

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 614 864**

51 Int. Cl.:

A61K 38/10 (2006.01)

C07K 7/54 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **17.08.2012 PCT/US2012/051289**

87 Fecha y número de publicación internacional: **21.02.2013 WO2013025969**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.08.2012 E 12753313 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **14.12.2016 EP 2776055**

54 Título: **Tratamientos para trastornos gastrointestinales**

30 Prioridad:

17.08.2011 US 201161524699 P

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

02.06.2017

73 Titular/es:

**IRONWOOD PHARMACEUTICALS, INC. (100.0%)
301 Binney Street
Cambridge, Massachusetts A 02142, US**

72 Inventor/es:

**KESSLER, MARCO;
FRETZEN, ANGELIKA;
ZHAO, HONG;
SOLINGA, ROBERT y
VOLCHENOK, VLADIMIR**

74 Agente/Representante:

SALVA FERRER, Joan

ES 2 614 864 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

Tratamientos para trastornos gastrointestinales

Campo de la invención

Esta invención se refiere a péptidos, composiciones y su uso en el tratamiento de trastornos gastrointestinales.

5 Antecedentes

Los trastornos gastrointestinales (GI) incluyen el síndrome del intestino irritable (SII) que es un trastorno crónico común del intestino que afecta de 20 a 60 millones de personas solo en EE.UU. (Lehman Brothers, "Global Healthcare-Irritable bowel syndrome industry update", Septiembre 1999). El SII es el trastorno más común diagnosticado por gastroenterólogos y da cuenta de 12% de las visitas a médicos de atención primaria (Camilleri 2001, *Gastroenterology* 120:652-668). En los EE.UU. el impacto económico del SII se calcula en 25 mil millones de dólares anuales, por costes directos de atención sanitaria y costes indirectos de absentismo laboral (Talley 1995, *Gastroenterology* 109:1736-1741). Los pacientes con SII tienen tres veces más absentismo laboral y refieren una calidad de vida reducida. Hay una gran necesidad médica no satisfecha para los pacientes que sufren SII, puesto que existen pocas opciones de prescripción para tratar el SII.

Los pacientes con SII sufren dolor abdominal y un patrón intestinal alterado. Se han definido tres subgrupos de pacientes con SII basados en el hábito intestinal predominante: síndrome del intestino irritable con estreñimiento predominante (SII-e), síndrome del intestino irritable con diarrea predominante (SII-d) o alternancia entre los dos síndromes de intestino irritable (SII-a). Los cálculos de los individuos que padecen SII-e está en el intervalo de 20-50% de los pacientes con SII con el 30% citado con frecuencia. A diferencia de los otros dos subgrupos que tienen una proporción similar por género, el SII-e es más común en mujeres (proporción 3:1) (Talley et al. 1995, *Am J Epidemiol* 142:76-83).

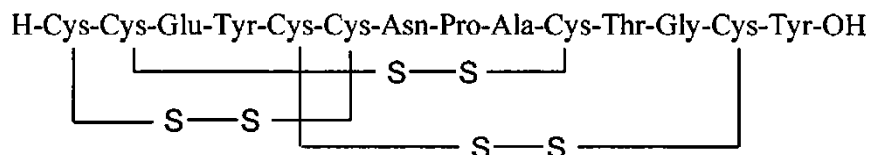
La definición y los criterios de diagnóstico para el SII se han formalizado en los "Criterios de Roma" (Drossman et al. 1999, *Gut* 45:Suppl II: 1-81), que están bien aceptados en la práctica clínica. Recientemente, ha habido una creciente evidencia de una función de la inflamación en la etiología del SII. Los informes indican que los subconjuntos de pacientes con SII tienen aumentos pequeños pero significativos de células inflamatorias colónicas y mastocitos, óxido nítrico (NO) y sintasa inducible (iNO) mayores, y expresión alterada de citoquinas inflamatorias (revisado por Talley 2000, *Medscape Coverage of DDW week*).

Los trastornos gastrointestinales también pueden incluir estreñimiento, en donde tanto como 34 millones de americanos sufren síntomas asociados con estreñimiento crónico (EC) y 8,5 millones de pacientes han buscado tratamiento. Los pacientes con EC a menudo experimentan heces duras y grumosas, esfuerzo durante la defecación, una sensación de evacuación incompleta, y menos de tres movimientos intestinales a la semana. La incomodidad e hinchamiento del EC afectan significativamente a la calidad de vida de los pacientes, alterando su capacidad de trabajo y participación en actividades diarias típicas.

La mitad de los pacientes con EC no están satisfechos con los tratamientos actualmente disponibles para el EC. Por lo tanto, siguen siendo necesarios nuevos compuestos y métodos para tratar el EC.

Las patentes de EE.UU. 7.304.036 y 7.371.727 describen péptidos que actúan como agonistas del receptor de la guanilato ciclasa C (GC-C) para el tratamiento de trastornos gastrointestinales. Un péptido particular descrito es la linaclotida, que consiste en la siguiente secuencia de aminoácidos: Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr. Estas patentes también describen métodos para preparar la linaclotida y péptidos relacionados.

La linaclotida tiene la estructura de aminoácidos de:



La linaclotida se administra por vía oral, y actualmente está en ensayos clínicos para el tratamiento del síndrome del intestino irritable con estreñimiento (SII-e) y el estreñimiento crónico (EC), tiene numerosos efectos en la fisiología GI que incluyen: (1) menor dolor visceral, (2) menor hinchamiento, y (3) mayor tránsito GI, lo que puede conducir a mayor frecuencia de heces y mejor consistencia de las heces. Administrada por vía oral, la linaclotida actúa localmente activando la GC-C en la superficie luminal; no hay niveles detectables de linaclotida vistos sistémicamente después de la administración oral en niveles de dosis terapéuticos. Por lo tanto, los resultados de los ensayos clínicos de la linaclotida, así como los estudios preclínicos que se han hecho con linaclotida y péptidos relacionados, sugieren que se pueden usar agonistas del péptido GC-C de forma terapéutica.

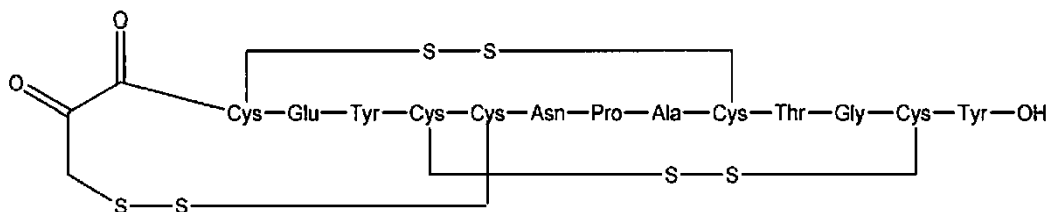
La presente invención presenta péptidos que están modificados en sus grupos α -amina en derivados de cetona, que son capaces de activar y/o unirse a receptores de guanilato ciclasa C (GC-C) con diferentes afinidades. La presente invención también presenta péptidos que pueden estar modificados en sus enlaces cisteína con átomos de azufre adicionales y que se pueden modificar adicionalmente en sus grupos α -amina. La GC-C es un regulador clave en mamíferos de la función intestinal, aunque se han detectado niveles bajos de GC-C en otros tejidos. La GC-C responde a las hormonas endógenas, guanilina y uroguanilina, y a péptidos bacterianos entéricos de la familia de enterotoxinas termoestables (péptido ST). Cuando los agonistas se unen a la GC-C, hay un aumento del segundo mensajero, GMP cíclico (c-GMP), y un aumento de la secreción de cloruro y bicarbonato, dando como resultado un aumento en la secreción de fluido intestinal. En algunos ejemplos de la presente invención, los péptidos descritos en la presente memoria pueden producir un aumento mayor de los niveles de c-GMP y proporcionar una opción terapéutica para tratar trastornos gastrointestinales.

Resumen

La presente invención describe péptidos, composiciones, y su uso en el tratamiento de trastornos y afecciones gastrointestinales, que incluyen, pero no se limitan al síndrome del intestino irritable (SII) trastornos de motilidad gastrointestinal, estreñimiento, trastornos gastrointestinales funcionales, enfermedad de reflujo gastroesofágico (GERD), reflujo duodenogástrico, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, enfermedad inflamatoria intestinal, acidez estomacal funcional, dispepsia, dolor visceral, gastroparesia, pseudoobstrucción intestinal crónica (o pseudoobstrucción colónica), y otras afecciones y trastornos descritos en la presente memoria que usan péptidos y composiciones que activan el receptor de la guanilato ciclasa C (GC-C).

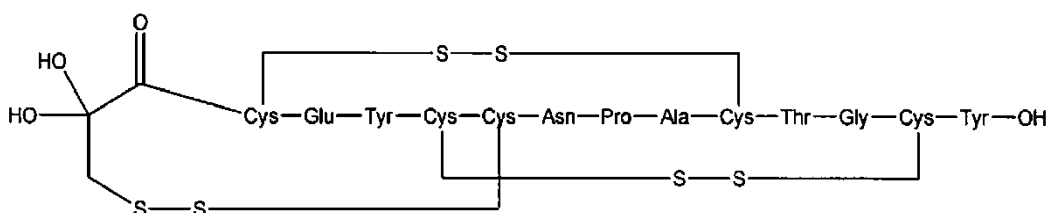
Un aspecto de la presente invención proporciona un péptido o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, en donde el péptido comprende la secuencia de aminoácidos Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr, en donde la α -amina del aminoácido Cys¹ del péptido se desamina por reacciones oxidativas o enzimáticas (el "péptido Cys'- α -cetona").

En una realización, el péptido comprende la estructura de aminoácidos de:



o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

En otra realización, el péptido comprende la estructura de aminoácidos de:



o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

Los detalles de una o más realizaciones de la invención se exponen en la descripción adjunta.

Breve descripción de los dibujos

La figura 1 muestra la unión específica de péptidos de ejemplo de la presente invención a receptores GC-C de superficie celular en células T84 en un ensayo de unión competitiva de radioligando.

La figura 2 muestra la respuesta a la dosis de péptidos de ejemplo de la presente invención en un ensayo de cGMP en células T84.

La figura 3 demuestra un ejemplo de un análisis de péptidos de ejemplo por RP-HPLC, en donde "Cys¹- α -cetona" se refiere al derivado cetónico de linaclotida modificado en su grupo α -amina N-terminal.

Las figuras se proporcionan a modo de ejemplo y no se pretende que limiten el alcance de la presente invención.

Descripción detallada

La guanilato ciclasa C (GC-C) es un receptor transmembrana que está situado en la superficie apical de las células epiteliales en el estómago y el intestino. El receptor tiene un dominio de unión del ligando extracelular, una sola región transmembrana y un dominio de guanil ciclasa C-terminal. Cuando un ligando se une al dominio extracelular de la GC-C, el dominio catalítico intracelular cataliza la producción de cGMP a partir de GTP. In vivo, este aumento del cGMP intracelular inicia una cascada de sucesos que conduce a una mayor secreción de cloruro y bicarbonato en la luz intestinal, mayor pH luminal, menos absorción de sodio luminal, mayor secreción de fluidos y aceleración del tránsito intestinal. El cGMP es secretado bidireccionalmente desde el epitelio a la mucosa y la luz. Los péptidos y composiciones de la presente invención se unen al receptor GC-C intestinal que es un regulador del equilibrio de fluidos y electrolítico en el intestino.

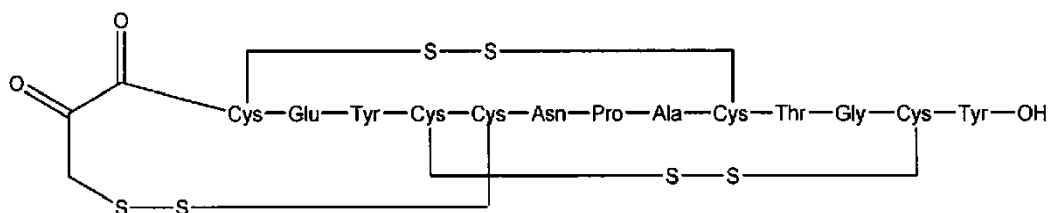
5 En algunas circunstancias puede ser conveniente tratar a los pacientes con un péptido variante o modificado que se une a y activa los receptores GC-C intestinales, pero es menos activo o más activo que la forma no variante de un péptido. La actividad reducida puede venir de la menor afinidad por el receptor o una menor capacidad para activar el receptor una vez unido o menor estabilidad del péptido. La mayor actividad puede venir de la mayor afinidad por el receptor o una mayor capacidad para activar el receptor una vez unido o mayor estabilidad del péptido.

15 Descripción de péptidos de ejemplo:

En diferentes realizaciones, un péptido comprende la secuencia de aminoácidos Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr, en donde la α -amina del aminoácido Cys¹ del péptido se desamina por reacciones oxidativas o catálisis enzimática. Este péptido se puede producir, por ejemplo, por desaminación oxidativa de la linaclotida, que implica el ataque nucleófilo de la α -amina del aminoácido Cys¹ que forma un producto base de Schiff, seguido de la tautomerización prototrópica de la base de Schiff, y finalmente hidrólisis en ácido para dar la cetona α -Cys¹ y su hidrato en equilibrio. Esta mezcla de los dos péptidos se denominará "Cys¹- α -cetona" o "Cys¹-cetona". Estos péptidos pueden ser tautómeros y las diferentes mezclas tautómeras de diferentes proporciones pueden ser útiles y están dentro del alcance de la presente invención.

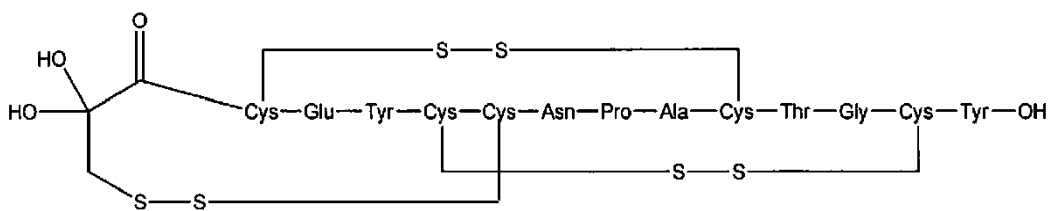
25 En varias realizaciones, el péptido comprende la secuencia de aminoácidos Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr, en donde la α -amina del aminoácido Cys¹ del péptido está desaminado.

En una realización, el péptido comprende la estructura de aminoácidos de:



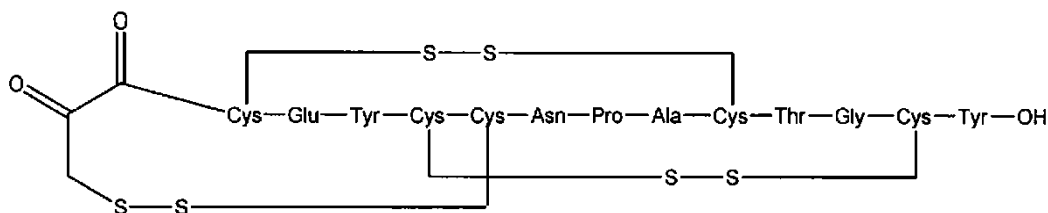
o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

En otra realización, el péptido comprende la estructura de aminoácidos de:

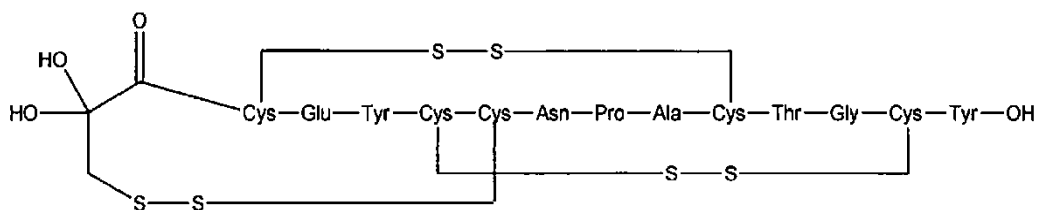


30 o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

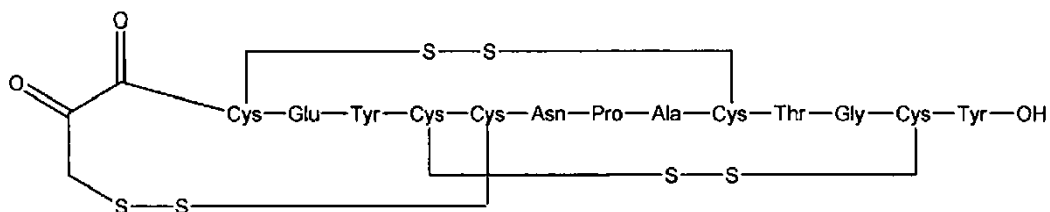
Un experto en la técnica reconocerá que el péptido que comprende la estructura de aminoácidos de:



35 podría estar en equilibrio con su forma de diol geminal monohidrato que comprende la estructura de aminoácidos de:



Como se usa en la presente memoria, la expresión "péptido Cys1- α -cetona" de estructura

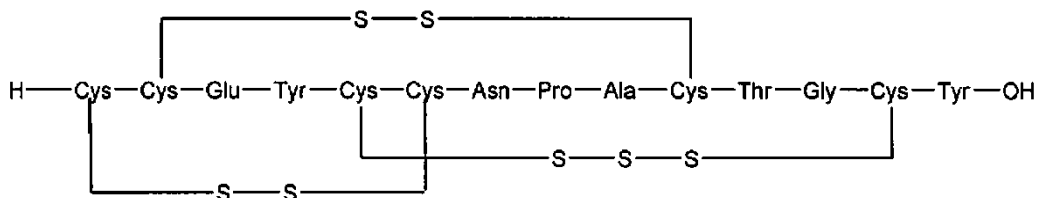
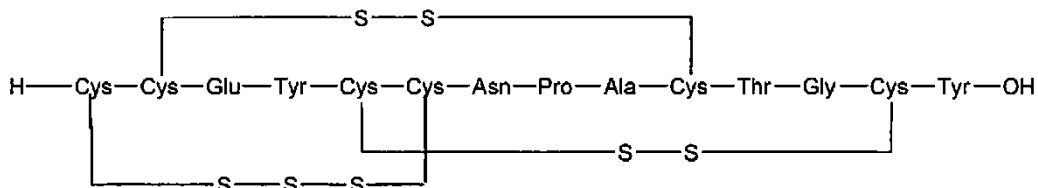


se pretende que incluya tanto la estructura de Cys1- α -cetona como la forma de diol geminal monohidrato.

