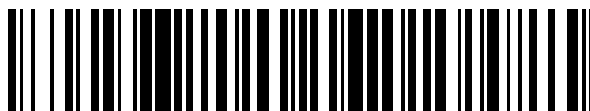


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 559 319**

51 Int. Cl.:

C07K 7/08 (2006.01)

A61K 38/10 (2006.01)

A61K 47/48 (2006.01)

A61P 1/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.06.2008 E 12162903 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.10.2015 EP 2527360**

54 Título: **Agonistas de guanilato ciclasa útiles para el tratamiento de trastornos gastrointestinales, inflamación, cáncer y otros trastornos**

30 Prioridad:

04.06.2007 US 933194 P

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

11.02.2016

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

**SHAILUBHAI, KUNWAR y
JACOB, GARY S.**

74 Agente/Representante:

SUGRAÑES MOLINÉ, Pedro

ES 2 559 319 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 trastornos gastrointestinales, inflamación, cáncer y otros trastornos

5

Campo de la invención

La presente invención se refiere al uso terapéutico de agonistas de guanilato ciclasa C (GC-C) como un medio para potenciar la producción de GMPc intracelular. Los agonistas pueden usarse bien en solitario o en combinación con inhibidores de fosfodiesterasa específica de GMPc para prevenir o tratar la inflamación, el cáncer y otros trastornos, particularmente del tracto gastrointestinal y del pulmón.

10

Antecedentes de la invención

Los péptidos uroguanilina, guanilina y ST (enterotoxinas termoestables) de bacterias, son péptidos estructuralmente relacionados que se unen a un receptor de guanilato ciclasa y estimulan la producción del guanosín monofosfato cíclico (GMPc) intracelular (1-6). Esto produce la activación del regulador de la conductancia transmembrana de la fibrosis quística (CFTR), un canal de membrana apical para la salida de cloro de los enterocitos que recubren el tracto intestinal (1-6). La activación del CFTR y la posterior potenciación de la secreción transepitelial del cloro conduce a la estimulación de la secreción de sodio y agua al interior del lumen intestinal. Por lo tanto, al actuar como reguladores paracrinós de la actividad CFTR, los agonistas de los receptores 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 del CFTR mediada por GMPc y la señalización aguas abajo, desempeñan un papel importante en funcionamiento normal de la fisiología intestinal. Por lo tanto, cualquier anomalía en este proceso posiblemente conduciría a trastornos gastrointestinales, tales como síndrome del intestino irritable, enfermedad intestinal inflamatoria, acidez excesiva y cáncer (25, 26).

15

20

25

El proceso de renovación epitelial conlleva la proliferación, migración, diferenciación, senescencia y eventual pérdida de células GI en el lumen (7, 8). En función del índice de proliferación de las células epiteliales, la mucosa GI puede dividirse en tres zonas distintas. 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 ascendentemente hacia el lumen en el que se extruyen. A medida que migran, las células pierden su capacidad para dividirse y comienzan a diferenciarse para realizar funciones especializadas de la mucosa GI (9). La renovación de la mucosa GI es muy rápida, produciéndose la renovación completa en un período de 24-48 horas (9). Durante este proceso, las células mutadas y no deseadas, se reabastecen de células nuevas. Por tanto, la homeostasis de la mucosa GI está regulada por un mantenimiento continuo del equilibrio entre las tasas de proliferación y apoptóticas (8).

30

35

Las tasas de proliferación y apoptosis celular en el epitelio intestinal pueden aumentar o disminuir dependiendo de una gran diversidad de circunstancias diferentes, por ejemplo, en respuesta a estímulos fisiológicos, tales como el envejecimiento, señales inflamatorias, hormonas, péptidos, factores de crecimiento, productos químicos y hábitos alimenticios. Además, con frecuencia una tasa de proliferación aumentada está asociada a una reducción en el tiempo de renovación y a una expansión de la zona proliferativa (10). Se ha observado que el índice de proliferación es mucho más elevado en casos patológicos de colitis ulcerosa y en otros trastornos GI (11). Por tanto, la hiperplasia intestinal es el principal promotor de inflamación gastrointestinal y carcinogénesis.

40

45

Además de una función para la uroguanilina y la guanilina como moduladores de secreción de fluido intestinal e iones, estos péptidos también pueden intervenir en la renovación continua de la mucosa GI manteniendo el equilibrio entre la proliferación y la apoptosis en células que recubren la mucosa GI. Por lo tanto, cualquier alteración en este proceso de renovación, debido a una producción reducida de uroguanilina y/o guanilina, puede conducir a inflamación GI y a cáncer (25, 26). Esto es coherente con los datos previamente publicados en el documento WO 01/25266, que sugiere 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 para el cáncer de colon. Sin embargo, datos recientes también sugieren que la uroguanilina también se une a un receptor actualmente desconocido, que es distinto del receptor de GC-C (3,4). Ratones genosuprimidos (*knockout*) que carecen de este receptor de guanilato ciclasa, muestran resistencia a péptidos ST en el intestino, aunque *in vivo*, los efectos de la uroguanilina y de los péptidos ST no se encuentran alterados en el riñón (3). Estos resultados se confirmaron adicionalmente debido al hecho de que la despolarización de la membrana, inducida por la guanilina, fué bloqueada por la genisteína, un inhibidor de tirosina quinasa, mientras que no se efectuó la hiperpolarización inducida por la uroguanilina (12, 13). Por tanto, no está claro si las actividades de la uroguanilina y sus análogos, contra el cáncer de colon y antiinflamatorias, están mediadas a través de la unión a uno de estos receptores o a ambos.

50

55

60

El documento WO 02/078683 desvela variantes de la uroguanilina agonista de receptores de GC-C, incluyendo SP-304 (SEC ID N.º: 1 en el presente documento) y el uso de las mismas en el tratamiento de inflamación y cáncer.

65

La enfermedad intestinal inflamatoria es un nombre general que se da a un grupo de trastornos que causan inflamación de los intestinos, caracterizada por un enrojecimiento y una distensión tisular. La inflamación

gastrointestinal (GI) puede ser una afección crónica y con frecuencia conduce a cáncer GI (14). Como ejemplos de dichas enfermedades intestinales inflamatorias (EII) se incluyen, enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa (CU). Se estima que hasta un millón de americanos padecen EII, pareciendo estar igualmente afectados tanto los hombres como las mujeres. La mayoría de los casos se diagnostican antes de los 30 años, pero la enfermedad puede aparecer a los sesenta y setenta años y posteriores.

La enfermedad de Crohn es una enfermedad inflamatoria grave que afecta predominantemente al íleo y al colon, pero también puede producirse en otras partes del tracto GI, mientras que la CU es exclusivamente una enfermedad inflamatoria del colon, el intestino grueso (15). A diferencia de la enfermedad Crohn, en la que todas las capas del intestino están implicadas, y en la que puede haber un intestino normal sano, en tramos del intestino enfermo, la CU afecta solamente al recubrimiento más interno (mucosa) del colon de una manera continuada (16). Dependiendo de qué parte del tracto GI esté implicada, la enfermedad de Crohn puede denominarse ileitis, enteritis regional, colitis, etc. La enfermedad de Crohn y la CU se diferencian del colon espástico o del síndrome intestinal irritable, que son trastornos relacionados con la motilidad del tracto GI.

Aunque se desconoce la causa exacta de la EII, se cree que la alteración del proceso continuado de renovación de la mucosa GI, puede estar implicada en la enfermedad (17, 18). El proceso de renovación del recubrimiento GI es un proceso eficaz y dinámico que implica la proliferación continua y el reabastecimiento de células dañadas no deseadas. Las tasas de proliferación de las células que recubren la mucosa GI son muy elevadas, solo superadas por las del sistema hematopoyético. Por tanto, el equilibrio entre la proliferación y la apoptosis es importante para el mantenimiento de la homeostasis de la mucosa GI (19, 20).

La homeostasis GI depende tanto de la proliferación como de la muerte celular programada (apoptosis) de las células epiteliales que recubren la mucosa intestinal. Por tanto, se están perdiendo células continuamente de las vellosidades en el lumen del intestino y se están reabasteciendo a una tasa sustancialmente igual mediante la proliferación de células en las criptas, seguido por su movimiento ascendente hacia las vellosidades. Cada vez es más evidente que el control de la muerte celular es un regulador igualmente importante, sino más, del número de células y del índice de proliferación (19, 20). Las tasas de apoptosis reducidas están a menudo asociadas con un crecimiento anómalo, con inflamación y con transformación neoplásica. Por tanto, tanto la proliferación disminuida y/o como la muerte celular aumentada puede reducir el número de células, mientras que la proliferación aumentada y/o la muerte celular reducida puede aumentar el índice de proliferación del tejido intestinal (20), que puede conducir a enfermedades inflamatorias GI y a cáncer.

Los péptidos uroguanilina y guanilina también parecen promover la apoptosis mediante el control del flujo de iones celular. Las alteraciones en la apoptosis se han asociado con progresión tumoral al fenotipo metastásico. Aunque un cáncer gastrointestinal (GI) primario está limitado al intestino delgado, colon y recto, este puede metastasizarse y propagarse a localizaciones tales como hueso, ganglios linfáticos, hígado, pulmón, peritoneo, ovarios y cerebro. Potenciando la salida de K^+ y la entrada de Ca^{++} , los péptidos uroguanilina y relacionados pueden promover la muerte de las células transformadas y por lo tanto inhibir la metástasis.

El síndrome del intestino irritable (SII) y el estreñimiento idiopático crónico son afecciones patológicas que pueden ocasionar una gran cantidad de molestias e insuficiencias intestinales, pero a diferencia de las enfermedades EII, tales como colitis ulcerosa y enfermedad de Crohn, el SII no causa inflamación grave o cambios en el tejido intestinal y no se cree que aumente el riesgo de cáncer colorrectal. En el pasado se consideraba que la enfermedad intestinal inflamatoria (EII), la enfermedad celiaca y el síndrome del intestino irritable (SII) eran trastornos completamente distintos. Actualmente, con la descripción de la inflamación, aunque a bajo grado, en el SII y de los síntomas solapantes entre el SII y la enfermedad celiaca, este argumento ha sido objeto de investigación. La gastroenteritis bacteriana aguda es el factor de riesgo más contundente identificado hasta la fecha para el desarrollo posterior del síndrome del intestino irritable postinfeccioso. Los factores de riesgo clínicos incluyen malestar agudo prolongado y la ausencia de vómito. Una susceptibilidad genéticamente determinada frente a estímulos inflamatorios también puede ser un factor de riesgo para el síndrome del intestino irritable. La patofisiología subyacente indica permeabilidad intestinal aumentada y bajo grado de inflamación, así como alteración de la motilidad y sensibilidad visceral (27). La serotonina (5-hidroxitriptamina [5-HT]) es un modulador clave de la función intestinal y se sabe que desempeña una función principal en la patofisiología del SII. Se ha demostrado que la actividad de la 5-HT está regulada por el GMPc (28). Por lo tanto, basándose en esta observación, así como en otros efectos del GMPc, se piensa que los agonistas de GC-C serán útiles para el tratamiento del SII.

Dada la frecuencia de afecciones inflamatorias en las sociedades occidentales y del riesgo acompañante de desarrollar lesiones cancerosas a partir de tejido inflamado, particularmente tejido intestinal, existe una necesidad de mejorar las opciones de tratamiento para las afecciones inflamatorias, particularmente del tracto gastrointestinal.

Sumario de la invención

La presente invención se basa en el desarrollo de agonistas de receptores de guanilato ciclasa. Los agonistas son análogos de péptidos uroguanilina y ST de bacterias y tienen propiedades exclusivas tales como, por ejemplo, alta resistencia a la degradación por carboxilasas, en el extremo N y en el extremo C, y/o por otras enzimas proteolíticas.

presentes en jugos intestinales humanos y jugos gástricos humanos estimulados.

La invención proporciona un péptido que consiste en la secuencia PEG3-Asn¹-Asp²-Glu³-Cys⁴-Glu⁵-Leu⁶-Cys⁷-Val⁸-Asn⁹-Val¹⁰-Ala¹¹-Cys¹²-Thr¹³-Gly¹⁴-Cys¹⁵-dSer¹⁶-PEG3 o PEG3-Asn¹-Asp²-Glu³-Cys⁴-Glu⁵-Leu⁶-Cys⁷-Val⁸-Asn⁹-Val¹⁰-Ala¹¹-Cys¹²-Thr¹³-Gly¹⁴-Cys¹⁵-dSer¹⁶ o Asn¹-Asp²-Glu³-Cys⁴-Glu⁵-Leu⁶-Cys⁷-Val⁸-Asn⁹-Val¹⁰-Ala¹¹-Cys¹²-Thr¹³-Gly¹⁴-Cys¹⁵-dSer¹⁶-PEG3, en la que dicho péptido es un péptido [4;12,7;15] bicíclico.

Los péptidos de la invención pueden usarse para tratar cualquier afección que responda a niveles intracelulares potenciados de GMPc. Los niveles intracelulares de GMPc pueden aumentar potenciando la producción de GMPc intracelular y/o inhibiendo su degradación mediante fosfodiesterasas específicas de GMPc. En particular, los péptidos de la invención se proporcionan como una composición farmacéutica en dosis unitaria que comprende un péptido agonista de receptores de guanilato ciclasa que tiene la secuencia PEG³-Asn¹-Asp²-Glu³-Cys⁴-Glu⁵-Leu⁶-Cys⁷-Val⁸-Asn⁹-Val¹⁰-Ala¹¹-Cys¹²-Thr¹³-Gly¹⁴-Cys¹⁵-dSer¹⁶-PEG3 o PEG3-Asn¹-Asp²-Glu³-Cys⁴-Glu⁵-Leu⁶-Cys⁷-Val⁸-Asn⁹-Val¹⁰-Ala¹¹-Cys¹²-Thr¹³-Gly¹⁴-Cys¹⁵-dSer¹⁶ o Asn¹-Asp²-Glu³-Cys⁴-Glu⁵-Leu⁶-Cys⁷-Val⁸-Asn⁹-Val¹⁰-Ala¹¹-Cys¹²-Thr¹³-Gly¹⁴-Cys¹⁵-dSer¹⁶-PEG3, en la que dicho péptido es un péptido [4;12,7;15] bicíclico, en el que dicho péptido está presente en una cantidad terapéuticamente eficaz, y un transportador farmacéutico excipiente diluyente.

Los trastornos gastrointestinales incluyen, por ejemplo, síndrome del intestino irritable (SII), dispepsia no ulcerosa, pseudoobstrucción intestinal crónica, dispepsia funcional, pseudoobstrucción colónica, reflujo duodenogástrico, enfermedad del reflujo gastroesofágico (ERGE), inflamación del íleon (por ejemplo, íleon postoperatorio), gastroparesia, ardor de estómago (acidez elevada en el tracto GI), estreñimiento (por ejemplo, estreñimiento asociado con el uso de medicamentos, tales como opiáceos, fármacos osteoartrotróficos, fármacos osteoporóticos, estreñimiento posquirúrgico, estreñimiento asociado con trastornos neuropáticos. Los trastornos inflamatorios incluyen inflamación de tejidos y órganos, tal como inflamación renal (por ejemplo, nefritis) inflamación del sistema gastrointestinal (por ejemplo, enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa); inflamación pancreática (por ejemplo, pancreatitis), inflamación pulmonar (por ejemplo, bronquitis o asma) o inflamación en la piel (por ejemplo, soriasis, eccema). Los trastornos pulmonares incluyen, por ejemplo, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), y fibrosis. El cáncer incluye carcinogénesis de tejidos y órganos, 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 pulmonar; cáncer tiroideo; cáncer de piel (por ejemplo, melanoma); cáncer oral; cáncer de tracto urinario (por ejemplo cáncer de vejiga o cáncer renal); 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 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, aumento de la presión intraocular, glaucoma, degeneración de la retina por ojo seco, trastornos de las glándulas lacrimales o inflamación ocular. Los trastornos de la piel incluyen, por ejemplo, xerosis. Los trastornos bucales incluyen, por ejemplo, boca seca (xerostomía), síndrome de Sjögren, enfermedades de las encías (por ejemplo, enfermedad periodontal), o bloqueo o mal funcionamiento de los conductos de las glándulas salivares. Los trastornos de la próstata incluyen, por ejemplo, hiperplasia prostática (HPB). Los trastornos endocrinos incluyen, por ejemplo, diabetes mellitus, hipertiroidismo, hipotiroidismo y fibrosis quística.

En un aspecto, la presente invención se refiere a un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos SEC ID N.º: 42, 43 o 44 y a composiciones terapéuticas que contienen estos péptidos.

Los péptidos pueden estar en una composición farmacéutica en una forma de dosis unitaria, juntos con uno o más transportadores, excipientes o diluyentes farmacéuticamente aceptables. La expresión "forma de dosis unitaria", se refiere a una sola entidad de administración de fármaco, por ejemplo, una formulación en forma de comprimido, cápsula, solución o inhalación. La cantidad de péptido presente debe de ser suficiente para tener un efecto terapéutico positivo cuando se administra a un paciente (generalmente entre 100 µg y 3 g). Lo que constituye un "efecto terapéutico positivo" dependerá de la afección particular que vaya a tratarse e incluirá cualquier mejora significativa en una afección fácilmente reconocida por un experto en la técnica. Por ejemplo, puede constituir una reducción en la inflamación, la disminución de pólipos o tumores, una reducción de lesiones metastásicas, etc.

En otro aspecto adicional, una invención proporciona los péptidos que consisten en las SEC ID N.º: 42, 43 o 44 para su uso en el tratamiento o prevención, de manera simultánea o secuencial, con una dosis eficaz de un inhibidor de fosfodiesterasa dependiente de GMPc (inhibidor FDE-GMPc). El inhibidor FDE-GMPc incluye, por ejemplo, sulfinac sulfona, zaprinast, y motapizona, vardenafil, y sildenafil. Además, los péptidos agonistas de GC-C pueden usarse en combinación con inhibidores de transportadores de nucleótidos cíclicos.

Opcionalmente, también se administran agentes antiinflamatorios. Los agentes antiinflamatorios incluyen, por ejemplo, fármacos antiinflamatorios esteroideos y no esteroideos y (AINE).

Otras características y ventajas de la invención serán obvias a partir de, y se incluyen en, la siguiente descripción y reivindicaciones que se detallan.

Breve descripción de los dibujos

La Figura 1A es un gráfico de barras que muestra una actividad biológica de SP-304 después de incubación con fluido gástrico simulado (FGS) durante los tiempos indicados. La actividad biológica de SP-304 se determinó midiendo su capacidad para estimular la síntesis de GMPc en células T84. Después de las incubaciones, las muestras se usaron con respecto a su capacidad para estimular la síntesis de GMPc en células T84. La actividad de estimulación del GMPc en una muestra al minuto 0 de incubación con FGS se tomó como el 100 %. Las actividades en las muestras de otros tiempos de incubaciones con FGS se calcularon como porcentaje de la actividad en la muestra al minuto 0. Los datos son el promedio de muestras por triplicado $\pm$ DT

La Figura 1B es una representación esquemática de los resultados de análisis cromatográficos HPLC de muestras SP-304 después de incubación con FGS en los momentos indicados. El pico principal de SP-304 no cambió después de incubación con FGS, lo que indica que el péptido era resistente a digestión con FGS. Las flechas indican la posición de la elución de SP-304.

La Figura 2A es un gráfico de barras que muestra la síntesis de GMP cíclico en células T84 mediante muestras SP-304 después de incubación con fluido intestinal simulado (FIS) durante los tiempos indicados. Después de las incubaciones, las muestras se usaron con respecto a su capacidad para estimular la síntesis de GMPc en células T84. La actividad de estimulación del GMPc en la muestra al minuto 0 de incubación con FIS se tomó como el 100 %. Las actividades en muestras de otros tiempos de incubaciones con FIS se calcularon como porcentaje de la actividad en la muestra al minuto 0. Los datos son el promedio de muestras por triplicado $\pm$ DT.

La Figura 2B es una presentación esquemática de los resultados de análisis cromatográficos HPLC de muestras SP-304 después de incubación con (A) FIS termoinactivado durante 300 min o con (B) FIS durante 120 min. La incubación con FIS convirtió completamente el SP-304 en otro péptido eluyendo a 9,4 min, como se indica mediante *. Las flechas indican la posición de SP-304.

La Figura 3 es una representación esquemática de los posibles productos de degradación de SP-304.

La Figura 4 muestra la estimulación de la síntesis de GMPc en células T84 por los péptidos truncados de SP-304. Por tanto, SP-338 tiene la misma secuencia peptídica que SP-304 excepto que carece de Leu en el extremo C. De manera similar, SP-327, SP-329 y SP-331 tienen Leu en su extremo C delecionado con respecto a sus parentales correspondientes, SP-326, SP-328 y SP-330. Los péptidos se evaluaron con respecto a su capacidad para estimular la síntesis de GMPc en células T-84. Los resultados se expresan como un promedio de muestras por duplicado.

La Figura 5 muestra la estimulación de la síntesis de GMPc en células T84 mediante el péptido SP-304 y similares. Las células se expusieron a análogos peptídicos durante 30 min y se usaron lisados celulares para determinar los niveles de GMPc intracelular. Los resultados se expresan como un promedio de muestras por triplicado $\pm$ DT.

La Figura 6 muestra la estimulación de la síntesis de GMPc en células T84 mediante péptidos ST-339 y otros péptidos. Las células T84 se expusieron al péptido indicado durante 30 min y se usaron lisados celulares para determinar los niveles de GMPc intracelular. Los resultados se expresan como un promedio de muestras por triplicado $\pm$ DT.

La Figura 7A muestra la estabilidad de SP-333 contra la digestión con fluido intestinal simulado (FIS) durante los tiempos indicados. La muestra de control marcada como C120 se produjo incubando péptidos con FIS termoinactivado. Las muestras de las incubaciones se retiraron y se calentaron a 95 °C durante 5 min para inactivar las enzimas digestivas y después se usaron para estimular la síntesis de GMP cíclico en células T84. La actividad de estimulación del GMPc al min 0 se tomó como 100 % en cada conjunto. Los datos son un promedio de muestras por triplicado $\pm$ DT.

La Figura 7B muestra la estabilidad de SP-332 contra la digestión con fluido intestinal simulado (FIS) durante los tiempos indicados. La muestra de control marcada como C120 se produjo incubando péptidos con FIS termoinactivado. Las muestras de las digestiones se retiraron y se calentaron a 95 °C durante 5 min para inactivar las enzimas digestivas y después se usaron para estimular la síntesis del GMP cíclico en células T84. La actividad de estimulación del GMPc al min 0 se tomó como 100 % en cada conjunto. Los datos son un promedio de muestras por triplicado $\pm$ DT.

La Figura 7C muestra la estabilidad de SP-304 contra digestión con fluido intestinal simulado (FIS) durante los tiempos indicados. Las muestras de control marcadas como C0 y C60 se produjeron incubando péptidos con FIS termoinactivado. Las muestras de las digestiones se retiraron y se calentaron a 25 °C durante 5 min para inactivar las enzimas digestivas y después se usaron para estimular la síntesis de GMP cíclico en células T84. La actividad de estimulación del GMPc al min 0 se tomó 100 % en cada conjunto. Los datos son un promedio de 3 determinaciones $\pm$ DT.

La Figura 7D muestra análisis HPLC de muestras de SP-304 a los 0 y 60 minutos después de incubación con FIS. La flecha indica la posición de la elución del péptido SP-304. Los datos muestran claramente que el pico de SP-304 que se eluye a 14,3 min se desvanece completamente y que aparecen dos picos nuevos a los 7,4 y 10,3 minutos. Estos nuevos picos peptídicos representan los posibles productos de degradación de SP-304.

La Figura 7E muestra análisis HPLC de muestras de SP-332 a los 0 y 120 minutos después de incubación con FIS. La flecha indica la posición de la elución del péptido SP-332. Los datos muestran que el péptido SP-332 que eluye a los 14,8 minutos no cambió después de la incubación FIS, lo que sugiere que SP-332 no es sensible a proteólisis por las proteasas presentes en el FIS.

La Figura 7F muestra análisis HPLC de muestras de SP-333 a los 0 y 120 minutos después de incubación con FIS. Las flechas indican la posición de la elución de SP-333. Los datos muestran que el péptido SP-333, que eluye a los 14,8 minutos, no cambió después de la incubación con FIS, lo que sugiere que SP-333 no es sensible a proteólisis por las proteasas presentes en FIS durante el período de incubación de 120 minutos.

La Figura 8 muestra la estimulación de la síntesis de GMPc en células T84 mediante los análogos pegilados de SP-333. Las células T84 se expusieron a los péptidos indicados durante 30 minutos y los lisados celulares se usaron para determinar los niveles de GMPc intracelular. Los resultados se presentan como un promedio de muestras por triplicado $\pm$ DT.

La Figura 9 muestra la estimulación de la síntesis de GMPc en células T84 mediante SP-304 (0,1 μ M) bien en solitario o en combinación con los inhibidores de fosfodiesterasa (FDE) Sulindac Sulfona (100 μ M) o Zaprinast (100 μ M). Las células T84 se expusieron a diversos tratamientos, como se indica, durante 30 minutos y los lisados celulares se usaron para determinar los niveles de GMPc intracelular. Los resultados se expresan como un promedio de muestras por duplicado.

La Figura 10 muestra la estimulación de la síntesis de GMPc en células T84 mediante SP-304 (0,1 o 1,0 μ M) bien en solitario o en combinación con concentraciones graduales de inhibidores de fosfodiesterasa (FDE) como se indica. Las células T84 se expusieron a diversos tratamientos, como se indica, durante 30 minutos y los lisados celulares se usaron para determinar los niveles de GMPc intracelular. Los resultados se expresan como un promedio de muestras por duplicado.

La Figura 11 muestra la estimulación de la síntesis de GMPc en células T84 mediante SP-333 (0,1 o 1,0 μ M) bien en solitario o en combinación con concentraciones graduales de Zaprinast, como se indica. Las células T84 se expusieron a diversos tratamientos, como se indica, durante 30 minutos y los lisados celulares se usaron para determinar los niveles de GMPc intracelular. Los resultados se expresan como un promedio de muestras por duplicado.

La Figura 12 muestra la estimulación de la síntesis de GMPc en células T84 mediante SP-333 (0,1 μ M) bien en solitario o en combinación con concentraciones graduales de Sulindac Sulfona, como se indica. Las células T84 se expusieron a diversos tratamientos, como se indica, durante 30 minutos y los lisados celulares se usaron para determinar los niveles de GMPc intracelular. Los resultados se expresan como un promedio de muestras por duplicado.

La Figura 13 muestra un esquema del mantenimiento de las concentraciones de los niveles intracelulares de GMPc. Los niveles de GMPc intracelular pueden mantenerse estimulando su síntesis mediante la activación de GC-C e inhibiendo su degradación mediante FDE-GMPc. Por lo tanto, una combinación de un agonista de GC-C con un inhibidor de FDE puede producir un efecto sinérgico para potenciar los niveles del GMPc en tejidos y órganos.

Descripción detallada

La presente invención se basa en el desarrollo agonistas de guanilato ciclasa-C (GC-C). Los agonistas son análogos de péptidos de uroguanilina y ST de bacterias y tienen propiedades exclusivas tales como, por ejemplo, alta resistencia a la degradación por carboxilasas, en el extremo N y en el extremo C, y/o por otras enzimas proteolíticas presentes en jugos intestinales humanos y jugos gástricos humanos estimulados.

La GC-C se expresa en diversas células, incluyendo en células epiteliales gastrointestinales, y en tejidos extraintestinales, incluyendo tejido de riñón, pulmón, páncreas, pituitaria, glándula adrenal, hígado en desarrollo, corazón y tejido reproductor femenino y masculino (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 riñón. En el intestino, cuando está estimulada, la GC-C causa un aumento en el GMPc epitelial intestinal. Este aumento del GMPc causa una disminución en la absorción de agua y sodio y un aumento en la secreción de iones cloro y potasio, conduciendo a cambios en el transporte de fluidos y electrolitos intestinales y al aumento de la motilidad intestinal.

El agonista de guanilato ciclasa-C de acuerdo con la presente invención es un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos PEG3-Asn¹-Asp²-Glu³-Cys⁴-Glu⁵-Leu⁶-Cys⁷-Val⁸-Asn⁹-Val¹⁰-Ala¹¹-Cys¹²-Thr¹³-Gly¹⁴-Cys¹⁵-dSer¹⁶ - PEG3 o PEG3- Asn¹-Asp²-Glu³-Cys⁴-Glu⁵-Leu⁶-Cys⁷-Val⁸-Asn⁹-Val¹⁰-Ala¹¹-Cys¹²-Thr¹³-Gly¹⁴-Cys¹⁵-dSer¹⁶o Asn¹-Asp²-Glu³-Cys⁴-Glu⁵-Leu⁶-Cys⁷-Val⁸-Asn⁹-Val¹⁰-Ala¹¹-Cys¹²-Thr¹³-Gly¹⁴-Cys¹⁵-dSer¹⁶-PEG3, en el que dicho péptido es un péptido [4;12,7;15] bicíclico.

Estas y otras secuencias se resumen más adelante en las Tablas I y II. En el presente documento, los agonistas de guanilato ciclasa-C de acuerdo con la invención, reciben conjuntamente el nombre de "péptidos GCRA".

Tabla I. Péptidos GCRA

Nombre	Posición de enlaces disulfuro	Estructura	SEC ID N.º
SP-304	C4:C12, C7:C15	Asn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Leu ¹⁶	1
SP-326	C3:C11, C6:C14	Asp ¹ -Glu ² -Cys ³ -Glu ⁴ -Leu ⁵ -Cys ⁶ -Val ⁷ -Asn ⁸ -Val ⁹ -Ala ¹⁰ -Cys ¹¹ -Thr ¹² -Gly ¹³ -Cys ¹⁴ -Leu ¹⁵	2
SP-327	C2:C10, C5:C13	Asp ¹ -Glu ² -Cys ³ -Glu ⁴ -Leu ⁵ -Cys ⁶ -Val ⁷ -Asn ⁸ -Val ⁹ -Ala ¹⁰ -Cys ¹¹ -Thr ¹² -Gly ¹³ -Cys ¹⁴ -Leu ¹⁵	3
SP-328	C2:C10, C5:C13	Glu ¹ -Cys ² -Glu ³ -Leu ⁴ -Cys ⁵ -Val ⁶ -Asn ⁷ -Val ⁸ -Ala ⁹ -Cys ¹⁰ -Thr ¹¹ -Gly ¹² -Cys ¹³ -Leu ¹⁴	4
SP-329	C2:C10, C5:C13	Glu ¹ -Cys ² -Glu ³ -Leu ⁴ -Cys ⁵ -Val ⁶ -Asn ⁷ -Val ⁸ -Ala ⁹ -Cys ¹⁰ -Thr ¹¹ -Gly ¹² -Cys ¹³	5
SP-330	C1:C9, C4:C12	Cys ¹ -Glu ² -Leu ³ -Cys ⁴ -Val ⁵ -Asn ⁶ -Val ⁷ -Ala ⁸ -Cys ⁹ -Thr ¹⁰ -Gly ¹¹ -Cys ¹² -Leu ¹³	6
SP-331	C1:C9, C4:C12	Cys ¹ -Glu ² -Leu ³ -Cys ⁴ -Val ⁵ -Asn ⁶ -Val ⁷ -Ala ⁸ -Cys ⁹ -Thr ¹⁰ -Gly ¹¹ -Cys ¹²	7
SP-332	C4:C12, C7:C15	Asn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dLeu ¹⁶	8
SP-333	C4:C12, C7:C15	dAsn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dLeu ¹⁶	9
SP-334	C4:C12, C7:C15	dAsn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dLeu ¹⁶	10
SP-335	C4:C12, C7:C15	dAsn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dLeu ¹⁶	11
SP-336	C4:C12, C7:C15	dAsn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dLeu ¹⁶	12
SP-337	C4:C12, C7:C15	dAsn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dLeu ¹⁶	13
SP-338	C4:C12, C7:C15	Asn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dLeu ¹⁶	14
SP-342	C4:C12, C7:C15	PEG3-Asn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dLeu ¹⁶ -PEG3	15
SP-343	C4:C12, C7:C15	PEG3-dAsn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dLeu ¹⁶ -PEG3	16
SP-344	C4:C12, C7:C15	PEG3-dAsn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dLeu ¹⁶ -PEG3	17
SP-347	C4:C12, C7:C15	dAsn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dLeu ¹⁶ -PEG3	18
SP-348	C4:C12, C7:C15	PEU3-dAsn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dLeu ¹⁶	19
SP-350	C4:C12, C7:C15	PEG3-dAsn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dLeu ¹⁶	20
SP-352	C4:C12, C7:C15	Asn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dLeu ¹⁶ -PEG3	21
SP-358	C4:C12, C7:C15	PEG3-dAsn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dLeu ¹⁶ -PEG3	22
SP-359	C4:C12, C7:C15	PEG3-dAsn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dLeu ¹⁶	23
SP-360	C4:C12, C7:C15	dAsn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dLeu ¹⁶ -PEG3	24
SP-361	C4:C12, C7:C15	dAsn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dLeu ¹⁶ -PEG3	25
SP-362	C4:C12, C7:C15	PEG3-dAsn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dLeu ¹⁶	26
SP-368	C4:C12, C7:C15	dAsn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dLeu ¹⁶	27
SP-369	C4:C12, C7:C15	dAsn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dLeu ¹⁶	28
SP-370	C4:C12, C7:C15	dAsn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dLeu ¹⁶	29
SP-371	C4:C12, C7:C15	dAsn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dLeu ¹⁶	30
SP-372	C4:C12, C7:C15	dAsn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Ser ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dLeu ¹⁶	31

N1	C4:C12, C7:C15	PEG3- dAsn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Tyr ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dLeu ¹⁶ -PEG3	32
N2	C4:C12, C7:C15	PEG3-dAsn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Tyr ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dLeu ¹⁶	33
N3	C4:C12, C7:C15	dAsn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Tyr ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dLeu ¹⁶ PEG3	34
N4	C4:C12, C7:C15	PEG3- dAsn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Ser ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dLeu ¹⁶ -PEG3	35
N5	C4:C12, C7:C15	PEG3-dAsn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Ser ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dLeu ¹⁶	36
N6	C4:C12, C7:C15	dAsn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Ser ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dLeu ¹⁶ PEG3	37
N7	C4:C12, C7:C15	Asn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Val ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Ser ¹⁶	38
N8	C4:C12, C7:C15	PEG3-Asn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Ser ¹⁶ PEG3	39
N9	C4:C12, C7:C15	PEG3-Asn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Ser ¹⁶	40
N10	C4:C12, C7:C15	Asn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Ser ¹⁶ PEG3	41
N11	C4:C12, C7:C15	PEG3- Asn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dSer ¹⁶ -PEG3	42
N12	C4:C12, C7:C15	PEG3-Asn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dSer ¹⁶	43
N13	C4:C12, C7:C15	Asn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dSer ¹⁶ PEG3	44
Fórmula 1	C4:C12, C7:C15	Asn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Xaa ⁵ -Xaa ⁶ -Cys ⁷ -Xaa ⁸ -Xaa ⁹ -Xaa ¹⁰ -Xaa ¹¹ -Cys ¹² -Xaa ¹³ -Xaa ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Xaa ¹⁶	45
Fórmula II	C4:C12, C7:C15	Xaa _{n1} -Cys ² -Xaa ³ -Xaa ⁴ -Cys ⁵ -Xaa ⁶ -Xaa ⁷ -Xaa ⁸ -Xaa ⁹ -Xaa ¹⁰ -Xaa ¹¹ -Cys ¹² -Xaa ¹³ -Xaa ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Xaa ¹⁶	46
Fórmula III	4:12, 7:1 5	Xaa _{n1} -Maa ⁴ -Glu ⁵ -Xaa ⁶ -Maa ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Maa ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Maa ¹⁵ -Xaa _{n2}	47
Fórmula IV	4:12, 7:1 5	Xaa _{n1} -Maa ⁴ -Xaa ⁵ -Xaa ⁶ -Maa ⁷ -Xaa ⁸ -Xaa ⁹ -Xaa ¹⁰ -Xaa ¹¹ -Maa ¹² -Xaa ¹³ -Xaa ¹⁴ -Maa ¹⁵ -Xaa _{n2}	48
Fórmula V)	C4:C12, C7:C15	Asn ¹ -Asp ² -Asp ³ -Cys ⁴ -Xaa ⁵ -Xaa ⁶ -Cys ⁷ -Xaa ⁸ -Xaa ⁹ -Xaa ¹⁰ -Xaa ¹¹ -Cys ¹² -Xaa ¹³ -Xaa ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Xaa ¹⁶	49
Fórmula VI	C4:C12, C7:C15	dAsn ¹ -Glu ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Xaa ⁵ -Xaa ⁶ -Cys ⁷ -X3 ⁸ -Asn ⁹ -Xaa ¹⁰ -Xaa ¹¹ -Cys ¹² -Xaa ¹³ -Xaa ¹⁴ -Cys ¹⁵ -d-Xaa ¹⁶	50
Fórmula VII	C4:C12, C7:C15	dAsn ¹ -dGlu ² -Asp ³ -Cys ⁴ -Xaa ⁵ -Xaa ⁶ -Cys ⁷ -Xaa ⁸ -Asn ⁹ -Xaa ¹⁰ -Xaa ¹¹ -Cys ¹² -Xaa ¹³ -Xaa ¹⁴ -Cys ¹⁵ -d-Xaa ¹⁶	51
Fórmula VII (NUEVO)	C4:C12, C7:C15	dAsn ¹ -dAsp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Xaa ⁵ -Xaa ⁶ -Cys ⁷ -Xaa ⁸ -Asn ⁹ -Xaa ¹⁰ -Xaa ¹¹ -Cys ¹² -Xaa ¹³ -Xaa ¹⁴ -Cys ¹⁵ -d-Xaa ¹⁶	52
Fórmula VIII (NUEVO)	C4:C12, C7:C15	dAsn ¹ -dAsp ² -dGlu ³ -Cys ⁴ -Xaa ⁵ -Xaa ⁶ -Cys ⁷ -Xaa ⁸ -Tyr ⁹ -Xaa ¹⁰ -Xaa ¹¹ -Cys ¹² -Xaa ¹³ -Xaa ¹⁴ -Cys ¹⁵ -d-Xaa ¹⁶	53
Fórmula IX	C4:C12, C7:C15	dAsn ¹ -dGlu ² -dGlu ³ -Cys ⁴ -Xaa ⁵ -Xaa ⁶ -Cys ⁷ -Xaa ⁸ -Tyr ⁹ -Xaa ¹⁰ -Xaa ¹¹ -Cys ¹² -Xaa ¹³ -Xaa ¹⁴ -Cys ¹⁵ -d-Xaa ¹⁶	54

