

(19)



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS
ESPAÑA



(11) Número de publicación: **2 641 325**

(51) Int. Cl.:

C07K 14/585 (2006.01)
C07K 14/575 (2006.01)
A61K 38/22 (2006.01)
A61K 38/00 (2006.01)

(12)

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **25.01.2013 PCT/US2013/023260**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **01.08.2013 WO13112912**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **25.01.2013 E 13703494 (8)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **26.07.2017 EP 2807187**

(54) Título: **Antagonistas peptídicos de la familia calcitonina CGRP de hormonas peptídicas y su uso**

(30) Prioridad:

26.01.2012 US 201261591236 P

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

08.11.2017

(73) Titular/es:

**SOARES, CHRISTOPHER, J. (100.0%)
1330 Rhoda Drive
La Jolla, CA 92037, US**

(72) Inventor/es:

SOARES, CHRISTOPHER, J.

(74) Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 641 325 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

Antagonistas peptídicos de la familia calcitonina CGRP de hormonas peptídicas y su uso

5 Antecedentes de la invención

Campo de la invención

10 Las presentes realizaciones se refieren a antagonistas peptídicos de la familia calcitonina/péptido relacionado con el gel de calcitonina (CT/CGRP) de hormonas peptídicas y sus usos terapéuticos.

Descripción de la técnica relacionada

15 La familia peptídica CT/CGRP incluye péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP), adrenomedulina (ADM), intermedina (IM), calcitonina (CT) y amilina. Las acciones biológicas de estos péptidos están mediadas a través de la unión a dos receptores acoplados a proteína G de tipo II estrechamente relacionados, el receptor de la calcitonina (CTR) y el receptor similar al receptor de la calcitonina (CRLR) (Christopoulos, *et al.* 1999, Mol. Pharmacol. 56: 235-242; Poyner *et al.* 2002 Pharmacol. Rev. 54: 233-246). Aunque el receptor de la calcitonina es el principal mediador de la acción de la calcitonina, preferentemente se une a amilina, cuando el receptor se asocia con una proteína modificadora de la actividad del receptor (RAMP) (véase, por ejemplo, Tilikaratne, *et al.* 2000, J. Pharmacol. Exp. Ther. 294(1): 61-72). Los estudios de clonación y funcionales han mostrado que CGRP, ADM, IM y a un menor nivel, la amilina, interactúan del mismo modo con diferentes combinaciones de CRLR y con las tres proteínas modificadoras de la actividad del receptor (RAMP-1, RAMP-2 y RAMP-3); véase, por ejemplo, McLatchie *et al.* 1998, Nature 393: 333-339 y Roh *et al.* 2004, JBC 279(8): 7264-7274). De hecho, se requiere la expresión conjunta del receptor similar al receptor de calcitonina (CRLR) y de las proteínas modificadoras de la actividad del receptor (RAMP), para generar receptores funcionales para el péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP), adrenomedulina (ADM) e intermedina (IM). La formación de heterodímeros entre las RAMP y el CRLR es esencial para el adecuado direccionamiento en la superficie celular y características farmacológicas de receptores de CGRP, ADM e IM. La expresión conjunta de RAMP-1 con CRLR conduce a la formación de un receptor de CGRP, mientras que la expresión conjunta de RAMP-2 y RAMP-3 con CRLR forman receptores de ADM e IM respectivamente (Miret, *et al.* 2002, JBC 277(9): 6881-6887). Se ha mostrado que la IM es un agonista no selectivo de los tres correceptores RAMP/CRLR.

35 Las funciones fisiológicas de los péptidos hormonales en la familia CT/CGRP están determinadas por la especificidad de unión al receptor y perfiles de expresión tisular de ligandos individuales y sus receptores respectivos y se ha mostrado que están implicados en la morfogénesis cardiovascular, neurotransmisión sensorial, reacciones inflamatorias, comportamiento nociceptivo y homeostasis de la glucosa (véase, por ejemplo, Hay, *et al.* 2001, Trends Pharmacol. Sci. 22: 57-59; Shindo, *et al.* 2001, Circulation 104: 1964-1971; Zhang *et al.* 2001, Pain 89: 265-273; Salmon *et al.* (1999) Neuroreport 10: 849-854; Salmon, *et al.* 2001, Nat. Neurosci. 4: 357-358 y Mulder, *et al.* 2000, Am. J. Physiol. 278: E684-E691).

