764 (estado de carga +2) > 182 (estado de carga +1) Da; tensión de cono = 30 V; colisión = 20 eV; resolución parental = 2 Da en el pico básico; resolución descendiente = 2 Da en el pico básico). La respuesta del instrumento se convierte en unidades de concentración por comparación con una curva patrón usando cantidades conocidas de un polipéptido o polipéptidos sintetizados químicamente preparados e inyectados en plasma de ratón usando el mismo procedimiento.

45 De forma similar, las propiedades farmacocinéticas se determinan en ratas usando metodología de EMCL. Se extraen muestras de plasma de ratas que contienen el péptido GCRA usando una placa de extracción de fase sólida (SPE) de 96 pocillos Waters Oasis MAX. Se mezcla un volumen de 200  $\mu$ l de plasma de rata con 200  $\mu$ l de polipéptido marcado con <sup>13</sup>Cg, <sup>15</sup>N en el pocillo de una placa de SPE preparada. Las muestras se extraen a través de la fase estacionaria con un vacío de 2 kPa. Todas las muestras se aclararon con 200  $\mu$ l de hidróxido de amonio 2 % en agua seguido de 200  $\mu$ l de metanol 20 % en agua. Las muestras se eluyeron con volúmenes de 100  $\mu$ l consecutivos de ácido fórmico/agua/metanol 5/20/75 y 100  $\mu$ l de ácido fórmico/agua/metanol 5/15/80. Las muestras se secan con nitrógeno y se resuspenden en 100  $\mu$ l de metanol 20 % en agua. Las muestras se analizan por un espectrómetro de masas Waters Quattro Micro acoplado con una bomba binaria Waters 1525 con un aparato de muestreo automático Waters 2777. Se inyectan un volumen de 40  $\mu$ l de cada muestra en una columna Thermo Hypersil GOLD C18 (2,1 x 150 mm, 5  $\mu$ m), se eluye polipéptido por un gradiente durante 3 minutos con acetonitrilo y agua que contiene ácido trifluoroacético 0,05 %. El espectrómetro de masas Quattro Micro se procesa en un modo de control de reacción múltiple (MRM) usando las transiciones de masas de, por ejemplo, 764 > 182 o 682 > 136. Usando esta metodología, el polipéptido se dosifica por vía oral y por IV a ratas a 10 mg/kg. Se determinan las propiedades farmacocinéticas incluyendo área bajo la curva y biodisponibilidad.

#### **EJEMPLO 10: EFECTO SOBRE LA DIURESIS Y LA NATRIURESIS DE EXPERIMENTOS RELACIONADOS CON LA DIURESIS**

65 El efecto de los péptidos GCRA descritos en el presente documento en la diuresis y la natriuresis pueden determinarse usando metodología similar a la descrita en el documento WO06/001931 (ejemplos 6 (p. 42) y 8

(p.45)). Brevemente, el polipéptido/agonista descrito en el presente documento (180 pmol) se infunde durante 60 minutos en un grupo de 5 ratones o primates anestesiados. Dado un volumen de plasma de rata estimado de 10 ml, la velocidad de infusión es de aproximadamente 3 pmol/ml/min. La presión sanguínea, producción de orina y excreción de sodio se controlan durante aproximadamente 40 minutos antes de la infusión, durante la infusión y durante aproximadamente 50 minutos después de la infusión para medir el efecto de los péptidos GCRA en la diuresis y natriuresis. Para comparación, se infunde solución salina regular a un grupo de control de cinco ratas. Puede evaluarse la excreción de orina y sodio. También puede determinarse la respuesta a dosis. Se infunde por vía intravenosa polipéptido/agonista de GC-C en ratones o primates durante 60 minutos. Se recoge orina a intervalos de 30 minutos hasta 180 minutos después de terminar la infusión de polipéptido/agonista de GC-C y se determinan el volumen de orina, la excreción de sodio y la excreción de potasio para cada intervalo de recogida. Se controla continuamente la presión sanguínea. Para cada dosis puede determinarse una relación de respuesta a dosis para el volumen de orina, excreción de sodio y potasio. También se determina la concentración en plasma del polipéptido/agonista de GC-C antes y después de la infusión iv.

Experimento de Diuresis de Ratón o Primate: Una vez que se ha conseguido un nivel de anestesia apropiado, se inserta un catéter de poliuretano estéril en la uretra y se fija usando 1 – 2 gotas de adhesivo de unión veterinario aplicado al punto de unión de uretra/catéter. Después se dosifica a los animales vehículo o artículo de ensayo por la vía intravenosa o intraperitoneal. Se permite que los animales recuperen la consciencia, y se registra el volumen de orina excretado durante un periodo de 1-5 horas periódicamente para cada rata.

#### **EJEMPLO 11: REDUCCIÓN DE COLESTEROL EN RATONES CON DISLIPIDEMIA**

La dislipidemia, incluyendo hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia o su combinación, se considera una evolución importante de la aterosclerosis (Davidson y otros 2003). Se ha indicado que la aparición de acontecimientos cardiovasculares puede controlarse bien reduciendo el nivel de colesterol en suero, que siempre inicia directamente dislipidemia y otras afecciones asociadas con dislipidemia tales como hígado graso por acumulación excesiva de triglicéridos en hepatocitos (Wald y Law 1995; Krauss 1999).

#### **Protocolo animal**

Se alojarán ratones de 4 semanas de edad en jaulas de plástico con virutas de madera en condiciones controladas (temperatura  $24 \pm 0,5$  °C, humedad  $55 \pm 5$  % y 12 h de luz de 08:00 a 20:00) y se mantendrán de acuerdo con la Guía para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio. Después de 1 semana de aclimatación, se asignarán aleatoriamente a 5 grupos (n = 12): 2 grupos de control y 3 de tratamiento. Durante un periodo de 12 semanas, se alimentará a dos grupos de control con una dieta regular (DR) o dieta enriquecida con colesterol (DEC), y se alimentará a 3 grupos de tratamiento con DEC, junto con tres dosis de agonistas de GC-C (1, 5, 10 mg/kg/peso corporal). Se produce DEC complementando colesterol 1 %, aceite de manteca 10 %, y colato 0,1 % con la dieta regular. Los pesos corporales se medirán cada 3 días y se registrará el consumo de alimento diario.