Tabla II. Péptidos GCRA

Nombre	Posición de enlaces disulfuro	Estructura	SEC ID N.º
SP-339	C1:C6, C2:C10, C5:13	Cys ¹ -Cys ² -Glu ³ -Tyr ⁴ -Cys ⁵ -Asn ⁶ -Pro ⁸ -Ala ⁹ -Cys ¹⁰ -Thr ¹¹ -Gly ¹² -Cys ¹³ -Tyr ¹⁴	55
SP-340	C1:C6, C2:C10, C5:13	Cys ¹ -Cys ² -Glu ³ -Phe ⁴ -Cys ⁵ -Cys ⁶ -Asn ⁷ -Pro ⁸ -Ala ⁹ -Cys ¹⁰ -Thr ¹¹ -Gly ¹² -Cys ¹³	56
SP-349	C1:C6, C2:C10, C5:13	PEG3-Cys ¹ -Cys ² -Glu ³ -Tyr ⁴ -Cys ⁵ -Cys ⁶ -Asn ⁷ -Pro ⁸ -Ala ⁹ -Cys ¹⁰ -Thr ¹¹ -Gly ¹² -Cys ¹³ -Tyr ¹⁴ -PEG3	57
SP-353	C3:C8, C4:C12, C7:15	Asn ¹ -Phe ² -Cys ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Ser ⁶ -Cys ⁷ -Cys ⁸ -Asn ⁹ -Pro ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Tyr ¹⁶	58
SP-354	C3:C8, C4:C12, C7:15	Asn ¹ -Phe ² -Cys ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Phe ⁶ -Cys ⁷ -Cys ⁸ -Asn ⁹ -Pro ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Tyr ¹⁶	59
SP-355	C1:C6, C2:C10, C5:13	Cys ¹ -Cys ² -Glu ³ -Tyr ⁴ -Cys ⁵ -Cys ⁶ -Asn ⁷ -Pro ⁸ -Ala ⁹ -Cys ¹⁰ -Thr ¹¹ -Gly ¹² -Cys ¹³ -dTyr ¹⁴	60
SP-357	C1:C6, C2:C10, C5:13	PEG3-Cys ¹ -Cys ² -Glu ³ -Tyr ⁴ -Cys ⁵ -Cys ⁶ -Asn ⁷ -Pro ⁸ -Ala ⁹ -Cys ¹⁰ -Thr ¹¹ -Gly ¹² -Cys ¹³ -dTyr ¹⁴	61
SP-374	C3:C8, C4:C12, C7:15	Asn ¹ -Phe ² -Cys ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Thr ⁶ -Cys ⁷ -Cys ⁸ -Asn ⁹ -Pro ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Tyr ¹⁶	62
SP-375	C3:C8, C4:C12, C7:15	Asn ¹ -Phe ² -Cys ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Ser ⁶ -Cys ⁷ -Cys ⁸ -Asn ⁹ -Pro ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dTyr ¹⁶	63
SP-376	C3:C8, C4:C12, C7:15	dAsn ¹ -Phe ² -Cys ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Ser ⁶ -Cys ⁷ -Cys ⁸ -Asn ⁹ -Pro ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Tyr ¹⁶	64
SP-377	C3:C8, C4:C12, C7:15	Asn ¹ -Phe ² -Cys ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Ser ⁶ -Cys ⁷ -Cys ⁸ -Asn ⁹ -Pro ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dTyr ¹⁶	65
SP-378	C3:C8, C4:C12, C7:15	Asn ¹ -Phe ² -Cys ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Thr ⁶ -Cys ⁷ -Cys ⁸ -Asn ⁹ -Pro ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dTyr ¹⁶	66
SP-379	C3:C8, C4:C12, C7:15	Asn ¹ -Phe ² -Cys ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Thr ⁶ -Cys ⁷ -Cys ⁸ -Asn ⁹ -Pro ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Tyr ¹⁶	67
SP-380	C3:C8, C4:C12, C7:15	dAsn ¹ -Phe ² -Cys ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Thr ⁶ -Cys ⁷ -Cys ⁸ -Asn ⁹ -Pro ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dTyr ¹⁶	68
SP-381	C3:C8, C4:C12, C7:15	dAsn ¹ -Phe ² -Cys ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Phe ⁶ -Cys ⁷ -Cys ⁸ -Asn ⁹ -Pro ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dTyr ¹⁶	69
SP-382	C3:C8, C4:C12, C7:15	dAsn ¹ -Phe ² -Cys ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Thr ⁶ -Cys ⁷ -Cys ⁸ -Asn ⁹ -Pro ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Tyr ¹⁶	70
SP-383	C3:C8, C4:C12, C7:15	dAsn ¹ -Phe ² -Cys ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Phe ⁶ -Cys ⁷ -Cys ⁸ -Asn ⁹ -Pro ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dTyr ¹⁶	71
SP384	C1:C6, C2:C10, C5:13	Cys ¹ -Cys ² -Glu ³ -Tyr ⁴ -Cys ⁵ -Cys ⁶ -Asn ⁷ -Pro ⁸ -Ala ⁹ -Cys ¹⁰ -Thr ¹¹ -Gly ¹² -Cys ¹³ -Tyr ¹⁴ -PEG3	72

N14	C1 :C6, C2:C10, C5:13	PEG3-Cys ¹ -Cys ² -Glu ³ -Tyr ⁴ -Cys ⁵ -Cys ⁶ -Asn ⁷ -Pro ⁸ -Ala ⁹ -Cys ¹⁰ -Thr ¹¹ -Gly ¹² -Cys ¹³ -PEG3	73
N15	C1 :C6, C2:C10, C5:13	PEG3-Cys ¹ -Cys ² -Glu ³ -Tyr ⁴ -Cys ⁵ -Cys ⁶ -Asn ⁷ -Pro ⁸ -Ala ⁹ -Cys ¹⁰ -Thr ¹¹ -Gly ¹² -Cys ¹³	74
N16	C1 :C6, C2:C10, C5:13	Cys ¹ -Cys ² -Glu ³ -Tyr ⁴ -Cys ⁵ -Cys ⁶ -Asn ⁷ -Pro ⁸ -Ala ⁹ -Cys ¹⁰ -Thr ¹¹ -Gly ¹² -Cys ¹³ -PEG3	75
N17	C3:C8, C4:C12, C7:15	PEG3-Asn ¹ -Phe ² -Cys ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Ser ⁶ -Cys ⁷ -Cys ⁸ -Asn ⁹ -Pro ¹⁰ -Ala ¹¹ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Tyr ¹⁶ -PEG3	76
N18	C3:C8, C4:C12, C7:15	PEG3-Asn ¹ -Phe ² -Cys ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Ser ⁶ -Cys ⁷ -Cys ⁸ -Asn ⁹ -Pro ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Tyr ¹⁶	77
N19	C3:C8, C4:C12, C7:15	Asn ¹ -Phe ² -Cys ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Ser ⁶ -Cys ⁷ -Cys ⁸ -Asn ⁹ -Pro ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Tyr ¹⁶ -PEG3	78
N20	C3:C8, C4:C12, C7:15	PEG3-Asn ¹ -Phe ² -Cys ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Phe ⁶ -Cys ⁷ -Cys ⁸ -Asn ⁹ -Pro ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Tyr ¹⁶ -PEG3	79
N21	C3:C8, C4:C12, C7:15	PEG3-Asn ¹ -Phe ² -Cys ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Phe ⁶ -Cys ⁷ -Cys ⁸ -Asn ⁹ -Pro ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Tyr ¹⁶	80
N22	C3:C8, C4:C12, C7:15	Asn ¹ -Phe ² -Cys ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Phe ⁶ -Cys ⁷ -Cys ⁸ -Asn ⁹ -Pro ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Tyr ¹⁶ -PEG3	81
N23	C3:C8, C4:C12, C7:15	PEG3-Asn ¹ -Phe ² -Cys ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Tyr ⁶ -Cys ⁷ -Cys ⁸ -Asn ⁹ -Pro ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Tyr ¹⁶ -PEG3	82
N24	C3:C8, C4:C12, C7:15	PEG3-Asn ¹ -Phe ² -Cys ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Tyr ⁶ -Cys ⁷ -Cys ⁸ -Asn ⁹ -Pro ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Tyr ¹⁶	83
N25	C3:C8, C4:C12, C7:15	Asn ¹ -Phe ² -Cys ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Tyr ⁶ -Cys ⁷ -Cys ⁸ -Asn ⁹ -Pro ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Tyr ¹⁶ -PEG3	84
N26	C1:C6, C2:C10, C5:13	Cys ¹ -Cys ² -Glu ³ -Ser ⁴ -Cys ⁵ -Cys ⁶ -Asn ⁷ -Pro ⁸ -Ala ⁹ -Cys ¹⁰ -Thr ¹¹ -Gly ¹² -Cys ¹³ -Tyr ¹⁴	85
N27	C1:C6, C2:C10, C5:13	Cys ¹ -Cys ² -Glu ³ -Phe ⁴ -Cys ⁵ -Cys ⁶ -Asn ⁷ -Pro ⁸ -Ala ⁹ -Cys ¹⁰ -Thr ¹¹ -Gly ¹² -Cys ¹³ -Tyr ¹⁴	86
N28	C1:C6, C2:C10, C5:13	Cys ¹ -Cys ² -Glu ³ -Ser ⁴ -Cys ⁵ -Cys ⁶ -Asn ⁷ -Pro ⁸ -Ala ⁹ -Cys ¹⁰ -Thr ¹¹ -Gly ¹² -Cys ¹³	87
N29	C1:C6, C2:C10, C5:13	Cys ¹ -Cys ² -Glu ³ -Phe ⁴ -Cys ⁵ -Cys ⁶ -Asn ⁷ -Pro ⁸ -Ala ⁹ -Cys ¹⁰ -Thr ¹¹ -Gly ¹² -Cys ¹³	88
N30	1:6, 2:10, 5:13	Pen ¹ -Pen ² -Glu ³ -Tyr ⁴ -Pen ⁵ -Pen ⁶ -Asn ⁷ -Pro ⁸ -Ala ⁹ -Pen ¹⁰ -Thr ¹¹ -Gly ¹² -Pen ¹³ -Tyr ¹⁴	89
N31	1:6, 2:10, 5:13	Pen ¹ -Pen ² -Glu ³ -Tyr ⁴ -Pen ⁵ -Pen ⁶ -Asn ⁷ -Pro ⁸ -Ala ⁹ -Pen ¹⁰ -Thr ¹¹ -Gly ¹² -Pen ¹³	90
Fórmula X	C9:C14, C10:C18, C13:21	Xaa ¹ -Xaa ² -Xaa ³ -Xaa ⁴ -Xaa ⁵ -Xaa ⁶ -Asn ⁷ -Tyr ⁸ -Cys ⁹ -Cys ¹⁰ -Xaa ¹¹ -Tyr ¹² -Cys ¹³ -Cys ¹⁴ -Xaa ¹⁵ -Xaa ¹⁶ -Xaa ¹⁷ -Cys ¹⁸ -Xaa ¹⁹ -Xaa ²⁰ -Cys ²¹ -Xaa ²²	91
Fórmula XI	C9:C14, C10:C18, C13:21	Xaa ¹ -Xaa ² -Xaa ³ -Xaa ⁴ -Xaa ⁵ -Xaa ⁶ -Asn ⁷ -Phe ⁸ -Cys ⁹ -Cys ¹⁰ -Xaa ¹¹ -Phe ¹² -Cys ¹³ -Cys ¹⁴ -Xaa ¹⁵ -Xaa ¹⁶ -Xaa ¹⁷ -Cys ¹⁸ -Xaa ¹⁹ -Xaa ²⁰ -Cys ²¹ -Xaa ²²	92
Fórmula XII	C3:C8, C4:C12, C7:15	Asn ¹ -Phe ² -Cys ³ -Cys ⁴ -Xaa ⁵ -Phe ⁶ -Cys ⁷ -Cys ⁸ -Xaa ⁹ -Xaa ¹⁰ -Xaa ¹¹ -Cys ¹² -Xaa ¹³ -Xaa ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Xaa ¹⁶	93

Fórmula XIII	3:8, 4:12, C:15	Asn ¹ -Phe ² -Pen ³ -Cys ⁴ -Xaa ⁵ -Phe ⁶ -Cys ⁷ -Pen ⁸ -Xaa ⁹ -Xaa ¹⁰ -Xaa ¹¹ -Cys ¹² -Xaa ¹³ -Xaa ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Xaa ¹⁶	94
Fórmula XIV	3:8, 4:12, 7:15	Asn ¹ -Phe ² -Maa ³ -Maa ⁴ -Xaa ⁵ -Xaa ⁶ -Maa ⁷ -Maa ⁸ -Xaa ⁹ -Xaa ¹⁰ -Xaa ¹¹ -Maa ¹² -Xaa ¹³ -Xaa ¹⁴ -Maa ¹⁵ -Xaa ¹⁶	95
Fórmula XV	1:6, 2:10, 5:13	Maa ¹ -Maa ² -Glu ³ -Xaa ⁴ -Maa ⁵ -Maa ⁶ -Asn ⁷ -Pro ⁸ -Ala ⁹ -Maa ¹⁰ -Thr ¹¹ -Gly ¹² -Maa ¹³ -Tyr ¹⁴	96
Fórmula XVI	1:6, 2:10, 5:13	Maa ¹ -Maa ² -Glu ³ -Xaa ⁴ -Maa ⁵ -Maa ⁶ -Asn ⁷ -Pro ⁸ -Ala ⁹ -Maa ¹⁰ -Thr ¹¹ -Gly ¹² -Maa ¹³ -Maa ¹⁴ -	97
Fórmula XVII	1:6, 2:10, 5:13	Xaa _{n:3} -Maa ¹ -Maa ² -Xaa ³ -Xaa ⁴ -Maa ⁵ -Maa ⁶ -Xaa ⁷ -Xaa ⁸ -Xaa ⁹ -Maa ¹⁰ -Xaa ¹¹ -Xaa ¹² -Maa ¹³ -Xaa ¹⁴	98

Los péptidos GCRA descritos en el presente documento se unen a la guanilato ciclasa-C (GC-C) y estimulan la producción intracelular de guanosín monofosfato cíclico (GMPc). Opcionalmente, los péptidos GCRA inducen la apoptosis. En algunos aspectos, los péptidos GCRA estimulan la producción de GMPc intracelular a niveles más altos que los agonistas de GC-C de origen natural (por ejemplo, péptidos de uroguanilina, guanilina, y ST) y/o SP-304. Por ejemplo, los péptidos GCRA de la invención estimulan la producción de GMPc intracelular 5 %, 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 75 %, 90 % o más, en comparación con los agonistas de GC-C de origen natural y/o SP-304. Los términos inducir y estimular se usan indistintamente en toda 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. La expresión más estable significa que el péptido se degrada menos y/o más lentamente en fluido gastrointestinal simulado y/o en fluido intestinal simulado en comparación con los agonistas de GC-C de origen natural y/o SP-304. Por ejemplo, el péptido GCRA de la invención se degrada 2 %, 3 %, 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 75 %, 90 % o menos en comparación con los 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 variedad de trastornos y afecciones, como por ejemplo, trastornos gastrointestinales, trastornos inflamatorios, trastornos en pulmón, cáncer, trastornos cardíacos, trastornos oculares, trastornos bucales, trastornos en la sangre, trastornos hepáticos, trastornos en la piel, trastornos en la próstata, trastornos endocrinos, aumento de la motilidad gastrointestinal y obesidad. Los trastornos gastrointestinales incluyen, por ejemplo, síndrome del intestino irritable (SII), dispepsia no ulcerosa, seudoobstrucción intestinal crónica, dispepsia funcional, seudoobstrucción colónica, reflujo duodenogástrico, enfermedad de reflujo gastroesofágico (ERGE), inflamación del íleon (por ejemplo, íleon postoperatorio), gastroparesia, ardor de estómago (acidez elevada en el tracto GI), estreñimiento (por ejemplo, estreñimiento asociado con el uso de medicamentos, tales como opiáceos, fármacos osteoarttríticos, fármacos osteoporóticos, estreñimiento posquirúrgico, estreñimiento asociado con trastornos neuropáticos. Los trastornos inflamatorios incluyen inflamación de tejidos y órganos, tal como inflamación renal (por ejemplo, nefritis), inflamación del sistema gastrointestinal (por ejemplo, enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa); inflamación pancreática (por ejemplo, pancreatitis), inflamación pulmonar (por ejemplo, bronquitis o asma) o inflamación en la piel (por ejemplo, soriasis, eccema). Los trastornos pulmonares incluyen, por ejemplo, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), y fibrosis. El cáncer incluye carcinogénesis de tejidos y órganos, 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 pulmonar; cáncer tiroideo; cáncer de piel (por ejemplo, melanoma); cáncer oral; cáncer de tracto urinario (por ejemplo cáncer de vejiga o cáncer renal); 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 hepáticos incluyen, por ejemplo, cirrosis y fibrosis. Los trastornos oculares incluyen, por ejemplo, aumento de la presión intraocular, glaucoma, degeneración de la retina por ojo seco, trastornos de las glándulas lacrimales o inflamación ocular. Los trastornos de la piel incluyen, por ejemplo, xerosis. Los trastornos bucales incluyen, por ejemplo, boca seca (xerostomía), síndrome de Sjögren, enfermedades de las encías (por ejemplo, enfermedad periodontal), o bloqueo o mal funcionamiento de los conductos de las glándulas salivares. Los trastornos de la próstata incluyen, por ejemplo, hiperplasia prostática (HPB). Los trastornos endocrinos incluyen, por ejemplo, diabetes mellitus, hipertiroidismo, hipotiroidismo y fibrosis quística.

De la manera en la que se usa en el presente documento, la expresión “guanilato ciclasa-C (GC-C)” se refiere a la clase de receptores de guanilato ciclasa-C en cualquier tipo de célula a los que se unen los péptidos agonistas o los agonistas naturales de la invención descritos en el presente documento. De la manera en la que se usa en el presente documento, el “receptor de guanilato ciclasa intestinal” se encuentra exclusivamente en células epiteliales que recubren la mucosa GI. Se espera que los péptidos uroguanilina, guanilina y ST se unan a estos receptores y que puedan inducir la apoptosis. No se excluye la posibilidad de que pueda haber diferentes receptores para cada péptido agonista. Por tanto, la expresión se refiere a la clase de receptores de guanilato ciclasa en células epiteliales que recubren la mucosa GI.

De la manera en la que se usa en el presente documento, la expresión “agonista de CGR” significa que se refiere a péptidos y/o a otros compuestos que se unen a una guanilato ciclasa C intestinal y que estimulan el transporte de fluidos y electrolitos. Esta expresión también incluye fragmentos y propéptidos que se unen a GC-C y que estimulan la secreción de fluidos y agua.

De la manera en la que se usa en el presente documento, la expresión “sustancialmente equivalente” significa que se refiere a un péptido que tiene una secuencia de aminoácidos equivalente a la del dominio de unión en la que determinados restos pueden delecionarse o reemplazarse por otros aminoácidos sin afectar a la capacidad del péptido para unirse a un receptor de guanilato ciclasa intestinal y estimular el transporte de fluidos y electrolitos.

La adición de transportadores (por ejemplo, solución salina tamponada con fosfato o PBS) y otros componentes a la composición de la presente invención se encuentra bien dentro del nivel de habilidad en esta técnica. Además del compuesto, dichas composiciones pueden contener transportadores y otros principios farmacéuticamente aceptables que se sabe que facilitan la administración y/o potencian la captación. También pueden usarse otras formulaciones, tales como microesferas, nanopartículas, liposomas y sistemas basados en inmunología, de acuerdo

con la presente invención. Otros ejemplos incluyen formulaciones con polímeros (por ejemplo, 20 % en peso/volumen de polietilenglicol) o celulosa, o formulaciones entéricas.

La presente invención se basa en diversos conceptos. El primero es que hay un mecanismo dependiente de GMPc que regula el equilibrio entre la proliferación y la apoptosis celular y que una reducción en los niveles de GMPc, debido a un déficit de uroguanilina/guanilina y/o debido a la activación de fosfodiesterasas específicas de GMPc, es una etapa precoz y crítica en la transformación neoplásica. Un segundo concepto es que la liberación de ácido araquidónico a partir de fosfolípidos de membrana, que conduce a la activación de la fosfolipasa A2 citoplasmática (cPLA2), ciclooxigenasa-2 (COX-2) y posiblemente 5-lipoxigenasa (5-LO) durante el proceso de inflamación, se regula negativamente mediante un mecanismo dependiente de GMPc, lo que conduce a niveles reducidos de prostaglandinas y leucotrienos, y que, por lo tanto, el aumento de los niveles de GMPc intracelular puede producir una respuesta antiinflamatoria. Además, se piensa que un mecanismo dependiente de GMPc, está implicado en el control de procesos proinflamatorios. Por lo tanto, el aumento de los niveles de GMPc intracelular puede usarse como un medio de tratamiento y control de trastornos gastrointestinales, trastornos inflamatorios, trastornos pulmonares, cáncer, trastornos cardíacos, trastornos oculares, trastornos bucales, trastornos en la sangre, trastornos hepáticos, trastornos en la piel, trastornos en la próstata, trastornos endocrinos, aumento de la motilidad gastrointestinal y obesidad. Los trastornos gastrointestinales incluyen, por ejemplo, síndrome de intestino irritable (SII), dispepsia no ulcerosa, seudoobstrucción intestinal crónica, dispepsia funcional, seudoobstrucción colónica, reflujo duodenogástrico, enfermedad de reflujo gastroesofágico (ERGE), inflamación del íleon (por ejemplo, íleon postoperatorio), gastroparesia, ardor de estómago (elevada acidez en el tracto GI), estreñimiento (por ejemplo, estreñimiento asociado con el uso de medicamentos, tales como opiáceos, fármacos osteoartóricos, fármacos osteoporóticos, estreñimiento posquirúrgico, estreñimiento asociado con trastornos neuropáticos. Los trastornos inflamatorios incluyen inflamación de tejidos y órganos, tal como inflamación renal (por ejemplo, nefritis), inflamación del sistema gastrointestinal (por ejemplo, enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa); inflamación pancreática (por ejemplo, pancreatitis), inflamación pulmonar (por ejemplo, bronquitis o asma) o inflamación en la piel (por ejemplo, soriasis, eccema). Los trastornos pulmonares incluyen, por ejemplo, EPOC y fibrosis. El cáncer incluye carcinogénesis de tejidos y órganos, 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 pulmonar; cáncer tiroideo; cáncer de piel (por ejemplo, melanoma); cáncer oral; cáncer de tracto urinario (por ejemplo cáncer de vejiga o cáncer renal); 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 hepáticos incluyen, por ejemplo, cirrosis y fibrosis. Los trastornos oculares incluyen, por ejemplo, aumento de la presión intraocular, glaucoma, degeneración de la retina por ojo seco, trastornos de las glándulas lacrimales o inflamación ocular. Los trastornos de la piel incluyen, por ejemplo, xerosis. Los trastornos bucales incluyen, por ejemplo, boca seca (xerostomía), síndrome de Sjögren, enfermedades de las encías (por ejemplo, enfermedad periodontal), o bloqueo o mal funcionamiento de los conductos de las glándulas salivares. Los trastornos de la próstata incluyen, por ejemplo, hiperplasia prostática (HPB). Los trastornos endocrinos incluyen, por ejemplo, diabetes mellitus, hipertiroidismo, hipotiroidismo y fibrosis quística.

Sin pretender ligarse a ninguna teoría, se contempla que el transporte de iones a través de la membrana plasmática puede confirmar que es un importante regulador del equilibrio entre la apoptosis y proliferación celular que estará afectado por agentes que alteran concentraciones del GMPc. Se ha demostrado que la uroguanilina estimula la entrada de K⁺, la salida de Ca⁺⁺ y el transporte de agua en el tracto gastrointestinal (3). Además, también se ha demostrado que el péptido natriurético auricular (PNA), un péptido que también se une a un receptor específico de guanilato ciclasa, induce la apoptosis en células mesangiales de rata, y que induce la apoptosis en miocitos cardíacos a través de un mecanismo dependiente de GMPc (21-24)

La unión de los presentes agonistas a un receptor de guanilato ciclasa estimula la producción de GMPc. Esta interacción entre ligando y receptor, mediante la activación de una cascada de proteínas quinasas dependientes de GMPc y CFTR, induce la apoptosis en células diana. Por lo tanto, la administración de los nuevos péptidos definidos por las SEC ID N.º: 2-54 y SEC ID N.º: 57-98, como se muestra en las Tablas I y II, o de péptidos similares a uroguanilina o guanilina o ST de *E. coli*, es útil eliminando o, al menos retrasando, la aparición de trastornos gastrointestinales, trastornos inflamatorios, trastornos pulmonares, cáncer, trastornos cardíacos, trastornos oculares, trastornos bucales, trastornos en la sangre, trastornos hepáticos, trastornos en la piel, trastornos en la próstata, trastornos endocrinos, aumento de la motilidad gastrointestinal y obesidad. Los trastornos gastrointestinales incluyen, por ejemplo, síndrome de intestino irritable (SII), dispepsia no ulcerosa, seudoobstrucción intestinal crónica, dispepsia funcional, seudoobstrucción colónica, reflujo duodenogástrico, enfermedad de reflujo gastroesofágico (ERGE), inflamación del íleon (por ejemplo, íleon postoperatorio), gastroparesia, ardor de estómago (elevada acidez en el tracto GI), estreñimiento (por ejemplo, estreñimiento asociado con el uso de medicamentos, tales como opiáceos, fármacos osteoartóricos, fármacos osteoporóticos, estreñimiento posquirúrgico, estreñimiento asociado con trastornos neuropáticos. Los trastornos inflamatorios incluyen inflamación de tejidos y órganos, tal como inflamación renal (por ejemplo, nefritis), inflamación del sistema gastrointestinal (por ejemplo, enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa); inflamación pancreática (por ejemplo, pancreatitis), inflamación pulmonar (por ejemplo, bronquitis o asma) o inflamación en la piel (por ejemplo, soriasis, eccema). Los trastornos pulmonares incluyen, por ejemplo, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) y fibrosis. El cáncer incluye carcinogénesis de tejidos y órganos,

- 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 pulmonar; cáncer tiroideo; cáncer de piel (por ejemplo, melanoma); cáncer oral; cáncer de tracto urinario (por ejemplo cáncer de vejiga o cáncer renal); 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 hepáticos incluyen, por ejemplo, cirrosis y fibrosis. Los trastornos oculares incluyen, por ejemplo, aumento de la presión intraocular, glaucoma, degeneración de la retina por ojo seco, trastornos de las glándulas lacrimales o inflamación ocular. Los trastornos de la piel incluyen, por ejemplo, xerosis. Los trastornos bucales incluyen, por ejemplo, boca seca (xerostomía), síndrome de Sjögren, enfermedades de las encías (por ejemplo, enfermedad periodontal), o bloqueo o mal funcionamiento de los conductos de las glándulas salivares. Los trastornos de la próstata incluyen, por ejemplo, hiperplasia prostática (HPB). Los trastornos endocrinos incluyen, por ejemplo, diabetes mellitus, hipertiroidismo, hipotiroidismo y fibrosis quística.
- 15 La uroguanilina es una hormona peptídica circulante 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) secretados por cepas patógenas de *E. coli* y otras bacterias entéricas que activan al receptor de guanilato ciclasa y que causan diarrea secretora. A diferencia de los péptidos ST de bacterias, la unión de la uroguanilina con el receptor de guanilato ciclasa es dependiente de pH fisiológico del intestino. Por lo tanto, se espera que la uroguanilina regule el transporte de fluidos y electrolitos de una manera dependiente del pH y sin causar diarrea grave.

Péptidos GCRA

- 25 En un aspecto, la invención proporciona un péptido GCRA que consiste en la secuencia de aminoácidos PEG3-Asn¹-Asp²-Glu³-Cis⁴-Glu⁵-Leu⁶-Cis⁷-Val⁸-Asn⁹-Val¹⁰-Ala¹¹-Cis¹²-Thr¹³-Gly¹⁴-Cis¹⁵-dSer¹⁶-PEG3 o PEG3-Asn¹-Asp²-Glu³-Cis⁴-Glu⁵-Leu⁶-Cis⁷-Val⁸-Asn⁹-Val¹⁰-Ala¹¹-Cis¹²-Thr¹³-Gly¹⁴-Cis¹⁵-dSer¹⁶ o Asn¹-Asp²-Glu³-Cis⁴-Glu⁵-Leu⁶-Cis⁷-Val⁸-Asn⁹-Val¹⁰-Ala¹¹-Cis¹²-Thr¹³-Gly¹⁴-Cis¹⁵-dSer¹⁶-PEG3, en el que dicho péptido es un péptido [4;12,7;15] bicíclico.
- 30 Los péptidos GCRA pueden ser polímeros de L-aminoácidos, D-aminoácidos o una combinación de ambos. Por ejemplo, los péptidos pueden ser péptidos D retroinversos. La expresión "isómero retroinverso" se refiere a un isómero de un péptido lineal en el que la dirección de la secuencia está invertida y la quiralidad de cada resto de aminoácido está invertida. Véase, por ejemplo, Jameson et al., *Nature*, 368, 744-746 (1994); Brady et al., *Nature*, 368, 692-693 (1994). El neto resultante de combinar D-enantiómeros y síntesis inversa es que las posiciones de los grupos carbonilo y amino en cada enlace amida están cambiadas, mientras que la posición de los grupos de cadena lateral en cada carbono alfa se conserva. A menos que se especifique de otra manera, se supone que, en un péptido D retroinverso, puede fabricarse cualquier secuencia de L-aminoácidos determinada, sintetizando una secuencia inversa de la secuencia de L-aminoácidos nativa correspondiente. Generalmente, los péptidos GCRA incluyen la secuencia SEC ID N.º: 2-54 y SEC ID N.º: 57-98. Por ejemplo, un péptido GCRA incluye la secuencia de aminoácidos SEC ID N.º: 45-54 y SEC ID N.º: 87-98, en el que el péptido induce la producción de GMPc por una célula. Por ejemplo, un péptido GCRA incluye la secuencia de aminoácidos de acuerdo con las Fórmulas I-IX (por ejemplo, SEC ID N.º: 45-54) con la condición de que el péptido GCRA no sea la SEC ID N.º: 1. Los péptidos GCRA preferidos incluyen la secuencia de aminoácidos de acuerdo con las Fórmulas X-XVII (por ejemplo, SEC ID N.º: 87-98) con la condición de que el péptido GCRA no sea la SEC ID N.º: 55 o SEC ID N.º: 56. La inducción de la producción de GMPc significa que el péptido GCRA induce la producción de GMPc intracelular. El GMPc intracelular se mide mediante procedimientos conocidos en la técnica. Por ejemplo, un péptido CGRA estimula la producción de GMPc intracelular un 5 %, 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 75 %, 90 % o más en comparación con agonistas de GC-C de origen natural. Opcionalmente, el péptido GCRA estimula la producción de GMPc intracelular un 5 %, 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 75 %, 90 % o más en comparación con SP-304 (SEC ID N.º: 1). El péptido GCRA estimula la apoptosis, por ejemplo, muerte celular programada o activa al regulador de la conductancia transmembrana de la fibrosis quística (CFTR). Preferentemente, los péptidos GCRA descritos en el presente documento son más estables que los agonistas de GC-C de origen natural y/o SP-304 (SEC ID N.º: 1), SP-339 (SEC ID N.º: 55) o SP-340 (SEC ID N.º: 56). Por más estable se refiere a que el péptido se degrada menos y/o más lentamente en fluido gástrico simulado y/o en fluido intestinal simulado en comparación con los agonistas de GC-C de origen natural y/o SP-304.
- 55 Por ejemplo, el péptido GCRA de la invención se degrada un 2 %, 3 %, 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 75 %, 90 % o menos en comparación con los agonistas de GC-C de origen natural y/o SP-304, SP-339 o SP-340.

- De la manera en la que se usa en el presente documento, PEG3, 3 PEG, significa que se refiere a polietilenglicol, de tal manera que incluye ácido aminoetiloxi-etiloxi-acético (AeeA). De la manera en la que se usa en el presente documento, (por ejemplo, en las Fórmulas I - XVII, SEC ID N.º: 45-54 y SEC ID N.º: 87-98) X_{aa} es cualquier aminoácido natural, no natural o un análogo de aminoácido; M_{aa} es una cisteína (Cys), Penicilamina (Pen), homocisteína, o 3-mercaptoprolina; Xaa_{n1} significa que indica una secuencia de aminoácidos de cualquier aminoácido natural, no natural o análogo de aminoácido que tiene una longitud de uno, dos o tres restos; Xaa_{n2} significa que indica una secuencia de aminoácidos de cualquier aminoácido natural, no natural o análogo de aminoácido que tiene una longitud de cero o un resto; y Xaa_{n3} significa que indica una secuencia de aminoácidos de cualquier aminoácido natural, no natural o análogo de aminoácido que tiene una longitud de cero, uno, dos, tres,

cuatro, cinco o seis restos. Adicionalmente, cualquier aminoácido representado por Xaa, Xaa_{n1}, Xaa_{n2}, o Xaa_{n3} puede ser un L-aminoácido, un D-aminoácido, un aminoácido metilado o cualquier combinación de los mismos. Opcionalmente, cualquier péptido GCRA representado por las Fórmulas I-VII puede contener uno o más restos de polietilenglicol en el extremo N, en el extremo C o en ambos extremos. Un polietilenglicol ejemplar incluye ácido aminoetiloxi-etiloxi-acético y polímeros del mismo.

Los péptidos GCRA incluyen péptidos que contienen la secuencia de aminoácidos de Fórmula I, en el 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 la posición 1-3 de Fórmula I son D aminoácidos o aminoácidos metilados o una combinación de D aminoácidos o aminoácidos metilados. Por ejemplo, Asn1, Asp2 o Glu3 (o una combinación de los mismos) de Fórmula I es un D aminoácido o un aminoácido metilado. Preferentemente, el aminoácido en la posición Xaa⁶ de Fórmula I es una leucina, serina o tirosina.

Como alternativa, los péptidos GCRA incluyen péptidos que contienen 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 representado por Xaa_{n2} de Fórmula II es un D aminoácido o un aminoácido metilado. En algunas realizaciones el aminoácido indicado como Xaa_{n2} de Fórmula II es una leucina, d-leucina, serina o d-serina. Preferentemente, el uno o más de los aminoácidos indicados como Xaa_{n1} de Fórmula II es un D aminoácido o un aminoácido metilado. Preferentemente, el aminoácido en la posición Xaa⁶ de Fórmula II es una leucina, serina o tirosina.

Opcionalmente, los péptidos GCRA incluyen péptidos que contienen la secuencia de la aminoácidos de Fórmula III, en la que 1) al menos un aminoácidos de Fórmula I es un D aminoácido o un aminoácido metilado y/o 2) Maa no es una cisteína. Preferente, el aminoácido indicado como Xaa_{n2} de Fórmula III es un D aminoácido o un aminoácido metilado. EL aminoácido indicado como Xaa_{n2} de Fórmula III puede ser una leucina, d-leucina, serina o d-serina. Preferentemente, el uno o más de los aminoácidos indicados como Xaa_{n1} de Fórmula III es un D aminoácido o un aminoácido metilado. Preferentemente, el aminoácido en la posición Xaa⁶ de Fórmula III es una leucina, serina o tirosina.

Como alternativa, los péptidos GCRA incluyen péptidos que contienen la secuencia de aminoácidos de Fórmula IV, en la que 1) al menos un aminoácido de Fórmula IV es un D aminoácido o un aminoácido metilado y/o 2) Maa no es una cisteína. Preferentemente, el Xaa_{n2} de Fórmula IV es un D aminoácido o un aminoácido metilado. Opcionalmente, el aminoácido indicado como Xaa_{n2} de Fórmula IV es a leucina, d-leucina, serina o d-serina. Preferentemente, el uno o más de los aminoácidos indicados como Xaa_{n1} de Fórmula IV es un D aminoácido o un aminoácido metilado. Preferentemente, el aminoácido indicado como Xaa⁶ de Fórmula IV es una leucina, serina o tirosina. Los péptidos GCRA pueden incluir péptidos que contengan la secuencia de aminoácidos de Fórmula V, en el 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, Xaa¹⁶) 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, Asn1, Asp2 o Glu3 (o una combinación de los mismos) de Fórmula V es a D-aminoácido o un aminoácido metilado. Preferentemente, el aminoácido indicado como Xaa⁶ de Fórmula V es a leucina, serina o tirosina.

En realizaciones adicionales, los péptidos GCRA incluyen péptidos que contienen la secuencia de aminoácidos de Fórmula VI, VII, VIII, IX. Preferentemente, el aminoácidos en la posición 6 de Fórmula VI, VII, VIII, IX es una leucina, serina o tirosina. En algunos aspectos el aminoácido en la posición 16 de Fórmula VI, VII, VIII, 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.

Los péptidos GCRA particulares incluyen SP-332 (SEC ID N.º: 8), SP-333 (SEC ID N.º: 9) o SP-334 (SEC ID N.º: 10).