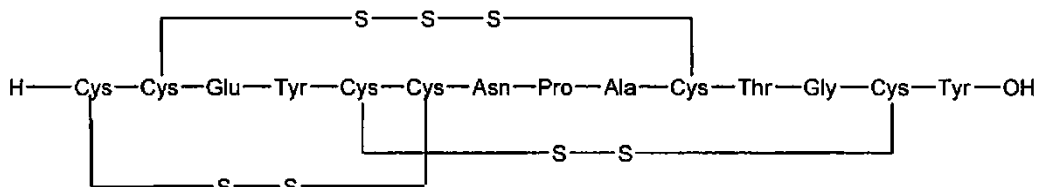
- 5 Se describe un péptido que comprende la secuencia de aminoácidos Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr en donde un átomo de azufre adicional puede estar unido a uno cualquiera de los seis azufres de cisteinilo.

10 El péptido puede comprender un producto trisulfuro de linaclotida que se forma por la adición de un solo átomo de azufre a uno de los tres enlaces disulfuro de cisteinilos en la linaclotida (denominado en la presente memoria el "producto trisulfuro de la linaclotida" o el "péptido trisulfuro de linaclotida").

El péptido puede comprender la estructura de aminoácidos seleccionada de:

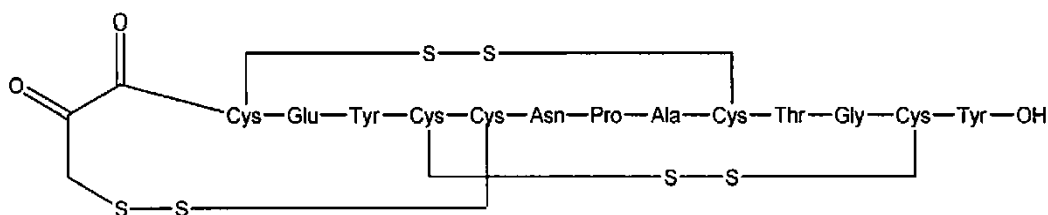


y



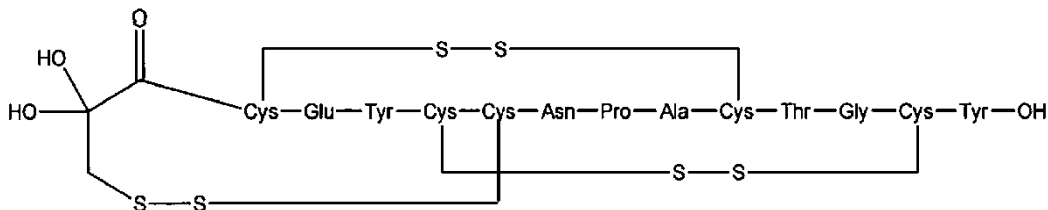
15 En una realización adicional, el péptido consiste en la secuencia de aminoácidos Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr, en donde la α -amina del aminoácido Cys¹ del péptido está desaminado.

En una realización, el péptido consiste en la estructura de aminoácidos de:



o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

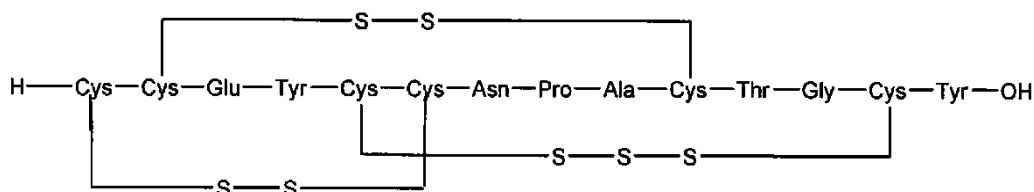
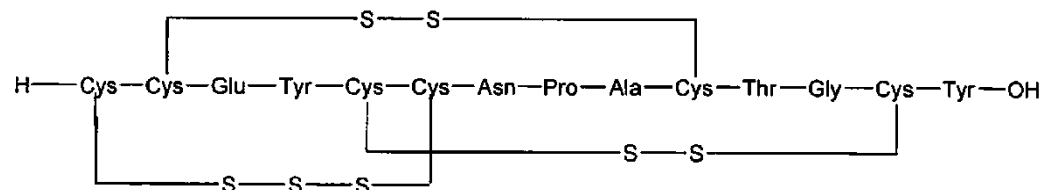
En una realización, el péptido consiste en la estructura de aminoácidos de:



5 o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

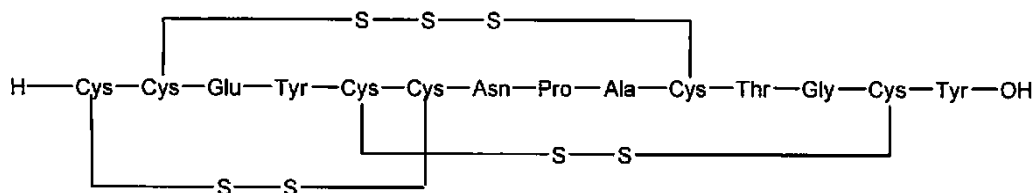
El péptido puede consistir en la secuencia de aminoácidos de Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr en donde un átomo de azufre adicional puede estar unido a uno cualquiera de los seis azufres de cisteinilos.

El péptido puede consistir en la estructura de aminoácidos seleccionada de:



10

y



En algunas realizaciones, el péptido o su sal farmacéuticamente aceptable activa el receptor guanilato ciclasa C.

En otras realizaciones, el péptido o su sal farmacéuticamente aceptable comprende 30 o menos aminoácidos.

15 En realizaciones adicionales, el péptido o su sal farmacéuticamente aceptable comprende 20 o menos aminoácidos.

En otras realizaciones, el péptido o su sal farmacéuticamente aceptable comprende un péptido en donde preceden menos de cinco aminoácidos al primer resto de Cys de la secuencia de aminoácidos.

En algunas realizaciones, se aísla el péptido o su sal farmacéuticamente aceptable.

En otras realizaciones, se purifica el péptido o su sal farmacéuticamente aceptable.

20 En algunas realizaciones, se proporciona una sal farmacéuticamente aceptable del péptido. En algunos casos, la sal farmacéuticamente aceptable es una sal de cloruro.

Péptidos variantes o modificados

El péptido puede incluir dos Cys que forman un enlace disulfuro, el péptido incluye cuatro Cys que forman dos enlaces disulfuro, o el péptido incluye seis Cys que forman tres enlaces disulfuro.

5 El péptido puede incluir dos Cys que forman un enlace trisulfuro, el péptido incluye cuatro Cys que forman dos enlaces trisulfuro, o el péptido incluye seis Cys que forman tres enlaces trisulfuro.

10 En algunos péptidos, uno o ambos miembros de uno o ambos pares de restos Cys que normalmente forman un enlace disulfuro se pueden sustituir por homocisteína, penicilamina, 3-mercaptoprolina (Kolodziej et al. 1996 *Int J Pept Protein Res* 48:274); β,β -dimetilcisteína (Hunt et al. 1993 *Int J Pept Protein Res* 42:249) o ácido diaminopropiónico (Smith et al. 1978 *J Med Chem* 21:117) para formar entrecruzamientos internos alternativos en las posiciones de los enlaces disulfuro normales. Los enlaces disulfuro se pueden sustituir por entrecruzamiento de hidrocarburos (Schafmeister et al. 2000 *J Am Chem Soc* 122:5891, Patgiri et al. 2008 *Acc Chem Res* 41:1289, Henchey et al. 2008 *Curr Opin Chem Biol* 12:692).

Producción de péptidos

15 Los péptidos o precursores de péptidos de la invención se pueden producir de forma recombinante en cualquier sistema de expresión de proteínas conocido, incluyendo, sin limitación, bacterias (p. ej., *E. coli* o *Bacillus subtilis*), sistemas de células de insecto (p. ej., sistema de células Sf9 de *Drosophila*), sistemas de células de levadura (p. ej., *S. cerevisiae*, *S. saccharomyces*) o sistemas de expresión de hongos filamentosos o sistemas de expresión de células animales (p. ej., sistemas de expresión de células de mamífero). Los péptidos producidos de forma recombinante se pueden modificar químicamente después de ser expresados para formar los péptidos de la invención.

20 Si el péptido o variante del péptido se va a producir de forma recombinante, p. ej., *E. coli*, la molécula de ácido nucleico que codifica el péptido puede codificar también una secuencia líder que permite la secreción del péptido maduro de la célula. Por lo tanto, la secuencia que codifica el péptido puede incluir la presecuencia y la prosecuencia, por ejemplo, de un péptido ST bacteriano que se encuentra de forma natural. El péptido maduro secretado se puede purificar del medio de cultivo.

25 La secuencia que codifica un péptido descrito en la presente 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 se puede insertar en un vector de replicación autónoma (los vectores adecuados incluyen, por ejemplo, pGEM3Z y pcDNA3, y derivados de los mismos). El ácido nucleico vector puede ser un ADN bacteriano o de bacteriófago tal como bacteriófago lambda o M13 y derivados de los mismos. La construcción de un vector que contiene un ácido nucleico descrito en la presente memoria puede ir seguida de la transformación de una célula hospedante tal como una bacteria. Los hospedantes bacterianos adecuados incluyen, pero no se limitan a *E. coli*, *B. subtilis*, *Pseudomonas* y *Salmonella*. La construcción genética también incluye, además de la molécula de ácido nucleico codificante, elementos que permiten la expresión, tales como un promotor y secuencias reguladoras. Los vectores de expresión pueden contener secuencias de control transcripcional que controlan el inicio de la transcripción, tales como secuencias promotoras, potenciadoras, operadoras y represoras. Los expertos en la técnica conocen bien una variedad de secuencias de control transcripcional. El vector de expresión también puede incluir una secuencia reguladora de la transcripción (p. ej., una secuencia 5' no traducida, una secuencia 3' no traducida o un sitio de entrada al ribosoma interno). El vector puede ser capaz de replicación autónoma o se puede integrar en el ADN del hospedante para asegurar la estabilidad durante la producción del péptido.

35 La secuencia codificante de proteína que incluye un péptido descrito en la presente memoria, también se puede fusionar con un ácido nucleico que codifica un marcador de afinidad peptídica, p. ej., glutatión S-transferasa (GST), proteína de unión E a maltosa, proteína A, marcador FLAG, hexa-histidina, marcador myc o el marcador HA de influenza, con el fin de facilitar la purificación. La fusión del marcador de afinidad o indicador une el marco de lectura del péptido de interés con el marco de lectura del gen que codifica el marcador de afinidad de modo que se genera una fusión traduccional. La expresión del gen de fusión da como resultado la traducción de un solo péptido que incluye tanto el péptido de interés como el marcador de afinidad. En algunos casos donde se usan marcadores de afinidad, la secuencia de ADN que codifica un sitio de reconocimiento de proteasa se fusionará entre los marcos de lectura para el marcador de afinidad y el péptido de interés.

40 Las construcciones genéticas y métodos adecuados para la producción de formas inmaduras y maduras de los péptidos y variantes descritas en la presente memoria en sistemas de expresión de proteínas distintos de bacterias, y bien conocidos para los expertos en la técnica, también se pueden usar para producir péptidos en un sistema biológico.

55 En otras realizaciones, los péptidos que contienen aminoácidos no incorporados normalmente por la maquinaria de traducción y descritos anteriormente se pueden producir de forma recombinante por métodos de modificación del ARNt. Los métodos para la modificación del ARNt incluyen, pero no se limitan a modificar el anticodón, el sitio de unión del aminoácido y/o el brazo aceptor para permitir la incorporación de aminoácidos no naturales y/o arbitrarios, son bien conocidos en la técnica (*Biochem. Biophys. Res. Comm.* (2008) 372: 480-485; *Chem. Biol.* (2009) 16:323-

36; *Nat. Methods* (2007) 4:239-44; *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* (2006) 7:775-82; *Methods* (2005) 36:227-238; *Methods* (2005) 36:270-278; *Annu. Rev. Biochem.* (2004) 73:147-176; *Nuc. Acids Res.* (2004) 32:6200-6211; *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* (2003) 100:6353-6357; *Royal Soc. Chem.* (2004) 33:422-430).

5 Los péptidos se pueden producir químicamente. Los péptidos se pueden sintetizar por una serie de métodos diferentes que incluyen síntesis en solución y en fase sólida, usando la protección con BOC o Fmoc tradicional. Por ejemplo, el péptido se puede sintetizar en resina de 2-clorotritilo o de Wang usando acoplamiento de aminoácidos consecutivos. Se pueden usar los siguientes grupos protectores: fluorenilmetiloxycarbonilo o *terc*-butiloxycarbonilo (grupos alfa-amino, extremo N); tritilo o *terc*-butilo (grupos tiol de Cys); *terc*-butilo (γ -carboxilo del ácido glutámico y el grupo hidroxilo de la treonina, si están presentes); y tritilo (función β -amida de la cadena lateral de la asparagina y el grupo fenólico de la tirosina, si están presentes). El acoplamiento se puede realizar con DIC y HOBt en presencia de una amina terciaria, y el péptido se puede desproteger y escindir del soporte sólido usando el cóctel K (ácido trifluoroacético al 81%, fenol al 5%, tioanisol al 5%, 1,2-etanodiol al 2,5%, agua al 3%, sulfuro de dimetilo al 2%, yoduro amónico al 1,5% en p/p). Después de eliminar el ácido trifluoroacético y otros productos volátiles, el péptido se puede precipitar usando un disolvente orgánico. Los enlaces disulfuro entre restos de Cys se pueden formar usando sulfóxido de dimetilo (Tam et al. (1991) *J. Am. Chem. Soc.* 113:6657-62) o usando una estrategia de oxidación. El péptido resultante se puede purificar por cromatografía de fase inversa y liofilizar. Los péptidos sintetizados químicamente se pueden modificar químicamente después de sintetizarlos para formar los péptidos de la invención.

20 Estos péptidos se pueden hacer, aislar o usar en forma de la base o como sus sales farmacéuticamente aceptables. Los ejemplos de sales incluyen, sin limitación, sales de acetato, cloruro, sulfato y fosfato del péptido.

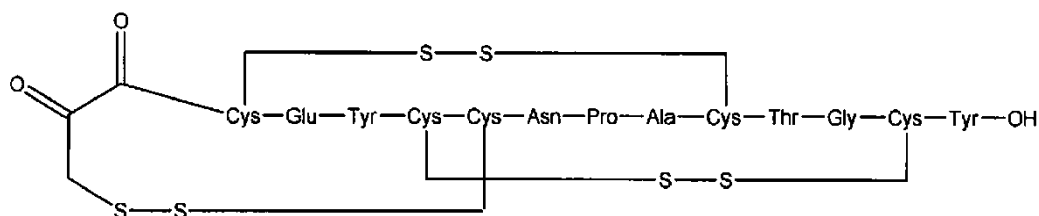
Composiciones de péptidos y agonistas del receptor GC-C

En otro aspecto, se proporcionan composiciones farmacéuticas en donde los péptidos, solos o en combinación, se pueden combinar con cualquier medio o vehículo farmacéuticamente aceptable.

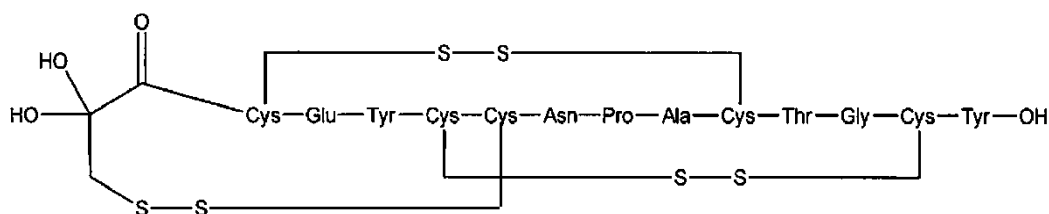
25 En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende un péptido o su sal farmacéuticamente aceptable como se describe en la presente memoria. La composición farmacéutica puede comprender dos o más péptidos o sus sales farmacéuticamente aceptables descritos en la presente memoria.