#### **Perfil de lípidos en suero y hepáticos**

Las semanas 3, 6, 9 y 12, se tomarán muestras de sangre del plexo venoso orbital usando un tubo capilar sin anestesia, después de ayuno de 16 horas. Al final del periodo de experimento, los ratones se sacrificarán por dislocación cervical. Las muestras sanguíneas se colocarán en un tubo de plástico, y se incubará a 37 °C durante 15 min, después se centrifugará durante 8 min a 4000 rpm. Las muestras de suero se almacenarán a -20 °C hasta su análisis posterior. El tejido de los hígados se escindirá, se pesará y se almacenará a -80 °C hasta su análisis. Los parámetros lipídicos, incluyendo TC, TG, HDL-C y LDL-C se ensayarán individualmente usando los métodos enzimáticos en el auto-analizador Alcyon 300 (Abbott Laboratories Ltd., Ill., Estados Unidos). Se extraerán lípidos del hígado y se ensayarán.

#### **Determinación del colesterol neutro y ácidos biliares fecales**

Se recogerán las heces al final del experimento, se liofilizarán y se molerán para pasar a través de un tamiz de 0,5 mm. Se extraerán y ensayarán los esteroides neutros y ácidos biliares.

#### **EJEMPLO 12: REDUCCIÓN DE COLESTEROL EN CONEJOS ALIMENTADOS CON UNA DIETA ALTA EN COLESTEROL**

#### **Protocolo animal**

Se alimentará a conejos NZW (11 semanas de edad) con una dieta que contenga colesterol 0,5 % (dieta alta en colesterol; DAC) durante 1 semana. Se dividirán después en 5 grupos de modo que cada grupo tenga una concentración de colesterol en suero similar. El grupo de control continuará con la DAC. Al grupo de control positivo se le proporcionará DAC complementada con colestiramina a una concentración de 700 mg/kg. A 3 grupos de tratamiento de animales se les proporcionará DAC complementada con una cantidad calculada de SP-304 o SP-333 a dosis finales de 0,1, 1,0 y 10 mg/kg/peso. Se recogerán muestras sanguíneas de la vena marginal de la oreja cada

dos semanas sin ayuno. Al final del estudio, se retirarán tejidos del hígado, corazón y GI para análisis adicional. Se alimentará a cuatro ratones NZW con una dieta ordinaria (RC-4) durante el periodo experimental, se sacrificarán y después se tratarán como se ha descrito anteriormente.

## 5 **Análisis de lípidos y ácidos biliares**

### **Lípidos en suero**

10 Se determinarán el colesterol, triglicéridos (TG) y fosfolípidos totales en suero usando kits comerciales Sterozyme Auto-545 (Fujirebio, Inc), Wako TGzH tipo L, y Wako PLzH tipo L (Wako Pure Chemical Industries), respectivamente. Se separarán fracciones lipoproteicas en suero por ultracentrifugación. Se ensayarán VLDL, HDL y LDL usando kits disponibles en el mercado.

### **Lípidos en el hígado**

15 El hígado se homogeneizará con etanol, y después se realizará extracción de lípidos por reflujo durante 20 minutos. El extracto se evaporará con gas N<sub>2</sub> y se disolverá con isopropanol. Los contenidos de colesterol, TG y fosfolípidos totales y libres se determinarán usando kits comerciales Determinar TC 555 y Determinar FC 555 (Kyowa Medex Co, Ltd), ensayo E de triglicéridos (Wako), y Ensayo B de fosfolípidos (Wako), respectivamente. Se realizará medición de lípidos con un analizador de centrífuga Cobas-Fara (Roche Diagnostics). Se calculará el colesterol esterificado restando el colesterol libre del colesterol total.

### **Ácidos biliares focales**

25 Se obtendrán ácidos biliares de las heces liofilizadas después de 3 extracciones con etanol y se purificarán con gel de piperidinohidroxipropildextrano (Shimadzu Corp). Estas muestras se analizarán por cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC). Se determinarán las cantidades de los 3 ácidos biliares principales (ácido 12-oxolotocólico, ácido desoxicólico y ácido litocólico).

## 30 **EJEMPLO 13: SP-304 INHIBE LA ABSORCIÓN DE TAUROCOLATO (ÁCIDO BILIAR) POR MONOCAPA DE CACO-2**

### **Procedimientos**

35 **Cultivo de células CaCo-2:** Se obtuvieron células CaCo-2 de carcinoma de colon humano, de la Colección Americana de Cultivos Tipo (ATCC) y se cultivaron en medio DMEM que contenía suero bovino fetal al 10 %, penicilina-estreptomycin 1 %, L-glutamina 2 mM, aminoácidos no esenciales 1 %. Se alimentó a las células con medio nuevo cada tres días y se cultivaron durante 16-21 días para formar una monocapa completamente diferenciada. Se sabe que las células CaCo-2 completamente diferenciadas expresan una alta densidad de receptores de GC-C.

45 **Preparación de cóctel de <sup>3</sup>H-taurocolato:** Se disolvió fosfatidil colina en etanol para preparar una solución de reserva de 50 mM. Se mezcló un volumen calculado de la solución de reserva de fosfatidil colina con 3H-taurocolato en un tubo de plástico y se secó con gas argón a 80 °C. El material seco se disolvió en tampón de transporte para llegar a la concentración final de fosfatidil colina (0,5 mM) y de 3H-taurocolato de 10 µCi/ml.

50 **Ensayo de estimulación de GMP cíclico:** Se ensayó la actividad biológica de los péptidos GCRA como se ha indicado previamente (5). Brevemente, se lavaron monocapas de células CaCo-2 cultivadas durante 16 días en placas de 24 pocillos dos veces con 250 µl de DMEM que contenía HEPES 50 mM (pH 7,4), se preincubaron a 37 °C durante 10 min con 250 µl de DMEM que contenía HEPES 50 mM (pH 7,4) e isobutimetilxantina (IBMX) 1 mM, seguido de incubación con péptidos GCRA (0,1 nM a 10 µM) durante 30 min. El medio se aspiró, y la reacción se terminó mediante la adición de ácido perclórico 3 %. Después de la centrifugación y neutralización con NaOH 0,1, se usó el sobrenadante directamente para mediciones de GMPc usando un kit ELISA (Caymen Chemical, Ann Arbor, Mich.).