Adicionalmente, los péptidos GCRA incluyen péptidos que contienen la secuencia de aminoácidos de Fórmulas 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 extremo carboxilo de los péptidos de acuerdo con las 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 de los péptidos de acuerdo con las Fórmulas X, XI, XII, XIII, XIV, XV, XVI o XVII es una D-tirosina

Preferentemente, el aminoácido indicado como Xaa⁶ de Fórmula XIV es una tirosina, fenilalanina o una serina. Más preferentemente el aminoácido indicado con Xaa⁶ de Fórmula XIV es una fenilalanina o una serina. Preferentemente, el aminoácido indicado con Xaa⁴ de Fórmula XV, XVI o XVII es una tirosina, fenilalanina o una serina. Más preferentemente, el aminoácido de posición Xaa⁴ de Fórmula V, XVI o XVII es una fenilalanina o una

serina.

Los péptidos GCRA preferidos son SP-353 (SEC ID N.º: 58) o SP-354 (SEC ID N.º: 59).

- 5 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 de origen no natural. Hay muchos aminoácidos, además de los 20 convencionales (Ala, Arg, Asn, Asp, Cys, Gln, Glu, Gly, His, Ile, Leu, Lys, Met, Fe, Pro, Ser, Thr, Trp, Tyr, y Val). Algunos son de origen natural y otros no lo son. (Véase, por ejemplo, Hunt, *The Non-Protein Amino Acids: In Chemistry y Biochemistry de the Amino Acids*, Barrett, Chapman y Hall, 1985). Por ejemplo, un aminoácido
- 10 aromático puede reemplazarse por 3,4-dihidroxi-L-fenilalanina, 3-yodo-L-tirosina, triyodotironina, L-tirosina, fenilglicina (Fhg) o no tirosina (no Tyr). La Fhg y la no Tyr y otros aminoácidos incluyendo Phe y Tyr pueden sustituirse, por ejemplo, por un halógeno, -CH₃, -OH, -CH₂NH₃, -C(O)H, -CH₂CH₃, -CN, -CH₂CH₂CH₃, -SH u otro grupo. Cualquier aminoácido puede sustituirse por la forma D del aminoácido.

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

- Por ejemplo, los restos de glutamina pueden sustituirse por gamma-Hidroxi-Glu o gamma- Carboxi-Glu. Los restos de tirosina pueden sustituirse por un aminoácido alfa sustituido tal como L-alfa-metilfenilalanina o por análogos tales como: 3-Amino-Tyr; Tyr(CH₃); Tyr(PO₃(CH₃)₂); Tyr(SO₃H); 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-Fe; Fluoro-Fe; Ciclohexilo-Gly; tBu-Gly; beta-(3-benzotienil)-Ala; beta-(2-tienil)-Ala; 5-Metil-Trp; y A- Metil-Trp. Los restos de prolina pueden sustituirse por homopro (ácido L-pipecólico); hidroxi-Pro; 3,4-Deshidro-Pro; 4-fluoro-Pro; o análogos de aminoácido alfa-metil-Pro o N(alfa)-C(alfa) ciclados con la estructura: n = 0, 1, 2, 3. Los restos de alanina pueden sustituirse por aminoácidos alfa sustituidos o N-metilados, tales como ácido alfa-amino-isobutírico (aib), L/D-alfa-etilalanina (L/D-isovalina), L/D-metilvalina, o L/D-alfa-metileucina o un aminoácido no natural tal como beta-fluoro-Ala. La alanina también puede sustituirse por: n = 0, 1, 2, 3. Los restos de glicina pueden sustituirse por ácido alfa-amino-isobutírico (aib) o L/D-alfa-etilalanina (L/D-isovalina).

- Otros ejemplos de aminoácidos no naturales incluyen: un análogo no natural de tirosina; un análogo no natural de 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, hidracina, hidracida, hidroxilo, alquenilo, alquinilo, éter, tiol, sulfonilo, seleno, éster, tioácido, borato, boronato, fosfo, fosfono, fosfina, heterocíclico, enona, imina, aldehído, hidroxiloamina, ceto, o amino sustituido o cualquier combinación de los mismos; un aminoácido con un reticulador fotoactivable, un aminoácido marcado con spin; un aminoácido fluorescente; un aminoácido con un nuevo grupo funcional; un aminoácido que interacciona de manera covalente o no covalente con otra molécula; un aminoácido de unión a metales; un aminoácido que está amidado en un sitio que no está naturalmente amidado, un aminoácido que contiene un metal; un aminoácido radioactivo; un aminoácido fotocargado y/o fotoisomerizable; un aminoácido que contiene biotina o un análogo de biotina; un aminoácido modificado glucosilado o con carbohidrato; un aminoácido que contiene ceto; aminoácidos que comprenden polietilenglicol o poliéter; un aminoácido sustituido con un átomo pesado (por ejemplo, un aminoácido que contiene deuterio, tritio ¹³C, ¹⁵N, o ¹⁸O); 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 similar; un aminoácido que contiene azúcar unido a carbono; un aminoácido redox activo; un aminoácido que contiene α-hidroxi; un aminoácido que contiene tio aminoácido; un aminoácido α, α disustituido; un β-aminoácido; un aminoácido cíclico distinto de prolina; una O-metil-L-tirosina; un L-3-(2-naftil)alanina; una 3-metil-fenilalanina; una p-acetil-L-fenilalanina; una O-4-allilo-L-tirosina; una 4-propil-L-tirosina; un tri-4-acetil-GlcNAc β-serina; un L-Dopa; una fenilalanina fluorada; una isopropil-L-fenilalanina; una p-azido-L-fenilalanina; un p-acil-L- fenilalanina; una p-benzoil-L-fenilalanina; una L-fosfoserina; una fosfonoserina; una fosfonotirosina; una p-yodo-fenilalanina; una 4-fluorofenilglicina; una p-bromofenilalanina; una p-amino-L-fenilalanina; un 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; un dopa, una O-metil-L-tirosina; un aminoácido glucosilado; una p-(propargilo)fenilalanina; dimetil-Lisina; hidroxiprolina; ácido mercapto propiónico; metil-lisina; 3-nitro-tirosina; norleucina; ácido pirolglutámico; Z (Carbobenzoxilo); ε-Acetil-lisina; β-alanina; derivado de aminobenzoílo; ácido aminobutírico (Abu); citrulina; ácido aminohexanoico; ácido aminoisobutírico (AIB); cicloexilalanina; d-cicloexilalanina; hidroxiprolina; nitro-arginina; nitro-fenilalanina; nitro-tirosina; norvalina; carboxilato de octahidroindol; ornitina (Orn); penicilamina (PEN); tetrahidroisoquinolina; aminoácido protegidos con acetamidometilo y aminoácidos pegilados. Otros ejemplos de aminoácidos no naturales y de análogos de aminoácidos pueden encontrarse en los documentos U.S. 20030108885, U.S. 20030082575, US20060019347 (párrafos 410-418) y en las referencias citadas en su interior. Los polipéptidos pueden incluir otras modificaciones, incluyendo las descritas en el documento US20060019347, párrafo 589. Los péptidos GCRA ejemplares que incluyen un aminoácido de no natural incluyen por ejemplo SP-368 y SP-369.

- El algunas realizaciones, un aminoácido puede reemplazarse por un aminoácido natural, no esencial, por ejemplo, taurina.

Como alternativa, los péptidos GCRA son péptidos cíclicos. El péptido cíclico GCRA se prepara mediante procedimientos conocidos en la técnica. Por ejemplo, la macrociclación a menudo se realiza formando un enlace amida entre el extremo N y C del péptido, entre una cadena lateral y el extremo N o C [por ejemplo, con $K_3Fe(CN)_6$ a un pH de 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). Los péptidos GCRA de la invención son [4,12; 7,15] bicíclicos.

En algunos péptidos GCRA uno o ambos miembros de uno o ambos pares de restos de 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); β , β dimetilcisteína (Hunt et al. 1993 *Int J Pept Protein Res* 42:249) o ácido diaminopropiónico (Smith et al. 1978 *J Med Chem* 21:117) 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 (-CH₂CH(O)NHCH 2- o -CH₂NHCH(O)CH 2-), o un enlace éster, o un enlace de tioéster, o un puente de lactama, un enlace de carbamoilo, un enlace de urea, un enlace de tiourea, un enlace de éster fosfonato, un enlace de alquilo (-CH₂CH₂CH₂CH₂-), un enlace de alqueno (-CH 2CH=CHCH 2-), un enlace de éter (-CH₂CH₂OCH₂- o -CH₂OCH₂CH₂-), un enlace de tioéter (-CH₂CH₂SCH₂- o -CH₂SCH₂CH₂-), un enlace de amida (-CH₂CH₂NHCH₂- o -CH₂NHCH 2CH₂-) o un enlace de tioamida (-CH₂CH(S)HNHCH 2- o -CH₂NHCH(S)CH 2-). Por ejemplo, Ledu et al. (*Proc Nat'l Acad. Sci.* 100:11263-78, 2003) describen métodos para preparar reticulaciones de lactama y 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 de enlace polipeptídico entre un resto amino terminal por un resto aromático (por ejemplo, Tyr, Phe, Trp) con un enlace alternativo puede reducir la escisión por carboxipeptidasas y puede aumentar la semivida en el tracto digestivo. Los enlaces que pueden reemplazar enlaces polipeptídicos incluyen: un enlace retroinverso (C(O)-NH en lugar de NH-C(O)); un enlace amida reducido (NH-CH₂); un enlace tiometileno (S-CH₂ o CH₂-S); un enlace oxometileno (O-CH₂ o CH₂-O); un enlace etileno (CH₂-CH₂); un enlace tioamida (C(S)-NH); un enlace trans-olefina (CH=CH); un enlace transolefina sustituido con flúor (CF=CH); un enlace cetometileno (C(O)-CHR o CHR- C(O) en el que R es H o CH₃; y un enlace fluorocetometileno (C(O)-CFR o CFR-C(O) en el que R es H o F o CH₃).

Los péptidos GCRA pueden modificarse usando modificaciones convencionales. Las modificaciones pueden producirse en el extremo amino (N-), carboxi (C-), internamente o una combinación de cualquiera de lo anterior. Puede haber más de un tipo de modificación en el polipéptido. Las modificaciones incluyen, pero sin limitación: acetilación, amidación, biotilación, cinamoilación, farnesilación, formilación, miristoilación, palmitoilación, fosforilación (Ser, Tyr o Thr), estearoilación, succinilación, sulfurilación y ciclación (a través de puentes disulfuro o ciclación amida), y modificación con Cys3 o Cys5. Los péptidos GCRA descritos en el presente documento también pueden modificarse con 2, 4-dinitrofenil (DNP), DNP-lisina, modificación con 7-Amino-4-metil-coumarina (AMC), flouresceína, NBD (7-Nitrobenz-2-Oxa-1,3-Diazol), p-nitro-anilida, rodamina B, EDANS (ácido 5-((2-aminoetil)amino)naftaleno-1- sulfónico), dabculo, dabsilo, dansilo, rojo texas, FMOC, y Tamra (Tetrametilrodamina). Los péptidos GCRA descritos en el presente documento también pueden conjugarse, por ejemplo con polietilenglicol (PEG); grupos alquilo (por ejemplo, grupos alquilo lineales o ramificados C1-C20); radicales de ácidos grasos; combinaciones de PEG, grupos alquilo y radicales de ácido graso (Véase, la patente de Estados Unidos 6.309.633; Soltero et al., 2001 *Innovations in Farmaceutical Technology* 106-110); BSA y KLH (hemocianina de lapa americana). La adición de PEG y otros polímeros que pueden usarse para modificar los polipéptidos de la invención se describe en el documento US20060 19347 sección IX.

En la divulgación también se incluyen péptidos que son biológica o funcionalmente equivalentes a los péptidos descritos en el presente documento. Las expresiones "biológicamente equivalentes" o "funcionalmente equivalentes" pretenden significar que las composiciones pueden demostrar algunos o todos de los efectos moduladores de la producción de GMPc.

Los péptidos GCRA también pueden incluir derivados de péptidos GCRA que pretenden incluir formas híbridas y modificadas de péptidos GCRA en las que se han delecionado o reemplazado determinados aminoácidos y se han efectuado modificaciones, tales como uno o más aminoácidos que se han cambiado a un aminoácido modificado o no usual y modificaciones tales como glucosilación, siempre que la forma modificada conserve la actividad biológica de los péptidos GCRA. Conservar la actividad biológica, significa que el péptido GCRA induce el GMPc y/o la apoptosis, aunque no necesariamente al mismo nivel de fuerza como el de un péptido GCRA de origen natural identificado.

Las variantes preferidas son aquellas que tienen sustituciones de aminoácidos conservativas fabricadas 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 por un resto de aminoácido que tiene una cadena lateral similar. En la técnica se han definido 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, trionina, tirosina, cisteína), cadenas laterales no polares (por ejemplo, alanina, valina, leucina, isoleucina, prolina, fenilalanina, metionina, triptófano), cadenas laterales beta ramificadas (por ejemplo, trionina, valina, isoleucina) y cadenas laterales aromáticas (por ejemplo, tirosina, fenilalanina, triptófano, histidina). Por tanto, un resto de aminoácido no esencial predicho en un polipéptido GCRA se reemplaza por otro resto de aminoácido de la misma familia de cadena lateral. Como alternativa, en otra realización, pueden introducirse mutaciones al azar a lo largo de toda, o en parte de, la secuencia codificante de GCRA, tal como a través de mutagénesis de saturación y los mutantes resultantes pueden explorarse para identificar mutantes que conservan la actividad.

También se incluye dentro del significado de sustancialmente homólogo cualquier péptido GCRA que pueda aislarse en virtud de la reactividad cruzada con anticuerpos contra el péptido GCRA.

Preparación de péptidos GCRA

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

La síntesis química puede realizarse generalmente 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 mediante condensación directa, como se ha formulado anteriormente, requiere la supresión del carácter reactivo del grupo amino del primer y del grupo carboxilo del segundo aminoácido. Los sustituyentes enmascaradores deben permitir su retirada fácil, sin inducir la degradación de la molécula peptídica lábil.

En la síntesis en fase en solución, puede usarse una gran variedad de métodos de acoplamiento y de grupos protectores (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, es posible la purificación intermedia y el cambio de escala lineal. Los expertos habituales en la técnica apreciarán que la síntesis en solución requiere considerar grupos protectores de cadena lateral y de cadena principal y un método de activación. Además, es precisa una selección de segmento cuidadosa para minimizar la racemización durante la condensación del segmento. Las consideraciones de solubilidad también son un factor. La síntesis peptídica en fase sólida usa un polímero insoluble para dar soporte durante la síntesis orgánica. La cadena peptídica que da soporte al polímero permite el uso de tapas de filtración y de lavado sencillas, en lugar de purificaciones laboriosas en etapas intermedias. La síntesis peptídica en fase sólida puede realizarse generalmente de acuerdo con el método de Merrifield et al., J. Am. Chem. Soc., 1963, 85:2149, que implica el ensamblaje de una cadena peptídica lineal sobre un soporte de resina usando aminoácidos protegidos. Generalmente, la síntesis peptídica en fase sólida utiliza estrategia Boc o Fmoc, muy conocidas en la técnica.

Los expertos habituales en la técnica reconocerán que, en la síntesis en fase sólida, las reacciones de desprotección y de acoplamiento deben realizarse hasta el final y que durante la síntesis los grupos bloqueantes de cadena lateral deben ser estables. Además, la síntesis en fase sólida es, en general, más adecuada cuando han de prepararse péptidos a pequeña escala.

La acetilación del extremo N puede realizarse haciendo reaccionar el péptido final con anhídrido acético antes de la escisión de la resina. La C-amidación se realiza usando una resina apropiada, tal como una resina de metilbenzohidrilamina, usando tecnología Boc.

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

La secuencia que codifica un péptido GCRA descrito en el presente documento puede insertarse en un vector capaz de liberar y mantener la molécula de ácido nucleico en una célula bacteriana. La molécula de ADN puede insertarse en un vector que se replica de manera autónoma (los vectores idóneos incluyen, por ejemplo, pGEM3Z y pcDNA3, y sus derivados). El ácido nucleico del vector puede ser un ADN bacteriano o de bacteriófago, tal como el bacteriófago lambda o M13 y sus derivados. La construcción de un vector que contiene un ácido nucleico descrito en el presente documento puede realizarse después por transformación de una célula hospedadora tal como una bacteria. Los

hospedadores bacterianos adecuados incluyen, pero sin limitación, *E. coli*, *B. subtilis*, *Pseudomonas*, *Salmonella*. La construcción genética también incluye, además de la molécula de ácido de nucleico codificante, elementos que permiten la expresión, tales como secuencias promotoras y reguladoras. Los vectores de expresión pueden contener secuencias de control transcripcional que controlan el inicio de la transcripción, tales como secuencias promotoras, potenciadoras, operadoras y represoras.

Los expertos en la técnica conocen diversas secuencias de control transcripcional. El vector de expresión también puede incluir una secuencia reguladora de la traducción (por ejemplo, una secuencia 5' no traducida, una secuencia 3' no traducida o un sitio de entrada al ribosoma interno). El vector puede realizar la replicación autónoma o puede integrarse en el ADN del hospedador para garantizar la estabilidad durante la producción del polipéptido.

La secuencia codificante de la proteína que incluye un péptido GCRA descrito en el presente documento también puede fusionarse con un ácido nucleico que codifique una etiqueta de afinidad polipeptídica, por ejemplo, glutatión S-transferasa (GST), proteína de unión a maltosa E, proteína A, etiqueta FLAG, hexahistidina, etiqueta myc o la etiqueta HA grupal, para facilitar la purificación. La etiqueta de afinidad o la fusión indicadora une la fase de lectura del polipéptido de interés con la fase de lectura del gen que codifica la etiqueta de afinidad de tal manera que se genera una fusión traduccional. La expresión del gen de fusión da como resultado la traducción de un solo polipéptido que incluye tanto el polipéptido de interés como la etiqueta de afinidad. En algunos casos en los que se utilizan etiquetas de afinidad, la secuencia de ADN que codifica un sitio de reconocimiento de proteasa se fusionará entre las fases de lectura para la etiqueta de afinidad y el polipéptido de interés.

Para producir polipéptidos en un sistema biológico, también pueden usarse construcciones genéticas y métodos que son adecuados para la producción de formas inmaduras y maduras de los péptidos GCRA y variantes, que se describen en el presente documento, en sistemas de expresión de proteínas distintos de bacterias, y bien conocidos por los expertos en la técnica.

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

Métodos terapéuticos

La presente invención proporciona un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos PEG3-Asn¹-Asp²-Glu³-Cys⁴-Glu⁵-Leu⁶-Cys⁷-Val⁸-Asn⁹-Val¹⁰-Ala¹¹-Cys¹²-Thr¹³-Gly¹⁴-Cis¹⁵-dSer¹⁶-PEG3 o PEG3-Asn¹-Asp²-Glu³-Cys⁴-Glu⁵-Leu⁶-Cys⁷-Val⁸-Asn⁹-Val¹⁰-Ala¹¹-Cys¹²-Thr¹³-Gly¹⁴-Cys¹⁵-dSer¹⁶ o Asn¹-Asp²-Glu³-Cys⁴-Glu⁵-Leu⁶-Cys⁷-Val⁸-Asn⁹-Val¹⁰-Ala¹¹-Cys¹²-Thr¹³-Gly¹⁴-Cys¹⁵-dSer¹⁶-PEG3, en la que dicho péptido es un péptido [4; 12,7; 15] bicíclico. Los trastornos gastrointestinales incluyen, por ejemplo, síndrome del intestino irritable (SII), dispepsia no ulcerosa, pseudoobstrucción intestinal crónica, dispepsia funcional, pseudoobstrucción colónica, reflujo duodenogástrico, enfermedad de reflujo gastroesofágico (ERGE), inflamación del íleon (por ejemplo, íleon postoperatorio), gastroparesia, ardor de estómago (acidez elevada en el tracto GI), estreñimiento (por ejemplo, estreñimiento asociado con el uso de medicamentos, tales como opiáceos, fármacos osteoartóricos, fármacos osteoporóticos, estreñimiento posquirúrgico, estreñimiento asociado con trastornos neuropáticos. Los trastornos inflamatorios incluyen inflamación de tejidos y órganos, tal como inflamación renal (por ejemplo, nefritis) inflamación del sistema gastrointestinal (por ejemplo, enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa); inflamación pancreática (por ejemplo, pancreatitis), inflamación pulmonar (por ejemplo, bronquitis o asma) o inflamación en la piel (por ejemplo, soriasis, eccema). Los trastornos pulmonares incluyen, por ejemplo, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), y fibrosis. El cáncer incluye carcinogénesis de tejidos y órganos, 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 pulmonar; cáncer tiroideo; cáncer de piel (por ejemplo, melanoma); cáncer oral; cáncer de tracto urinario (por ejemplo cáncer de vejiga o cáncer renal); 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 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, aumento de la presión intraocular, glaucoma, degeneración de la retina por ojo seco, trastornos de las glándulas lacrimales o inflamación ocular. Los trastornos de la piel incluyen, por ejemplo, xerosis. Los trastornos bucales incluyen, por ejemplo, boca seca (xerostomía), síndrome de Sjögren, enfermedades de las encías (por ejemplo, enfermedad periodontal), o bloqueo o mal funcionamiento de los conductos de las glándulas salivares. Los trastornos de la próstata incluyen, por ejemplo, hiperplasia prostática (HPB). Los trastornos endocrinos incluyen, por ejemplo, diabetes mellitus, hipertiroidismo, hipotiroidismo y fibrosis quística.

Los términos "tratamiento" o "tratar" se refieren a reducir o a aliviar los síntomas en un sujeto, a prevenir los síntomas del empeoramiento o de la progresión, y/o prevención, de una enfermedad en un sujeto que no la tiene. Para un sujeto determinado, la mejoría de un síntoma, su empeoramiento, regresión o progresión puede

determinarse mediante cualquier medición objetiva o subjetiva. La eficacia del tratamiento puede medirse como una mejoría en la morbilidad o mortalidad (por ejemplo, alargamiento de la curva de supervivencia de una población seleccionada). Por tanto, el tratamiento efectivo podría incluir terapia de la enfermedad existente, control de la enfermedad reduciendo o detenido su progresión, la prevención de la aparición de la enfermedad, la reducción del número o de la gravedad de los síntomas, o una combinación de los mismos. El efecto puede mostrarse en un estudio controlado usando uno o más criterios significativamente estadísticos.

El GMPc intracelular se induce por exposición, por ejemplo, poniendo en contacto un tejido (por ejemplo, un tejido gastrointestinal) o una célula, con agonistas de GCRA. Los receptores de GC-C se expresan a lo largo del tracto GI comenzando desde el esófago, duodeno, yeyuno, íleon, ciego y colon. Las líneas celulares de cáncer de colon humano (T81, CaCo-2 y HT-29) también expresan receptores de GC-C. La expresión inducida se refiere a un aumento de la producción de GMPc en comparación con un tejido o una célula que no se ha puesto en contacto con un péptido o una variante de GCRA. Los tejidos o células se ponen directamente en contacto con un péptido o variante de GCRA. Como alternativa, el péptido o variante de GCRA se administra por vía sistémica. El péptido o variante de GCRA se administra en una cantidad suficiente para aumentar la concentración de GMPc intracelular. La producción de GMPc se mide mediante un ensayo basado en células conocido en la técnica. (25).

Los trastornos se tratan, previenen o alivian administrando a un sujeto, por ejemplo, a 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 sola entidad liberadora de fármaco, por ejemplo, una formulación en comprimido, cápsula, solución o para inhalación. La cantidad de péptido presente debe ser suficiente para que tenga un efecto terapéutico positivo cuando se administra a un paciente (generalmente, entre 10 µg y 3 g). Lo que constituye un "efecto terapéutico positivo" dependerá de la afección particular que vaya a tratarse e incluirá cualquier mejora significativa en una afección que un experto en la técnica reconoce fácilmente.

Los péptidos 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, sulindac sulfona, zaprinast, metapizone, vardenafil o sildenafil; uno o más agentes quimioterapéuticos distintos; o fármacos antiinflamatorios, tales como, por ejemplo, fármacos antiinflamatorios esteroideos o no esteroideos (AINE), tal como aspirina.

La terapia de combinación puede realizarse 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 administra por separado, o administrando dos o más agentes en una sola formulación. Otras combinaciones también pueden incluirse en la terapia de combinación. Por ejemplo, dos agentes pueden formularse juntos y administrarse junto con una formulación distinta que contenga un tercer agente. Aunque en la terapia de combinación pueden administrarse los dos o más agentes simultáneamente, esto no tiene por qué ser así. 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 tanto, los dos o más agentes pueden administrarse a los pocos minutos entre sí o a las 1, 2, 3, 6, 9, 12, 15, 18, o 24 horas entre sí o a los 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 14 días entre sí o a las 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, o 10 semanas entre sí. En algunos casos es posible incluso a intervalos más prolongados. Aunque en muchos casos sea deseable que los dos o más agentes usados en una terapia de combinación estén presentes en el organismo del paciente al mismo tiempo, esto no tiene por qué ser así.

Los péptidos GCRA descritos en el presente documento pueden combinarse con inhibidores de fosfodiesterasa, por ejemplo, sulindac sulfona, zaprinast, sildenafil, vardenafil o tadalafil 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 el agente X y el agente Y se usan en una combinación, se les puede 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 dos o más agentes mediante diferentes vías o lugares de administración. Por ejemplo, (a) un agente se administra por vía oral y los otros agentes se administran por vía intravenosa o (b) un agente se administra por vía oral y otro agente se administra por vía local. En cada caso, los agentes pueden administrarse de manera simultánea o secuencial. Las dosificaciones aproximadas para algunos de los agentes de la terapia de combinación descritos en el presente documento se encuentran en la columna "BNF Recommended Dose" de las tablas de las páginas 11-17 del documento WO01/76632 (atribuyéndose los datos de las tablas al *March 2000 British National Formulary*) y también pueden encontrarse en otros formularios convencionales y en otros directorios de prescripción de fármacos. Para algunos fármacos, la dosis habitual prescrita para una indicación variará algo de un país a otro.

Los péptidos GCRA, solos o en combinación, pueden combinarse con cualquier transportador o medio farmacéuticamente aceptable. Por tanto, pueden combinarse con materiales que no producen un efecto adverso o

alérgico o, de otra manera, una reacción no deseada cuando se administra a un paciente. Los transportadores 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 granulantes, celulosa microcristalina (por ejemplo celfere, perlas de Celfere®), diluyentes, lubricantes, aglutinantes, disgregantes y similares), etc. Si se desea, las dosificaciones en forma de comprimido de las composiciones desveladas pueden recubrirse mediante técnicas acuosas o no acuosas convencionales.

Por tanto, la invención proporciona una composición farmacéutica en forma de dosis unitaria, que comprende un péptido agonista de receptores de guanilato ciclase que tienen la secuencia de PEG3-Asn¹-Asp²-Glu³-Cys⁴-Glu⁵-Leu⁶-Cys⁷-Val⁸-Asn⁹-Val¹⁰-Ala¹¹-Cys¹²-Thr¹³-Gly¹⁴-Cys¹⁵-dSer¹⁶-PEG3 o PEG3-Asn¹-Asp²-Glu³-Cys⁴-Glu⁵-Leu⁶-Cys⁷-Val⁸-Asn⁹-Val¹⁰-Ala¹¹-Cis¹²-Thr¹³-Gly¹⁴-Cys¹⁵-dSer¹⁶ o Asn¹-Asp²-Glu³-Cys⁴-Glu⁵-Leu⁶-Cys⁷-Val⁸-Asn⁹-Val¹⁰-Ala¹¹-Cys¹²-Thr¹³-Gly¹⁴-Cys¹⁵-dSer¹⁶-PEG3, en la que dicho péptido es un péptido [4;12,7;15] bicíclico en la que dicho péptido está presente en una cantidad terapéuticamente eficaz, y un transportador excipiente o diluyente farmacéutico.

Preferentemente, la forma de dosis unitaria se selecciona del grupo que consiste en una formulación en comprimido, cápsula, solución y para inhalación.

Una composición farmacéutica de la invención se formula para que sea compatible con la vía de administración deseada. 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 y suspensiones usadas para la aplicación parenteral, intradérmica o subcutánea, pueden incluir los siguientes componentes: un diluyente estéril, tal como agua para inyección; solución salina, aceite no volátiles, polietilenglicoles, glicerina, propilenglicol u otros disolventes sintéticos; agentes antibacterianos tales como alcohol bencílico o metilparabenos; antioxidantes tales como ácido ascórbico o bisulfito sódico; agentes quelantes tales como ácido etilidiaminotetraacético; tampones, tales como, acetatos, citratos o fosfatos y agentes para el ajuste de la tonicidad tales como cloruro de sodio o dextrosa. El pH puede ajustarse con ácidos o bases, tal como ácido clorhídrico o hidróxido de sodio. La preparación parenteral puede incluirse en ampollas, en jeringas desechables o en viales de dosis múltiples fabricados de vidrio o de plástico.

Las composiciones farmacéuticas adecuadas para el uso inyectable incluyen soluciones acuosas (cuando son solubles en agua) o dispersiones estériles y polvos estériles para la preparación improvisada de soluciones o dispersiones inyectables estériles. Para la administración intravenosa, los transportadores adecuados incluyen solución salina fisiológica, agua bacteriostática, Cremofor EL™ (BASF, Parsippany, N.J.) o solución salina tamponada con fosfato (PBS). En todos los casos, la composición debe ser estéril y debe ser fluida hasta el nivel de que exista una facilidad de manejo a través de una jeringa. Debe ser estable en condiciones de fabricación y almacenamiento y debe conservarse contra la acción contaminante de microorganismos tales como bacterias y hongos. El transportador puede ser un medio de dispersión o disolvente 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 necesario en el caso de dispersión y mediante el uso de tensioactivos. La prevención de la acción de microorganismos puede conseguirse mediante 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 de sodio en la composición. La absorción prolongada de las composiciones inyectables puede realizarse incluyendo en la composición un agente que retrase la absorción, por ejemplo, monoestearato de aluminio y gelatina.

Las soluciones inyectables estériles pueden prepararse incorporando el compuesto activo (por ejemplo, un agonista de GCRA) en la cantidad requerida en un disolvente apropiado con una o una combinación de principios enumerados anteriormente, según se requiera, seguido de una esterilización por filtración. Generalmente, las dispersiones se preparan incorporando el compuesto activo en un vehículo estéril que contenga un medio de dispersión básico y los otros principios necesarios de los enumerados anteriormente. En el caso de polvos estériles para la preparación de soluciones inyectables estériles, los métodos de preparación son el secado al vacío y la liofilización, que producen un polvo del principio activo más cualquier principio adicional deseado a partir de una solución previamente esterilizada por filtración de la misma.

Las composiciones orales generalmente incluyen un diluyente inerte o un transportador digerible, tal como manitol, fructooligosacáridos, polietilenglicol y otros excipientes. Estos pueden incluirse en cápsulas de gelatina o comprimirse en comprimidos. Para una administración terapéutica oral, el compuesto activo puede incorporarse con excipientes y usarse en forma de comprimidos, trociscos o cápsulas. Las composiciones orales también pueden prepararse usando un transportador fluido para su uso como un lavado bucal, en el que el compuesto en el transportador líquido se aplica por vía oral y se agita y expectora o se traga. Los aglutinantes y/o materiales adyuvantes farmacéuticamente compatibles, pueden incluirse como parte de la composición. Los comprimidos, píldoras, cápsulas, trociscos y similares pueden contener cualquiera de los siguientes principios, 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 Esterotes; un emoliente tal como dióxido de silicio coloidal; un agente edulcorante tal como sacarosa o sacarina; o un agente aromatizante, tal como menta, metilsalicilato o aromatizante de naranja.

5 Para la administración por inhalación, los compuestos se administran en forma de un pulverizador en aerosol a partir de un envase o dispensador presurizado que contiene un propulsor adecuado, por ejemplo, un gas, tal como dióxido de carbono, o un nebulizador.

10 La administración sistémica también puede ser mediante medios transmucosos o transdérmicos. Para la administración transmucosa o transdérmica, en la formulación se usan penetrantes apropiados para atravesar la barrera. Dichos penetrantes son generalmente conocidos en la técnica e incluyen, por ejemplo, para la administración transmucosa, detergentes, sales biliares y derivados de ácido fusídico. La administración transmucosa puede realizarse usando pulverizadores nasales o supositorios. Para la administración transdérmica, los compuestos activos se formulan en pomadas, bálsamos, geles o cremas como los conocidos generalmente 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 la liberación a través del recto.

25 En una realización, los compuestos activos se preparan con transportadores que protegerán al compuesto contra la eliminación rápida del organismo, tal como una formulación de liberación controlada, incluyendo implantes y sistemas de liberación microencapsulados. Pueden usarse polímeros biodegradables, biocompatibles, tales como etilen vinil acetato, polianhídridos, ácido poliglicólico, colágeno, poliortoésteres y ácido poliláctico. Los métodos de preparación de dichas formulaciones serán obvios para los expertos en la técnica. También pueden obtenerse los materiales en el comercio de Alza Corporation y Nova Pharmaceuticals, Inc. También pueden usarse suspensiones liposomales (incluyendo liposomas dirigidos a células infectadas con anticuerpos monoclonales contra antígenos virales) como transportadoras farmacéuticamente aceptables. Estas pueden prepararse de acuerdo con métodos conocidos por los expertos en la técnica, por ejemplo, como se describe en la patente de Estados Unidos N.º 4.522.811.

Es especialmente ventajoso formular composiciones orales o parenterales en forma de dosificación unitaria para facilitar la administración y dar uniformidad a la dosificación. La forma de dosificación unitaria de la manera en la que se usa en el presente documento, se refiere a unidades físicamente separadas, adecuadas como dosificaciones unitarias para tratar al sujeto; conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada de compuesto activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado en asociación con el transportador farmacéutico requerido. La especificación para las formas de dosificación unitarias de la invención las dictamina y dependen directamente de las características exclusivas del compuesto activo y del efecto terapéutico particular a conseguir.

40 Las composiciones farmacéuticas pueden incluirse en un envase, embalaje, o dispensador junto con instrucciones para la administración.

45 Las composiciones de la presente invención también pueden incluir opcionalmente otros principios terapéuticos, agentes antiapelmazantes, conservantes, edulcorantes, colorantes, aromatizantes, desecantes, plastificantes, tintes, emolientes, antiadherentes, antiestáticos, tensioactivos (humectantes), antioxidantes, recubridores de película y similares. Cualquiera de dichos principios opcionales debe ser compatible con el compuesto descrito en el presente documento para garantizar la estabilidad de la formulación.

50 La composición puede contener otros aditivos según sea necesario, incluyendo, por ejemplo, lactosa, glucosa, fructosa, galactosa, trehalosa, sacarosa, maltosa, rafinosa, maltitol, melicitosa, estaquiosa, lactitol, palatinita, almidón, xilitol, manitol, mioinositol, y similares, y sus hidratos, y aminoácidos, por ejemplo alanina, glicina y betaína y polipéptidos y proteínas, por ejemplo albúmina.

55 Como ejemplos de excipientes para su uso como transportadores farmacéuticamente aceptables y de transportadores inertes farmacéuticamente aceptables y de principios adicionales anteriormente mencionados se 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 arábica, goma xantana, alginato de sodio, ácido algínico, otros alginatos, tragacanto en polvo, goma guar, celulosa y sus derivados (por ejemplo, etil celulosa, acetato de celulosa, carboximetil celulosa de calcio, carboximetil celulosa de sodio), polivinil pirrolidona (por ejemplo, povidona, crospovidona, copovidona, etc), metil celulosa, Metocel, almidón pregelatinizado (por ejemplo, ALMIDON 1500® y ALMIDON 1500 LM®, comercializado por Colorcon, Ltd.), hidroxipropil metil celulosa, celulosa microcristalina (FMC Corporation, Marcus Hook, PA, USA), o mezclas de los mismos; CARGAS: talco, carbonato cálcico (por ejemplo, en gránulos o en polvo), fosfato cálcico dibásico, fosfato cálcico tribásico, sulfato cálcico (por ejemplo, en gránulos o en polvo), celulosa microcristalina, celulosa en polvo, dextratos, caolín, manitol, ácido silícico, sorbitol, almidón, almidón

- pregelatinizado, dextrosa, fructosa, miel, lactosa anhidra, lactosa monohidrato, lactosa y aspartamo, lactosa y celulosa, lactosa y celulosa microcristalina, maltodextrina, maltosa, manitol, celulosa microcristalina; goma guar, melazas, sacarosa, o mezclas de las mismas; DISGREGANTES: agar-agar, ácido alginico, carbonato cálcico, celulosa microcristalina, croscarmelosa sódica, crospovidona, polacrilina de potasio, almidón glicolato sódico, almidón de patata o tapioca, otros almidones, almidón pregelatinizado, arcillas, otras alginas, otras celulosas, gomas (como gelana), hidroxipropil celulosa inferior sustituida, 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 basados en plantas, 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 semilla de soja), estearato de cinc, etil oleato, etil laurato, agar, gel de sílice siloideo (AEROSIL 200, W.R. Grace Co., Baltimore, MD USA), un aerosol coagulado de sílice sintético (Deaussa Co., Plano, TX USA), un dióxido de silicio pirógeno (CAB-O-SIL, Cabot Co., Boston, MA USA), o mezclas de los mismos; AGENTES ANTIAPELMAZANTES: 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 deshidoacético, etilparabeno, metilparabeno, fenol, alcohol feniletílico, fenoxietanol, acetato de fenilmercurio, nitrato de fenilmercurio, sorbato de potasio, propilparabeno, benzoato de sodio, deshidoacetato de sodio, propionato de sodio, ácido sórbico, timerosal, o mezclas de los mismos y AGENTES DE RECUBRIMIENTO: carboximetil celulosa sódica, acetato ftalato de celulosa, etilcelulosa, gelatina, barniz farmacéutico, hidroxipropil celulosa, hidroxipropil metilcelulosa (hipromelosa), ftalato de hidroxipropil metil celulosa, metilcelulosa, polietilenglicol, ftalato de polivinil acetato, goma laca, sacarosa, dióxido de titanio, cera de carnaúba, cera microcristalina, goma gelana, maltodextrina, metacrilatos, celulosa microcristalina y carragenano o mezclas de los mismos.
- La formulación también puede incluir otros excipientes y sus categorías, 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, ácidos grasos, tensioactivos, glicéridos de cadena media), inhibidores de proteasa (*por ejemplo* inhibidor de tripsina de semilla de soja, ácidos orgánicos), agentes reductores de pH y potenciadores de absorción eficaces para promover la biodisponibilidad (incluyendo, pero sin limitación, los descritos en los documentos US6086918 y US5912014), cremas y lociones (como maltodextrina y carragenanos); 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 sebacato de dibutilo, plastificantes para recubrimientos, polivinilacetato ftalato); 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 carragenano, goma gelana, manitol, celulosa microcristalina, povidona, glicolato de almidón sódico, goma xantana); edulcorantes (como aspartamo, aspartamo y lactosa, dextrosa, fructosa, miel, maltodextrina, maltosa, manitol, melazas, sorbitol cristalino, solución especial de sorbitol, sacarosa); agentes de granulación en húmedo (como carbonato cálcico, lactosa anhidra, lactosa monohidrato, maltodextrina, manitol, celulosa microcristalina, povidona, almidón), caramelo, carboximetilcelulosa sódica, aromatizante de crema de cereza y de cereza, ácido cítrico anhidro, ácido cítrico, azúcar confitero, laca de aluminio DyC roja n.º 33, DyC amarilla n.º10, edetato disódico, alcohol etílico al 15%, laca de aluminio FDyC amarilla n.º 6, laca de aluminio FDyC azul n.º 1, laca de aluminio FDyC azul n.º 1, laca de aluminio FDyC azul n.º2, laca de aluminio FDyC verde n.º3, laca de aluminio FDyC rojo n.º 40, laca de aluminio FDyC amarillo n.º 6, laca de aluminio FDyC amarillo n.º 6, laca de aluminio FDyC amarillo n.º10, glicerol palmitoestearato, gliceril monoestearato, carmín índigo, lecitina, manitol, metil y propil parabenos, glicirrinato monoamónico, aroma de naranja natural y artificial, barniz farmacéutico, poloxamer 188, polidextrosa, polisorbato 20, polisorbato 80, polividona, almidón de maíz pregelatinizado, almidón pregelatinizado, óxido de hierro rojo, sacarina sódica, carboximetil éter sódico, cloruro de sodio, citrato de sodio, fosfato de sodio, aroma de fresa, óxido de hierro negro sintético, óxido de hierro rojo sintético, dióxido de titanio y cera blanca.