En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende dos o más péptidos seleccionados de:

i. un péptido o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en donde el péptido comprende la estructura de aminoácidos de:

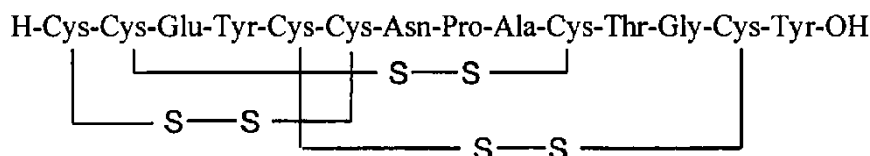


ii. un péptido o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en donde el péptido comprende una estructura de aminoácidos de:

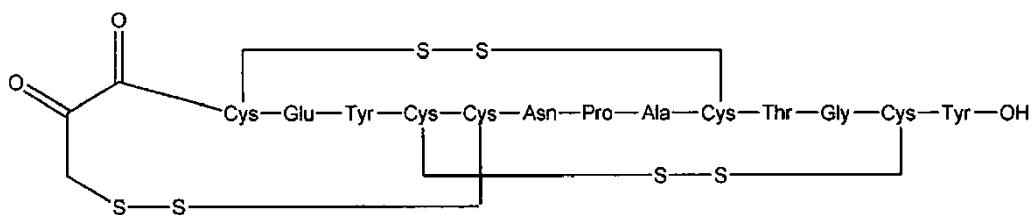


o

35 iii. un péptido o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en donde el péptido comprende la estructura de aminoácidos de:

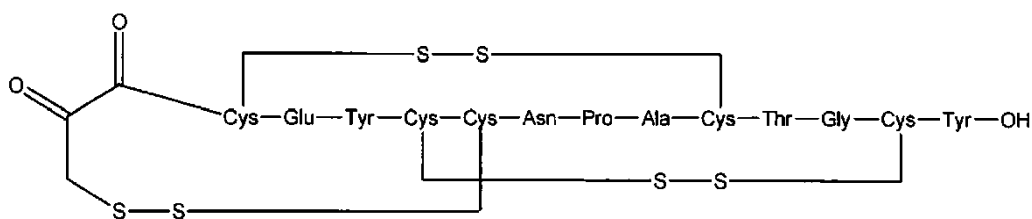


En otras realizaciones, la composición farmacéutica comprende linaclotida y un péptido o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en donde el péptido comprende una estructura de aminoácidos de:



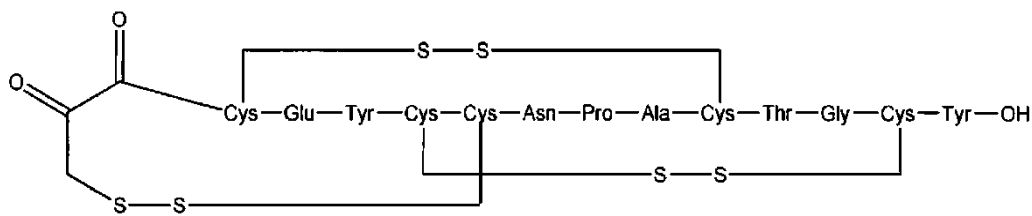
5 y el péptido o su sal farmacéuticamente aceptable comprende menos de 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, o 90% en peso comparado con el peso de la linaclotida.

En realizaciones adicionales, la composición farmacéutica comprende linaclotida y un péptido o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en donde el péptido comprende una estructura de aminoácidos de:



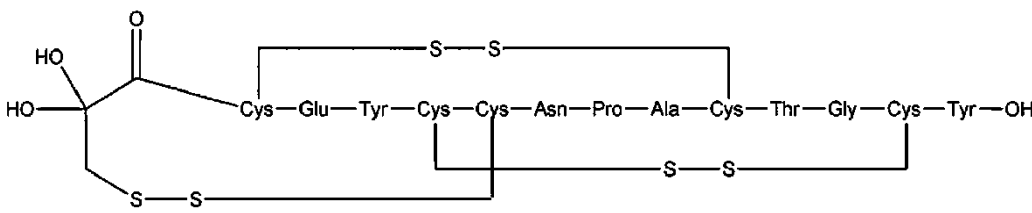
10 y en donde la composición farmacéutica comprende menos de 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1% o 0,5% en peso del péptido o su sal farmacéuticamente aceptable comparado con el peso de la linaclotida.

En realizaciones adicionales, la composición farmacéutica comprende linaclotida y un péptido o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en donde el péptido comprende una estructura de aminoácidos de:



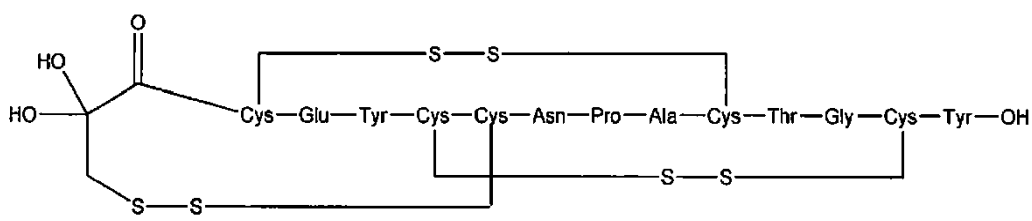
15 y en donde la composición farmacéutica comprende aproximadamente 0,01-9% en peso (p. ej., aproximadamente 0,01-8% en peso, aproximadamente 0,01-7% en peso, aproximadamente 0,01-6% en peso, aproximadamente 0,01-5% en peso, aproximadamente 0,01-4% en peso, aproximadamente 0,01-3% en peso, aproximadamente 0,01-2% en peso, aproximadamente 0,01-1% en peso) del péptido o su sal farmacéuticamente aceptable comparado con el peso de la linaclotida.

20 En otras realizaciones, la composición farmacéutica comprende linaclotida y un péptido o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en donde el péptido comprende una estructura de aminoácidos de:



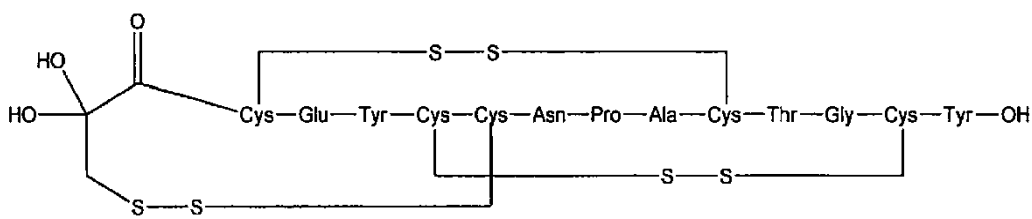
y el péptido o su sal farmacéuticamente aceptable comprende menos de 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% o 90% en peso comparado con el peso de la linaclotida.

25 En realizaciones adicionales, la composición farmacéutica comprende linaclotida y un péptido o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en donde el péptido comprende una estructura de aminoácidos de:



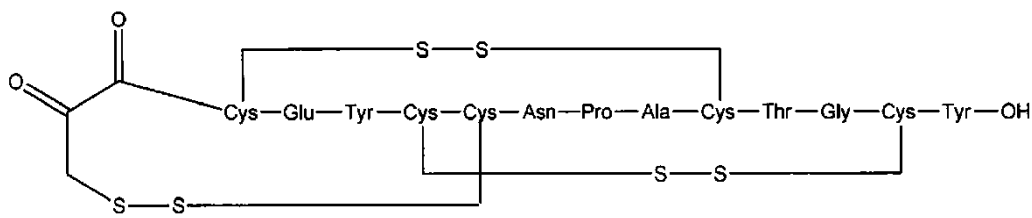
y el péptido o su sal farmacéuticamente aceptable comprende menos de 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1% o 0,5% en peso comparado con el peso de la linaclotida.

5 En realizaciones adicionales, la composición farmacéutica comprende linaclotida y un péptido o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en donde el péptido comprende una estructura de aminoácidos de:



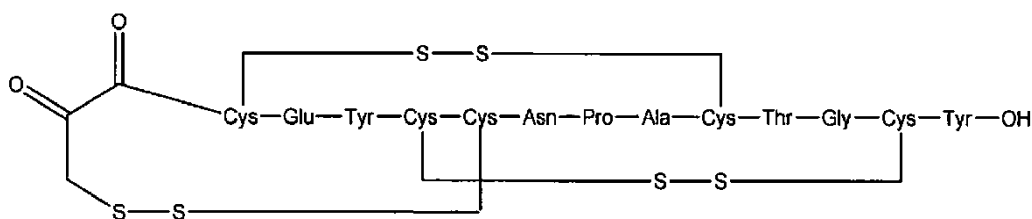
10 y en donde la composición farmacéutica comprende aproximadamente 0,01-9% en peso (p. ej., aproximadamente 0,01-8% en peso, aproximadamente 0,01-7% en peso, aproximadamente 0,01-6% en peso, aproximadamente 0,01-5% en peso, aproximadamente 0,01-4% en peso, aproximadamente 0,01-3% en peso, aproximadamente 0,01-2% en peso, aproximadamente 0,01-2% en peso, aproximadamente 0,01-1% en peso) del péptido o su sal farmacéuticamente aceptable comparado con el peso de la linaclotida.

En otras realizaciones, la composición farmacéutica comprende linaclotida y un péptido o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en donde el péptido consiste en la estructura de aminoácidos de:



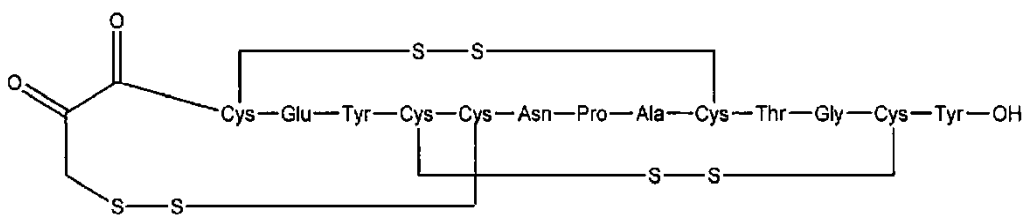
15 y el péptido o su sal farmacéuticamente aceptable comprende menos de 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, o en peso comparado con el peso de la linaclotida.

En realizaciones adicionales, la composición farmacéutica comprende linaclotida y un péptido o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en donde el péptido consiste en una estructura de aminoácidos de:



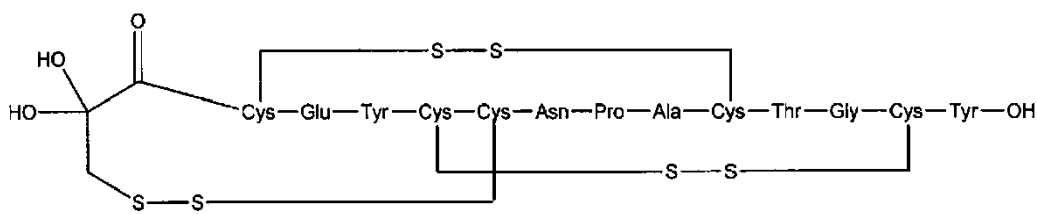
20 y el péptido o su sal farmacéuticamente aceptable comprende menos de 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1% o 0,5% en peso comparado con el peso de la linaclotida.

En realizaciones adicionales, la composición farmacéutica comprende linaclotida y un péptido o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en donde el péptido consiste en una estructura de aminoácidos de:



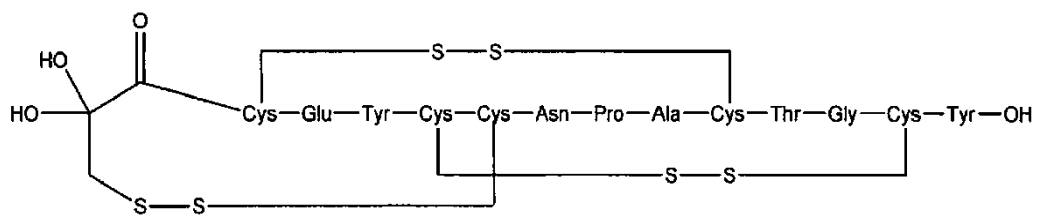
5 y en donde la composición farmacéutica comprende aproximadamente 0,01-9% en peso (p. ej., aproximadamente 0,01-8% en peso, aproximadamente 0,01-7% en peso, aproximadamente 0,01-6% en peso, aproximadamente 0,01-5% en peso, aproximadamente 0,01-4% en peso, aproximadamente 0,01-3% en peso, aproximadamente 0,01-2% en peso, aproximadamente 0,01-2% en peso, aproximadamente 0,01-1% en peso) del péptido o su sal farmacéuticamente aceptable comparado con el peso de la linaclotida.

En otras realizaciones, la composición farmacéutica comprende linaclotida y un péptido o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en donde el péptido consiste en una estructura de aminoácidos de:



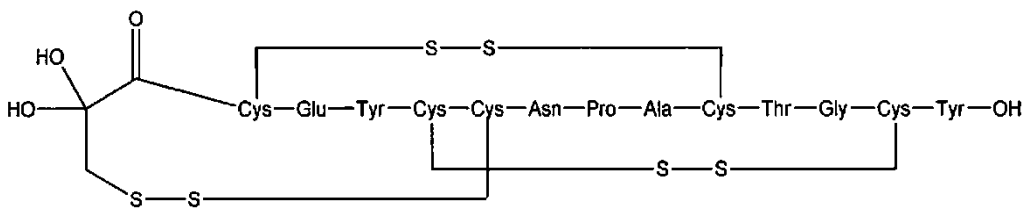
10 y el péptido o su sal farmacéuticamente aceptable comprende menos de 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% o 90% en peso comparado con el peso de la linaclotida.

En realizaciones adicionales, la composición farmacéutica comprende linaclotida y un péptido o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en donde el péptido consiste en una estructura de aminoácidos de:



15 y el péptido o su sal farmacéuticamente aceptable comprende menos de 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1% o 0,5% en peso comparado con el peso de la linaclotida.

En realizaciones adicionales, la composición farmacéutica comprende linaclotida y un péptido o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en donde el péptido consiste en una estructura de aminoácidos de:



20 y en donde la composición farmacéutica comprende aproximadamente 0,01-9% en peso (p. ej., aproximadamente 0,01-8% en peso, aproximadamente 0,01-7% en peso, aproximadamente 0,01-6% en peso, aproximadamente 0,01-5% en peso, aproximadamente 0,01-4% en peso, aproximadamente 0,01-3% en peso, aproximadamente 0,01-2% en peso, aproximadamente 0,01-2% en peso, aproximadamente 0,01-1% en peso) del péptido o su sal farmacéuticamente aceptable comparado con el peso de la linaclotida.

25 En algunas realizaciones, el péptido Cys¹-α-cetona comprende menos de aproximadamente 15% en peso de la composición, menos de aproximadamente 10% en peso de la composición, menos de aproximadamente 7% en peso de la composición, menos de aproximadamente 5% en peso de la composición, menos de aproximadamente 4% en peso de la composición, menos de aproximadamente 3% en peso de la composición, menos de aproximadamente 2% en peso de la composición, o menos de aproximadamente 1% en peso de la composición. En otras realizaciones de ejemplo, el péptido Cys¹-α-cetona comprende de aproximadamente 0,01% a

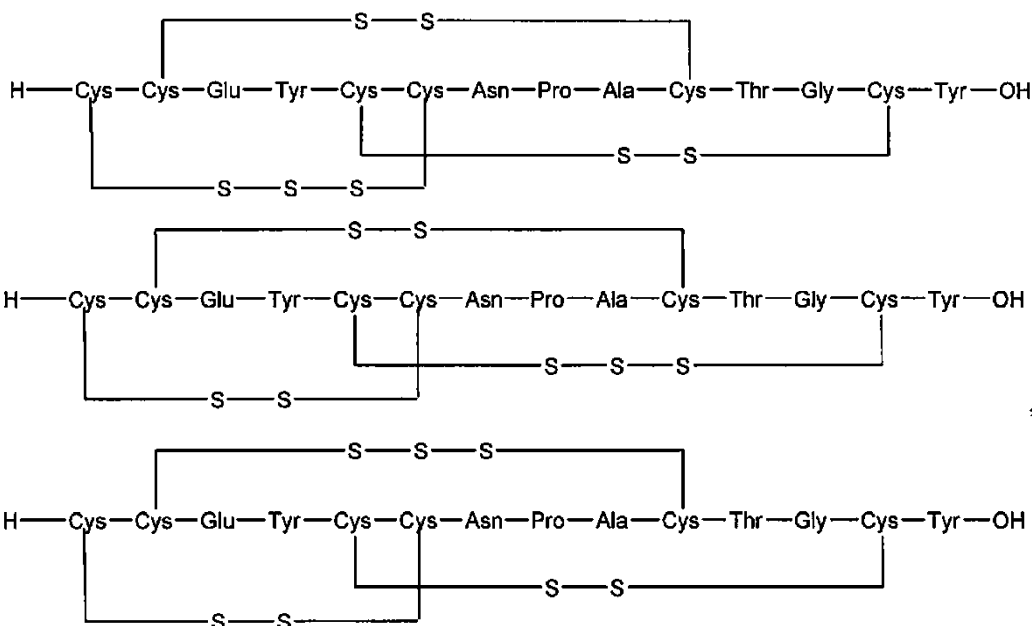
aproximadamente 15% en peso de la composición, de aproximadamente 0,05% a aproximadamente 10% en peso de la composición, de aproximadamente 0,05% a aproximadamente 7% en peso de la composición, o de aproximadamente 0,05% a aproximadamente 5% en peso de la composición. En realizaciones de ejemplo adicionales, el péptido Cys¹-α-cetona comprende de aproximadamente 0,5% a aproximadamente 2% en peso de la composición.

5

En realizaciones adicionales, se proporciona un método de tratamiento de un trastorno gastrointestinal en un paciente que lo necesite, que comprende administrar una composición farmacéutica que comprende linaclotida y un péptido Cys¹-α-cetona.

Se describe una composición farmacéutica que comprende linaclotida y un producto de trisulfuro de linaclotida. El producto de trisulfuro de linaclotida se forma en la adición de un solo átomo de azufre a uno de los tres enlaces disulfuro de cisteinilo en la linaclotida. Se representan a continuación tres potenciales estructuras del producto, aunque un experto en la técnica reconocerá que el átomo de azufre puede estar unido a uno cualquiera de los seis azufres de cisteinilo:

10



15

Puede haber una adición de más de un átomo de azufre a la linaclotida, que aumentaría su peso molecular en 32 UA por átomo de azufre añadido.

20

En producto de trisulfuro de linaclotida comprende menos de aproximadamente 15% en peso de la composición, menos de aproximadamente 10% en peso de la composición, menos de aproximadamente 7% en peso de la composición, menos de aproximadamente 5% en peso de la composición, menos de aproximadamente 4% en peso de la composición, menos de aproximadamente 3% en peso de la composición, menos de aproximadamente 2% en peso de la composición, o menos de aproximadamente 1% en peso de la composición.

