

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 559 840**

51 Int. Cl.:

A61K 38/10 (2006.01)

C07K 7/08 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.06.2009 E 09759437 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **02.09.2015 EP 2296685**

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

30 Prioridad:

04.06.2008 US 58888 P

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

16.02.2016

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 2 559 840 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 la 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 la guanilato ciclasa C (GC-C) como un medio para mejorar la producción intracelular de GMPc. Los agonistas se pueden utilizar solos o en combinación con inhibidores de la fosfodiesterasa específica de GMPc para prevenir o tratar la inflamación, el cáncer y otros trastornos, particularmente del tracto gastrointestinal y los pulmones.

10

Antecedentes de la invención

Los péptidos uroguanilina, guanilina y ST bacterianos son péptidos estructuralmente relacionados que se unen a un receptor de la guanilato ciclasa y estimulan la producción intracelular de monofosfato cíclico de guanosina (GMPc) (1-6). Esto da como resultado la activación del regulador de la conductancia transmembranal de la fibrosis quística (CFTR), un canal de membrana apical para el flujo de salida de cloruro desde los enterocitos que recubren el tracto intestinal (1-6). La activación de CFTR y la mejora subsiguiente de la secreción transepitelial de cloruro, conduce a la estimulación de la secreción de sodio y agua en el lumen intestinal. Por lo tanto, al servir como reguladores paracrinos de la actividad del CFTR, los agonistas del receptor de GMPc regulan el transporte de fluido y electrolitos en el tracto gastrointestinal (GI) (1-6; documento de patente US 5.489.670). Por lo tanto, la activación mediada por GMPc de CFTR y la señalización aguas abajo tiene un papel importante en el funcionamiento normal de la fisiología intestinal. Por ello, cualquier anomalía en este proceso podría conducir potencialmente a trastornos gastrointestinales tales como el síndrome de intestino irritable, la enfermedad inflamatoria intestinal, la acidez excesiva y el cáncer (25, 26).

15

20

25

30

35

El proceso de renovación epitelial implica la proliferación, migración, diferenciación, senescencia y pérdida eventual de células GI en el lumen (7, 8). La mucosa GI se puede dividir en tres zonas distintas basándose en el índice de proliferación de las células epiteliales. Una de estas zonas, la zona de proliferación, se compone de células madre indiferenciadas responsables de proporcionar una fuente constante de células nuevas. Las células madre migran de forma ascendente hacia el lumen hacia el que son extruidas. Al migrar, las células pierden su capacidad de división y comienzan a diferenciarse para llevar a cabo funciones especializadas de la mucosa gastrointestinal (9). La renovación de la mucosa gastrointestinal es muy rápida, teniendo lugar una renovación completa en un período de 24-48 horas (9). Durante este proceso, células mutadas y no deseadas se reponen con nuevas células. Por lo tanto, la homeostasis de la mucosa GI está regulada por el mantenimiento continuo del equilibrio entre las tasas de proliferación y de apoptosis (8).

40

45

Las tasas de proliferación celular y de apoptosis en el epitelio intestinal pueden aumentar o disminuir con una amplia variedad de circunstancias diferentes, por ejemplo, como respuesta a estímulos fisiológicos tales como el envejecimiento, señales inflamatorias, hormonas, péptidos, factores de crecimiento, productos químicos y hábitos alimenticios. Además, una tasa de proliferación mejorada, se asocia frecuentemente con una reducción del tiempo de reposición y una expansión de la zona proliferativa (10). El índice de proliferación se ha observado que es mucho mayor en casos patológicos de colitis ulcerosa y otros trastornos gastrointestinales (11). Por lo tanto, la hiperplasia intestinal es el promotor principal de la inflamación gastrointestinal y la carcinogénesis.

50

55

60

Además de la función de la uroguanilina y la guanilina como moduladores de fluido intestinal y la secreción de iones, estos péptidos también pueden estar involucrados en la renovación continua de la mucosa GI, manteniendo el equilibrio entre la proliferación y la apoptosis en las células que recubren la mucosa GI. Por lo tanto, cualquier interrupción en este proceso de renovación, debido a una producción reducida de uroguanilina y/o guanilina, puede conducir a una inflamación gastrointestinal y cáncer (25, 26). Esto es compatible con datos publicados anteriormente 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 del cáncer de colon. Sin embargo, datos recientes también sugieren que la uroguanilina también se une a un receptor desconocido en la actualidad, que es distinto del receptor de GC-C (3,4). Ratonos con genes inactivados que carecen de este receptor de la guanilato ciclasa, muestran resistencia a los péptidos ST en el intestino, pero los efectos de la uroguanilina y los péptidos ST no se alteran en el riñón en vivo (3). Estos resultados se han apoyado además por el hecho de que la despolarización de la membrana, inducida por la guanilina, estaba bloqueada por la genisteína, un inhibidor de las cinasas de tirosina, mientras que no se efectuó una hiperpolarización inducida por uroguanilina (12, 13). Por lo tanto, no está claro si las actividades contra el cáncer de colon y antiinflamatorias de la uroguanilina y sus análogos están mediadas por la unión a uno o a ambos de estos receptores.

65

La enfermedad inflamatoria intestinal es un nombre general dado a un grupo de trastornos que causan inflamación de los intestinos, que se caracteriza por un tejido rojo e inflamado. La inflamación gastrointestinal (GI) puede ser una afección crónica y con frecuencia conduce a cáncer gastrointestinal (14). Ejemplos de tales enfermedades inflamatorias intestinales (EII) incluyen la enfermedad de Crohn y la colitis ulcerosa (CU). Se estima que hasta

1.000.000 de estadounidenses están afectados con EII, estando los pacientes masculinos y femeninos afectados por igual. La mayoría de los casos se diagnostican antes de los 30 años, pero la enfermedad puede aparecer con sesenta, setenta años y más tarde.

5 La enfermedad de Crohn es una enfermedad inflamatoria grave que afecta predominantemente al íleon y al colon, pero también puede aparecer en otras secciones del tracto GI, mientras que la CU es exclusivamente una enfermedad inflamatoria del colon, el intestino grueso (15). A diferencia de la enfermedad de Crohn, en la que están implicadas todas las capas del intestino, y en la que puede haber intestino normal sano entre partes de intestino enfermo, la CU afecta solo a la capa más interna (mucosa) del colon de una manera continua (16). Dependiendo de
10 qué parte del tracto GI está implicada, la enfermedad de Crohn se puede denominar ileítis, enteritis regional, colitis, etc. La enfermedad de Crohn y la CU difieren del colon espástico o del síndrome de intestino irritable, que son trastornos de la motilidad del tracto gastrointestinal.

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

La enterocolitis necrotizante (ECN) es una afección inflamatoria devastadora del tracto gastrointestinal que afecta al 10% de los lactantes prematuros nacidos con pesos menores de 1500 gramos. A pesar de los avances médicos modernos, la etiología sigue siendo esquivada, y la morbimortalidad es inaceptablemente alta, sucumbiendo a la enfermedad tanto como el 10-30% de los lactantes afectados. Aunque la fisiopatología no se entiende completamente, se sabe que la prematuridad, la alimentación con fórmulas, la isquemia intestinal y la colonización bacteriana son factores de riesgo importantes. Se ha sugerido que estos factores de riesgo inician la activación de la respuesta proinflamatoria que en última instancia conduce a la necrosis del intestino, y en algunos casos al síndrome de disfunción multiorgánica, y a la muerte. Se han identificado múltiples mediadores inflamatorios que podrían contribuir a esta ruta común final. Varias de las moléculas pro y antiinflamatorias se han estudiado en detalle
25 en modelos animales, en seres humanos e *in vitro*, incluyendo IL-6, IL-8 e IL-10 así como óxido nítrico, radicales libres de oxígeno y numerosos otros. Anteriormente, se notificó que SP-304 mejora la inflamación del GI en modelos experimentales de colitis murina, posiblemente a través de la regulación por disminución de citocinas proinflamatorias tales como IL-4, IL-5, IL-17, IL-23 y TNF- α . (Shailubhai y col., 2007 y 2008). Por lo tanto, podrían usarse agonistas de GC-C tales como uroguanilina, guanilina, péptidos ST de enterotoxina de *E. coli* y sus análogos para prevenir, controlar y tratar ECN. Los agonistas de GC-C pueden administrarse o bien en el agua potable o bien en la leche materna para tratar ECN en niños recién nacidos.

La homeostasis del GI depende de la proliferación y de la muerte celular programada (apoptosis) de las células epiteliales que recubren la mucosa intestinal. Por lo tanto, las células se pierden continuamente desde la vellosidad en el lumen del intestino y se reponen a una tasa sustancialmente igual por la proliferación de las células en las criptas, seguido de su movimiento ascendente hacia la vellosidad. Cada vez es más evidente que el control de la muerte celular es un regulador igualmente importante, si no más, del número de células y del índice de proliferación (19,20). Tasas reducidas de apoptosis están asociadas frecuentemente con un crecimiento anormal, inflamación y transformación neoplásica. Así, tanto la disminución de la proliferación y/o el incremento de la muerte celular pueden reducir el número de células, mientras que una mayor proliferación y/o una muerte celular reducida pueden aumentar el índice de proliferación del tejido intestinal (20), lo que puede conducir a enfermedades inflamatorias gastrointestinales y al cáncer.

Los péptidos uroguanilina y guanilina también parecen favorecer la apoptosis mediante el control del flujo de iones celular. Alteraciones en la apoptosis se han asociado con una progresión tumoral al fenotipo metastásico. Mientras que un cáncer gastrointestinal (GI) primario se limita al intestino delgado, el colon y el recto, se puede metastatizar y extender a lugares tales como huesos, ganglios linfáticos, hígado, pulmón, peritoneo, ovarios y cerebro. Al mejorar el flujo de salida de K^+ y el influjo de Ca^{++} , los péptidos uroguanilina y relacionados pueden favorecer la muerte de células transformadas y de ese modo inhibir la metástasis.

55 El síndrome del intestino irritable (SII) y el estreñimiento idiopático crónico son afecciones patológicas que pueden causar una gran incomodidad intestinal y angustia pero, a diferencia de las enfermedades EII, tales como la colitis ulcerosa y la enfermedad de Crohn, el SII no causa una inflamación grave o cambios en el tejido intestinal y no se cree que incremente el riesgo de cáncer colorrectal. En el pasado, la enfermedad inflamatoria intestinal (EII), la enfermedad celíaca y el síndrome del intestino irritable (SII) estaban considerados como trastornos completamente distintos. Ahora, con la descripción de la inflamación, aunque sea leve, en el SII, y el solapamiento de síntomas entre el SII y la enfermedad celíaca, esta afirmación se ha cuestionado. La gastroenteritis bacteriana aguda es el principal factor de riesgo identificado hasta la fecha para el desarrollo posterior del síndrome del intestino irritable post-infeccioso. Los factores clínicos de riesgo incluyen una enfermedad aguda prolongada y la ausencia de vómitos.
60 Una susceptibilidad determinada genéticamente a estímulos inflamatorios puede ser también un factor de riesgo para el síndrome del intestino irritable. La fisiopatología subyacente indica un aumento de la permeabilidad
65

intestinal y una inflamación leve, así como una motilidad alterada y sensibilidad visceral (27). La serotonina (5-HT) es un modulador clave de la función intestinal y se sabe que tiene un papel importante en la fisiopatología del SII. Se ha demostrado que la actividad de 5-HT está regulada por el GMPc (28). Por lo tanto, basándose en esta observación, así como en otros efectos del GMPc, creemos que los agonistas de GC-C serán útiles en el tratamiento de SII.

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

Sumario de la invención

La presente invención se basa en el desarrollo de agonistas del receptor de la guanilato ciclasa. Los agonistas son análogos de los péptidos uroguanilina y ST bacterianos y tienen propiedades superiores, tales como, por ejemplo, resistencia elevada a la degradación en el extremo N-terminal y C-terminal por carboxipeptidasas y/o otras enzimas proteolíticas presentes en los jugos intestinales y gástricos humanos estimulados.

La invención proporciona péptidos consistentes en la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de SEQ ID NO 3-8; composiciones farmacéuticas en dosis unitaria que comprenden los péptidos, y los péptidos para su uso en el tratamiento.

Los péptidos de la invención se pueden emplear para tratar cualquier afección que responde a una mejora de los niveles intracelulares de GMPc. Los niveles intracelulares de GMPc se pueden incrementar mejorando la producción intracelular de GMPc y/o inhibiendo su degradación por fosfodiesterasas específicas de GMPc. Entre las afecciones específicas que se pueden tratar o evitar según la invención están los trastornos gastrointestinales. Los trastornos gastrointestinales incluyen, por ejemplo, síndrome del intestino irritable (SII), enterocolitis necrotizante (ECN), dispepsia no ulcerosa, pseudoobstrucción intestinal crónica, dispepsia funcional, pseudoobstrucción colónica, reflujo duodenogástrico, enfermedad de reflujo gastroesofágico (ERGE), inflamación del íleo (por ejemplo, íleo postoperatorio), gastroparesia, pirosis (acidez elevada en el tracto GI), estreñimiento (por ejemplo, estreñimiento asociados con el uso de medicaciones tales como opioides, fármacos para la osteoartritis, fármacos para la osteoporosis, estreñimiento post-operatorio, estreñimiento asociado a trastornos neuropáticos).

En un aspecto, la presente invención se refiere un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3-8, y a composiciones terapéuticas que contienen estos péptidos. Los péptidos son idénticos a un número de identificación de secuencia mencionado.

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

Todavía en otro aspecto, una invención proporciona la administración a dicho paciente de una dosis eficaz de un inhibidor de la fosfodiesterasa específica de GMPc (GMPc-PDE) ya sea de forma simultánea o secuencial a dicho agonista del receptor de la guanilato ciclasa. El inhibidor de GMPc-PDE incluye, por ejemplo, sulfona sulindaco, zaprinast y motapizona, vardenifilo y sildenafil. Además, los péptidos agonistas de GC-C se pueden usar 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 (AINE).

Otras características y ventajas de la invención serán evidentes y están abarcadas por la siguiente descripción detallada y las reivindicaciones.

Descripción detallada

La presente invención se basa en el desarrollo de agonistas de la guanilato ciclasa-C (GC-C). Los agonistas son análogos de uroguanilina y tienen propiedades superiores, tales como, por ejemplo, una alta resistencia a la degradación en los extremos N-terminal y C-terminal con carboxipeptidasas y/o con otras enzimas proteolíticas, tales como las presentes en los jugos intestinales humanos simulados (FIS) y jugos gástricos humanos simulados (FGS). Específicamente, estos péptidos contienen un d-aminoácido en el extremo amino-terminal y el extremo carboxi terminal. Adicionalmente estos péptidos se modifican para enmascarar el ácido carboxílico carboxi terminal con una amida. Por tanto, el péptido está protegido en ambos extremos de la degradación por proteasas presentes en FIS y

FGS. Los ejemplos de un péptido de este tipo incluyen SP-363, SP-365, SP-367 y SP-373 mostrados en la tabla I.

5 La GC-C se expresa en varias células incluyendo las células epiteliales gastrointestinales, y en tejidos extraintestinales, incluyendo riñón, pulmón, páncreas, glándula pituitaria, glándula adrenal, hígado en desarrollo, corazón y tejidos reproductores masculinos y femeninos (revisado por Vaandrager 2002 Mol Cell Biochem 230:73-83). La GC-C es un regulador clave del equilibrio de líquidos y electrolitos en el intestino y el riñón. En el intestino, cuando se estimula, la GC-C provoca un aumento de GMPc en el epitelio intestinal. Este aumento en GMPc provoca una disminución en la absorción de agua y sodio, y un aumento en la secreción de cloruro e iones de potasio, dando lugar a cambios en el fluido intestinal y el transporte de electrolitos y un aumento de la motilidad intestinal.

10 Los agonistas de la guanilato ciclasa-C de acuerdo con la invención, incluyen SEQ ID NO: 8 y 9. Estos péptidos y otros péptidos se describen en esta memoria y se resumen a continuación en la tabla I. Los agonistas de la guanilato ciclasa-C de acuerdo con la invención, se denominan colectivamente en esta memoria "péptidos GCRA".

Tabla I Péptidos GCRA

Nombre	Estructura	SEQ ID NO:
SP304	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-333	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	2
SP-363	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-AMIDA ¹⁶	3
SP-364	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 -dSer ¹⁶	4
SP-365	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 -dSer-AMIDA ¹⁶	5
SP-366	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 -dTyr ¹⁶	6
SP-367	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 -dTyr-AMIDA ¹⁶	7
SP-373	Pylglu 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-AMIDA ¹⁶	8

Los péptidos GCRA descritos en esta memoria se unen a la guanilato ciclasa C (GC-C) y estimulan la producción intracelular de monofosfato cíclico de guanosina (GMPc). Opcionalmente, los péptidos GCRA inducen la apoptosis. En algunos aspectos, los péptidos GCRA estimulan la producción de GMPc intracelular a niveles superiores que los agonistas de GC-C de origen natural (por ejemplo, uroguanilina, guanilina y péptidos ST) y/o SP-304. Por ejemplo, los péptidos GCRA de la invención estimulan 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 75%, 90% o más el GMPc intracelular, en comparación con agonistas de GC-C de origen natural y/o SP-304. Los términos inducido y estimulado se utilizan indistintamente en toda la memoria. Los péptidos GCRA descritos en la presente memoria son más estables que los agonistas de GC-C de origen natural y/o SP-304. Por más estable se entiende que el péptido se degrada menos y/o más lentamente en un fluido gastrointestinal simulado y/o un fluido intestinal simulado, en comparación con agonistas de GC-C de origen natural y/o SP-304. Por ejemplo, el péptido GCRA de la invención se degrada 2%, 3%, 5%, 10%, 15%, 20%, 30%, 40%, 50%, 75%, 90% o menos, en comparación con agonistas de GCC de origen natural y/o SP-304.

Los péptidos GCRA descritos en la presente memoria tienen un valor terapéutico en el tratamiento de una amplia variedad de trastornos y afecciones que incluyen, por ejemplo, trastornos gastrointestinales, trastornos inflamatorios, trastornos pulmonares, cáncer, trastornos cardíacos, trastornos oculares, trastornos orales, trastornos sanguíneos, trastornos hepáticos, trastornos de la piel, trastornos de la próstata, trastornos endocrinos, motilidad gastrointestinal incrementada y obesidad. Los trastornos gastrointestinales incluyen, por ejemplo, síndrome de intestino irritable (SII), enterocolitis necrotizante (ECN), dispepsia no ulcerosa, pseudo-obstrucción intestinal crónica, dispepsia funcional, pseudo-obstrucción colónica, reflujo duodenogástrico, enfermedad por reflujo gastroesofágico (ERGE), íleo (por ejemplo, íleo postoperatorio), gastroparesia, pirosis (acidez elevada en el tracto GI), estreñimiento (por ejemplo, estreñimiento asociado con el uso de medicaciones tales como opioides, fármacos para osteoartritis, fármacos para osteoporosis; estreñimiento postquirúrgico, estreñimiento asociado a trastornos neuropáticos. Los trastornos inflamatorios incluyen inflamación de tejidos y órganos tales como la inflamación del riñón (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 de la piel (por ejemplo, psoriasis, eczema). Los trastornos pulmonares incluyen, por ejemplo, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) y fibrosis. El cáncer incluye carcinogénesis en tejidos y órganos incluyendo metástasis tales como, por ejemplo, cáncer gastrointestinal, (por ejemplo, cáncer gástrico, cáncer de esófago, cáncer de páncreas, cáncer colorrectal, cáncer intestinal, cáncer anal, cáncer de hígado, cáncer de vesícula biliar o cáncer de colon; cáncer de pulmón; cáncer de tiroides; cáncer de piel (por ejemplo, melanoma); cáncer oral; cáncer del tracto urinario (por ejemplo, cáncer de vejiga o cáncer de riñón); cáncer de la sangre (por ejemplo, mieloma o leucemia) o cáncer de próstata. Los trastornos 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 ojos secos, trastornos de las glándulas lagrimales o inflamaciones oculares. Los trastornos de la piel incluyen, por ejemplo, xerosis. Los trastornos orales incluyen, por ejemplo, sequedad de la boca (xerostomía), síndrome de Sjögren, enfermedades de las encías (por ejemplo, enfermedad periodontal) o bloqueo o mal funcionamiento del conducto de la glándula salival. Los trastornos de la próstata incluyen, por ejemplo, la hiperplasia benigna de próstata (HBP). Los trastornos endocrinos incluyen, por ejemplo, diabetes mellitus, hipertiroidismo, hipotiroidismo y fibrosis quística.

Tal como se usa en esta memoria, la expresión "guanilato ciclasa C (GC-C)" se refiere a la clase de receptor de la guanilato ciclasa C en cualquier tipo de célula a la que se unen los péptidos agonistas de la invención o los agonistas naturales descritos en este documento. Tal como se utiliza en la presente memoria, el "receptor de guanilato ciclasa intestinal" se encuentra exclusivamente en las células epiteliales que recubren la mucosa GI. De la uroguanilina, la guanilina y los péptidos ST se espera que se unan a estos receptores y puedan inducir la apoptosis. La posibilidad de que pueda haber diferentes receptores para cada péptido agonista no está excluida. Por lo tanto, la expresión se refiere a la clase de receptores de la guanilato ciclasa en células epiteliales que recubren la mucosa GI.

Tal como se utiliza en esta memoria, la expresión "agonista de GCR" se refiere a péptidos y/o otros compuestos que se unen a una guanilato ciclasa C intestinal y estimulan el transporte de electrolitos y fluidos. Esta expresión también abarca fragmentos y propéptidos que se unen a la GC-C y estimulan la secreción de fluido y agua.

Tal como se utiliza en esta memoria, la expresión "sustancialmente equivalente" se refiere a un péptido que tiene una secuencia de aminoácidos equivalente a la del dominio de unión en donde se pueden delecionar o sustituir por otros aminoácidos determinados residuos, sin afectar a la capacidad del péptido para unirse a un receptor de la guanilato ciclasa intestinal y estimular el transporte de electrolitos y fluidos.

La adición de vehículos (por ejemplo, solución salina tamponada con fosfato o PBS) y otros componentes, a la composición de la presente invención es bien conocida por los expertos en esta técnica. Además del compuesto, tales composiciones pueden contener vehículos farmacéuticamente aceptables y otros ingredientes conocidos por facilitar la administración y/o mejorar la absorción. Otras formulaciones, tales como microesferas, nanopartículas, liposomas y sistemas con base inmunológica también se pueden usar de acuerdo con la presente invención. Otros ejemplos incluyen formulaciones con polímeros (por ejemplo, 20% p/v de polietilenglicol) o celulosa, o formulaciones entéricas.

La presente invención se basa en varios conceptos. El primero es que existe un mecanismo dependiente de GMPc que regula el equilibrio entre la proliferación celular y la apoptosis, y que una reducción de los niveles de GMPc, debido a una deficiencia de uroguanilina/guanilina y/o debido a la activación de fosfodiesterasas específicas de GMPc, es una etapa temprana y decisiva en la transformación neoplásica. Un segundo concepto es que la liberación de ácido araquidónico desde los fosfolípidos de la membrana, que conduce a la activación de la fosfolipasa A2 citoplasmática (cPLA2), la ciclooxigenasa-2 (COX-2) y, posiblemente, la 5-lipoxigenasa (5-LO) durante el proceso de inflamación, está regulada a la baja por un mecanismo dependiente de GMPc, lo que conduce a niveles reducidos de prostaglandinas y leucotrienos, y que el aumento de niveles intracelulares de GMPc puede producir de este modo una respuesta antiinflamatoria. Además, un mecanismo dependiente de GMPc se cree que está implicado en el control de procesos proinflamatorios. Por lo tanto, elevar los niveles intracelulares de GMPc se puede utilizar como un medio para tratar y controlar los trastornos gastrointestinales, trastornos inflamatorios, trastornos pulmonares, cáncer, trastornos cardíacos, trastornos oculares, trastornos orales, trastornos sanguíneos, trastornos hepáticos, trastornos de la piel, trastornos de la próstata, trastornos endocrinos, motilidad gastrointestinal incrementada y obesidad. Los trastornos gastrointestinales incluyen, por ejemplo, síndrome de intestino irritable (SII), enterocolitis necrotizante (ECN), dispepsia no ulcerosa, pseudo-obstrucción intestinal crónica, dispepsia funcional, pseudo-obstrucción colónica, reflujo duodenogástrico, enfermedad por reflujo gastroesofágico (ERGE), íleo (por ejemplo, íleo post-operatorio), gastroparesia, pirosis (acidez alta en el tracto GI), estreñimiento (por ejemplo, estreñimiento asociado con el uso de medicaciones tales como opioides, fármacos para osteoartritis, fármacos para osteoporosis; estreñimiento postquirúrgico, estreñimiento asociado a trastornos neuropáticos. Los trastornos inflamatorios incluyen inflamación de tejidos y órganos tales como la inflamación del riñón (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 de la piel (por ejemplo, psoriasis, eczema). Los trastornos pulmonares incluyen, por ejemplo, EPOC y fibrosis. El cáncer incluye carcinogénesis en tejidos y órganos incluyendo metástasis tales como, por ejemplo, cáncer gastrointestinal, (por ejemplo, cáncer gástrico, cáncer de esófago, cáncer de páncreas, cáncer colorrectal, cáncer intestinal, cáncer anal, cáncer de hígado, cáncer de vesícula biliar o cáncer de colon; cáncer de pulmón; cáncer de tiroides; cáncer de piel (por ejemplo, melanoma); cáncer oral; cáncer del tracto urinario (por ejemplo, cáncer de vejiga o cáncer de riñón); cáncer de la sangre (por ejemplo, mieloma o leucemia) o cáncer de próstata. Los trastornos 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 30 intraocular, glaucoma, degeneración de la retina por ojos secos, trastornos de las glándulas lagrimales o inflamaciones oculares. Los trastornos de la piel incluyen, por ejemplo, xerosis. Los trastornos orales incluyen, por ejemplo, sequedad de la boca (xerostomía), síndrome de Sjögren, enfermedades de las encías (por ejemplo, enfermedad periodontal) o bloqueo o mal funcionamiento del conducto de la glándula salival. Los trastornos de la próstata incluyen, por ejemplo, la hiperplasia benigna de próstata (HBP). Los trastornos endocrinos incluyen, por ejemplo, diabetes mellitus, hipertiroidismo, hipotiroidismo y fibrosis quística.