### 55 **Estipulación de la síntesis de GMP cíclico por SP-304**

60 Se trataron monocapas con 500 µl de DMEM sin suero durante 30 minutos con SP-304 solo o en combinación con inhibidores de fosfodiesterasa tales como 3-isobutil-1-metilxantina (IBMX), sulfona de sulindac (SS) y zaprinast (ZAP). Después de la incubación, las monocapas se lisaron con 250 µl de ácido perclórico 3 %. El lisado se neutralizó con NaOH 0,1 N y se usó para ELISA para determinar la concentración de GMPc. El procedimiento de ensayo fue esencialmente el mismo que se ha descrito (5). Como se muestra en la Figura 1, las células CaCo-2 produjeron GMPc en respuesta a estimulación con SP-304, lo que demuestra que estas células expresan receptores de GC-C. Ya que las células CaCo-2 sobreexpresan fosfodiesterasas (PDE), se usan agonistas de GC-C en combinación con inhibidores de PDE para medir el efecto estimulador real de agonistas de GC-C. Como se

65

esperaba, los inhibidores de fosfodiesterasa (PDE) (IBMX, SS y ZAP) produjeron efectos sinérgicos en la estimulación de la producción de GMPc por SP-304. Entre los inhibidores de PDE, ZAP mostró máxima producción de GMPc. Por lo tanto, se usó ZAP en todos los experimentos.

#### 5 **Efecto del tiempo de preincubación en la absorción de $^3\text{H}$ -taurocolato por células CaCo-2**

Se cultivaron células CaCo-2 en placas de 24 pocillos durante 16 horas para permitir la formación de una monocapa completa y diferenciación celular. Se preincubaron después monocapas completamente diferenciadas con 250  $\mu\text{l}$  del tampón de transporte (HEPES 25 mM, NaCl 120 mM, KCl 5,4 mM,  $\text{CaCl}_2$  1,8 mM y  $\text{MgSO}_4$ , pH 7,5) que contenía SP-304 solo o en combinación con inhibidores de PDE tales como IBMX, SS y ZAP. Las monocapas se preincubaron con tampón de transporte que contenía uno de los siguientes: vehículo (control), 8-bromo-GMPc 1 mM, SS 500  $\mu\text{M}$ , ZAP 500  $\mu\text{M}$ , SP-304 1  $\mu\text{M}$ , SP-304 0,1  $\mu\text{M}$  + SS 500  $\mu\text{M}$  y SP-304 1  $\mu\text{M}$  + ZAP 500  $\mu\text{M}$ . Después del tiempo de preincubación indicado, se añadieron 50  $\mu\text{l}$  de cóctel de  $^3\text{H}$ -taurocolato (1  $\mu\text{Ci}$ ) y las células se incubaron durante 60 minutos adicionales, se lavaron tres veces con PBS helado. Las células se lisaron con NaOH 0,5 N durante 4 horas y se contó la radiactividad en el lisado en un contador de centelleo. Como se muestra en la Figura 3, una preincubación de aproximadamente 30 minutos fue suficiente para inhibir la absorción de  $^3\text{H}$ -taurocolato por células CaCo-2. Ya que la preincubación prolongada dio como resultado el desprendimiento de células, se usaron 30 minutos de periodo de preincubación para todos los experimentos.

#### 20 **Cinética de la absorción de $^3\text{H}$ -taurocolato por monocapa de CaCo-2**

Se preincubaron monocapas de células CaCo-2 cultivadas durante 16 días en placas de 24 pocillos con tampón de transporte que contenía los compuestos como se indica en la figura durante 30 minutos. Después de la preincubación, se añadió 1  $\mu\text{Ci}$  de cóctel de  $^3\text{H}$ -taurocolato en cada pocillo y las células se incubaron adicionalmente durante 60 minutos. Las células se lavaron tres veces con PBS helado y se lisaron con NaOH 0,5 N y se contaron los lisados con respecto a radiactividad en un contador de centelleo. Los resultados se expresan como un promedio de tres determinaciones. Los resultados en el eje x se representaron en la escala logarítmica. Como se muestra en la Figura 4, la absorción de  $^3\text{H}$ -taurocolato aumentó con el tiempo de incubación hasta 60 minutos. La absorción de  $^3\text{H}$ -taurocolato se inhibió por 8-Br-GMPc así como por SP-304, lo que indica que la absorción de  $^3\text{H}$ -taurocolato se inhibe mediante un mecanismo mediado por GMPc.

#### **Absorción de $^3\text{H}$ -taurocolato por monocapas de CaCo-2**

Se cultivaron células CaCo-2 durante 20 días en placas de 24 pocillos, se preincubaron en tampón de transporte los compuestos como se indica la figura durante 30 minutos. Después de la preincubación, se añadió 1  $\mu\text{Ci}$  de cóctel de  $^3\text{H}$ -taurocolato en cada pocillo y las células se incubaron adicionalmente durante 60 minutos. Las células se lavaron tres veces con PBS helado y se lisaron con NaOH 0,5 N y los lisados se contaron con respecto a radiactividad en un contador de centelleo. Este experimento se procesó en grupos cuádruples y los resultados se expresan como media  $\pm$  DT. Como se muestra en la Figura 5, la absorción de  $^3\text{H}$ -taurocolato se inhibió por 8-Br-GMPc así como por SP-304.

#### **Absorción de $^3\text{H}$ -taurocolato en células de CaCo-2**

El procedimiento usado en este experimento fue esencialmente el mismo excepto por una concentración menor de ZAP (250  $\mu\text{M}$ ) en experimentos de combinación con SP-304. Como se muestra en la Figura 6, SP-304 (0,1  $\mu\text{M}$ ) no produjo mucha inhibición en la absorción de  $^3\text{H}$ -taurocolato. Sin embargo, la misma concentración de SP-304 en combinación con ZAP produjo un mayor efecto en la inhibición de la absorción de  $^3\text{H}$ -taurocolato.

#### **Referencias:**

1. Currie, *et al.*, Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 89: 947-951 (1992).
2. Hamra, *et al.*, Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 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).
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).