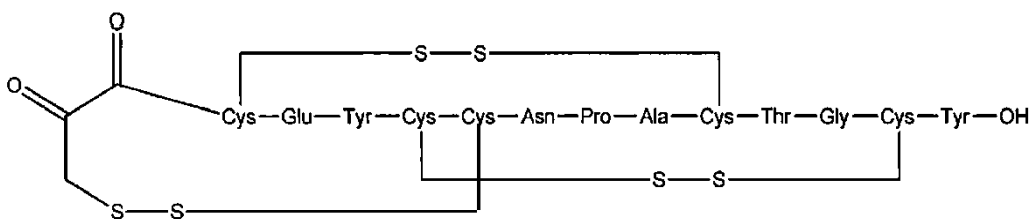
25

En otras realizaciones de ejemplo, el producto de trisulfuro de linaclotida comprende de aproximadamente 0,01% a aproximadamente 15% en peso de la composición, de aproximadamente 0,05% a aproximadamente 10% en peso de la composición, de aproximadamente 0,05% a aproximadamente 7% en peso de la composición, o de aproximadamente 0,05% a aproximadamente 5% en peso de la composición. En realizaciones de ejemplo adicionales, el producto de trisulfuro de linaclotida comprende de aproximadamente 0,5% a aproximadamente 2% en peso de la composición.

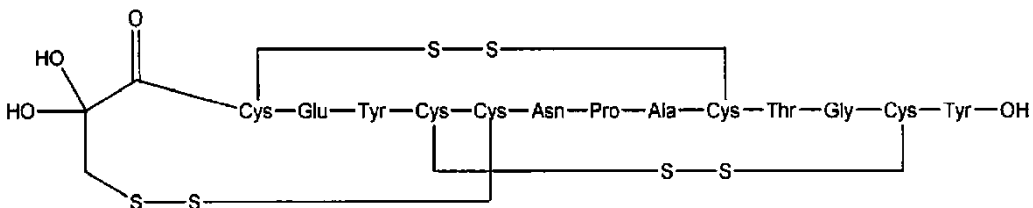
30

Se describe un método de tratamiento de un trastorno gastrointestinal en un paciente que lo necesite, que comprende administrar una composición farmacéutica que comprende linaclotida y un producto de trisulfuro de linaclotida.

En otras realizaciones, la composición farmacéutica consiste esencialmente en un péptido o su sal farmacéuticamente aceptable, en donde el péptido comprende la estructura de aminoácidos de:



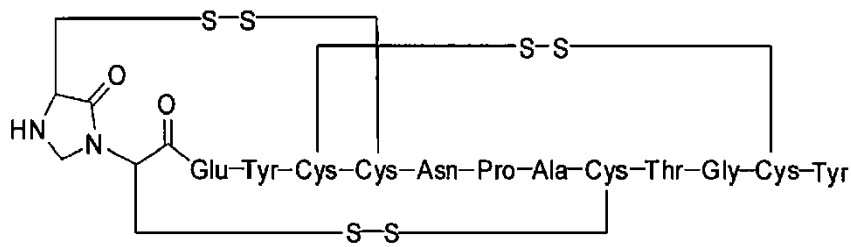
En otras realizaciones, la composición farmacéutica consiste esencialmente en un péptido o su sal farmacéuticamente aceptable, en donde el péptido comprende la estructura de aminoácidos de:



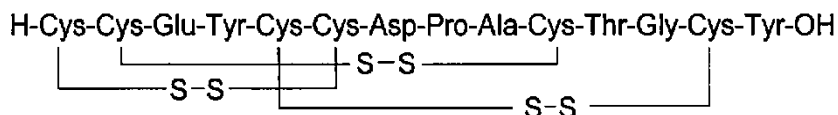
5 La expresión "consiste esencialmente en", y variantes de la misma, cuando se usa para referirse a la composición, se usan en la presente memoria para indicar que la composición incluye un solo péptido activo y otros aditivos, excipientes y/o componentes farmacéuticamente inactivos (p. ej., polímeros, aminas primarias con impedimento estérico, cationes, agentes de carga, aglutinantes, vehículos, excipientes, diluyentes, aditivos disgregantes, lubricantes, disolventes, dispersantes, aditivos de recubrimiento, aditivos de promoción de la absorción, aditivos de liberación controlada, aditivos antiapelmazantes, aditivos antimicrobianos, conservantes, aditivos edulcorantes, colorantes, aromas, descantes, plastificantes, colorantes, o similares), y no otro u otros ingredientes farmacéuticamente activos.

En algunas realizaciones, se proporciona una composición farmacéutica que comprende linaclotida, un péptido Cys¹-α-cetona como se describe en la presente memoria, y uno o más péptidos seleccionados de:

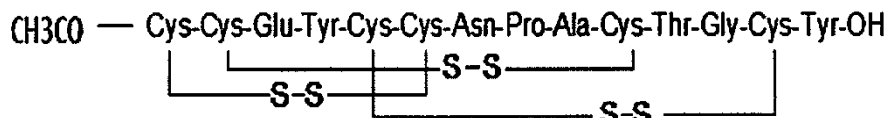
15 i. un péptido ("Cys1-IMD") o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en donde el péptido comprende la estructura de aminoácidos de:



ii. un péptido de hidrólisis ("Asp⁷") o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en donde el péptido comprende la estructura de aminoácidos de:

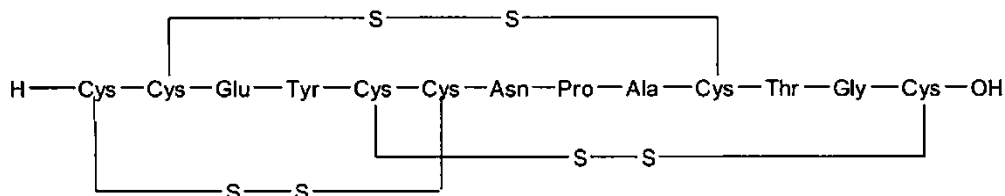


20 iii. un péptido de acetilación ("Cys¹-N-Aceto") o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en donde el péptido comprende la estructura de aminoácidos de:



25 iv. un péptido de trisulfuro de linaclotida o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en donde el péptido comprende la secuencia de aminoácidos de Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr en donde un átomo de azufre adicional se puede unir a uno cualquiera de los seis azufres de cisteinilos; y

v. un péptido ("Des-Tyr¹⁴") o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en donde el péptido comprende la estructura de aminoácidos de:



5 En algunas realizaciones, el péptido Cys¹-α-cetona comprende menos de aproximadamente 15% en peso de la composición, menos de aproximadamente 10% en peso de la composición, menos de aproximadamente 7% en peso de la composición, menos de aproximadamente 5% en peso de la composición, menos de aproximadamente 4% en peso de la composición, menos de aproximadamente 3% en peso de la composición, menos de aproximadamente 2% en peso de la composición, menos de aproximadamente 1,5% en peso de la composición, o menos de aproximadamente 1% en peso de la composición. En otras realizaciones de ejemplo, el péptido de Cys¹-α-cetona comprende de aproximadamente 0,01% a aproximadamente 15% en peso de la composición, de aproximadamente 0,05% a aproximadamente 10% en peso de la composición, de aproximadamente 0,05% a aproximadamente 7% en peso de la composición, o de aproximadamente 0,05% a aproximadamente 5% en peso de la composición.

15 En algunas realizaciones, el péptido Cys¹-IMD comprende menos de aproximadamente 15% en peso de la composición, menos de aproximadamente 10% en peso de la composición, menos de aproximadamente 7% en peso de la composición, menos de aproximadamente 5% en peso de la composición, menos de aproximadamente 4% en peso de la composición, menos de aproximadamente 3,5% en peso de la composición, menos de aproximadamente 3% en peso de la composición, menos de aproximadamente 2% en peso de la composición, o menos de aproximadamente 1% en peso de la composición. En otras realizaciones de ejemplo, el péptido Cys¹-IMD comprende de aproximadamente 0,01% a aproximadamente 15% en peso de la composición, de aproximadamente 0,05% a aproximadamente 10% en peso de la composición, de aproximadamente 0,05% a aproximadamente 7% en peso de la composición o de aproximadamente 0,05% a aproximadamente 5% en peso de la composición.

25 En otras realizaciones, el péptido de hidrólisis ("Asp⁷") comprende menos de aproximadamente 15% en peso de la composición, menos de aproximadamente 10% en peso de la composición, menos de aproximadamente 7% en peso de la composición, menos de aproximadamente 5% en peso de la composición, menos de aproximadamente 4% en peso de la composición, menos de aproximadamente 3,5% en peso de la composición, menos de aproximadamente 3% en peso de la composición, menos de aproximadamente 2% en peso de la composición, o menos de aproximadamente 1% en peso de la composición. En otras realizaciones de ejemplo, el péptido de hidrólisis ("Asp⁷") comprende de aproximadamente 0,01% a aproximadamente 15% en peso de la composición, de aproximadamente 0,05% a aproximadamente 10% en peso de la composición, de aproximadamente 0,05% a aproximadamente 7% en peso de la composición o de aproximadamente 0,05% a aproximadamente 5% en peso de la composición.

35 En algunas realizaciones, el péptido de acetilación ("Cys¹-N-Acetilo") comprende menos de aproximadamente 15% en peso de la composición, menos de aproximadamente 10% en peso de la composición, menos de aproximadamente 7% en peso de la composición, menos de aproximadamente 5% en peso de la composición, menos de aproximadamente 4% en peso de la composición, menos de aproximadamente 3,5% en peso de la composición, menos de aproximadamente 3% en peso de la composición, menos de aproximadamente 2% en peso de la composición, o menos de aproximadamente 1% en peso de la composición. En otras realizaciones de ejemplo, el péptido de acetilación ("Cys¹-N-Acetilo") comprende de aproximadamente 0,01% a aproximadamente 15% en peso de la composición, de aproximadamente 0,05% a aproximadamente 10% en peso de la composición, de aproximadamente 0,05% a aproximadamente 7% en peso de la composición o de aproximadamente 0,05% a aproximadamente 5% en peso de la composición.

45 En algunas realizaciones, el péptido de trisulfuro de linaclotida comprende menos de aproximadamente 15% en peso de la composición, menos de aproximadamente 10% en peso de la composición, menos de aproximadamente 7% en peso de la composición, menos de aproximadamente 5% en peso de la composición, menos de aproximadamente 4% en peso de la composición, menos de aproximadamente 3,5% en peso de la composición, menos de aproximadamente 3% en peso de la composición, menos de aproximadamente 2% en peso de la composición, o menos de aproximadamente 1% en peso de la composición. En otras realizaciones de ejemplo, el péptido trisulfuro de linaclotida comprende de aproximadamente 0,01% a aproximadamente 15% en peso de la composición, de aproximadamente 0,05% a aproximadamente 10% en peso de la composición, de aproximadamente 0,05% a aproximadamente 7% en peso de la composición, o de aproximadamente 0,05% a aproximadamente 5% en peso de la composición.

50 En algunas realizaciones, el péptido Des-Tyr¹⁴ comprende menos de aproximadamente 15% en peso de la composición, menos de aproximadamente 10% en peso de la composición, menos de aproximadamente 7% en

5 peso de la composición, menos de aproximadamente 5% en peso de la composición, menos de aproximadamente 4% en peso de la composición, menos de aproximadamente 3,5% en peso de la composición, menos de aproximadamente 3% en peso de la composición, menos de aproximadamente 2% en peso de la composición, o menos de aproximadamente 1% en peso de la composición. En otras realizaciones de ejemplo, el péptido Des-Tyr¹⁴ comprende de aproximadamente 0,01% a aproximadamente 15% en peso de la composición, de aproximadamente 0,05% a aproximadamente 10% en peso de la composición, de aproximadamente 0,05% a aproximadamente 7% en peso de la composición o de aproximadamente 0,05% a aproximadamente 5% en peso de la composición.

En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende linaclotida, un péptido Cys¹- α -cetona, y cualquier concentración deseada de multímeros unidos por disulfuro.

10 En algunas realizaciones, la composición comprende menos de 10% en peso de multímero(s).

En algunas realizaciones, la composición comprende menos de 7% en peso de multímero(s).

En algunas realizaciones, la composición comprende menos de 6% en peso de multímero(s).

En algunas realizaciones, la composición comprende menos de 5% en peso de multímero(s).

En algunas realizaciones, la composición comprende menos de 4% en peso de multímero(s).

15 En algunas realizaciones, la composición comprende menos de 3% en peso de multímero(s).

En algunas realizaciones, la composición comprende menos de 2% en peso de multímero(s).

En algunas realizaciones, la composición comprende menos de 1% en peso de multímero(s).

20 Los péptidos descritos en la presente memoria se pueden combinar con cualquier vehículo o medio farmacéuticamente tolerable, p. ej., disolventes, dispersantes, recubrimientos, agentes de promoción de la absorción, agentes de liberación controlada, y uno o más excipientes inertes que incluyen almidones, polioles, agentes de granulación, celulosa microcristalina (p. ej., celphere, Celphere beads®), diluyentes, lubricantes, aglutinantes, agentes disgregantes, y similares), etc. Si se desea las dosificaciones en comprimidos de las composiciones descritas se pueden recubrir por técnicas acuosas o no acuosas convencionales.

25 Los ejemplos de excipientes para usar como los vehículos farmacéuticamente aceptables y los vehículos inertes farmacéuticamente aceptables y los ingredientes adicionales mencionados antes, incluyen, pero no se limitan a aglutinantes, cargas, disgregantes, lubricantes, agentes antimicrobianos y agentes de recubrimiento.

30 Como se usa en la presente memoria, el término "aglutinante" se refiere a cualquier aglutinante farmacéuticamente aceptable que se pueda usar en la práctica de la invención. Los ejemplos de aglutinantes farmacéuticamente aceptables incluyen, sin limitación, un almidón (p. ej., almidón de maíz, almidón de patata y almidón pregelatinizado (p. ej., STARCH 1500® y STARCH 1500 LM®, vendido por Colorcon, Ltd.) y otros almidones), maltodextrina, gelatina, gomas naturales y sintéticas tales como goma arábica, tragacanto en polvo, goma guar, celulosa o éter de celulosa y sus derivados (p. ej., metilcelulosa, hidroxietilcelulosa, hdroxietilmetilcelulosa, hidroxipropilcelulosa e hidroxipropilmetilcelulosa (hipromelosa), etilcelulosa, acetato de celulosa, carboximetilcelulosa de calcio, carboximetilcelulosa de sodio, carboximetilcelulosa, celulosa microcristalina (p. ej. AVICEL™, tal como, AVICEL-PH-101™, -103™ y -105™, vendido por FMC Corporation, Marcus Hook, PA, EE.UU.)), poli(alcohol vinílico), polivinilpirrolidona (p. ej., polivinilpirrolidona K30, povidona), éter de celulosa y mezclas de los mismos.

40 Como se usa en la presente memoria, el término "carga" se refiere a cualquier carga farmacéuticamente aceptable, que se pueda usar en la práctica de la invención. Los ejemplos de cargas farmacéuticamente aceptables incluyen, sin limitación, talco, carbonato cálcico (p. ej., gránulos o polvo), fosfato cálcico dibásico, fosfato cálcico tribásico, sulfato cálcico (p. ej., gránulos, o polvo), celulosa microcristalina (p. ej., Avicel PH101 o Celphere CP-305), celulosa en polvo, dextratos, caolín, manitol, ácido silícico, sorbitol, almidón (p. ej., Starch 1500), almidón pregelatinizado, lactosa, glucosa, fructosa, galactosa, trehalosa, sacarosa, maltosa, isomalt, rafinosa, maltitol, melezitosa, estaquiosa, lactitol, palatinita, xilitol, mioinositol, y mezclas de los mismos.

45 Los ejemplos de cargas farmacéuticamente aceptables que se pueden usar en particular para el recubrimiento de péptidos incluyen, sin limitación, talco, celulosa microcristalina (p. ej., Avicel PH101 o Celphere CP-305), celulosa microfina, celulosa en polvo, dextratos, caolín, manitol, ácido silícico, sorbitol, almidón, almidón pregelatinizado, lactosa, glucosa, fructosa, galactosa, trehalosa, sacarosa, maltosa, isomalt, fosfato cálcico dibásico, rafinosa, maltitol, melezitosa, estaquiosa, lactitol, palatinita, xilitol, manitol, mioinositol, y mezclas de los mismos.

50 Como se usa en la presente memoria, el término "aditivos" se refiere a cualquier aditivo farmacéuticamente aceptable. Los aditivos farmacéuticamente aceptables incluyen, sin limitación, disgregantes, aditivos dispersantes, lubricantes, deslizantes, antioxidantes, aditivos de recubrimiento, diluyentes, tensioactivos, aditivos de sabor, humectantes, aditivos que promueven la absorción, aditivos de liberación controlada, aditivos antiapelmazantes, agentes antimicrobianos (p. ej., conservantes), colorantes, desecantes, plastificantes y tintes. Como se usa en la presente memoria, un "excipiente" es cualquier aditivo, carga, aglutinante o agente farmacéuticamente aceptable.