Sin pretender estar limitado por ninguna teoría, se contempla que el transporte de iones a través de la membrana plasmática puede llegar a ser un importante regulador del equilibrio entre la proliferación celular y la apoptosis que se verá afectado por agentes que alteran las concentraciones de GMPc. Se ha observado que la uroguanilina estimula el flujo de salida de K⁺, el flujo de entrada de Ca⁺⁺ y el transporte de agua en el tracto gastrointestinal (3). Además, el péptido natriurético atrial (ANP), un péptido que también se une a un receptor específico de la guanilato ciclasa, también se ha observado que induce la apoptosis en células mesangiales de rata, y que induce la apoptosis en miocitos cardíacos por un mecanismo de GMPc (21-24).

La unión de los presentes agonistas a un receptor de la guanilato ciclasa estimula la producción de GMPc. Esta interacción ligando-receptor, a través de la activación de una cascada de cinasas de proteínas dependientes de GMPc y CFTR, induce la apoptosis en las células diana. Por lo tanto, la administración de los nuevos péptidos definidos por la SEQ ID NO: 2-8, tal como se muestra en la tabla I, son útiles para eliminar o, al menos retrasar, la aparición de trastornos gastrointestinales, trastornos inflamatorios, trastornos pulmonares, cáncer, trastornos cardíacos, trastornos oculares, trastornos orales, trastornos sanguíneos, trastornos hepáticos, trastornos de la piel, trastornos de la próstata, trastornos endocrinos, aumento de la motilidad gastrointestinal y obesidad. Los trastornos gastrointestinales incluyen, por ejemplo, síndrome de intestino irritable (SII), enterocolitis necrotizante (ECN), dispepsia no ulcerosa, pseudoobstrucción intestinal crónica, dispepsia funcional, pseudo-obstrucción colónica, reflujo duodenogástrico, enfermedad por reflujo gastroesofágico (ERGE), íleo (por ejemplo, íleo postoperatorio), gastroparesia, pirosis (acidez alta en el tracto GI), estreñimiento (por ejemplo, estreñimiento asociado con el uso de medicaciones tales como opioides, fármacos para osteoartritis, fármacos para osteoporosis; estreñimiento postquirúrgico, estreñimiento asociado a trastornos neuropáticos. Los trastornos inflamatorios incluyen inflamación de tejidos y órganos tales como la inflamación del riñón (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 de la piel (por ejemplo, psoriasis, eczema). Los trastornos pulmonares incluyen, por ejemplo, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) y fibrosis. El cáncer incluye carcinogénesis en tejidos y órganos incluyendo metástasis tales como, por ejemplo, cáncer gastrointestinal, (por ejemplo, cáncer gástrico, cáncer de esófago, cáncer de páncreas, cáncer colorrectal, cáncer intestinal, cáncer anal, cáncer de hígado, cáncer de vesícula biliar o cáncer de colon; cáncer de pulmón; cáncer de tiroides; cáncer de piel (por ejemplo, melanoma); cáncer oral; cáncer del tracto urinario (por ejemplo, cáncer de vejiga o cáncer de

riñón); cáncer de la sangre (por ejemplo, mieloma o leucemia) o cáncer de próstata. Los trastornos cardiacos incluyen, por ejemplo, insuficiencia 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 ojos secos, trastornos de las glándulas lagrimales o inflamaciones oculares. Los trastornos de la piel incluyen, por ejemplo, xerosis. Los trastornos orales incluyen, por ejemplo, sequedad de la boca (xerostomía), síndrome de Sjögren, enfermedades de las encías (por ejemplo, enfermedad periodontal) o bloqueo o mal funcionamiento del conducto de la glándula salival. Los trastornos de la próstata incluyen, por ejemplo, la hiperplasia benigna de próstata (HBP). Los trastornos endocrinos incluyen, por ejemplo, diabetes mellitus, hipertiroidismo, hipotiroidismo y fibrosis quística.

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

Péptidos GCRA

En un aspecto, la invención proporciona un péptido GCRA consistente en la secuencia de una cualquiera de SEQ ID NO: 3-8. Los péptidos GCRA son análogos de la uroguanilina y del péptido ST bacteriano. No se implica una longitud particular en el término "péptido". Los péptidos GCRA también pueden tener una longitud menor de 25 aminoácidos, por ejemplo, menor o igual a 20, 15, 14, 13, 12, 11, 10 o 5 aminoácidos de longitud.

Los péptidos GCRA pueden ser polímeros de L-aminoácidos, D-aminoácidos, o una combinación de ambos. Por ejemplo, en diversas realizaciones, los péptidos son péptidos D retro-inversos. La expresión "isómero retro-inverso" se refiere a un isómero de un péptido lineal en el que la dirección de la secuencia se invierte y la quiralidad de cada residuo de aminoácido está invertida. Véase, por ejemplo, Jameson y col., *Nature*, 368, 744-746 (1994); Brady y col., *Nature*, 368, 692-693 (1994). El resultado neto de la combinación de D-enantiómeros y la síntesis inversa es que las posiciones de los grupos carbonilo y amino en cada enlace amida se intercambian, mientras que se conserva la posición de los grupos de la cadena lateral en cada carbono alfa. A menos que se establezca específicamente otra cosa, se supone que cualquier secuencia dada de L-aminoácido se puede convertir en un péptido D retro-inverso mediante la síntesis de una secuencia inversa para la secuencia natural de L-aminoácidos correspondiente.

Mediante la inducción de la producción de GMPc se entiende que el péptido GCRA induce la producción de GMPc intracelular. El GMPc intracelular se mide por métodos conocidos en la técnica. Por ejemplo, el péptido GCRA de la invención estimula 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 75%, 90% o más el GMPc intracelular, en comparación con agonistas de GC-C de origen natural. Opcionalmente, los péptidos GCRA de la invención estimulan 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 75%, 90% o más el GMPc intracelular, en comparación con SP-304 (SEQ ID NO: 1). En otras realizaciones, el péptido GCRA estimula la apoptosis, por ejemplo, la muerte celular programada o activa el regulador de la conductancia transmembranal de la fibrosis quística (CFTR). En algunas realizaciones, los péptidos GCRA descritos en la presente memoria, son más estables que los agonistas de GC-C de origen natural y/o SP-304 (SEQ ID NO: 1). Por más estable se entiende que el péptido se degrada menos y/o más lentamente en el fluido gástrico simulado y/o el fluido intestinal simulado, en comparación con agonistas de GC-C de origen natural y/o SP-304. Por ejemplo, el péptido GCRA de la invención se degrada 2%, 3%, 5%, 10%, 15%, 20%, 30%, 40%, 50%, 75%, 90% o menos, en comparación con agonistas de GC-C de origen natural y/o SP-304.

Tal como se utiliza en la presente memoria, la expresión "ASIDE" pretende indicar que el ácido carboxílico terminal se reemplaza por un grupo amida, es decir, el COOH terminal se reemplaza por CONH₂.

Uno o varios aminoácidos de los péptidos GCRA se pueden reemplazar por un aminoácido de origen artificial o un análogo de aminoácido natural o artificial. Hay muchos aminoácidos además de los 20 convencionales (Ala, Arg, Asn, Asp, Cys, Gln, Glu, Gly, His, Phe, Ile, Leu, Lys, Met, 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 and Biochemistry of the Amino Acids", Barrett, Chapman and Hall, 1985). Por ejemplo, un aminoácido aromático puede estar sustituido por 3,4-dihidroxi-L-fenilalanina, 3-yodo-L-tirosina, triyodotironina, L-tiroxina, fenilglicina (Phg) o nor-tirosina (norTyr). Phg y norTyr y otros aminoácidos que incluyen Phe y Tyr pueden estar sustituidos, por ejemplo, por un halógeno, -CH₃, -OH, -CH₂NH₃, -C(O)H, -CH₂CH₃, -CN, -CH₂CH₂CH₃, -SH u otro grupo. Cualquier aminoácido puede estar sustituido por la forma D del aminoácido.

Con respecto a los aminoácidos que no son de origen natural o los análogos de aminoácidos que son de origen natural y artificial, es posible un número de sustituciones en el polipéptido y los agonistas descritos en este documento de forma individual o en combinación.

Por ejemplo, los residuos de glutamina pueden estar sustituidos con gamma-hidroxi-Glu o gamma-carboxi-Glu. Los residuos de tirosina pueden estar sustituidos con un aminoácido sustituido en alfa, 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-Phe; fluoro-Phe; ciclohexil-Gly; tBu-Gly; beta-(3-benzotienil)-Ala; beta-(2-tienil)-Ala; 5-metil-Trp; y A-metil-Trp. Los residuos de prolina pueden estar sustituidos con homopro (ácido L-pipecólico); hidroxil-Pro; 3,4-deshidro-Pro; 4-fluoro-Pro; o alfa-metil-Pro o análogos de aminoácidos ciclados en N(alfa)-C(alfa) con la estructura: n = 0, 1, 2, 3. Los residuos de alanina pueden estar sustituidos con un aminoácido alfa-sustituido o N-metilado, tal como ácido alfa-amino isobutírico (aib), L/D-alfa-etilalanina (L/D-isovalina), L/Dmetilvalina o L/D-alfa-metileucina o un aminoácido no natural tal como beta-fluoro-Ala. La alanina también se puede sustituir con: n = 0, 1, 2, 3. Los residuos de glicina pueden estar sustituidos con ácido alfa-amino isobutírico (aib) o L/D-alfa-etilalanina (L/D-isovalina).

Otros ejemplos de aminoácidos artificiales incluyen: un análogo no natural de tirosina; un análogo no natural de glutamina; un análogo no natural de fenilalanina; un análogo no natural de serina; un análogo no natural de treonina; un aminoácido sustituido con alquilo, arilo, acilo, hidracina, azido, ciano, halo, hidrazida, hidroxilo, alquenilo, alquinilo, éter, tiol, sulfonilo, seleno, éster, tioácido, borato, boronato, fosfo, fosfono, fosfina, heterociclo, enona, imina, aldehído, hidroxilamina, ceto o amino, o cualquier combinación de los mismos; un aminoácido con un agente de entrecruzamiento fotoactivable; un aminoácido marcado con espín; un aminoácido fluorescente; un aminoácido con un grupo funcional nuevo; un aminoácido que interacciona de forma covalente o no covalente con otra molécula; un aminoácido que se une a metal; un aminoácido que está amidado en un sitio que no se amida de forma natural; un aminoácido que contiene metal; un aminoácido radiactivo; un aminoácido fotoactivable y/o fotoisomerizable; un aminoácido que contiene una biotina o un análogo de biotina; un aminoácido glicosilado o modificado 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 escindible químicamente o fotoescindible; un aminoácido con una cadena lateral elongada; un aminoácido que contiene un grupo tóxico; un aminoácido sustituido con azúcar, por ejemplo, una serina sustituida con azúcar o similares; un aminoácido que contiene azúcar unida a carbono; un aminoácido activo redox; un ácido que contiene α -hidroxil; un aminoácido que contiene aminotioácido; un aminoácido disustituido en α,α ; un β -aminoácido; un aminoácido cíclico que no sea prolina; una O-metil-L-tirosina; una L-3-(2-naftil)alanina; una 3-metilfenilalanina; una p-acetil-L-fenilalanina; una O-4-alil-L-tirosina, una 4-propil-L-tirosina; una tri-O-acetil-GlcNAc β -serina; una L-Dopa; una fenilalanina fluorada; una isopropil-L-fenilalanina, una p-azido-L-fenilalanina; una p-acil-L-fenilalanina, una p-benzoil-L-fenilalanina; una L-fosfoserina; una fosfonoserina; una fosfotirosina; una p-yodo-fenilalanina; una 4-fluorofenilglicina; una p-bromofenilalanina; una p-amino-L-fenilalanina; una isopropil-L-fenilalanina, L-3-(2-naftil)alanina, D-3-(2-naftil)alanina (dNal); un análogo de fenilalanina que contiene amino-, isopropil-, o O-alil-; una dopa, O-metil-L-tirosina; un aminoácido glicosilado, una p-(propargiloxi)fenilalanina; dimetilisina; ácido mercaptopropiónico; hidroxil-prolina; metil-lisina; 3-nitro-tirosina; norleucina; ácido piro-glutámico; Z (carbобензоxilo); ϵ -acetil-lisina; β -alanina; derivado de aminobenzoilo; ácido aminobutírico (Abu); citrulina; ácido aminohexanoico; ácido aminoisobutírico (AIB); ciclohexilalanina; d-ciclohexilalanina; hidroxiprolina; nitro-arginina; nitro-fenilalanina; nitro-tirosina; norvalina; carboxilato de octahidroindol; ornitina (Orn); penicilamina (PEN); tetrahidroisoquinolina; aminoácidos protegidos en acetamidometilo y aminoácidos pegiladas. Otros ejemplos de aminoácidos no naturales y análogos de aminoácidos se pueden encontrar en los documentos de patente de US 20030108885, US 20030082575, US 20060019347 (párrafos 410-418) y las referencias citadas en los mismos. Los polipéptidos descritos en esta memoria pueden incluir modificaciones adicionales, como las que se describen en el documento US20060019347, párrafo 589. Los péptidos GCRA ejemplares que incluyen un aminoácido no natural incluyen, por ejemplo, SP-368 y SP-369.

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

Alternativamente, los péptidos GCRA son péptidos cíclicos. El péptido cíclico GCRA se prepara por métodos conocidos en la técnica. Por ejemplo, la macrociclación se logra frecuentemente mediante la formación de un enlace amida entre los extremos N y C-terminales del péptido, entre una cadena lateral y el extremo N o C-terminal [por ejemplo, con K₃Fe(CN)₆ a pH 8,5] (Samson y col., *Endocrinology* 137: 5182-5185 (1996)), o entre dos cadenas laterales de aminoácidos, como la cisteína. Véase, por ejemplo, DeGrado, *Adv Protein Chem.*, 39:51-124 (1988). Los péptidos GCRA de la presente invención son biciclos [4,12; 7,15].

En algunos péptidos GCRA uno o ambos miembros de una o ambas parejas de residuos Cys que normalmente forman un enlace disulfuro, se pueden sustituir por homocisteína, penicilamina, 3-mercaptoprolina (Kolodziej y col., 1996 *Int J Pept Protein Res* 48:274); β,β -dimetilcisteína (Hunt y col., 1993 *Int J Pept Protein Res* 42:249) o ácido diaminopropiónico (Smith y col. 1978 *J Med Chem* 2 1:117) para formar entrecruzamientos internos alternativos en las posiciones de los enlaces disulfuro normales.

Además, uno o varios enlaces disulfuro se pueden reemplazar por entrecruzamientos covalentes alternativos, por ejemplo, un enlace amida (-CH₂CH(O)NHCH₂- o -CH₂NHCH(O)CH₂-), un enlace éster, un enlace tioéster, un puente de lactama, un enlace de carbamoilo, un enlace de urea, un enlace de tiourea, un enlace de éster fosfonato, un enlace alquilo (-CH₂CH₂CH₂CH₂-), un enlace alquenilo (-CH₂CH=CHCH₂-), un enlace éter (-CH₂CH₂OCH₂- o -CH₂OCH₂CH₂-), un enlace tioéter (-CH₂CH₂SCH₂-o -CH₂SCH₂CH₂-), un enlace amina (-CH₂CH₂NHCH₂- o -CH₂NHCH₂CH₂-) o un enlace tioamida (-CH₂CH(S)HNHCH₂- o -CH₂NHCH(S)CH₂-). Por ejemplo, Ledu y col.

(Proc Natl Acad. Sci. 100:11263-78, 2003) describen métodos para preparar entrecruzamientos de lactama y amida. Ejemplos de péptidos GCRA que incluyen un puente de lactama incluyen, por ejemplo, SP-370.

Los péptidos GCRA pueden tener uno o varios enlaces polipeptídicos convencionales sustituidos por un enlace alternativo. Dichas sustituciones pueden aumentar la estabilidad del polipéptido. Por ejemplo, la sustitución del enlace polipeptídico entre un residuo amino terminal y un residuo aromático (por ejemplo, Tyr, Phe, Trp) por un enlace alternativo, puede reducir la escisión con carboxipeptidasas y puede aumentar la semivida en el tracto digestivo. Los enlaces que pueden reemplazar los enlaces polipeptídicos incluyen: un enlace retro-inverso (C(O)-NH en lugar de NH-C(O)); un enlace de amida reducida (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 trans-olefina sustituido con flúor (CF=CH); un enlace cetometileno (C(O)-CHR o CHR-C(O) en donde R es H o CH₃); y un enlace fluoro-cetometileno (C(O)-CFR o CFR-C(O) en donde R es H o F o CH₃).

Los péptidos GCRA se pueden modificar empleando modificaciones convencionales. Las modificaciones pueden tener lugar en el extremo amino (N-), carboxi (C-) terminal, internamente, o una combinación de cualquiera de las precedentes. En un aspecto descrito en la presente memoria, puede haber más de un tipo de modificación en el polipéptido. Las modificaciones incluyen pero no se limitan a: acetilación, amidación, biotilación, cinamoilación, farnesilación, formilación, miristoilación, palmitoilación, fosforilación (Ser, Tyr o Thr), estearoilación, succinilación, sulfuración y ciclación (a través de puentes disulfuro o ciclación de amida), y modificación por Cys3 o Cys5. Los péptidos GCRA descritos en esta memoria, se pueden modificar mediante 2,4-dinitrofenilo (DNP), DNP-lisina, modificación mediante 7-amino-4-metil-cumarina (AMC), fluoresceína, NBD (7-Nitrobenz-2-oxa-1,3-diazol), p-nitroanilida, rodamina B, EDANS (ácido 5-((2-aminoetil)amino)naftalen-1-sulfónico), dabculo, dabsilo, dansilo, rojo de texas, FMOC y Tamra (tetrametilrodamina). Los péptidos GCRA descritos en este 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 ácidos grasos (véase, el documento de patente US 6.309.633; Soltero y col., 2001 "Innovations in Pharmaceutical Technology" 106-110); BSA y KLH (hemocianina de lapa bocallave). La adición de PEG y otros polímeros que se pueden utilizar para modificar los polipéptidos de la invención se describen en el documento US20060 19347 sección IX.

También se describen péptidos que son biológica o funcionalmente equivalentes de los péptidos descritos en la presente memoria. La expresión "biológicamente equivalente" o "funcionalmente equivalente" significa que las composiciones de la presente invención son capaces de mostrar algunos o todos los efectos moduladores de la producción de GMPc.

Los péptidos GCRA también pueden incluir derivados de péptidos GCRA que están destinados a incluir formas híbridas y modificadas de los péptidos GCRA, en las que ciertos aminoácidos se han deletado o sustituido, y modificaciones tales como en las que uno o varios aminoácidos se han cambiado a un aminoácido modificado o un aminoácido inusual y modificaciones tales como la glicosilación, siempre que la forma modificada conserve la actividad biológica de los péptidos GCRA. Por conservación de la actividad biológica, se entiende que el péptido GCRA induce la apoptosis o el GMPc, aunque no necesariamente con el mismo nivel de potencia que la de un péptido GCRA de origen natural identificado.

Las variantes preferidas son aquellas que tienen sustituciones conservadoras de aminoácidos, realizadas en uno o varios residuos de aminoácidos no esenciales previstos. Una "sustitución conservadora de aminoácidos" es una en la cual el residuo de aminoácidos se reemplaza con un residuo de aminoácidos que tiene una cadena lateral similar. Familias de residuos de aminoácidos que tienen cadenas laterales similares han sido definidas en la técnica. Estas familias incluyen aminoácidos con cadenas laterales básicas (por ejemplo, lisina, arginina, histidina), cadenas laterales ácidas (por ejemplo, ácido aspártico, ácido glutámico), cadenas laterales no cargadas polares (por ejemplo, glicina, asparagina, glutamina, serina, treonina, tirosina, cisteína), cadenas laterales no polares (por ejemplo, alanina, valina, leucina, isoleucina, prolina, fenilalanina, metionina, triptófano), cadenas laterales beta-ramificadas (por ejemplo, treonina, valina, isoleucina) y cadenas laterales aromáticas (por ejemplo, tirosina, fenilalanina, triptófano, histidina). Así, un residuo de aminoácido no esencial previsto en un polipéptido GCRA, se reemplaza con otro residuo de aminoácido de la misma familia de cadena lateral. Alternativamente, en otra realización, se pueden introducir mutaciones al azar a lo largo de toda o de parte de una secuencia que codifica GCRA, tal como por mutagénesis de saturación, y los mutantes resultantes se pueden escrutar para identificar mutantes que conservan la actividad.

También se incluye dentro del significado de sustancialmente homólogo, a cualquier péptido GCRA que se puede aislar en virtud de la reactividad cruzada con anticuerpos del péptido GCRA.

Preparación de péptidos GCRA

Los péptidos GCRA se preparan fácilmente empleando técnicas modernas de clonación, o se pueden sintetizar por métodos en estado sólido o por mutagénesis dirigida al sitio. Un péptido GCRA puede incluir las formas dominantes negativas de un polipéptido.

La síntesis química generalmente se puede realizar usando técnicas de síntesis de péptidos convencionales en fase de solución o en fase sólida, en donde se produce un enlace peptídico a través de la condensación directa del grupo amino de un aminoácido con el grupo carboxilo del otro aminoácido, con la eliminación de una molécula de agua. La síntesis de enlaces peptídicos por condensación directa, tal y como se ha formulado anteriormente, requiere la supresión del carácter reactivo del grupo amino del primer aminoácido y del grupo carboxilo del segundo aminoácido. Los sustituyentes de enmascaramiento deben permitir una fácil eliminación de los mismos, sin inducir la degradación de la molécula peptídica lábil.

En la síntesis en fase de solución, se puede utilizar una amplia variedad de métodos de acoplamiento y 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 la escala lineal. Los expertos normales en la técnica apreciarán que la síntesis en solución requiere la consideración de grupos protectores de la cadena principal y de cadenas laterales y el método de activación. Además, es necesaria una selección cuidadosa del segmento para minimizar la racemización durante la condensación del segmento. Las consideraciones de la solubilidad son también un factor. La síntesis de péptidos en fase sólida usa un polímero insoluble como soporte durante la síntesis orgánica. La cadena peptídica sujeta con el polímero, permite el uso de una simple etapa de lavado y de filtración, en lugar de purificaciones laboriosas en etapas intermedias. La síntesis de péptidos en fase sólida se puede realizar generalmente de acuerdo con el método de Merrifield y col., J. Am. Chem. Soc., 1963, 85:2149, que implica ensamblar una cadena peptídica lineal sobre un soporte de resina usando aminoácidos protegidos. La síntesis de péptidos en fase sólida utiliza una estrategia ya sea de Boc o Fmoc, que son bien conocidas en la técnica.

Los expertos normales en la técnica reconocerán que, en la síntesis en fase sólida, las reacciones de desprotección y acoplamiento deben completarse y los grupos de bloqueo de la cadena lateral deben ser estables a lo largo de la síntesis. Además, la síntesis en fase sólida es generalmente la más apropiada cuando los péptidos se deben preparar a pequeña escala.

La acetilación del extremo N-terminal se puede conseguir haciendo reaccionar el péptido final con anhídrido acético, antes de la escisión desde la resina. La C-amidación se lleva a cabo usando una resina apropiada tal como una resina de metilbenzimidilamina usando la tecnología Boc.

Alternativamente, los péptidos GCRA se producen por técnicas de clonación modernas. Por ejemplo, los péptidos GCRA se producen ya sea en bacterias, incluyendo, sin limitación, *E. coli*, o en otros sistemas existentes para la producción de polipéptidos o proteínas (por ejemplo, *Bacillus subtilis*, sistemas de expresión de baculovirus usando células Sf9 de *Drosophila*, levadura o sistemas de expresión de hongos filamentosos, sistemas de expresión de células de mamífero), o se pueden sintetizar químicamente. Si el péptido GCRA o un péptido variante se va a producir en bacterias, por ejemplo, *E. coli*, la molécula de ácido nucleico que codifica el polipéptido también puede codificar una secuencia líder que permite la secreción del polipéptido maduro a partir de la célula. Así, la secuencia que codifica el polipéptido puede incluir la presecuencia y la prosecuencia, por ejemplo, de un polipéptido ST bacteriano de origen natural. El polipéptido maduro secretado, se puede purificar a partir del medio de cultivo.

La secuencia que codifica un péptido GCRA descrita en esta memoria se puede insertar en un vector capaz de suministrar y mantener la molécula de ácido nucleico en una célula bacteriana. La molécula de ADN puede insertarse en un vector de replicación autónoma (los vectores adecuados incluyen, por ejemplo, pGEM3Z y pcDNA3, y derivados de los mismos). El ácido nucleico del vector puede ser ADN bacteriano o de bacteriófago, tal como el bacteriófago lambda o M13 y derivados de los mismos. La construcción de un vector que contiene un ácido nucleico descrito en esta memoria, se puede seguir mediante la transformación de una célula hospedadora tal como una bacteria. Los hospedadores bacterianos adecuados incluyen, pero no están limitados a, *E. coli*, *B. subtilis*, *Pseudomonas*, *Salmonella*. La estructura artificial genética también incluye, además de la molécula de ácido nucleico codificante, elementos que permiten la expresión, tales como secuencias promotoras y reguladoras. Los vectores de expresión pueden contener secuencias de control de la transcripción que controlan la iniciación de la transcripción, tales como secuencias promotoras, potenciadoras, operadoras y represoras.

Una variedad de secuencias de control de la transcripción son bien conocidas en la técnica. 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 interno de entrada al ribosoma). El vector puede ser capaz de una replicación autónoma o puede estar integrado en un ADN hospedador para asegurar la estabilidad durante la producción del polipéptido.

La secuencia codificadora de la proteína que incluye un péptido GCRA descrito en la presente memoria, también se puede fusionar con un ácido nucleico que codifica un marcador con afinidad hacia el polipéptido, por ejemplo, glutatión-S-transferasa (GST), proteína que se une a la maltosa E, proteína A, marcador FLAG, hexahistidina, marcador myc o marcador HA de la gripe, con el fin de facilitar la purificación. La fusión del marcador de afinidad o informador une el marco de lectura del polipéptido de interés con el marco de lectura del gen que codifica el marcador de afinidad, de modo que se genera una fusión de traducción. La expresión del gen de fusión da como resultado la traducción de un único polipéptido que incluye tanto el polipéptido de interés como el marcador de

afinidad. En algunos casos en los que se utilizan marcadores de afinidad, la secuencia de ADN que codifica un sitio de reconocimiento de la proteasa se fusionará entre los marcos de lectura del marcador de afinidad y del polipéptido de interés.