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

Los agentes, bien en su forma libre o como una sal, pueden combinarse con un polímero, tal como ácido poli-láctico-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(ε-caprolactona) y poli(óxido de alquileño) (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 algunos días, algunas semanas o varios meses dependiendo del polímero, del tamaño de partícula del polímero y del tamaño del implante (véase, por ejemplo, el documento U.S. 6.620.422). Otras formulaciones de liberación sostenida y polímeros para su 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 9726015.97/04744, y US200200 19446. En dichas formulaciones de liberación sostenida las micropartículas (Delie and Blanco-Prieto 2005 Molecule 10:65-80) del polipéptido se combinan con micropartículas del polímero. Uno o más implantes de liberación sostenida pueden colocarse en el intestino grueso, en el intestino delgado o en ambos intestinos. Los documentos U.S. 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 tanto la biodisponibilidad como proporcionar una liberación controlada del agente dentro del tracto GI. 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 se describen formulaciones adicionales de liberación controlada y en el documento WO04041195 se incluyen materiales (incluyendo el cierre y el recubrimiento entérico descrito en su interior) y recubrimientos sensibles a pH que consiguen la liberación en el colon incluyendo los descritos en los documentos US 4.910.021 y WO 9001329. 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 el que el ácido en el núcleo de la perla prolonga la disolución del recubrimiento sensible a pH. El documento de patente de Estados Unidos n.º 5.175.003 desvela una mezcla de polímeros de mecanismo doble compuesta de materiales entéricos sensibles a pH y plastificantes formadores de película capaces de conferir permeabilidad al material entérico, para su uso en sistemas de administración de liberación de fármacos; un gránulo de matriz compuesto de una mezcla de polímeros de mecanismo doble impregnada con un fármaco y algunas veces recubriendo un núcleo farmacéuticamente neutro; un gránulo recubierto con membrana que comprende un gránulo de matriz recubierto con una envoltura de mezcla de polímeros de mecanismo doble de la misma composición o diferente; y una forma de dosificación farmacéutica que contiene gránulos de matriz. El gránulo de matriz libera fármacos solubles en ácido por difusión en pH ácido y por disgregación a niveles de pH de nominalmente aproximadamente 5,0 o mayores.

Los péptidos GCRA descritos en el presente documento pueden formularse en los sistemas de liberación de control dirigidos por activación de 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 WO03086297 (sistemas mucoadhesivos); WO02072075 (formulación laminada bicapa que comprende un agente reductor de pH y un potenciador de la absorción); WO04064769 (polipéptidos amidados); WO05063156 (suspensión lipídica sólida con propiedades pseudotrópicas y/o tixotrópicas después de la fusión); WO03035029 y WO03035041 (formas de dosificación digeribles, retentivos gástricos); US5007790 y US5972389 (formas de dosificación de liberación sostenida); WO041 1271 1 (composiciones orales de liberación prolongada); WO05027878, WO02072033, y WO02072034 (composiciones de liberación retardada con goma natural o sintética); WO05030182 (formulaciones de liberación controlada con una tasa de liberación ascendente); WO05048998 (sistema de microencapsulación); patente de Estados Unidos n.º 5.952.314 (biopolímero); documento US5.108.758 (liberación de matriz de amilosa cristalina); documento US 5.840.860 (liberación basada en almidón modificado). El documento JP10324642 (sistema de liberación que comprende quitosano y un material gastrorresistente, tal como gliadina o zeína de trigo); los documentos US5.866.619 y US6.368.629 (polímero que contiene sacárido); el documento US 6.531.152 (describe un sistema de liberación de fármacos que contiene un núcleo hidrosoluble (pectinato de Ca u otros polímeros insolubles en agua) y recubrimiento externo que estalla (por ejemplo, polímero hidrófobo Eudragit)); documentos US 6.234.464; US 6.403.130 (recubrimiento con polímero que contiene caseína y metoxipeptina superior; documento WO0174 175 (producto de reacción de Maillard); documento WO05063206 (formulación que aumenta la solubilidad); documento WO040 19872 (transferencia de proteínas de fusión).

Los péptidos GCRA descritos en el presente documento pueden formularse usando tecnología de sistemas de retención gastrointestinal (GIREs; Merrion Pharmaceuticals). El GIREs comprende una forma de dosificación de liberación controlada dentro de una bolsa inflable que se coloca en una cápsula farmacológica para administración oral. Después de la disolución de la capsula, un sistema que genera gas infla la bolsa en el estómago donde se retiene durante 16-24 horas, liberando en todo momento los agentes descritos en el presente documento.

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 dispensar un fármaco a determinadas 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 contiene un fármaco, con un paso a través de la pared que conecta el exterior del dispositivo con el compartimento. El dispositivo libera el fármaco a una velocidad controlada en la región del tracto gastrointestinal que tiene un pH menor 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 una disponibilidad total para la absorción del fármaco. Las patentes de Estados Unidos N° 5.609.590 y 5. 358.502 desvelan un dispositivo de estallido osmótico para dispensar un agente beneficioso a un medio acuoso. El dispositivo comprende un agente beneficioso y un agente osmótico que está 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. Un medio desencadenante está unido a la membrana semipermeable (por ejemplo,

uniendo dos mitades de cápsula). El medio desencadenante se activa mediante un pH de 3 a 9 y desencadena la eventual, aunque rápida, liberación del agente beneficioso. Estos dispositivos permiten la liberación, desencadenada por pH, del núcleo del agente beneficioso como un bolo mediante estallido osmótico.

5 Agentes ejemplares para terapia de combinación

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 (de manera simultánea o secuencial). Opcionalmente, también pueden estar unidos por enlace covalente o pueden unirse a un agente descrito en el presente documento para crear conjugados terapéuticos. Entre los agentes analgésicos útiles se encuentran: antagonistas de receptores 5HT bloqueadores de canales de Ca (por ejemplo antagonistas de receptores 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 norepinefrina-serotonina (NSRI), agonistas de receptores vaniloides y cannabinoides, y sialorfina. En la bibliografía se describen agentes analgésicos en las diversas clases.

Entre los polipéptidos analgésicos útiles, se encuentran los polipéptidos relacionados con sialorfina, incluyendo aquellos que comprenden la secuencia de aminoácidos QHNPR (SEC ID N.º:), incluyendo: VQHNPR (SEC ID N.º:); VRQHNPR (SEC ID N.º:); VRGQHNPR (SEC ID N.º:); VRGPQHNPR (SEC ID N.º:); VRGPRQHNPR (SEC ID N.º:); VRGPRRQHNPR (SEC ID N.º:); y RQHNPR (SEC ID N.º:). Los polipéptidos relacionados con sialorfina se unen a neprilisina e inhiben la degradación, mediada por la neprilisina, de la sustancia P y de la Met-enkefalina. Por 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 terapia conjunta o unirse a los polipéptidos descritos en el presente documento, por ejemplo, mediante un enlace covalente. La sialorfina y polipéptidos relacionados se describen en la patente de Estados Unidos 6.589.750; en el documento U.S. 20030078200 A1; y en el documento WO 02/051435 A2.

Los antagonistas y agonistas de receptores opioides pueden administrarse con los péptidos GCRA descritos en el presente documento en terapia conjunta o unirse al agente descrito en el presente documento, por ejemplo, mediante un enlace covalente. Por ejemplo, se piensa que los antagonistas de receptores opioides, tales como naloxona, naltrexona, metil naloxona, nalmefeno, cipridima, beta funaltrexamina, naloxonazina, naltrindol, y nor-binaltorpimina 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 manera que la liberación inicial del antagonista sea en la parte central a la distal del intestino delgado y/o colon ascendente. Dichos antagonistas se describen en el documento WO 01/32180 A2. El pentapéptido encefalina (HOE825; Tyr-D-Lys-Gly-Phe-L-homoserina) es un agonista de los receptores opioides mu y delta y se piensa que son útiles para aumentar la motilidad intestinal {Eur. J. Pharm. 219:445, 1992}, y este polipéptido puede usarse junto con los polipéptidos descritos en el presente documento. También es útil la trimebutina que se piensa que se une a receptores opioides mu/delta/kappa y activan la liberación de motilina y modulan la liberación de gastrina, un polipéptido vasoactivo intestinal, gastrina y glucagones. Los agonistas de receptores opioides kappa tales como fedotozina, asimadolina y cetociclazocina, y los compuestos descritos en los documentos WO03/097051 y WO05/007626 pueden usarse con, o unirse a, los polipéptidos descritos en el presente documentos. Además, pueden usarse agonistas de receptores opioides mu tales como morfina, difenilxilato, fraquefamida (H-Tyr-D-Ala-Phe(F)-Phe-NH₂; documento WO 01/019849 A1) y loperamida.

El dipéptido Tyr-Arg (quitorfina) es un dipéptido que actúa estimulando la liberación de metencefalinas para suscitar un efecto analgésico (J. Biol. Chem 262:8165, 1987). La quitorfina puede usarse con, o unirse a, los polipéptidos GCRA descritos en el presente documento.

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

Los agonistas de receptores de CCK, tal como caeruleina de anfibios y otras especies son agentes analgésicos útiles que pueden usarse con, o unirse a, los péptidos GCRA descritos en el presente documento.

Los polipéptidos de conotoxina representan una gran clase de polipéptidos analgésicos que actúan en canales de calcio regulados por voltaje, en receptores de NMDA o receptores nicotínicos. Estos polipéptidos pueden usarse con, o unirse a, los polipéptidos descritos en el presente documento.

Los análogos peptídicos de timulina (solicitud FR 2830451) pueden tener actividad analgésica y pueden usarse con, o unirse a, los polipéptidos descritos en el presente documento.

Los antagonistas de receptores de CCK (CCKa o CCKb), incluyendo la loxiglumida y dexloxiglumida (el isómero R

de la loxiglumida) (documento WO 88/05774) pueden tener actividad analgésica y pueden usarse con, o unirse a, los polipéptidos descritos en el presente documento.

5 Otros agentes analgésicos útiles incluyen agonistas de 5-HT₄ tales como tegaserod (Zelnorm®), mosaprida, metoclopramida, zacoprida, cisaprida, renzaprida, derivados de benzimidazolona tales como BIMU 1 y BIMU 8, y lirenzaprida. 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.

10 Los bloqueadores de canales de calcio, tales como ziconotida y compuestos relacionados descritos, por ejemplo, en 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, pueden usarse con, o unirse a, los polipéptidos descritos en el presente documento.

15 Diversos antagonistas de los receptores de NK-1, NK-2, y NK-3 (para una revisión véase Giardina et al. 2003. Drugs 6:758) pueden usarse con, o unirse a, los polipéptidos descritos en el presente documento.

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

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

30 Los antagonistas de receptores de NK3, tales como osanetant (SR-142801; Sanofi-Synthelabo), SSR-241586, talnetant y compuestos relacionados descritos, por ejemplo, en 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 en Boden *et al.* (J Med Chem. 39: 1664-75, 1996) pueden usarse con, o unirse a, los polipéptidos descritos en el presente documento.

35 Los inhibidores de la recaptación de norepinefrina-serotonina (NSRI) tales como milnaciprán y compuestos relacionados descritos en el documento WO 03/077897 A1 pueden usarse con, o unirse a, los polipéptidos descritos en el presente documento.

Los antagonistas de receptores vaniloides, tales como arvanil y compuestos relacionados descritos en el documento WO 01/64212 A1 pueden usarse con, o unirse a, los polipéptidos descritos en el presente documento.

40 Los polipéptidos y compuestos analgésicos pueden administrarse con los polipéptidos y agonistas descritos en el presente documento (de manera simultánea o secuencial). Los agentes analgésicos también pueden unirse covalentemente a los polipéptidos y agonistas descritos en el presente documento para crear conjugados terapéuticos. Cuando el analgésico es un polipéptido y está unido covalentemente a un agente descrito en el presente documento, el polipéptido resultante también puede incluir al menos un sitio de escisión de tripsina.

45 Cuando está presente en el polipéptido, el polipéptido analgésico puede venir precedido (si está en el extremo carboxilo) o seguido por (si está en el extremo amino) un sitio de escisión de tripsina que permita la liberación del polipéptido analgésico.

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

Agentes para el tratamiento de trastornos gastrointestinales

55 Como ejemplos de agentes terapéuticos adicionales para el tratamiento de trastornos gastrointestinales y otros trastornos, se incluyen agentes para el tratamiento del estreñimiento (por ejemplo, un activador de los canales de cloro, tal como la lubiprostona, un ácido graso bicíclico, (anteriormente conocido como SPI-0211; Sucampo Pharmaceuticals, Inc.; Bethesda, MD), un laxante (por ejemplo, un laxante formador de volumen (por ejemplo, polisacáridos que no son 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, bisacodil), antraquinonas (por ejemplo, cáscara, senna) y laxantes tensioactivos (por ejemplo, aceite de ricino, docusato), un agente emoliente/lubricante (tal como aceite mineral, glicerina y docusato), MiraLax (Bainbridge Laboratories, Bainbridge 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 ácido tales como

65 inhibidores de la bomba de protones (por ejemplo, omeprazol (Prilosec®), esomeprazol (Nexium®), lansoprazol (Prevacid®), pantoprazol (Protonix®) y rabeprazol (Aciphex®)) y antagonistas de receptores H₂ de Histamina

(también conocidos como bloqueadores de receptores H2 incluyendo cimetidina, ranitidina, famotidina y nizatidina); agentes procinéticos incluyendo itoprida, octreotida, betanecol, metoclopramida (Reglan®), domperidona (Motilium®), eritromicina (y sus derivados) o cisaprida (propulsid®); polipéptidos de Prokineticina, homólogos, variantes y quimeras de los mismos incluyendo los descritos en el documento US 7.052.674 que pueden usarse con,

5 o unirse a, los polipéptidos descritos en el presente documento; agentes pro-motilidad, tales como los polipéptidos derivados de vasostatina, cromogranina A (4-16) (Véase, por ejemplo, Ghia *et al.* 2004 Regulatory polypeptides 121: 31) o agonistas de motilina (por ejemplo, GM-611 o mitemcinal fumarato) o moduladores de receptores FQ de nociceptina/Orfanina (documento US20050169917); otros péptidos que pueden unirse a, y/o activar, GC-C incluyendo los descritos en el documento US20050287067; agonistas o antagonistas de receptores de 5HT

10 completos o parciales (por ejemplo, 5HT1, 5HT2, 5HT3, 5HT4) (incluyendo antagonistas de 5HT1A (por ejemplo, AGI-OOI (agentes terapéuticos AGI), antagonistas de 5HT2B (por ejemplo, PGN 1091 y PGN1 164 (Pharmagene Laboratories Limited) y agonistas de receptores de 5HT4 (tales como tegaserod (ZELNORM®), prucaloprida, mosaprida, metoclopramida, zacoprida, cisaprida, renzaprida, derivados de bencimidazolona tales como BIMU 1 y BIMU 8, y lirexaprida). Dichos agonistas/moduladores se describen en los documentos: EP1321142 A1, WO

15 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 de receptores de 5HT3 tales como MKC-733; y antagonistas de receptores de 5HT3 tales como DDP-225 (MCI-225; Dynogen Pharmaceuticals, Inc.), cilansetrón (Calmactin®), alosetrón (Lotronex®), Ondansetrón HCl (Zofran®), Dolasetrón (ANZEMET®), palonosetrón (Aloxi®), Granisetrón (Kytril®), YM060 (ramosetrón; Astellas Pharma Inc.; el ramosetrón puede tomarse 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 de receptores

20 muscarínicos; agentes antiinflamatorios; antiespasmódicos incluyendo, pero sin limitación, fármacos anticolinérgicos (como dicitlomina (por ejemplo, Colimex®, Formulex®, Lomine®, Protlyol®, Visceral®, Spasmoban®, Bently®, Bentlyol®), hiosciamina (por ejemplo, IB-Stat®, Nulev®, Levsin®, Levbid®, Levsinex Timecaps®, Levsin/SL®, Anaspaz®, ASpas S/L®, Cystospaz®, Cystospaz-M®, Donnamar®, Colidrops Liquid Pediatric®, Gastrosed®, Hyco Elixir®, Hyosol®, Hyospaz®, Hyosyne®, Losamine®, Medispaz®, Neosol®, Spacol®, Spasdel®, Symax®, Symax SL®), Donnatal (por ejemplo, Donnatal Extentabs®), clidinio (por ejemplo, Quarzán, en combinación con Librium = Librax), metantelina (por ejemplo, Bantina), Mepenzolato (por ejemplo, Cantil), homatropina (por ejemplo, hiodán, 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,

25 Buscopan®), Pirenzepina (por ejemplo, Gastrozepin®), Bromuro de Propantelina (por ejemplo, Propanthel®), dicitloverina (por ejemplo, Merbentyl®), bromuro de glicopirronio (por ejemplo, Glycopyrrolate®), hidrobromuro de hioscina, metobromuro de hioscina, metantelinio y octatropina); aceite de yerbabuena; y relajantes directos de la musculatura lisa como bromuro de cimetropio, mebeverina (DUSPATAL®, DUSPATALIN®, COLOFAC MR®, COLOTAL®), bromuro de otilonio (octilonio), pinaverium (por ejemplo, Dicitel®, (bromuro de pinaverium; Solvay S.A.)), Spasfon® (floroglucinol y trimetilfloroglucinol hidratado) y trimebutina (incluyendo maleato de trimebutina (Modulon®); antidepresivos, incluyendo, pero sin limitación, los indicados en el presente documento, así como antidepresivos tricíclicos como amitriptilina (Elavil®), desipramina (Norpramin®), imipramina (Tofranil®), amoxapina (Asendin®), nortriptilina; los inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (SSRTs) como paroxetina (Paxil®), fluoxetina (Prozac®), sertralina (Zoloft®) y citralopram (Celexa®); y otros como doxepina (Sinequan®) y

30 trazodona (Desyrel®); agentes analgésicos de acción central tales como agonistas de receptores opioides, antagonistas de receptores opioides (por ejemplo, naltrexona); agentes para el tratamiento de la enfermedad intestinal inflamatoria; agentes para el tratamiento de la enfermedad de Crohn y/o la colitis ulcerosa (por ejemplo, alequel (Enzo Biochem, Inc.; Farmingsale, NY), el polipéptido antiinflamatorio RDP58 (Genzyme, Inc.; Cambridge, MA) y TRAFICET-EN™ (ChemoCentryx, Inc.; San Carlos, CA); agentes que tratan el dolor gastrointestinal o visceral;

35 agentes que aumentan los niveles de cGMP (como se describe en el documento US20040121994) tales como los antagonistas de receptores adrenérgicos, antagonistas de receptores de dopamina e inhibidores de FDE (fosfodiesterasa) incluyendo, pero sin limitación, los desvelados en el presente documento; purgantes que extraen líquidos del intestino (por ejemplo, VISICOL®, una combinación de fosfato de sodio monobásico monohidratado y fosfato de sodio dibásico anhidro); antagonistas de receptores del Factor de Liberación de Corticotropina (CRF) (incluyendo NBI-34041 (Neurocrine Biosciences, San Diego, CA), CRH9-41, astressina, R121919 (Janssen Pharmaceutica), CP 154,526, NBI- 27914, Antalarmin, DMP696 (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);

40 polipéptidos similares a glucagón (glp-1) y sus análogos (incluyendo exendina-4 y GTP-010 (Gastrotech Pharma A)) e inhibidores de DPP-IV (la DPP-IV media la inactivación del glp-1); tofisopam, R-tofisopam enantioméricamente puro y sus sales farmacéuticamente aceptables (documento US 20040229867); antidepresivos tricíclicos de tipo dibenzodiazepina incluyendo, pero sin limitación, Dextofisopam® (Vela Pharmaceuticals), tianeptina (Stablon®) y otros agentes descritos en el documento US 6.683.072; éster del éter metílico de nonaetilenglicol del ácido (E)-4 (1,3bis(ciclohexilmetil)-1,2,3,4-tetrahidro-2,6-diono-9H-purin-8-il)cinámico 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-Phenotrope, Diarsed, Difenoxilato, Lofene, Logen, Lonox, Vi-Atro,

45 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 (agentes terapéuticos AGI) y subsalicilato

de bismuto (Pepto-bismol); fármaco ansiolíticos, incluyendo, pero sin limitación Ativan (lorazepam), alprazolam (Xanax®), clordiazepóxido/clidinio (Librium®, Librax®), clonazepam (Klonopin®), clorazepato (Tranxene®), diazepam (Valium®), estazolam (ProSom®), flurazepam (Dalmene®), oxazepam (Serax®), prazepam (Centrax®), temazepam (Restoril®), triazolam (Halcion®; Bedelix® (Montmorillonita beidellita; Ipsen Ltd), Solvay SLV332 (ArQule Inc), YKP (SK Pharma), Asimadolina (Tioga Pharmaceuticals/Merck), AGI-003 (AGI Therapeutics); antagonistas de neuroquinina incluyendo los descritos en el documento US20060040950; moduladores de canales de potasio incluyendo los descritos en el documento US 7.002.015; el modulador de serotonina AZD7371 (AstraZeneca Plc); antagonistas de receptores muscarínicos M3 tales como darifenacina (Enablex; Novartis AG y zamifenacina (Pfizer); terapias con herbicidas 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, honoquiol, imperatorina e isoimperatorina) tales como en el documento US6923992; y composiciones que comprenden lisina y un agente antiestrés para el tratamiento del 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 con compuestos relacionados que incluyen insulina de primates, de roedores o de conejos, incluyendo sus variantes biológicamente activas incluyendo variantes alélicas, más preferentemente la insulina humana disponible en forma recombinante. Las fuentes de insulina humana incluyen formulaciones farmacéuticamente aceptables y estériles tales como las disponibles en Eli Lilly (Indianapolis, Ind. 46285) como Humulin™ (origen de ADN de insulina humana). Véase, el documento THE PHYSICIAN'S DESK REFERENCE, 55.sup.th 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 o los niveles de la insulina de un sujeto después de la administración, por ejemplo, glipizida y/o rosiglitazona. Los polipéptidos y agonistas descritos en el presente documento pueden usarse en terapia de combinación con SYMLIN® (acetato de pramlintida) y Exenatide® (exendina-4 sintética; un polipéptido de 39 aa).

Agentes para el tratamiento de íleo postoperatorio

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

Agentes antihipertensivos

Los péptidos GCRA descritos en el presente documento pueden usarse en terapia de combinación con un agente antihipertensivo incluyendo, pero sin limitación: (1) diuréticos, tales como tiazidas, incluyendo clortalidona, clortiazida, diclorofenamida, hidroflumetazida, indapamida, politiazida, e hidroclorotiazida; diuréticos de asa, tales como bumetanida, ácido etacrínico, furosemida y torsemida; agentes ahorradores de potasio, tales 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 de canal de calcio tales como amlodipina, aranidipina, azelnidipina, barnidipina, benidipina, bepridil, cinaldipina, clevidipina, diltiazem, efonidipina, felodipina, gallopamil, isradipina, lacidipina, lemildipina, lercanidipina, nicardipina, nifedipina, nilvadipina, nimodipina, nisoldipina, nitrendipina, manidipina, pranidipina, y verapamil, y similares; (4) inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (ACE), tales como benazepril; captopril; ceranapril; cilazapril; delapril; enalapril; enalapril; fosinopril; imidapril; lisinopril; losinopril; moexipril; quinapril; quinaprilat; ramipril; perindopril; perindopril; quanipril; espirapril; tenocapril; trandolapril, y zofenopril, y similares; (5) inhibidores de endopeptidasa neutra tales como omapatrilat, cadoxatril y ecadotril, fosidotril, sampatrilat, AVE7688, ER4030 y similares; (6) antagonistas de endotelina tales como tezoseptán, A308165 e YM62899, y similares; (7) vasodiladores tales como hidralazina, clonidina, minoxidil y alcohol nicotínico y similares; (8) antagonistas de receptores de angiotensina II tales como aprosartán, candesartán, eprosartán, irbesartán, losartán, olmesartán, prazosartán, tasosartán, telmisartán, valsartán y EXP- 3137, FI6828K y RNH6270, y similares; (9) bloqueadores α/β adrenérgicos tales como nipradilol, arotinolol y amosulalol, y similares; (10) bloqueadores alfa 1, tales como terazosín, urapidil, prazosín, tamsulosín, bunazosín, trimazosín, doxazosín, naftopidil, indoramín, WHP 164 y XENOIO, y similares; (11) agonistas de alfa 2 tales como lofexidina, tiamenidina, moxonidina, rilmenidina y guanobenz, y similares; (12) inhibidores de aldosterona, y similares; y (13) agentes de unión a angiopoyetina-2 tales como los desvelados en el documento WO03/030833. Los agentes antihipertensivos específicos que pueden usarse en combinación con los polipéptidos y agonistas descritos en el presente documento, incluyen, pero sin limitación: diuréticos, tales como tiazidas (por ejemplo, clortalidona, ciclotiazida (NR CAS 2259-96-3), clorotiazida (NR CAS 72956-09-3, que puede prepararse como se desvela en el documento US2809194), diclorofenamida, hidroflumetazida, indapamida, politiazida, bendroflumetazida, meticlotazida, politiazida, triclormetazida, clortalidona, indapamida, metolazona,

quinetazona, altiazida (NR CAS 5588-16-9, que puede prepararse como se desvela en la patente británica n.º 902.658), benzotiazida (NR CAS 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.º 861.367) e hidroclorotiazida), diuréticos de asa (por ejemplo, bumetanida, ácido etacrínico, furosemida y torasemida), agentes ahorradores de potasio (por ejemplo amilorida y triamtereno (CAS Número 396-01-0)) y antagonistas de aldosterona (por ejemplo espironolactona (CAS Número 52-01-7), epirenona, y similares); bloqueadores β adrenérgicos tales como Amiodarona (Cordarona, Pacerona), clorhidrato de bunolol (NR CAS 31969-05-8, Parke-Davis), acebutolol ($\pm$ N-[3-acetil-4-[2-hidroxi-3-[(1-metiletil)amino]propoxi]fenil]-butanamida, o ($\pm$)-3'-acetil-4'-[2-hidroxi-3-(isopropilamino)propoxi] butiranilida), clorhidrato de acebutolol (por ejemplo, Sectral®, Wyeth-Ayerst), clorhidrato de alprenolol (NR CAS 13707-88-5 véase la Solicitud de Patente de los Países Bajos n.º 6.605.692), atenolol (por ejemplo, Tenormin®, AstraZeneca), clorhidrato de carteolol (por ejemplo, Cartrol Filmtab®, Abbott), clorhidrato de Celiprolol (NR CAS 57470-78-7, véase también en el documento US4034009), clorhidrato de cetamolol (NR CAS 77590-95-5, véase también el documento US4059622), clorhidrato de labetalol (por ejemplo, Normodyne®, Schering), clorhidrato de esmolol (por ejemplo, Brevibloc®, Baxter), clorhidrato de levobetaxolol (por ejemplo, Betaxon™ Suspensión Oftálmica, Alcon), clorhidrato de levobunolol (por ejemplo, Betagan® Liquifilm® con C CAP® Compliance Cap, Allergan), nadolol (por ejemplo, Nadolol, Mylan), practolol (NR CAS 6673-35-4, véase también el documento US3408387), clorhidrato de propranolol (NR CAS 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)-, NR CAS 91524-16-2), maleato de timolol (S)-1-[(1,1 -dimetiletil)amino]-3-[[4-(4-morfolinil)-1,2,5-tiadiazol-3-il]oxi]-2-propanol (Z)-2-butanodioato (1 :1) sal, NR CAS 26921-17-5), bisoprolol (2-propanol, 1-[4-[[2-(1-metiletoxi)etoxi]metil]fenoxi]-3-[(1-metiletil)amino]-, ($\pm$), NR CAS 66722-44-9), fumarato de bisoprolol (tal como ($\pm$)-1-[4-[[2-(1-metiletoxi)etoxi]metil]fenoxi]-3-[(1-metiletil)amino]-2-propanol (E) -2-butanodioato (2:1) (sal), por ejemplo Zebeta™, Lederle Consumer), nebivolol (2H-1-benzopirán-2-metanol, $\alpha\alpha'$ -[imino-bis(metilen)]bis[6-fluoro-3,4-dihidro-, NR CAS 99200-09-6 véase también la Patente de Estados Unidos n.º 4.654.362), clorhidrato de cicloprolol, tal como 2-propanol, 1-[4-[2-(ciclopropilmetoxi)etoxi]fenoxi]-3-[1-metiletil)amino]-, clorhidrato, A.A.S. RN 63686-79-3), clorhidrato de dextropropranolol (2-propanol, 1-[1-metiletil)amino]-3-(1-naftalenilo)-clorhidrato (NR CAS 13071-11-9), clorhidrato de diacetolol (acetamida, N-[3-acetil-4-[2-hidroxi-3-[(1-metiletil)amino]propoxi]fenil]-, monoclorhidrato NR CAS 69796-04-9), clorhidrato de dilevalol (benzamida, 2-hidroxi-5-[1-hidroxi-2-[1-metil-3-fenilpropil)amino]etil]-, monoclorhidrato, NR CAS 75659-08-4), clorhidrato de exaprolol (2-propanol, 1-(2-ciclohexilfenoxi)-3-[(1-metiletil)amino]-, clorhidrato NR CAS 59333-90-3), sulfato de flestolol (ácido benzoico, 2-fluoro-3-[[2-[aminocarbonil)amino]-dimetiletil]amino]-2-hidroxipropil éster, (+)- sulfato (1 :1) (sal), NR CAS 88844-73-9; clorhidrato de metalol (metanosulfonamida, N-[4-[1-hidroxi-2-(metilamino)propil]fenil]-, monoclorhidrato NR CAS 7701-65-7), metoprolol 2-propanol, 1-[4-(2-metoxietil)fenoxi]-3-[1-metiletil)amino]-; NR CAS 37350-58-6), tartrato de metoprolol (tal como 2-propanol, 1-[4-(2-metoxietil)fenoxi]-3-[(1-metiletil)amino]-, por ejemplo Lopressor®, Novartis), sulfato de pamatolol (ácido carbámico, [2-[4-[2-hidroxi-3-[(1-metiletil)amino]propoxi]fenil]-etil]-, metil éster, ($\pm$) sulfato (sal) (2:1), NR CAS 59954-01-7), sulfato de penbutolol (2-propanol, 1-(2- ciclopropilfenoxi)-3-[1,1-dimetiletil)amino] 1, (S)-, sulfato (2:1) (sal), NR CAS 38363-32-5), practolol (acetamida, N-[4-[2-hidroxi-3-[(1-metiletil)amino]-propoxi]fenil]-, NR CAS 6673-35-4;) clorhidrato de tiprenolol (propanol, 1-[(1-metiletil)amino]-3-[2-(metiltio)-fenoxi]-, clorhidrato, ($\pm$), NR CAS 39832-43-4), tolamolol (benzamida, 4-[2[[2-hidroxi-3-(2-metilfenoxi)-propil]amino]etoxi]-, NR CAS 38103-61-6), bopindolol, indenolol, pindolol, propanolol, 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-clorofenil)-1,4-dihidro-6-metil-3,5-piridindicarboxilato bencenosulfonato, por ejemplo Norvasc®, Pfizer), maleato de clentiazem (1,5-benzotiazepina-4(5H)-ona, 3-(acetiloxi)-8-cloro-5-[2-(dimetilamino)etil]-2,3-dihidro-2-(4-metoxifenil)-(2S-cis)-, (Z)-2-butanodioato (1:1), véase también documento US4567195), isradipina (ácido 3,5-piridindicarboxílico, 4-(4-benzofurazanil)-1,4-dihidro-2,6-dimetil-, metil 1-metiletil éster, ($\pm$)-4(4-benzofurazanil)-1,4-dihidro-2,6-dimetil-3,5-piridindicarboxilato, véase también documento S4466972); nimodipina (tal como isopropil (2-metoxietil) 1,4-dihidro-2,6-dimetil-4-(3-nitrofenil)-3,5-piridin-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® Extended-Release, 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 US3799934), nifedipina (tal como ácido 3, 5-piridindicarboxílico, 1,4-dihidro-2,6-dimetil-4-(2-nitrofenil)-, dimetil éster, por ejemplo Procardia XL® Comprimidos de Liberación Prolongada, 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-, e.g. Tiazac®, Forest), clorhidrato de verapamil (tal como bencenoacetronitrilo, (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) NR CAS 108700-03-4), belfosdil (ácido fosfónico, [2-(2-fenoxi etil)- 1,3-propanodil]bis-, tetrabutil éster NR CAS 103486-79-9), fostedil (ácido fosfónico, [[4-(2-benzotiazolil)fenil]metil]-, dietil éster NR CAS 75889-62-2), aranidipina, azelnidipina, barnidipina, benidipina, bepridil, cinaldipina, clevidipina, efonidipina, galopamil, lacidipina, lemildipina, lercanidipina, maleato de monatepil (1-piperazinbutanamida, N-(6,11-dihidrobenzo(b,e)tiepin-11-il)₄-(4-fluorofenil)-, (+)-, (Z)-2-butenodioato (1:1) ($\pm$)-N-(6,11-dihidrobenzo(b,e)tiepin-11-il)₄-(p-fluorofenil)-1-piperazinbutiramida maleato (1:1) NR CAS 132046-06-1), nicardipina, nisoldipina, nitrendipina, manidipina, pranidipina, y similares; antagonistas de calcio del canal T tales como mibefradil; inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (ACE) tales como benazepril, clorhidrato de benazepril (tal como monoclorhidrato del ácido 3-[[1-(etoxicarbonil)-3-fenil-(1S)-propil]amino]-2,3,4,5-tetrahidro-2-oxo-1H-1-(3S)-benzazepina-1-acético, por ejemplo Lotrel®, Novartis), captopril (tal como 1-[(2S)-3-