- Las composiciones de la presente invención también pueden incluir opcionalmente otros ingredientes terapéuticos, agentes antiapelmazantes, conservantes, agentes edulcorantes, colorantes, aromas, desecantes, plastificantes, tintes, deslizantes, antiadherentes, agentes antiestáticos, tensioactivos (agentes humectantes), antioxidantes, agente de recubrimiento-película, y similares. Cualquiera de dichos ingredientes opcionales 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, incluyendo, por ejemplo lactosa, glucosa, fructosa, galactosa, trehalosa, sacarosa, maltosa, rafinosa, maltitol, melezitosa, estaquiosa, lactitol, palatinita, almidón, xilitol, manitol, mioinositol, y similares, e hidratos de los mismos, y aminoácidos, por ejemplo, alanina, glicina y betaina, y péptidos y proteínas, por ejemplo, albumen.
- Las composiciones pueden incluir, por ejemplo, diferentes disolventes adicionales, dispersantes, recubrimientos, aditivos de promoción de la absorción, aditivos de liberación controlada, y uno o más aditivos inertes (que incluyen, por ejemplo, almidones, polioles, aditivos de granulación, celulosa microcristalina, diluyentes, lubricantes, aglutinantes, aditivos disgregantes, y similares) etc. Si se desea, las dosificaciones en comprimidos de las composiciones descritas se pueden recubrir por técnicas acuosas o no acuosas convencionales. Las composiciones también pueden incluir, por ejemplo, aditivos antiapelmazantes, conservantes, aditivos edulcorantes, colorantes, aromas, desecantes, plastificantes, tintes y similares.
- Los disgregantes adecuados incluyen, por ejemplo, agar-agar, carbonato cálcico, celulosa microcristalina, croscarmelosa sódica, crospovidona, povidona, polacrilina potásica, glicolato sódico de almidón, almidón de patata o tapioca, otros almidones, almidón pregelatinizado, arcillas, otras alginas, otras celulosa, gomas, y mezclas de los mismos.
- Los lubricantes adecuados incluyen, por ejemplo, estearato cálcico, estearato magnésico, aceite mineral, aceite mineral ligero, glicerina, sorbitol, manitol, polietilenglicol, otros glicoles, ácido esteárico, laurilsulfato sódico, talco, aceite vegetal hidrogenado (p. ej., aceite de cacahuete, aceite de semilla de algodón, aceite de girasol, aceite de oliva, aceite de maíz y aceite de soja), estearato de cinc, oleato de etilo, laurato de etilo, agar, gel de sílice Syloid (AEROSIL 200, W.R. Grace Co., Baltimore, MD EE.UU.), un aerosol coagulado de sílice sintética (Evonik Degussa Co., Plano, TX EE.UU.), un dióxido de silicio pirogénico (CAB-O-SIL, Cabot Co., Boston, MA EE.UU.), y mezclas de los mismos.
- Los agentes deslizantes incluyen, por ejemplo, leucina, dióxido de silicio coloidal, trisilicato magnésico, celulosa en polvo, almidón, talco y fosfato cálcico tribásico.
- Los aditivos antiapelmazantes adecuados incluyen, por ejemplo, silicato de calcio, silicato de magnesio, dióxido de silicio, dióxido de silicio coloidal, talco y mezclas de los mismos.
- Los aditivos antimicrobianos adecuados que se pueden usar, p. ej., como conservantes para las composiciones de péptidos, incluyen, por ejemplo, cloruro de benzalkonio, cloruro de benzetonio, ácido benzoico, alcohol bencílico, butilparabeno, cloruro de cetilpiridinio, cresol, clorobutanol, ácido deshidroacético, etilparabeno, metilparabeno, fenol, alcohol feniletílico, fenoxietanol, acetato fenilmercúrico, nitrato fenilmercúrico, sorbato potásico, propilparabeno, benzoato sódico, deshidroacetato sódico, propionato sódico, ácido sórbico, timersol, timol, y mezclas de los mismos.
- Los antioxidantes adecuados incluyen, por ejemplo, BHA (hidroxianisol butilado), BHT (hidroxitolueno butilado), vitamina E, galato de propilo, ácido ascórbico y sales o ésteres de los mismos, tocoferol y ésteres de los mismos, ácido alfa-lipoico y beta-caroteno.
- Los aditivos de recubrimiento adecuados incluyen, por ejemplo carboximetilcelulosa sódica, acetato-ftalato de celulosa, etilcelulosa, gelatina, esmalte farmacéutico, hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, ftalato de hidroxipropilmetilcelulosa, metilcelulosa, polietilenglicol, poli(acetato-ftalato de vinilo), laca, sacarosa, dióxido de titanio, cera de carnauba, cera microcristalina y mezclas de los mismos. Los recubrimientos protectores adecuados incluyen Aquacoat (p. ej. dispersión acuosa de etilcelulosa Aquacoat, 15% en p/p, FMC Biopolymer, ECD-30), Eudragit (p. ej., Eudragit E PO PE-EL, Roehm Pharma Polymers) y Opadry (p. ej., dispersión de Opadry AMB, 20% en p/p, Colorcon).
- En algunas realizaciones, los aditivos adecuados para la composición de péptidos incluyen uno o más de sacarosa, talco, estearato magnésico, crospovidona o BHA.
- Las composiciones de la presente invención también pueden incluir otros excipientes, agentes y categorías de los mismos, incluyendo, pero no limitado a L-histidina, Pluronic®, poloxámeros (tales como Lutrol® y Poloxámero 188), ácido ascórbico, glutatión, potenciadores de la permeabilidad (p. ej., lípidos, colato sódico, acilcarnitina, salicilatos, sales biliares mixtas, micelas de ácidos grasos, quelantes, ácido graso, tensioactivos, glicéridos de cadena media), inhibidores de proteasa (p. ej., inhibidor de tripsina de soja, ácidos orgánicos), agentes de disminución del pH y potenciadores de la absorción eficaces para promover la biodisponibilidad (incluyendo, pero no limitado a los descritos en los documentos US6086918 y US5912014), materiales para comprimidos masticables (como dextrosa, fructosa, lactosa monohidrato, lactosa y aspartamo, lactosa y celulosa, maltodextrina, maltosa, manitol, celulosa microcristalina y goma guar, sorbitol cristalino); agentes parenterales (como manitol y povidona); plastificantes (como

5 sebazato de dibutilo, plastificantes para recubrimientos, poli(acetato-ftalato 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 sódico de almidón, goma de xantano); edulcorantes (como aspartamo, aspartamo y lactosa, dextrosa, fructosa, miel, maltodextrina, maltosa, manitol, melazas, sorbitol cristalino, solución especial de sorbitol, sacarosa); agentes de granulación en húmedo (como carbonato de calcio, lactosa anhidra, monohidrato de lactosa, maltodextrina, manitol, celulosa microcristalina, povidona, almidón), caramelo, carboximetilcelulosa sódica, sabor crema de cereza y sabor cereza, ácido cítrico anhidro, ácido cítrico, azúcar de confitería, rojo DyC nº 33, laca aluminica amarillo DyC nº 10, edetato disódico, alcohol etílico al 15%, laca aluminica amarillo FDyC nº 6, laca aluminica azul FDyC nº 1, azul FDyC nº 1, laca aluminica azul FDyC nº 2, verde FDyC nº 3, rojo FDyC nº 40, laca aluminica amarillo FDyC nº 6, amarillo FDyC nº 6, amarillo FDyC nº 10, palmitoestearato de glicerol, monoestearato de glicerol, carmín de índigo, lecitina, manitol, metil y propilparabenos, glicirrizinato monoamónico, aroma de 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 sódica, éter carboximetílico sódico, cloruro sódico, citrato sódico, fosfato sódico, aroma de fresa, óxido de hierro negro sintético, óxido de hierro rojo sintético, dióxido de titanio y cera blanca.

20 En algunas realizaciones, se proporciona una composición farmacéutica que comprende un péptido descrito en la presente memoria y uno o más agentes seleccionados de Mg^{2+} , Ca^{2+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} , K^+ , Na^+ o Al^{3+} , una combinación de los mismos, y/o una amina primaria con impedimento estérico.

25 En realizaciones adicionales, el agente es Mg^{2+} , Ca^{2+} o Zn^{2+} o una combinación de los mismos. En algunas realizaciones, el catión se proporciona, sin limitación, como acetato magnésico, cloruro magnésico, fosfato magnésico, sulfato magnésico, acetato cálcico, cloruro cálcico, fosfato cálcico, sulfato cálcico, acetato de zinc, cloruro de zinc, fosfato de zinc, sulfato de zinc, acetato de manganeso, cloruro de manganeso, fosfato de manganeso, sulfato de manganeso, acetato potásico, cloruro potásico, fosfato potásico, sulfato potásico, acetato sódico, cloruro sódico, fosfato sódico, sulfato sódico, acetato de aluminio, cloruro de aluminio, fosfato de aluminio o sulfato de aluminio. En realizaciones adicionales, el catión se proporciona como cloruro magnésico, cloruro cálcico, fosfato cálcico, sulfato cálcico, acetato de zinc, cloruro de manganeso, cloruro potásico, cloruro sódico o cloruro de aluminio. En otras realizaciones, el catión se proporciona como cloruro de calcio, cloruro de magnesio o acetato de zinc.

En otra realización, el agente es una amina primaria con impedimento estérico.

En una realización adicional, la amina primaria con impedimento estérico es un aminoácido.

En una realización adicional más, el aminoácido es un aminoácido que se encuentra de forma natural.

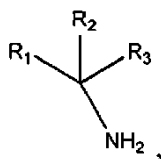
35 En una realización adicional todavía, el aminoácido que se encuentra de forma natural, se selecciona del grupo que consiste en: histidina, fenilalanina, alanina, ácido glutámico, ácido aspártico, glutamina, leucina, metionina, asparagina, tirosina, treonina, isoleucina, triptófano, glicina y valina; además todavía, el aminoácido que se encuentra de forma natural es leucina, isoleucina, alanina o metionina.

40 En una realización adicional más, el aminoácido que se encuentra de forma natural es leucina. En otra realización, la amina primaria con impedimento estérico es un aminoácido que no se encuentra de forma natural (p. ej., ácido 1-aminociclohexanocarboxílico, lantanina o teanina).

En una realización adicional, la amina primaria con impedimento estérico es la ciclohexilamina, 2-metilbutilamina o una amina polimérica (p. ej., chitosán).

En otra realización, se pueden usar una o más aminas primarias con impedimento estérico en una composición.

En algunos casos, la amina primaria con impedimento estérico tiene la fórmula:



45 en donde R₁, R₂ y R₃ se seleccionan independientemente de: H, C(O)OH, alquilo C1-C6, éter de alquilo C1-C6, tioéter de alquilo C1-C6, ácido (alquil C1-C6)-carboxílico, (alquil C1-C6)-carboxilamida y alquilarilo, en donde cualquier grupo puede estar sustituido una vez o múltiples veces con: halógeno o amino, y con la condición de que no más de dos de R₁, R₂ y R₃ son H.

50 En otra realización, no más de uno de R₁, R₂ y R₃ es H.

En otras realizaciones, se proporciona una composición farmacéutica que comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable, péptido, un catión seleccionado de Mg^{2+} , Ca^{2+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} , K^+ , Na^+ o Al^{3+} , o una mezcla de los mismos, y una amina primaria con impedimento estérico.

En una realización, el catión es Mg^{2+} , Ca^{2+} o Zn^{2+} o una mezcla de los mismos.

- 5 En una realización adicional, la composición farmacéutica comprende además un aglutinante farmacéuticamente aceptable y/o un deslizante, lubricante o aditivo farmacéuticamente aceptable que actúa tanto como deslizante como lubricante y/o un antioxidante.

En algunas realizaciones, la composición farmacéutica se aplica a un vehículo.

En algunas realizaciones, el vehículo es una carga.

- 10 En algunos casos, la relación molar de catión:amina primaria con impedimento estérico:péptido en la solución acuosa aplicada al vehículo es 5-100:5-50:1. En algunos casos, la relación molar del catión:amina primaria con impedimento estérico puede ser igual o mayor que 2:1 (p. ej., entre 5:1 y 2:1). Por lo tanto, en algunos casos, la relación molar de catión:amina primaria con impedimento estérico:péptido, aplicada al vehículo es 100:50:1, 100:30:1, 80:40:1, 80:30:1, 80:20:1, 60:30:1, 60:20:1, 50:30:1, 50:20:1, 40:20:1, 20:20:1, 10:10:1, 10:5:1 o 5:10:1.
- 15 Cuando un aglutinante, p. ej., metilcelulos, está presente en la solución de péptido agonista de la GC-C aplicada al vehículo, puede estar presente en 0,5% - 2,5% en peso (p. ej., 0,7%-1,7% o 0,7% - 1% o 1,5% o 0,7%).

En una realización adicional, la composición farmacéutica comprende además un aglutinante o aditivo farmacéuticamente aceptable y/o un deslizante, lubricante o aditivo farmacéuticamente aceptable que actúa tanto como deslizante como lubricante y/o un antioxidante.

- 20 Las composiciones farmacéuticas adecuadas de acuerdo con la invención, en general incluirán una cantidad del o de los compuestos activos con un diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable, tal como una solución acuosa estéril, para dar un intervalo de concentraciones finales, dependiendo del uso previsto. Las técnicas de preparación en general son bien conocidas en la técnica, como se ilustra en Remington's Pharmaceutical Sciences (18ª edición, Mack Publishing Company, 1995).
- 25 Las composiciones descritas en la presente memoria se pueden administrar por vía sistémica o local, p. ej.: vía oral (p. ej. usando cápsulas, polvos, soluciones, suspensiones, comprimidos, comprimidos sublinguales y similares), por inhalación (p. ej. con un aerosol, gas, inhalador, nebulizador o similares), en el oído (p. ej. usando gotas para el oído), vía tópica (p. ej. usando cremas, geles, linimentos, pomadas, pastas, parches transdérmicos, etc.), vía oftálmica (p. ej. con colirios, geles oftálmicos, pomadas oftálmicas), vía rectal (p. ej. usando enemas o supositorios),
- 30 nasal, bucal, vaginal (p. ej. usando duchas vaginales, dispositivos intrauterinos, supositorios vaginales, anillos o comprimidos vaginales, etc.), por un depósito implantado o similares, o por vía parenteral dependiendo de la gravedad y tipo de enfermedad que se esté tratando. El término "parenteral" como se usa en la presente memoria, incluye, pero no se limita a inyección subcutánea, intravenosa, intramuscular, intraarticular, intrasinoval, intraesternal, intratecal, intrahepática, intralesional e intracraneal o técnicas de infusión. Preferiblemente, las
- 35 composiciones se administran por vía oral, intraperitoneal o intravenosa.

- Para el tratamiento de trastornos gastrointestinales, los péptidos, descritos en la presente memoria se administran preferiblemente por vía oral, p. ej., como un comprimido, cápsula, sobres que contienen una cantidad predeterminada de microgránulos del principio activo, gel, pasta, jarabe, bolo, electuario, suspensión, polvo, polvo liofilizado, gránulos, en forma de una solución o suspensión en un líquido acuoso o un líquido no acuoso; como una
- 40 emulsión líquida de aceite en agua o una emulsión líquida de agua en aceite, por una formulación liposómica (véase, p. ej., el documento EP 736299) o en algunas otras formas. Administradas por vía oral, las composiciones pueden incluir aglutinantes, lubricantes, diluyentes inertes, agentes de lubricación, tensioactivos o dispersantes, agentes de sabor y humectantes. Las formulaciones administradas por vía oral tales como los comprimidos, se puede recubrir o ranurar opcionalmente y se pueden formular para así proporcionar liberación sostenida, retrasada o controlada del
- 45 principio activo en la misma.

Los péptidos se pueden coadministrar con otros agentes usados para tratar trastornos gastrointestinales que incluyen, pero no se limitan a los agentes descritos en la presente memoria.

- En otro aspecto, las composiciones farmacéuticas adecuadas pueden comprender uno o más agentes terapéuticos. Dichos agentes terapéuticos incluyen, sin limitación, agentes analgésicos; agentes antisecreción, incluyendo
- 50 inhibidores de la bomba de protones, antagonistas de la bomba de ácido, antagonistas del receptor H2; inhibidores de PDE5; antagonistas de GABA-B; secuestrantes de ácidos biliares; agentes procinéticos y promotilidad; antidepresivos; antibióticos; antieméticos; y agentes protectores de la mucosa.

Métodos de tratamiento

- 55 En diferentes realizaciones, los péptidos y composiciones descritos en la presente memoria, son útiles para el tratamiento de un trastorno gastrointestinal de un paciente.

En algunas realizaciones, el trastorno gastrointestinal se selecciona del grupo que consiste en el síndrome del intestino irritable (SII), estreñimiento, un trastorno gastrointestinal funcional, enfermedad de reflujo gastroesofágico, acidez estomacal funcional, dispepsia, dolor visceral, gastroparesia, pseudoobstrucción intestinal crónica, pseudoobstrucción colónica, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa y enfermedad intestinal inflamatoria.

- 5 En una realización adicional, el trastorno gastrointestinal es el estreñimiento. El estreñimiento puede ser estreñimiento crónico, estreñimiento idiopático, debido a íleo postoperatorio, o causado por el uso de opiáceos. Los criterios clínicamente aceptados que definen el estreñimiento incluyen la frecuencia de movimientos intestinales, la consistencia de las heces y la facilidad del movimiento intestinal. Una definición común de estreñimiento es menos de tres movimientos intestinales por semana. Otras definiciones incluyen heces anormalmente duras o defecación que requiere esfuerzo excesivo (Schiller 2001, *Aliment Pharmacol Ther* 15:749-763). El estreñimiento puede ser idiopático (estreñimiento funcional o estreñimiento de tránsito lento) o secundario de otras causas que incluyen trastornos neurológicos, metabólicos o endocrinos. Estos trastornos incluyen la diabetes mellitus, hipotiroidismo, hipertiroidismo, hipocalcemia, esclerosis múltiple, enfermedad de Parkinson, lesiones de la médula espinal, neurofibromatosis, neuropatía autonómica, enfermedad de Chagas, enfermedad de Hirschsprung y fibrosis quística.
- 10 El estreñimiento puede ser resultado también de cirugía (íleo postoperatorio) o debido al uso de fármacos tales como analgésicos (como opiáceos), antihipertensivos, anticonvulsivos, antidepressivos, antiespasmódicos y antipsicóticos.

En otras realizaciones, el trastorno gastrointestinal es el síndrome del intestino irritable (SII). El síndrome del intestino irritable puede ser síndrome del intestino irritable con estreñimiento predominante (SII-e), síndrome del intestino irritable con diarrea predominante (SII-d) o alternancia entre los dos síndromes de intestino irritable (SII-a).

- 20 En otras realizaciones, el trastorno gastrointestinal es la dispepsia.

En otras realizaciones, el trastorno gastrointestinal es la gastroparesia. La gastroparesia se puede seleccionar de gastroparesia idiopática, diabética o posquirúrgica.