5 Las estructuras artificiales genéticas y los métodos adecuados para la producción de formas inmaduras y maduras de péptidos GCRA y variantes descritas en la presente memoria, en sistemas de expresión de proteínas distintos de las bacterias, que son bien conocidos por los expertos en la técnica, también se pueden utilizar para producir polipéptidos en un sistema biológico.

10 Los péptidos descritos en este documento se pueden modificar por la fijación de una segunda molécula que confiere una propiedad deseada al péptido, tal como un aumento de la semivida en el cuerpo, por ejemplo, la pegilación. Tales modificaciones también están dentro del alcance del término “variante”, tal y como se usa en la presente memoria.

15 **Métodos terapéuticos**

Se dan a conocer en la presente memoria métodos profilácticos y terapéuticos para tratar un sujeto con riesgo de (o susceptible a) un trastorno o que tiene un trastorno asociado que está mediado por agonistas del receptor de la guanilato ciclasa. Los trastornos mediados por los agonistas del receptor de la guanilato ciclasa incluyen trastornos gastrointestinales, trastornos inflamatorios, trastornos pulmonares, cáncer, trastornos cardíacos, trastornos oculares, trastornos orales, trastornos sanguíneos, trastornos hepáticos la, trastornos de la piel, trastornos de la próstata, trastornos endocrinos, aumento de la motilidad gastrointestinal y obesidad. Los trastornos gastrointestinales incluyen, por ejemplo, síndrome del intestino irritable (SII), enterocolitis necrotizante (ECN), dispepsia no ulcerosa, pseudoobstrucción intestinal crónica, dispepsia funcional, pseudoobstrucción colónica, reflujo duodenogástrico, enfermedad de reflujo gastroesofágico (ERGE), inflamación del íleo (por ejemplo, íleo postoperatorio), gastroparesia, pirosis (acidez elevada en el tracto GI), estreñimiento (por ejemplo, estreñimiento asociados con el uso de medicaciones tales como opioides, fármacos para la osteoartritis, fármacos para la osteoporosis, estreñimiento postoperatorio, estreñimiento asociado a trastornos neuropáticos. Los trastornos inflamatorios incluyen inflamación de tejidos y órganos, tales como inflamación del riñón (por ejemplo, nefritis), inflamación del sistema gastrointestinal (por ejemplo, enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa), inflamación del páncreas (por ejemplo, pancreatitis), inflamación pulmonar (por ejemplo, bronquitis o asma) o inflamación de la piel (por ejemplo, psoriasis, eczema). Los trastornos pulmonares incluyen, por ejemplo, la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) y la fibrosis. El cáncer incluye carcinogénesis de tejidos y órganos incluyendo metástasis tales como, por ejemplo, cáncer gastrointestinal, (por ejemplo, cáncer gástrico, cáncer de esófago, cáncer de páncreas, cáncer colorrectal, cáncer intestinal, cáncer anal, cáncer de hígado, cáncer de vesícula biliar o cáncer de colon; cáncer de pulmón; cáncer de tiroides; cáncer de piel (por ejemplo, melanoma); cáncer oral; cáncer del tracto urinario (por ejemplo, cáncer de vejiga o cáncer de riñón); cáncer de la sangre (por ejemplo, mieloma o leucemia) o cáncer de próstata. Los trastornos cardíacos incluyen, por ejemplo, insuficiencia cardíaca congestiva, hipertensión cardíaca traqueal, colesterol alto o triglicéridos altos. Los trastornos del hígado incluyen, por ejemplo, cirrosis y fibrosis. Los trastornos oculares incluyen, por ejemplo, presión intraocular incrementada, glaucoma, degeneración retinal de ojos secos, trastornos de las glándulas lacrimales o inflamación del ojo. Los trastornos de la piel incluyen, por ejemplo, xerosis. Los trastornos orales incluyen, por ejemplo, sequedad de boca (xerostomía), síndrome de Sjogren, enfermedades de las encías (por ejemplo, enfermedad periodontal) o bloqueo o mal funcionamiento de conductos de la glándula salival. Los trastornos de la próstata incluyen, por ejemplo, hiperplasia benigna de próstata (HBP). Los trastornos endocrinos incluyen, por ejemplo, diabetes mellitus, hipertiroidismo, hipotiroidismo y fibrosis quística.

El término “tratamiento” se refiere a reducir o aliviar los síntomas en un sujeto, evitar un empeoramiento o progresión de los síntomas y/o la prevención de la enfermedad en un sujeto que no tiene esos síntomas. Para un sujeto dado, la mejora de un síntoma, su empeoramiento, su regresión o su progresión se puede determinar por cualquier medida objetiva o subjetiva. La eficacia del tratamiento puede medirse como una mejora de la morbilidad o mortalidad (por ejemplo, el alargamiento de la curva de supervivencia en una población seleccionada). Por lo tanto, el tratamiento efectivo incluirá la terapia de la enfermedad existente, el control de la enfermedad retardando o deteniendo 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 se puede observar en un estudio controlado, usando uno o varios criterios estadísticamente significativos.

El GMPc intracelular se induce por exposición, por ejemplo, poniendo en contacto un tejido (por ejemplo, tejido gastrointestinal) o una célula con agonistas de GCRA. Los receptores de GC-C se expresan en todo el tracto GI, partiendo del 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. Por inducción se entiende un aumento en la producción de GMPc en comparación con un tejido o una célula que no ha estado en contacto con el péptido GCRA o una variante. Los tejidos o las células están directamente en contacto con un péptido GCRA o una variante. Alternativamente, el péptido GCRA o una variante se administran sistémicamente. Un péptido GCRA o una variante se administran en una cantidad suficiente para aumentar la concentración intracelular de GMPc. La producción de GMPc se mide mediante un ensayo basado en células conocido en la técnica (25).

Los trastornos se tratan, se previenen o se alivian administrando a un sujeto, por ejemplo, un mamífero tal como un ser humano que lo requiera, 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 varios excipientes farmacéuticamente aceptables. La expresión "forma de dosis unitaria" se refiere a una entidad única de administración del fármaco, por ejemplo, un comprimido, una cápsula, una solución o una formulación para inhalación. La cantidad de péptido presente debe ser suficiente para tener un efecto terapéutico positivo cuando se administra a un paciente (típicamente, entre 10 µg y 3 g). Lo que constituye un "efecto terapéutico positivo" dependerá de la afección particular a tratar e incluirá cualquier mejora significativa en una afección, reconocida fácilmente por un experto en la técnica.

Los péptidos GCRA se pueden administrar solos o en combinación con otros agentes. Por ejemplo, los péptidos GCRA se pueden administrar en combinación con inhibidores de la fosfodiesterasa dependiente de GMPc, tal como, por ejemplo, sulfona sulindaco, zaprinast, motapizona, vardenafilo o sildenafil; uno o varios agentes quimioterapéuticos; o fármacos antiinflamatorios tales como, por ejemplo, fármacos antiinflamatorios esteroideos o no esteroideos (AINES), tales como aspirina.

La terapia de combinación se puede lograr mediante la administración de dos o más agentes, por ejemplo, un péptido GCRA descrito en este documento y otro compuesto, cada uno de los cuales se formula y se administra por separado, o mediante la administración de dos o más agentes en una sola formulación. Otras combinaciones también están incluidas en la terapia de combinación. Por ejemplo, dos agentes se pueden formular juntos y administrar junto con una formulación separada que contiene un tercer agente. Mientras que los dos o más agentes en la terapia de combinación se pueden administrar simultáneamente, no es necesario. Por ejemplo, la administración de un primer agente (o combinación de agentes) puede preceder a la administración de un segundo agente (o combinación de agentes) en minutos, horas, días o semanas. Así, los dos o más agentes se pueden administrar con minutos de diferencia entre sí, o con 1, 2, 3, 6, 9, 12, 15, 18 o 24 horas de diferencia entre sí, o con 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 14 días de diferencia entre sí, o con 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, o 10 semanas de diferencia entre sí. En algunos casos, son posibles intervalos incluso más largos. Mientras que en muchos casos es deseable que los dos o más agentes utilizados en una terapia de combinación estén presentes en el cuerpo del paciente al mismo tiempo, esto no tiene que ser así.

Los péptidos GCRA descritos en la presente memoria se pueden combinar con inhibidores de la fosfodiesterasa, por ejemplo, sulfona sulindaco, zaprinast, sildenafil, vardenafilo o tadalafilo para mejorar aún más los niveles de GMPc en los tejidos u órganos diana.

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

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

La terapia de combinación también puede incluir la administración de dos o varios agentes a través de rutas o lugares diferentes. Por ejemplo, (a) un agente se administra por vía oral y otros agentes se administran por vía intravenosa o (b) un agente se administra por vía oral y otro se administra localmente. En cada caso, los agentes pueden administrarse de forma simultánea o secuencial. Las dosificaciones aproximadas para algunos de los agentes de la terapia de combinación descritos en la presente memoria, se encuentran en la columna de "BNF Recommended Dose" de las tablas en las páginas 11-17 del documento WO01/76632 (los datos en las tablas se atribuyen a marzo de 2000 del "British National Formulary") y también se pueden encontrar en otros formularios convencionales y otros directorios para la prescripción de fármacos. Para algunos fármacos, la dosis prescrita habitualmente para una indicación, variará algo de un país a otro.

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

Una composición farmacéutica de la invención se formula para ser compatible con su vía de administración prevista. Ejemplos de vías de administración incluyen la administración parenteral, por ejemplo, intravenosa, intradérmica, subcutánea, oral (por ejemplo, inhalación), transdérmica (tópica), transmucosa y rectal. Las soluciones o suspensiones usadas para la aplicación intradérmica, parenteral o subcutánea pueden incluir los siguientes

componentes: un diluyente estéril tal como agua para inyección, solución salina, aceites no volátiles, polietilenglicoles, glicerina, propilenglicol u otros disolventes sintéticos; agentes antibacterianos tales como alcohol bencílico o metil parabenos; antioxidantes tales como ácido ascórbico o bisulfito de sodio; agentes quelantes tales como ácido etilendiaminotetraacético; tampones tales como acetatos, citratos o fosfatos, y agentes para el ajuste de la tonicidad tales como cloruro sódico o dextrosa. El pH se puede ajustar con ácidos o bases, tales como ácido clorhídrico o hidróxido de sodio. La preparación parenteral puede estar incluida en ampollas, jeringas desechables o viales de dosis múltiples de vidrio o plástico.

Las composiciones farmacéuticas adecuadas para uso inyectable incluyen soluciones acuosas estériles (siendo solubles en agua) o dispersiones y polvos estériles para la preparación extemporánea de soluciones o dispersiones inyectables estériles. Para la administración intravenosa, los vehículos adecuados incluyen solución salina fisiológica, agua bacteriostática, Cremophor EL® (BASF, Parsippany, N.J.) o solución salina tamponada con fosfato (PBS). En todos los casos, la composición debe ser estéril y debe ser fluida en la medida en que sea fácilmente inyectable. Debe ser estable en las condiciones de fabricación y almacenamiento y debe preservarse contra la acción contaminante de microorganismos tales como bacterias y hongos. El vehículo puede ser un disolvente o un medio de dispersión que contiene, por ejemplo, agua, etanol, poliol (por ejemplo, glicerol, propilenglicol y polietilenglicol líquido, y similares), y mezclas adecuadas de los mismos. La fluidez apropiada se puede mantener, por ejemplo, mediante el uso de un recubrimiento tal como lecitina, mediante el mantenimiento del tamaño de partícula requerido en el caso de dispersión y mediante el uso de tensioactivos. La prevención de la acción de microorganismos puede lograrse mediante diversos agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabenos, clorobutanol, fenol, ácido ascórbico, timerosal y similares. En muchos casos, será preferible incluir en la composición a agentes isotónicos, por ejemplo, azúcares, polialcoholes tales como manitol, sorbitol, cloruro de sodio. La absorción prolongada de las composiciones inyectables se puede conseguir 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 uno o una combinación de ingredientes enumerados anteriormente, según se requiera, seguido de esterilización por filtración. Generalmente, las dispersiones se preparan incorporando el compuesto activo en un vehículo estéril que contiene un medio de dispersión básico y los otros ingredientes requeridos entre 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 ingrediente activo más cualquier ingrediente deseado adicional a partir de una solución del mismo, filtrada previamente de forma estéril.

Las composiciones orales en general incluyen un diluyente inerte o un vehículo comestible. Tal como manitol, fructooligosacáridos, polietilenglicol y otros excipientes. Se pueden incluir en cápsulas de gelatina o comprimir en comprimidos. Con el fin de una administración terapéutica oral, el compuesto activo se puede incorporar con excipientes y usarse en forma de comprimidos, pastillas o cápsulas. Las composiciones orales también se pueden preparar usando un vehículo fluido para uso como un enjuague bucal, en donde el compuesto en el vehículo fluido se aplica oralmente y se agita y se expectora o se ingiere. Agentes aglutinantes farmacéuticamente compatibles, y/o materiales adyuvantes pueden estar incluidos como parte de la composición. Los comprimidos, píldoras, cápsulas, pastillas y similares pueden contener cualquiera de los siguientes ingredientes, o compuestos de naturaleza similar: un agente aglutinante tal como celulosa microcristalina, goma de tragacanto o gelatina; un excipiente tal como almidón o lactosa, un agente desintegrante tal como ácido algínico, Primogel, o almidón de maíz; un agente lubricante tal como estearato de magnesio o Sterotes; un agente deslizante tal como dióxido de silicio coloidal; un agente edulcorante tal como sacarosa o sacarina; o un agente saborizante tal como menta, salicilato de metilo o sabor a naranja.

Para la administración por inhalación, los compuestos se suministran en forma de una pulverización de aerosol desde el contenedor o dispensador presurizado que contiene un propulsor adecuado, por ejemplo, un gas tal como dióxido de carbono, o un nebulizador.

La administración sistémica también puede ser por vía transmucosa o transdérmica. Para la administración transmucosa o transdérmica, se utilizan en la formulación agentes de penetración apropiados para que la barrera sea permeada. Tales agentes 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 lograrse a través del uso de pulverizadores nasales o supositorios. Para la administración transdérmica, los compuestos activos se formulan en pomadas, ungüentos, geles o cremas, tal y como se conoce generalmente en la técnica.

Los compuestos también se pueden preparar 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 administración rectal.

Opcionalmente los compuestos activos se preparan con vehículos que protegerán el compuesto contra una eliminación rápida del cuerpo, tal como una formulación de liberación controlada, que incluye implantes y sistemas

de suministro microencapsulados. Se pueden utilizar polímeros biodegradables, biocompatibles, tales como etileno y acetato de vinilo, polianhídridos, poli(ácido glicólico), colágeno, poliortoésteres y poli(ácido láctico). Los métodos para la preparación de tales formulaciones serán evidentes para los expertos en la técnica. Los materiales también pueden obtenerse comercialmente a partir de Alza Corporation y Nova Pharmaceuticals, Inc. Las suspensiones liposomales (que incluyen liposomas dirigidos a células infectadas con anticuerpos monoclonales para antígenos víricos) también se pueden usar como vehículos farmacéuticamente aceptables. Estas se pueden preparar de acuerdo con métodos conocidos por los expertos en la técnica, por ejemplo, tal y como se describen en el documento de Patente US 4.522.811.

Es especialmente ventajoso formular las composiciones orales o parenterales en forma de dosificación unitaria para facilitar la administración y la uniformidad de la dosificación. La forma de dosificación unitaria, tal como se emplea en esta memoria, se refiere a unidades físicamente separadas, adecuadas como dosificaciones unitarias para el sujeto que se a tratar; conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada de compuesto activo, calculada para producir el efecto terapéutico deseado, en asociación con el vehículo farmacéutico requerido. La especificación para las formas de dosificación unitarias de la invención está establecida y depende directamente de las características únicas del compuesto activo y del efecto terapéutico particular que se va a conseguir.

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

Las composiciones de la presente invención también pueden incluir opcionalmente otros ingredientes terapéuticos, agentes antiaglutinantes, conservantes, agentes edulcorantes, colorantes, sabores, desecantes, plastificantes, pigmentos, agentes deslizantes, agentes antiadherentes, agentes antiestáticos, tensioactivos (agentes humectantes), antioxidantes, agentes de recubrimiento en película y similares. Cualquier ingrediente opcional debe ser compatible con el compuesto descrito en la presente memoria para asegurar la estabilidad de la formulación.

La composición puede contener otros aditivos, según sea necesario, en particular, por ejemplo, lactosa, glucosa, fructosa, galactosa, trehalosa, sacarosa, maltosa, rafinosa, maltitol, melecitosa, 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.

Ejemplos de excipientes para uso como los vehículos farmacéuticamente aceptables y los vehículos inertes farmacéuticamente aceptables y los ingredientes adicionales mencionados anteriormente, incluyen, pero no se limitan a los mismos, aglutinantes, cargas, agentes 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 de guar, celulosa y sus derivados (por ejemplo, etil celulosa, acetato de celulosa, carboximetilcelulosa cálcica, carboximetilcelulosa sódica), polivinilpirrolidona (por ejemplo, povidona, crospovidona, copovidona, etc.), metil celulosa, Methocel, almidón pregelatinizado (por ejemplo, STARCH 1500® y Starch 1500 LM®, comercializado por Colorcon, Ltd.), hidroxipropil metil celulosa, celulosa microcristalina (FMC Corporation, Marcus Hook, PA, EE.UU.), o mezclas de los mismos, cargas: talco, carbonato de calcio (por ejemplo, gránulos o polvo), fosfato de calcio dibásico, fosfato cálcico tribásico, sulfato de calcio (por ejemplo, gránulos o polvo), celulosa microcristalina, celulosa en polvo, dextratos, caolín, manitol, ácido silícico, sorbitol, almidón, almidón pregelatinizado, dextrosa, fructosa, miel, lactosa anhidra, lactosa monohidrato, lactosa y aspartamo, lactosa y celulosa, lactosa y celulosa microcristalina, maltodextrina, maltosa, manitol, celulosa microcristalina y goma guar, melaza, sacarosa, o mezclas de los mismos, agentes desintegrantes: agar-agar, ácido algínico, carbonato de calcio, celulosa microcristalina, croscarmelosa sódica, crospovidona, poliacrilina de potasio, glicolato sódico de almidón, almidón de patata o almidón de tapioca, otros almidones, almidón pregelatinizado, arcillas, otras alginas, otras celulosas, gomas (como gelano), hidroxipropil celulosa de baja sustitución, o mezclas de los mismos, lubricantes: estearato de calcio, estearato de magnesio, aceite mineral, aceite mineral ligero, glicerina, sorbitol, manitol, polietilenglicol, otros glicoles, ácido esteárico, lauril sulfato sódico, estearil fumarato de sodio, lubricante a base de ácidos grasos vegetales, talco, aceite vegetal hidrogenado (por ejemplo, aceite de cacahuete, aceite de semilla de algodón, aceite de girasol, aceite de sésamo, aceite de oliva, aceite de maíz y aceite de soja), estearato de cinc, oleato de etilo, laurato de etilo, agar, gel de sílice siloide (AEROSIL 200, W.R. Grace Co., Baltimore, MD EE.UU.), un aerosol coagulado de sílice sintético (Deaussa Co., Plano, TX EE.UU.), un dióxido de silicio pirógeno (CAB-O-SIL, de Cabot Co., Boston, MA EE.UU.), 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 bencilico, butil parabeno, cloruro de cetilpiridinio, cresol, clorobutanol, ácido deshidroacético, etilparabeno, metilparabeno, fenol, alcohol feniletílico, fenoxietanol, acetato fenilmercúrico, nitrato fenilmercúrico, sorbato de potasio, propilparabeno, benzoato de sodio, deshidroacetato de sodio, propionato de sodio, ácido sórbico, timerosal, timol, o mezclas de los mismos, y agentes de recubrimiento: carboximetilcelulosa de sodio, acetato ftalato de celulosa, etilcelulosa, gelatina, esmalte farmacéutico, hidroxipropil celulosa, hidroxipropil metilcelulosa (hipromelosa), ftalato de hidroxipropil metil celulosa, metilcelulosa, polietilenglicol, acetato ftalato de polivinilo, goma laca, sacarosa, dióxido de titanio, cera de carnauba, cera microcristalina, goma de gelano, maltodextrina, metacrilatos, celulosa microcristalina y carragenano o mezclas de los mismos.

La formulación también puede incluir otros excipientes y sus categorías que incluyen, pero no se limitan a L-histidina, Pluronic®, poloxámeros (por ejemplo, Lutrol® y Poloxámero 188), ácido ascórbico, glutatión, potenciadores de la permeabilidad (por ejemplo, lípidos, colato sódico, acilcarnitina, salicilatos, sales biliares mezcladas, micelas de ácidos grasos, quelantes, ácidos grasos, agentes tensioactivos, glicéridos de cadena media), inhibidores de proteasas (por ejemplo, inhibidor de tripsina de soja, ácidos orgánicos), agentes reductores de pH y potenciadores de la absorción eficaces para favorecer la biodisponibilidad (incluyendo pero sin estar limitados a los descritos en los documentos US6086918 y US5912014), cremas y lociones (como maltodextrina y carragenanos); materiales para los 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, ftalato poli(acetato de vinilo)); lubricantes en polvo (como behenato de glicerilo); cápsulas de gelatina blanda (como solución especial de sorbitol); esferas para el recubrimiento (como esferas de azúcar); agentes de esferonización (como behenato de glicerilo y celulosa microcristalina); agentes de suspensión/gelificantes (como carragenano, goma de gelano, manitol, celulosa microcristalina, povidona, glicolato de almidón de sodio, goma de xantano); edulcorantes (tales 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 de calcio, lactosa anhidra, lactosa monohidrato, maltodextrina, manitol, celulosa microcristalina, povidona, almidón), caramelo, carboximetilcelulosa de sodio, sabor a crema de cereza y sabor a cereza, ácido cítrico anhidro, ácido cítrico, azúcar de confitería, D&C Red nº 33, D&C amarillo nº 10 Aluminum Lake, edetato disódico, alcohol etílico al 15%, FD&C 20 amarillo nº 6 de Aluminum Lake, FD&C azul nº 1 de Aluminum Lake, FD&C azul nº 1, FD&C azul nº 2 de Aluminum Lake, FD&C verde nº 3 FD&C rojo nº 40, FD&C amarillo nº 6 de Aluminum Lake, FD&C amarillo nº 6, FD&C amarillo nº 10, palmitoestearato de glicerol, monoestearato de glicerilo, índigo carmín, lecitina, manitol, metil y propil parabenos, glicirricinato de mono amonio, sabor a naranja natural y artificial, esmalte farmacéutico, poloxámero 188, polidextrosa, polisorbato 20, polisorbato 80, polividona, almidón de maíz pregelatinizado, almidón pregelatinizado, óxido de hierro rojo, sacarina de sodio, éter de carboximetilcelulosa de sodio, cloruro de sodio, citrato de sodio, fosfato de sodio, sabor a fresa, óxido de hierro negro sintético, óxido de hierro rojo sintético, dióxido de titanio y cera blanca.

Las formas de dosificación orales sólidas se pueden tratar opcionalmente con sistemas de recubrimiento (por ejemplo, Opadry® fx sistema de recubrimiento de película, 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, ya sea en su libre o en forma de una sal se pueden combinar con un polímero tal como poli(ácido láctico-glicólico) (PLGA), poli-(I)(ácido láctico-glicólico-tartárico) (P(I)LGT) (documento WO 01/12233), poli(ácido glicólico) (documento de patente US 3.773.919), poli(ácido láctico) (documento de patente US 4.767.628), poli(ε-caprolactona) y poli(óxido de alquileno) (documento de patente US 20030068384) para crear una formulación de liberación sostenida. Tales formulaciones se pueden utilizar para implantes que liberan un agente polipéptido u otro agente durante una período de unos pocos días, unas pocas semanas o varios meses, dependiendo del polímero, del tamaño de partícula del polímero y del tamaño del implante (véase, por ejemplo, documento de patente US 6.620.422). Otras formulaciones de liberación sostenida y polímeros para su uso se describen en los documentos EP 0467389 A2, WO 93/24150, US 5.612.052, WO 97/40085, WO 03/075887, WO 01/01964A2, US 5.922.356, WO 94/155587, WO 02/074247A2, WO 98/25642, US 5.968.895, US 6.180.608, US 20030171296, US 20020176841, US 5.672.659, US 5.893.985, US 5.134.122, US 5.192.741, US 4.668.506, US 4.713.244, US 5.445.832, US 4.931.279, US 5.980.945, WO 02/058672, WO 9726015, WO 97/04744 y US200200 19446. En tales formulaciones de liberación sostenida se combinan micropartículas (Delie y Blanco-Prieto 2005 Molecule 10:65-80) de polipéptido con micropartículas de polímero. Uno o varios implantes de liberación sostenida se pueden colocar en el intestino grueso, el intestino delgado o en ambos. Los documentos US 6.011.01 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 mejorar la biodisponibilidad y proporcionar una liberación controlada del agente dentro del tracto GI. Formulaciones adicionales de liberación controlada describen materiales en los documentos WO 02/38129, EP 326151, US 5.236.704, WO 02/30398, WO 98/13029, US 20030064105, US 20030138488A1, US 20030216307A1, US 6.667.060, WO 01/49249, WO 01/49311, WO 01/49249, WO 01/49311 y US 5.877.224 que pueden incluir los descritos en el documento WO04041195 (incluyendo el sellado y el recubrimiento entérico descrito en el mismo) y recubrimientos sensibles al pH que logran la entrega en el colon, incluyendo los descritos en los documentos US 4.910.021 y WO9001329. El documento US4910021 describe el uso de un material sensible al pH para recubrir una cápsula. El documento WO9001329 describe el uso de recubrimientos sensibles al pH sobre perlas que contienen ácido, en donde el ácido en el núcleo de la perla prolonga la disolución del recubrimiento sensible al pH. El documento de patente US 5.175.003 describe una mezcla de polímeros con mecanismo dual, compuesta de materiales sensibles al pH entérico y plastificantes formadores de película capaces de conferir permeabilidad al material entérico, para uso en sistemas de liberación de fármacos; un gránulo de matriz compuesto de una mezcla de polímeros con mecanismo doble, impregnada con un fármaco y a veces cubriendo un núcleo farmacéuticamente neutro; un gránulo recubierto con membrana que comprende un gránulo de matriz recubierto con una mezcla de polímeros con mecanismo doble de la misma composición o de una diferente; y una forma de dosificación farmacéutica que contiene gránulos de matriz. El gránulo de matriz libera ácido fármacos solubles en ácido por difusión en pH ácido, mediante la desintegración a niveles de pH de nominalmente aproximadamente 5,0 o superiores.