mercapto-2-metilpropionil]-L-prolina, por ejemplo Captopril, Mylan, NR CAS 62571-86-2 y otros desvelados en el documento US4046889), ceranapril (y otros desvelados en el documento US4452790), cetapril (alacepril, Dainippon desvelado en el documento Eur. Therap. Res. 39:671 (1986); 40: 543 (1986)), cilazapril (Hoffman-LaRoche) desvelado en J. Cardiovasc. Pharmacol. 9: 39 (1987), indalapril (clorhidrato de delapril (2H-1,2,4-benzotiadiazina-7-sulfonamida, 3- biciclo[2.2.1]hept-5-en-2-il-6-cloro-3,4-dihidro-, 1,1- dióxido NR CAS 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-oxopropoxo)propoxi](4-fenilbutil)fosfinil]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-[(2S)-2-[(1S)-1-(etoxicarbonil)-3-fenil-propil]amino]-1-oxopropil]-1, -2,3,4-tetrahidro-6,7-dimetoxi-, monoclórhidrato, (3S)- NR CAS 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 *tert*-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 Acta. Pharmacol. Toxicol. 59 (Supp. 5): 173 (1986)), tenocapril, trandolapril, zofenopril (y otros desvelados en el documento US4316906), rentiapril (fentiapril, desvelado en Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. 10: 131 (1983)), pivopril, YS980, teprotida (potenciador de bradiquinina BPP9a NR CAS 35115-60-7), BRL 36,378 (Smith Kline Beecham, véanse los documentos 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 la Patente n.º 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 el documento US4473575), Ru 44570 (Hoechst, véase Arzneimittelforschung 34: 1254 (1985)), R 31-2201 (Hoffman-LaRoche véase FEBS Lett. 165: 201 (1984)), CI925 (Pharmacologist 26: 243, 266 (1984)), WY-44221 (Wyeth, véase J. Med. Chem. 26: 394 (1983)), y los desvelados en los documentos US2003006922 (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, mixanpril 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 tezoseptán, A308165 y YM62899, y similares; vasodiladores tales como hidralazina (apresolina), clonidina (clorhidrato de clonidina (1H-imidazol-2-amina, N-(2,6-diclorofenil)4,5-dihidro-, monoclórhidrato NR CAS 4205-91-8), catapres, minoxidil (loniten), alcohol nicotínico (roniacol), clorhidrato de diltiazem (tal como monoclórhidrato de 1,5-benzotiazepin-4(5H)-ona, 3-(acetiloxi)-5[2-(dimetilamino)etil]-2,3-dihidro-2(4-metoxifenilo), (+)-cis, por ejemplo Tiazac®, Forest), dinitrato e isosorbida (tal como 1,4:3,6-dianhidro-D-glucitol-2,5-dinitrato por ejemplo Isordil® Titradose®, Wyeth-Ayerst), mononitrato de isosorbida (tal como 1,4:3,6-dianhidro-D-glucitol-1,5-nitrato, un nitrato orgánico, por ejemplo Ismo®, Wyeth-Ayerst), nitroglicerina (tal como 2,3 trinitrato de propanotriol, por ejemplo Nitrostat® Parke-Davis), clorhidrato de verapamil (tal como bencenoacetónitrilo, (±)-(alfa)[3-[[2-(3,4-dimetoxifenil)etil]metilamino]propil]-3, clorhidrato de 4-dimetoxi-(alfa)-(1-metiletilo), por ejemplo Covera HS® Extended-Release, 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 US3152173), nitrato de propatilo (que puede prepararse como se desvela en la Patente Francesa n.º 1.103.113), clorhidrato de miflozina (1-piperazinacetamida, 3-(aminocarbonil)-4-[4,4-bis(4-fluorofenil)butil]-N-(2,6-diclorofenilo), diclorhidrato NR CAS 83898-67-3), mixidina (bencenoetanamina, 3,4-dimetoxi-N-(1-metil-2-pirrolidiniliden)-pirrolidina, 2-[(3,4-dimetoxifenetil)imino]-1-metil-1-metil-2-[(3,4-dimetoxifenetil)imino]pirrolidina NR CAS 27737-38-8), molsidomina (1,2,3-oxadiazolio, 5-[(etoxicarbonil)amino]-3-(4-morfolinilo), sal interna NR CAS 25717-80-0), mononitrato de isosorbida (D-Glucitol, 1,4:3,6-dianhidro-, 5-nitrato NR CAS 16051-77-7), tetranitrato de eritritilo (1,2,3,4-butanotetrol, tetranitrato, (2R,3S)-rel-NR CAS 7297-25-8), clonitrato(1,2-propanodiol, 3-cloro-, dinitrato (7Cl, 8Cl, 9Cl) NR CAS 2612-33-1), dipiridamol etanol, 2,2',2''-[(4,8-di-1-piperidinilpirimido[5,4-d]pirimidina-2,6-diil)dinitrilo]tetraquis-NR CAS 58-32-2), nicorandilo (NR CAS 65141-46-0 3-), ácido piridincarboxamida (N-[2-(nitrooxi)etil]-nisoldipina 3,5-piridindicarboxílico, 1,4-dihidro-2,6-dimetil-4-(2-nitrofenil)-, metil 2-metilpropil éster NR CAS 63675-72-9), ácido 3,5-piridindicarboxílico de nifedipina, 1,4-dihidro-2,6-dimetil-4-(2-nitrofenil)-, dimetil éster NR CAS 21829-25-4), maleato de perhexilina (piperidina, 2-(2,2-diciclohexoetil)-, (2Z)-2-butenodioato (1:1) NR CAS 6724-53-4), clorhidrato de oxprenolol (2-propanol, 1-[(1-metiletil)amino]-3-[2-(2-propeniloxi)fenoxi]-, clorhidrato de NR CAS 6452-73-9), pentritol (1,3-propanodiol, 2,2-bis[(nitrooxi)etil]-, mononitrato (éster) NR CAS 1607-17-6), verapamil (bencenoacetónitrilo, α-[3-[[2-(3,4-dimetoxifenil)etil]-metilamino]propil]- 3,4-dimetoxi-a-(1-metiletil)-NR CAS 52-53-9) y similares; antagonistas de receptor de angiotensina II tales como, aprosartán, zolasartán, olmesartán, prazosartán, Fl6828K, RNH6270, candesartán (ácido 1H-benzimidazol-7-carboxílico, 2-etoxi-1-[[2'-(1H-tetrazol-5-il)[1,1'-bifenil]4-il]metil]-NR CAS 139481-59-7), candesartán cilexetilo ((+/-)-1-(ciclohexilcarboniloxi)etil-2-etoxi-1-[[2'-(1H-tetrazol-5-il)bifenil-4-il]-1H-benzimidazol carboxilato, NR CAS 145040-37-5, documentos US5703110 y US5196444), eprosartán ácido (3-[1-4-carboxifenilmetil]-2-n-butyl-imidazol-5-il)-(2-tienilmetil) propenoico, documentos US5185351 y US5650650), irbesartán (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 US5352788), losartán (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), tasosartán (5,8-

dihidro-2,4-dimetil-8-[(2'-(1H-tetrazol-5-il)[1,1'-bifenil]-4-il)metil]-pirido[2,3-d]pirimidin-7(6H)-ona, documento US5149699, telmisartán ácido (4'-[(1,4-dimetil-2'-propil-(2,6'-bi-1H-benzimidazol)-r-il)]-[1,1'-bifenil]-2-carboxílico, NR CAS 144701-48-4, US5591762), milfasartán, abitesartán, valsartán (Diovan® (Novartis), (S)-N-valeril-N-[(2'-(1H-tetrazol-5-il)bifenil-4-il)metil]valina, documento US5399578), EXP-3137 ácido (2-N-butil-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)-1,1'-bifen-4-il)metil-5,7-dimetil-2-etil-3H-imidazo[4,5b]piridina, ácido 4'[2-etil-4-metil-6-(5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]piridin-2-il)-bencimidazol-1-il]-metil]-1,1'-bifenil]-2-carboxílico, 2-butil-6-(1-metoxi-1-metiletil)-2-[2'-(1H-tetrazol-5-il)bifenil-4-il]metil] guinazolin-4(3H)-ona, 3-[2'-carboxibifenil-4-il]metil]-2-ciclopropil-7-metil-3H-imidazo[4,5-b]piridina, ácido 2-butil-4-cloro-1-[(2'-tetrazol-5-il)bifenil-4-il]metil]imidazol-carboxílico, ácido 2-butil-4-cloro-1-[(2'-(1H-tetrazol-5-il)[1,1'-bifenil]-4-il]metil]-1H-imidazol-5-carboxílico, sal potásica del éster -1-(etoxicarbonil-oxi)etilo, carboxilato de dipotasio 2-butil-4-(metiltio)-1-[[2-[[[(propilamino)carbonil]amino]-sulfonil](1,1'-bifenil)-4-il]metil]-1H-imidazol-5-carboxilato de metil-2-[4-butil-2-metil-6-oxo-5-[[2'-(1H-tetrazol-5-il)-[1,1'-bifenil]-4-il]metil]-1-(6H)-pirimidinil]metil]-3-tiofeno, 5-[(3,5-dibutil-1H-1,2,4-triazol-1-il)metil]-2-[2-(1H-tetrazol-5-il)fenil]]piridina, 6-butil-2-(2-feniletil)-5[[2'-(1H-tetrazol-5-il)[1,1'-bifenil]-4-il]metil]pirimidin-4-(3H)-ona D,L sal 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 de potasio de 2,7-dietil-5-[[2'-(5-tetrazol)bifenil-4-il]metil]-5H-pirazolo[1,5-b][1,2,4]triazolo, ácido 2-[2-butil-4,5-dihidro-4-oxo-3-[2'-(1H-tetrazol-5-il)-4-bifenil]metil]-3H-imidazo[4,5-c]piridin-5-il]metil]benzoico, éster etílico, sal de potasio, 3-metoxi-2,6-dimetil-4-[[2'-(1H-tetrazol-5-il)-1,1'-bifenil-4-il]metil]piridina, ácido 2-etoxi-1-[[2'-(5-oxo-2,5-dihidro-1,2,4-oxadiazol-3-il)bifenil-4-il]metil]-1H-bencimidazol-7-carboxílico, ácido 1-[N-(2'-(1H-tetrazol-5-il)bifenil-4-il)-metil]-N-valerolilaminometil]ciclopentan-1-carboxílico, 7-metil-2n-propil-3-[[2'-(1H-tetrazol-5-il)bifenil-4-il]metil]-3H-imidazo[4,5-b]piridina, benzoato 2-[5-[(2-etil-5,7-dimetil-3H-imidazo[4,5-b]piridin-3-il)metil]-2-quinolinil]sódico, 2-butil-6-cloro-4-hidroximetil-5-metil-3-[[2'-(1H-tetrazol-5-il)bifenil-4-il]metil]piridina, ácido 2-[[[2-butil-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-butil-1,3-dihidro-3-[[6-[2-(1H-tetrazol-5-il)fenil]-3-piridinil]metil]-2H-imidazol-2-ona, 5,8-etano-5,8-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-tetrazaciclopentanaftalen-9-ona, 4-[1-[2'-(1,2,3,4-tetrazol-5-il)bifen-4-il]metilamino]-5,6,7,8-tetrahidro-2-trifluorquinazolina, 2-(2-clorobenzoi)imino-5-etil-3-[2'-(1H-tetrazol-5-il)bifenil-4-il]metil-1,3,4-tiazolin-2-ilideno]aminocarbonil-1-ciclopentencarboxílico y éster 1-etoxicarboniloxietílico del ácido 2-butil-4-[N-metil-N-(3-metilcrotonoil)amino]-1-[[2'-(1H-tetrazol-5-il)bifenil-4-il]metil]-1H-imidazol-5-carboxílico, 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, 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, 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, WO92/05161, WO92/07852, WO92/15577, WO93/03033, WO91/16313, WO92/00068, WO92/02510, WO92/09278, WO92/10179, WO92/10180, WO92/10186, 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, US5066586, US5089626, US5049565, US5087702, US5124335, US5102880, US5128327, US5151435, US5202322, US5187159, US5198438, US5182288, US5036048, US5140036, US5087634, US5196537, US5153347, US5191086, US5190942, US5177097, US5212177, US5208234, US5208235, US5212195, US5130439, US5045540, US5041152, y US5210204, y sales y ésteres de los mismos farmacéuticamente aceptables; bloqueadores α/β adrenérgicos tales como nipradilol, arotinolol, amosulalol, tosilato de bretilio (NR CAS: 61-75-6), mesilato de dihidroergtamina (tales como ergotaman-3',6',18-triona, 9,10-dihidro-12'-hidroxi-2'-metil-5'-(fenilmetil)-, (5'(a))-, monometanosulfonato, por ejemplo inyección de DHE 45®, Novartis), carvedilol (tales como (±)-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), tosilato de bretilio (bencenometanamino, 2-bromo-N-etil-N,N-dimetil-, sal con ácido 4-metilbencenosulfónico (1:1) NR CAS 61-75-6), mesilato de fentolamina (fenol, 3-[[[(4,5-dihidro-1H-imidazol-2-il)metil]-(4-metilfenil)amino]-,

monometanosulfonato (sal) NR CAS 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-dihidroxiutanodioato (1:1) NR CAS 5591-43-5), clorhidrato de zolertina (piperazina, 1-fenil 4-[2-(1H-tetrazol-5-il)etil]-, monoclóhidrato (8Cl, 9Cl) NR CAS 7241-94-3) y similares; bloqueadores de receptores α adrenérgicos, tales como alfuzosín (NR CAS: 81403-68-1), terazosín, urapidil, prazosín (Minipress®), tamsulosín, bunazosín, trimazosín, doxazosín, naftopidil, indoramin, WHP 164, XENOIO, clorhidrato de fenspirida (que pueden prepararse como se desvela en el documento US3399192), proroxán (NR CAS 33743-96-3), y clorhidrato de labetalol y combinaciones de los mismos; agonistas de α_2 tales como metildopa, metildopa HCL, lofexidina, tiamenidina, moxonidina, rilmenidina, guanobenz, y similares; inhibidores 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 antianginosos, tales como ranolazina (clorhidrato de 1-piperazinacetamida, N-(2,6-dimetilfenil)-4-[2-hidroxi-3-(2-metoxifenoxi)propil]-, diclorhidrato NR CAS 95635-56-6), clorhidrato de betaxolol (2-propanol, 1-[4-[2(ciclopropilmetoxi)etil]fenoxi]-3-[(1-metiletil)amino]-, clorhidrato NR CAS 63659-19-8), clorhidrato de butoprozina (metanona, [4-[3(dibutilamino)propoxi]fenil](2-etil-3-indolil)-, monoclóhidrato NR CAS 62134-34-3), ácido cinepazet maleate-piperazinacético, 4-[1-oxo-3-(3,4,5-trimetoxifenil)-2-propenil]-, etil éster, (2Z)-2-butenodioato (1:1) NR CAS 50679-07-7), tosifeno (bencenosulfonamida, 4-metil-N-[[[(1S)-1-metil-2-feniletil]amino]carbonil]-NR CAS 32295-184), verapamilclorhidrato (bencenoacetónitrilo, α -[3-[[2-(3,4-dimetoxifenil)etil]metilamino]propil]-3,4-dimetoxi- α -(1-metiletil)-, monoclóhidrato NR CAS 152-114), molsidomina (1,2,3-oxadiazolio, 5-[(etoxicarbonil)amino]-3-(4-morfolinil)-, sal interna NR CAS 25717-80-0), y clorhidrato de ranolazina (1-piperazinacetamida, N-(2,6-dimetilfenil)-4-[2-hidroxi-3-(2-metoxifenoxi)propil]-, diclorhidrato NR CAS 95635-56-6); tosifeno (bencenosulfonamida, 4-metil-N-[[[(1S)-1-metil-2-feniletil]amino]carbonil]-NR CAS 32295-184); estimulantes adrenérgicos tales como clorhidrato de guanfacina (tal como N-amidino-2-(2,6-diclorofenil) clorhidrato de acetamida, por ejemplo comprimidos Tenex® disponibles en Robins); metildopahidroclorotiazida (tal como levo-3-(3,4-dihidroxiifenil)-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 ejemplo comprimidos Aldoril® disponibles en Merck), metildopaclorotiazida (tal como 6-cloro-2H-1,2,4-benzotiadiazina-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-isindolilil) bencenosulfonamida), por ejemplo Combipres®, Boehringer Ingelheim), clorhidrato de clonidina (tal como clorhidrato de 2-(2,6-diclorofenilamino)-2-imidazolina, por ejemplo Catapres®, Boehringer Ingelheim), clonidina (1H-imidazol-2-amina, N-(2,6-diclorofenil)-4,5-dihidro-NR CAS 4205-90-7), Hyzaar (Merck; una combinación de losartán e hidroclorotiazida), Co-Diovan (Novartis; una combinación de valsartán e hidroclorotiazida, Lotrel (Novartis; una combinación de benazepril y amlodipina) y Caduet (Pfizer; una combinación de amlodipina y atorvastatina), y los agentes desvelados en el documento US20030069221.

35 *Agentes para el tratamiento de trastornos respiratorios*

Los péptidos GCRA descritos en el presente documento pueden usarse en terapia de combinación con uno o más de los siguientes agentes útiles en el tratamiento de trastornos respiratorios y otros trastornos incluyendo, pero sin limitación: (1) β agonistas incluyendo, pero sin limitación: albuterol (PROVENTIL®, SALBUTAMOL®, VENTOLIN®), bambuterol, bitoterol, clenbuterol, fenoterol, formoterol, isoetarina (BRONKOSOL®, BRONKOMETER®), metaproterenol (ALUPENT®, METAPREL®), pirbuterol (MAXAIR®), reproterol, rimiterol, salmeterol, terbutalina (BRETHAIRE®, BRETHINE®, BRICANYL®), adrenalina, isoproterenol (ISUPREL®), epinefrina bitartrato (PRIMATENE®), efedrina, orciprenlina, fenoterol e isoetarina; (2) esteroides, incluyendo, pero sin limitación beclometasona, dipropionato de beclometasona, betametasona, budesonida, budesonida, butixocort, dexametasona, flunisolida, flucortina, fluticasona, hidroclorisona, metil prednisona, mometasona, predonisolona, predonisona, tipredán, tixocortal, triamcinolona y acetónido de triamcinolona; (3) combinaciones de β_2 -agonistas-corticoesteroides [por ejemplo, salmeterol-fluticasona (ADVAIR®), formoterol-budesonida (SYMBICORT®)] ; (4) antagonistas de receptores de leucotrienos D4/agonistas de leucotrienos/antagonistas de LTD4 (es decir, cualquier compuesto que sea capaz de bloquear, inhibir, reducir o, de otra manera, interrumpir la interacción entre los leucotrienos y el receptor LTI de Cys) incluyendo, pero sin limitación: zafirlukast, montelukast, montelukast sódico (SINGULAIR®), pranlukast, iralukast, pobilukast, SKB-106.203 y los compuestos descritos como que tienen actividad antagonizante de LTD4 descritos en la Patente de Estados Unidos n.º 5.565.473; (5) inhibidores de 5-lipoxigenasa y/o inhibidores de la biosíntesis de leucotrienos [por ejemplo, zileutón y BAY1005 (CA registro 128253-31-6)]; (6) antagonistas del receptor de histamina H1/antihistaminas (es decir, cualquier compuesto que sea capaz de bloquear, inhibir, reducir o, de otra manera, interrumpir la interacción entre la histamina y su receptor) incluyendo, pero sin limitación: astemizol, acrivastina, antazolina, azatadina, azelastina, astemizol, bromofeniramina, maleato de bromofeniramina, carbinoxamina, carebastina, cetirizina, clorfeniramina, maleato de clorfeniramina, cimetidina clemastina, ciclizina, ciproheptadina, descarboetoxiloratadina, dexclorfeniramina, dimetindeno, difenhidramina, difenilpiralina, succinato de doxilamina, doxilamina, ebastina, efetirizina, epinastina, famotidina, fexofenadina, hidroxizina, hidroxizina, ketotifeno, levocabastina, levocetirizina, levocetirizina, loratadina, meclizina, mepiramina, mequitazina, metdilazina, mianserina, mizolastina, noberastina, norastemizol, noraztemizol, fenindamina, feniramina, picumast, prometazina, pinlamina, pirilamina, ranitidina, temelastina, terfenadina, trimeprazina, tripelenamina y triprolidina; (7) un anticolinérgico, incluyendo, pero sin limitación: atropina, benzotropina, biperiden, flutropio, hiosciamina (por ejemplo, Levsin®; Levbid®; Levsin/SL®, Anaspaz®, Levsinex timecaps®, NuLev®), ilutropio, ipratropio, bromuro de ipratropio, metescopolamina, oxibutinina, rispenzepina, escopolamina y tiotropio; (8) un antitusivo incluyendo, pero sin limitación: dextrometorfán, codeína e hidromorfona; (9) un descongestivo incluyendo, pero sin limitación:

seudodefdrina y fenilpropanolamina; (10) un expectorante incluyendo, pero sin limitación: guaifenesín, guaicol sulfato, terpin, cloruro de amonio, glicerol guaicolato, y glicerol yodado; (11) un broncodilatador incluyendo, pero sin limitación: teofilina y aminofilina; (12) un antiinflamatorio incluyendo, pero sin limitación: flurbiprofeno, diclofenaco, indometacina, ketoprofeno, S-ketoprofeno, tenoxicam; (13) un inhibidor de FDE (fosfodiesterasa), incluyendo pero sin limitación, los desvelados en el presente documento; (14) un anticuerpo no monoclonal recombinante humanizado [por ejemplo xolair (también denominado omalizumab), rhuMab y talizumab]; (15) un tensioactivo pulmonar humanizado incluyendo formas recombinantes de proteínas tensioactivas SP-B, SP-C o SP-D [por ejemplo SURFAXIN®, anteriormente conocido como dsc-104 (Discovery Laboratories)], (16) agentes que inhiben los canales de sodio epiteliales (ENaC) tales como amilorida y compuestos relacionados; (17) agentes antimicrobianos usados para el tratamiento de infecciones pulmonares, tales como, aciclovir, amikacina, amoxicilina, doxiciclina, trimetoprina sulfametoxazol, amfotericina B, azitromicina, claritromicina, roxitromicina, claritromicina, cefalosporinas (ceffoxitina, cefmetazol etc.), ciprofloxacina, etambutol, gentamicina, ganciclovir, imipenem, isoniazid, itraconazol, penicilina, ribavirina, rifampín, rifabutin, amantadina, rimantidina, estreptomycin, tobramicina y vancomicina; (18) agentes que activan la secreción de cloro a través de los canales de cloro dependientes de Ca⁺⁺ (tal como agonistas de receptores purinérgicos (agonistas de P2Y(2)); (19) agentes que disminuyen la viscosidad del esputo, tal como DNasa 1 recombinante humana, (Pulmozyme®); (20) agentes antiinflamatorios no esteroideos (acetaminofeno, ácido acetil salicílico, alclofenaco, alminoprofeno, apazona, aspirina, benoxaprofeno, bezpiperilón, ácido buclórico, carprofen, clidanac, diclofenaco, diclofenaco, diflunisal, diflusinal, etodolac, fenbufeno, fenbufeno, fenclofenac, ácido fenclórico, fenoprofeno, fentiazac, fepazona, ácido flufenámico, flufenisal, fluprofeno, flurbiprofeno, furofenac, ibufenac, ibuprofeno, indometacina, indoprofeno, isoxepac, isoxicam, ketoprofeno, ketorolac, ácido meclofenámico, ácido mefenámico, mioprofeno, mofebutazona, oxaprozín, nabumetona, naproxeno, ácido niflúmico, oxaprozina, oxpinac, oxifenbutazona, fenacetina, fenilbutazona, piroxicam, pirprofeno, pranoprofeno, sudoxicam, tenoxicam, sulfasalazina, sulindac, suprofeno, ácido tiaprofénico, tiopinac, tiopaprofeno, ácido tolfenámico, tolmetín, zidometacina y zomepirac); y (21) agentes terapéuticos antioxidantes aerosolizados tales como S-nitrosoglutatión.

Agentes antiobesidad

Los péptidos GCRA descritos en el presente documento pueden usarse en terapia de combinación con un agente antiobesidad. Dichos agentes adecuados incluyen, sin limitación: inhibidores de 11 β HSD-1 (11-beta hidroxisteroide deshidrogenasa de tipo 1), tales como BVT 3498, BVT 2733, 3-(1-adamantil)-4-etil-5-(etil-tio)-4H-1,2,4-triazol, 3-(1-adamantil)-5-(3,4,5-trimetoxifenil)-4-metil-4H-1,2,4-triazol, 3-adamantanil-4,5,6,7,8,9,10,11,12,3a-decahidro-1,2,4-triazolo[4,3-a][11]anuleno, y los compuestos desvelados en los documentos WO01/90091, WO01/90090, WO01/90092 y WO02/072084; antagonistas de 5HT tales como los de los documentos WO03/037871, WO03/037887, y similares; moduladores de 5HT1a tales como carbidopa, benserazida y los desvelados en los documentos US6207699, WO03/031439, y similares; agonistas de 5HT2c (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 de receptores de 5HT6, tales como los de los documentos WO03/030901, WO03/035061 WO03/039547, y similares; acilestrógenos tales como oleilestrona, desvelado en el Mar-Grasa, M. *et al*, Obesity Research, 9: 202-9 (2001) y en la Solicitud de Patente Japonesa n.º JP 2000256190; compuestos bicíclicos anoréxicos 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; antagonista/agonista inverso de CB 1 (receptor cannabinoide 1), tal como rimonabant (Acomplia; Sanofi), SR-147778 (Sanofi), SR-141716 (Sanofi), BAY 65-2520 (Bayer), y SLV 319 (Solvay), y los desvelados en las publicaciones de patente US4973587, US5013837, US5081122, US5112820, US5292736, US5532237, US5624941, US6028084, 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 (colecistoquinina-A), tales como AR-R 15849, 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), SRI 46131 (Sanofi Synthelabo), butabindida, PD 170,292, y PD 149164 (Pfizer); derivados de CNTF, tales como Axokine® (Regeneron), y los desvelados en los documentos WO94/09134, WO98/22128 y WO99/43813; inhibidores de dipeptidil peptidasa IV (DP-IV), tales como isoleucina tiazolidida, valina pirrolidida, NVP-DPP728, LAF237, P93/01, P 3298, TSL 225 (ácido triptofil-1,2,3,4-tetrahidroisouquinolin-3-carboxílico; desvelado por Yamada *et al*, Bioorg. & Med. Chem. Lett. 8 (1998) 1537-1540), TMC-2A/2B/2C, inhibidores de CD26, FE 999011, P9310/K364, VIP 0177, DTZ 274-444, 2-cianopirrolididas y 4-cianopirrolididas como se desvela en Ashworth *et al*, Bioorg. & Med. Chem. Lett., Vol. 6, No. 22, pp 1163-1166 y 2745-2748 (1996) y los compuestos desvelados en las publicaciones de patente WO99/38501, WO99/46272, WO99/67279 (Probiobug), WO99/67278 (Probiobug), WO99/61431 (Probiobug), 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; agonistas/antagonistas de receptores secretagogos de la hormona del crecimiento, tales como NN703, hexarelin, 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, en la

solicitud provisional de Estados Unidos 60/203335, en los documentos US6358951, US2002049196, US2002/022637, WO01/56592 y WO02/32888; antagonistas/agonistas inversos de H3 (histamina H3), tales como tioperamida, 3-(1H-imidazol-4-il)propil N-(4-pentenil)carbamato, clobenpropit, iodofenpropit, imoproxifán, GT2394 (Gliatech), y A331440, O-[3-(1H-imidazol-4-il)propanol]carbamatos (Kiec-Kononowicz, K. *et al.*, Pharmazie, 55: 349-55 (2000)), antagonistas del receptor de histamina H3 que contiene 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-fenilcarbamatos sustituidos (Reidemeister, S. *et al.*, Pharmazie, 55: 83-6 (2000)), y derivados de proxifán (Sasse, A. *et al.*, J. Med. Chem. 43:3335-43 (2000)) y moduladores del receptor H3 de histamina 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 metionil leptina humana recombinante (Amgen); inhibidores de lipasa, tales como tetrahidrolipstatina (orlistat/Xenical®), Tritón WRI 339, RHC80267, lipstatina, teasaponina, fosfato de dietilumbeliferilo, 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, eritrodiol, ácido ursólico, uvaol, ácido betulínico, betulina y similares y compuestos desvelados en el documento WO03/011267; agonistas de Mc4r (receptor 4 de melanocortina), tales como CHIR86036 (Chiron), ME- 10142, ME-10145, y HS-131 (Melacure), y los desvelados en las publicaciones PCT n.º 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 5 de melanocortina), tales como los desvelados en los documentos WO97/19952, WO00/15826, WO00/15790, US20030092041; antagonistas del receptor 1 de la hormona concentradora de melanina (MCHR), tales como T-226296 (Takeda), SB 568849, SNP-7941 (Synaptic), y los desvelados en las publicaciones de patente WO01/21169, 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; moduladores 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 (tal como Pondimin® (bencenoetanamina, clorhidrato de N-etil-alfa-metil-3-(trifluorometilo), Robbins), dexfenfluramina (tal como Redux® (bencenoetanamina, clorhidrato de N-etil-alfa-metil-3-(trifluorometilo)), 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 clorhidrato de sibutramina monohidrato, sales monohidrato de las mismas y los compuestos desvelados en los documentos US4746680, US4806570, y US5436272, US20020006964, WO01/27068, y WO01/62341; 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, US6258837, US6313298, US6326375, US6329395, US6335345, US6337332, US6329395, US6340683, EP01010691, EP-01044970, WO97/19682, WO97/20820, WO97/20821, WO97/20822, WO97/20823, WO98/27063, WO00/107409, WO00/185714, WO00/185730, WO00/64880, WO00/68197, WO00/69849, WO01/113917, WO01/09120, WO01/14376, WO01/85714, WO01/85730, WO01/07409, WO01/02379, WO01/23388, WO01/23389, WOO 1/44201, WO01/62737, WO01/62738, WO01/09120, WO02/20488, WO02/22592, WO02/48152, WO02/49648, WO02/051806, WO02/094789, WO03/009845, WO03/014083, WO03/022849, WO03/028726 y Norman *et al.*, J. Med. Chem. 43: 4288-4312 (2000); antagonistas opioides, tales como nalmeferene (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 FDE (por ejemplo compuestos que retrasan la degradación del AMP cíclico (AMPC) y/o del GMP cíclico (GMPc) por inhibición de las fosfodiesterasas, que pueden conducir a un aumento relativo de la concentración de AMPC y GMPc intracelular; posibles inhibidores de FDE que son principalmente aquellas sustancias que no se enumeran entre la clase que consiste en los inhibidores de FDE3, la clase que consiste en los inhibidores de FDE4 y/o la clase que consiste en los inhibidores de FDE5, en particular aquellas sustancias que pueden designarse como tipos mixtos de inhibidores de FDE3/4 o como tipos mixtos de inhibidores de FDE3/4/5) 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, EP0112987, EP01 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, DE1116676, DE2162096, EP0293063, EP0463756, EP0482208, EP0579496, EP0667345 US6331543, US20050004222 (incluyendo los desvelados en las fórmulas I- XIII y en los párrafos 37-39, 85-0545 y 557-577), WO9307124, EP0163965, EP0393500, EP0510562, EP0553174, WO9501338 y WO9603399, así como inhibidores de FDE5 (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 FDE4 (tales como etazolato, ICI63197, RP73401, imazolidinona (RO-20-1724), MEM 1414 (R1533/R1500; Pharmacia Roche), denbufilina, rolipram, oxagrelato, nitracuazona, Y-590, DH-6471, SKF-94120, motapizina, lixazinona, indolidán, 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, cuazinona y N-(3,5-dicloropirid-4-il)-3-ciclopropilmetoxi-4-difluorometoxibenzamida, inhibidores de FDE3 (tales como ICI153, 100, bemorandana (RWJ 22867), MCI-154, UD-CG 212, sulmazol, ampizona, cilostamida, carbazerán, piroximona, imazodán, CI-930, siguazodán, adibendán, saterinona, SKF-95654, DTZ-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, inhibidores de FDE3/4 (tales como benafentrina, trequinsín, ORG-30029, zardaverina, L-686398, DTZ-ISQ-844, ORG-20241, EMD-54622, y tolafentrina) y otros inhibidores de FDE (tales como vinpocetina, papaverina, enprofilina, cilomilast, fenoximona, pentoxifilina, roflumilast, tadalafil (Cialis®), teofilina y vardenafil (Levitra®); agonistas del Neuropeptido Y2 (NPY2) incluyendo, pero sin limitación: polipeptido YY 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°: 107)) 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, US6365633, WO03/00663, WO01/27060, y WO01/162341; agonistas P de la hormona tiroidea, tales como KB-2611 (Karo-BioBMS), y los desvelados en los documentos WO02/15845, WO97/21993, WO99/00353, GB98/284425, Solicitud Provisional de Estados Unidos n.º 60/183,223 y Solicitud de Patente Japonesa n.º JP 2000256190; activadores de UCP-1 (proteína 1 no acopladora), 2 o 3 tales como ácido fitánico, ácido 4-[(E)-2-(5, 6,7,8- tetrahidro-5,5,8,8-tetrametil-2-naftalenil)-1-propenil]benzoico (TTNPB), ácido retinoico y los desvelados en el documento WO99/00123; agonistas β_3 (receptor 3 beta adrenérgico), tales como AJ9677/TAK677 (Dainippon/Takeda), L750355 (Merck), CP331648 (Pfizer), CL-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, US5705515, US5451677, WO94/18161, WO95/29159, WO97/46556, WO98/04526 and 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, dietilpropión (tal como Tenuate® (clorhidrato de 1-propanona, 2-(dietilamino)-1-fenil-), Merrell), dextroanfetamina (también conocido como sulfato de dextroanfetamina, dexanfetamina, dexedrina, Dexampex, Ferndex, Oxydess II, Robese, Spancap n.º 1), mazindol ((o 5-(p-clorofenil)-2,5-dihidro-3H-imidazol[2,1-a]isoindol-5-ol) tales como Sanorex®, Novartis o Mazanor®, Wyeth Ayerst), fenilpropanolamina (o bencenometanol, clorhidrato de alfa-(1-aminoetil)-), fentermina ((o fenol, monoclóhidrato de 3-[[4,5-dihidro-1H-imidazol-2-il)etil](4-metilfenil-1)amino]) tales como Adipex-P®, Lemmon, FASTIN®, SmithKline Beecham e Ionamin®, Medeva), fendimetrazina ((o (2S,3S)-3,4-dimetil-2-fenilmorfolina L-(+)-tartrato (1:1)) tales como Metra® (Forest), Plegine® (Wyeth- Ayerst), Prelu-2® (Boehringer Ingelheim) y Statobex® (Lemmon), tartrato de fendamina (tales como Thephorin® (2,3,4,9-tetrahidro-2-metil-9-fenil-1H-indenol[2,1-c]piridina L-(+)-tartrato (1:1)), Hoffmann-LaRoche), metanfetamina (tales como Desoxyn®, Abbot ((S)-N, clorhidrato de (alfa)-dimetilbencenoetanamina)), y tartrato de fendimetrazina (tales como Bontril® Slow-Release Capsules, Amarin (tartrato de -3,4-dimetil-2-fenilmorfolina); reguladores positivos/inductores de la oxidación de ácidos grasos tales como Famoxin® (Genset); inhibidores de monoamina oxidasa incluyendo pero sin limitación befloxatona, moclobemida, brofaromina, fenoxatina, esuprona, befol, toloxatona, pirlindol, amiflamina, sercloremina, bazinaprina, lazabemida, milacemida, caroxazona y otros compuestos determinados como se desvela en el documento WO01/12176; y otros agentes antiobesidad 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 descritos en el documento WO03/40107, ATL-962 (Alizyme PLC), benzocaína, clorhidrato de benzfetamina (Didrex), fuco negro (*Fucus vesiculosus*), agonistas de BRS3 (receptor de bombesina de subtipo 3), bupropión, cafeína, agonistas de CCK, quitosano, cromo, ácido linoleico conjugado, agonistas de la hormona liberadora de corticotropina, deshidroepiandrosterona, inhibidores de DGAT1 (diacilglicerol aciltransferasa 1), inhibidores de DGAT2 (diacilglicerol aciltransferasa 2), inhibidores transportadores de dicarboxilato, efedra, exendina-4 (un inhibidor de glp-1) inhibidores de FAS (ácido graso sintasa) (tales como Cerulenina y C75), inhibidores de la reabsorción de grasas (tales como los del documento WO03/053451, y similares), inhibidores de transportadores de

ácidos grasos, fibras hidrosolubles naturales (tales como psilio, plantago, guar, avena, pectina), antagonistas de galanina, galega (Goat's Rue, French Lilac), *Garcinia cambogia*, camedrio (*Teucrium chamaedrys*), anticuerpos anti grelina y antagonistas de grelina (tales como los desvelados en los documentos WO01/87335 y WO02/08250), hormonas polipeptídicas y sus variantes que afectan a la secreción de las células de los islotes, tales como las hormonas del polipéptido inhibidor de secretina/gástrico (GIP)/polipéptido intestinal vasoactivo (VIP)/polipéptido activador de la adenilato ciclasa de pituitaria (PACAP)/polipéptido II similar a glucacón (GLP- II)/glicentina/familia de genes de glucagón y/o los de la familia de genes de polipéptidos relacionados con el gen de adrenomedulina/amilina/calcitonina (CGRP) que incluyen agonistas de GLP-1 (polipéptido 1 similar a glucagón (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) y su forma carboxilada o amidada en el extremo C o como polipéptidos GLP-1 modificados y sus modificaciones que incluyen los descritos en los párrafos 17-44 del documento US20050130891 y se emplean derivados de GLP-1-(7-34)COOH y el aminoácido correspondiente que tienen la siguiente fórmula general: R-NH-HAEGTFTDVSYLEGQAAKEFIWLVK-CONH₂ (SEC ID N°: 108) 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 prefieren 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 1 similar a glucagón), antagonistas de glucocorticoides, inhibidores de transportadores de glucosa, secretagogos de la hormona del crecimiento (tales como los desvelados y específicamente descritos en el documento US5536716), interleucina-6 (IL- 6) y sus moduladores (como los del documento WO03/057237, y similares), L-carnitina, agonistas de Mc3r (receptor de melanocortina 3), agonistas/antagonistas de MCH2R (hormona 2R concentradora de melanina), antagonistas de la hormona concentradora de melanina, agonistas de melanocortina (tales como Melanotan II o los descritos en los documentos WO 99/64002 y WO 00/74679), hierba nomame, inhibidores de transportadores de fosfato, compuestos fitofarm 57 (CP 644,673), piruvato, inhibidores de SCD-1 (estearoil-CoA desaturasa-1), T71 (Tularik, Inc., Boulder CO), Topiramato (Topimax®, indicado como un anticonvulsivo que se ha demostrado que aumenta la pérdida de peso), moduladores de factores de transcripción (tales como los desvelados en el documento WO03/026576), inhibidores de la β -hidroxiesteroide deshidrogenasa-1 (β -HDT-I), β -hidroxi- β -metilbutirato, p57 (Pfizer), Zonisamida (Zonegran™, indicado como un antiepileptico que se ha demostrado que conduce a la pérdida de peso) y los agentes desvelados en el documento US20030119428 en los párrafos 20-26.