9. Lipkin, M. Arch. Fr. Mal. Appl Dig. 61: 691-693 (1972).
10. Wong, *et al.*, Gut 50: 212-217 (2002).
- 5 11. Potlen, *et al.*, Stem Cells 15: 82-93.
12. Basoglu, *et al.*, en: Proceedings of the Second FEPS Congress, 29 de junio-4 de julio, 1999, Praga, República Checa, lf2.cuni.cz/physiolres/feeps/basoglu
- 10 13. Sindic, *et al.*, J. Biol. Chem. 11 de marzo de 2002, manuscrito M110627200 (en prensa).
14. Askling, J., Dickman, P.W., Karlen, P., Brostrom, O., Lapidus, A., Lofberg, R., y Ekbom, A. Colorectal cancer rates among first-degree relatives of patients with inflammatory bowel disease: a population-based cohort study. Lancet, 357: 262-266.
- 15 15. Provenzale, D. y Onken, J. Surveillance issues in inflammatory bowel disease: Ulcerative colitis. J Clin Gastroenterol, 32: 99-105 (2001).
16. Ettore, G.M, Pescatori, M., Panis, Y., Nemeth, J., Crescenzi, A., y Valleur, P. Mucosal changes in ileal pouches after restorative proctocolectomy for ulcerative and Crohn's colitis. Dis Colon Rectum, 43: 1743-1748 (2000).
- 20 17. Shinozaki M, Watanabe T, Kubota Y, Sawada T, Nagawa H, Muto T. High proliferative activity is associated with dysplasia in ulcerative colitis. Dis Colon Rectum, 43: 534-S39 (2000).
- 25 18. Deschner, E. E., Winawer, S.J., Katz, S., Katzka, I., y Kahn, E. Proliferative defects in ulcerative colitis patients. Cancer Invest, 1: 41-47 (1983).
19. Wong, W.M., y Wright, N. A. Cell proliferation and gastrointestinal mucosa. J Clin Pathol, 52: 321-333.
- 30 20. Potten, C.S., Wilson, J.W., y Booth, C. Regulation and significance of apoptosis in the stem cells. Stem Cells, 15: 82-93.
21. Bhakdi, *et al.*, Infect. Immun. 57: 3512-3519 (1989).
- 35 22. Hughes, *et al.*, J. Biol. Chem. 272: 30567-30576 (1997).
23. Cermak, *et al.*, Pflugers Arch. 43: 571-577 (1996).
- 40 24. Wu, *et al.*, J. Biol. Chem. 272: 14860-14866 (1997).
25. Shailubhai *et al.*, Cancer Research 60, 5151-5157 (2000)
26. Shailubhai *et al.*, Curr. Opin. Drug Disc. Dev. 5(2): 261-268 (2002).
- 45 27. Collins, SM. J Clin Gastroenterol. 41 Sup. 1: S30-32 (2007)
28. Ramamoorthy S *et al.*, J Biol Chem. 282(16): 11639-11647 (2007)
- 50 29. Delvaux M, *et al.*, (1998) Aliment Pharmacol Ther. 12: 849-55 (1998).
30. Muller-Lissner S, *et al.*, Am J Gastroenterol. 101: 2558-69 (2006).
31. Barbara G, *et al.*, Gut; 51 (sup. 1): 141-144 (2002).
- 55 32. Lam DD, *et al.*, Expert Rev Mol Med; 9: 1-24 (2007).
33. de Luca C, Olefsky JM. FEBS Lett. 582: 97-105 (2008).
- 60 34. Tilg H, Moschen AR. Mol Med. 14: 222-31 (2008).
35. Gulcan E, *et al.*, Am J Med Sci. 338: 116-9 (2009).
36. Spranger J, *et al.*, Diabetes. 52: 812-17 (2003)
- 65 37. Gülcan E, Am J Med Sci. 334: 444-51 (2007).

38. Brown MS, Goldstein JL., Science. 232: 34-47 (1986).
39. Samuel, P., *et al.*, J. Clin. Invest. 47: 2070-2078 (1968).
- 5 40. Turley SD y Dietschy JM., The Liver: Biology and Pathobiology, 617-641 (1988).
41. Gylling H, Miettinen TA, Atherosclerosis. 117: 305-308 (1995).
42. Meier PJ, Stieger B., Annu Rev Physiol. 64: 635-61 (2002).
- 10 43. Clader JW., J Med Chem. 47: 1-9 (2004).
44. Shailubhai, K., *et al.*, Cancer Research 60: 5151-5157 (2000).

15 LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Shailubhai, Kunwar

20 <120> Agonistas de guanilato ciclasa útiles para el tratamiento de hipercolesterolemia, aterosclerosis, enfermedad cardiaca coronaria, piedras en la vesícula, obesidad y otras enfermedades cardiovasculares