Los péptidos GCRA descritos en este documento se pueden formular en los sistemas de liberación controlada, dirigidos liberados por el pH descritos en el documento WO04052339. Los agentes descritos en esta memoria pueden formularse de acuerdo con la metodología descrita en cualquiera de los documentos WO03105812 (polímeros extruidos hidratables); WO0243767 (translocadores de membrana escindibles con enzimas); 5 WO03007913 y WO03086297 (sistemas mucoadhesivos); WO02072075 (formulación bicapa laminada que comprende un agente de reducción de pH y mejorador de la absorción); WO04064769 (polipéptidos amidados); WO05063156 (suspensión de lípidos sólidos con propiedades seudotrópicas y/o tixotrópicas después de la fusión); WO03035029 y WO03035041 (formas de dosificación desintegrables, de retención gástrica); US 5007790 y US5972389 (formas de dosificación de liberación sostenida); WO04112711 (composiciones orales de liberación 10 prolongada); WO05027878, WO02072033 y WO02072034 (composiciones de liberación retrasada con goma natural o sintética); WO05030182 (formulaciones de liberación controlada con una tasa de liberación ascendente); WO05048998 (sistema de microencapsulación), patente US 5.952.314 (biopolímero); US 5.108.758 (entrega de matriz de amilosa cristalina); US 5.840.860 (entrega a base de almidón modificado) JP 10324642 (sistema de entrega que comprende quitosano y material gástrico resistente, tal como gliadina de trigo o zeína); US 5.866.619 y 15 US 6.368.629 (polímero que contiene sacárido); US 6.531.152 (describe un sistema de entrega de fármacos que contiene un núcleo soluble en agua (pectinato de Ca u otros polímeros insolubles en agua) y una capa externa que se rompe (por ejemplo, polímero hidrófobo-Eudragit)), US 6.234.464; US 6.403.130 (recubrimiento con polímero que contiene caseína y pectina alta en metoxi); WO0174175 (producto de la reacción de Maillard); WO05063206 (formulación que incrementa la solubilidad); WO04019872 (que transfiere proteínas de fusión).

Los péptidos GCRA descritos en la presente memoria se pueden formular utilizando tecnología de sistema de retención gastrointestinal (GIRE; Merrion Pharmaceuticals). GIRE comprende una forma de dosificación de liberación controlada dentro de una bolsa inflable, que se coloca en una cápsula con el fármaco para administración oral. Tras la disolución de la cápsula, un sistema generador de gas infla la bolsa en el estómago en donde es 25 retenida durante 16-24 horas, liberando todo el tiempo los agentes descritos en este documento.

Los péptidos GCRA descritos en la presente memoria se pueden formular en un dispositivo osmótico que incluye los descritos en los documentos US 4.503.030, US 5.609.590 y US 5.358.502. El documento US 4.503.030 describe un dispositivo osmótico para dispensar un fármaco a ciertas regiones de pH del tracto gastrointestinal. Más 30 particularmente, la invención se refiere a un dispositivo osmótico que comprende una pared formada por una composición semipermeable sensible al pH que rodea un compartimento que contiene un fármaco, con una salida a 30 través de la pared que conecta el exterior del dispositivo con el compartimento. El dispositivo libera el fármaco con una tasa 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 que 3,5, proporcionando de ese modo una disponibilidad total para la absorción del fármaco. Los documentos de patentes US 5.609.590 y 5.358.502 divulgan un dispositivo osmótico por rotura, para dispensar un agente beneficioso a un ambiente acuoso. El dispositivo comprende un agente beneficioso y el agente osmótico rodeado al menos en parte 35 por una membrana semipermeable. El agente beneficioso también puede actuar como agente osmótico. La membrana semipermeable es permeable al agua y sustancialmente impermeable al agente beneficioso y al agente osmótico. Un medio desencadenante está fijado a la membrana semipermeable (por ejemplo, uniendo dos mitades de la cápsula). El medio desencadenante es activado por un pH de 3 a 9 y desencadena el suministro eventual, pero repentino, del agente beneficioso. Estos dispositivos permiten la liberación activada por el pH del núcleo del agente 40 beneficioso como un bolo mediante rotura osmótica.

45 **Agentes ejemplares para la terapia de combinación**

Agentes analgésicos

Los péptidos GCRA descritos en esta memoria se pueden utilizar en terapia de combinación con un agente analgésico, por ejemplo, un compuesto analgésico o un polipéptido analgésico. Estos polipéptidos y compuestos se 50 pueden administrar con los péptidos GCRA descritos en la presente memoria (de forma simultánea o secuencialmente). También se pueden unir covalentemente o fijar opcionalmente a un agente descrito en la presente memoria para crear conjugados terapéuticos. Entre los agentes analgésicos útiles están: bloqueadores de canales de Ca, antagonistas de receptores 5HT (por ejemplo, antagonistas del receptor 5HT₃, 5HT₄ y 5HT₁), 55 agonistas de receptores opioides (loperamida, fedotozina y fentanilo), antagonistas de receptores NK₁, agonistas de receptores CCK (por ejemplo, loxiglumida), antagonistas de receptores NK₁, antagonistas de receptores NK₃, inhibidores de la recaptación de norepinefrina-serotonina (IRNS), y agonistas de receptores vainilloides y cannabanoïdes, y sialorfina. Los agentes analgésicos en las distintas clases se describen en la bibliografía.

Entre los polipéptidos analgésicos útiles están los polipéptidos relacionados con la sialorfina, incluyendo los que comprenden la secuencia de aminoácidos QHNPR (SEQ ID NO:), incluyendo: VQHNPR (SEQ ID NO:); VRQHNPR (SEQ ID NO:); VRGQHNPR (SEQ ID NO:); VRGPQHNPR (SEQ ID NO:); VRGPRQHNPR (SEQ ID NO:); VRGPRRQHNPR (SEQ ID NO:); y RQHNPR (SEQ ID NO:). Los polipéptidos relacionados con sialorfina se unen a neprilisina e inhiben la descomposición mediada por neprilisina de la sustancia P y Met-enkefalina. Así, los 60 compuestos o polipéptidos que son inhibidores de la neprilisina son agentes analgésicos útiles que se pueden administrar con los polipéptidos descritos en la presente memoria, en una terapia conjunta o unidos a los

polipéptidos descritos en la presente memoria, por ejemplo, mediante un enlace covalente. La sialorfina y los polipéptidos relacionados se describen en el documento de patente US 6.589.750; US 20030078200 A1; y WO 02/051435 A2.

5 Los antagonistas y agonistas de receptores opioides se pueden administrar con los péptidos GCRA descritos en la presente memoria en terapia combinada o unidos al agente descrito en la presente memoria, por ejemplo, mediante un enlace covalente. Por ejemplo, los antagonistas de receptores opioides tales como naloxona, naltrexona, metil nalozona, nalmefeno, cipridima, beta funaltrexamina, naloxonazina, naltrindol y nor-binaltorfimina, se cree que son
10 útiles en el tratamiento de SII. Puede ser útil formular antagonistas opioides de este tipo en una formulación de liberación retardada y sostenida, de tal manera que la liberación inicial del antagonista se realiza en el intestino delgado medio a distal y/o en el colon ascendente. Tales 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 cree que es útil para aumentar la motilidad intestinal (Eur. J. Pharm. 219:445, 1992), y este polipéptido se puede utilizar junto con los polipéptidos descritos en esta memoria. También es útil la trimebutina que
15 se cree que se une a los receptores opioides mu/delta/kappa y activa la liberación de motilina y modula la liberación de gastrina, polipéptido intestinal vasoactivo, gastrina y glucagón. Los agonistas de los receptores opioides kappa, tales como fedotozina, asimadolina y cetociclazocina, y los compuestos descritos en los documentos WO03/097051 y WO05/007626, se pueden utilizar con los polipéptidos descritos en la presente memoria o ligados a los mismos. Además, los agonistas del receptor opioide mu, tales como morfina, difeniloxilato, fraquefamida, (H-Tyr-D-Ala-Phe(F)-Phe-NH₂, documento WO 01/019849 A1) y loperamida se pueden utilizar.

Tyr-Arg (kiatorfina) es un dipéptido que actúa estimulando la liberación de met-enkefalinas para obtener un efecto analgésico (J. Biol. Chem. 262:8165, 1987). La kiatorfina se puede utilizar con péptidos GCRA descritos en la presente memoria, o unida a los mismos.

25 El polipéptido derivado de cromogranina (CgA 47-66; véase, por ejemplo, Ghia y col., 2004 Regulatory polypeptides 119:199) se puede utilizar con péptidos GCRA descritos en la presente memoria, o unido a los mismos.

Los agonistas del receptor CCK, tal como ceruleína procedente de anfibios y otras especies, son útiles como
30 agentes analgésicos que se pueden utilizar con péptidos GCRA descritos en la presente memoria, o unidos a los mismos.

Los polipéptidos de conotoxina representan una clase amplia de polipéptidos analgésicos que actúan en los canales de calcio abiertos por voltaje, receptores de NMDA o receptores nicotínicos. Estos polipéptidos se pueden utilizar
35 con los polipéptidos descritos en la presente memoria, o unidos a los mismos.

Los péptidos análogos de timulina (documento de solicitud FR 2830451) pueden tener actividad analgésica y pueden utilizarse con los polipéptidos descritos en la presente memoria, o unidos a los mismos.

40 Los antagonistas de receptores CCK (CCKa o CCKb), que incluyen loxiglumida y dexloxiglumida (el R-isómero de loxiglumida) (documento WO 88/05774) pueden tener actividad analgésica y se pueden utilizar con los polipéptidos descritos en la presente memoria, o unidos a los mismos.

Otros agentes analgésicos útiles incluyen agonistas de 5-HT₄, como tegaserod (Zelnorm®), mosaprida, metoclopramida, zacoprida, cisaprida, renzaprida, derivados de bencimidazolona como BIMU 1 y BIMU 8, y lorexaprida. Tales agonistas se describen en los documentos: EP 1321142 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.

Los bloqueadores de canales de calcio tales como ziconotida y compuestos relacionados descritos en, por ejemplo, los documentos EP 625162 B1, 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, se pueden utilizar con los polipéptidos descritos en la presente memoria, o unidos a los mismos.

55 Diversos antagonistas de receptores NK-1, NK-2 y NK-3 (para una revisión, véase Giardina y col., 2003. Drugs 6:758) se pueden utilizar con los polipéptidos descritos en la presente memoria, o unidos a los mismos.

Los antagonistas de receptores NK1 tales como: aprepitant (Merck & Co Inc), vofopitant, ezlopitant (Pfizer, Inc.), R-673 (Hoffmann-La Roche Ltd), SR-48968 (Sanofi Synthelabo), CP-122,721 (Pfizer, Inc.), GW679769 (Glaxo SmithKline), TAK-637 (Takeda/Abbot), SR-14033, y los compuestos relacionados descritos, por ejemplo, en los documentos EP 873753 A1, US 20010006972 A1, US 20030109417 A1, WO 01/52844 A1, se pueden utilizar con los polipéptidos descritos en la presente memoria, o unidos a los mismos.

Los antagonistas de receptores NK-2 tales como nepadutant (Menarini Ricerche SpA), saredutant (Sanofi-Synthelabo), GW597599 (Glaxo SmithKline), SR-144190 (Sanofi-Synthelabo) y UK-290795 (Pfizer Inc.) se pueden utilizar con los polipéptidos descritos en la presente memoria, o unidos a los mismos.

Los antagonistas de receptores 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 98/11090, WO 95/28418, WO 97/19927, y Boden y col. (J Med Chem. 39:1664-75, 1996) se pueden utilizar con los polipéptidos descritos en la presente memoria, o unidos a los mismos.

Los inhibidores de la recaptación de norepinefrina-serotonina (IRNS), tales como milnaciprano y compuestos relacionados descritos en el documento WO 03/077897 A1, se pueden utilizar con los polipéptidos descritos en la presente memoria, o unidos a los mismos.

Los antagonistas de receptores vainilloides tales como arvanilo y compuestos relacionados descritos en el documento WO 01/64212 A1, se pueden utilizar con los polipéptidos descritos en la presente memoria, o unidos a los mismos.

Los polipéptidos y compuestos analgésicos se pueden administrar con los polipéptidos y agonistas descritos en la presente memoria (de forma simultánea o secuencialmente). Los agentes analgésicos también se pueden unir covalentemente a los polipéptidos y agonistas descritos en la presente memoria, para crear conjugados terapéuticos. Cuando el analgésico es un polipéptido y se une covalentemente a un agente descrito en la presente memoria, el polipéptido resultante también puede incluir al menos un sitio de escisión de tripsina. Cuando está presente en el polipéptido, el polipéptido analgésico puede estar precedido (si está en el extremo carboxi terminal) o seguido (si está en el extremo amino terminal) por un sitio de escisión de tripsina que permite la liberación del polipéptido analgésico.

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

Agentes para tratar trastornos gastrointestinales

Ejemplos de agentes terapéuticos adicionales para el tratamiento de trastornos gastrointestinales y de otro tipo, incluyen agentes para tratar el estreñimiento (por ejemplo, un activador de los canales de cloruro tal como el ácido graso bicíclico, lubiprostona (anteriormente conocida como SPI-0211; Sucampo Pharmaceuticals, Inc.; Bethesda, MD), un laxante (por ejemplo, un laxante formador de volumen (polisacáridos no almidones, por ejemplo, comprimido Colonel (policarbofilo de calcio), Plantago Ovata®, Equalactin® (policarbofilo de calcio)), fibra (por ejemplo, FiberCon® 25 (policarbofilo de calcio), un laxante osmótico, un laxante estimulante (por ejemplo, difenilmetanos (por ejemplo, bisacodilo), antraquinonas (por ejemplo, cáscara sagrada, senna), y laxantes tensioactivos (por ejemplo, aceite de ricino, docusatos), un agente emoliente/lubricante (tal como aceite mineral, glicerina y docusatos), MiraLax (Braintree Laboratories, Braintree MA), dextroglumida (Forest Laboratories, también conocido como CR 2017 Rottapharm (Rotta Research Laboratorium SpA)), laxantes salinos, enemas, supositorios y CR 3700 (Rottapharm (Rotta 30 Research Laboratorium SpA); agentes ácido reductores tales como inhibidores de la bomba de protones (por ejemplo, omeprazol (Prilosec®), esomeprazol (Nexium®), lansoprazol (Prevacid®), pantoprazol (Protonix®) y rabeprazol (Aciphex®)) y antagonistas del receptor H2 de la histamina (también conocidos como bloqueadores del receptor H2 que incluyen cimetidina, ranitidina, famotidina y nizatidina); agentes procinéticos que incluyen itoprida, acetrotida, betanecol, metoclopramida (Reglan®), domperidona (Motilium®), eritromicina (y sus derivados) o cisaprida (Propulsid®); homólogos de polipéptidos procinéticos, variantes y quimeras de los mismos, incluyendo los descritos en el documento US 7.052.674, que se pueden utilizar con los polipéptidos descritos en la presente memoria, o unidos a los mismos; agentes de la promotilidad tales como el polipéptido derivado de la vasostatina, cromogranina A (4-16) (véase, por ejemplo, Ghia y col. 2004 Regulatory polypeptides 121:31) o agonistas de la motilina (por ejemplo, GM-611 o fumarato de mitemcinal) o moduladores del receptor FQ de nociceptina/orfanina (documento US20050169917); otros péptidos que pueden unirse y/o activar GC-C incluyen los descritos en el documento US20050287067; agonistas o antagonistas del receptor 5HT completo o parcial (por ejemplo, 5HT1, 5HT2, 5HT3, 5HT4) (que incluyen antagonistas de 5HT1A (por ejemplo, AGI-OO1 (AGI Therapeutics), antagonistas de 5HT2B (por ejemplo, PGN 1091 y PGNI 164 (Pharmagene Laboratories Limited)), y agonistas del receptor 5HT4 (tal como tegaserod (Zelnorm®), prucaloprida, mosaprida, metoclopramida, cisaprida, zacoprida, renzaprida, derivados de bencimidazolona tales como BIMU 1 y BIMU 8, y lirexaprida)). Tales agonistas/moduladores se describen en los documentos: EP1321142 A1, WO 03/053432 A1, EP 505322 A1, EP 505322 B1, US 5.510.353, EP 507672 A1, EP 507672 B1, US 5.273.983 y US 6.951.867); agonistas del receptor 5HT3 tales como MKC-733; y antagonistas del receptor 5HT3 tales como DDP-225 (MCI-225; Dynogen Pharmaceuticals, Inc.), cilansetrón (Calmactin®), alosetrón (Lotronex®), ondansetrón HCl (Zofran®), dolasetrón (Anzemet®), palonosetrón (Aloxi®), granisetrón (Kytril®), YM060 (ramosetrón; Astellas Pharma Inc.; ramosetrón se puede administrar como una dosis diaria de 0,002 a 0,02 mg tal y como se describe en el documento EP01588707) y ATI-7000 (Aryx Therapeutics, Santa Clara CA); agonistas de receptores muscarínicos; agentes antiinflamatorios; antiespasmódicos, que incluyen pero no están limitados a fármacos anticolinérgicos (tales como dicitolmina (por ejemplo, Colimex®, Formulex®, Lomine®, Protlyol®, Visceral®, Spasmoban®, Bentylo®, Bentylo®), hiosciamina (por ejemplo, IB-Stat®, Nulev®, Levsin®, Levbid®, Timecaps®, Levsinex®, Levsin/SL®, Anaspaz®, A-Spas S/L®, Cystospaz®, Cystospaz-M®, Donnamar®, Colidrops Liquid Pediatric®, Gastroed®, Hycosol®, Hyosol®, Hyospaz®, Hyosyne®, Losamine®, Medispaz®, Neosol®, Spacol®, Spasdel®, Symax®, Symax SL®), donnatal (por ejemplo, Donnatal Extentabs®), clidinio (por ejemplo, Quarzan en combinación con Librium = Librax), metantelina (por ejemplo, Bantina),

mepenzolato (por ejemplo, Cantil), homatropina (por ejemplo, hiconan, homapina), bromuro de propanetina (por ejemplo, Pro-Bantina), glicopirrolato (por ejemplo, Robinul®, Robinul Forte®), escopolamina (por ejemplo, Transderm-Scop®, Transderm-V®), N-butilbromuro de hiosina (por ejemplo, Buscapan®), pirenzepina (por ejemplo, Gastrozepin®), bromuro de propanetina (por ejemplo, Propanthe®), dicicloerina (por ejemplo, Merbentil®), bromuro de glicopirronio (por ejemplo, Glycopirrolate®), bromhidrato de hioscina, metobromuro de hioscina, metantelinio y octatropina); aceite de menta, y relajantes musculares lisos directos como el bromuro de cimetropro, mebeverina (Duspatal®, Duspatalin®, Colofac MR®, Colotal®), bromuro de otilonio (octilonio), pinaverio (por ejemplo, Dicletel® (bromuro de pinaverio, Solvay SA)), Spasfon® (floroglucinol hidratado y trimetilfloroglucinol) y trimebutina (que incluye maleato de trimebutina 5 (Modulon®); antidepresivos, que incluyen, pero no están limitados a los mencionados en la presente memoria, así como los antidepresivos tricíclicos, tales como amitriptilina (Elavil®), desipramina (Norpramine®), 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 la doxepina (Sinequan®) y trazodona (Desyrel®); agentes analgésicos de acción central tales como los agonistas de receptores opioides, antagonistas de receptores opioides (por ejemplo, naltrexona); agentes para el tratamiento de la enfermedad inflamatoria intestinal; agentes para el tratamiento de la enfermedad de Crohn y/o colitis ulcerosa (por ejemplo, alequel (Enzo Biochem, Inc.; Farmingsale, NY), el polipéptido antiinflamatorio RDP58 (Genzyme, Inc.; Cambridge, MA), y Traficet-EN® (ChemoCentryx, Inc., San Carlos, CA); agentes que tratan el dolor gastrointestinal o visceral; agentes que aumentan los niveles de GMPc (como se describen en el documento US20040121994) como antagonistas de receptores adrenérgicos, agonistas de receptores de dopamina e inhibidores de la PDE (fosfodiesterasa) que incluyen pero no se limitan a los descritos en esta memoria; purgantes que extraen los fluidos al intestino (por ejemplo, Visicol®, una combinación de fosfato monobásico de sodio monohidrato y anhídrido dibásico de fosfato sódico); antagonistas de los receptores del factor liberador de corticotropina (CRF (que incluyen NBI-34041 (Neurocrine Biosciences, San Diego, CA), CRH9-41, astresina, R121919 (Janssen Pharmaceutica), CP154,526, NBI-27914, antalarmina, DMP696 (Bristol-Myers Squibb), CP-316,311 (Pfizer, Inc.), SB723620 (GSK), GW876008 (Neurocrine/Glaxo SmithKline), ONO-2333Ms (Ono Pharmaceuticals), TS-041 (Janssen), AAG561 (Novartis) y los descritos en los documentos US 5.063.245, US 5.861.398, USA20040224964, US20040198726, US20040176400, US20040171607, US20040110815, US20040006066 y US20050209253); polipéptidos similares al glucagón (glp-1) y análogos de los mismos (incluyendo la exendina-4 y GTP-010 (Gastrotech Pharma A)) y los inhibidores de DPP-IV (DPP-IV media en la inactivación de glp-1); tofisopam, tofisopam-R enantioméricamente puro y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos (documento US 20040229867); antidepresivos tricíclicos del tipo dibenzodiazepínico que incluyen pero no están limitados a Dextofisopam® (Vela Pharmaceuticals), tianeptina (Stablon®) y otros agentes descritos en el documento US 6.683.072; nonaetilen glicol metil éter éster de ácido (E)-30 4(1,3-bis(ciclohexilmetil)-1,2,3,4-tetrahidro-2,6-diono-9H-purin-8-il)cinámico y compuestos relacionados descritos en el documento WO 02/067942; PROBACTRIX® probiótico (The BioBalance Corporation; Nueva York, NY) que contiene microorganismos útiles en el tratamiento de trastornos gastrointestinales; fármacos anti diarreicos que incluyen pero no están limitados a loperamida (Imodium, Pepto Diarrhea), difenoxilato con atropina (Lomotil, Lornacot), colestiramina (Questran, Cholybar), atropina (Co-Phenotrope, Diarsed, Lofene, difenoxilato, Logen, Lonox, Vi-Atro, inyección de sulfato de atropina) y Xifaxan® (rifaximina; Salix Pharmaceuticals Ltd), TZP-201 (Tranzyme Pharma Inc.), el bloqueador AGI-004 del receptor neuronal de acetilcolina (nAChR) (AGI Therapeutics), y subsalicilato de bismuto (Pepto-Bismol); fármacos ansiolíticos, que incluyen pero no están limitados a 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 beidellitic; Ipsen Ltd), Solvay SLV332 (ArQule Inc), YKP (SK Pharma), asimadolina (Tioga Pharmaceuticals/Merck), AGI-003 (AGI Therapeutics); antagonistas de neuroquinina, que incluyen los descritos en el documento US20060040950; moduladores de los canales de potasio, que incluyen los descritos en el documento US 7.002.015; el modulador de la serotonina AZD7371 (AstraZeneca Plc); antagonistas de receptores muscarínicos M3, tales como darifenacina (Enablex, Novartis AG y zamifenacina (Pfizer); terapias a base de hierbas y naturales que incluyen pero no se limitan a acidophilus, infusión de manzanilla, aceite de onagra, semillas de hinojo, ajeno, consuelda y compuestos de Bao-Ji-Wan (magnolol, honokiol, imperatorin e isoimperatorin) como en el documento USA6923992; y composiciones que comprenden lisina y un agente antiestrés para el tratamiento del síndrome del intestino irritable, tal y como se describe en el documento EPO 1550443.

55 *Insulina y agentes moduladores de la insulina*

Los péptidos GCRA descritos en esta memoria se pueden utilizar en terapia de combinación con insulina y compuestos relacionados, incluyendo insulina de roedor, primate o de conejo, incluyendo variantes biológicamente activas de las mismas, más preferiblemente insulina humana disponible en forma recombinante. Las fuentes de insulina humana incluyen formulaciones farmacéuticamente aceptables y estériles, tales como las puestas a disposición por Eli Lilly (Indianapolis, IN 46285) como Humulin® (insulina humana de origen ADNr). Véase, "The physician's desk reference", 55ª ed. (2001) Medical Economics, Thomson Healthcare (que describe otras insulinas humanas adecuadas). Los péptidos GCRA descritos en la presente memoria también se pueden utilizar en terapia de combinación con agentes que pueden aumentar 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 la presente memoria se pueden utilizar en terapia de combinación con SYMLIN® (acetato de pramlintida) y Exenatida®

(extendina-4 sintética; un polipéptido de 39 aa).

Agentes para el tratamiento del íleo postoperatorio

- 5 Los péptidos GCRA descritos en la presente memoria también se pueden utilizar en terapia de combinación con agentes (por ejemplo, Entereg® (alvimopan; denominado anteriormente ado lor/ADL 8-2698), conivaptano y agentes relacionados descritos en el documento US 6.645.959) utilizados para el tratamiento del íleo postoperatorio y otros trastornos.