40 El CGRP (péptido relacionado con el gen de la calcitonina), un péptido bien estudiado en la familia CT/CGRP de hormonas peptídicas, es un neuropéptido sensorial con fuerte acción vasodilatadora y cardiotónica, como se describe en la patente de Estados Unidos n.º 4.530.838 de Evans, *et al.* CGRP está presente en el sistema nervioso tanto central como periférico y está concentrado en aquellas zonas del cuerpo que reciben información sensorial desde el asta posterior con cantidades ilimitadas asociadas a una información autónoma. En el cerebro, el péptido está presente en los núcleos de nervios craneales sensoriales y motores y en cuerpos celulares en el hipotálamo, área preóptica, tálamo ventromedial, hipocampo y similar (Poyner, D. 1992, Pharmac. Ther. 56: 23-51).

45 50 Se postula que, a nivel de receptor, los inhibidores contra CGRP son útiles en afecciones patofisiológicas en las que se ha producido una activación excesiva del receptor de CGRP. Algunas de estas incluyen vasodilatación neurogénica, inflamación neurogénica, migraña, cefalea en brotes y otras cefaleas, lesión térmica, choque circulatorio, sofocos menopáusicos y asma. La activación del receptor de CGRP se ha implicado particularmente en la patogénesis de la jaqueca (Edvinsson L. 2001, CNS Drugs 15(10): 745-53; Williamson, D. J. 2001 Microsc. Res. Tech. 53: 167-178.; Grant, A. D. 2002, Brit. J. Pharmacol. 135: 356-362). Las migrañas se advierten por la intensidad de la cefalea que se presenta con su patología. Se cree que la cefalea asociada a migrañas produce una intensa vasodilatación cerebral asociada a acontecimientos de migraña. Las fibras nerviosas que contienen CGRP inervan vasos cerebrales y durales donde se piensa que el CGRP prolonga la vasodilatación. (Moskowitz 1992, Trends Pharmacol. Sci. 13: 307-311). Además, los niveles en suero de CGRP están elevados durante la migraña (Goadsby, *et al.* 1990, Ann. Neurol. 28: 183-7) y el tratamiento con fármacos antimigraña retorna los niveles de CGRP a la normalidad lo que coincide con el alivio de la cefalea (Gallai, *et al.* 1995, Cephalgia 15: 384-90). Las personas con migraña muestran niveles de CGRP basales elevados en comparación con controles (Ashina, *et al.*, 2000, Pain 86(1-2):133-8). La infusión intravenosa de CGRP produce cefalea permanente en personas con migraña (Lassen, *et al.* 2002, Cephalgia 22(1): 54-61). Por tanto, los antagonistas de CGRP han sido el centro de reciente investigación como un método para bloquear a los receptores de CGRP cerebrovascular y por tanto bloquear la vasodilatación causante de la migraña.

Se conocen antagonistas tanto peptídicos como de molécula pequeña del receptor de CGRP. Estos incluyen, por ejemplo, olcegepant intravenoso (BIBN4096 BS) y telcagepant oral (MK-0974), producidos por Boehringer Ingelheim Pharmaceuticals y Merck & Co., Inc., respectivamente. Se ha visto que estos dos antagonistas de CGRP de molécula pequeña son inocuos, eficaces y bien tolerados en ensayos clínicos anteriores para el tratamiento agudo de migrañas. (Véase, por ejemplo, Tepper y Stillman, 2008, Headache 48(8): 1259-1268 y Durham y Vause 2010, CNS Drugs 24(7): 539-548). Sin embargo, recientemente, Merck y Co., Inc interrumpieron una investigación en Fase II sobre el uso del antagonista de CGRP de molécula pequeña, MK-3207, para prevenir migrañas, debido a la observación de anomalías en análisis hepáticos asintomáticos en algunos pacientes en un estudio farmacológico de Fase I ampliado ("Merck Updates Status of Clinical Development Programs for Investigational CGRP Receptor Antagonist Treatments for Acute Migraine; MK-3207 Clinical Development Discontinued." 10 de septiembre de 2009. Merck y Co., Inc. Web. 1 de junio de 2011).