<130> 40737-503002WO

<140> PCT/US2010/058848

25 <141> 03-12-2010

<150> US 12/630654

<151> 03-12-2009

30 <150> US 12/133344

<151> 04-06-2008

<150> US 60/933194

35 <151> 04-06-2007

<150> US 12/478505

<151> 04-06-2009

40 <150> US 61/058888

<151> 04-06-2008

<150> US 12/504288

<151> 16-07-2009

45 <150> US 61/081289

<151> 16-07-2008

<150> US 61/058892

50 <151> 04-06-2008

<150> US 12/478511

<151> 04-06-2008

55 <160> 278

<170> PatentIn versión 3.5

<210> 1

<211> 16

60 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintetizada químicamente

65 <400> 1

**REIVINDICACIONES**

- 5 1. Un agonista del receptor de guanilato ciclasa que tiene la secuencia de SEC ID N<sup>o</sup>: 1, en el que dicha secuencia es un biciclo [4,12; 7,15], para su uso en un método para prevenir o tratar la hipercolesterolemia.
2. El agonista del receptor de guanilato ciclasa para uso de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende además administrar una dosis eficaz de inhibidor de una fosfodiesterasa específica de GMPc.
- 10 3. El agonista del receptor de guanilato ciclasa para uso de acuerdo con la reivindicación 2, en el que dicho inhibidor de fosfodiesterasa dependiente de GMPc se administra bien simultáneamente o bien secuencialmente con dicho agonista del receptor de guanilato ciclasa.
- 15 4. El agonista del receptor de guanilato ciclasa para uso de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende además administrar una dosis eficaz de un fibrato, un agente alterador de lípidos, o un inhibidor de HMG-CoA reductasa.
5. El agonista del receptor de guanilato ciclasa para uso de acuerdo con la reivindicación 4, en el que dicho fibrato, agente alterador de lípidos o inhibidor de HMG-CoA reductasa se administra bien simultáneamente o bien secuencialmente con dicho agonista del receptor de guanilato ciclasa.