10 Agentes hipotensores

Los péptidos GCRA descritos en esta memoria se pueden utilizar en terapia de combinación con un agente hipotensor que incluye pero no está limitado a: (1) diuréticos, tales como tiazidas, que incluyen clortalidona, clortiazida, diclorofenamida, hidroflumetiazida, indapamida, politiazida e hidroclorotiazida; diuréticos del asa, tales como bumetanida, ácido etacrínico, furosemida y torsemida; agentes ahorradores de potasio, tales como amilorida y triamtereno; inhibidores de la anhidrasa carbónica, antagonistas osmóticos (tal como glicerina) y 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 los canales de calcio tales como amlodipina, aranidipina, azelnidipina, barnidipina, benidipina, bepridilo, cinaldipina, clevidipina, diltiazem, efonidipina, felodipina, galopamilol, isradipina, lacidipina, lemidipina, lercanidipina, nicardipina, nifedipina, nilvadipina, nimodepina, nisoldipina, nitrendipina, manidipina, pranidipina y verapamilol, y similares; (4) inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (ACE) tales como benazeprilo, captoprilol, ceranaprilol, cilazaprilol, delaprilol, enalaprilol, enalaprilol, fosinoprilol, imidaprilol, lisinoprilol, losinoprilol, moexiprilol, quinaprilol, quinaprilol, ramiprilol, perindoprilol, perindoprilol, quaniprilol, espiraprilol, tenocaprilol, trandolaprilol y zofenoprilol, y similares; (5) inhibidores de la endopeptidasa neutra tal como omapatrilol, cadoxatrilol y ecadotrilol, fosidotrilol, sampatrilol, AVE7688, ER4030, y similares; (6) antagonistas de endotelina tales como tezosentano, A308165 y YM62899, y similares; (7) vasodilatadores tales como hidralazina, clonidina, minoxidilo y alcohol nicotínico, y similares; (8) antagonistas del receptor de la angiotensina II, tales como aprosartano, candesartano, eprosartano, irbesartano, losartano, olmesartano, prazosartano, tasosartano, telmisartano, valsartano, y EP-3137, F16828K y RNH6270, y similares; (9) bloqueadores α/β adrenérgicos tales como nipradilol, arotinolol y amosulalol, y similares; (10) bloqueadores alfa 1, tales como terazosina, urapidilo, prazosina, tamsulosina, bunazosina, trimazosina, doxazosina, naftopidilo, indoramina, WHP 164 y XEN010, y similares; (11) agonistas alfa 2 tales como lofexidina, tiamenidina, moxonidina, rilmenidina y guanobenz, y similares; (12) inhibidores de la aldosterona, y similares; y (13) agentes que se unen a la angiotensina-2 tales como los descritos en el documento WO03/030833.

30 Agentes hipotensores específicos que se pueden utilizar en combinación con polipéptidos y agonistas descritos en la presente memoria incluyen, pero no se limitan a: diuréticos, tales como tiazidas (por ejemplo, clortalidona, ciclotiazida (CAS RN 2259-96-3), clortiazida (CAS RN 72956-09-3, que se puede preparar tal y como se describe en el documento US2809194), diclorofenamida, hidroflumetiazida, indapamida, politiazida, bendroflumetazida, metictotiazida, politiazida, triclorometazida, clortalidona, indapamida, metolazona, quinetazona, altiazida (CAS RN 5588-16-9, que se puede preparar tal y como se describe en el documento de Patente Británica n° 902.658), benzotiazida (CAS RN 91-33-8, que se puede preparar tal y como se describe en el documento US3108097), butiazida (que se puede preparar tal y como se describe en el documento de Patente Británica n° 861.367) e hidroclorotiazida), diuréticos del asa (por ejemplo, bumetanida, ácido etacrínico, furosemida y torsemida), agentes ahorradores de potasio (por ejemplo, amilorida y triamtereno (número CAS 396-01-0)), y antagonistas de la aldosterona (por ejemplo, espironolactona (número CAS 01/07/52), epirenona y similares); bloqueadores β -adrenérgicos, tales como amiodarona (Cordarone, Pacerone), clorhidrato de bunolol (CAS RN 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 (p. ej., Sectral®, Wyeth-Ayerst), clorhidrato de alprenolol (CAS RN 13707-88-5 véase el documento de solicitud de patente de los Países Bajos n° 6605692), atenolol (p. ej., Tenormin®, AstraZeneca), clorhidrato de carteolol (por ejemplo, Cartrol® Filmtab®, Abbott), clorhidrato de celiprolol (CAS RN 57470-78-7, véase también el documento US4034009), clorhidrato de cetamolol (CAS RN 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 (p. ej., Betagan®, Liquifilm® con C CAP® Compliance Cap, Allergan), nadolol (por ejemplo, Nadolol, Mylan), practolol (CAS RN 6673-35-4, véase también el documento US3408387), clorhidrato de propranolol (CAS RN 318-98-9), clorhidrato de sotalol (por ejemplo, Betapace AF®, Berlex), timolol (2-propanol, 1-[(1,1-dimetiletil)amino]-3-[[4-4(4-morfolinil)-1,2,5-tiadiazol-3-il]oxi]-, hemihidrato, (S)-, CAS RN 91524-16-2), maleato de timolol (S)-1-[(1,1-dimetiletil)amino]-3-[[4-4(4-morfolinil)-1,2,5-tiadiazol-3-il]oxi]-2-propanol (Z)-2-butenodioato (1:1) sal, CAS RN 26921-17-5), bisoprolol (2-propanol, 1-[4-[[2-(1-metiletoxi)etoxi]-metil]fenoxi]-3-[(1-metil-etil)amino]-, (\pm), CAS RN 66722-44-9), fumarato de bisoprolol (tal como (\pm)-1-[4-[[2-(1-metil-etoxi)etoxi]metil]fenoxi]-3-[(1-metiletil)amino]-2-propanol (E)-2-butenodioato (2:1) (sal), por ejemplo, Zebeta®, Lederle Consumer), nebivalol (2H-1-benzopiran-2-metanol, $\alpha\alpha'$ -[iminobis(metilen)]bis[6-fluoro-3,4-dihidro-, CAS RN 99200-09-6 véase también el documento de Patente US 4.654.362), clorhidrato de cicloprolol, tal como 2-propanol, 1-[4-[2-(ciclopropilmetoxi)etoxi]fenoxi]-3-[1-metiletil)amino]-, hidrocloreto, A.A.S. RN 63686-79-3),

clorhidrato de dexpropranolol (2-propanol, 1-[1-metiletil]-amino]-3-(1-naftaleniloxi)-hidrocloruro (CAS RN 13071-11-9), clorhidrato de diacetolol (acetamida, N-[3-acetil-4-[2-hidroxi-3-[(1-metil-etil)amino]propoxi]]fenil]-, monohidrocloruro, CAS RN 69796-04-9), clorhidrato de dilevalol (benzamida, 2-hidroxi-5-[1-hidroxi-2-[1-metil-3-fenilpropil]amino]etil]-, monohidrocloruro CAS RN 75659-08-4), clorhidrato de exaprolol (2-propanol, 1-(2-ciclohexilfenoxi)-3-[(1-metiletil)amino]-, hidrocloruro, CAS RN 59333-90-3), sulfato de flestolol (ácido benzoico, 2-fluoro-3-[[2-[aminocarbonil]amino]-dimetiletil]amino]-2-hidroxipropil éster, (+)-sulfato (1:1) (sal), CAS RN 88844-73-9; clorhidrato de metalol (metanosulfonamida, N-[4-[1-hidroxi-2-(metilamino)propil]fenil]-, monohidrocloruro, CAS RN 7701-65-7), metoprolol 2-propanol, 1-[4-(2-metoxietil)fenoxi]-3-[1-metiletil]amino]-, CAS RN 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, (±) sulfato (sal) (2:1), CAS RN 59954-01-7), sulfato de penbutolol (2-propanol, 1-(2-ciclopentilfenoxi)-3-[1,1-dimetil-etil]-amino], (S)-, sulfato, (2:1) (sal), CAS RN 38363-32-5), practolol (acetamida, N-[4-[2-hidroxi-3-[(1-metiletil)amino]propoxi]]fenil]-, CAS RN 6673-35-4); clorhidrato de tiprenolol (propanol, 1-[(1-metiletil)amino]-3-[2-(metiltilio)-fenoxi]-, hidrocloruro, (±), CAS RN 39832-43-4), tolamolol (benzamida, 4-[2-[[2-hidroxi-3-(2-metilfenoxi)-propil]amino]etoxi]-, CAS RN 38103-61-6), bopindolol, indenolol, pindolol, propanolol, tertatolol y tilisolol, y similares; bloqueantes de los canales de calcio, tales como sal besilato de amlodipino (tal como 3-etil-5-metil-2-(2-aminoetoximetil)-4-(2-clorofenil)-1,4-dihidro-6-metil-3,5-piridindicarboxilato benzosulfonato, por ejemplo, Norvasc®, Pfizer), maleato de cletiazem (1,5-benzotiazepin-4(5H)-ona, 3-(acetiloxi)-8-cloro-5-[2-(dimetilamino)etil]-2,3-dihidro-2-(4-metoxifenil)-(2S-cis)-, (Z)-2-butenodioato (1:1), véase también el documento US4567195), isradipina (ácido 3,5-piridindicarboxílico, 4-(4-15 benzofurazanil)-1,4-dihidro-2,6-dimetil-, metil 1-metiletil éster, (±)-4(4-benzofurazanil)-1,4-dihidro-2,6-dimetil-3,5-piridindicarboxilato, véase también el documento US4466972), 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® de liberación prolongada, 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 el documento 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)-, monohidrocloruro, (+)-cis, por ejemplo, Tiazac®, Forest), clorhidrato de verapamil (tal como benzoacetronitrilo, (alfa)-[[3-[[2-(3,4-dimetoxifenil)etil]metilamino]propil]-3,4-dimetoxi-(alfa)-(1-metiletil) hidrocloruro, por ejemplo, Isoptin® SR, Laboratorios Knoll), clorhidrato de teludipina (ácido 3,5-piridindicarboxílico, 2-[(dimetilamino)metil]4-[2-[(1E)-3-(1,1-dimetiletoxi)-3-oxo-1,4-propenil]fenil]-1,4-dihidro-6-metil-, dietil éster, monohidrocloruro) CAS RN 108700-03-4), belfosdilo (ácido fosfónico, [2-(2-fenoxietil)-1,3-propanodiol] bis-, tetrabutil éster, CAS RN 103486-79-9), fostedilo (ácido fosfónico, [[4-(2-benzotiazolil)fenil]metil]-, dietil éster, CAS RN 75889-62-2), aranidipina, azelnidipina, barnidipina, benidipina, bepridilo, cinaldipina, clevidipina, efonidipina, galopamilol, lacidipina, lemildipina, lercanidipina, maleato de monatepilo (1-piperazinbutanamida, N-(6,11-dihidroindibenzo(b,e)tiepin-11-il)₄-(4-fluorofenil)-, (+)-, (Z)-2-butenodioato ((1:1) (±)-N-(6,11-dihidroindibenzo(b,e)tiep-en-11-il)-4-(p-fluorofenil)-1-piperazinebutiramida maleato (1:1) CAS RN 132046-06-1), nicardipina, nisoldipina, nitrendipina, manidipina, pranidipina y similares; antagonistas del canal T del calcio tal como mibefradilo; inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (ACE) tal como benazeprilo, clorhidrato de benazeprilo (tal como ácido 3-[[1-(etoxicarbonil)-3-fenil-(1S)-propil]amino]-2,3,4,5-tetrahidro-2-oxo-1H-1-(3S)-benzazepina-1-acético monohidrocloruro, por ejemplo, Lotrel®, Novartis), captopril (tal como 1-[(2S)-3-mercaptopropionil]-L-prolina, p. ej., captopril, Mylan, CAS RN 62571-86-2 y otros descritos en el documento USA4046889), ceranapril (y otros descritos en el documento US4452790), cetaprilol (alaceprilo, Dainippon descrito en Eur. Therap. Res. 39:671 (1986); 40:543 (1986)), cilazapril (Hoffman-LaRoche descrito en J. Cardiovasc. Pharmacol. 9:39 (1987)), indalprilo (clorhidrato de delaprilol (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 CAS RN 2259-96-3); descrito en el documento US4385051), enalaprilol (y otros descritos en el documento US4374829), enalaprilol, enalaprilat, fosinoprilol, ((tal como L-prolina, 4-ciclohexil-1-[[[2-metil-1-(1-oxopropoxi)propoxi](4-fenilbutil)fosfinil]acetil]-, sal sódica, por ejemplo, Monopril, Bristol-Myers Squibb y otros descritos en el documento US4168267), fosinoprilol sódico (L-prolina, 4-ciclohexil-1-[[[2-metil-1-(1-oxopropoxi)propoxi]-imidaprilol, indolaprilol (Schering, descrito en J. Cardiovasc. Pharmacol. 5:643, 655 (1983)), lisinoprilol (Merck), losinoprilol, moexiprilol, clorhidrato de moexiprilol (ácido 3-isoquinolincarboxílico, 2-[(2S)-2-[[1(S)-1-(etoxicarbonil)-3-fenilpropil]amino]-1-oxopropil]-1,2,3,4-tetrahidro-6,7-dimetoxi-, monohidrocloruro, (3S)-CAS RN 82586-52-5), quinaprilol, quinaprilat, ramiprilol (Hoechst) descrito en el documento EP 79022 y Curr. Ther. Res. 40:74 (1986), perindoprilol erbumina (tal como ácido 2S,3aS,7aS-1-[(S)-N-[(S)-1-carboxibutilalanil]hexahidroindolincarboxílico, 1-etil éster, compuesto con terc-butilamina (1:1), por ejemplo, Aceon®, Solvay), perindoprilol (Servier, descrito en Eur. J. Clin. Pharmacol. 31: 519 (1987)), quaniprilol (descrito en el documento US4344949), espiraprilol (Schering, descrito en Acta. Pharmacol. Toxicol. 59 (Supl. 5): 173 (1986)), tenocaprilol, zofenoprilol, trandolaprilol, (y otros descritos en el documento US4316906), rentiaprilol (fentiaprilol, descrito en Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. 10:131 (1983)), pivoprilol, YS980, teprotida (potenciador de la bradiquinina BPP9a CAS RN 35115-60-7), BRL 36,378 (SmitKline 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-1H-1-(3S)-benzazepina-1-acético HCl, véase el documento de patente del Reino Unido nº 2.103.614), CGS 16617 (Ciba-Geigy, ácido 3(S)-[[[1(S)-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)), C1925 (Pharmacologist 26:243, 266 (1984)), WY-44221 (Wyeth, véase J. Med. Chem. 26:394 (1983)), y los descritos en el

documento US2003006922 (párrafo 28), US4337201, US4432971 (fosfonamidatos); inhibidores neutros de la endopeptidasa tales como omapatrilat (Vanlev®), CGS 30440, cadoxatril y ecadotril, fasidotril (también conocido como aladotril o alatriopril, sampatrilat, mixanprilo y gemopatrilat, AVE7688, ER4030, y los descritos en los documentos US5362727, US5366973, US5225401, US4722810, US5223516, US4749688, US5552397, US5504080, US5612359, US5525723, EP0599444, EP0481522, EP0599444, EP0595610, EP0534363, EP534396, EP534492, EP0629627; antagonistas de la endotelina tales como tezosentano, A308165 y YM62899, y similares; vasodilatadores tales como hidralazina (apresolina), clonidina (clorhidrato de clonidina (1H-imidazol-2-amina, N-(2,6-diclorofenil)4,5-dihidro-, monohidrocloruro CAS RN 4205-91-8), catapres, minoxidilo (loniten), alcohol nicotínico alcohol (roniacol), clorhidrato de diltiazem (tal como 1,5-benzotiazepin-4(5H)-ona, 3-(acetiloxi)-5[2-(dimetilamino)etil]-2,3-dihidro-2(4-metoxifenil)-, monohidrocloruro (+)-cis, por ejemplo, Tiazac®, Forest), dinitrato de isosorbida (tal como 1,4:3,6-dianhidro-D-glucitol 2,5-dinitrato, por ejemplo, Isordil® Titradoso®, Wyeth-Ayerst), mononitrato de sosorbida (tal como 1,4:3,6-dianhidro-D-glucito-1,5-nitrato, un nitrato orgánico, por ejemplo, Ismo®, Wyeth-Ayerst), nitroglicerina (tal como trinitrato de 2,3-propanotriol, por ejemplo, Nitrostat® Parke-Davis), clorhidrato de verapamilo (tal como benzoacetónitrilo, (±)-(alfa)[3-[[2-(3,4-dimetoxifenil)etil]metilamino]propil]-3,4-dimetoxi-(alfa)-(1-metiletil)hidrocloruro, por ejemplo, Covera HS® de liberación prolongada, Searle), cromonar (que se puede preparar como se describe en el documento US3282938), clonitato (Annalen 1870 155), droprenilamina (que se puede preparar tal y como se describe en el documento DE2521113), lidoflazina (que se puede preparar tal y como se describe en el documento US3267104); prenilamina (que se puede preparar tal y como se describe en el documento US3152173), nitrato de propatilo (que puede prepararse tal y como se describe en el documento de patente francesa 1.103.113), clorhidrato de mioflazina (1-piperazincetamida, 3-(aminocarbonil)4-[4,4-bis(4-fluorofenil)butil]-N-(2,6-diclorofenil), dihidrocloruro, CAS RN 83898-67-3), mixidina (benzoetanamina, 3,4-dimetoxi-N-(1-metil-2-pirrolidiniliden)-pirrolidina, 2-[[3,4-dimetoxifenetil]imino]-1-metil-l-metil-2-[[3,4-dimetoxifenetil]imino]pirrolidina CAS RN 27737-38-8), molsidomina (1,2,3-oxadiazolio, 5-[(etoxicarbonil)amino]-3-(4-morfolinil)-, sal interna CAS RN 25717-80-0), mononitrato de isosorbida (D-glucitol, 1,4:3,6-dianhidro-5-nitrato, CAS RN 16051-77-7), tetranitrato de eritritilo (1,2,3,4-butanetetrol, tetranitrato, (2R,3S)-rel-CAS RN 7297-25-8), clonitrato(1,2-propanodiol, 3-cloro-, dinitrato (7Cl, 8Cl, 9Cl) CAS RN 2612-33-1), dipiridamol etanol, 2,2',2'',2''''-[[4,8-di-1-piperidinilpirimido[5,4-d]pirimidin-2,6-diil]dinitrilo]tetrakis-CAS RN 58-32-2), nicorandilo (CAS RN 65141-46-03), piridincarboxamida (ácido N-[2-(nitrooxi)etil]-nisoldipin-3,5-piridindicarboxílico, 1,4-dihidro-2,6-dimetil-4-(2-nitrofenil)-, metil 2-metilpropil éster CAS RN 63675-72-9), ácido nifedipin-3,5-piridindicarboxílico, 1,4-dihidro-2,6-dimetil-4-(2-nitrofenil)-, dimetil éster CAS RN 21829-25-4), maleato de perhexilina (piperidina, 2-(2,2-diciclohexiletil)-, (2Z)-2-butenodioato (1:1) CAS RN 6724-53-4), clorhidrato de oxprenolol (2-propanol, 1-[(1-metiletil)amino]-3-[2-(2-propenilo)fenoxi]-, hidrocloruro, CAS RN 6452-73-9), pentrinitrol (1,3-propanodiol, 2,2-bis[(nitrooxi)metil]-, mononitrato (éster) CAS RN 1607-17-6), verapamilo (benzoacetónitrilo, α-[3-[[2-(3,4-dimetoxifenil)etil]metilamino]propil]-3,4-dimetoxi-α-(1-metiletil)-CAS RN 52-53-9) y similares; antagonistas del receptor de la angiotensina II, tales como, aprosartano, zolasartano, olmesartano, prazosartano, F16828K, RNH6270, candesartán (ácido 1H-bencimidazol-7-carboxílico, 2-etoxi-1-[[2'-(1H-tetrazol-5-il)[1,1'-bifenil]-4-il]metil]-CAS RN 139481-59-7), candesartán cilexetil ((+/-)-1-(ciclohexilcarbonilo)etil-2-etoxi-1-[[2'-(H-tetrazol-5-il)bifenil-4-il]-H-bencimidazol-carboxilato, CAS RN 145040-37-5, documentos US5703110 y US5196444), eprosartán (ácido 3-[1-4-carboxifenilmetil]-2-n-butyl-imidazol-5-il)-(2-tienilmetil)propanoico, documentos US5185351 y US5650650), irbesartán (2-n-butyl-3-[[2'-(1H-tetrazol-5-il)bifenil-4-il]metil]1,3-diazazspiro[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 de potasio, 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-bencimidazol)-r-il)]-[1,1'-bifenil]-2-carboxílico, CAS RN 144701-48-4, documento US5591762), milfasartano, abitesartano, valsartán (Diovan® (Novartis), (S)-N-valeril-N-[[2'-(H-tetrazol-5-il)bifenil-4-il]metil]valina, documento US5399578), EXP-3137 (ácido 2-N-butyl-4-cloro-1-[[2'-(1H-tetrazol-5-il)bifenil-4-il]-metil]imidazol-5-carboxílico, documentos US5138069, US5153197 y US5128355), 3-(2'-(tetrazol-5-il)-1,1'-bifenil-4-il)metil-5,7-dimetil-2-etil-3H-imidazo[4,5-b]piridina, ácido 4'[2-etil-4-metil-6-(5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]piridin-2-il)-bencimidazol-1-il]-metil]-1,1'-bifenil]-2-carboxílico, 2-butyl-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-butyl-4-cloro-1-[[2'-(1H-tetrazol-5-il)bifenil-4-il]metil]imidazol-carboxílico, ácido 2-butyl-4-cloro-1-[[2'-(1H-tetrazol-5-il)[1,1'-bifenil]-4-il]metil]-1H-imidazol-5-carboxílico 1-(etoxicarbonil-oxi)etil éster sal de potasio, dipotasio 2-butyl-4-(metiltio)-1-[[2-[[[(propilamino)carbonil]amino]-sulfonil](1,1'-bifenil)-4-il]metil]-1H-imidazol-5-carboxilato, metil-2-[[4-butyl-2-metil-6-oxo-5-[[2'-(1H-tetrazol-5-il)-[1,1'-bifenil]-4-il]metil]-1-(6H)-pirimidinil]metil]-3-tiofencarboxilato, 5-[[3,5-dibutyl-1H-1,2,4-triazol-1-il]metil]-2-[2-(1H-tetrazol-5-il)ifenil]piridina, 6-butyl-2-(2-feniletil)-5[[2'-(1H-tetrazol-5-il)[1,1'-bifenil]-4-metil]pirimidin-4(3H)-ona D,L sal de lisina, 5-metil-7-n-propil-8-[[2'-(1H-tetrazol-5-il)bifenil-4-il]metil]-[1,2,4]-triazolo[1,5-c]pirimidin-2(3H)-ona, 2,7-dietil-5-[[2'-(5-tetrazolil)bifenil-4-il]metil]-5H-pirazolo[1,5-b][1,2,4]triazol sal de potasio, ácido 2-[2-butyl-4,5-dihidro-4-oxo-3-[2'-(1H-tetrazol-5-il)-4-bifenilmetil]-3H-imidazo[4,5-c]piridin-5-ilmetil]benzoico, éster etílico, sal de potasio, 3-metoxi-2,6-dimetil-4-[[2'-(1H-tetrazol-5-il)-1,1'-bifenil-4-il]metoxi]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]ciclopentano-1-carboxílico, 7-metil-2n-propil-3-[[2'1H-tetrazol-5-il)bifenil-4-il]metil]-3H-imidazo[4,5-b]piridina, 2-[5-[[2-etil-5,7-dimetil-3H-imidazo[4,5-b]piridina-3-il]metil]-2-quinolinil]sodio benzoato, 2-butyl-6-cloro-4-hidroximetil-5-metil-3-[[2'-(1H-tetrazol-5-il)bifenil-4-il]metil]piridina, ácido 2-[[2-butyl-1-[(4-carboxifenil)metil]-1H-imidazol-5-il]metil]amino]benzoico tetrazol-5-il)bifenil-4-il]metil]pirimidin-6-ona, 4(S)-[4-(carboximetil)fenoxi]-N-[2(R)-[4-(2-sulfobenzamido)imidazol-1-il]octanoil]-L-prolina, 1-(2,6-dimetilfenil)-4-butyl-1,3-dihidro-3-[[6-[2-(H-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-

2H-1,2,4-benzotiazin-7-sulfonamida 1,1-dióxido, por ejemplo, la combinación como, por ejemplo, comprimidos Aldoril® comercializados por Merck), metildopa-clorotiazida (tal como 6-cloro-2H-1,2,4-benzotiazin-7-sulfonamida 1,1-dióxido y metildopa tal y como se ha descrito anteriormente, por ejemplo, Aldoclor®, Merck), clorhidrato de clonidina (tal como 2-(2,6-diclorofenilamino)-2-imidazolina hidrocloreto y clortalidona (tal como 2-cloro-5-(1-hidroxi-3-oxo-1-isoindolinil)benzosulfonamida), por ejemplo, Combipres®, Boehringer Ingelheim), clorhidrato de clonidina (tal como 2-(2,6-diclorofenilamino)-2-imidazolina hidrocloreto, por ejemplo, Catapres®, Boehringer Ingelheim), clonidina (1H-imidazol-2-amina, N-(2,6-diclorofenil)4,5-dihidro-CAS RN 4205-90-7), Hyzaar (Merck; una combinación de losartán e hidroclorotiazida), Co-Diovan (Novartis; una combinación de valsartán e hidroclorotiazida), Lotrel (Novartis; una combinación de benazeprilo y amlodipina) y Caduet (Pfizer; una combinación de amlodipina y atorvastatina), y los agentes descritos en el documento US20030069221.