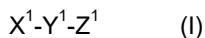
Otras moléculas que se sabe que compiten con el receptor de CGRP son péptidos que comprenden la secuencia de CGRP pero que carecen de al menos los siete primeros aminoácidos de la secuencia de aminoácidos de CGRP, por ejemplo, incluyendo, pero sin limitación, CGRP (8-37), CGRP (28-37), [Tyr⁹]CGRP (28-37) y CGRP (12-37). Otros antagonistas de CGRP incluyen h- α -CGRP (9-37), h- α -CGRP (10-37), h- α -CGRP (11-37) (Mimeault, M. et al., 1992, J. Med. Chem. 35: 2163-2168). Incluso otros antagonistas de CGRP incluyen [Ala⁹]-h- α -CGRP (8-37), [Ala¹⁰]-h- α -CGRP (8-37), [Ala¹¹]-h- α -CGRP (8-37) y [Ala¹²]-h- α -CGRP (8-37), id. Como antagonistas adicionales de CGRP se incluyen h- α -CGRP (19-37), h- α -CGRP (23-37) y acetil-h- α -CGRP (19-37) (Rovero, P. et al. 1992, Peptides 13: 1025-1027).

Aunque se ha visto que diversos antagonistas peptídicos del receptor de CGRP compiten de un modo eficaz con CGRP *in vitro*, estos antagonistas no han funcionado igualmente en modelos *in vivo* de patologías similares a la migraña.

25 Sumario de la invención

Sorprendentemente, se ha encontrado que determinados aminoácidos seleccionados en la parte N terminal del péptido relacionado con el gen de la calcitonina, como se desvela y describe en el presente documento, son responsables de la actividad agonista del péptido. Además, la sustitución de determinados aminoácidos en la parte N terminal del péptido relacionado con el gen de la calcitonina puede adaptar la actividad de un agonista a un antagonista. Más aún, se ha descubierto que sustituciones o modificaciones adicionales pueden proporcionar características deseables adicionales a los antagonistas de la presente invención.

35 Una realización proporciona un antagonista del péptido relacionado con el gen de la calcitonina modificado, teniendo dicho antagonista la estructura de Fórmula I:



40 en la que X¹ comprende X¹¹-X¹²-X¹³-X¹⁴-X¹⁵-X¹⁶-X¹⁷ (SEQ ID NO: 16),
 en la que X¹¹ se selecciona del grupo que consiste en alanina (Ala), cisteína (Cys) y glicina (Gly), y en la que
 X¹² se selecciona del grupo que consiste en cisteína (Cys), y serina (Ser), siempre que uno de X¹¹ y X¹² sea Cys;
 X¹³ se selecciona del grupo que consiste en arginina (Arg), asparagina (Asn), ácido aspártico (Asp) y valina (Val);
 X¹⁴ se selecciona del grupo que consiste en leucina (Leu), fenilalanina (Phe) y treonina (Thr);
 45 X¹⁵ se selecciona del grupo que consiste en alanina (Ala), glicina (Gly) y serina (Ser);
 X¹⁶ se selecciona del grupo que consiste en alanina (Ala), isoleucina (Ile), leucina (Leu) y serina (Ser);
 X¹⁷ es Cys;
 y en la que Y¹ es -Val-Leu-Gly-Arg-Leu-Ser-Gln-Glu-Leu-His-Arg-Leu-Gln-Thr-Tyr-Pro-Arg-Thr-Asn- (SEQ ID NO:
 34); y Z¹ es -Val-Gly-Ser-Lys-Ala-Phe-NH₂ (SEQ ID NO: 46).