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 γ 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 US5594016), pioglitazona (tales como Actos™ pioglitazona; Takeda), rosiglitazona (Avandia™; Smith Kline Beecham), maleato de rosiglitazona, troglitazona (Rezulin®, desvelado en el documento US4572912), rivoglitazona (CS- O11, Sankyo), GL-262570 (Glaxo Wellcome), BRL49653 (desvelado en el documento WO98/05331), CLX-0921, 5-BTSD, 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, US6288095, US6303640, US6329404, US5994554, WO97/10813, WO97/27857, WO97/28115, WO97/28137, WO97/27847, WO00/76488, WO03/000685, WO03/027112, WO03/035602, WO03/048130, WO03/055867, y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos; biguanidas tales como clorhidrato de metformina (clorhidrato de diamida N,N-dimetilimidodicarbonimidáica, tal como Glucophage™, Bristol-Myers Squibb); clorhidrato de metformina con gliburida, tales como Glucovance™, Bristol-Myers Squibb); buformina (N-butil-diamida imidodicarbonimidáica); etoformina (1-butil-2-etilbiguanida, Schering A. G.); otras formas salinas de metformina (incluyendo cuando la sal se selecciona del grupo de, acetato, benzoato, citrato, timarato, embonato, clorofenoxiacetato, glicolato, palmoato, aspartato, metanosulfonato, maleato, paraclorofenoxiisobutirato, formato, lactato, succinato, sulfato, tartrato, ciclohexanecarboxilato, hexanoato, octanoato, decanoato, hexadecanoato, octodecanoato, bencenosulfonato, trimetoxibenzoato, paratoluenosulfonato, adamantanocarboxilato, glucoxilato, glutarnato, pirrolidonocarboxilato, naftalenosulfonato, 1-glucosefosfato, nitrato, sulfito, ditionato y fosfato), y fenformina; inhibidores de la proteína tirosina fosfatasa-1B (PTP-1B), 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 de los mismos farmacéuticamente aceptables; sulfonilureas tales como acetohexamida (por ejemplo, Dymelor, Eli Lilly), carbutamida, clorpropamida (por ejemplo, Diabinese®, Pfizer), gliamilida (Pfizer), gliclazida (por ejemplo, Diamcron, Servier Canada Inc), glimepirida (por ejemplo, desvelada en el documento US4379785, tales como Amaryl, Aventis), glipentida, glipizida (por ejemplo, Glucotrol o Glucotrol XL Liberación Prolongada, Pfizer), gliquidona, glisolamida, gliburida/glibenclamida (por ejemplo, Micronasa o Glinasa Prestab, Pharmacia & Upjohn and Diabeta, Aventis), tolazamida (por ejemplo, Tolinasa), y tolbutamida (por ejemplo, Orinasa) y sales y ésteres de los mismos farmacéuticamente aceptables; meglitinidas tales como repaglinida (por ejemplo, Prandin®, Novo Nordisk), KAD1229 (PF/Kissei), y nateglinida (por ejemplo, Starlix®, Novartis) y sales y ésteres de los mismos farmacéuticamente aceptables; inhibidores de la α glucósido hidrolasa (o inhibidores de glucósidos) tales como acarbosa (por ejemplo, Precose™, Bayer desvelado en el documento US4904769), miglitol (tal como GLYSET™,

Pharmacia & Upjohn desvelado en el documento US4639436), camiglibosa (metil 6-desoxi-6-[(2R,3R,4R,5S)-3,4,5-trihidroxi-2-(hidroximetil)piperidino]-alfa-D-glucopiranosido, Marion Merrell Dow), voglibosa (Takeda), adiposina, emiglitato, pradimicin-Q, salbostatina, CKD-711, MDL-25,637, MDL- 73,945, y MOR 14, y los compuestos desvelados en los documentos US4062950, US4174439, US4254256, US4701559, US4639436, US5192772, US4634765, US5157116, US5504078, US5091418, US5217877, US51091 y WO01/47528 (poliaminas); inhibidores de α 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 se desvela en el documento US6548529; secretagogos de insulina tales como linoglitrida, A4166, forskolina, dibutiril AMPc, isobutylmetilxantina (IBMX) y sales y ésteres de los mismos farmacéuticamente aceptables; inhibidores de la oxidación de ácidos grasos, tales como clomoxir y etomoxir, y sales y ésteres de los mismos farmacéuticamente aceptables; antagonistas de A2, tales como midaglizol, isaglidol, deriglidol, idazoxán, eaoxán y fluparoxán y sales y ésteres de los mismos farmacéuticamente aceptables; insulina y compuestos relacionados (por ejemplo, miméticos de insulina) tales como biota, LP-100, novarapid, insulina detemir, insulina lispro, insulina glargina, suspensión de cinc con insulina (lenta y ultralenta), insulina Lys-Pro, GLP-1 (1-36) amida, GLP-1 (73-7) (insulinotropina, desvelada en el documento US614492), LY-315902 (Lilly), GLP-I (7-36)-NH₂, AL-401 (Autoimmune), determinadas composiciones como se desvela en los documentos US4579730, US4849405, US4963526, US5642868, US5763396, US5824638, US5843866, US6153632, US6191105, y WO 85/05029 e insulina de primates, roedores o conejos incluyendo variantes biológicamente activas de los mismos incluyendo variantes alélicas, más preferentemente insulina humana disponible en forma recombinante (fuentes de insulina humana incluyen formulaciones estériles y farmacéuticamente aceptables tales como las disponibles en Eli Lilly (Indianápolis, Ind. 46285) como Humulin™ (origen ADN de insulina humana), véase también THE PHYSICIAN'S DESK REFERENCE, 55.sup.th Ed. (2001) Medical Economics, Thomson Healthcare (que desvela otras insulinas humanas adecuadas); no tiazolidinodionas tales como JT-501 y farglitazar (GW-2570/GI- 262579), y sales y ésteres de los mismos farmacéuticamente aceptables; agonistas duales de PPAR α/γ tales como AR- HO39242 (Aztazeneca), GW-409544 (Glaxo-Wellcome), BVT-142, CLX-0940, GW-1536, GW-1929, GW-2433, KRP- 297 (Kyorin Merck; 5-[(2,4-dioxotiazolidinil)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.º 09/664,598, presentada del 18 de septiembre de 2000, Murakami *et al.* Diabetes 47, 1841-1847 (1998), y sales y ésteres de los mismos farmacéuticamente aceptables; otros fármacos sensibilizadores de insulina; agonistas de receptores de VPAC2; moduladores de GLK tales como los desvelados en el documento WO03/015774; moduladores retinoideos tales como los desvelados en el documento WO03/000249; inhibidores de GSK 3 β /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 la glucogeno fosforilasa (HGLPa) tales como CP-368,296, CP-316,819, BAYR3401, y los compuestos desvelados en los documentos WO01/94300, WO02/20530, WO03/037864, y sales o ésteres de los mismos farmacéuticamente aceptables; promotores de consumo de ATP tales como los desvelados en el documento WO03/007990; inhibidores de TRB3; ligandos de receptores vaniloides 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 la 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 1 de unión a ADN sensible a insulina (IRDBP-1) 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 δ tales como GW 501516, GW 590735, y los compuestos desvelados en los documentos JP10237049 y WO02/14291; inhibidores de dipeptidil peptidasa IV (DP-IV), tales como isoleucina tiazolidida, NVP-DPP728A (1-[[[2-[(5-cianopiridin-2-il)amino]etil]amino]acetil]-2-ciano-(S)-pirrolidina, desvelada por 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), valina pirrolidida, inhibidores de TMC-2A/2B/2C, CD-26, FE999011, P9310/K364, VIP 0177, DPP4, DTZ 274-444, 2-cianopirrolididas y 4-cianopirrolidida como se desvela en Ashworth *et al.* Bioorg. & Med. Chem. Lett., Vol. 6, No. 22, pp 1163-1166 y 2745-2748 (1996), y los compuestos desvelados en los documentos US6395767, US6573287, US6395767 (los compuestos desvelados incluyen BMS-477118, BMS-471211 and BMS 538,305). WO99/38501, WO99/46272, WO99/67279, WO99/67278, WO99/61431 WO03/004498, WO03/004496, EP1258476, WO02/083128, WO02/062764, WO03/000250, WO03/002530, WO03/002531, WO03/002553, WO03/002593, WO03/000180, y WO03/000181; agonistas de GLP-I tales como exendina-3 y exendina-4 (incluyendo la exendina-4 sintética, un polipeptido de 39 aa, denominada Exenatide®) y los compuestos desvelados en los documentos US2003087821 y NZ 504256, y sales y ésteres de los mismos farmacéuticamente aceptables; péptidos que incluyen amlintida y Symlin® (acetato de pramlintida); y activadores de glicoquinasa tales como los desvelados en el documento US2002103199 (compuestos heteroaromáticos condensados) y el documento WO02/48106 (compuestos de propionamida isoindolín-1-ona-sustituidos).

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 FDE son aquellos compuestos que desaceleran la degradación del AMP cíclico (AMPc) y/o GMP cíclico (GMPc) por inhibición de las fosfodiesterasas, lo que puede conducir a un aumento relativo en la concentración de AMPc y/o GMPc intracelular. Los posibles inhibidores de FDE son principalmente aquellas sustancias que se enumeran entre la clase que consiste en inhibidores de FDE3, la clase que consiste en inhibidores de FDE4 y/o la clase que consiste en inhibidores de FDE5, en particular aquellas sustancias que pueden designarse como tipos mixtos de inhibidores de FDE3/4 o como tipos mixtos de inhibidores de FDE3/4/5. Como ejemplo, pueden mencionarse inhibidores de FDE tales como se describe y/o reivindica 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, EP0075436, 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.º 4.963.561, 5.141.931, 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, DE1116676, DE2162096, EP0293063, EP0463756, EP0482208, EP0579496, EP0667345 US6.331.543, US20050004222 (incluyendo los desvelados en las fórmulas I-XIII y en los párrafos 37-39, 85-0545 y 557-577) y en los documentos WO9307124, EP0163965, EP0393500, EP0510562, EP0553174, WO9501338 y WO9603399. Son ejemplos de inhibidores de FDE5 que pueden mencionarse RX-RA-69, SCH-51866, KT-734, vesnarinona, zaprinast, SKF-96231, ER-21355, BF/GP-385, NM-702 y sildenafil (Viagra®). Son ejemplos de inhibidores de FDE4 que pueden mencionarse RO-20-1724, MEM 1414 (R1533/R1500; Pharmacia Roche), DENBUFILINA, ROLIPRAM, OXAGRELATO, NITRACUAZONA, Y-590, DH-6471, SKF-94120, MOTAPIZONA, LIXAZINONA, INDOLIDÁN, 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, CUAZINONA y N-(3,5-dicloropirid-4-il)-3-ciclopropilmetoxi-4-difluorometoxibenzamida. Son inhibidores de FDE3 que pueden mencionarse como ejemplo SULMAZOL, AMPIZONA, CILOSTAMIDA, CARBAZERÁN, PIROXIMONA, IMAZODÁN, CI-930, SIGUAZODÁN, ADIBENDÁN, SATERINONA, SKF-95654, DTZ-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 FDE3/4 que pueden mencionarse como ejemplo BENAFENTRINA, TREQUINSÍN, ORG-30029, ZARDAVERINA, L-686398, DTZ-ISQ-844, ORG-20241, EMD-54622 y TOLAFENTRINA. Otros inhibidores de FDE incluyen: cilomilast, pentoxifilina, roflumilast, tadalafil (Cialis®), teofilina y vardenafil (Levitra®), zaprinast (específico de FDE5).

Agentes anti-contracciones uterinas

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

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 antraciclina, agentes de mostaza de 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 con terapias de anticuerpos monoclonales.

Agentes para tratar la insuficiencia cardiaca congestiva

Los péptidos GCRA descritos en el presente documento pueden usarse en terapia de combinación (por ejemplo, en la prevención/tratamiento de la insuficiencia cardiaca congestiva u otro método descrito en el presente documento) con el agonista parcial del receptor de nociceptina ORL1 descrito por 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)-NH₂ ("el polipéptido de Dooley") en la que los paréntesis muestran la variación admisible de los restos de aminoácido. Por tanto el polipéptido de Dooley puede incluir, pero sin limitación, KYRWR (SEC ID N°: 109), RYYRWR (SEC ID N°: 110), KWRYYR (SEC ID N°: 111), RYYRWK (SEC ID N°: 112), RYYRWK (todos D aminoácidos) (SEC ID N°: 113), RYYRIK (SEC ID N°: 114), RYYRIR (SEC ID N°: 115), RYYKIK

(SEC ID N°: 116), RYYKIR (SEC ID N°: 117), RYYKWR (SEC ID N°: 118), RYYKWK (SEC ID N°: 119), RYYRWR (SEC ID N°: 120), RYYRWK (SEC ID N°: 121), RYYRIK (SEC ID N°: 122), RYYKWR (SEC ID N°: 123), RYYKWK (SEC ID N°: 124), RYYRWK (SEC ID N°: 125) y KYRWK (SEC ID N°: 126), estando los restos de aminoácido en la forma L salvo que se especifique de otra manera. 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.

Dosificación

Los niveles de dosificación de los principios activos en una composición farmacéutica también pueden modificarse para conseguir una concentración transitoria o sostenida del compuesto en un sujeto, especialmente en el sitio de inflamación, o alrededor del mismo, o en la zona de la enfermedad, y producir la respuesta deseada. Se encuentra bien dentro de la experiencia en la técnica comenzar la dosis del compuesto a niveles más bajos de los necesarios para conseguir el efecto deseado y aumentar gradualmente la dosificación hasta obtener el efecto deseado. Se entenderá que el nivel de dosis específico para cualquier sujeto particular dependerá de diversos factores, incluyendo el peso corporal, la salud general, la alimentación, el historial natural de la enfermedad, la vía y el régimen de administración, la combinación con uno o más fármacos distintos y la gravedad de la enfermedad.

Una dosificación eficaz de la composición generalmente estará entre aproximadamente 1 μm y aproximadamente 10 mg por kilogramo de peso corporal, preferentemente entre aproximadamente 10 μg a 5 mg del compuesto por kilogramo de peso corporal. Los ajustes en la dosificación se realizarán usando métodos que son habituales en la técnica y dependerán de la composición particular que vaya a usarse y teniendo en cuenta aspectos clínicos.

Los agonistas de receptores de guanilato ciclase usados en los métodos descritos anteriormente pueden administrarse por vía oral, sistémica o local. Las formas de dosificación incluyen preparaciones para inhalación o inyección, soluciones, suspensiones, emulsiones, comprimidos, cápsulas, pomadas tópicas y lociones, composiciones transdérmicas, otras formulaciones conocidas con péptidos y análogos peptídicos pegilados. Los 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 deben administrarse a una dosificación que sea terapéuticamente eficaz usando la técnica existente como una orientación. Los fármacos pueden administrarse en una sola composición o secuencialmente.

Generalmente, los niveles de dosificación de los agonistas de GCR para su uso en los métodos de la invención son 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. Basándose en una dosis diaria de mg/kg, proporcionada en una sola dosis o en dosis divididas, las dosificaciones varían generalmente de aproximadamente 0,001/75 mg/kg a aproximadamente 10.000/75 mg/kg, preferentemente de 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 sola dosis o en subdosis múltiples. Generalmente, las subdosis pueden administrarse de dos a seis veces al día, preferentemente de dos a cuatro veces al día, e incluso más preferentemente de dos a tres veces al día. Las dosis pueden estar en forma de liberación inmediata o en forma de liberación sostenida para obtener, de manera suficientemente eficaz, el control deseado sobre la afección médica.

El régimen de dosificación para prevenir, tratar, aliviar o mejorar una afección o un trastorno médico, o proteger, de otra manera, contra una afección médica, o tratarla, con las combinaciones y composiciones de la presente invención, se selecciona de acuerdo con diversos factores. Estos factores incluyen, pero sin limitación, el tipo, la edad, el peso, el género, la dieta y la afección médica del sujeto, la gravedad de la enfermedad, la vía de administración, las cuestiones farmacológicas, tales como la actividad, eficacia, perfiles farmacocinéticos y toxicológicos de los inhibidores particulares empleados, de si se utiliza un sistema de liberación de fármacos y de si los inhibidores se administran con otros principios activos. Por tanto, el régimen de dosificación realmente empleado puede variar en gran medida y por lo tanto apartarse del régimen de dosificación preferido expuesto anteriormente.

Ejemplos

Ejemplo 1: SÍNTESIS Y PURIFICACION DE PÉPTIDOS GCRA

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

En cada caso el péptido GCRA se inició usando una resina Wang (Fmoc) o Merrifield (Boc) o Pam (Boc) previamente cargada. Para productos con Leu en C-terminal, la resina fue Fmoc-Leu-Wang (D-1115) o Boc-Leu-Pam (D-1230) o Boc-Leu-Merrifield (D-1030). Por tanto, para péptidos que contienen d-Leu en C-terminal, la resina

fue resina Fmoc-dLeu-Wang (D- 2535) y Boc-dLeu-Merrifield, Boc-dLeu-Pam (Producto Bachem D-1230 y D-1590, respectivamente) (SP-332 y análogos relacionados). Para péptidos producidos como amidas en C-terminal, se usó una resina con enlazador Ramage (Producto Bachem D-2200) (Fmoc) o mBHA (Boc) (Bachem Product D-1210) y se cargó con el resto C-terminal como la primera etapa sintética.

5

Visión general de Fmoc-tBu

Cada ciclo sintético consistió en la desprotección con piperidina al 20 % en DMF. Los lavados de la resina se realizaron con DMF e lPOH alternantes para aumentar y reducir la resina, respectivamente. La síntesis peptídica alargó la cadena desde el extremo C hasta el extremo N. La química de activación de cada aminoácido fue con HBTU/DIEA en un exceso cuádruple durante 45 minutos. En químicas automatizadas, cada aminoácido se acopló por duplicado para maximizar la eficacia del acoplamiento. Para garantizar la correcta posición de los enlaces disulfuro, los restos de Cys se introdujeron como Cys(Acm) en las posiciones 15 y 7. La Cys (Trt) se colocó en Cys4 y Cys12. 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)).

Para péptidos que contenían grupos Aeea (aminoetiloxietiloxiacetilo) en C-terminal, estos se acoplaron a un enlazador amida de Ramaje usando la misma química de activación anterior usando un derivado de Aeea protegido con Fmoc. La numeración de los restos de Cys en estos casos sigue siendo la misma así como la colocación de los grupos protectores. Para los péptidos que contienen la extensión N-terminal de Aeea, la numeración de los restos de Cys aumentará en tres, Cys4 pasa a Cys7, Cys12 pasa a Cys15; Cys7 pasa a Cys10 y Cys 15 pasa a Cys18. El último par se protege con Acm y el primero mantiene los grupos Trt.

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

Cada péptido se escindió del soporte de la fase solida usando un cóctel de escisión de TFA:H₂O:Triisopropilsilano (8.5:0.75:0.75) ml/g de resina durante 2 horas a TA. El péptido en bruto desprotegido se filtró para retirar las perlas de resina gastadas y se precipitó en dietiléter enfriado con hielo.

Cada enlace disulfuro se introdujo ortogonalmente. En resumen, el producto sintético en bruto se disolvió en agua que contenía NH₄OH para aumentar el pH a 9. Después de la solubilización completa, el enlace disulfuro se efectuó entre los restos de Cys desprotegidos con Trt ajustando la dosis con H₂O₂. El producto monocíclico se purificó mediante RP-HPLC. El producto monocíclico purificado se trató posteriormente con una solución de yodo para retirar simultáneamente los grupos protectores Acm e introducir el segundo enlace disulfuro.

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

Después, cada producto se purificó mediante RP-HPLC usando un sistema de tampón de combinación de TEAP en H₂O frente a MeCN, seguido por TFA en H₂O frente MeCN. Las fracciones altamente puras se combinaron y se 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 base con NH₄OAc seguido de AcOH al 1 % en agua frente a MeCN.

También es posible preparar análogos de enterotoxina usando una metodología de oxidación al azar usando Cys(Trt) en Fmoc o Cys(MeB) en Boc. Después de la escisión, los encales disulfuro pueden formarse usando pares redox de intercambio disulfuro tales como glutatión (red/ox) y/o cisteína/cistina. Este proceso dará lugar a un producto plegado a determinar por los pares disulfuro al no haber manera de conocer su posición directamente.

Proceso Boc-Bzl

55

La síntesis peptídica se inició en una resina Merrifield o Pam previamente cargada o con mBHA para péptidos producidos como aminas en C-terminal. Cada ciclo sintético consistía en una etapa de desprotección con TFA al 50 % en MeCL₂. La resina se lavó repetidamente con MeC12 y MeOH. La sal TFA formada se neutralizó con un lavado base de TEA al 10 % en MeC12. La resina se lavó con MeC12 y MeOH y finalmente con DMF antes de realizar las etapas de acoplamiento. Se efectuó un ensayo colorimétrico para garantizar la desprotección. Cada acoplamiento se realiza con la mediación de diisopropil carbodiimida con HOBt para formar el éster activo. Cada acoplamiento se dejó continuar durante 2 horas a TA o durante una noche en acoplamientos difíciles. Los reacoplamientos se efectuaron con cualquiera de los reactivos de uronio o fosfonio hasta obtener un ensayo colorimétrico negativo para las aminas primarias libres. La resina se lavó después con DMF, MeC12 y MeOH y se preparó para la siguiente etapa de fase sólida. La protección de Cys utiliza Cys(Acm) en las posiciones 7 y 15, y Cys(MeB) en Cys4 y Cys12.

65

La escisión y desprotección simultánea se realizó mediante tratamiento con HF usando anisol como un aceptor (9:1:1) ml:ml:g (resina) a 0 °C durante 60 min. Posteriormente el péptido se extrajo de la resina y se precipitó en éter enfriado con hielo. La introducción de enlaces disulfuro y la purificación siguieron exactamente el mismo protocolo descrito anteriormente para el producto producido con Fmoc.

5 **Ejemplo 2: ESTABILIDAD PROTEOLÍTICA *IN VITRO* USANDO DIGESTIÓN CON FLUIDO GÁSTRICO SIMULADO (FGS)**

10 Se determinó la estabilidad de SP-304 en presencia de fluido gástrico simulado (FGS). El péptido SP-304 se incubó (concentración final 8,5 mg/ml) en FGS (peptona proteosa (8,3 g/litro; Difco), D-Glucose (3,5 g/litro; Sigma), NaCl (2,05 g/litro; Sigma), KH_2PO_4 (0,6 g/litro; Sigma), CaCl_2 (0,11 g/litro), KCl (0,37 g/litro; Sigma), bilis porcina (concentración final 1 X 0,05 g/litro; Sigma) en PBS, Lisozima (concentración final 1 X 0,10 g/litro; Sigma) en PBS, pepsina (concentración final 1 X 0,0133 g/litro; Sigma) en PBS). El FGS se preparó el día del experimento y el pH se ajustó a $2,0 \pm 0,1$ usando HCl o NaOH según fuera necesario. Después de ajustar el pH, el FGS se esterilizó por
15 filtración con filtros de membrana de 0,22 μm . El SP-304 (concentración final de 8,5 mg/ml) se incubó en FGS a 37 °C durante 0, 15, 30, 45, 60 y 120 min, respectivamente, en partes alícuotas por triplicado. Después de las incubaciones, las muestras se congelaron instantáneamente en nieve carbónica y después se conservaron en un congelador a -80 °C hasta su ensayo por duplicado.

20 La Figura 1A es un gráfico de barras que muestra la actividad biológica de SP-304 después de incubación con FGS durante los tiempos que se indican. Como 100 % se tomó la actividad al minuto 0. Los datos son un promedio de triplicados $\pm$ DT para cada punto de dato. Los datos demuestran que el SP-304 no es sensible a digestión con FGS. Además, los datos también sugieren que la actividad de SP-304 no se ve afectada por la exposición al pH ácido del FGS.

25 Estos resultados se confirmaron adicionalmente mediante análisis HPLC de las muestras después de digestión con FGS. En este caso, se analizaron partes alícuotas de muestras de todas las digestiones usando un método previamente desarrollado para analizar el péptido SP-304 usando HPLC. Las muestras de las digestiones con FGS se diluyeron para dar una concentración final de 0,17 mg/ml de SP-304. La Figura 1B muestra cromatografías de
30 HPLC de muestras SP-304 después de incubación con FGS en los tiempos indicados. El pico principal de SP-304 no cambió después de digestión con FGS, lo que indicaba que el péptido era resistente a digestión con FGS.

Ejemplo 3: ESTABILIDAD PROTEOLÍTICA *IN VITRO* USANDO FLUID DIGESTIÓN CON FLUIDO INTESTINAL SIMULADO (FIS)

35 La estabilidad de SP-304 también se evaluó después de incubación con fluido intestinal simulado (FIS). La solución FIS se preparó mediante el método que se describe en la farmacopea de Estados Unidos 24ª edición, p2236. La receta para preparar la solución FIS fue la descrita más adelante. La solución FIS contenía NaCl (2,05 g/litro; Sigma), KH_2PO_4 (0,6 g/litro; Sigma), CaCl_2 (0,11 g/litro), KCl (0,37 g/litro; Sigma), y Pcreatina 10 mg/ml. El pH se
40 ajustó a 6 y la solución se esterilizó por filtración. Se incubó una solución de SP-304 (8,5 mg/ml) en FGS a 37 °C durante 0, 30, 60, 90, 120, 150 y 300 minutos respectivamente, en parte alícuotas por triplicado. Después de las incubaciones, las muestras se retiraron y se congelaron instantáneamente con nieve carbónica y se conservaron en un congelador a -80 °C hasta su ensayo por duplicado. La Figura 2A es un gráfico de barras que muestra la capacidad de SP-304, después de incubación en FIS durante los tiempos indicados, para estimular la síntesis de
45 GMPc en células T84. La actividad de estimulación de GMPc a los 0 minutos se tomó como el 100 %. Los datos son un promedio de 3 triplicados $\pm$ DT. Los datos indican que la actividad biológica de SP-304 se reduce en un 30 % después de digestión con FIS. Esto puede deberse a la degradación del péptido. Por tanto, después de la digestión con FIS las muestras se analizaron adicionalmente mediante HPLC.

50 La integridad del péptido SP-304 expuesto a FIS se evaluó mediante HPLC esencialmente usando el método descrito para la digestión con FGS. La Figura 2B es una representación esquemática de los resultados de los análisis cromatográficos con HPLC de muestras SP-304 después de incubación con FIS termoinactivado durante 300 min y con FIS durante 120 min., respectivamente. El pico principal de SP-304, que eluye a 16,2 min. se convirtió en otro pico a los 9,4 min y en algunos picos peptídicos minoritarios. Por tanto, fue importante encontrar estructuras
55 de los metabolitos de SP-304 producidos después de la digestión con FIS. El péptido SP-304 se incubó con FIS durante varios tiempos y los productos de la digestión peptídica se aislaron y se sometieron a análisis estructural mediante análisis de EM.

La Figura 3 es una representación esquemática de los posibles metabolitos de SP-304. Los productos de
60 degradación principales implican N y D desprendidos del extremo N y L del extremo C de SP-304. Sin embargo, solo hubo una reducción del 30 % en la actividad biológica, lo que implica que uno o más productos de la degradación también eran biológicamente activos. Para abordar esta posibilidad, se sintetizaron diversos péptidos truncados y se evaluó la capacidad de estos para estimular la síntesis de GMPc en células T84 (Figura 4).

65 La Figura 4 muestra datos de los análisis de diversos péptidos en el ensayo de estimulación de GMPc en células T84 (esencialmente como se describe en Shailubhai, et al., Cancer Research 60, 5151-5157 (2000). En resumen,

monocapas confluentes de células T-84 placas de 24 pocillos se lavaron dos veces con 250 µl de DMEM que contenía HEPES 50 mM (pH 7,4) y se preincubó a 37 °C durante 10 minutos con 250 µl de DMEM que contenía HEPES 50 mM (pH 7,4) e isobutil metilxantina (IBMX) 1 mM. Las monocapas de células T84 se incubaron después con 250 µm de DMEM que contenía HEPES 50 mM (pH 7,4) que contenía uno de los péptidos mostrados en la

Figura 4 a una concentración de 1,0 µM durante 30 min. Después de 30 min de incubación, el medio se aspiró y la reacción concluyó con la adición de ácido perclórico al 3 %. Después de la centrifugación y de la adición de NaOH (0,1 N) para neutralizar el pH, se determinaron los niveles de GMPc intracelular en los lisados usando un kit de ELISA para GMPc (Cat. No. 581021; Cayman Chemical, Ann Arbor, MI). Las muestras se procesaron en incubaciones por duplicado y cada muestra se procesó como duplicados en un ensayo de ELISA.

Los datos sugieren que el resto de leucina (L) en el extremo C de SP-304 contribuye a conferir fuerza biológica al péptido. Por ejemplo, hubo una reducción considerable de la fuerza al eliminar la L de SP-304, al igual que de SP-338. De manera similar, los péptidos SP-327, SP-329 y SP-331, sin la L en el C terminal, también mostraron una reducción del 20-25 % en la fuerza biológica en comparación con sus péptidos homólogos con una L en el extremo C, al igual que ocurría en SP-326, SP-328 y SP-330. Además, los resultados también sugieren que los restos de aminoácido en el extremo N deberían ser también importantes para conferir estabilidad y/o fuerza a los péptidos. Basándose en estos resultados, se sintetizaron diversos péptidos nuevos con formas D de aminoácidos reemplazando las formas L correspondientes y los extremos C y N de los péptidos. Estos péptidos se evaluaron con respecto a su capacidad para estimular la síntesis de GMPc en células T-84 como se muestra en la Figura 5.

Los resultados presentados en la Figura 5 sugieren que la sustitución de L-aminoácidos por D-aminoácidos en los extremos C y N no altera su fuerza de manera significativa. Los péptidos SP-332, SP-333 y SP-335 mostraron una capacidad comparable para estimular la síntesis de GMPc en células T-84. Por otro lado, la sustitución de L-leucina por D-leucina en la 6ª posición en SP-337, da como resultado una pérdida completa en cuanto a su capacidad para estimular la síntesis de GMPc en células T-84. Estos resultados sugieren que los restos de aminoácidos Asn, Asp y Glu en el extremo N y Leu en el extremo C pueden reemplazarse por sus formas de aminoácidos respectivas. Sin embargo, la leucina en la 6ª posición no puede reemplazarse por su forma D.

La Figura 7 (A-F) muestra las estabildades de los péptidos SP-332, SP-333 y SP-304 cuando se incuban con FIS durante dos horas. Los resultados demuestran que el péptido SP-333, que tiene D-Asn en el extremo N y D-Leu en el extremo C, era prácticamente resistente por completo a digestión con FIS (Figura 7F), y permaneció prácticamente el 100 % activo, desde el punto de vista biológico, a las 2 horas de incubación en FIS (Figura 7A). El péptido SP-332 con D-Leu en el extremo C mostró alguna reducción en la fuerza tras una incubación de 120 min con FIS (Figura 7B). Sin embargo, el análisis por HPLC de SP-332 no reveló ninguna degradación del péptido (Figura 7E), lo que sugiere que estos péptidos son completamente resistentes a la proteólisis por FIS. Por otro lado, el péptido SP-304 pierde aproximadamente el 30 % de su fuerza después de digestión con FIS durante tan solo una hora (Figura 7C). El análisis de SP-304 después de incubación con FIS, confirmó su degradación (Figura 7D). Estos resultados sugieren que el péptido SP-304 experimenta proteólisis después de incubación con FIS, mientras que la sustitución de L-Asn por D-Asn en el extremo N más la sustitución de L-Leu por D-Leu en el extremo C protege a SP-333 contra digestión con FIS. Por tanto, el péptido SP-333 parece ser más estable y fuerte como un candidato farmacológico.

Ejemplo 4: ENSAYOS DE ESTIMULACIÓN DE GMPc CÍCLICO

La capacidad del péptido GCRA para unirse al receptor de GC-C intestinal y activarlo, se ensayó usando la línea de células T-84 de carcinoma de colon humano. Las células de carcinoma de colon humano T84 se obtuvieron en la colección americana de cultivos tipo. Las células se cultivaron en una mezcla de medio de Ham F-12 y medio de Eagle modificado por Dulbecco (DMEM) a una relación de 1:1 complementada con suero bovino fetal al 10 %, 100 U de penicilina/ml, y 100 µg/ml de estreptomycin. Las células recibían medio reciente cada tres días y se dividían a una confluencia de aproximadamente 80 %.

La actividad biológica de los péptidos GCRA se ensayó como se indica en publicaciones anteriores (Shailubhai, et al., Cancer Research 60, 5151-5157 (2000)). En resumen, las monocapas confluentes de células T-84 en placas de 24 pocillos se lavaron dos veces con 250 µl de DMEM que contenía HEPES 50 mM (pH 7,4), se preincubaron a 37 °C durante 10 min con 250 µl de DMEM que contenía HEPES 50 mM (pH 7,4) e isobutilmetilxantina (IBMX) 1 mM, seguido por incubación con los péptidos GCRA (0,1 nM a 10 µM) durante 30 min. El medio se aspiró y la reacción concluyó con la adición de ácido perclórico al 3 %. Después de la centrifugación y de la neutralización con NaOH 0,1 N, el sobrenadante se usó directamente para realizar mediciones de GMPc usando un kit de ELISA (Cayman Chemical, Ann Arbor, Mich.).

La Figura 6 muestra que los resultados de los experimentos que evalúan la fuerza de los péptidos son similares a los del péptido ST de enterotoxina de *E. coli* en el ensayo de estimulación de GMPc (como se ha indicado anteriormente). Entre estos, se descubrió que, los péptidos SP-353 y SP-354, eran muy potentes estimulando la síntesis de GMPc en células T84. Particularmente, se descubrió que el péptido SP-353, que tiene el resto de Ser en la 6ª posición, era el péptido con más fuerza entre los péptidos ensayados. El péptido SP-355, que tenía D-Tyr en el

extremo C, mostró una fuerza notablemente menor que la de los otros péptidos.

Ejemplo 5: PÉPTIDOS PEGILADOS

- 5 Una estrategia adicional para dar péptidos más resistentes a la digestión por proteasas digestivas es pegarlos (unir polietilenglicol) en los extremos N y C. El péptido SP-333 se pegiló con el grupo ácido aminoetiloxi-etiloacético (Aeea) en el extremo C (SP-347) o en el extremo N (SP-350) o en ambos extremos (SP-343). La síntesis de GMPc cíclico en las células T-84 se midió usando el método descrito anteriormente.
- 10 Los péptidos SP-347 y SP-350 mostraron fuerzas comparables a las del SP-333 en cuanto a su capacidad para estimular la síntesis de GMPc en células T-84. Sin embargo, el péptido SP-343 fue considerablemente menos fuerte en comparación con los otros péptidos ensayados. La escasa actividad de SP-343 podría deberse al impedimento estérico considerable proporcionado por los grupos Aeea grandes en ambos extremos.

15 Ejemplo 6: COMBINACIÓN DE AGONISTAS DE GUANILATO CICLASA CON INHIBIDORES DE FOSFORODIESTERASA

Se ha considerado que la regulación de concentraciones de nucleótidos cíclicos (es decir, AMPc y GMPc) intracelulares y por tanto, la vía de señalización de estos mensajeros secundarios, generalmente está regida por sus 20 tasas de producción frente a sus tasas de destrucción en las células. Por tanto, los niveles de GMPc en tejidos y órganos también pueden regularse a través de los niveles de expresión de fosfodiesterasas específicas de GMPc (FDE-GMPc), que generalmente se sobreexpresan en cáncer y en enfermedades inflamatorias. Por lo tanto, una combinación que consiste en un agonista de GC-C con un inhibidor de FDE-GMPc podría producir un efecto sinérgico sobre los niveles de GMPc en los tejidos y órganos diana.

25 Sulindac Sulfona (SS) y Zaprinast (ZAP) son dos de los inhibidores de FDE-GMPc conocidos y se ha demostrado que inducen la apoptosis en células cancerosas mediante un mecanismo dependiente de GMPc. SS y ZAP en combinación con SP-304 o SP-333 se evaluó para ver si estos inhibidores de FDE tenían algún efecto sinérgico sobre la acumulación de GMPc intracelular (Fig. 9-12). Como muestran los datos, SS a una concentración de 10 μ M no aumentó la acumulación de GMPc intracelular. Sin embargo, la combinación de SS con SP-304 estimuló la 30 producción de GMPc varias veces más en comparación con la estimulación con SP-304 usada sola. Este efecto sinérgico sobre los niveles de GMPc era más pronunciado cuando se usaba SP-304 a una concentración de 0,1 μ M (Fig. 10). Se realizaron observaciones similares cuando SP-304 o SP-333 se usaban en combinación con ZAP (Fig 10, Fig 11 y Fig 12). Estos resultados sugieren que los niveles de GMPc intracelular se estabilizan debido a que SS 35 inhibe la FDE-GMPc lo cual sería la causa del empobrecimiento de GMPc intracelular. Por tanto, la estrategia de usar una combinación de agonista de GC-C con un inhibidor de FDE-GMPc es atractiva.