En otras realizaciones más, el trastorno gastrointestinal es la pseudoobstrucción intestinal crónica.

En otras realizaciones, el trastorno gastrointestinal es la enfermedad de Crohn.

- 25 En algunas realizaciones, el trastorno gastrointestinal es la colitis ulcerosa.

En algunas realizaciones, el trastorno gastrointestinal es la enfermedad intestinal inflamatoria.

En otra realización, el trastorno gastrointestinal es el dolor visceral.

- 30 En una realización adicional, la presente invención presenta un método para disminuir el dolor gastrointestinal o dolor visceral en un paciente, comprendiendo el método, administrar al paciente una composición farmacéutica que comprende un péptido descrito en la presente memoria. Los agonistas peptídicos descritos en la presente memoria se pueden usar solos o en terapia de combinación, para el tratamiento, prevención o reducción del dolor visceral asociado con un trastorno gastrointestinal o dolor asociado con otro trastorno.

- 35 En otra realización, la invención presenta un método para tratar la inflamación, que incluye la inflamación del tracto gastrointestinal, p. ej., inflamación asociada con un trastorno o infección gastrointestinal o algún otro trastorno, comprendiendo el método administrar a un paciente una composición farmacéutica que comprende un péptido purificado descrito en la presente memoria.

En otra realización, la invención presenta un método para tratar un trastorno gastrointestinal que comprende administrar un agonista del receptor guanilato ciclasa (GC-C) intestinal sea por vía oral, por supositorio rectal o parenteral.

- 40 En otra realización más, la invención presenta un método para tratar un trastorno gastrointestinal que comprende administrar un agonista del receptor guanilato ciclasa (GC-C) intestinal.

En otra realización más, la invención presenta un método de aumento de la actividad del receptor guanilato ciclasa C (GC-C) en una muestra biológica, tejido (p. ej., la mucosa intestinal), o célula (p. ej., una célula que lleva el receptor GC-A), u organismo entero.

- 45 En otro aspecto, la invención presenta un método de aumento del nivel del 3'-monofosfato cíclico de guanosina (cGMP) en una muestra biológica, tejido (p. ej., la mucosa intestinal), o célula (p. ej., una célula que lleva el receptor GC-A), u organismo entero, poniendo en contacto la muestra, tejido u organismo con péptidos descritos en la presente memoria.

- 50 Los agonistas de receptores GC-C peptídicos descritos en la presente memoria se pueden administrar en combinación con otros agentes. Por ejemplo, los péptidos se pueden administrar con un péptido o compuesto analgésico. El péptido o compuesto analgésico se puede unir covalentemente a un péptido descrito en la presente memoria o puede ser un agente separado que se administra junto con o secuencialmente con un péptido descrito en la presente memoria, en una terapia de combinación. Los péptidos descritos en la presente memoria se pueden

administrar en combinación con otros agentes usados para tratar trastornos GI, que incluyen antidepresivos, agentes promotilidad o procinéticos, antieméticos, antibióticos, inhibidores de la bomba de protones, bloqueadores de ácidos (p. ej., antagonistas del receptor de histamina H2), antagonistas de la bomba de ácido, inhibidores de PDE5, agonistas de GABA-B, secuestrantes de ácidos biliares y agentes protectores de la mucosa.

5 En algunas realizaciones, los agentes analgésicos útiles que se pueden usar con los péptidos descritos en la presente memoria incluyen bloqueadores de canales de Ca (p. ej., ziconotida), antagonistas de receptores de 5HT (p. ej., antagonistas de receptores 5HT3, 5HT4 y 5HT1), agonistas de 5HT4 (p. ej., tegaserod [Zelnorm®], mosaprida, zacoprida, cisaprida, renzaprida, prucaloprida [Resolor®], derivados de bencimidazolona tales como BIMU 1 y BIMU 8, y lrexaprida), agonistas de 5HT1 (p. ej., sumatriptán y buspirona), agonistas de receptores de opiáceos (p. ej., loperamida, fedotozina, pentapéptido encefalina, morfina, difeniloxilato, frakefamida, trimebutina y fentanilo), agonistas del receptor de CCK (p. ej., loxiglumida y dexloxiglumida), antagonistas del receptor de NK1 (p. ej., aprepitant, vofopitant, ezlopitant, R-673 (Hoffmann-La Roche Ltd), SR-48968 y SR-14033, (Sanofi Synthelabo), CP-122,721 (Pfizer, Inc.), GW679769 (Glaxo Smith Kline) y TAK-637 (Takeda/Abbot)), antagonistas del receptor de NK2 (p. ej., nepadutant, saredutant, GW597599 (Glaxo Smith Kline), SR-144190 (Sanofi-Synthelabo) y UK-290795 (Pfizer Inc)), antagonistas del receptor de NK3 (p. ej., osanetant (SR-142801; Sanofi-Synthelabo), SR-241586 y talnetant), inhibidores de la recaptación de norepinefrina-serotonina (NSRI) (p. ej., milnacipran), antagonistas de receptores de dopamina selectivos y mixtos (p. ej.--metoclopramida, itoprida, domperidona), agonistas del receptor vainilloide y canabinoide, sialorfina y péptidos relacionados con la sialorfina. Se describen agentes analgésicos de las diferentes clases en la bibliografía.

20 En algunas realizaciones, se pueden usar uno o más de otros agentes terapéuticos en combinación con los péptidos descritos en la presente memoria. Dichos agentes incluyen antidepresivos, agentes promotilidad o procinéticos, antieméticos, antibióticos, inhibidores de la bomba de protones, bloqueadores de ácidos (p. ej., antagonistas del receptor de histamina H2), antagonistas de la bomba de ácido, inhibidores de PDE5, agonistas de GABA-B, secuestrantes de ácidos biliares y agentes protectores de la mucosa.

25 Los ejemplos de antidepresivos incluyen, sin limitación, antidepresivos tricíclicos tales como amitriptilina (Elavil®), desipramina (Norpramin®), imipramina (Tofranil®), amoxapina (Asendin®), nortriptilina; los inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (SSRI) tales como paroxetina (Paxil®), fluoxetina (Prozac®), sertralina (Zoloft®), y citralopram (Celexa®); y otros tales como doxepina (Sinequan®) y trazodona (Desyrel®).

30 Los ejemplos de agentes promotilidad y procinéticos incluyen, sin limitación, itoprida, octreotida, betanecol, metoclopramida (Reglan®), domperidona (Motilium®), eritromicina (y sus derivados) y cisaprida (Propulsid®). Un ejemplo de antieméticos incluye, sin limitación, proclorperazina.

35 Los ejemplos de antibióticos que se pueden usar incluyen los que se pueden usar para tratar infecciones por *Helicobacter pylori*, tales como amoxicilina, tetraciclina, metronidazol o claritromicina. Otros antibióticos tales como la eritromicina y sus derivados, también se pueden usar en combinación con los péptidos descritos en la presente memoria.

40 Los ejemplos de inhibidores de la bomba de protones incluyen, sin limitación, omeprazol (Prilosec®), esomeprazol (Nexium®), lansoprazol (Prevacid®), pantoprazol (Protonix®) y rabeprazol (Aciphex®). Los ejemplos de bloqueadores del receptor de H2 incluyen, sin limitación, cimetidina, ranitidina, famotidina y nizatidina. Los ejemplos de antagonistas de la bomba de ácido incluyen, sin limitación, revaprazan, CS-526 (*J. Pharmacol. Exp. Ther.* (2007) 323:308-317), PF-03716556 (*J. Pharmacol. Exp. Ther.* (2009) 328(2):671-9), y YH1885 (*Drug Metab. Dispos.* (2001) 29(1):54-9).

45 Los ejemplos de inhibidores de la PDE5 incluyen, sin limitación, avanafil, lodenafil, mirodenafil, citrato de sildenafil, tadalafil, vardenafil y udenafil. Los agonistas de GABA-B incluyen, sin limitación, baclofeno y XP19986 (nº de registro CAS 847353-30-4). Los ejemplos de secuestrantes de ácidos biliares incluyen, sin limitación, GT102-279, colestiramina, colesevelam, hidrocloreuro de colesevelam, ácido ursodesoxicólico, colestipol, colestilán, sevelamer, polidialilamina reticulada con epiclorhidrina, derivados de dialquilaminoalquilo de un dextrano reticulado, y N-(cicloalquil)alquilaminas. Los ejemplos de agentes protectores de la mucosa incluyen, sin limitación, sucralfato (Carafate), teprenona, polaprezinc, cetraxato y subsalicilato de bismuto.

50 La terapia de combinación se puede lograr administrando dos o más agentes, p. ej., un péptido descrito en la presente memoria y otro péptido o compuesto terapéutico, cada uno de los cuales se formula y administra por separado, o administrando dos o más agentes en una sola formulación. También están abarcadas otras combinaciones para la terapia de combinación. Por ejemplo, dos agentes se pueden formular juntos y administrar en conjunto con una formulación separada que contiene un tercer agente. Aunque los dos o más agentes en la terapia de combinación se pueden administrar simultáneamente, no es necesario hacerlo. Por ejemplo, la administración de un primer agente (o combinación de agentes) puede preceder a la administración de un segundo agente (o combinación de agentes) en minutos, horas, días o semanas. Por lo tanto, dos o más agentes se pueden administrar en el espacio de minutos uno de otro o en el espacio de 1, 2, 3, 6, 9, 12, 15, 18, o 24 horas uno de otro, o en el espacio de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 14 días uno de otro, o en el espacio de 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 semanas uno de otro. En algunos casos son posibles intervalos incluso mayores. Aunque en algunos casos es conveniente

que dos o más agentes usados en una terapia de combinación estén presentes en el cuerpo del paciente al mismo tiempo, no es necesario que esto sea así.

Dosis

5 El intervalo de dosis para seres humanos adultos puede ser en general de 5 µg a 100 mg/día por vía oral de los péptidos descritos en la presente memoria. Los comprimidos, cápsulas u otras formas de presentación proporcionadas en unidades discretas pueden contener convenientemente, una cantidad de compuesto descrito en la presente memoria que es eficaz en dicha dosis o como un múltiplo de la misma, por ejemplo, unidades que contienen de 25 µg a 2 mg o aproximadamente de 100 µg a 1 mg. La cantidad precisa de compuesto prescrito a un paciente será responsabilidad del médico que atiende. Sin embargo, la dosis usada dependerá de una serie de factores, que incluyen la edad y sexo del paciente, el trastorno preciso que se está tratando y su gravedad.

10 En otras realizaciones, la dosis es 50 µg, 67.5 µg, 100 µg, 133 µg, 145 µg, 150 µg, 200 µg, 266 µg, 290 µg, 300 µg, 400 µg, 500 µg o 600 µg al día, por vía oral.

15 En diferentes realizaciones, la unidad de dosificación se administra con alimento en cualquier momento del día, sin alimento en cualquier momento del día, con alimento después de ayunar durante la noche (p. ej., con el desayuno), a la hora de acostarse después de una comida ligera baja en grasas.

En una realización particular, la unidad de dosificación se administra antes o posteriormente al consumo de alimento (p. ej., una comida).

En una realización adicional, la unidad de dosificación se administra aproximadamente 15 minutos o 1 hora antes del consumo de alimento.

20 En diferentes realizaciones, la unidad de dosificación se administra una vez al día, dos veces al día, tres veces al día, cuatro veces al día, cinco veces al día o seis veces al día. En algunas realizaciones, la unidad de dosificación y la dosis diaria son equivalentes.

25 La cantidad precisa de cada uno de los dos o más principios activos en una unidad de dosificación dependerá de la dosis deseada de cada componente. Por lo tanto, puede ser útil crear una unidad de dosificación que cuando se administre de acuerdo con una pauta posológica particular (p. ej., una pauta posológica que especifica un determinado número de unidades y un tiempo particular para la administración), suministrará la misma dosis de cada componente que se administraría si el paciente fuera tratado solo con un componente único.

30 En otras circunstancias, puede ser conveniente crear una unidad de dosificación que suministrará una dosis de uno o más componentes que es menor que la que se administraría si el paciente se tratara solo con un componente único.

Finalmente, puede ser conveniente crear una unidad de dosificación que suministrará una dosis de uno o más componentes que es mayor que la que se administraría si el paciente se tratara solo con un componente único.

35 La composición farmacéutica puede incluir ingredientes adicionales que incluyen, pero no se limitan, a los excipientes descritos en la presente memoria. En algunas realizaciones, uno o más agentes terapéuticos de la unidad de dosificación pueden existir en una formulación de liberación prolongada o controlada y pueden no existir agentes terapéuticos adicionales en la formulación de liberación prolongada. Por ejemplo, un péptido o agonista descrito en la presente memoria puede existir en una formulación de liberación controlada o formulación de liberación prolongada en la misma unidad de dosificación con otro agente que puede estar o puede no estar en una formulación de liberación controlada o liberación prolongada. Por lo tanto, en algunas realizaciones, puede ser conveniente proporcionar la liberación inmediata de uno o más de los agentes descritos en la presente memoria, y la liberación controlada de uno o más de otros agentes.

EJEMPLOS

45 Los péptidos agonistas de la GC-C o sus sales farmacéuticamente aceptables, como se describe en la presente memoria, fueron preparados por síntesis química en fase sólida y plegado natural (oxidación al aire) por la American Peptide Company (Sunnyvale, CA). En algunos casos, los péptidos se modificaron después de la síntesis como se describe en la presente memoria. El péptido Cys¹-α-cetona se sintetizó, por ejemplo, por adición de 1,5 litros de metanol/dimetilformamida (9:1 v/v) y 28,8 g de 3,5-di-terc-butil-1,2-benzoquinona (10 equivalentes) a 20 g (13,1 mmol) de linaclotida y se agitó durante 1 hora a temperatura ambiente. La formación de la base de Schiff se siguió por HPLC. Una vez consumida toda la linaclotida se añadieron 17 litros de HCl 0,1 M y la mezcla de reacción se agitó durante 2 días. La mezcla de reacción se filtró, se extrajo dos veces con diclorometano, y la solución acuosa resultante se aplicó a una columna C-18 de HPLC de fase inversa a escala preparativa, para purificar el Cys¹-α-cetona. La columna de HPLC usada en la HPLC preparativa era una columna C₁₈ de 5,08 cm (2 pulgadas) de diámetro equilibrada con fase móvil A (ácido acético al 0,05% en agua). El material no unido se lavó con fase móvil A con un caudal de 100 ml/min y se eluyó el material relacionado con el péptido con un gradiente lineal de fase móvil

B (acetonitrilo) de 10% a 40% a lo largo de 60 minutos. Las fracciones que contenían Cys1-cetona se mezclaron seguido de eliminación del disolvente por liofilización.

Ejemplo 1: Acumulación de cGMP en células T84 para el análisis de la actividad de la GC-C

- 5 Células T84, una línea de células de carcinoma de colon humano, se obtuvieron de ATCC (P/N CCL-248) y se cultivaron en matraces T-150 hasta 60-70% de confluencia. Las monocapas se elevaron con tripsina y se usaron para sembrar placas de cultivo tisular de 96 pocillos (Costar, P/N 3596) a una densidad celular de $2,0 \times 10^5$ células/pocillo, que se desarrollaron durante la noche en un entorno de dióxido de carbono al 5% con mezcla nutriente de medio Eagle modificado por Dulbecco 2 mM (DMEM)/F-12 50/50 complementado con suero bovino fetal al 5% (FBS) y L-glutamina (Mediatech, P/Ns 10-092-CV, 35-0150CV, y 25-005-CI, respectivamente).
- 10 Después de incubación durante la noche, las placas de 96 pocillos se sembraron con $2,0 \times 10^5$ células/pocillo, se lavaron dos veces con 0,2 ml de DMEM (Mediatech, P/N 10-013-CV) sin complementos añadidos. Para inhibir cualquier actividad de fosfodiesterasa, las células se incubaron con 0,180 ml de 3-isobutil-1-metil-xantina 1 mM (IBMX; Sigma P/N I5879) en DMEM durante 10 min a 37°C. Se prepararon curvas patrón en el intervalo de 0,1 a 10.000 nM (concentración final) para cada artículo de ensayo usando un Hamilton Microlab Robot (Model STARlet).
- 15 En ensayo de actividad de la GC-C se llevó a cabo incubando 0,02 ml de cada referencia con 0,180 ml de IBMX 1 mM en DMEM en una placa de 96 pocillos durante 30 minutos a 37°C. Después de la incubación, se separaron los líquidos sobrenadantes y las células se lisaron con ácido clorhídrico (HCl) 0,1 M frío durante 30 min sobre hielo. Se transfirió un volumen de 175 µl/pocillo de cada lisato a nuevas placas de 96 pocillos (Waters, P/N 186002481) y se centrifugaron a $1.000 \times g$ durante 10 min para separar cualquier residuo celular. Los líquidos sobrenadantes resultantes se transfirieron en partes alícuotas de 90 µl a nuevas placas de 96 pocillos y se neutralizaron a pH 7 con 90 µl de acetato amónico 1 M. Los lisatos de células T84 centrifugados y neutralizados, se analizaron usando cromatografía de líquidos con detección por espectrometría de masas en tándem (LC/MS/MS). El método indicado en la tabla 1 se usó para cuantificar la concentración del 3',5'-monofosfato cíclico de guanosina (cGMP) en cada muestra de lisato celular. Se usó el GMP cíclico adquirido en Sigma (P/N G6129) para preparar una curva patrón en HCl 0,1 M. Cada referencia se neutralizó con un volumen igual de acetato amónico, dando como resultado una curva patrón de cGMP en el intervalo de 1 a 1.024 nM (concentración final).
- 25