50 Algunas realizaciones proporcionan una composición farmacéutica que comprende un excipiente farmacéuticamente aceptable y un antagonista del péptido relacionado con el gen de la calcitonina modificado, como se desvela y describe en el presente documento.

55 Algunas realizaciones facilitan un método de tratamiento de una afección asociada a niveles aberrantes de CGRP, que comprende la administración, a un individuo, de un antagonista del péptido relacionado con el gen de la calcitonina modificado, como se desvela y describe en el presente documento, comprendiendo el método la administración al individuo de una cantidad eficaz de un antagonista del péptido relacionado con el gen de la calcitonina modificado como se desvela y describe en el presente documento.

60 Algunas realizaciones proporcionan un antagonista del péptido relacionado con el gen de la calcitonina modificado que tiene la estructura seleccionada de las siguientes secuencias peptídicas, indicadas en la Tabla 1.

Tabla 1

NH ₂ -ACDTAACVLGRLSQELHRLQTYPRTNVGSKAF-NH ₂ ;	(SEQ ID NO: 1)-NH ₂
NH ₂ -ACDTASCVLGRLSQELHRLQTYPRTNVGSKAF-NH ₂ ;	(SEQ ID NO: 2)-NH ₂
NH ₂ -ACDTAVCVLGRSLSQELHRLQTYPRTNVGSKAF-NH ₂ ;	(SEQ ID NO: 3)-NH ₂
NH ₂ -ACNTAACVLGRSLSQELHRLQTYPRTNVGSKAF-NH ₂ ;	(SEQ ID NO: 4)-NH ₂
NH ₂ -ACVLGACVLGRSLSQELHRLQTYPRTNVGSKAF-NH ₂ ;	(SEQ ID NO: 5)-NH ₂
NH ₂ -ACRGFACVLGRSLSQELHRLQTYPRTNVGSKAF-NH ₂ ;	(SEQ ID NO: 6)-NH ₂
NH ₂ -ACNL SACVLGRSLSQELHRLQTYPRTNVGSKAF-NH ₂ ;	(SEQ ID NO: 7)-NH ₂
NH ₂ -CSNTAACVLGRSLSQELHRLQTYPRTNVGSKAF-NH ₂ ;	(SEQ ID NO: 8)-NH ₂
NH ₂ -ACDTALCVLGRSLSQELHRLQTYPRTNVGSKAF-NH ₂ ;	(SEQ ID NO: 9)-NH ₂
NH ₂ -ACDTAACVLGRSLSQELHRLQTYPRTNVGSKAF-NH ₂ ;	(SEQ ID NO: 10)-NH ₂
NH ₂ -ACNL SVCVLGRSLSQELHRLQTYPRTNVGSKAF-NH ₂ ;	(SEQ ID NO: 11)-NH ₂
NH ₂ -CSNTAVCVLGRSLSQELHRLQTYPRTNVGSKAF-NH ₂ ;	(SEQ ID NO: 12)-NH ₂
NH ₂ -ACNL SACVLGRSLSQELHRLQTYPTNTGSGTP-NH ₂ ;	(SEQ ID NO: 13)-NH ₂
NH ₂ -ACVLGACVLGRSLSQELHRLQTYPVDPSSPHSY-NH ₂ ; o	(SEQ ID NO: 14)-NH ₂
NH ₂ -ACDTAACVTHRLAGLLSRSGGVVKNNFVPTNVGSKAF-NH ₂	(SEQ ID NO: 15)-NH ₂

Algunas realizaciones facilitan un método para liberar un agente terapéutico a una célula. El agente terapéutico está unido a un antagonista del péptido relacionado con el gen de la calcitonina modificada como se desvela y describe en el presente documento que se une selectivamente a un miembro de la familia de receptores CGRP.