Para los resultados mostrados en la Figura 9, la síntesis de GMP cíclico en células T84 se evaluó esencialmente como se describe en Shailubhai et al., Cancer Research 60, 5151-5157 (2000). En resumen, monocapas confluentes 40 de células T84 en placas de 24 pocillos se lavaron dos veces con 250 μ l de DMEM que contenía HEPES 50 mM (pH 7,4) y se preincubaron a 37 °C durante 10 minutos con 250 μ l de DMEM que contenía HEPES 50 mM (pH 7,4) e isobutil-metilxantina (IBMX) 1 mM. Monocapas de células T84 se incubaron después con 250 μ l de DMEM que contenía HEPES 50 mM (pH 7,4) que contenía SP-304 o inhibidores de FDE en solitario o en combinaciones, como se indica más adelante en los siguientes conjuntos de experimentos: 1) Control; 2) SP-304 (0,1 μ M); 3) Sulindac 45 Sulfona (100 μ M); 4) Zaprinast (100 μ M); 5) SP-304 (0,1 μ M) + Sulindac Sulfona (100 μ M); y 6) SP-304 (0,1 μ M) + Zaprinast (100 μ M). Después de los 30 minutos de incubación, el medio se aspiró y la reacción concluyó con la adición de ácido perclórico al 3 %. Después de la centrifugación y de la adición de NaOH (0,1 N) para neutralizar el pH, se determinaron los niveles de GMPc intracelular en lisados usando un kit de ELISA para GMPc (Cat. N.º 581021; Cayman Chemical, Ann Arbor, MI). Las muestras se procesaron en incubaciones por duplicado y cada 50 muestra se procesó por duplicado en el ensayo ELISA.

Para los resultados mostrados en la Figura 10, el método usado fue el mismo que el usado para la Figura 9, excepto que las monocapas de células T84 se incubaron con 500 μ l de DMEM que contenía HEPES 50 mM (pH 7,4) que 55 contenía SP-304 (0,1 o 1,0 μ M) o concentraciones en aumento (de 0 a 750 μ M) de inhibidores de FDE, bien en solitario o en combinación con SP-304. Después de los 30 minutos de incubación, el medio se aspiró y la reacción concluyó con la adición de ácido perclórico al 3 %. Después de la centrifugación y de la adición de NaOH (0,1 N) para neutralizar el pH, se determinaron los niveles de GMPc intracelular en lisados usando un kit de ELISA para GMPc (Cat. N.º 581021; Cayman Chemical, Ann Arbor, MI). Las muestras se procesaron por triplicado en el ensayo 60 ELISA.

Para los resultados mostrado en la Figura 11, el método usado fue el mismo que el usado en la Figura 10, excepto que las monocapas de células T84 se incubaron con 500 μ l de DMEM que contenía HEPES 50 mM (pH 7,4) que 65 contenía SP-333 (0,1 o 1,0 μ M) o concentraciones en aumento (de 0 a 500 μ M) de ZAP, bien en solitario o en combinación con SP-333. Después de los 30 minutos de incubación, el medio se aspiró y la reacción concluyó con la adición de ácido perclórico al 3 %. Después de la centrifugación y de la adición de NaOH (0,1 N) para neutralizar el

pH, se determinaron los niveles de GMPc intracelular en lisados usando un kit de ELISA para GMPc (Cat. N.º 581021 ; Cayman Chemical, Ann Arbor, MI). Las muestras se procesaron por triplicado en el ensayo ELISA.

Para los resultados mostrados en la Figura 12, el método usado fue el mismo que el usado en la Figura 10, excepto que las monocapas de células T84 se incubaron con 500 µl de DMEM que contenía HEPES 50 mM (pH 7,4) que contenía SP-333 (0,1 µM) o concentraciones en aumento (de 0 a 500 µM) de Sulindac Sulfona, bien en solitario o en combinación con SP-333. Después de los 30 minutos de incubación, el medio se aspiró y la reacción concluyó con la adición de ácido perclórico al 3 %. Después de la centrifugación y de la adición de NaOH (0,1 N) para neutralizar el pH, se determinaron los niveles de GMPc intracelular en lisados usando un kit de ELISA para GMPc (Cat. N.º 581021 Cayman Chemical, Ann Arbor, MI). Las muestras se procesaron por triplicado usando el ensayo ELISA.

Ejemplo 7: ESTUDIO DE BÚSQUEDA DE INTERVALO DE TOXICIDAD ORAL EN MONOS CINOMOLGOS.

El objetivo de este estudio es determinar la toxicidad de los péptidos GCRA de acuerdo con la invención, después de una sola administración por sonda oral a monos cinomolgo y permitir evaluar la reversibilidad de cualquier cambio producido después de un periodo de observación/eliminación mínimo de 7 días. Cada péptido GCRA de acuerdo con la invención se proporcionará a dos niveles de dosis diferentes.

Diseño del experimento

El artículo de ensayo (por ejemplo, los péptidos CGRA de acuerdo con la invención) y el de control/vehículo se administrarán en tres fases separadas por un período de observación mínimo de 7 días. Cada fase consistirá en una sola administración por sonda oral a monos cinomolgo hembra como se indica más adelante en las tablas:

Fase 1:

Ocho hembras de monos cinomolgo no vírgenes se transfirieron desde la colonia de monos de reserva ITR y se asignaron a cuatro grupos de dosis de la siguiente manera:

Número de Grupo	Nombre del Grupo	Días de estudio	Nivel de la dosis (mg/kg)	Concentración de la dosis (mg/ml)	Volumen de la 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 finalizar la dosificación de la Fase 1, todos los monos se observaron durante 33 días. Tras finalizar el período de observación, todos los monos se transfirieron de nuevo a la colonia de monos de reserva ITR.

Fase 2:

Las mismas ocho hembras de monos cinomolgo no vírgenes que se utilizaron en la Fase 1, se transfirieron desde la colonia de monos de reserva ITR y se asignaron a cuatro grupos de dosis de la siguiente manera:

Número de Grupo	Nombre del Grupo	Días de estudio	Nivel de la dosis (mg/kg)	Concentración de la dosis (mg/ml)	Volumen de la 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 finalizar la dosificación de la Fase 2, todos los monos se observaron durante un mínimo de 7 días.

Vía de Administración

Se seleccionó la vía de administración oral porque es una vía terapéutica preferida para seres humanos.

Preparación de los artículos de ensayo y de control/vehículo

Los artículos de ensayo y de control/vehículo se prepararon recientes el día de la dosificación en agua destilada fría (conservada en un baño de agua helada). Para obtener la concentración deseada se añadió una cantidad suficiente de artículo de ensayo en polvo a la cantidad apropiada de agua destilada. Las formulaciones de la dosis se mezclaron mediante inversión simple.

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

Para una posible confirmación de la concentración y estabilidad del artículo de ensayo en las formulaciones, el primer día de la dosificación de cada grupo, se tomaron muestras representativas de la mitad de cada concentración, incluyendo el artículo de control/vehículo, como se indica más adelante. Las muestras se recogieron el Día 1, inmediatamente después de la preparación y de nuevo después de finalizar la dosificación de ese día y se conservaron congeladas (a una temperatura nominal de aproximadamente -80 °C) en viales con tapa de rosca de 20 ml. Por lo tanto, los viales con la formulación de las dosis restantes se llevaron al Departamento de Farmacia tan pronto como fue posible después de finalizar la dosificación.

Grupo 1: 1,5 ml por duplicado desde la mitad el Día 1 (predosis y postdosis),
 Grupo 2: 1,5 ml por duplicado desde la mitad el Día 1 (predosis y postdosis),
 Grupo 3: 1,5 ml por duplicado desde la mitad el Día 1 (predosis y postdosis),
 Grupo 4: 1,5 ml por duplicado desde la mitad el Día 1 (predosis y postdosis),

Durante todos los procedimientos de muestreo las formulaciones se conservaron enfriadas en un baño de agua helada.

Antes de realizar el muestreo, las formulaciones se agitaron de manera continuada con una barra agitadora durante un tiempo mínimo de 15 minutos.

Las muestras se conservaron congeladas (a una temperatura nominal de aproximadamente -80 °C) en la ITR hasta ser requeridas por el patrocinador para enviar al laboratorio, designado por el mismo, para su análisis. Las muestras pueden desecharse una vez que el Analista y el Director del estudio determinen que ya no van a necesitarse. El estado de las muestras se registrará en los datos originales.

Si se analizan, el Investigador principal (analista de la Formulación) preparará un informe de Formulación de Dosis y se proporcionará al ITR para su inclusión en el informe final.

Sistema de ensayo

Especie/Cepa:	Mono cinomolgo (<i>Macaca fascicularis</i>)
Fuente:	Primates del viejo mundo Inc., P.O. Box 971279 Miami, Florida, 33187, USA y Covance Research Products Inc. Código Postal 549 Alice, Texas, 78333, USA
N.º Total de monos del estudio:	8 hembras no vírgenes
Intervalo de peso corporal:	2-4 kg al comenzar el tratamiento
Intervalo de edad al inicio:	Adultos jóvenes al comenzar el tratamiento
Período de aclimatación:	Los animales se transfirieron desde la colonia de monos de reserva ITR. Y por lo tanto, se consideró que estaban completamente aclimatados al entorno del laboratorio.

Los intervalos reales de edad y peso corporal se registrarán en el informe final.

Administración de los artículos de ensayo y de control/vehículo

Los artículos de ensayo y de control/vehículo se administrarán por sonda oral usando un tubo de sonda acoplado a una jeringa en tres fases separadas por un periodo de observación/eliminación mínimo de 7 días. Cada sesión de dosificación consistirá en una sola administración por sonda oral. El tubo de sonda se purgará con 3 ml de agua de ósmosis inversa inmediatamente después de la administración de la formulación de la dosis para estar seguros que todo el volumen de la dosis se haya administrado al animal. En todos los animales, el volumen de la dosis será de 10 ml/kg, 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.

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

Las formulaciones de dosificación deben colocarse en una placa agitadora durante mínimo de 15 minutos antes de iniciar la dosificación y deben mantenerse en la placa agitadora a lo largo del procedimiento de dosificación.

Las formulaciones de dosificación deben usarse a las 2 horas de la preparación.

Observaciones clínicas

- 5 Los indicios clínicos en el laboratorio (empeoramiento de la salud, cambios conductuales, etc.) se registrarán como se indica más adelante, excepto los días en los que se realiza un examen clínico detallado, en el que los indicios clínicos realizados en el laboratorio por la mañana, se reemplazarán por un examen clínico detallado (ECD). Durante los exámenes de los indicios clínicos regulares y detallados, realizados en el laboratorio, se pondrá especial atención a las heces con respecto a la cantidad de heces producidas, descripción de las mismas, etc.
- 10 Los síntomas clínicos realizados en el laboratorio, se efectuarán de la siguiente manera:
- Durante el período de tratamiento previo y durante los periodos de observación de 7 días (mínimo): tres veces al día con un mínimo de 3 horas entre cada acontecimiento.
- 15 El día de la dosificación de la Fase 1: predosis, 2, 4, 6, 8 y 24 horas postdosificación
- El día de la dosificación de la Fase 2: predosis, continuamente durante las 4 primeras horas postdosis y a las 6, 8 y 24 horas postdosificación
- 20 El día de la dosificación de la Fase 3: predosis, continuamente durante las 4 primeras horas de postdosis y a las 6, 8 y 24 horas postdosificación
- 25 Se realizará un examen clínico detallado de cada mono una vez en el momento de transferir al animal y una vez a la semana después de esto.
- Un veterinario clínico o un técnico, bajo la supervisión del mismo, evaluará a aquellos animales que, por su estado de salud, se considere justificado evaluar de manera adicional. Cualquiera de los tratamientos recomendados por el veterinario se realizará solo una vez que se haya obtenido el consentimiento del director del estudio. Cuando sea posible, antes de efectuar la administración de los fármacos terapéuticos, se consultará al Patrocinador.
- 30 Los pesos corporales de todos los animales se registrarán una vez al día, desde el día en que se transfieren hasta el final del estudio.
- 35 El consumo de los alimentos de todos los animales se registrará una vez al día, desde el día en que se transfieren hasta el final del estudio.
- Las jaulas se limpiarán antes de iniciar el consumo diario de los alimentos, para garantizar que no quedan restos de galletas en la jaula. Los monos consumirán 7 galletas antes de las 12 pm y 7 galletas después de las 12 pm. Se registrará la suma del número total de galletas proporcionadas al día.
- 40 A la mañana siguiente, se realizará una comprobación visual para ver cuántas galletas se dejan en la jaula. Se registrará el número de galletas enteras que quedan en la tolva o en la bandeja de alimentación. Para calcular el número de galletas comidas, el número de galletas enteras que quedan se restará del número total de galletas proporcionadas.
- 45

Ejemplo 8: MODELO DE SECRECIÓN INTESTINAL EN RATÓN LACTANTE (ENSAYO SUMI, por las siglas del inglés *Suckling Mouse Mode of Intestinal Secretion*)

- 50 La capacidad de los péptidos GCRA descritos en el presente documento para aumentar la secreción intestinal puede ensayarse usando un modelo de secreción intestinal en ratones lactantes. En este modelo, un péptido GCRA se administra a ratones lactantes que tienen entre siete y nueve días de vida. Después de sacrificar a los ratones, se disecciona el tracto gastrointestinal desde el estómago hasta el ciego ("intestinos"). Lo restante ("esqueletos"), así como los intestinos, se pesa y se calcula la proporción de peso entre intestinos y esqueletos. Si la proporción es superior a 0,09, se puede llegar a la conclusión de 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.
- 55 El modelo de retorcimiento inducido por FBQ puede usarse para evaluar la actividad del control del dolor del péptido GCRA descrito en el presente documento. Este modelo lo describen 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, al ratón se le inyecta solución de fenilbenzoquinona (FBQ) al 0,02 % (12,5 ml/kg), por vía intraperitoneal. Se registra el número de estiramientos y retorcimientos desde los 5 y 10 minutos después de la inyección con FBQ y también puede contarse entre los 35 y 40 minutos y entre los 60 y 65 minutos para proporcionar una evaluación cinética. Los resultados se expresan como número de estiramientos y retorcimientos (media $\pm$ DTM) y el porcentaje de variación del umbral nociceptivo se calcula a partir del valor medio
- 60
- 65

del grupo tratado con vehículo. El significado estadístico de cualquier diferencia entre los grupos tratados y el grupo de control se determina mediante un ensayo de Dunnett usando la varianza residual después de un análisis de varianza de una vía ($P < 0,05$) usando el programa informático SigmaStat.

5 Ejemplo 9: DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES FARMACOCINÉTICAS DE LOS PÉPTIDOS GCRA

Se extrajeron muestras de suero de sangre entera de ratones expuestos (ratones dosificados por vía oral o intravenosa con uno o más péptidos GCRA descritos en el presente documento) y de ratones de control, se inyectaron después directamente (10 ml) sobre una columna de extracción en fase sólida (EFS) en línea (COLUMNA Waters Oasis HLB 25 μm , 2,0 x 15 mm con conexión directa) sin procesamiento adicional. La muestra sobre la columna EFS se lavó con una solución de metanol al 5 %, dH_2O al 95 % (2,1 ml/min, 1,0 minuto), después se cargó sobre una columna analítica 0 usando un cambio de válvula que coloca la columna EFS en una trayectoria de flujo invertida sobre la columna analítica (columna Waters Xterra MS C8 5 μm IS, 2,1 x 20 mm). La muestra se diluyó desde la columna analítica con un gradiente de fase inversa (Fase móvil A: hidróxido de amonio 10 mM en dH_2O , Fase móvil B: hidróxido de amonio 10 mM en acetonitrilo al 80 % y metanol al 20 %; después el 20 % de B durante los 3 primeros minutos aumenta al 95 % de B durante 4 minutos y se mantiene durante 25 minutos, todo a un caudal de 0,4 ml/min). A los 9,1 minutos, el gradiente vuelve a las condiciones iniciales de 20 % de B durante 1 minuto. El polipéptido se eluye desde la columna analítica y se detecta mediante espectrometría de masas de triple cuadrupolo (MRM, 764 (+2 estado de carga) > 182 (+1 estado de carga) Da; voltaje del cono = 30 V; colisión = 20 eV; resolución parental = 2 Da a pico base; resolución hija = 2 Da a pico base). La respuesta del instrumento se convirtió en unidades de concentración por comparación con una curva patrón usando cantidades conocidas de uno o más polipéptidos químicamente sintetizados preparados e inyectados en plasma de ratón usando el mismo procedimiento.

De manera similar, las propiedades farmacocinéticas se determinan en ratas usando metodología LCMS. Las muestras de plasma de rata que contenían el péptido GCRA se extrajeron usando una placa de extracción en fase sólida (EFS) de 96 pocillos MAX 96 de Waters Oasis. Un volumen de 200 μl de plasma de rata se mezcló con 200 μl de ^{13}Cg , polipéptido marcado con ^{15}N en el pocillo de una placa EFS preparada. Las muestras se extrajeron a través de la fase estacionaria con Hg 15 mm al vacío. Todas las muestras se lavaron con 200 μl de hidróxido de amonio al 2 % en agua seguido de 200 μl de metanol al 20 % en agua. Las muestras se eluyeron con volúmenes consecutivos de 100 μl de ácido fórmico/agua/metanol 5/20/75 y 100 μl de ácido fórmico/agua/metanol 5/15/80. Las muestras se secaron con nitrógeno y se resuspendieron en 100 μl de metanol al 20 % en agua. Las muestras se analizaron con un espectrómetro de masas Waters Quattro Micro acoplado a una bomba binaria Waters 1525 con un automuestreador Waters 2777. Un volumen de 40 μl de cada muestra se inyectó sobre una columna Thermo Hypersil GOLD C18 (2,1 x 50 mm, 5 μm). El polipéptido se eluyó mediante un gradiente durante 3 minutos con acetonitrilo y agua que contenía ácido trifluoroacético al 0,05 %. El espectrómetro de masas Quattro Micro se ejecutó en modo de monitorización de reacción múltiple (MRM) usando las transiciones de masa, por ejemplo, de 764 > 182 o 682 > 136. Usando esta metodología, el polipéptido se dosifica por vía oral y mediante IV a las ratas a 10 mg/kg. Se determinan las propiedades farmacocinéticas, incluyendo el área bajo la curva y la biodisponibilidad.

Ejemplo 10: EFECTO DE EXPERIMENTOS RELACIONADOS CON DIURESIS SOBRE LA DIURESIS Y NATRIURESIS

El efecto de los péptidos GCRA descritos en el presente documento sobre la diuresis y natriuresis puede determinarse usando una metodología similar a la descrita en el documento WO06/001931 (ejemplos 6 (p. 42) y 8 (p.45)). En resumen, el polipéptido/agonista descrito en el presente documento (180-pmol) se infunde durante 60 minutos a un grupo de 5 ratones o primates anestesiados. Dado un volumen de plasma de rata estimado de 10 ml, la tasa de infusión es de aproximadamente 3 pmol/ml/min. Para medir el efecto de los péptidos GCRA sobre la diuresis y natriuresis, se monitoriza la presión sanguínea, la producción de orina y la excreción de sodio durante aproximadamente 40 minutos antes de la infusión, durante la infusión y durante aproximadamente 50 minutos después de la infusión. Para la comparación, un grupo control de 5 ratas se infunde con solución salina regular. Se puede evaluar la excreción de orina y sodio. La respuesta a la dosis también puede determinarse. El polipéptido/agonista GC-C descrito en el presente documento se infunde por vía intravenosa en ratones o primates durante 60 minutos. Se recoge la orina a intervalos de 30 minutos hasta 180 minutos después de finalizar la infusión del polipéptido/agonista GC-C y se determina el volumen de orina, la excreción de sodio y la excreción de potasio para cada intervalo de recogida. La presión sanguínea se monitoriza continuamente. Para cada dosis, puede determinarse una relación de respuesta a la dosis para el volumen de orina, excreción de sodio y potasio. También se determina la concentración plasmática del polipéptido/agonista CG antes y después de la infusión iv.

Experimento de diuresis en ratones o primates: Una vez que se ha alcanzado un nivel de anestesia apropiado, se inserta un catéter estéril de poliuretano en la uretra y se fija usando 1-2 gotas de adhesivo de unión veterinario aplicado a la unión de la uretra/catéter. Después, los animales reciben una dosis de vehículo o artículo de ensayo mediante la vía intravenosa o intraperitoneal. Se deja que los animales recuperen la conciencia y se registra periódicamente el volumen de orina excretado durante un tiempo de 1-5 horas en cada rata.

Referencias:

1. Currie, et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 89:947-951 (1992).
- 5 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).
- 10 5. Guba, et al., Gastroenterology 111:1558-1568 (1996).
6. Joo, et al., Am. J. Fysiol. 274:G633-G644 (1998).
- 15 7. Evan, et al., Nature (Londres) 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).
- 20 10. Wong, et al., Gut 50:212-217 (2002).
11. Potten, et al., Stem Cells 15:82-93.
- 25 12. Basoglu, et al., en: Proceedings de the Second FEPS Congress, 29 de junio - 4 de julio, 1999, Praga, República Checa, lf2.cuni.cz/fysiolres/feps/basoglu
13. Sindic, et al., J. Biol. Chem. 11 de marzo de 2002, manuscript M110627200 (en prensa).
- 30 14. Askling, J., Dickman, P.W., Karlen, P., Brostrom, O., Lapidus, A., Lofberg, R., y Ekbon, A. Colorectal cáncer ratos among first-degree relatives de patients with inflammatory bowel disease: a population-based cohort study. Lancet, 357: 262-266,
15. Provenzale, D. y Onken, J. Surveillance issues in inflammatory bowel disease: Ulcerative colitis. J Clin Gastroenterol, 32:99-105, 2001.
- 35 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 y Crohn's colitis. Dis Colon Rectum, 43:1743-1748, 2000.
- 40 17. Shinozaki M, Watanabe T, Kubota Y, Sawada T, Nagawa H, Muto T. High proliferative activity es asociatod with dysplasia in ulcerative colitis. Dis Colon Rectum, 43:534-S39, 2000.
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.
- 45 19. Wong, W.M., y Wright, N. A. Cell proliferation y gastrointestinal mucosa. J Clin Pathol, 52:321-333.
20. Potten, C.S., Wilson, J.W., y Booth, C. Regulation y significance de apoptosis in the stem cells. Stem Cells, 15:82-93.
- 50 21. Bhakdi, et al., Infect. Immun. 57:3512-3519 (1989).
22. Hughes, et al., J. Biol. Chem. 272:30567-30576 (1997).
- 55 23. Cermak, et al., Pflugers Arch. 43:571-577 (1996).
24. Wu, et al., J. Biol. Chem. 272:14860-14866 (1997).
25. Shailubhai et al., Cancer Research 60, 5151-5157 (2000)
- 60 26. Shailubhai et al., Curr. Opin. Drug Disc. Dev. 5(2): 261-268, 2002.
27. Collins, SM. J Clin Gastroenterol. 41 Suppl 1:S30-32 (2007)
- 65 28. Ramamoorthy S et al., J Biol Chem. 282(16):11639-11647 (2007)

REIVINDICACIONES

1. Un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos PEG3-Asn¹-Asp²-Glu³-Cys⁴-Glu⁵-Leu⁶-Cys⁷-Val⁸-Asn⁹-Val¹⁰-Ala¹¹-Cys¹²-Thr¹³-Gly¹⁴-Cys¹⁵-dSer¹⁶-PEG3 o PEG3-Asn¹-Asp²-Glu³-Cys⁴-Glu⁵-Leu⁶-Cys⁷-Val⁸-Asn⁹-Val¹⁰-Ala¹¹-Cys¹²-Thr¹³-Gly¹⁴-Cys¹⁵-dSer¹⁶ o Asn¹-Asp²-Glu³-Cys⁴-Glu⁵-Leu⁶-Cys⁷-Val⁸-Asn⁹-Val¹⁰-Ala¹¹-Cys¹²-Thr¹³-Gly¹⁴-Cys¹⁵-dSer¹⁶-PEG3, en el que dicho péptido es un péptido [4;12,7;15] bicíclico.
2. Una composición farmacéutica en forma de dosis unitaria que comprende un péptido agonista del receptor de guanilato ciclasa que tiene la secuencia PEG3-Asn¹-Asp²-Glu³-Cys⁴-Glu⁵-Leu⁶-Cys⁷-Val⁸-Asn⁹-Val¹⁰-Ala¹¹-Cys¹²-Thr¹³-Gly¹⁴-Cys¹⁵-dSer¹⁶-PEG3 o PEG3-Asn¹-Asp²-Glu³-Cys⁴-Glu⁵-Leu⁶-Cys⁷-Val⁸-Asn⁹-Val¹⁰-Ala¹¹-Cys¹²-Thr¹³-Gly¹⁴-Cys¹⁵-dSer¹⁶ o Asn¹-Asp²-Glu³-Cys⁴-Glu⁵-Leu⁶-Cys⁷-Val⁸-Asn⁹-Val¹⁰-Ala¹¹-Cys¹²-Thr¹³-Gly¹⁴-Cys¹⁵-dSer¹⁶-PEG3, en la que dicho péptido es un péptido [4;12,7;15] bicíclico, estando presente dicho péptido en una cantidad terapéuticamente eficaz y un transportador, excipiente o diluyente farmacéutico.
3. La composición farmacéutica de la reivindicación 2, en la que la forma de dosis unitaria se selecciona del grupo que consiste en un comprimido, una cápsula, una solución y una formulación para inhalación.
4. Un agonista del receptor de guanilato ciclasa que tiene la secuencia del péptido de la reivindicación 1 para su uso en un método para prevenir o tratar una afección seleccionada del grupo que consiste en colitis ulcerosa, síndrome del intestino irritable (SII), dispepsia no ulcerosa, seudoobstrucción intestinal crónica, dispepsia funcional, seudoobstrucción colónica, reflujo duodenogástrico, estreñimiento asociado con el uso de analgésicos opiáceos, enfermedad de reflujo gastroesofágico (ERGE), estreñimiento posquirúrgico, gastroparesia, estreñimiento asociado con trastornos neuropáticos, ardor de estómago, mala motilidad gastrointestinal, insuficiencia cardíaca congestiva, hipertensión, hiperplasia prostática benigna (HPB), cáncer de colon, cáncer de pulmón, cáncer de vejiga, cáncer de hígado, cáncer de glándulas salivares o cáncer de piel, bronquitis, inflamación de tejidos, inflamación de órganos, inflamación respiratoria, asma y EPOC.
5. El agonista del receptor de guanilato ciclasa para el uso de la reivindicación 4, en el que dicho agonista de guanilato ciclasa que tiene la secuencia del péptido de la reivindicación 1 es para la administración con una dosis eficaz de un inhibidor de fosfodiesterasa dependiente de GMPc, en el que dicho inhibidor de fosfodiesterasa dependiente de GMPc es para la administración simultánea o secuencial con dicho agonista del receptor de guanilato ciclasa.
6. El agonista del receptor de guanilato ciclasa para el uso de acuerdo con la reivindicación 5, en el que dicho inhibidor de fosfodiesterasa dependiente de GMPc se selecciona del grupo que consiste en sulindac sulfona, zaprinast, motapizona, vardenafil y sildenafil.
7. El agonista del receptor de guanilato ciclasa para el uso de la reivindicación 5, en el que dicho agonista del receptor de guanilato ciclasa que tiene la secuencia del péptido de la reivindicación 1 es para la administración con una dosis eficaz de al menos un agente antiinflamatorio.
8. El agonista del receptor de guanilato ciclasa para el uso de la reivindicación 7, en el que dicho agente antiinflamatorio es un fármaco antiinflamatorio esteroideo o no esteroideo (AINE).
9. Un método *in vitro* para aumentar la producción de GMPc en una célula, que comprende poner en contacto dicha célula con un péptido que tiene la secuencia PEG3-Asn¹-Asp²-Glu³-Cys⁴-Glu⁵-Leu⁶-Cys⁷-Val⁸-Asn⁹-Val¹⁰-Ala¹¹-Cys¹²-Thr¹³-Gly¹⁴-Cys¹⁵-dSer¹⁶-PEG3 o PEG3-Asn¹-Asp²-Glu³-Cys⁴-Glu⁵-Leu⁶-Cys⁷-Val⁸-Asn⁹-Val¹⁰-Ala¹¹-Cys¹²-Thr¹³-Gly¹⁴-Cys¹⁵-dSer¹⁶ o Asn¹-Asp²-Glu³-Cys⁴-Glu⁵-Leu⁶-Cys⁷-Val⁸-Asn⁹-Val¹⁰-Ala¹¹-Cys¹²-Thr¹³-Gly¹⁴-Cys¹⁵-dSer¹⁶-PEG3, en el que dicho péptido es un péptido [4;12,7;15] bicíclico.
10. El método *in vitro* de la reivindicación 9, que comprende adicionalmente poner en contacto dicha célula con un inhibidor de fosfodiesterasa dependiente de GMPc.
11. El método *in vitro* de la reivindicación 10, en el que dicho inhibidor de fosfodiesterasa dependiente de GMPc se selecciona del grupo que consiste en sulindac, sulfona, zaprinast, motapizona, vardenafil, y sildenafil.