- Las concentraciones de GMP cíclico se determinaron a partir de cada muestra usando las condiciones de LC/MS (tabla 1 a continuación) y la curva patrón calculada. Las áreas de los picos de los analitos se usaron para generar una curva de calibración lineal ponderada $1/x^2$, que se usó para extrapolar la concentración de cGMP en cada muestra. El valor de la mitad de la concentración máxima eficaz (CE_{50}) para cada artículo de ensayo se generó usando GraphPad Prism Versión 5.01 (programa GraphPad, San Diego, CA). Para determinar si las diferencias en los valores de CE_{50} eran estadísticamente significativas, la curva de actividad promedio de cada degradante de fármaco se comparó con un control de linaclotida usando F-test en el programa GraphPad. Para estas comparaciones, se determinó un p valor, con un valor $\leq 0,05$ indicando una diferencia significativa en la actividad de agonista de la GC-C.
- 30
- 35

Tabla 1: Parámetros de LC/MS para la cuantificación del cGMP en células T84

MS:	Thermo Quantum					
Modo iones:	Electropulverización, modo positivo (ESI ⁺)					
Tipo de barrido:	Seguimiento de reacciones múltiples (MRM)					
Compuesto: cGMP	Transición	Tiempo de lectura (ms)	Energía de colisión (V)	Tubo de lentes	Tiempo de retención (min)	LLOQ (nM)
	346>152	100	28	139	0,8	1
HPLC:	Waters Acquity UPLC					
Columna:	Hypersil Gold C18, 2,1 x 50 mm, 1,9 um					
Precolumna:	Hypersil Gold, 2,1 x 10 mm, 1,9 um					
Caudal:	400 µl/min					
Temperatura de la columna:	Temperatura ambiente					
Temperatura del muestreador automático:	6°C					
Volumen de inyección:	20 µl					
Fases móviles:	A = ácido fórmico al 0,1% en agua/acetonitrilo 98/2, B = ácido fórmico al 0,1% en agua/acetonitrilo 2/98					
Gradiente:	Tiempo (min)	%A		%B		
	0	100		0		
	0,5	60		40		
	1,1	60		40		
	1,75	5		95		
	2,5	5		9		
	2,6	100		0		

Ejemplo 2: Afinidad de unión relativa de péptidos de ejemplo al receptor GC-C de células T84

5 Se determinaron las afinidades de unión relativas de la linaclotida y Cys¹-α-cetona al receptor guanilato ciclasa C (GC-C) usando un ensayo de unión competitiva en el que los péptidos competían con un agonista de GC-C conocido, la enterotoxina termoestable de origen porcino (pSTa), por los sitios de unión en los receptores GC-C de superficie celular en células epiteliales colónicas humanas (T84). La pSTa, es decir, MM 416251, se radiomarcó con ¹²⁵I para permitir la medición de su unión al receptor. El ensayo de unión competitiva se llevó a cabo por adición de diferentes concentraciones de cada péptido (de 0,1 a 3.000 nM) a 0,20 ml de mezclas de reacción que contenían medio Eagle modificado por Dulbecco (DMEM), albúmina de suero bovino al 0,5% (BSA), 2,0 x 10⁵ células T84 y ¹²⁵I]-pSTa 170 pM (200.000 cpm). Después de incubación a 37°C durante 60 min, las mezclas de reacción se aplicaron a filtros de fibra de vidrio por filtración con vacío para aislar el material unido al receptor. La concentración del radioligando unido atrapado en el filtro se midió después por recuento de centelleo. Para cada péptido, se usó la reacción con la menor cantidad de competidor para determinar la unión específica máxima del radioligando. La unión no específica de [¹²⁵I]-pSTa se midió en las reacciones que contenían 3.000 nm de cada péptido. Los datos se usaron para construir curvas de unión a radioligando competitivas y determinar las afinidades de unión relativas de la linaclotida y Cys¹-α-cetona, medido por sus valores de CI₅₀ y K_i.

20 Tanto la linaclotida como el Cys¹-α-cetona inhibían de forma competitiva la unión específica de [¹²⁵I]-pSTa a los receptores GC-C de superficie celular en células T84. Sus afinidades de unión relativas, medidas por sus constantes de inhibición (K_i), eran las siguientes: Linaclotida K_i = 3,9 ± 1,6 nM y Cys¹-α-cetona K_i = 5,2 ± 0,9 nM (Figura 1).

Ejemplo 3: Respuesta de cGMP en células T84 inducida por péptidos de ejemplo

Se ensayó en la linaclotida y Cys¹- α -cetona la actividad agonista de la guanilato ciclasa-C (GC-C) en células T84 como sigue. En cada pocillo de una placa de 96 pocillos, se incubaron primero aproximadamente 200.000 células T84/pocillo con 3-isobutil-1-metil-xantina 1 mM (IBMX) en 0,18 ml de medio Eagle modificado por Dulbecco (DMEM) durante 10 minutos a 37°C. Cada péptido se diluyó a concentraciones finales en el intervalo de 0,1 a 10.000 nM, y se añadieron 0,02 ml de cada dilución por duplicado a una placa de 96 pocillos que contenía células T84, para un volumen final de 0,2 ml por pocillo. Las reacciones de los péptidos se incubaron durante 30 min a 37°C. Después de la incubación, se separaron los líquidos sobrenadantes y se descartaron y las células se lisaron con ácido clorhídrico (HCl) 0,1 M frío durante 30 min sobre hielo. Los residuos celulares se separaron por centrifugación y se determinó la concentración de 3',5'-monofosfato cíclico de guanosina (GMP cíclico) en cada lisato usando cromatografía líquida con espectrometría de masas en tándem. Los datos se usaron para construir curvas de dosis-respuesta y calcular la mitad de la concentración eficaz máxima (CE₅₀) para cada artículo de ensayo.

La linaclotida y Cys¹- α -cetona mostraron actividad agonista de la GC-C en células T84, medido por el aumento en el cGMP intracelular (Figura 2). Los valores de CE₅₀ para la linaclotida y Cys¹- α -cetona eran 315 \pm 105 nM y 352 \pm 55 nM, respectivamente. La comparación de la curva de dosis-respuesta de la linaclotida con la de la Cys¹- α -cetona usando el F-test indicaba que los valores de CE₅₀ no son estadísticamente significativos (p=0,8884).

Ejemplo 4: Medición del contenido y pureza de péptidos de ejemplo

Péptido Cys¹- α -cetona

El fármaco linaclotida (descrito en el documento US 2010/0048489, incorporado por referencia en la presente memoria) se sometió a estrés por incubación de 20 g de perlas de fármaco que contenían 1 mg de linaclotida pulverizada sobre perlas de 224 mg de Avicel durante 2 meses a 40°C con 75% de HR. El material relacionado con el péptido se extrajo de las perlas con 20 ml de HCl 0,1 N y agitación suave en una mezcladora vortical durante una hora a temperatura ambiente. La suspensión resultante se centrifugó a 1.000 x g durante 5 minutos para sedimentar las perlas y el líquido sobrenadante que contenía los péptidos extraídos se liofilizó. La muestra seca se reconstituyó en 2,5 ml de HCl 0,1 N y el Cys- α -cetona se aisló y purificó por HPLC preparativa usando el siguiente método: se usa una columna C18 A YMC Pro™ (dimensiones: 3,0 x 150 mm, 3,5 μ m, 120 Å; Waters Corp., Milford, MA) o equivalente y se mantiene a 40°C. La fase móvil A (FMA) consiste en agua/acetronitrilo 98:2 que contiene ácido trifluoroacético al 0,1%, mientras que la fase móvil B (FMB) consiste en agua/acetronitrilo 5:95 que contiene ácido trifluoroacético al 0,1%. La elución de los péptidos se realiza con un gradiente de 82% a 78% de FMA y de 18% a 22% de FMB en 12 minutos, seguido de una rampa a 50% de FMA y 50% FMB en 1 minuto, con un mantenimiento de 3 minutos con 50% de FMA y 50% de FMB, seguido de un lavado de 82% de FMA y 18% de FMB durante 7 minutos. El caudal es 0,6 ml/min y la detección se llevó a cabo por UV a 220 nm.

Las fracciones se recogieron manualmente, y las que contenían Cys¹- α -cetona se mezclaron y se liofilizaron hasta sequedad. El residuo seco se reconstituyó en 1,6 ml de agua para dar una concentración final de 0,5 mg/ml y se almacenó congelado a -20°C. Se ensayó una parte alícuota del Cys¹- α -cetona purificado por HPLC analítica con el método descrito a continuación, y se determinó que la pureza era 90,7%.

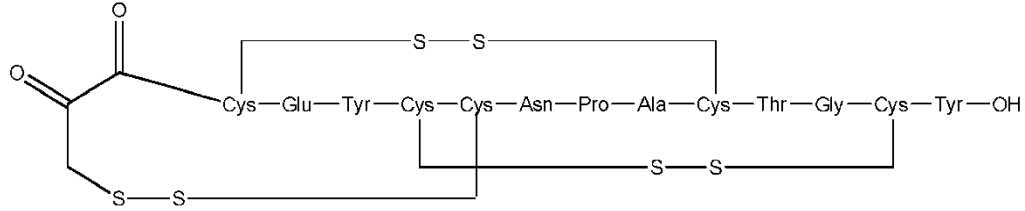
El contenido y pureza de los péptidos de la presente invención se pueden determinar por cromatografía líquida de fase inversa con gradiente usando un sistema Agilent Series 1100 LC con el programa Chemstation Rev A.09.03 o equivalente. Se usa una columna C18 A YMC Pro™ (dimensiones: 3,0 x 150 mm, 3,5 μ m, 120 Å; Waters Corp., Milford, MA) o equivalente y se mantiene a 40°C. La fase móvil A (FMA) consiste en agua con ácido trifluoroacético al 0,1% mientras que la fase móvil B (FMB) consiste en 95% de acetronitrilo:5% de agua con ácido trifluoroacético al 0,1%. La elución de los péptidos se lleva a cabo con un gradiente de 0% de FMB durante 4 minutos seguido de 10% de FMB durante 5 minutos, seguido de 23% de FMB durante 34 minutos, seguido de 34% de FMB durante 6 minutos, seguido de 80% de FMB durante 10 minutos. El reequilibrado de la columna se lleva a cabo volviendo a 0% de FMB en 1 minutos seguido de un mantenimiento de 7 minutos a 100% de FMA. El caudal es 0,6 ml/min y la detección se llevó a cabo por UV a 220 nm.

Un ejemplo de un análisis de la linaclotida y el producto Cys¹- α -cetona por RP-HPLC se muestra en la figura 3.

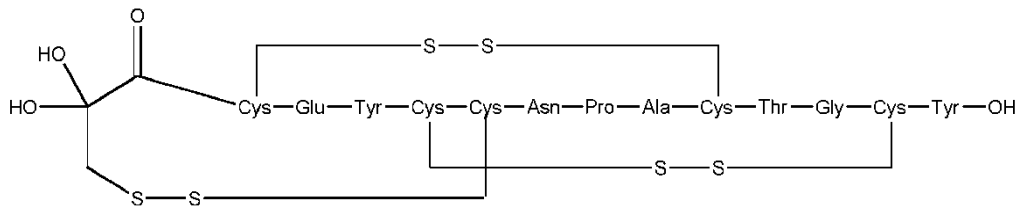
El contenido de los péptidos purificados se midió determinando la concentración de péptido en la muestra preparada frente a una referencia de péptido externa preparada de forma similar.

REIVINDICACIONES

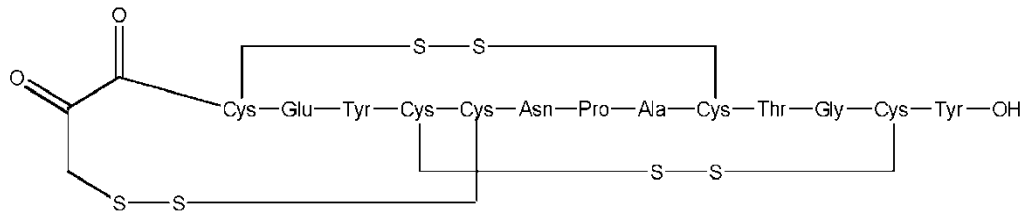
1. Un péptido o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en donde el péptido comprende la estructura de aminoácidos de:



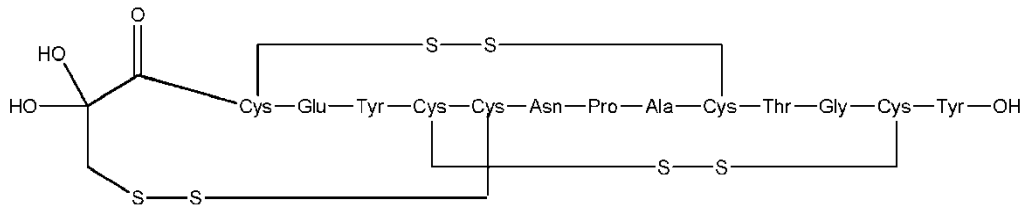
5 2. Un péptido o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en donde el péptido comprende la estructura de aminoácidos de:



3. El péptido o su sal farmacéuticamente aceptable según la reivindicación 1, en donde el péptido consiste en la estructura de aminoácidos de:



10 4. El péptido o su sal farmacéuticamente aceptable según la reivindicación 2, en donde el péptido consiste en la estructura de aminoácidos de:



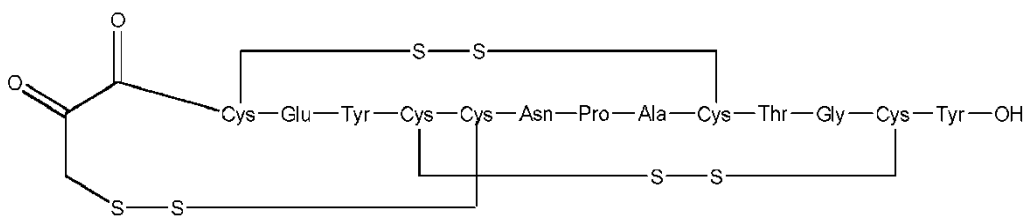
15 5. El péptido o su sal farmacéuticamente aceptable según la reivindicación 1 o reivindicación 2, en donde el péptido activa el receptor guanilato ciclasa C.

6. El péptido o su sal farmacéuticamente aceptable según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde dicho péptido o su sal farmacéuticamente aceptable se aísla o purifica.

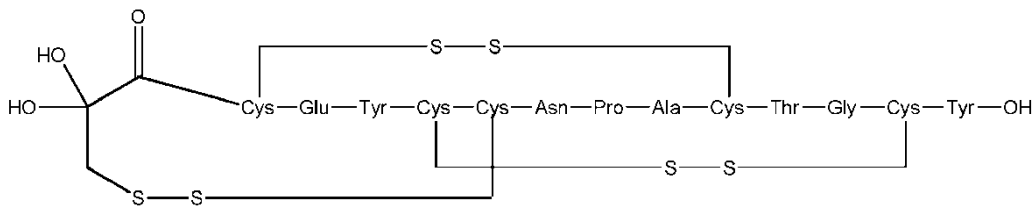
7. Una composición farmacéutica que comprende un péptido o su sal farmacéuticamente aceptable según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6.

20 8. La composición farmacéutica de la reivindicación 7, en donde la composición farmacéutica comprende dos o más péptidos seleccionados de:

i. un péptido o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en donde el péptido comprende la estructura de aminoácidos de:

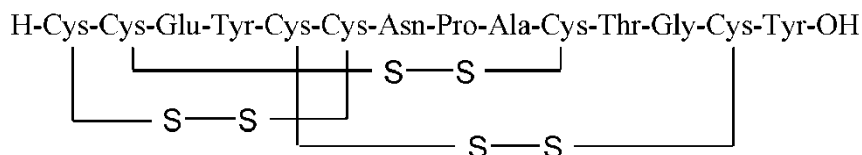


ii. un péptido o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en donde el péptido comprende una estructura de aminoácidos de:

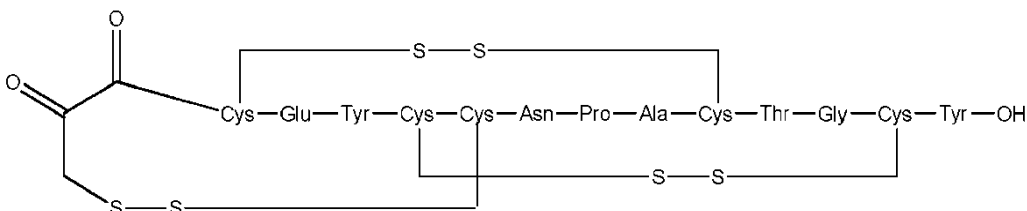


5 y

iii. un péptido o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en donde el péptido comprende la estructura de aminoácidos de:

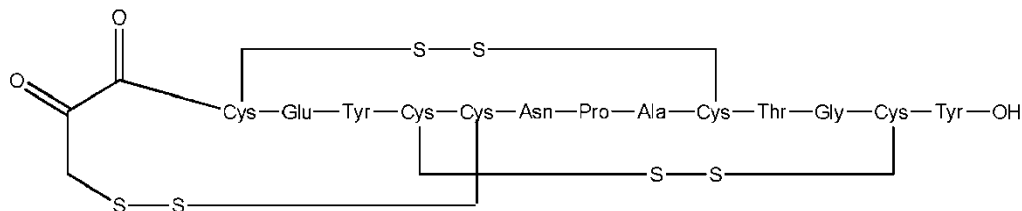


9. La composición farmacéutica de la reivindicación 7, en donde la composición farmacéutica comprende linaclotida, el péptido comprende una estructura de aminoácidos de:



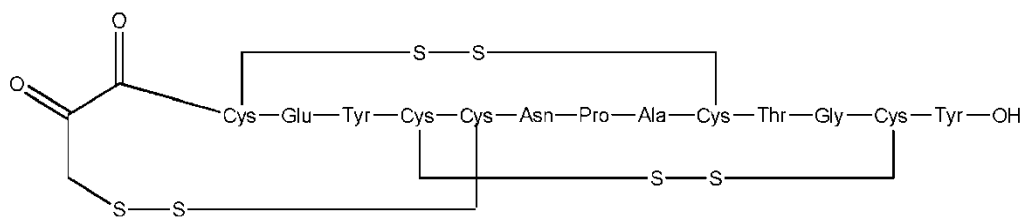
y el péptido o su sal farmacéuticamente aceptable comprende: (i) menos de 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, o 90% en peso comparado con el peso de linaclotida; o (ii) menos de 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, o 1% en peso comparado con el peso de linaclotida.