Agentes para el tratamiento de trastornos respiratorios

Los péptidos GCRA descritos en la presente memoria se pueden utilizar en terapia de combinación con uno o varios de los siguientes agentes, útiles en el tratamiento de trastornos respiratorios y otros trastornos que incluyen, pero no están limitados a: (1) β -agonistas que incluyen pero no están limitados a: albuterol (Proventil®, Salbutamol®, Ventolín®), bambuterol, bitoterol, clenbuterol, fenoterol, formoterol, isoetarina (Broncosol®, Bronkometer®), metaproterenol (Alupent®, Metaprel®), pirbuterol (Maxair®), reproterol, rimiterol, salmeterol, terbutalina (Brethaire®, Brethine®, Bricanyl®), adrenalina, isoproterenol (Isuprel®), bitartrato de epinefrina (Primatene®), efedrina, orciprenlina, fenoterol e isoetarina; (2) esteroides, que incluyen pero no están limitados a beclometasona, dipropionato de beclometasona, betametasona, budesonida, budesonida, butixocort, dexametasona, flunisolida, flucortina, fluticasona, hidrocortisona, metil prednisona, mometasona, predonisolona, predonisona, tipredano, tixocortal, triamcinolona y acetónido de triamcinolona; (3) combinaciones de β -2-agonistas-corticosteroides [por ejemplo, salmeterol-fluticasona (Advair®), formoterol-budesonida (Symbicort®)]; (4) antagonistas del receptor D4 de leucotrienos/antagonistas de leucotrienos/antagonistas de LTD4 (es decir, cualquier compuesto que es capaz de bloquear, inhibir, reducir o interrumpir de otro modo la interacción entre los leucotrienos y el receptor Cys LTI), que incluyen pero no están limitados a: zafiukast, montelukast, montelukast sodio (Singulair®), pranlukast, iralukast, pobilukast, SKB-106.203 y compuestos que tienen actividad antagonista de LTD4, descritos en el documento de patente US 5.565.473; (5) inhibidores de 5-lipoxigenasa y/o leucotrienos de la biosíntesis [por ejemplo, zileuton y BAY1005 (registro CA 128253-31-6)]; (6) antagonistas de los receptores H1 de histamina/antihistamínicos (es decir, cualquier compuesto que es capaz de bloquear, inhibir, reducir o interrumpir de otra manera la interacción entre la histamina y su receptor), incluyendo pero sin estar limitados a: astemizol, acrivastina, antazolina, azatadina, azelastina, astemizol, bromofeniramina, maleato de bromofeniramina, carbinoxamina, carebastina, cetirizina, clorfeniramina, maleato de clorfeniramina, clemastina, cimetidina, ciclizina, ciproheptadina, descarboetoxiloratadina, dexclorfeniramina, dimetindeno, difenhidramina, difenilpiralina, succinato de doxilamina, doxilamina, ebastina, efletirizina, epinastina, famotidina, fexofenadina, hidroxizina, hidroxizina, cetotifeno, levocabastina, 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 que incluye pero no está limitado a: atropina, bengtropina, biperideno, flutropio, hiosciamina (por ejemplo, Levsin®, Levbid®, Levsin/SL®, Anaspaz®, Levsinex timecaps®, NuLev®), ilutropio, bromuro de ipratropio, ipratropio, metescopolamina, oxibutinina, rispenzepina, escopolamina y tiotropio; (8) un antitusivo que incluye pero no está limitado a: dextrometorfano, codeína e hidromorfona; (9) un descongestionante que incluye pero no está limitado a: pseudoefedrina y fenilpropanolamina; (10) un expectorante que incluye pero no está limitado a: guaifenesina, guaicol sulfato, terpina, cloruro de amonio, guaicolato de glicerol y glicerol yodado; (11) un broncodilatador que incluye pero no está limitado a: teofilina y aminofilina; (12) un anti-inflamatorio, que incluye pero no está limitado a: flurbiprofeno, diclofenaco, indometacina, cetoprofeno, S-cetoprofeno, tenoxicam; (13) un inhibidor de la PDE (fosfodiesterasa) que incluye pero no está limitado a los descritos en este documento; (14) un anticuerpo monoclonal recombinante humanizado [por ejemplo xolair (también denominado omalizumab), rhuMab y talizumab]; (15) un tensioactivo pulmonar humanizado que incluye formas recombinantes de proteínas tensioactivas SP-B, SP-C o SP-D [p. ej., Surfaxin®, anteriormente conocido como dsc-104 (Discovery Laboratories)]; (16) agentes que inhiben los canales epiteliales de sodio (ENaC) tales como amilorida y compuestos afines; (17) agentes antimicrobianos utilizados para tratar infecciones pulmonares, tales como aciclovir, amikacina, amoxicilina, doxiciclina, trimetoprina sulfametoxazol, anfotericina B, azitromicina, claritromicina, roxitromicina, claritromicina, cefalosporinas (cefotaxima, cefmetazol, etc.), ciprofloxacina, etambutol, gentamicina, ganciclovir, imipenem, isoniazida, itraconazol, penicilina, ribavirina, rifampicina, rifabutina, amantadina, rimantidina, estreptomina, tobramicina y vancomicina; (18) agentes que activan la secreción de cloruro a través de canales de cloruro dependientes de Ca^{++} (como los agonistas del receptor purinérgico (P2Y(2))); (19) agentes que disminuyen la viscosidad del esputo, tales como ADNasa 1 humana recombinante, (Pulmozyme®); (20) agentes antiinflamatorios no esteroideos (acemetacina, acetaminofeno, ácido acetilsalicílico, alclofenaco, alminoprofeno, apazona, aspirina, benoxaprofeno, bezpiperilon, ácido buclórico, carprofeno, clidanaco, diclofenaco, diclofenaco, diflunisal, etodolaco, fenbufeno, fenbufeno, fenclorfenaco, ácido fenclórico, fenoprofeno, fentiazaco, feprazona, ácido flufenámico, flufenisal, flufenisal, fluprofeno, flurbiprofeno, flurbiprofeno, furofenaco, ibufenaco, ibuprofeno, indometacina, indometacina, indoprofeno, isoxepaco, isoxicam, cetoprofeno, cetoprofeno, cetorolaco, ácido meclofenámico, ácido meclofenámico, ácido mefenámico, ácido mefenámico, miroprofeno, mofebutazona, nabumetona oxaprozina, naproxeno, naproxeno, ácido niflúmico, oxaprozina, oxpinaco, oxifenbutazona, fenacetina, fenilbutazona, fenilbutazona, piroxicam, piroxicam, pirprofeno,

pranoprofeno, sudoxicam, tenoxicam, sulfasalazina, sulindaco, sulindaco, suprofen, ácido tiaprofénico, tiopinaco, tioxaprofeno, ácido tolfenámico, tolmetina, tolmetina, zidometacina y zomepiraco); y (21) agentes terapéuticos antioxidantes en aerosol, tales como S-nitrosoglutatión.

5 Agentes antiobesidad

Los péptidos GCRA descritos en la presente memoria se pueden utilizar en terapia de combinación con un agente antiobesidad. Los agentes adecuados incluyen, pero no están limitados a: 11 β HSD-I (deshidrogenasa 11-beta hidroxisteroide de tipo 1), inhibidores tales como BVT 3498, BVT 2733, 3-(1-adamantil)-4-etil-5-(etiltio)-4H-1,2,4-triazol, 3-(1-adamantil)-5-(3,4,5-trimetoxifenil)-4-metil-4H-1,2,4-triazol, 3-adamantanil-4,5,6,7,8,9,10,11,12,3adecahidro-1,2,4-triazolo[4,3-a][11]anuleno, y aquellos compuestos descritos en los documentos WO01/90091, WO01/90090, WO01/90092 y WO02/072084; antagonistas de 5HT tales como aquellos los descritos en los documentos WO03/037871, WO03/037887 y similares; moduladores de 5HT1a tales como carbidopa, benserazida y los descritos en los documentos US6207699, WO03/031439 y similares; agonistas de 5HT2c (receptor 2c de serotonina), tales como BVT933, DPCA37215, IK264, PNU 22394, WAY161503, R-1065, SB 243213 (Glaxo SmithKline) y YM 348 y los descritos en los documentos US3914250, WO00/77010, WO02/36596, WO02/48124, WO02/10169, WO01/66548, WO02/44152, WO02/51844, WO02/40456 y WO02/40457; moduladores del receptor de 5HT6, tales como los descritos en los documentos WO03/030901, WO03/035061, WO03/039547 y similares; acilestrógenos, tales como oleoil-estrona, descrita en del Mar-Grasa, M. y col., Obesity Research, 9:202-9 (2001) y el documento de Solicitud de Patente Japonesa JP 2000256190; compuestos bicíclicos anorécticos tales como 1426 (Aventis) y 1954 (Aventis), y los compuestos descritos en los documentos WO00/18749, WO01/32638, WO01/62746, WO01/62747 y WO03/015769; antagonistas de CB 1 (receptor cannabinoide-1)/agonistas inversos, tales como rimonabant (Acomplia; Sanofi), SR-147778 (Sanofi), SR-141716 (Sanofi), BAY 65-2520 (Bayer) y SLV 319 (Solvay), y los descritos en los documentos de 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 aquellos descritos en el documento US5739106; CNTF (factores neurotróficos ciliares), tales como GI-181771 (Glaxo-SmitKline), SRL 46131 (Sanofi Syntelabo), butabindida, PD 170.292, y PD 149164 (Pfizer); derivados de CNTF, tales como Axokine® (Regeneron), y los descritos en los documentos WO94/09134, WO98/22128 y WO99/43813; inhibidores de la dipeptidil peptidasa IV (DP-IV), tales como tiazolidida isoleucina, pirrolidida valina, NVP-DPP728, LAF237, P93/01, P 3298, TSL 225 (ácido triptofil-1,2,3,4-tetrahidroisquinolin-3-carboxílico; descrito por Yamada y col., Bioorg. & Med. Chem. Lett. 8 (1998) 1537-1540), TMC-2A/2B/2C, inhibidores de CD26, FE 999011, P9310/K364, VIP 0177, SDZ 274-444, 2-cianopirrolididas y 4-cianopirrolididas, tal y como se describen en Ashworth y col., Bioorg. & Med. Chem. Lett., Vol. 6, n° 22, págs. 1163-1166 y 2745-2748 (1996) y los compuestos descritos en los documentos de publicaciones de patente: WO99/38501, WO99/46272, WO99/67279 (Probiobdrug), WO99/67278 (Probiobdrug), WO99/61431 (Probiobdrug), 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 del receptor de secretagogo de la hormona del crecimiento, tales como NN703, hexarelina, MK-0677 (Merck), SM-130686, CP-424391 (Pfizer), LY 444711 (Eli Lilly), L-692.429 y L-163.255, y aquellos como los descritos en los documentos USSN 09/662448, solicitud provisional US 60/203335, 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, imoproxifano, GT2394 (Gliatech), y A331440, O-[3-(1H-imidazol-4-il)propanol]carbamatos (Kiec-Kononowicz, K. y col., Pharmazie, 55:349-55 (2000)), antagonistas del receptor H3 de la histamina que contienen piperidina (Lazewska, D. y col., Pharmazie, 56:927-32 (2001)), derivados de benzofenona y compuestos relacionados (Sasse, A. y col., Arch. Pharm. (Weinheim) 334:45-52 (2001)), fenilcarbamatos sustituidos en N (Reidemeister, S. y col., Pharmazie, 55:83-6 (2000)), y derivados de proxifano (Sasse, A. y col., J. Med. Chem. 43:3335-43 (2000)) y moduladores del receptor H3 de la histamina, tales como los descritos en los documentos WO02/15905, WO03/024928 y WO03/024929; derivados de leptina, tales como los descritos 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 que incluye la leptina humana recombinante (PEG-OB, Hoffman La Roche) y metionil leptina humana recombinante (Amgen); inhibidores de la lipasa, tales como tetrahidrolipstatina (orlistat/Xenical®), Triton 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 descritos en los documentos de publicaciones de patente WO01/77094, US4598089, US4452813, US5512565, US5391571, US5602151, US4405644, US4189438 y US4242453; moduladores del metabolismo lipídico tales como ácido maslínico, eritrodil, ácido ursólico, uvaol, ácido betulínico, betulina y similares, y los compuestos descritos 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 descritos en los documentos de publicación PCT WO99/64002, WO00/74679, WO01/991752, WO01/25192, WO01/52880, WO01/74844, WO01/70708, 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 descritos 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 descritos en los documentos de publicaciones de patentes 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 descritos 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 y como Pondimin® (benzoetanamina, N-etil-alfa-metil-3-(trifluorometil)-, clorhidrato), Robbins), dexfenfluramina (tal como Redux® (benzoetanamina, N-etil-alfa-metil-3-(trifluorometil)-, clorhidrato), Interneuron) y sibutramina ((Meridia®, Knoll/Reductil®), incluyendo las mezclas racémicas, como isómeros ópticamente puros (+) y (-), y sales, disolventes, hidratos, clatratos y profármacos de los mismos farmacéuticamente aceptables, que incluyen sales de clorhidrato de sibutramina monohidrato de los mismos, y los compuestos descritos en los documentos USA4746680, US4806570, US5436272 y 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 descritos 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-15 377897, LY-366377, PD-160170, SR-120562A, SR-120819A, JCF-104 y H409/22 y los compuestos descritos en los documentos de publicaciones de patente US6140354, US6191160, US6218408, US6258837, US6313298, US6326375, US6329395, US6335345, US6337332, US6329395, US6340683, EP01010691, EP01044970, WO97/19682, WO97/20820, WO97/20821, WO97/20822, WO97/20823, WO98/27063, WO00/107409, WO00/185714, WO00/185730, WO00/64880, WO00/68197, WO00/69849, WO/0113917, WO01/09120, WO01/14376, WO01/85714, WO01/85730, WO01/07409, WO01/02379, WO01/23388, WO01/23389, WO01/44201, WO01/62737, WO01/62738, WO01/09120, WO02/20488, WO02/22592, WO02/48152, WO02/49648, WO02/051806, WO02/094789, WO03/009845, WO03/014083, WO03/022849, WO03/028726 y Norman y col., J. Med. Chem. 43:4288-4312 (2000); antagonistas de opioides, tales como nalmefeno (REVEX®), 3-metoxinaltrexona, metilnaltrexona, naloxona y naltrexona (por ejemplo, PT901; Pain Therapeutics, Inc.) y los descritos en los documentos US20050004155 y WO00/21509; antagonistas de orexina, tales como SB-334867-A y los descritos en los documentos de publicaciones de patente WO01/96302, WO01/68609, WO02/44172, WO02/51232, WO02/51838, WO02/089800, WO02/090355, WO03/023561, WO03/032991 y WO03/037847; inhibidores de PDE (por ejemplo, compuestos que ralentizan la degradación de AMP cíclico (AMPC) y/o GMP cíclico (GMPc) mediante la inhibición de las fosfodiesterasas, lo que puede conducir a un aumento relativo en la concentración intracelular de AMPC y GMPc; posibles inhibidores de PDE son principalmente aquellas sustancias que van a figurar en la clase que consiste en los inhibidores de PDE3, la clase que consiste en los inhibidores de PDE4 y/o la clase que consiste en los inhibidores de PDE5, en particular aquellas sustancias que se pueden designar como tipos mixtos de inhibidores PDE3/4 o como tipos mixtos de inhibidores PDE3/4/5) tales como los descritos en los documentos de 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, EPOI 12987, EPOI 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 descritos en las fórmulas I-XIII y los párrafos 37-39, 85-0545 y 557 a 577), WO9307124, EP0163965, EP0393500, EP0510562, EP0553174, WO9501338 y WO9603399, así como inhibidores de PDE5 (por ejemplo, RX-RA-69, SCH-51866, KT-734, vesnarinona, zaprinast, SKF-96231, ER-21355, BF/GP-385, NM-702 y sildenafilio (Viagra®)), inhibidores de PDE4 (tales como etazolato, ICI63197, RP73401, imazolidinona (RO-20-1724), MEM 1414 (R1533/R1500; Pharmacia Roche), denbufilina, rolipram, oxagrelato, nitraquazona, Y-590, DH-6471, SKF-94120, motapizona, lixazinona, indolidano, olprinona, atizoram, KS-506-G, dipamfilina, BMY-43351, atizoram, arofilina, filaminast, PDB-55 093, UCB-29646, CDP-840, SKF-107806, piclamilast, RS-17597, RS-25344-000, SB-207499, tinebelast, SB-210667, SB-211572, SB-211600, SB-212066, SB-212179, GW-3600, CDP-840, mopidamol, anagrelida, ibudilast, amrinona, pimobendano, cilostazol, quazina y N-(3,5-dicloropirid-4-il)-3-ciclopropilmetoxi-4-difluorometoxibenzamida, inhibidores de PDE3 (tales como ICI153, 100, bemorandano (RWJ 22867), MCI-154, UD-CG 212, sulmazol, ampizona, cilostamida, carbazerano, piroximona, imazodano, CI-930, siguazodano, adibendano,

saterinona, SKF-95654, SDZ-MKS-492, 349-U-85, emoradano, EMD-53998, EMD-57033, NSP-306, NSP-307, revizinona, NM-702, WIN-62582 y WIN-63291, enoximona y milrinona, inhibidores de PDE3/4 (tales como benafentrina, trequinsina, ORG-30029, zardaverina, L-686398, SDZ-ISQ-844, ORG-20241, EMD-54622, y tolafentrina) y otros inhibidores de PDE (tales como vinpocetina, papaverina, enprofilina, cilomilast, fenoximona, pentoxifilina, roflumilast, tadalafilo (Cialis®), teofilina y vardenafilo (Levitra®); agonistas del neuropéptido Y2 (NPY2) incluyen, pero no se limitan a: polipéptido 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 (SEQ ID NO: XXX)) y agonistas de PYY, tales como los descritos 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 descritos en los documentos US6162805, US6365633, WO03/00663, WO01/27060 y WO01/162341; β agonistas de la hormona tiroidea, tales como KB-2611 (KaroBioBMS), y los descritos en los documentos WO02/15845, WO97/21993, WO99/00353, GB98/284425, Solicitud Provisional US 60/183. 223, y Solicitud de Patente Japonesa JP 2000256190; activadores de UCP-1 (proteína de desacoplamiento-1), 2 o 3 , tales como ácido fitánico, ácido 4-[(E)-2-(5,6,7,8-tetrahidro-5,5,8,8-tetrametil-2-naftalenil)-1-propenil]benzoico (TTNPB), ácido retinoico y los descritos en el documento WO99/00123; agonistas de β 3 (receptor adrenérgico beta 3), como AJ9677/TAK677 (Dainippon/Takeda), L750355 (Merck), CP331648 (Pfizer), CL-316,243, SB 418790, BRL-37344, L-10 796568, BMS-196085, BRL-35135A, CGP12177A, BTA-243, GW 427353, Trecadrina, Zeneca D7114, N-5984 (Nisshin Kyorin), LY-377604 (Lilly), SR 59119A, y los descritos en los documentos US5541204, US5770615, US5491134, US5776983, US488064, US5705515, US5451677, WO94/18161, WO95/29159, WO97/46556, WO98/04526 y WO98/32753, WO01/74782, WO02/32897, WO03/014113, WO03/016276, WO03/016307, WO03/024948, WO03/024953 y WO03/037881; agentes noradrenérgicos, que incluyen pero no están limitados a, dietilpropión (tal como Tenuate® (1-propanona, 2-(dietilamino)-1-fenil-, hidrocloreuro), Merrell), dextroanfetamina (también conocida como sulfato de dextroanfetamina, dexanfetamina, dexedrina, Dexampex, Ferndex, Oxydess II, Robese, Spancap nº 1), mazindol ((o 5-(p-clorofenil)-2,5-dihidro-3H-imidazo[2,1-a]isoindol-5-ol), tales como Sanorex® Novartis, o Mazanor®, Wyeth Ayerst), fenilpropanolamina (o benzometanol, alfa-(1-aminotil)-, clorhidrato), fentermina ((o fenol, 3-[[4,5-dihidro-1H-imidazol-2-il)etil]](4-metilfenil)amino], monohidrocloreuro), tal como Adipex-P®, Lemmon, FASTIN®, SmitKline Beecham y Ionamin®, Medeva), fendimetrazina ((o (2S,3S)-3,4-dimetil-2-fenilmorfolina, L-(+)-tartrato (1:1)), tal como Metra® (Forest), Plegine® (Wyeth-Ayerst), Prelu-2® (Boehringer Ingelheim) y Statobex® (Lemmon), tartrato de fendamina (como Tephorin® (2,3,4,9-tetrahidro-2-metil-9-fenil-1Hindenol [2,1-c]piridina, L-(+)-tartrato (1:1)), Hoffmann LaRoche-), metanfetamina (como Desoxin®, Abbot ((S)-N, (alfa)-dimetilbenzoetanamina, hidrocloreuro)), y tartrato de fendimetrazina (tal como cápsulas de liberación lenta Bontril®, Amarin (3,4-dimetil-2-fenilmorfolina, tartrato); reguladores positivos/inductores de la oxidación de ácidos grasos, tales como Famoxin® (Genset); inhibidores de la monoamino oxidasa que incluyen pero no están limitados a befloxatona, moclobemida, brofaromina, fenoxatina, esuprona, befol, toloxatona, pirlindol, amiflamina, sercloremina, bazinaprina, lazabemida, milacemida, caroxazona y otros ciertos compuestos, tales como los que se describen en el documento WO01/12176; y otros agentes contra la obesidad tales como agonistas de 5HT-2, inhibidores de ACC (carboxilasa de acetil-CoA) tales como los descritos en el documento WO03/072197, ácido alfa-lipoico (alfa-LA), AOD9604, supresores del apetito, tales como aquellos descritos en el documento WO03/40107, ATL-962 (Alizyme PLC), benzocaína, clorhidrato de benzfetamina (Didrex), fuco (enfoco vesiculosus), agonistas de BRS3 (subtipo 3 del receptor de bombesina), bupropión, cafeína, agonistas de CCK, quitosano, cromo, ácido linoleico conjugado, agonistas de la hormona de liberación de corticotropina, dehidroepiandrosterona, inhibidores de DGAT1 (diacilglicerol aciltransferasa 1), inhibidores de DGAT2 (diacilglicerol aciltransferasa 2), inhibidores del transportador de dicarboxilato, efedra, exendina-4 (un inhibidor de GLP-1), inhibidores de FAS (ácido graso sintasa) (tales como cerulina y C75), inhibidores de la reabsorción de la grasa (por ejemplo, aquellos descritos en el documento WO03/053451 y similares), inhibidores del transportador de ácidos grasos, fibras naturales solubles en agua (tales como psillium, plantago, guar, avena, pectina), antagonistas de galanina, galega (ruda cabruna), garcinia cambogia, camedrio (Teucrium chamaedrys), anticuerpos de grelina y antagonistas de grelina (tales como los descritos 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 secretina/polipéptido inhibidor gástrico (GIP)/polipéptido intestinal vasoactivo (VIP)/polipéptido activador de la adenilato ciclasa de la pituitaria (PACAP)/polipéptido II similar al glucagón (GLP-II)/glicentina/familia de genes del glucagón y/o de la familia génica de polipéptidos relacionados con el gen de la adrenomedulina/amilina/calcitonina (CGRP) que incluyen agonistas de GLP-1 (polipéptido 1 similar al glucagón) (por ejemplo (1) exendina-4, (2) aquellas moléculas de GLP-1 descritas en el documento US20050130891 incluyendo GLP-1(7-34), GLP-1(7-35), GLP-1(7-36) o GLP-1(7-37) en su forma carboxilada o amidada C-terminal o como polipéptidos GLP-1 modificados y modificaciones de los mismos, que incluyen las descritas en los párrafos 17-44 del documento US20050130891, y derivados obtenidos a partir de GLP-1-(7-34)COOH y se emplea la amida del ácido correspondiente que tiene la siguiente fórmula general: R-NH-HAEGTFTSDVSYLEGQAQKEFIWLK-CONH₂ en donde R=H o un compuesto orgánico que tiene de 1 a 10 átomos de carbono. Preferiblemente, R es el residuo de un ácido carboxílico. Particularmente preferidos son los siguientes residuos de ácidos carboxílicos: 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 la glucosa, secretagogos de la hormona de crecimiento (tales como los mencionados y descritos específicamente en el documento US5536716), interleucina-6 (IL-6) y moduladores de la misma (como se describen en el documento WO03/057237 y similares), L-carnitina, agonistas de Mc3r (receptor 3 de melanocortina), agonistas/antagonistas de MCH2R (hormona 2R concentradora de melanina), antagonistas de la hormona concentradora de melanina, agonistas de la melanocortina

(tales como Melanotano II o los descritos en los documentos WO 99/64002 y WO 00/74679), hierba nomame, inhibidores del transportador de fosfato, compuesto fitofármaco 57 (CP 644,673), piruvato, inhibidores de SCD-1 (estearoil-CoA desaturasa-1), T71 (Tularik, Inc., Boulder CO), topiramato (Topimax®, indicado como anticonvulsivo que ha demostrado que aumenta la pérdida de peso), moduladores del factor de transcripción (tales como los descritos en el documento WO03/026576), inhibidores de la β -hidroxi-esteroide deshidrogenasa-1 (β -HSD-1), β -hidroxi- β -metilbutirato, p57 (Pfizer), zonisamida (Zonegran®, indicado como antiepiléptico que ha demostrado que conduce a la pérdida de peso), y los agentes descritos en el documento US20030119428, párrafos 20-26.