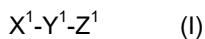
5 Algunas realizaciones proporcionan un conjugado que comprende un agente terapéutico unido a un antagonista del péptido relacionado con el gen de la calcitonina modificada como se desvela y describe en el presente documento

10 que se une selectivamente a un miembro de la familia de receptores de CGRP. Algunas realizaciones proporcionan un método de identificación de un ligando de unión al receptor de CGRP proporcionando un antagonista del péptido relacionado con el gen de la calcitonina modificada unido a un receptor de CGRP, proporcionando un compuesto de ensayo o una biblioteca de compuestos de ensayo, e identificando compuestos que son capaces de disociar el antagonista del péptido relacionado con el gen de la calcitonina del receptor de CGRP. Dichos compuestos identificados por este método pueden analizarse también contra otros receptores de CGRP y agentes de unión a receptores de CGRP para identificar ligandos de unión a receptores de CGRP selectivos.

15

Descripción detallada de la realización preferida

Una realización proporciona un antagonista del péptido relacionado con el gen de la calcitonina modificada, teniendo 20 dicho antagonista la estructura de Fórmula I:



en la que X¹ comprende X¹¹-X¹²-X¹³-X¹⁴-X¹⁵-X¹⁶-X¹⁷ (SEQ ID NO: 16),

25 en la que X¹¹ se selecciona del grupo que consiste en alanina (Ala), cisteína (Cys) y glicina (Gly), y en la que X¹² se selecciona del grupo que consiste en cisteína (Cys), y serina (Ser), siempre que uno de X¹¹ y X¹² sea Cys; X¹³ se selecciona del grupo que consiste en arginina (Arg), asparagina (Asn), ácido aspártico (Asp) y valina (Val); X¹⁴ se selecciona del grupo que consiste en leucina (Leu), fenilalanina (Phe) y treonina (Thr); X¹⁵ se selecciona del grupo que consiste en alanina (Ala), glicina (Gly) y serina (Ser); X¹⁶ se selecciona del grupo que consiste en alanina (Ala), isoleucina (Ile), leucina (Leu) y serina (Ser); X¹⁷ es Cys; y en la que Y¹ es -Val-Leu-Gly-Arg-Leu-Ser-Gln-Glu-Leu-His-Arg-Leu-Gln-Thr-Tyr-Pro-Arg-Thr-Asn- (SEQ ID NO: 34); y Z¹ es -Val-Gly-Ser-Lys-Ala-Phe-NH₂ (SEQ ID NO: 46).

35 El péptido completo puede liberarse solo o como una sal del mismo farmacéuticamente aceptable.

En algunas realizaciones del antagonista del péptido relacionado con el gen de la calcitonina modificada que tiene la estructura de Fórmula I, X¹¹-X¹²-X¹³-X¹⁴-X¹⁵-X¹⁶-X¹⁷ se selecciona del grupo que consiste en NH₂-Ala-Cys-Asp-Thr-Ala-Ala-Cys (SEQ ID NO: 17), NH₂-Ala-Cys-Asp-Thr-Ala-Ser-Cys (SEQ ID NO: 18), NH₂-Ala-Cys-Asp-Thr-Ala-Val-Cys (SEQ ID NO: 19), NH₂-Ala-Cys-Asn-Thr-Ala-Ala-Cys (SEQ ID NO: 20), NH₂-Ala-Cys-Val-Leu-Gly-Ala-Cys (SEQ ID NO: 21), NH₂-Ala-Cys-Arg-Phe-Gly-Ala-Cys (SEQ ID NO: 22), NH₂-Ala-Cys-Asp-Leu-Ala-Cys (SEQ ID NO: 23), NH₂-Ala-Cys-Asn-Leu-Ser-Ala-Cys (SEQ ID NO: 24), NH₂-Cys-Ser-Asn-Thr-Ala-Ala-Cys (SEQ ID NO: 25), NH₂-Ala-Cys-Asp-Thr-Ala-Leu-Cys (SEQ ID NO: 26), NH₂-Ala-Cys-Asp-Thr-Ala-Ile-Cys (SEQ ID NO: 27), NH₂-Ala-Cys-Asp-Leu-Ser-Val-Cys (SEQ ID NO: 30), NH₂-Ala-Cys-Asn-Leu-Ser-Val-Cys (SEQ ID NO: 32) y NH₂-Cys-Ser-Asn-Thr-Ala-Val-Cys (SEQ ID NO: 33).