15 10. La composición farmacéutica de la reivindicación 7, en donde el péptido consiste en la estructura de aminoácidos de:



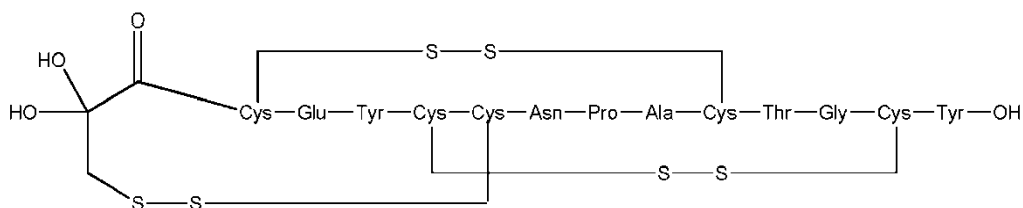
y el péptido comprende al menos 90% en peso comparado con el peso de linaclotida u otro agonista de la guanilato ciclasa C.

20 11. La composición farmacéutica de la reivindicación 7, en donde la composición farmacéutica consiste en el péptido o su sal farmacéuticamente aceptable, en donde el péptido comprende la estructura de aminoácidos de:



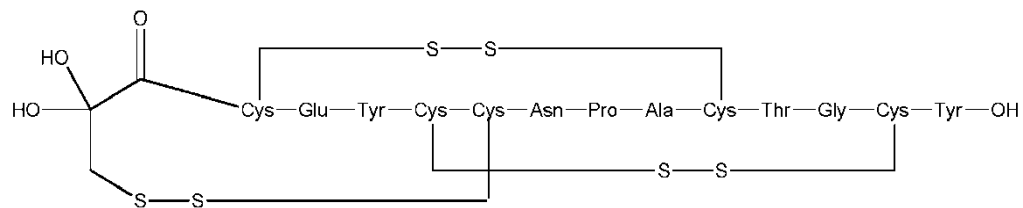
y el péptido comprende al menos 90% en peso comparado con el peso de linaclotida u otro agonista de la guanilato ciclasa C.

- 5 12. La composición farmacéutica de la reivindicación 7, en donde la composición farmacéutica comprende linaclotida, el péptido comprende una estructura de aminoácidos de:



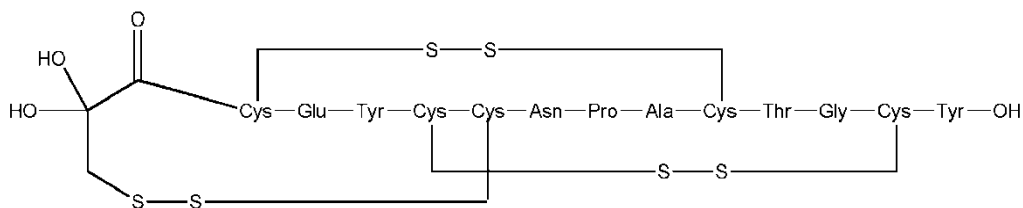
y el péptido o su sal farmacéuticamente aceptable comprende: (i) menos de 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, o 90% en peso comparado con el peso de linaclotida; o (ii) menos de 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, o 1% en peso comparado con el peso de linaclotida.

- 10 13. La composición farmacéutica de la reivindicación 7, en donde el péptido consiste en la estructura de aminoácidos de:



y el péptido comprende al menos 90% en peso comparado con el peso de linaclotida u otro agonista de la guanilato ciclasa C.

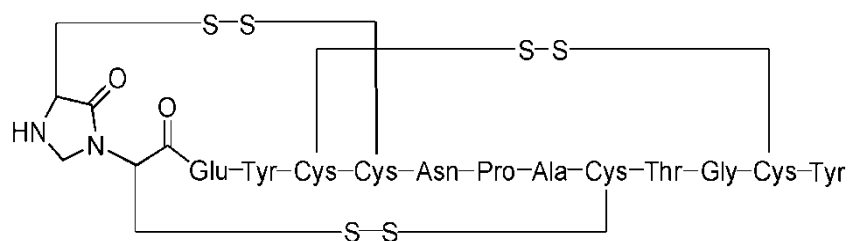
- 15 14. La composición farmacéutica de la reivindicación 7, en donde la composición farmacéutica consiste en el péptido o su sal farmacéuticamente aceptable, en donde el péptido comprende la estructura de aminoácidos de:



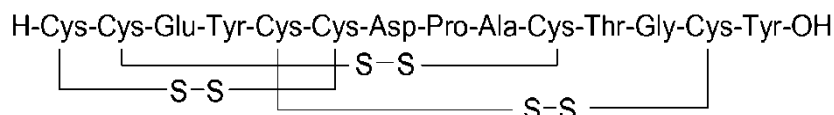
y el péptido comprende al menos 90% en peso comparado con el peso de linaclotida u otro agonista de la guanilato ciclasa C.

- 20 15. Una composición farmacéutica que comprende linaclotida, un péptido o su sal farmacéuticamente aceptable según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, y uno o más péptidos seleccionados de:

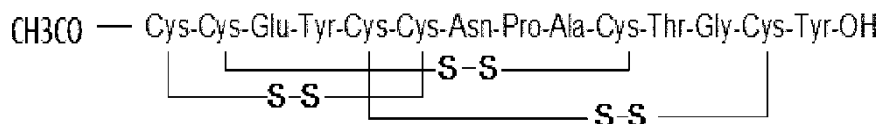
i. un péptido ("Cys¹-IMD") o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en donde el péptido comprende la estructura de aminoácidos de:



ii. un péptido de hidrólisis ("Asp⁷") o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en donde el péptido comprende la estructura de aminoácidos de:

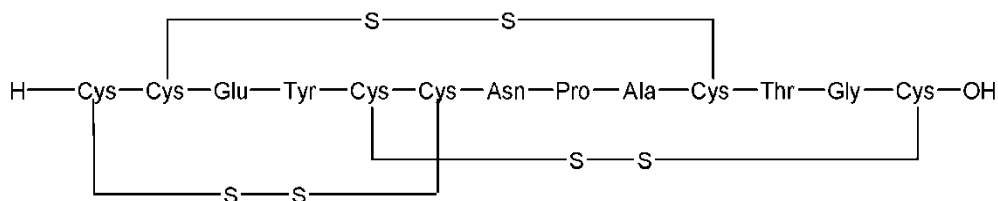


5 iii. un péptido de acetilación ("Cys¹-N-Aceto") o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en donde el péptido comprende la estructura de aminoácidos de:



10 iv. un péptido de trisulfuro de linaclotida o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en donde el péptido comprende la secuencia de aminoácidos de Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr en donde un átomo de azufre adicional se puede unir a uno cualquiera de los seis azufres de cisteinilos; y

v. un péptido ("Des-Tyr¹⁴") o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en donde el péptido comprende la estructura de aminoácidos de:



15 16. La composición farmacéutica según una cualquiera de las reivindicaciones 7 a 15, que además comprende uno o más agentes seleccionados de: (i) un catión seleccionado de Mg²⁺, Ca²⁺, Zn²⁺, Mn²⁺, K⁺, Na⁺ o Al³⁺; y (ii) una amina primaria con impedimento estérico.

20 17. La composición farmacéutica según la reivindicación 16, en donde dicho Mg²⁺, Ca²⁺, Zn²⁺, Mn²⁺, K⁺, Na⁺ o Al³⁺ se proporciona como acetato magnésico, cloruro magnésico, fosfato magnésico, sulfato magnésico, acetato cálcico, cloruro cálcico, fosfato cálcico, sulfato cálcico, acetato de zinc, cloruro de zinc, fosfato de zinc, sulfato de zinc, acetato de manganeso, cloruro de manganeso, fosfato de manganeso, sulfato de manganeso, acetato potásico, cloruro potásico, fosfato potásico, sulfato potásico, acetato sódico, cloruro sódico, fosfato sódico, sulfato sódico, acetato de aluminio, cloruro de aluminio, fosfato de aluminio o sulfato de aluminio.

25 18. La composición farmacéutica según la reivindicación 16, en donde dicho agente es una amina primaria con impedimento estérico.

19. La composición farmacéutica según la reivindicación 18, en donde la amina primaria con impedimento estérico es un aminoácido, en donde dicho aminoácido es opcionalmente un aminoácido que se encuentra de forma natural, un aminoácido que no se encuentra de forma natural, o un derivado de aminoácido.

30 20. La composición farmacéutica según la reivindicación 19, en donde el aminoácido que se encuentra de forma natural es histidina, fenilalanina, alanina, ácido glutámico, ácido aspártico, glutamina, leucina, metionina, asparagina, tirosina, treonina, isoleucina, triptófano o valina, o el aminoácido que no se encuentra de forma natural es ácido 1-aminociclohexanocarboxílico, lantanina o teanina.

21. La composición farmacéutica según la reivindicación 18, en donde dicha composición farmacéutica comprende además Mg²⁺, Ca²⁺, Zn²⁺, Mn²⁺, K⁺, Na⁺ o Al³⁺.

22. La composición farmacéutica según una cualquiera de las reivindicaciones 7 a 21, que además comprende un antioxidante, un aglutinante o aditivo farmacéuticamente aceptable, una carga farmacéuticamente aceptable, o un agente terapéutico adicional.
- 5 23. La composición farmacéutica según la reivindicación 22, en donde dicho antioxidante es BHA, vitamina E o galato de propilo.
24. La composición farmacéutica según la reivindicación 22, en donde el aglutinante o aditivo farmacéuticamente aceptable se selecciona de poli(alcohol vinílico), polivinilpirrolidona (povidona), un almidón, maltodextrina y un éter de celulosa.
- 10 25. La composición farmacéutica de la reivindicación 24, en donde el éter de celulosa se selecciona de: metilcelulosa, etilcelulosa, carboximetilcelulosa, hidroxietilcelulosa, hidroxietilmetilcelulosa, hidroxipropilcelulosa e hidroxipropilmetilcelulosa.
26. La composición farmacéutica según la reivindicación 22, en donde la carga farmacéuticamente aceptable es celulosa, isomalt, manitol o fosfato cálcico dibásico.
- 15 27. La composición farmacéutica de la reivindicación 26, en donde la celulosa se selecciona de celulosa microfina y celulosa microcristalina.
28. La composición farmacéutica según la reivindicación 22, en donde dicho agente terapéutico adicional se selecciona de uno o más de un agente analgésico, un antidepresivo, un agente promotilidad o procinético, un antiemético, un antibiótico, un inhibidor de la bomba de protones, un bloqueante de ácido, un inhibidor de PDE5, un antagonista de la bomba de ácido, un agonista de GABA-B, un secuestrante de ácidos biliares y un agente protector de la mucosa.
- 20 29. Una unidad de dosificación que comprende una composición farmacéutica según una cualquiera de las reivindicaciones 7 a 28.
30. La unidad de dosificación según la reivindicación 29, en donde dicha unidad de dosificación es una cápsula o comprimido.
- 25 31. La unidad de dosificación según la reivindicación 30, en donde dicha unidad de dosificación comprende de 5 µg a 1 mg de linaclotida, 290 µg de linaclotida o 145 µg de linaclotida.
32. Una composición farmacéutica según una cualquiera de las reivindicaciones 7 a 28 para usar en un método de tratamiento de un trastorno gastrointestinal.
- 30 33. La composición farmacéutica para usar de la reivindicación 32, en donde el trastorno gastrointestinal se selecciona del grupo que consiste en: síndrome del intestino irritable (SII), estreñimiento, un trastorno gastrointestinal funcional, enfermedad de reflujo gastroesofágico, acidez estomacal funcional, dispepsia, dolor visceral, gastroparesia, pseudoobstrucción intestinal crónica, pseudoobstrucción colónica, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa y enfermedad intestinal inflamatoria.
- 35 34. La composición farmacéutica para usar de la reivindicación 33, en donde el estreñimiento es estreñimiento crónico, estreñimiento idiopático, debido a íleo postoperatorio, o causado por uso de opiáceos.
35. La composición farmacéutica para usar de la reivindicación 33, en donde el síndrome del intestino irritable es un síndrome del intestino irritable con estreñimiento predominante (SII-e), síndrome del intestino irritable con diarrea predominante (SII-d) o alternancia entre los dos síndromes de intestino irritable (SII-a).
- 40 36. Una composición farmacéutica según una cualquiera de las reivindicaciones 7 a 28, para usar en un método de aumento de la motilidad intestinal en un paciente.

FIGURA 1/3

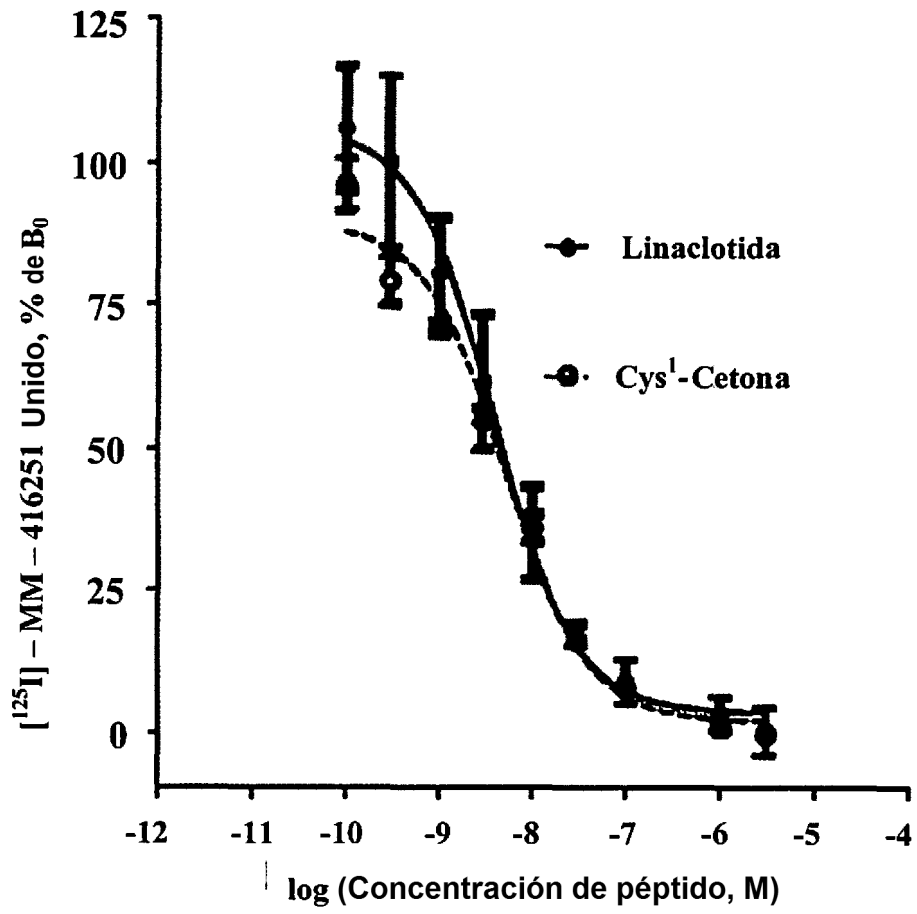


FIGURA 2/3

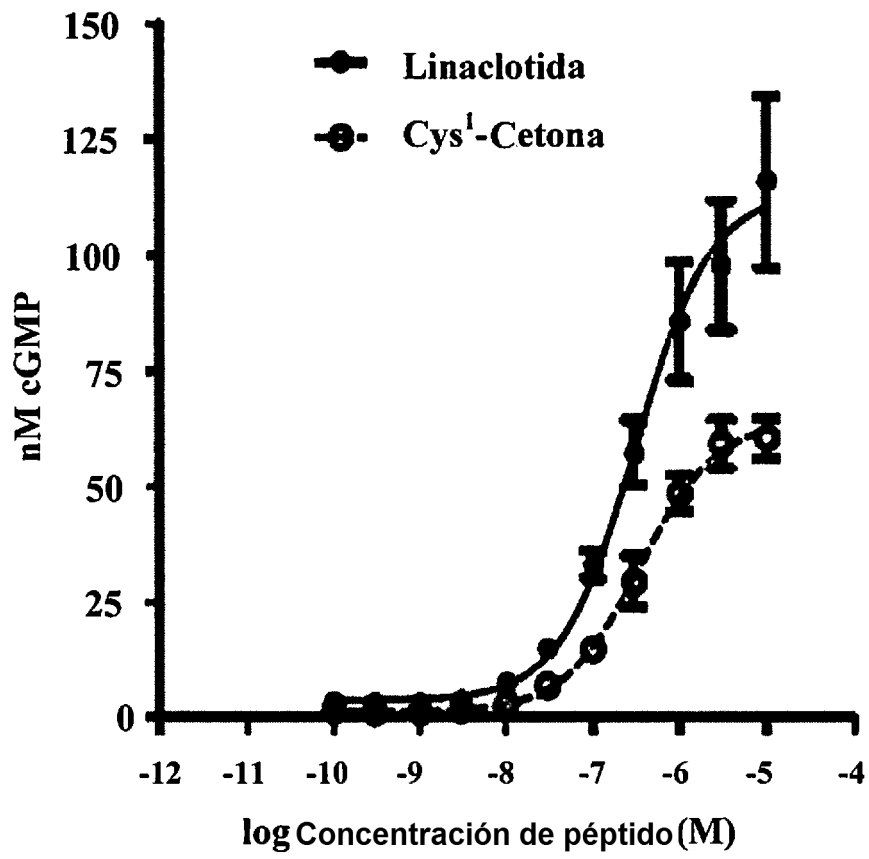


FIGURA 3/3