Agentes antidiabéticos

Los péptidos GCRA descritos en la presente memoria se pueden usar en combinación terapéutica con uno o varios agentes antidiabéticos, que incluyen pero no están limitados a: agonistas de PPAR γ 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 descrito en el documento US5594016), pioglitazona (tal como pioglitazona Actos®; Takeda), rosiglitazona (Avandia®; SmitKline Beecham), maleato de rosiglitazona, troglitazona (Rezulin®, descrita en el documento US4572912), rivoglitazona (CS-O1 1, Sankyo), GL-262570 (Glaxo Wellcome), BRL49653 (descrito en el documento WO98/05331), CLX-0921, 5-BTZD, GW-0207, LG-100641, JJT-501 (JPNT/P&U), L-895645 (Merck), R-119702 (Sankyo/Pfizer), NN-2344 (Dr. Reddy/NN), YM-440 (Yamanouchi), LY-10 300512, LY-519818, R483 (Roche), T131 (Tularik) y similares, y compuestos descritos en los documentos USA4687777, US5002953, US5741803, US5965584, US6150383, US6150384, US6166042, USA6166043, USA6172090, USA6211205, US6271243, US6288095, US6303640, US6329404, US5994554, WO97/10813, WO97/27857, WO97/28115, WO97/2813, 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 N,N-dimetilimidodicarbonimidico diamida, tal como Glucophage®, Bristol-Myers Squibb); clorhidrato de metformina con gliburida, tal como Glucovance®, Bristol-Myers Squibb); buformina (imidodicarbonimidic diamida, N-butil-); etoformina (1-butil-2-etilbiguanida, Schering AG); otras formas salinas de metformina (incluyendo cuando la sal se elige entre el grupo de, acetato, benzoato, citrato, ftimarato, embonato, clorfenoxiacetato, glicolato, palmoato, aspartato, metanosulfonato, maleato, paraclorofenoxiisobutirato, formato, lactato, succinato, sulfato, tartrato, ciclohexanocarboxilato, hexanoato, octanoato, decanoato, hexadecanoato, octodecanoato, benzosulfonato, trimetoxibenzoato, paratoluensulfonato, adamantancarboxilato, glicoxilato, glutarnato, naftalenosulfonato, pirrolidoncarboxilato, 1-glucosafosfato, nitrato, sulfito, ditionato y fosfato), y fenformina; inhibidores de la proteína tirosina fosfatasa-IB (PTP-IB), tales como A-401, 674, KR 61639, OC-060062, OC-83839, OC-297962, MC52445, MC52453, ISIS 113715, y los descritos 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 sus sales y ésteres 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, descrita en el documento US4379785, como Amaril, Aventis), glipentida, glipizida (por ejemplo, Glucotrol o Glucotrol XL de liberación prolongada, Pfizer), gliquidona, glisolamida, gliburida/glibenclamida (por ejemplo, comprimidos Micronasa o Glinasa, Pharmacia & Upjohn y Diabeta, Aventis), tolazamida (por ejemplo, Tolinas), y tolbutamida (por ejemplo, Orinasa), y sales y ésteres farmacéuticamente aceptables de los mismos; meglitinidas tales como repaglinida (por ejemplo, Prandin®, Novo Nordisk), KAD1229 (PF/Kissei), y nateglinida (por ejemplo, Starlix®, Novartis), y sales y ésteres farmacéuticamente aceptables de los mismos; inhibidores de la α glucósido hidrolasa (o inhibidores de glucósido) como acarbosa (por ejemplo, Precose®, Bayer descrito en el documento US4904769), miglitol (tal como Gliset®, Pharmacia & Upjohn descrito en el documento US4639436), camigliosa (metil 6-deoxi-6-[(2R,3R,4R,5S)-3,4,5-trihidroxi-2-(hidroximetil)piperidin]-alfa-D-glucopiranosido, Marion Merrell Dow), voglibosa (Takeda), adiposina, emigliato, pradimicina-Q, salbostatina, CKD-711, MDL-25637, MDL-73945 y MOR 14, y los compuestos descritos en los documentos US4062950, US4174439, US4254256, US4701559, US4639436, US5192772, US4634765, US5157116, US5504078, US5091418, US521877, US51091 y WOO 1/47528 (poliaminas); inhibidores de la α -amilasa tales como tendamistat, trestatina y A1-3688, y los compuestos descritos en los documentos US4451455, US4623714 y US4273765; inhibidores de SGLT2 que incluyen los descritos en los documentos US6414126 y US6515117; un inhibidor de aP2 tal como se describe en el documento US6548529; secretagogos de insulina tales como linoglitrida, A-4166, forskilina, dibutil AMPc, isobutilmetilxantina (IBMX), y las sales y ésteres farmacéuticamente aceptables de los mismos; inhibidores de la oxidación de ácidos grasos, tales como clomoxir y etomoxir, y las sales y ésteres farmacéuticamente aceptables de los mismos; antagonistas de A2, tales como midaglizol, isaglidol, deriglitol, idazoxano, earoxano y fluparoxano, y sales y ésteres farmacéuticamente aceptables de los mismos; insulina y compuestos relacionados (por ejemplo, miméticos de insulina), tales como biota, LP-100, novarapid, insulina detemir, insulina lispro, insulina glargina, suspensión de insulina zinc (lenta y ultralenta), insulina Lys-Pro, GLP-1 (1-36) amida, GLP-1 (73-7) (insulintropina, descrita en el documento US5614492), LY-315902 (Lilly), GLP-1 (7-36)-NH2), AL-401 (autoinmune), ciertas composiciones tal y como se describen en los documentos US4579730, US4849405, US4963526, US5642868, US5763396, US5824638, US5843866, US6153632, USA6191105 y WO85/05029, e insulina de roedor, primate o de conejo, incluyendo variantes biológicamente activas de las mismas que incluyen variantes alélicas, más preferiblemente insulina humana disponible en forma recombinante (las fuentes de insulina humana incluyen formulaciones farmacéuticamente aceptables y estériles, tales como las

comercializadas por Eli Lilly (Indianapolis, Ind. 46285) como Humulina® (insulina humana de origen ADN_r), véase también "The physician's desk reference", 55^a ed (2001) Medical Economics, Thomson Healthcare (que describe otras insulinas humanas adecuadas), no tiazolidindionas, como JT-501 y farglitazar (GW-2570/G1 -262579), y sales y ésteres farmacéuticamente aceptables de los mismos; 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-dioxo tiazolidinil)metil]metoxi-N-[[4-(trifluorometil)fenil]metil]benzamida), L-796449, LR-90, MK-0767 (Merck/Kyorin/Banyu), SB 219994, muraglitazar (BMS), tesaglitazar (AstraZeneca), reglitazar (JTT-501) y los descritos 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, WO031053976, solicitud serial US 09/664.598, presentada el 18 de septiembre, 2000, Murakami y col. Diabetes 47, 1841-1847 (1998), y sales y ésteres farmacéuticamente aceptables de los mismos; otros fármacos sensibilizadores a la insulina; agonistas del receptor VPAC2; moduladores de GLK, tales como los descritos en el documento WO03/015774; moduladores retinoides tales como los descritos 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 aquellos compuestos descritos en los documentos WO03/024447, WO03/037869, WO03/037877, WO03/037891, WO03/068773, EP1295884, EP1295885, y similares; inhibidores de la glucógeno fosforilasa (HGLPa) tales como CP-368,296, CP-316,819, BAYR3401, y compuestos descritos en los documentos WO01/94300, WO02/20530, WO03/037864, y sales o ésteres farmacéuticamente aceptables de los mismos; promotores del consumo de ATP tales como los descritos en el documento WO03/007990; inhibidores de TRB3; ligandos de receptores vainilloides, tales como los descritos en el documento WO03/049702; agentes hipoglucémicos tales como los descritos en los documentos WO03/015781 y WO03/040114; inhibidores de la glucógeno sintasa cinasa 3 tales como los descritos en el documento WO03/035663, agentes tales como los descritos en los documentos WO99/51225, US20030134890, WO01/24786 y WO03/059870; proteína 1 que se una al ADN sensible a la insulina (IRDBP-1), tal y como se describe en el documento WO03/057827, y similares; antagonistas de la adenosina A2 tales como los descritos en los documentos WO03/035639, WO03/035640, y similares; agonistas de PPAR δ tales como GW 501516, GW 590735 y compuestos descritos en los documentos JP10237049 y WO02/14291; inhibidores de la 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, descrita por Hughes y col., Biochemistry, 38 (36), 11597-11603, 1999), P32/98, NVP-LAF-237, P3298, TSL225 (ácido triptofil-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolin-3-carboxílico, descrito por Yamada y col., Bioorg. & Med. Chem. Lett. 8 (1998) 1537-1540), valina pirrolidida, TMC-2A/2B/2C, inhibidores de CD-26, FE999011, P9310/K364, VIP 0177, DPP4, SDZ 274-444, 2-cianopirrolididas y 4-cianopirrolididas tal y como se describen por Ashworth y col., Bioorg. & Med. Chem. Lett., Vol. 6, No. 22, págs. 1163-1166 y 2745-2748 (1996), y los compuestos descritos en los documentos USA6395767, USA6573287, USA6395767 (los compuestos descritos incluyen BMS-477118, BMS 471211 y BMS-538305), 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-1 tales como la exendina-3 y la exendina-4 (incluyendo la exendina-4 sintética un polipéptido de 39 aa llamado Exenatide®), y los compuestos descritos en los documentos US2003087821 y NZ 504256, y las sales y ésteres farmacéuticamente aceptables de los mismos; los péptidos que incluyen amlintida y Symlin® (acetato de pramlintida); y activadores de la glicocinasa tales como los descritos en los documentos US2002103199 (compuestos heteroaromáticos fusionados) y WO02/48106 (compuestos de propionamida sustituidos con isoindolin-1-ona).

Inhibidores de la fosfodiesterasa

Los péptidos GCRA descritos en la presente memoria se pueden utilizar en terapia de combinación con un inhibidor de la fosfodiesterasa. Los inhibidores de la PDE son aquellos compuestos que retrasan la degradación del AMP cíclico (AMPC) y/o GMP cíclico (GMPc) mediante la inhibición de las fosfodiesterasas, lo que puede conducir a un aumento relativo en la concentración intracelular de AMPC y/o GMPc. Posibles inhibidores de la PDE son principalmente aquellas sustancias que se pueden enumerar entre la clase que consiste en los inhibidores de la PDE3, la clase que consiste en los inhibidores de PDE4 y/o la clase que consiste en los inhibidores de la PDE5, en particular aquellas sustancias que se pueden designar como tipos mixtos de inhibidores de PDE3/4 o como tipos mixtos de inhibidores de PDE3/4/5. A modo de ejemplo, se pueden mencionar inhibidores de la PDE, tal y como se describen y/o reivindican en los siguientes documentos de solicitudes de patentes 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, EP0059945, EP0075436, EP0096517, EP01 12987, EP01 16948, EP0150937, EP0158380, EP161632, EP161918, EP0167121, EP0199127, EP0220044, EP0247725, EP0258191, EP0272910, EP0272914, EP0294647, EP0300726, EP0335386, EP0357788, EP0389282, EP0406958, EP0426180, EP0428302, EP0435811, EP0470805, P0482208, EP0490823, P0506194, EP0511865, EP0527117, EP0626939, EP0664289, EP0671389, EP0685474, EP0685475, EP0685479, JP92234389, JP94329652, JP95010875, U.S. Pat. Noe. 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, DE1 116676, DE2162096, EP0293063, EP0463756, EP0482208, EP0579496, EP0667345, US6.331.543, USA20050004222 (incluyendo los descritos en las fórmulas I a XIII y los párrafos 37-39, 85-0545 y 557-577) y WO9307124, EP0163965, EP0393500, EP0510562, EP0553174, WO9501338 y WO9603399. Inhibidores de PDE5 que se pueden mencionar a modo de ejemplo son RX-RA-69, SCH-51866, KT-734, vesnarinona, zaprinast, SKF-96231, ER-21355, BF/GP-385, NM-702 y sildenafil (Viagra®). Los inhibidores de PDE4 que se pueden mencionar a modo de ejemplo son RO-20-1724, MEM 1414 (R1533/1500; Pharmacia Roche), denbufilina, rolipram, oxagrelato, nitraquazona, Y-590, DH-6471, SKF 94120, motapizona, lixazinona, indolidano, olprinona, atizoram, KS-506-G, dipamfilina, BMY-43351, atizoram, arofilina, filaminast, PDB-093, UCB-29 646, CDP-840, SKF-107806, piclamilast, RS-17597, RS-25344-000, SB-207499, tinebelast, SB-210667, SB-211572, SB-211600, SB-212066, SB-212179, GW-3600, CDP-840, mopidamol, anagrelida, ibudilast, amrinona, pimobendano, cilostazol, quazinona y N-(3,5-dicloropirid-4-il)-3-ciclopropilmetoxi-4-difluorometoxibenzamida. Los inhibidores de PDE3 que se pueden mencionar a modo de ejemplo son sulmazol, ampizona, cilostamida, carbazerano, piroximona, imazodano, CI-930, siguazodano, adibendano, satorinona, SKF-95654, SDZ-MKS-492, 349-U-85, emoradano, EMD-53998, EMD-57033, NSP-306, NSP-307, revizinona, NM-702, WIN-62582 y WIN-63291, enoximona y milrinona. Los inhibidores de PDE3/4 que se pueden mencionar a modo de ejemplo son benafentrina, trequinsina, ORG-30029, zardaverina, L-686398, SDZ-ISQ-844, ORG-20241, EMD 54622 y tolafentrina. Otros inhibidores de la PDE incluyen: cilomilast, pentoxifilina, roflumilast, tadalafilo (Cialis®), teofilina y vardenafilo (Levitra®), zaprinast (específico de PDE5).

Agentes anti-contracciones uterinas

Los péptidos GCRA descritos en la presente memoria se pueden utilizar en terapia de combinación (por ejemplo, con el fin de disminuir o inhibir las contracciones uterinas) con un agente tocolítico, incluyendo pero sin estar limitados a agentes beta-adrenérgicos, sulfato de magnesio, inhibidores de prostaglandinas y bloqueantes de los canales de calcio.

Agentes antineoplásicos

Los péptidos GCRA descritos en la presente memoria se pueden utilizar en terapia de combinación con agentes antineoplásicos que incluyen pero no se limitan a agentes alquilantes, epipodofilotoxinas, nitrosoureas, antimetabolitos, alcaloides de la vinca, antibióticos de antraciclina, agentes de mostaza de nitrógeno y similares. En particular, los agentes antineoplásicos pueden incluir tamoxifeno, taxol, etopósido y 5-fluorouracilo.

Los péptidos GCRA descritos en la presente memoria se pueden utilizar en terapia de combinación (por ejemplo, como en una composición quimioterapéutica) con terapias de anticuerpos antivíricos y monoclonales.

Agentes para el tratamiento de la insuficiencia cardíaca congestiva

Los péptidos descritos GCRA en la presente memoria se pueden utilizar en terapia de combinación (por ejemplo, en la prevención/tratamiento de la insuficiencia cardíaca congestiva u otro método descrito en la presente memoria) con el agonista parcial del receptor de nociceptina ORL1, descrito por Dooley y col. (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 Dooley"), en donde los paréntesis muestran una variación permisible del residuo de aminoácido. Por tanto, el polipéptido Dooley puede incluir, pero no se limita a, KYRWR, RYYRWR, KWRYR. RYYRWK, RYYRWK (todos D-aminoácidos), RYYRIK, RYYRIR, RYYKIK, RYYKIR, RYYKWR, RYYKWK, RYYRWR, RYYRWK, RYYRIK, RYYKWR, RYYKWK, RYYRWK y KYRWRK, en donde los residuos de aminoácidos están en la forma L, a menos que se especifique lo contrario. Los péptidos GCRA descritos en la presente memoria también se pueden utilizar en terapia de combinación con modificaciones de polipéptidos conjugados del polipéptido Dooley, descritas en el documento WO0198324.

Dosificación

Los niveles de dosificación de los ingredientes activos en una composición farmacéutica también pueden variar para conseguir una concentración transitoria o sostenida del compuesto en un sujeto, especialmente en el sitio de la inflamación o el área de la enfermedad y cerca de los mismos, y para dar lugar a la respuesta deseada. Se conoce bien en la técnica comenzar con dosis del compuesto a niveles inferiores a los requeridos para alcanzar el efecto deseado y aumentar gradualmente la dosificación hasta que se logra el efecto deseado. Se entenderá que el nivel de dosis específica para cualquier sujeto particular, dependerá de una variedad de factores, incluyendo el peso corporal, la salud general, la dieta, el historial natural de la enfermedad, la vía y programación de la administración, la combinación con uno o varios fármacos diferentes y la gravedad de la enfermedad.

Una dosificación eficaz de la composición estará típicamente entre aproximadamente 1 µg y aproximadamente mg por kilogramo de peso corporal, preferiblemente entre aproximadamente 10 µg a 5 mg del compuesto por kilogramo de peso corporal. Los ajustes de la dosificación se harán usando métodos que son rutinarios en la técnica y que se basan en la composición particular que se utiliza y las consideraciones clínicas.

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

Los niveles de dosificación del agonista de GCR para uso en los métodos de esta invención, son típicamente desde aproximadamente 0,001 mg a aproximadamente 10.000 mg al día, preferiblemente desde aproximadamente 0,005 mg a aproximadamente 1.000 mg al día. Basándose en un dosis diaria de mg/kg, ya sea administrada en dosis únicas o divididas, las dosificaciones varían típicamente desde aproximadamente 0,001/75 mg/kg a aproximadamente 10.000/75 mg/kg, preferiblemente desde aproximadamente 0,005/75 mg/kg a aproximadamente 1,000/75 mg/kg.

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

El régimen de dosificación para prevenir, tratar, aliviar o mejorar una afección médica o un trastorno, o para proteger de otro modo o tratar una afección médica con las combinaciones y las composiciones de la presente invención, se selecciona de acuerdo con una variedad de factores. Estos factores incluyen, pero no están limitados a, el tipo, la edad, el peso, el sexo, la dieta y la afección médica del sujeto, la gravedad de la enfermedad, la vía de administración, consideraciones farmacológicas tales como la actividad, eficacia, farmacocinética y perfiles toxicológicos de los inhibidores particulares empleados, si se utiliza un sistema de suministro de fármaco, y si los inhibidores se administran con otros ingredientes activos. Por tanto, el régimen de dosificación empleado realmente puede variar ampliamente y por ello desviarse del régimen de dosificación preferido indicado anteriormente.

Ejemplos

EJEMPLO 1: SÍNTESIS Y PURIFICACIÓN DE PÉPTIDOS GCRA

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

En cada caso, el péptido GCRA se inició, ya sea usando una resina Wang cargada previamente (Fmoc) o Merrifield (Boc) o Pam (Boc). Para los productos con Leu C-terminal, resina Fmoc-Leu-Wang (D-1115) o Boc-Leu-Pam (D-1230) o Boc-Leu-Merrifield (D-1030). Por lo tanto, para los péptidos que contenían d-Leu 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 los péptidos producidos como amidas C-terminales, se utilizó una resina con enlazador Ramage (Producto Bachem D-2200) (Fmoc) o mBHA (Boc) (Producto Bachem D-30 1210 y se cargó con el residuo C-terminal como la primera etapa de la síntesis.

Generalidades de Fmoc-tBu

Cada ciclo de síntesis consistió en la desprotección con piperidina al 20% en DMF. Los lavados de la resina se realizaron alternando DMF e IpOH para hinchar y encoger la resina, respectivamente. La síntesis de péptidos alargaba la cadena desde el extremo C-terminal al N-terminal. La química de activación para cada aminoácido era con HBTU/DIEA, con un exceso de 4 veces durante 45 minutos. En químicas automatizadas, cada aminoácido se acopló doblemente para maximizar la eficacia del acoplamiento. Para asegurar la posición correcta de los enlaces disulfuro, los residuos de Cys se introdujeron como Cys(Acm) en las posiciones 15 y 7. Cys(Trt) se colocó en Cys4 y Cys12. Esta estrategia de grupo protector produce el topoisómero correcto como producto dominante (75:25). (Para los análogos de la enterotoxina, se utilizó un tercer grupo protector que se unía disulfuro (Mob)).

Para los péptidos que contenían grupos C-terminales Aeea (aminoetiloxietiloxiacetilo), éstos se acoplaron con un enlazador amida Ramage, utilizando la misma química de activación que anteriormente, empleando un derivado de Aeea protegido con Fmoc. La numeración de Cys en estos casos sigue siendo la misma y el posicionamiento de los grupos protectores también. Para los péptidos que contienen la extensión N-terminal de Aeea, la numeración del residuo Cys se incrementará en tres, Cys4 se convierte en Cys7, Cys12 se convierte Cys15, Cys7 se convierte en Cys10 y Cys15 convierte en Cys18. La última pareja está protegida con Acm y la pareja anterior mantiene los grupos Trt.

Para los análogos que contienen sustituciones de D-aminoácidos, éstas se introdujeron directamente mediante la incorporación del derivado protegido correctamente en la posición deseada, usando la química de activación descrita en este documento. Para las estrategias Fmoc, se utilizaría Fmoc-dAsn(Trt)-OH, Fmoc-dAsn(Xan)-OH, Fmoc50 dAsp(tBu)-OH, Fmoc-dGlu(tBu)-OH y para las estrategias Boc, Boc-dAsn(Xan)-OH, Boc-dAsn(Trt)-OH, BocdAsp(Chx), Boc-dAsp(Bzl)-OH, Boc-dGlu(Chx)-OH y Boc-dGlu(Bzl)-OH.

Cada péptido se escinde del soporte en fase sólida usando una mezcla de escisión de TFA:H₂O:trisisopropilsilano (8,5:0,75:0,75) ml/g de resina durante 2 horas a TA. El péptido desprotegido crudo se filtra para eliminar las perlas de resina gastada y se precipitó en éter dietílico enfriado en hielo.

Cada enlace disulfuro se introdujo ortogonalmente. Brevemente, el producto sintético crudo se disolvió en agua que contenía NH₄OH al aumentar el pH a 9. Después de la solubilización completa del producto, se hizo el enlace disulfuro entre los residuos de Cys desprotegidos en Trt, mediante valoración con H₂O₂. El producto monocíclico se purificó mediante RP-HPLC. El producto monocíclico purificado se trató posteriormente con una solución de yodo para eliminar simultáneamente los grupos protectores Acm e introducir el segundo enlace disulfuro.

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

Cada producto se purificó a continuación mediante RP-HPLC usando un sistema de combinación de tampón de TEAP en H₂O, frente a MeCN, seguido de TFA en H₂O frente a MeCN. Las fracciones muy puras se combinaron y se liofilizaron. El producto final fue convertido en una sal acetato mediante intercambio iónico con una resina Dow-Ex cargada con acetato o mediante RP-HPLC utilizando una etapa de lavado con base NH₄OAc, seguido de 1% de AcOH en agua frente a MeCN.

También es posible preparar análogos de enterotoxina utilizando una metodología de oxidación aleatoria usando Cys(Trt) en Fmoc o Cys(MeB) en Boc. Después de la escisión, los enlaces disulfuro se pueden formar usando parejas redox de intercambio de disulfuro tales como glutatión (red/ox) y/o cisteína/cistina. Este proceso producirá un producto plegado en donde las parejas de disulfuro se deben determinar ya que no habría manera de saber su posición directamente.

Proceso Boc-Bzl

La síntesis de péptidos se inicia en una resina Merrifield o Pam cargada previamente o con mBHA para péptidos producidos como amidas C-terminales. Cada ciclo de síntesis consta de una etapa de desprotección con TFA al 50% en MeCl₂. La resina se lava repetidamente con MeCl₂ y MeOH. La sal de TFA formada se neutraliza con un lavado básico de 10% de TEA en MeCl₂. La resina se lava con MeOH y MeCl₂ y finalmente con DMF antes de las etapas de acoplamiento. Una prueba colorimétrica se realiza para asegurar la desprotección. Cada acoplamiento está mediado con diisopropil carbodiimida con HOBT para formar el éster activo. Cada acoplamiento se permite que continúe durante 2 horas a TA o durante la noche en los acoplamientos dificultosos. Los reacoplamientos se llevan a cabo con cualquier reactivo de uranio o de fosfonio hasta que se obtiene una prueba colorimétrica negativa para las aminas primarias libres. Luego la resina se lava con DMF, MeOH y MeCl₂ y se prepara para la siguiente etapa en fase sólida. La protección Cys utiliza Cys(Acm) en las posiciones 7 y 15, y Cys(MeB) en Cys4 y Cys12.

La escisión y la desprotección simultánea se realiza por tratamiento con HF utilizando anisol como eliminador (9:1:1) ml:ml:g (resina) a 0°C durante 60 min. El péptido se extrae posteriormente de la resina y se precipita en éter enfriado con hielo. La introducción de enlaces disulfuro y la purificación siguen exactamente el mismo protocolo que el 30 descrito anteriormente para el producto producido con Fmoc.

EJEMPLO 2: ESTABILIDAD PROTEOLÍTICA *IN VITRO* EMPLEANDO DIGESTIÓN CON FLUIDO GÁSTRICO SIMULADO (FGS)

La estabilidad del péptido GRCA de acuerdo con la invención se determina en presencia de fluido gástrico simulado (FGS). Se incubó péptido GRCA (concentración final de 8,5 mg/ml) en FGS (peptona proteosa (8,3 g/litro; Difco), D-glucosa (3,5 g/litro; Sigma), NaCl (2,05 g/litro; Sigma), KH₂PO₄ (0,6 g/litro; Sigma), CaCl₂ (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 prepara el día del experimento y el pH se ajusta a 2,0 ± 0,1 usando HCl o NaOH según fuera necesario. Después de ajustar el pH, el FGS se esteriliza por filtración con filtros de membrana de 0,22 µm. 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 en partes alícuotas por triplicado. Tras las incubaciones, las muestras se congelan rápidamente en hielo seco, y se almacenan a continuación en un congelador a -80°C hasta que se analizaron por duplicado.

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

5 La estabilidad del péptido GRCA también se evalúa frente a la incubación con fluido intestinal simulado (FIS). La solución de FIS se prepara mediante el método descrito en la Farmacopea de los Estados Unidos, 24ª edición, pág. 2236. La receta para preparar una solución FIS es como se describe a continuación. La solución FIS contiene 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 10 mg/ml de pancreatina. El pH se ajusta a 6 y la solución se esteriliza por filtración. Una solución de SP-304 (8,5 mg/ml) se incubaba en FGS a 37°C durante 0, 30, 60, 90, 120, 150 y 300 min en partes alícuotas por triplicado. Después de las incubaciones, las muestras se retiran y se congelan rápidamente con hielo seco y se almacenan en un congelador a -80°C hasta que se analizan por duplicado.

10 La integridad del péptido GRCA se evaluó por HPLC usando esencialmente el método descrito para la digestión con FGS.

EJEMPLO 4: ENSAYOS DE ESTIMULACIÓN DE GMP CÍCLICO

15 La capacidad del péptido GCRA para unirse y activar el receptor intestinal de GC-C, se somete a ensayo empleando la línea celular de carcinoma de colon humano T84. Células de carcinoma de colon humano T84 se obtienen a partir de la American Type Culture Collection. Las células se cultivan en una mezcla 1:1 de medio Ham F-12 y medio Eagle modificado de Dulbecco (DMEM), suplementado con suero bovino fetal al 10%, 100 U de penicilina/ml, y 20 100 µg/ml de estreptomycin. Las células se nutren con medio de nuevo aporte cada tercer día y se dividen con una confluencia de aproximadamente el 80%.

La actividad biológica de los péptidos GCRA se somete a ensayo tal y como se ha descrito anteriormente (15). Brevemente, las monocapas confluentes de células T-84 en placas de 24 pocillos se lavan dos veces con 250 µl de DMEM que contiene HEPES 50 mM (pH 7,4), se preincuban a 37°C durante 10 min con 250 µl de DMEM que 25 contiene HEPES 50 mM (pH 7,4) e isobutilmetilxantina 1 mM (IBMX), seguido de incubación con péptidos GCRA (de 0,1 nM a 10 µM) durante 30 min. El medio se aspira, y la reacción se termina mediante la adición de 3% de ácido perclórico. Después de la centrifugación y la neutralización con NaOH 0,1 N, el material sobrenadante se utiliza directamente para las mediciones de GMPc utilizando un kit de ELISA (Caymen Chemical, Ann Arbor, MI).