45 En algunas realizaciones, uno o más restos están fusionados en el N terminal con X¹¹, generando de este modo un polipéptido con una extensión N terminal de restos con respecto a X¹. En algunas realizaciones esta extensión afecta a la estabilidad del antagonista después de su administración.

50

En algunas realizaciones, el antagonista tiene una estructura seleccionada de la lista de estructuras que consiste en NH₂-Ala-Cys-Asp-Thr-Ala-Ala-Cys-Val-Leu-Gly-Arg-Leu-Ser-Gln-Glu-Leu-His-Arg-Leu-Gln-Thr-Tyr-Pro-Arg-Thr-Asn-Val-Gly-Ser-Lys-Ala-Phe-NH₂ (SEQ ID NO: 1), NH₂-Ala-Cys-Asp-Thr-Ala-Ser-Cys-Val-Leu-Gly-Arg-Leu-Ser-Gln-Glu-Leu-His-Arg-Leu-Gln-Thr-Tyr-Pro-Arg-Thr-Asn-Val-Gly-Ser-Lys-Ala-Phe-NH₂ (SEQ ID NO: 2), NH₂-Ala-Cys-Asp-Thr-Ala-Val-Cys-Val-Leu-Gly-Arg-Leu-Ser-Gln-Glu-Leu-His-Arg-Leu-Gln-Thr-Tyr-Pro-Arg-Thr-Asn-Val-Gly-Ser-Lys-Ala-Phe-NH₂ (SEQ ID NO: 3), NH₂-Ala-Cys-Asn-Thr-Ala-Ala-Cys-Val-Leu-Gly-Arg-Leu-Ser-Gln-Glu-Leu-His-Arg-Leu-Gln-Thr-Tyr-Pro-Arg-Thr-Asn-Val-Gly-Ser-Lys-Ala-Phe-NH₂ (SEQ ID NO: 4), NH₂-Ala-Cys-Val-Leu-Gly-Ala-Cys-Val-Leu-Gly-Arg-Leu-Ser-Gln-Glu-Leu-His-Arg-Leu-Gln-Thr-Tyr-Pro-Arg-Thr-Asn-Val-Gly-Ser-Lys-Ala-Phe-NH₂ (SEQ ID NO: 5), NH₂-Ala-Cys-Arg-Phe-Gly-Ala-Cys-Val-Leu-Gly-Arg-Leu-Ser-Gln-Glu-Leu-His-Arg-Leu-Gln-Thr-Tyr-Pro-Arg-Thr-Asn-Val-Gly-Ser-Lys-Ala-Phe-NH₂ (SEQ ID NO: 6), NH₂-Ala-Cys-Asn-Leu-Ser-Ala-Cys-Val-Leu-Gly-Arg-Leu-Ser-Gln-Glu-Leu-His-Arg-Leu-Gln-Thr-Tyr-Pro-Arg-Thr-Asn-Val-Gly-Ser-Lys-Ala-Phe-NH₂ (SEQ ID NO: 7), NH₂-Cys-Ser-Asn-Thr-Ala-Ala-Cys-Val-Leu-Gly-Arg-Leu-Ser-Gln-Glu-Leu-His-Arg-Leu-Gln-Thr-Tyr-Pro-Arg-Thr-Asn-Val-Gly-Ser-Lys-Ala-Phe-NH₂ (SEQ ID NO: 8), NH₂-Ala-Cys-Asp-Thr-Ala-Leu-Cys-Val-Leu-Gly-Arg-Leu-Ser-Gln-Glu-Leu-His-Arg-Leu-Gln-Thr-Tyr-Pro-Arg-Thr-Asn-Val-Gly-Ser-Lys-Ala-Phe-NH₂ (SEQ ID NO: 9), NH₂-Ala-Cys-Asp-Thr-Ala-Ile-Cys-Val-Leu-Gly-Arg-Leu-Ser-Gln-Glu-Leu-His-Arg-Leu-Gln-Thr-Tyr-Pro-Arg-Thr-Asn-Val-Gly-Ser-Lys-Ala-Phe-NH₂ (SEQ ID NO: 10), NH₂-Ala-Cys-Asn-Leu-Ser-Val-Cys-Val-Leu-Gly-Arg-Leu-Ser-Gln-Glu-Leu-His-Arg-Leu-Gln-Thr-Tyr-Pro-Arg-Thr-Asn-Val-Gly-Ser-Lys-Ala-Phe-NH₂ (SEQ ID NO: 11), NH₂-Cys-Ser-Asn-Thr-Ala-Val-Cys-Val-Leu-Gly-Arg-Leu-Ser-Gln-Glu-Leu-His-Arg-Leu-Gln-Thr-Tyr-Pro-Arg-Thr-Asn-Val-Gly-Ser-Lys-Ala-Phe-NH₂ (SEQ ID NO: 12) o una sal de las mismas farmacéuticamente aceptable. El presente antagonista puede ser un solo compuesto de la lista anterior.