- 20 6. El agonista del receptor de guanilato ciclasa para uso de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende además administrar una dosis eficaz de un agente anti-diabético.
- 25 7. El agonista del receptor de guanilato ciclasa para uso de acuerdo con la reivindicación 6, en el que dicho agente anti-diabético se administra bien simultáneamente o bien secuencialmente con dicho agonista del receptor de guanilato ciclasa.
- 30 8. El agonista del receptor de guanilato ciclasa para uso de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende además administrar una dosis eficaz de un agente anti-obesidad.
- 35 9. El agonista del receptor de guanilato ciclasa para uso de acuerdo con la reivindicación 8, en el que dicho agente anti-obesidad se administra bien simultáneamente o bien secuencialmente con dicho agonista del receptor de guanilato ciclasa.
10. El agonista del receptor de guanilato ciclasa para uso de acuerdo con la reivindicación 2, que comprende además administrar un fibrato, un agente alterador de lípidos, un inhibidor de HMG-CoA reductasa, un agente anti-diabético o un agente anti-obesidad.
- 40 11. El agonista del receptor de guanilato ciclasa para uso de acuerdo con la reivindicación 10, en el que dicho fibrato, agente alterador de lípidos, inhibidor de HMG-CoA reductasa, agente anti-diabético o agente anti-obesidad se administra bien simultáneamente o bien secuencialmente con dicho inhibidor de una fosfodiesterasa específica de GMPc.
- 45 12. El agonista del receptor de guanilato ciclasa para uso de acuerdo con la reivindicación 4, en el que dicho fibrato, agente alterador de lípidos o inhibidor de HMG-CoA reductasa se administra a una dosis menor que la convencional para tratar dicha hipercolesterolemia.

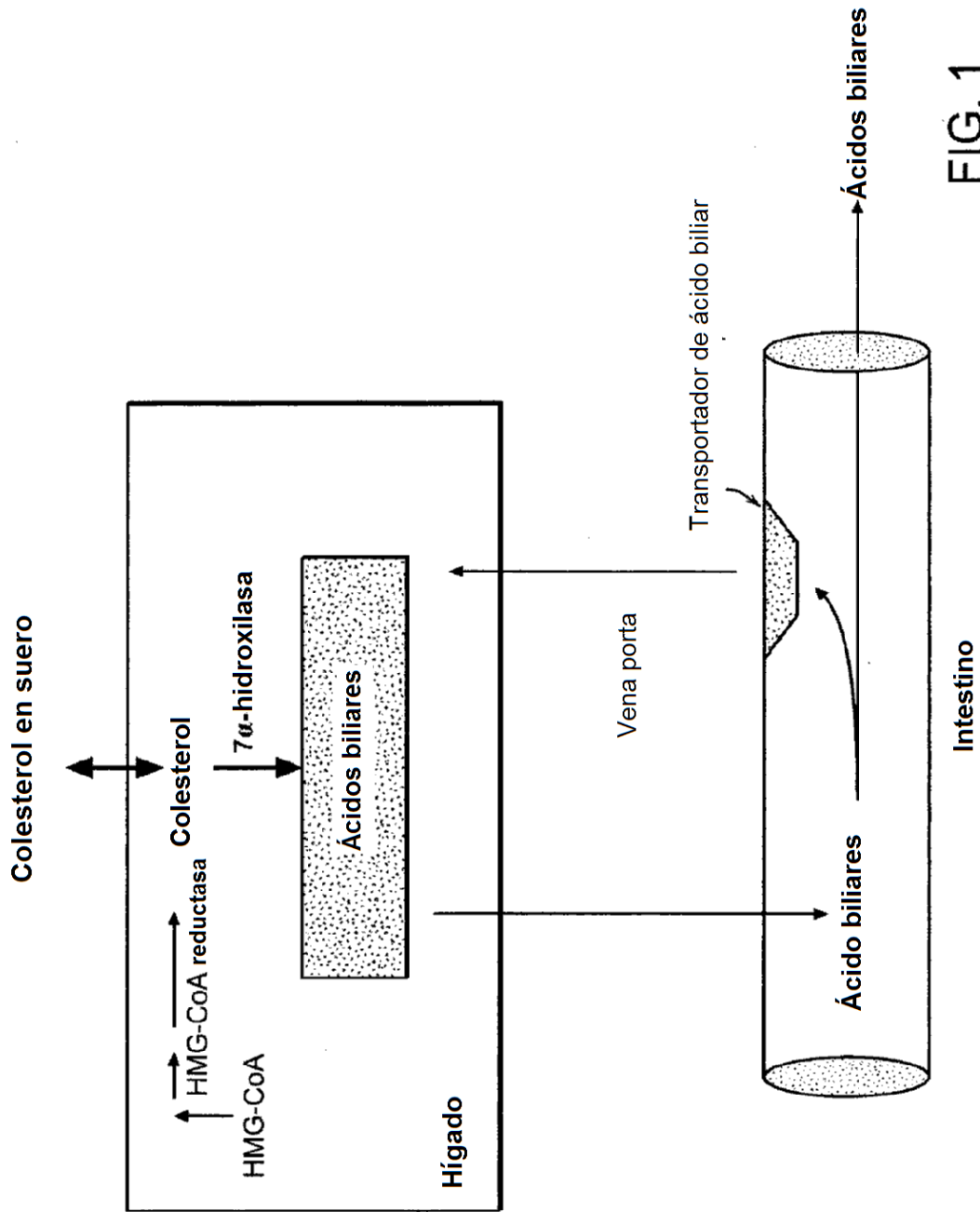
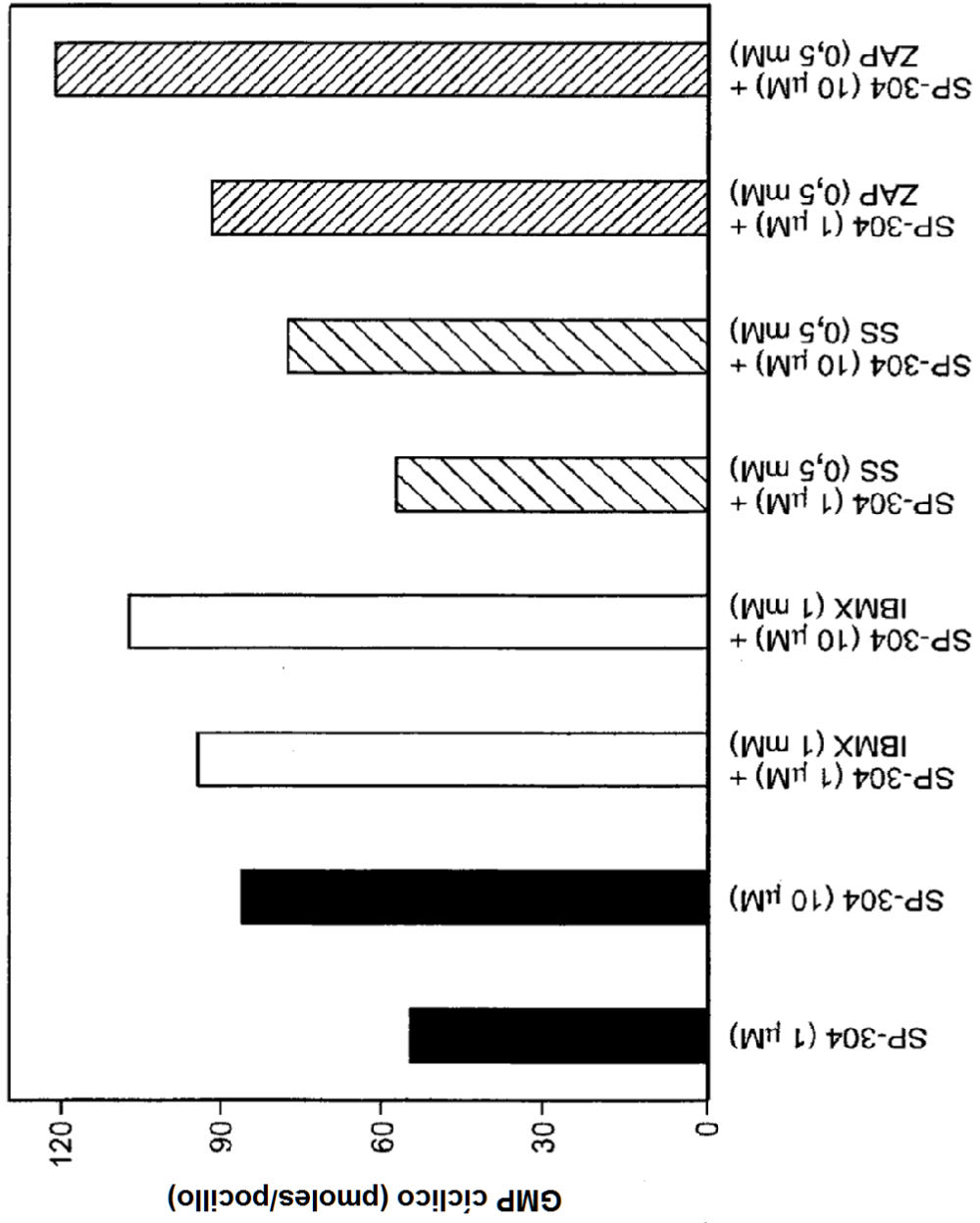