30 EJEMPLO 5: PÉPTIDOS PEGILADOS

Una estrategia adicional para hacer que los péptidos sean más resistentes a la digestión con proteasas digestivas es pegillarlos en el extremo N y C-terminal. El péptido GCRA se pega con el grupo ácido aminoetiloxi-etiloxi-acético (Aeea) en el extremo C-terminal (o en el extremo N-terminal o en ambos extremos terminales). Se mide la síntesis 35 de GMP cíclico en células T84 por el método tal y como se ha descrito anteriormente.

EJEMPLO 6: COMBINACIÓN DE AGONISTAS DE LA GUANILATO CICLASA CON INHIBIDORES DE LA FOSFODIESTERASA

40 La regulación de concentraciones intracelulares de nucleótidos cíclicos (es decir, AMPc y GMPc) y, por tanto, la señalización a través de estos segundos mensajeros, se considera en general que se rige por sus tasas de producción en comparación con sus tasas de destrucción dentro de las células. Por lo tanto, los niveles de GMPc en tejidos y órganos también se pueden regular por los niveles de expresión de las fosfodiesterasas específicas de 45 GMPc (GMPc-PDE), que generalmente están hiperexpresadas en el cáncer y enfermedades inflamatorias. Por lo tanto, una combinación que consiste en un agonista de GC-C con un inhibidor de GMPc-PDE, podría producir un efecto sinérgico sobre los niveles de GMPc en los tejidos y órganos diana.

La sulfona sulindaco (SS) y Zaprinast (ZAP) son dos inhibidores conocidos de GMPc-PDE y se ha mostrado que inducen la apoptosis en células de cáncer a través de un mecanismo dependiente de GMPc. SS y ZAP en 50 combinación con péptido GCRA se evalúan para estudiar si estos inhibidores de la PDE tienen algún efecto sinérgico sobre la acumulación intracelular de GMPc.

EJEMPLO 7: UN ESTUDIO DE TOXICIDAD PARA LA DETERMINACIÓN DE LA DOSIS ORAL EN MACACOS CANGREJEROS.

55 El objetivo del estudio es determinar la toxicidad de los péptidos GRCA de acuerdo con la invención, después de una sola administración forzada con sonda oral a macacos cangrejeros y permitir la evaluación de la reversibilidad de cualquier cambio después de un mínimo de 7 días de periodo de observación/reposo farmacéutico. Cada péptido GRCA de acuerdo con la invención se suministrará en dos niveles de diferentes dosis.

60 Diseño experimental

La prueba (por ejemplo, los péptidos GRCA de acuerdo con la invención) y el objeto testigo/vehículo se administrará en tres fases separadas por un período mínimo 7 días de observación. Cada fase consistirá en una sola 65 administración forzada por sonda oral a hembras de macacos cangrejeros, tal y como se indica en las tablas siguientes:

Fase 1:

Ocho hembras de macaco cangrejero con tratamiento previo se transferirán desde la colonia de conservación de ITR de monos y se asignarán a cuatro grupos de dosis, del modo siguiente:

5

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	Testigo/vehículo	1	0	0	10	2
		4				
2	Péptidos del ensayo	1	1	0,1	10	2
		4				
		4				

Tras la finalización de la dosificación de la Fase 1, todos los monos se observaron durante 33 días. Al terminar el período de observación, todos los monos serán transferidos de vuelta a la colonia de conservación de monos de ITR.

10

Fase 2:

Las mismas ocho hembras de macaco cangrejero con tratamiento previo que se habían utilizado previamente en la Fase 1, se transferirán desde la colonia de conservación de monos de ITR y se asignarán a cuatro grupos de dosis del modo siguiente:

15

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	Testigo/vehículo	1	10	1	10	2
2	Péptidos del ensayo	1	10	1	10	2

Tras la finalización de la dosificación de la Fase 2, todos los monos se observaron durante un mínimo de 7 días.

20 **Vía de administración**

Se ha escogido la vía de administración oral porque es una vía terapéutica humana preferida.

25 **Preparación de objetos del ensayo y testigo/vehículo**

Los objetos del ensayo y testigo/vehículo se prepararán de nuevo aporte el día de la dosificación en agua destilada fría (mantenida en un baño de agua con hielo). Una cantidad suficiente de polvo del objeto del ensayo se añadirá a la cantidad apropiada de agua destilada con el fin de lograr la concentración deseada. Las formulaciones de la dosis se mezclarán por simple inversión.

30

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

Para una posible confirmación de la concentración y la estabilidad del objeto del ensayo en las formulaciones, se tomará la mitad de cada concentración de las muestras representativas, incluyendo el objeto testigo/vehículo, el primer día de la dosificación de cada grupo, tal y como se indica a continuación. Las muestras se recogerán inmediatamente después de la preparación el Día 1 y de nuevo después de completar la dosificación en ese día y se almacenarán congeladas (aproximadamente -80°C) en frascos de 20 mL con tapa a rosca. Por lo tanto, los frascos de las dosis restantes de la formulación serán devueltos al Departamento de Farmacia tan pronto como sea posible, después de la finalización de la dosificación.

40

Grupo 1: 1,5 ml por duplicado desde la mitad del día 1 (antes de la dosis y después de la dosis).

Grupo 2: 1,5 ml por duplicado desde la mitad del día 1 (antes de la dosis y después de la dosis).

Grupo 3: 1,5 ml por duplicado desde la mitad del día 1 (antes de la dosis y después de la dosis).

Grupo 4: 1,5 ml por duplicado desde la mitad del día 1 (antes de la dosis y después de la dosis).

5 Las formulaciones se mantendrán frías en un baño de agua con hielo durante todos los procedimientos de muestreo.

Las formulaciones se agitarán continuamente con una barra de agitación durante un mínimo de 15 minutos antes del muestreo.

10 Las muestras se conservarán congeladas (aproximadamente a -80°C) en ITR hasta que el promotor solicite el envío a un laboratorio designado por el promotor para su análisis. Las muestras se pueden eliminar una vez que el analista y el Director del Estudio determinan que ya no se necesitan. Esta eliminación de las muestras se registrará en los datos sin procesar.

15 Si se analiza, el Investigador Principal preparará un informe de la formulación de la dosis (análisis de formulación) y se proporcionará a ITR para su inclusión en el informe final.

Sistema del ensayo

20 Especie/Cepa: Macacos cangrejeros (*Macaca fascicularis*)

Fuente: Worldwide Primates Inc.,
P.O. Box 971279
Miami, Florida, 33187, USA

25 y
Covance Research Products Inc.
P.O. Box 549
Alice, Texas, 78333, USA

30 N° total de monos en el estudio: 8 hembras con tratamiento previo

Intervalo de peso corporal: 2-4 kg al inicio del tratamiento

35 Intervalo de edad al inicio: Adultos jóvenes al inicio del tratamiento

Periodo de aclimatación: Los animales serán transferidos desde una colonia de conservación de monos en ITR. Por lo tanto, se considera que están totalmente aclimatados al entorno de laboratorio.

40 La edad real y los intervalos de peso corporal se anotarán en el informe final.

Administración de los objetos del ensayo y testigo/vehículo

45 Los objetos del ensayo y testigo/vehículo se administrarán de forma forzada por sonda oral usando un tubo de alimentación forzada conectado a una jeringa en tres fases separadas durante un mínimo de 7 días de periodo de observación/reposo farmacéutico. Cada sesión de dosificación consistirá en una administración única por vía oral forzada. El tubo de la sonda se enjuagará con 3 ml de agua de ósmosis inversa inmediatamente después de la administración de la formulación de la dosis, con el fin de asegurarse de que el volumen de toda la dosis ha sido suministrado al animal. El volumen de la dosis será de 10 ml/kg para todos los animales, incluyendo los testigos. El volumen real administrado a cada mono el Día 1 de cada fase, se calculará utilizando los pesos corporales del Día 1 de cada fase.

55 Las formulaciones de dosificación se mantendrán en frío durante la administración de la dosis colocándolas en un baño de agua con hielo.

Las formulaciones de la dosificación se deben colocar en una placa de agitación durante un mínimo de 15 minutos antes del comienzo de la dosificación y mantener en la placa de agitación durante todo el procedimiento de dosificación.

60 Las formulaciones de la dosificación se deben utilizar hasta 2 horas después de la preparación.

Observaciones clínicas

65 Los signos clínicos dentro de la jaula (enfermedades, cambios de comportamiento, etc.) se registrarán tal y como se indica a continuación, excepto en días de exámenes clínicos detallados, en los que los signos clínicos dentro de la jaula por la mañana serán reemplazados por un examen clínico detallado (ECD). Durante los exámenes de signos

30 clínicos dentro de la jaula y los exámenes detallados, se prestará especial atención a las deposiciones con respecto a la cantidad de heces producidas, descripción de las heces, etc.

Los signos clínicos dentro de la jaula se realizarán del modo siguiente:

5 Durante el período de pretratamiento y durante los períodos de observación de 7 días (mínimo): Tres veces al día con un mínimo de 3 horas entre cada examen.

10 El día de la dosificación de la Fase 1: antes de la dosis, 2, 4, 6, 8 y 24 horas después de la dosificación.

15 El día de la dosificación de la Fase 2: antes de la dosis, de forma continua durante las 4 primeras horas después de la dosis y a las 6, 8 y 24 horas después de la dosificación.

20 El día de la dosificación de la Fase 3: antes de la dosis, de forma continua durante las 4 primeras horas después de la dosis y a las 6, 8 y 24 horas después de la dosificación.

Un estudio clínico detallado de cada mono se realizará una vez en el momento del traslado de los animales y, posteriormente, una vez por semana.

25 Los animales cuyo estado de salud se considera que justifica una evaluación adicional, serán examinados por un veterinario clínico, o un técnico que trabaja bajo la supervisión del veterinario clínico. Los tratamientos recomendados por los veterinarios sólo se realizarán una vez que se haya obtenido el consentimiento del Director del Estudio. Siempre que sea posible, se consultará al promotor antes de la administración de fármacos terapéuticos.

30 Los pesos corporales de todos los animales se registrarán una vez al día, desde el día del traslado hasta el final del estudio.

35 El consumo de alimentos de todos los animales se registrará una vez al día, desde el día del traslado hasta el final del estudio.

40 Las jaulas se limpiarán antes del inicio del consumo diario de alimentos para asegurar que no quedan galletas de alimentos en la jaula. Los monos recibirán 7 galletas antes de las 12 pm y 7 galletas después de las 12 pm. Se registrará la suma del número total de galletas suministradas al día.

45 A la mañana siguiente, se realizará una comprobación visual para ver cuántas galletas se han quedado en la jaula. Se registrará el número de galletas enteras que permanecen en la tolva de alimentación o en la bandeja. El número de galletas enteras restantes se restará del número total de galletas suministradas con el fin de calcular el número de galletas consumidas.

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

45 Los péptidos GCRA descritos en esta memoria se pueden someter a ensayo para estudiar su capacidad para aumentar la secreción intestinal, empleando un modelo de secreción intestinal en ratón lactante. En este modelo, se administra un péptido GCRA a ratones lactantes que tienen de siete a nueve días de edad. Después de que los ratones hayan sido sacrificados, se disecciona el tracto gastrointestinal desde el estómago hasta el intestino ciego ("intestinos"). Los restos ("canal"), así como los intestinos se pesan y se calcula la relación de peso de intestinos a peso en canal. Si la relación es superior a 0,09, se puede concluir que el compuesto del ensayo aumenta la secreción intestinal. Los testigos para este ensayo pueden incluir SP-304 de tipo silvestre, polipéptido ST y Zelnorm®.

Modelo de contorsión inducida con fenilbenzoquinona

55 El modelo de contorsión inducido con PBQ se puede utilizar para evaluar la actividad de control del dolor del péptido GCRA, descrito en la presente memoria. Este modelo está descrito por Siegmund y col. (1957 Proc. Soc. Exp. Bio. Med. 95:729-731). Brevemente, una hora después de la dosificación oral con un compuesto de ensayo, por ejemplo, un péptido GCRA, morfina o vehículo, se inyecta por vía intraperitoneal una solución de fenilbenzoquinona al 0,02% (PBQ) (12,5 ml/kg) en el ratón. Se registra el número de estiramientos y contorsiones desde el quinto hasta el décimo minuto después de la inyección de PBQ, y también se puede contar entre el minuto 35 y el minuto 40 y entre el minuto 60 y 65, para proporcionar una valoración cinética. Los resultados se expresan como el número de estiramientos y contorsiones (media \pm SEM) y el porcentaje de variación del umbral nociceptivo calculado a partir del valor medio del grupo tratado con vehículo. La significancia estadística de cualquier diferencia entre los grupos tratados y el grupo testigo se determina por un ensayo de Dunnett, usando la varianza residual después de un análisis de una vía de la varianza ($p < 0,05$) usando el programa informático de SigmaStat.

65 **EJEMPLO 9: DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES FARMACOCINÉTICAS DE LOS PÉPTIDOS GCRA**

Las muestras de suero se extraen de la sangre completa de ratones expuestos (ratones dosificados por vía oral o por vía intravenosa con péptido(s) GCRA descrito(s) en la presente memoria) y ratones testigos, a continuación, se inyectan directamente (10 ml) en una columna de extracción en fase sólida (SPE) en línea (columna de Waters Oasis HLB de 25 μm , conexión directa de 2,0 x 15 mm) sin procesamiento adicional. La muestra en la columna SPE se lava con 5% de metanol, 95% de solución dH₂O (2,1 ml/min, 1,0 minuto), y luego se carga en una columna analítica 0 utilizando un interruptor de válvula que coloca la columna SPE en una trayectoria de flujo invertido sobre la columna analítica (columna de Waters Xterra MS C8 de 5 μm , 2,1 x 20 mm). La muestra eluye desde la columna analítica con un gradiente de fase inversa (fase móvil A: hidróxido de amonio 10 mM en dH₂O, fase móvil B: hidróxido de amonio 10 mM en 80% de acetonitrilo y 20% de metanol; 20% de B durante los primeros 3 minutos a continuación, aumento gradual hasta 95% de B durante 4 min y mantener durante 2 min, todo ello, con 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 min, el polipéptido se eluye de la columna analítica y se detecta por espectrometría de masas de triple cuadrupolo (MRM, 764 (estado de carga +2) > 182 (estado de carga +1) Da; voltaje del cono = 30 V; colisión = 20 eV; resolución principal = 2 Da en pico de base; resolución secundaria = 2 Da en pico de base). La respuesta del instrumento se convierte en unidades de concentración por comparación con una curva estándar, utilizando cantidades conocidas de polipéptido(s) sintetizado(s) químicamente preparado e inyectado en el plasma de ratón utilizando el mismo procedimiento.

Análogamente, las propiedades farmacocinéticas se determinan en ratas utilizando metodología de LCMS. Muestras de plasma de rata que contienen el péptido GCRA se extraen utilizando una placa de extracción en fase sólida (SPE) Waters Oasis MAX 96. Un volumen de 200 μL de plasma de rata se mezcla con 200 μL de polipéptido marcado con ¹³Cg, ¹⁵N en el pocillo de una placa SPE preparada. Las muestras son extraídas a través de la fase estacionaria con 15 mm de Hg a vacío. Todas las muestras se enjuagan con 200 μL de hidróxido de amonio al 2% en agua, seguido por 200 μL de 20% de metanol en agua. Las muestras se eluyen con volúmenes consecutivos de 100 μL de 5/20/75 ácido fórmico/agua/metanol y 100 μL de 5/15/80 ácido fórmico/agua/metanol. Las muestras se secan en atmósfera de nitrógeno y se resuspenden en 100 μL de metanol al 20% en agua. Las muestras se analizan con un espectrómetro de masas de Waters Quattro Micro, acoplado a una bomba binaria de Waters 1525 con un inyector automático de Waters 2777. Un volumen de 40 μL de cada muestra se inyecta en una columna C18 de Thermo Hypersil Gold (2,1x50 mm, 5 μm). El polipéptido se eluye mediante un gradiente de más de 3 minutos con acetonitrilo y agua que contiene ácido trifluoroacético al 0,05%. El espectrómetro de masas Quattro Micro se ejecuta en monitorización por múltiple reacción (MRM) utilizando las transiciones de masa de, por ejemplo 764>182 o 682>136. Usando esta metodología, el polipéptido se dosifica por vía oral y por vía intravenosa a ratas a 10 mg/kg. Se determinan las propiedades farmacocinéticas, incluyendo el área bajo la curva, y la biodisponibilidad.

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

El efecto de los péptidos GCRA descritos en este documento sobre la diuresis y la natriuresis se puede determinar utilizando una metodología similar a la descrita en el documento WO06/001931 (ejemplos 6 (pág. 42) y 8 (pág. 45)). Brevemente, el polipéptido/agonista descrito en la presente memoria (180-pmol) se infundió durante 60 min en 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. La presión sanguínea, la producción de orina y la excreción de sodio se controlan durante aproximadamente 40 minutos antes de la infusión, durante la infusión y durante aproximadamente 50 minutos después de la infusión, para medir el efecto de los péptidos GCRA sobre la diuresis y la natriuresis. En comparación, un grupo testigo de cinco ratas es infundido con solución salina normal. Se puede determinar la excreción de orina y de sodio. La respuesta a la dosis también se puede determinar. El polipéptido/agonista de GC-C descrito en la presente memoria, se infunde por vía intravenosa en los ratones o primates durante más de 60 minutos. Se recoge la orina a intervalos de 30 minutos hasta 180 minutos después de la terminación de la infusión de polipéptido/agonista de 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 arterial se controla continuamente. Para cada dosis se puede determinar una relación dosis-respuesta para el volumen de orina, la excreción de sodio y potasio. La concentración plasmática del polipéptido/agonista de GC-C también se determina antes y después de la infusión iv.

55 Experimento de diuresis en ratón o primate: Una vez que se ha conseguido un nivel apropiado de anestesia, se inserta un catéter de poliuretano estéril en la uretra y se asegura por medio de 1-2 gotas de adhesivo de uso veterinario, aplicadas a la unión uretra/catéter. A continuación, los animales reciben una dosis con vehículo o el objeto del ensayo por vía intravenosa o intraperitoneal. Se permite que los animales recuperen la conciencia, y se registra periódicamente para cada rata el volumen de orina excretado en un periodo de 1-5 horas.

60 Referencias:

1. Currie y col., *Proc. Natl Acad. Sci USA* 89:941-951 (1992).
- 65 2. Hamra y col., *Proc. Natl Acad. Sci USA* 90:10464-10468 (1993).

3. Forte, L., *Reg. Pept.* 81:25-39 (1999).
4. Schulz y col., *Cell* 63:941-948 (1990).
- 5 5. Guba y col., *Gastroenterology* 111:1558-1568 (1996).
6. Joo y col., *Am. J. Physiol.* 274:G633-G644 (1998).
7. Evan y col., *Nature (London)* 411:342-348 (2001).
- 10 8. Eastwood, G., *J. Clin. Gastroenterol.* 14:S29-33 (1992).
9. Lipkin, M. *Arch. Fr. Mal Appl Dig.* 61:691-693 (1972).
- 15 10. Wong y col., *Gut* 50:212-217 (2002).
11. Potten y col., *Stem Cells* 75:82-93.
12. Basoglu y col., en: "Proceedings of the Second FEPS Congress", 29 de junio-4 de julio, 1999, Praga, República Checa, 1f2.cuni.cz/physiolres/feeps/basoglu.
- 20 13. Sindic y col., *J. Biol. Chem. March 11, 2002*, manuscrito M110627200 (en prensa).
14. Askling, J., Dickman, P. W., Karlen, P., Brostrom, O., Lapidus, A., Lofberg, R. y Ekbohm, A. "Colorectal cancer rates among first-degree relatives of patients with inflammatory bowel disease: a population-based cohort study". *Lancet*, 357:262-266.
- 25 15. Provenzale, D. y Onken, J. "Surveillance issues in inflammatory bowel disease: Ulcerative colitis". *J Clin Gastroenterol*, 32:99-105, 2001.
- 30 16. Ettorre, G.M, Pescatori, M., Panis, Y., Nemeth, J., Crescenzi, A. y Valleur, P. "Mucosal changes in ileal pouches after restorative proctocolectomy for ulcerative and Crohn's colitis". *Dis Colon Rectum*, 43:1743-1748, 2000.
17. Shinozaki M, Watanabe T, Kubota Y, Sawada T, Nagawa H, Muto T. "High proliferative activity is associated with dysplasia in ulcerative colitis". *Dis Colon Rectum*, 43:S34-S39, 2000.
- 35 18. Deschner, E. E., Winawer, S. J., Katz, S., Katzka, L y Kahn, E. "Proliferative defects in ulcerative colitis patients". *Cancer Invest*, 1:41-47, 1983.
19. Wong, W.M. y Wright, N. A. "Cell proliferation and gastrointestinal mucosa". *J Clin Pathol*, 52:321-333.
- 40 20. Potten, C. S., Wilson, J.W. y Booth, C. "Regulation and significance of apoptosis in the stem cells". *Stem Cells*, 15:82-93.
21. Bhakdi y col., *Infect. Immun.* 57:3512-3519 (1989).
- 45 22. Hughes y col., *J. Biol. Chem.* 272:30567-30576 (1997).
23. Cermak y col., *Pflugers Arch.* 43:511-511 (1996).
- 50 24. Wu y col., *J. Biol. Chem.* 272:14860-14866 (1997).
25. Shailubhai y col., *Cancer Research* 60, 5151-5157 (2000).
- 55 26. Shailubhai y col., *Curr. Opin. Drug Disc. Dev.* 5(2):261-268, 2002.
27. Collins, SM. *J Clin Gastroenterol.* 41 Supl 1:S30-32 (2007).
28. Ramamoorthy S y col., *J Biol Chem.* 282(16):11639-11647 (2007).
- 60 29. Shailubhai y col., Guanilib, an agonist of Guanylate C, is a newclass of oral drug candidate that ameliorates inflammation in models of experimental colitis. [Resumen]: En Crohn's and Colitis Foundation of America, 2007.
30. Shailubhai y col., Guanilib, an agonist of Guanylate C, is a newclass of oral drug candidate for GI disorders and colon cancer. [Resumen]: En GTCbio, 2008.
- 65

31. Shailubhai y col., SP-304 to Treat GI Disorders- Effects of a Singke, Oral Doseof SP-304 In Safety, Tolerability, Pharmaokinetics and Pharmacodynamics in Healthy Volunteers. [Resumen]; en Digestive Disease Week, 2009.

32. Shailubhai y col., Guanylin Peptides: New Class of Oral Drug Candidates. [Resumen] En World Congress, 2007.

5

REIVINDICACIONES

1. Un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de SEQ ID NO: 3-8.
- 5 2. Una composición farmacéutica en dosis unitaria que comprende un péptido agonista del receptor de la guanilato ciclase de la secuencia de una cualquiera de SEQ ID NO: 3-8 presente en una cantidad terapéuticamente eficaz y un vehículo, excipiente o diluyente farmacéutico.
- 10 3. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 2, en donde la forma de dosis unitaria se selecciona entre el grupo consistente en un comprimido, una cápsula, una solución o una formulación para inhalación.
- 15 4. Un péptido agonista del receptor de la guanilato ciclase consistente en la secuencia de una cualquiera de SEQ ID NO: 3-8 para su uso como medicamento.
- 20 5. Un péptido agonista del receptor de la guanilato ciclase consistente en la secuencia de una cualquiera de SEQ ID NO: 3-8 para uso en un método de prevención o tratamiento de un trastorno gastrointestinal.
- 25 6. El péptido agonista del receptor de la guanilato ciclase para su uso de acuerdo con la reivindicación 5, en donde dicho estado gastrointestinal se selecciona entre el grupo consistente en colitis ulcerativa, síndrome del intestino irritable (SII), enterocolitis necrotizante, dispepsia no ulcerosa, pseudoobstrucción intestinal crónica, dispepsia funcional, pseudoobstrucción colónica, reflujo duodenogástrico, enfermedad de reflujo gastroesofágico (ERGE), gastroparesia, pirosis y estreñimiento.
- 30 7. El péptido agonista del receptor de la guanilato ciclase para su uso de acuerdo con la reivindicación 6, en donde dicho estreñimiento es estreñimiento asociado con el uso de opioides, estreñimiento post-operatorio o estreñimiento asociado a trastornos neuropáticos.
- 35 8. Agonista del receptor de la guanilato ciclase para su uso según la reivindicación 6, en donde dicho método comprende además administrar una dosis eficaz de inhibidor de una fosfodiesterasa específica de GMPc.
- 40 9. El agonista del receptor de la guanilato ciclase para su uso según la reivindicación 8, en donde dicho método de tratamiento o prevención comprende además administrar a dicho paciente una dosis eficaz de un inhibidor de la fosfodiesterasa dependiente de GMPc al mismo tiempo o secuencialmente a dicho agonista del receptor de la guanilato ciclase.
- 45 10. El agonista del receptor de la guanilato ciclase para su uso según la reivindicación 8, en donde dicho inhibidor de la fosfodiesterasa dependiente de GMPc se selecciona entre el grupo consistente en sulfona sulindaco, zaprinast y motapizona, vardenifilo y suldenifilo.
- 50 11. El agonista del receptor de la guanilato ciclase para su uso según la reivindicación 6, en donde dicho método de tratamiento o prevención comprende además administrar una dosis eficaz de al menos un agente antiinflamatorio.
- 55 12. El agonista del receptor de la guanilato ciclase para su uso según la reivindicación 11, en donde un agente antiinflamatorio es un fármaco antiinflamatorio esteroideo o no esteroideo (AINE).
13. El uso de uno cualquiera de los péptidos consistentes en la secuencia de una cualquiera de SEQ ID NO: 3-8 en la preparación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad humana.
14. Un método *in vitro* para incrementar la producción de GMPc en una célula que comprende poner en contacto dicha célula con un péptido seleccionado entre el grupo consistente en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3-8, comprendiendo además opcionalmente dicho método poner en contacto dicha célula con un inhibidor de la fosfodiesterasa.
15. El método de acuerdo con la reivindicación 14, que comprende adicionalmente poner en contacto dicha célula con un inhibidor de la fosfodiesterasa, en donde dicho inhibidor de la fosfodiesterasa dependiente de GMPc se selecciona entre el grupo consistente en sulfona sulindaco, zaprinast y motapizona, vardenifilo y suldenifilo.