Algunas realizaciones proporcionan una composición farmacéutica que comprende un excipiente farmacéuticamente aceptable y el presente antagonista del péptido relacionado con el gen de la calcitonina modificada como se desvela y describe en el presente documento.

Algunas realizaciones facilitan un método de tratamiento de una cefalea en el individuo, comprendiendo el método administrar al individuo una cantidad eficaz del presente antagonista del péptido relacionado con el gen de la calcitonina modificada como se desvela y describe en el presente documento. En algunas realizaciones, el método puede comprender adicionalmente la identificación de un sujeto que padece cefalea. En algunas realizaciones, la cefalea es una migraña.

Algunas realizaciones facilitan un método de tratamiento de una afección asociada con niveles aberrantes de CGRP, que comprende la administración, a un individuo, del presente antagonista del péptido relacionado con el gen de la calcitonina modificada, como se desvela y describe en el presente documento, comprendiendo el método administrar al individuo una cantidad eficaz de un antagonista del péptido relacionado con el gen de la calcitonina modificada como se desvela y describe en el presente documento. En algunas realizaciones, la afección es una migraña.

Algunas realizaciones proporcionan un conjugado que comprende un agente terapéutico unido al presente antagonista del péptido relacionado con el gen de la calcitonina modificada como se desvela y describe en el presente documento, que se une selectivamente a un miembro de la familia de receptores de CGRP. En algunas realizaciones, el agente terapéutico puede ser un agente de obtención de imágenes.

Algunas realizaciones proporcionan un método de identificación de un ligando de unión al receptor de CGRP proporcionando el presente antagonista del péptido relacionado con el gen de la calcitonina modificada unido a un receptor de CGRP, proporcionando un compuesto de ensayo o una biblioteca de compuestos de ensayo, e identificando compuestos que sean capaces de disociar el antagonista del péptido relacionado con el gen de la calcitonina modificada, del receptor de CGRP. Dichos compuestos identificados por este método pueden analizarse adicionalmente contra otros receptores de CGRP y agentes de unión a receptores de CGRP para identificar ligandos de unión a receptores de CGRP selectivos.

En algunas realizaciones del presente documento se describe un antagonista de CGRP modificado que conserva la secuencia de un agonista que incluye X¹, la región N terminal que se une al receptor de CGRP en la membrana celular, y en su extremo C terminal, que inicia y estabiliza la hélice a través de un enlace disulfuro Y¹, el motivo estructural en hélice; y Z¹, la región de unión C terminal, pero que difiere mediante tan solo en un resto de la secuencia agonista. En una realización preferida, la hélice procedente de calcitonina de salmón es parte de la estructura que se utiliza para aumentar la eficacia del presente antagonista.

Definiciones

Las siguientes definiciones se exponen para ilustrar y definir el significado y alcance de los diversos términos utilizados para describir las realizaciones.