FIG. 1



FIG. 2



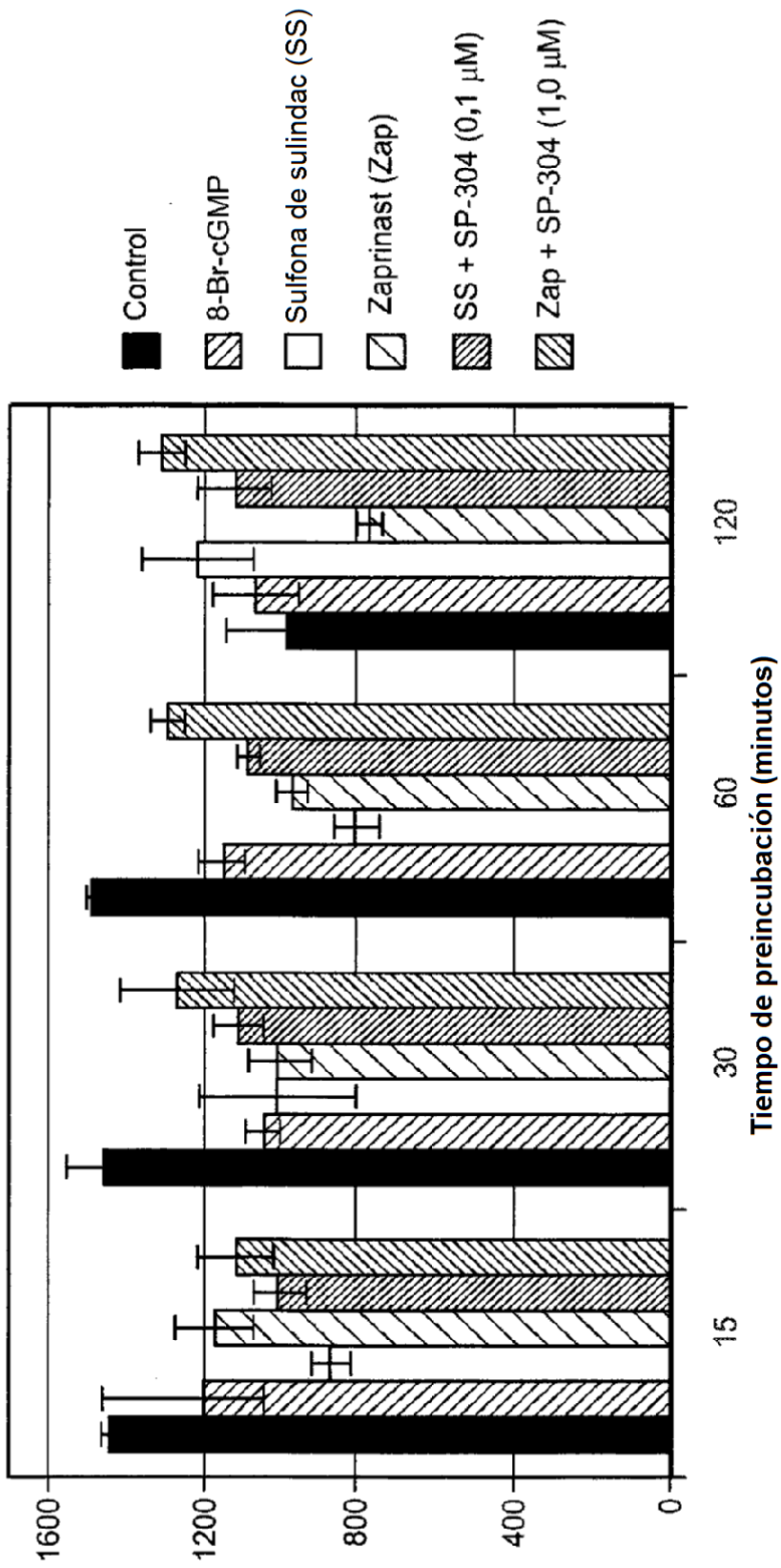


FIG. 3

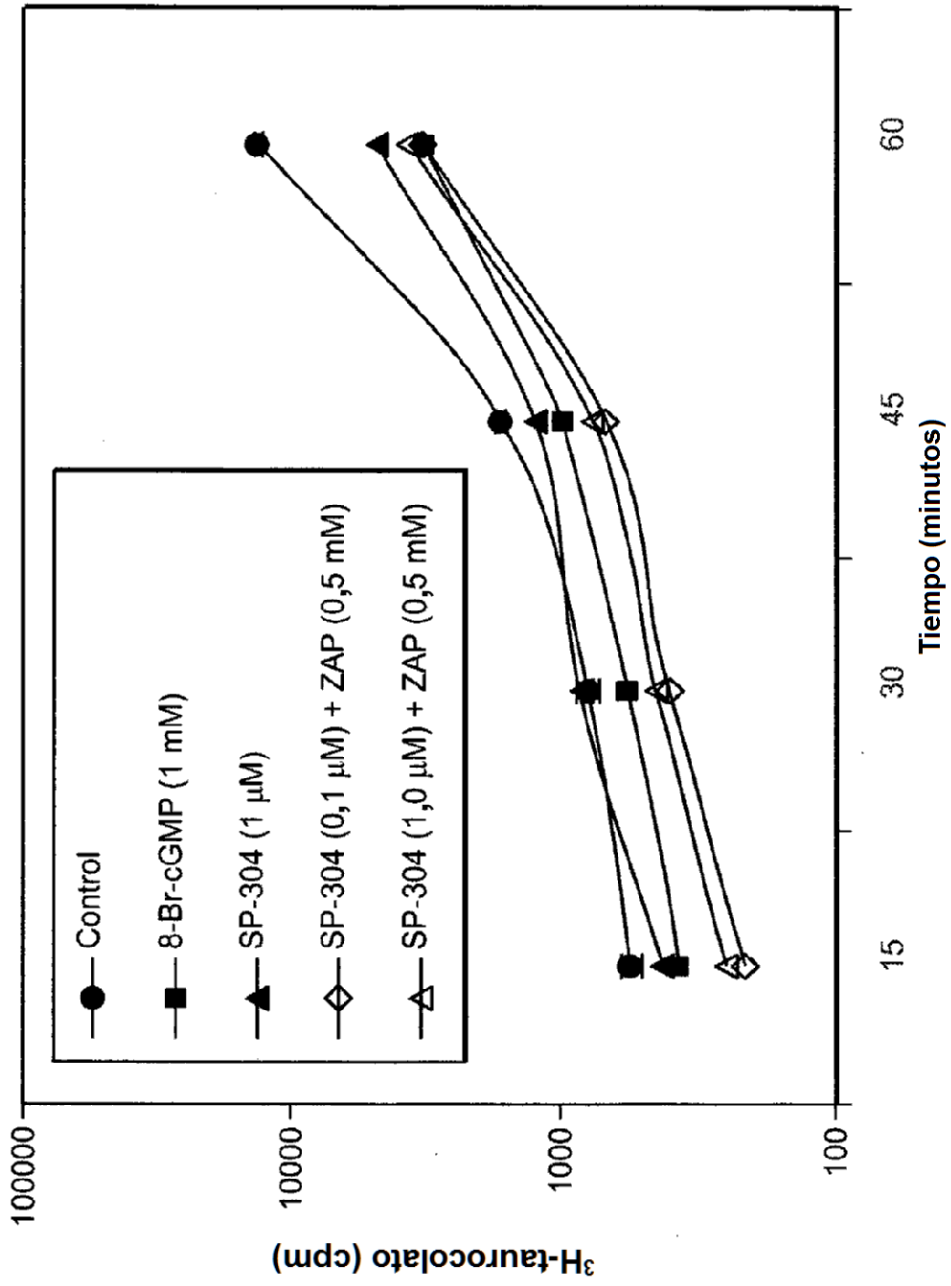