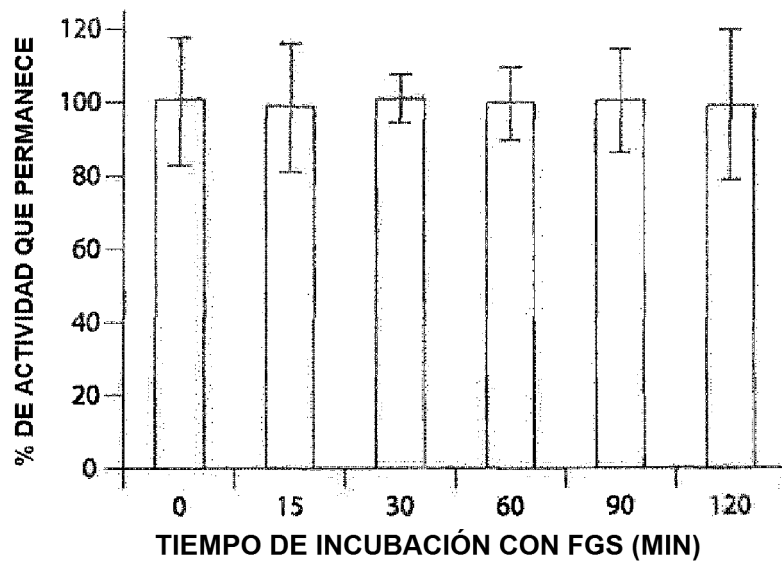


Fig. 1A

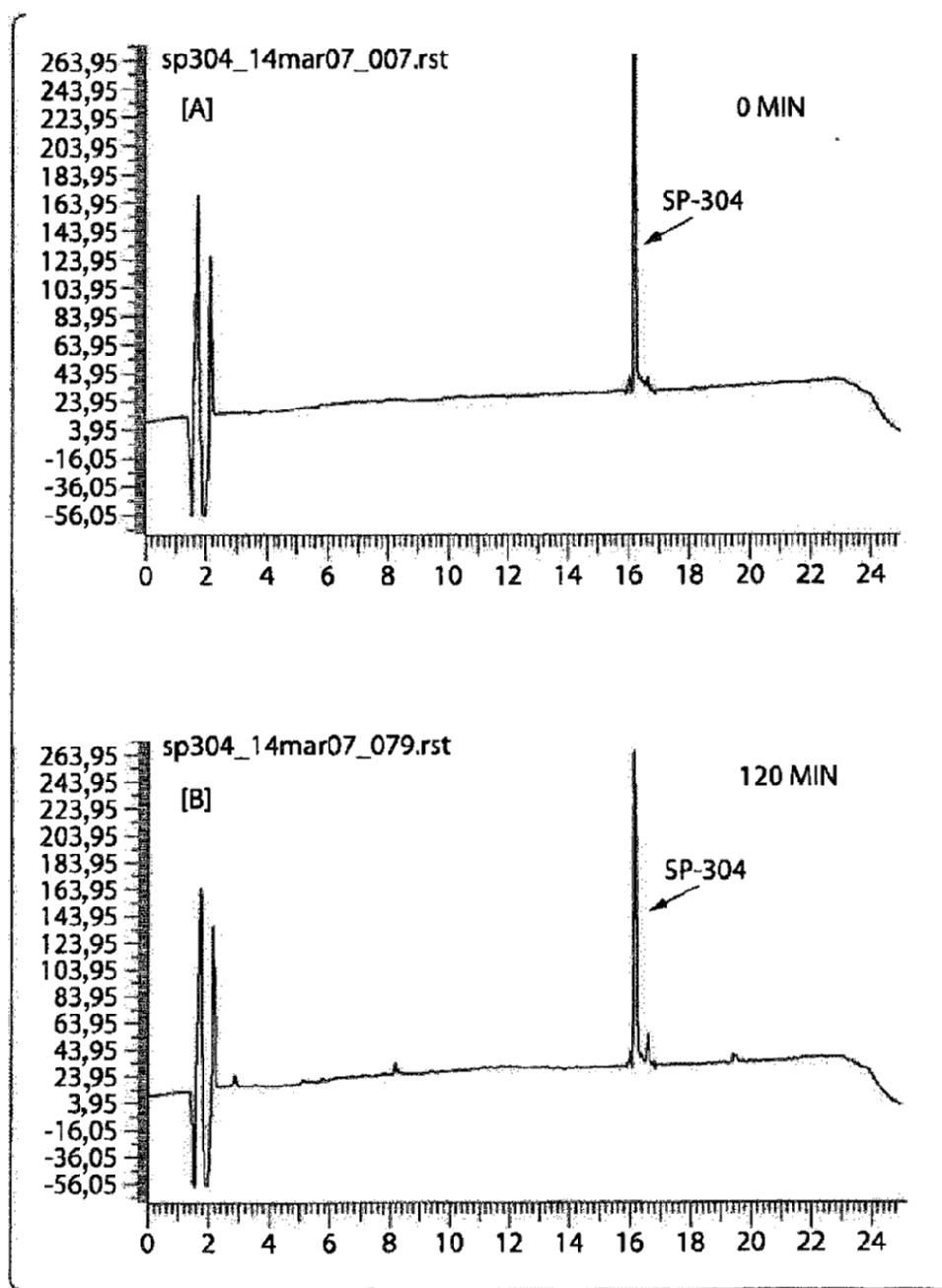


Fig. 1B

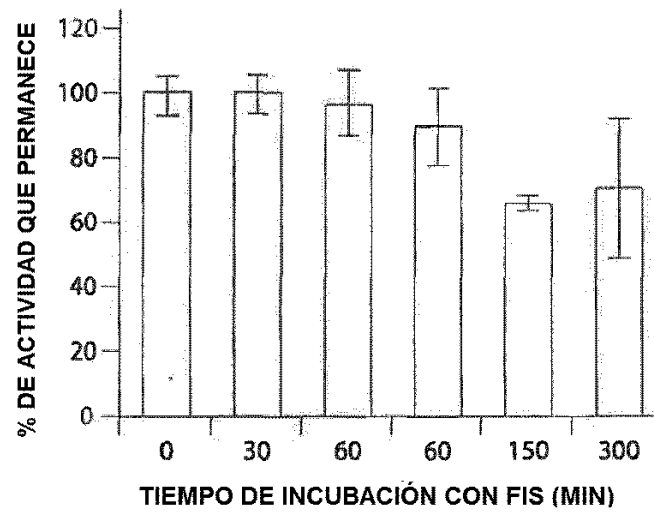


Fig. 2A

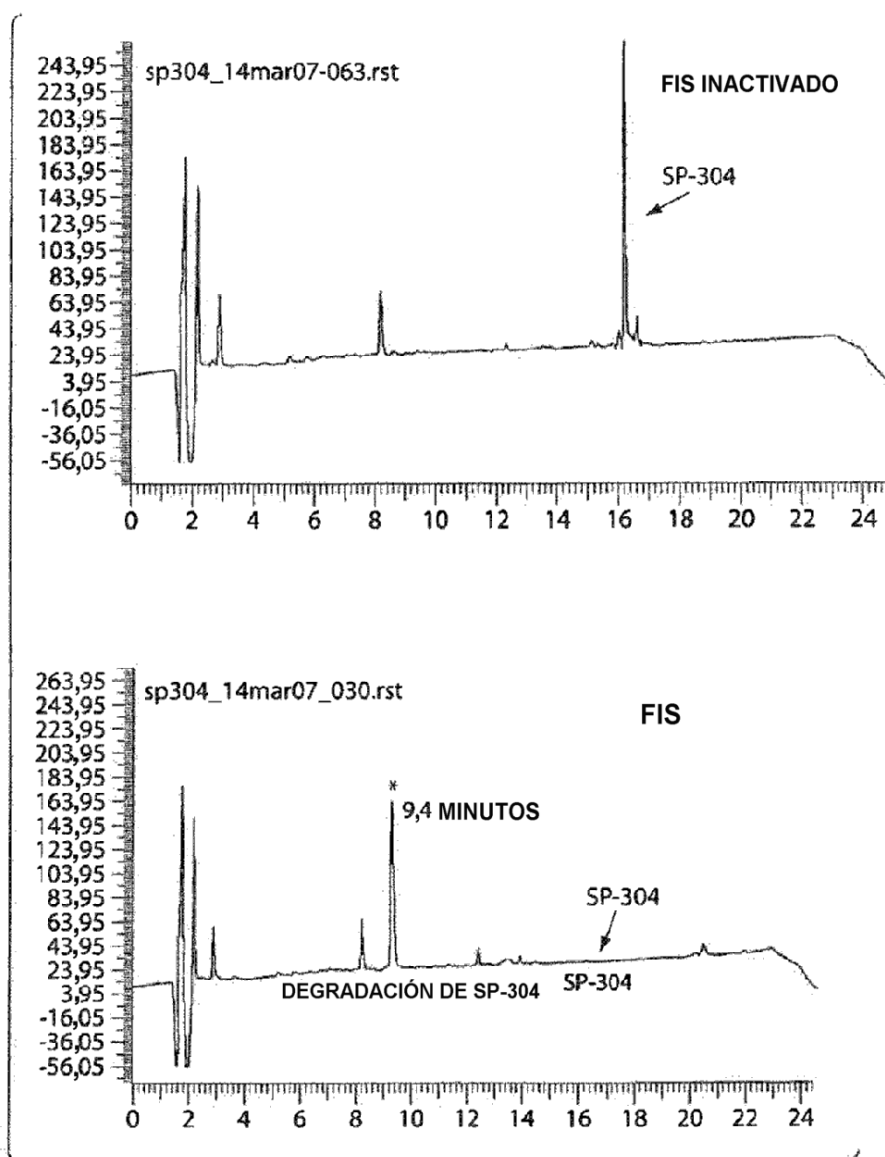


Fig. 2B

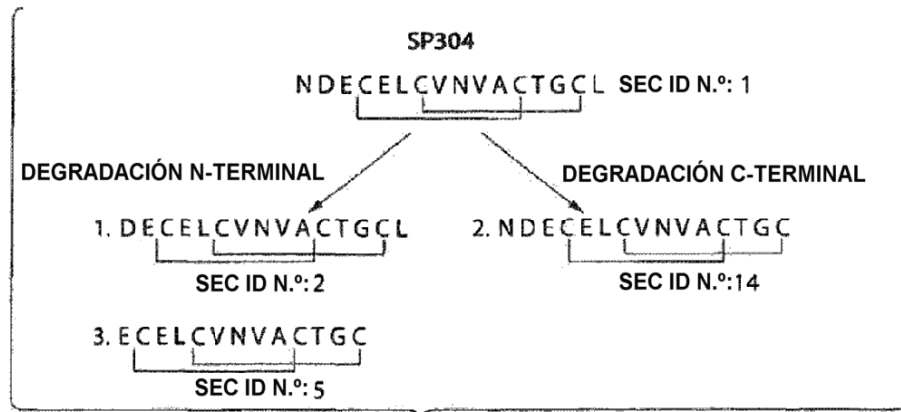


Fig. 3

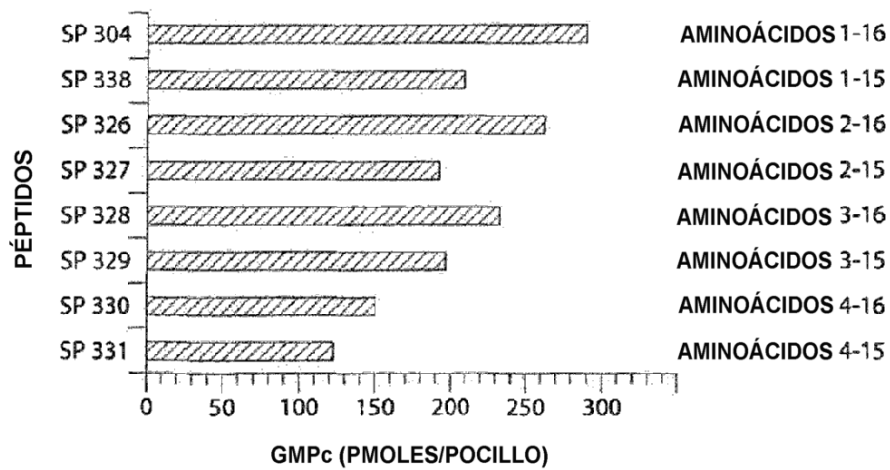


Fig. 4

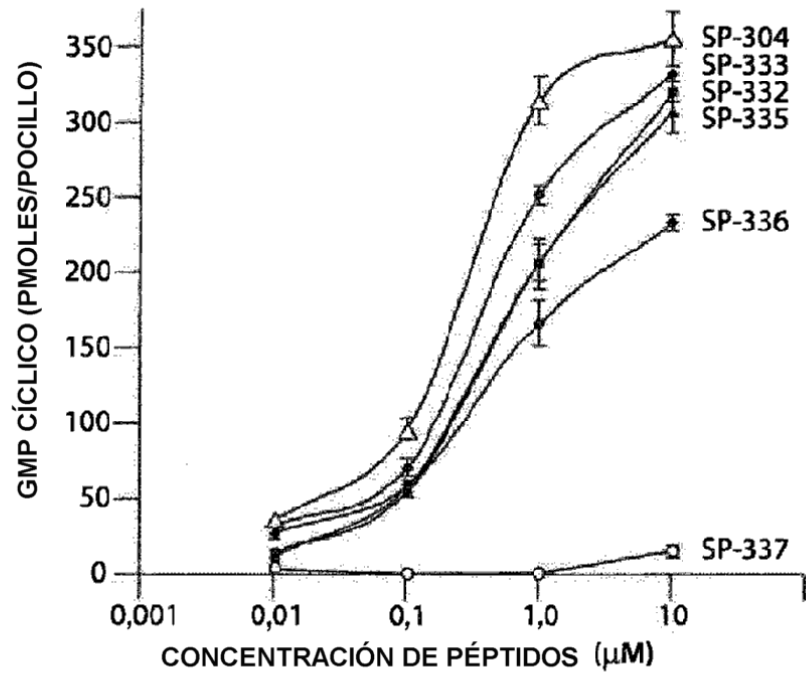


Fig. 5

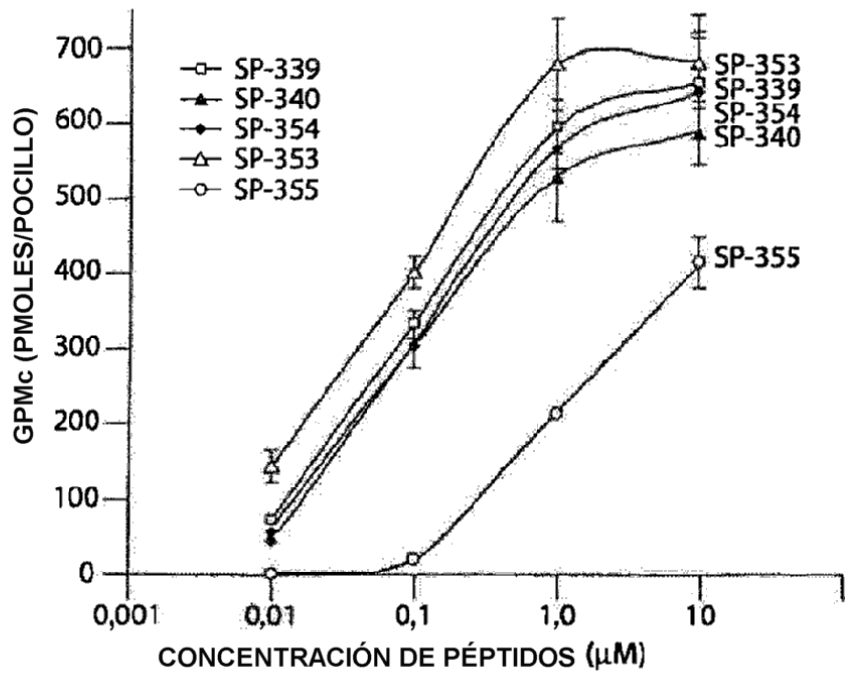


Fig. 6

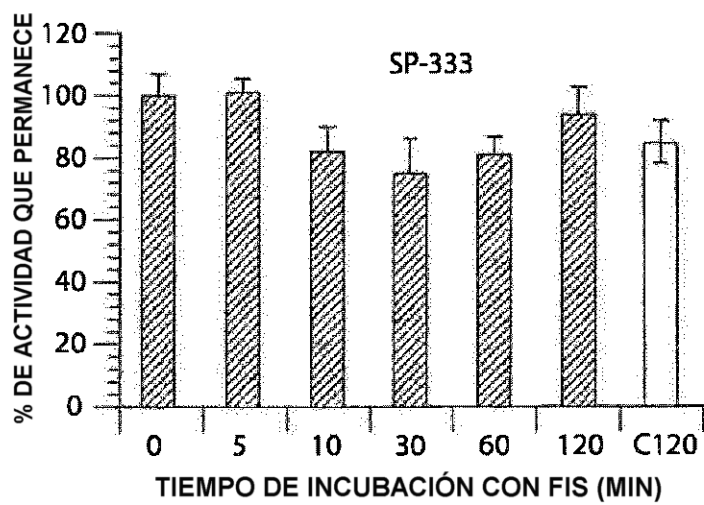


Fig. 7A

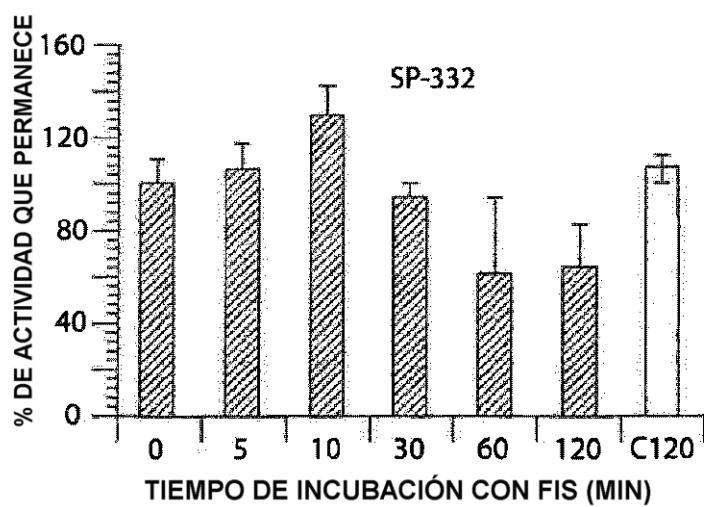


Fig. 7B

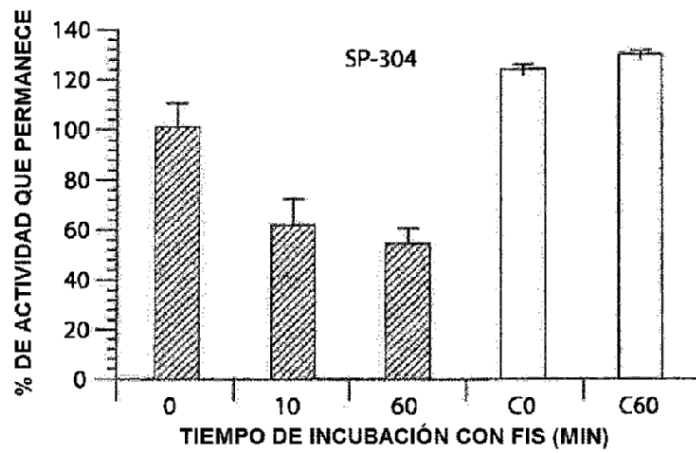


Fig. 7C

CLOE DE DATOS ESPECTRALES CON DDE: 218,0 A 220,0 nm
DE LA MUESTRA 1 (M-SCAN N.º: 89950 DIGESTIÓN A LOS 0 MIN) DE 64.wiff

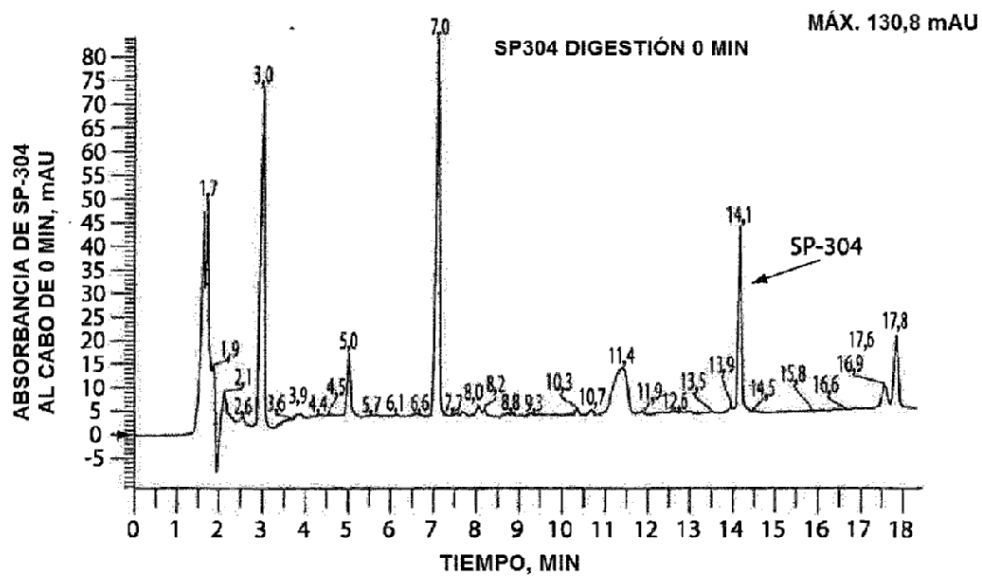


Fig. 7D-1

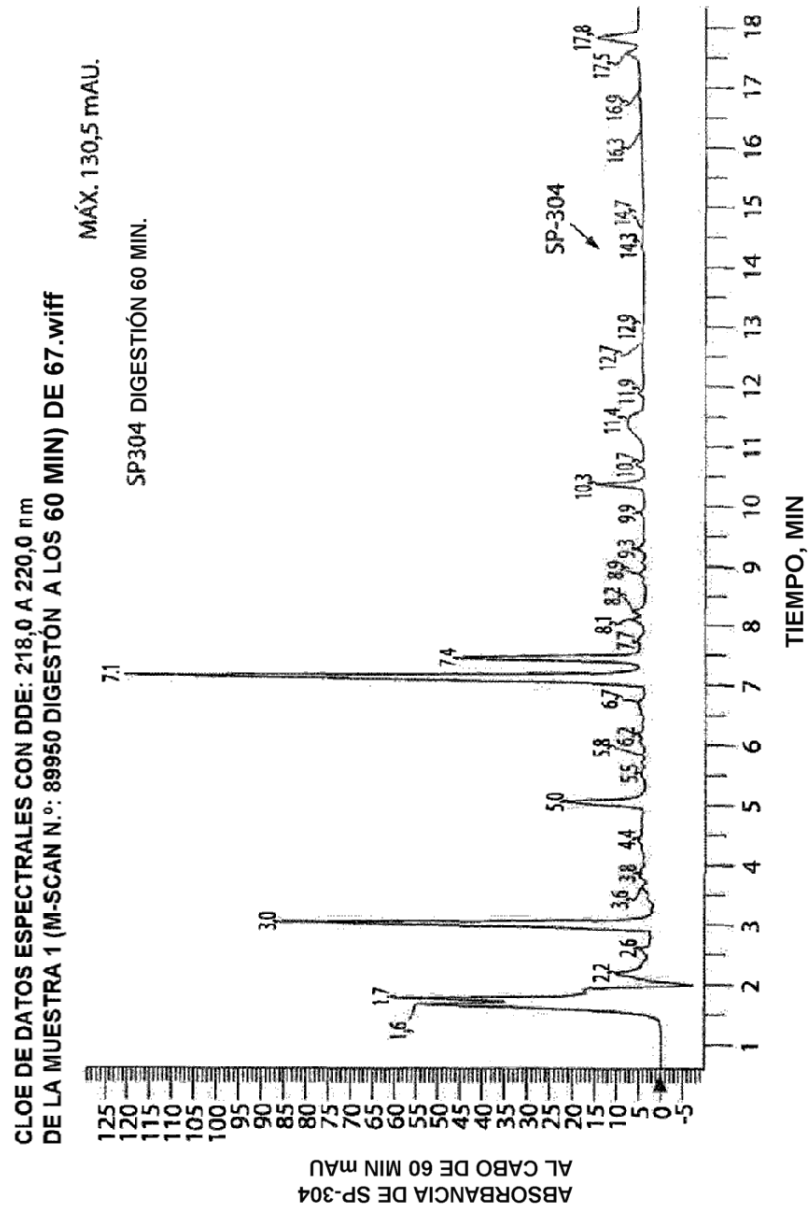


Fig. 7D-2

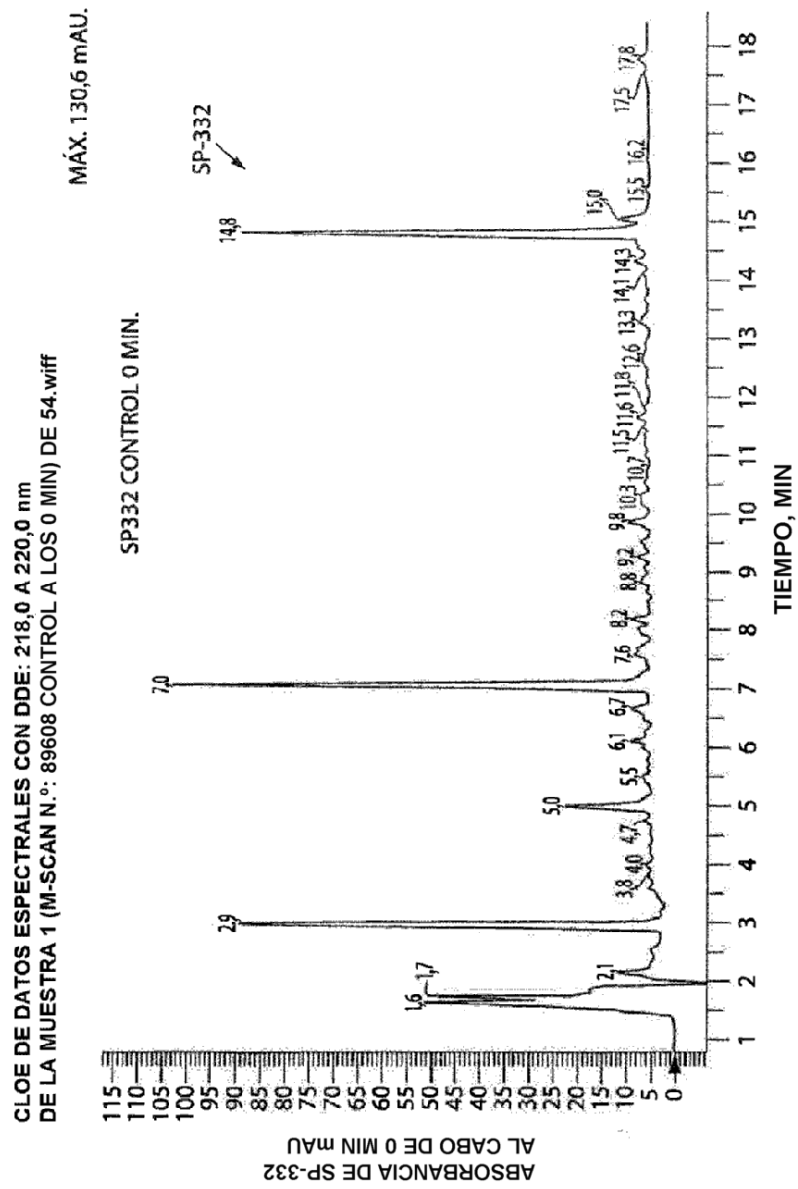


Fig. 7E-1

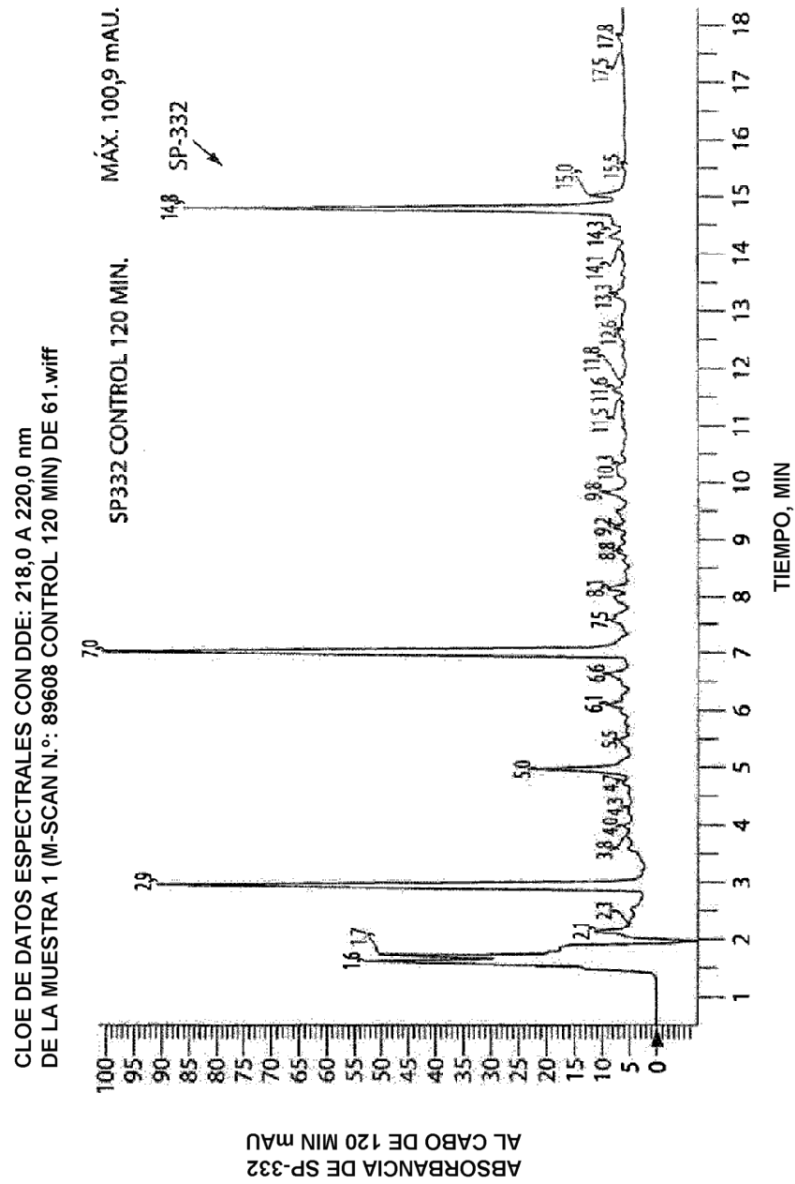


Fig. 7E-2

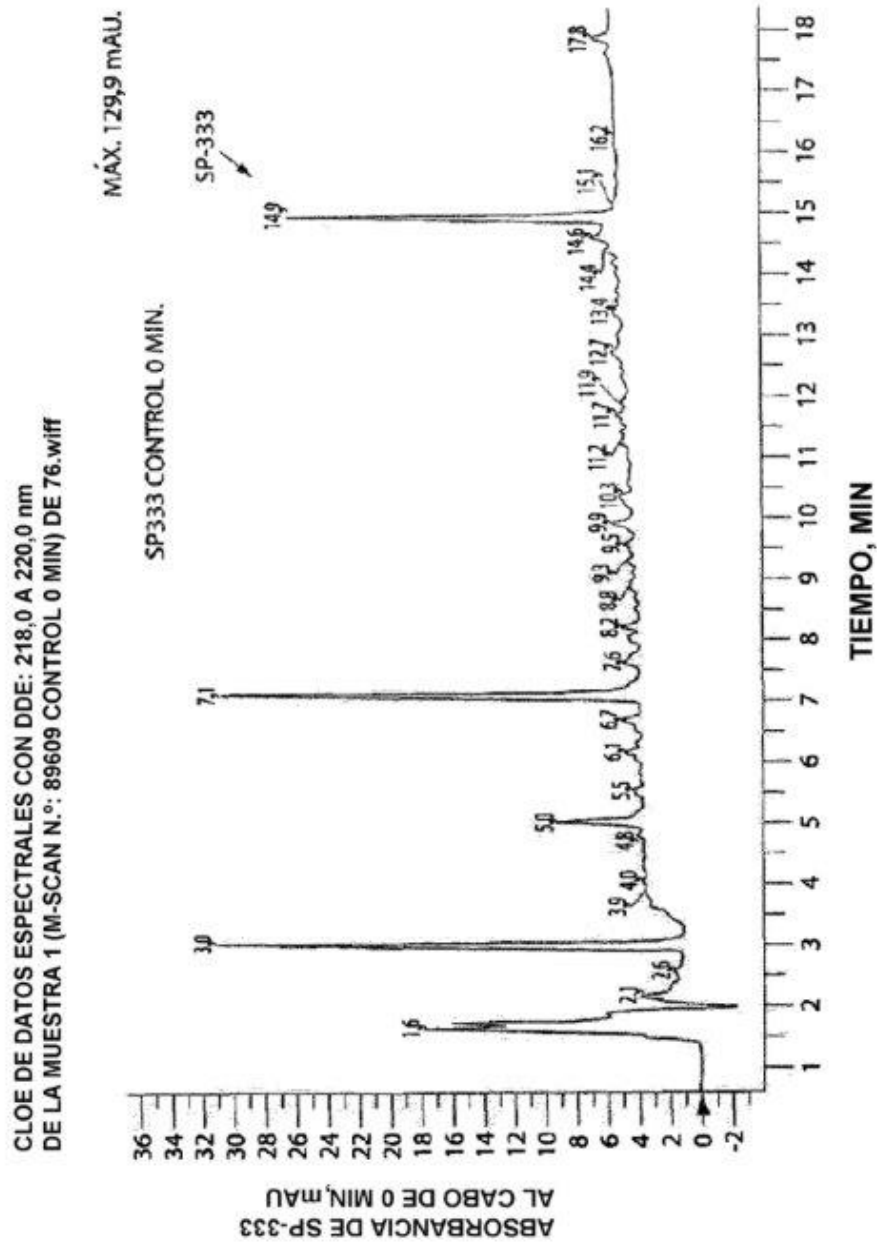


Fig. 7F-1

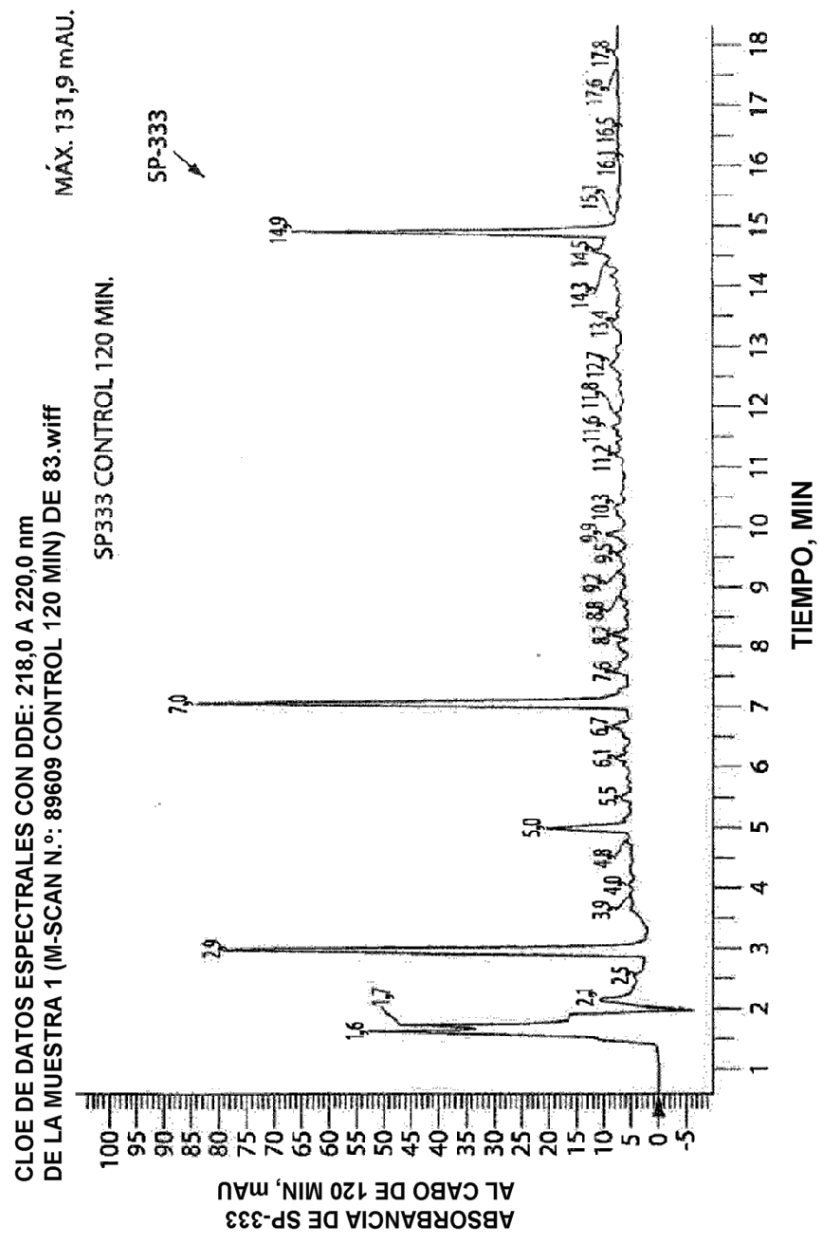


Fig. 7F-2

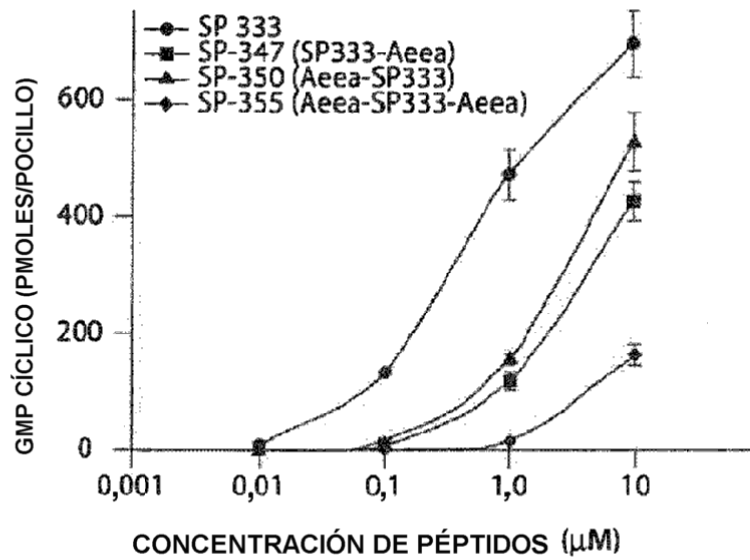


Fig. 8

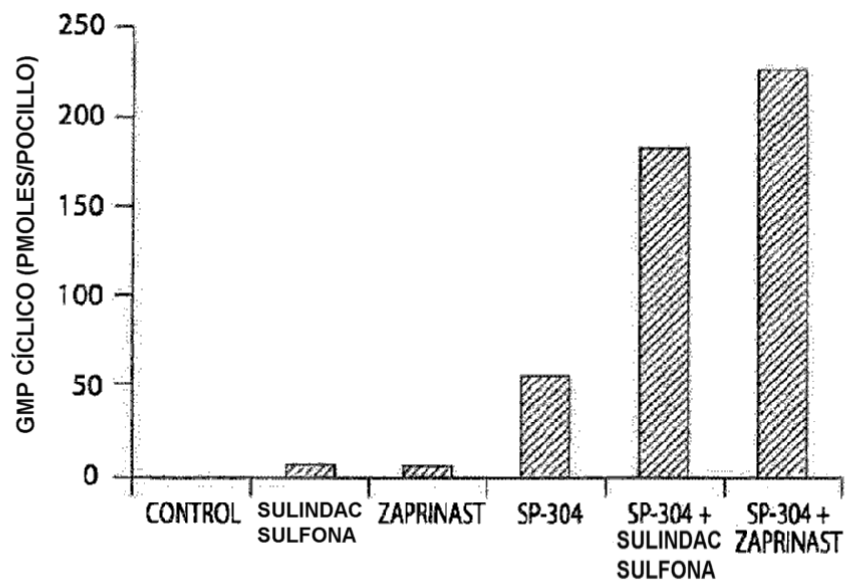


Fig. 9

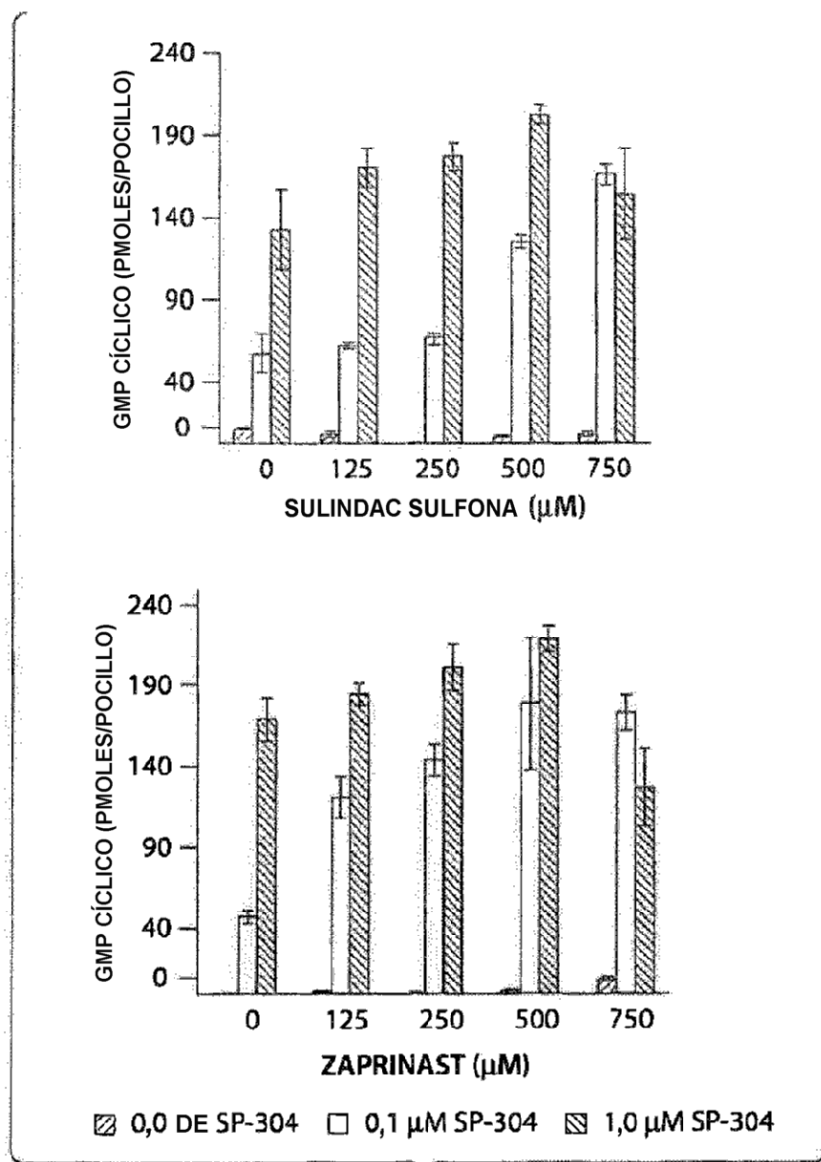


Fig. 10

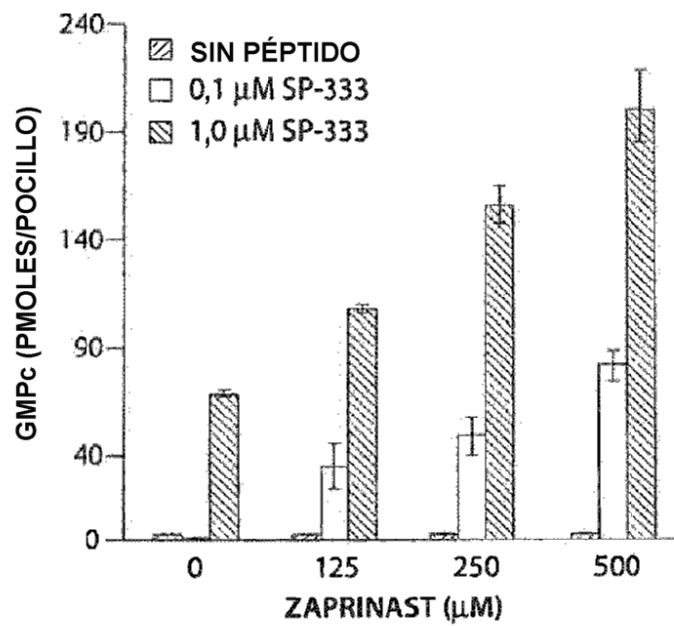


Fig. 11

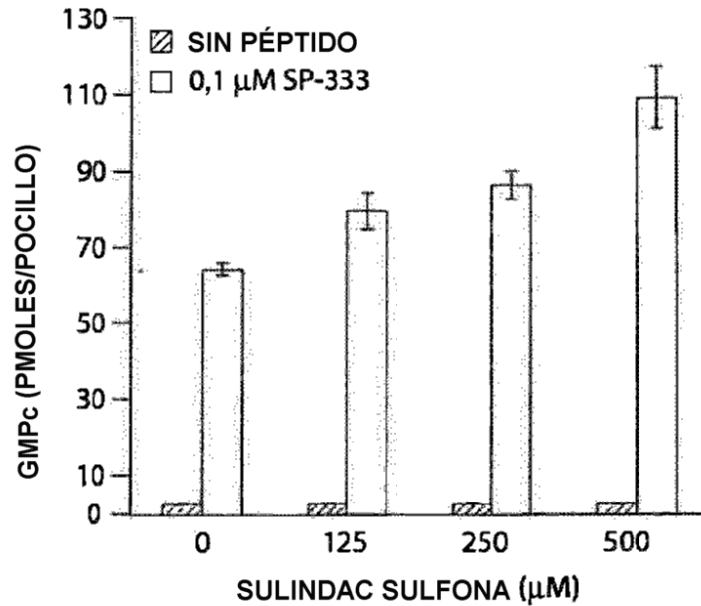


Fig. 12

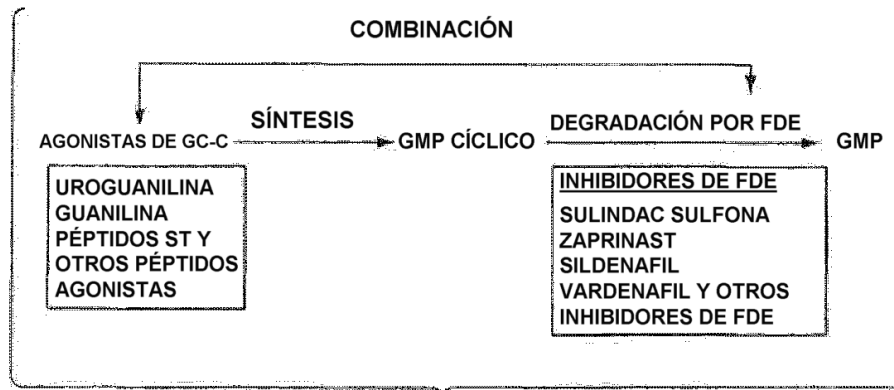


Fig. 13