FIG. 4

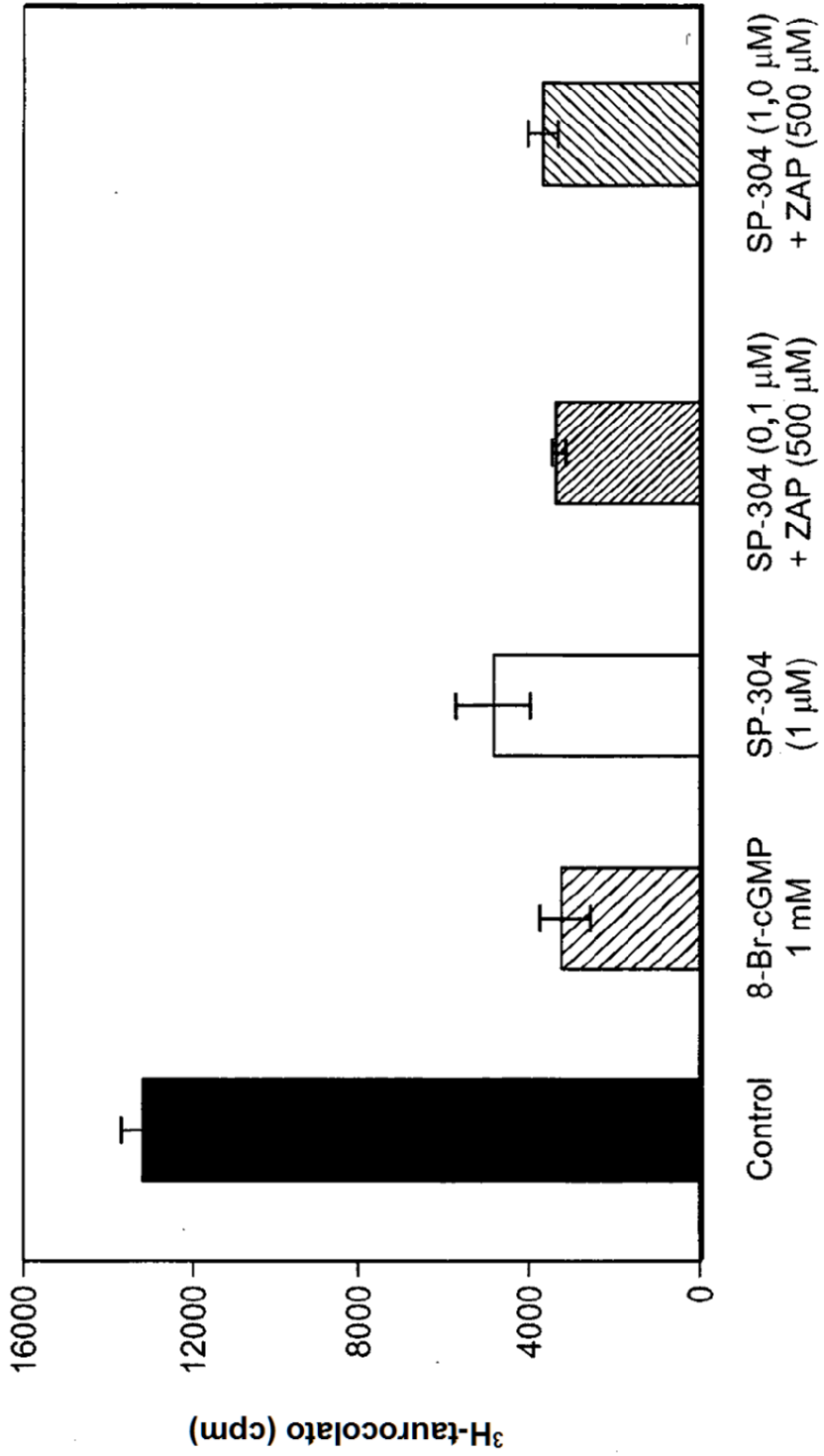


FIG. 5

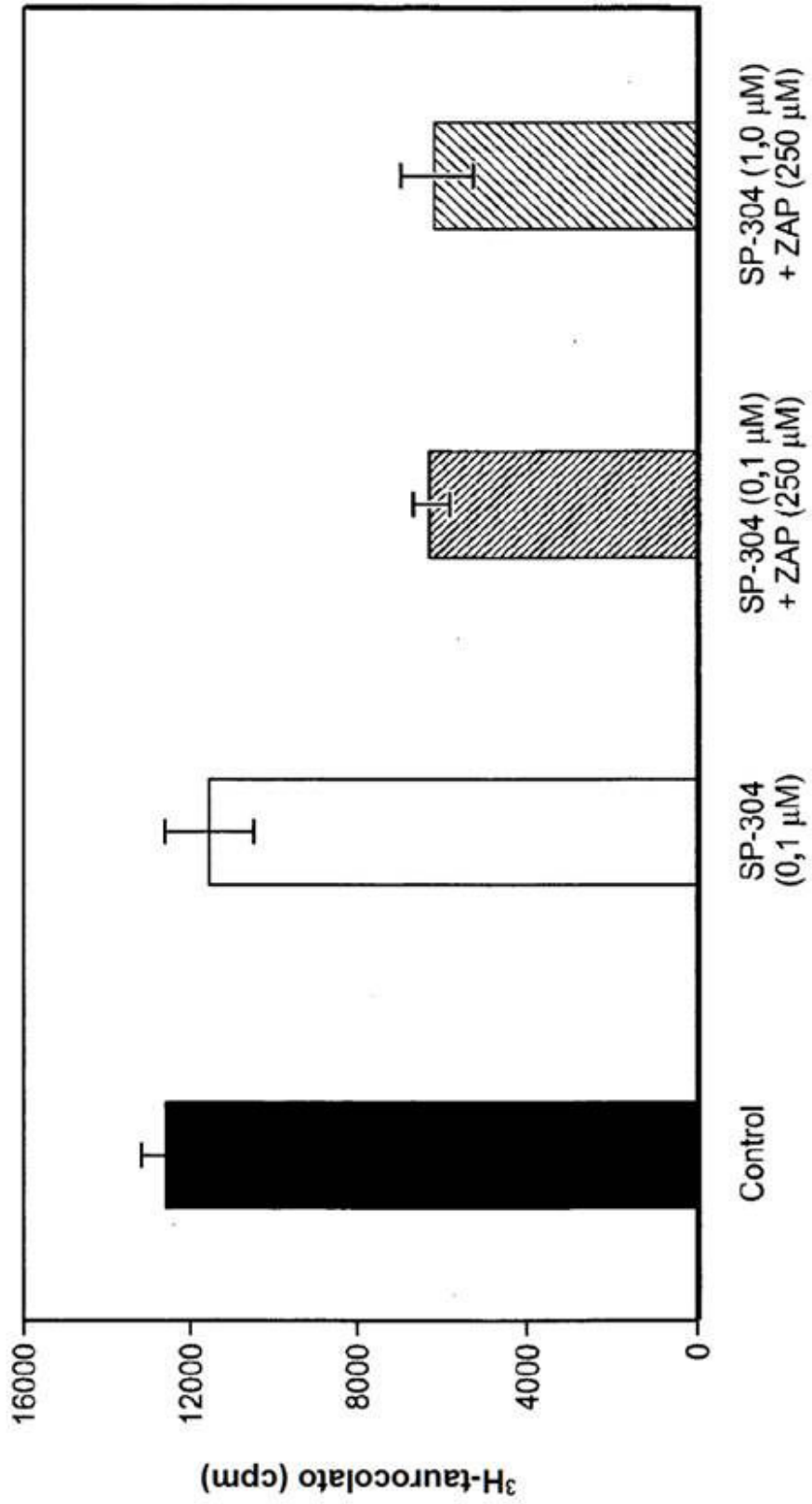


FIG. 6