Como se usa en el presente documento, "modificado" se refiere a un polipéptido que conserva la estructura global de un péptido relacionado pero que se diferencia en al menos un resto con la del péptido relacionado. Como se usa en el presente documento un "extremo C modificado" es un extremo C de un polipéptido que tiene una estructura

química distinta de la de un grupo carboxilo de un péptido convencional, siendo un ejemplo de dicho extremo C modificado una carboxamida C terminal.

Como se usa en el presente documento, "agonista" se refiere a un ligando biológicamente activo que se une a su receptor complementario biológicamente activo y activa al último causando una respuesta biológica en el receptor o potenciando la actividad biológica preexistente del receptor.

Como se usa en el presente documento, "antagonista" se refiere a un ligando biológicamente activo que se une a su receptor complementario biológico activo e inhibe la respuesta fisiológica del receptor.

Como se usa en el presente documento, "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a las sales no tóxicas de metales alcalinos, metales alcalinotérreos y de amonio, habitualmente utilizadas en la industria farmacéutica, incluyendo las sales de sodio, potasio, litio, calcio, magnesio, bario, amonio y protamina cinc, que se preparan por métodos bien conocidos en la materia. La expresión también incluye sales de adición de ácidos no tóxicos, que generalmente se preparan haciendo reaccionar los antagonistas del péptido relacionado con el gen de la calcitonina modificada desvelado en el presente documento con un ácido orgánico o inorgánico adecuado. Como sales representativas se incluyen el clorhidrato, bromhidrato, sulfato, bisulfato, acetato, oxalato, valerato, oleato, laurato, borato, benzoato, lactato, fosfato, tosilato, citrato, maleato, fumarato, succinato, tartrato, napsilato y similares. Por tanto, la expresión se refiere a aquellas sales que conservan la eficacia y propiedades biológicas de las bases libres y que no son biológicamente, o de otra manera, indeseables, formadas con ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico y similares, y ácidos orgánicos tales como ácido acético, ácido propiónico, ácido glicólico, ácido pirúvico, ácido oxálico, ácido málico, ácido malónico, ácido succínico, ácido maleico, ácido fumárico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido benzoico, ácido cinámico, ácido mandélico, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido p-toluenosulfónico, ácido salicílico y similares. Para una descripción de sales farmacéuticamente aceptables como profármacos, véase Bundgaard, H. ed., 1985 Design of Prodrugs, Elsevier Science Publishers, Amsterdam.

Como se usa en el presente documento, "éster farmacéuticamente aceptable" se refiere a aquellos ésteres que después de la hidrólisis del enlace éster, conservan la eficacia y las propiedades biológicas del ácido o alcohol carboxílico y que no son biológicamente, o de otra manera, indeseables. Para una descripción de ésteres farmacéuticamente aceptables como profármacos, véase Bundgaard, H. ed. 1985 Design of Prodrugs, Elsevier Science Publishers, Amsterdam. Estos ésteres se forman típicamente a partir del correspondiente ácido carboxílico y un alcohol. Generalmente, la formación de éster puede realizarse mediante técnicas sintéticas convencionales.

Véase, por ejemplo, marzo, 1992 Advanced Organic Chemistry, 4^a Ed., John Wiley & Sons, Nueva York, págs. 393-396 y referencias citadas en su interior y Mark, *et al.* 1980 Encyclopedia of Chemical Technology, John Wiley & Sons, Nueva York. El componente alcohol del éster generalmente comprenderá (i) un alcohol alifático C₂-C₁₂ que puede contener o no, uno o más enlaces dobles y puede contener o no, carbonos ramificados o (ii) un alcohol aromático o heteroaromático C₇-C₁₂.

Como se usa en el presente documento, "amida C terminal" se refiere a un grupo amida que reemplaza al grupo hidroxilo C terminal normalmente presente en el extremo carboxilo de un polipéptido, de tal manera que el polipéptido finaliza con un grupo carboxamida (es decir, C(=O)-NH₂) en lugar de con un carboxilo C terminal (es decir C(=O)-OH). Para una descripción de amidas farmacéuticamente aceptables como profármacos, véase Bundgaard, H. ed. 1985 Design of Prodrugs Elsevier Science Publishers, Amsterdam. Estas amidas se forman típicamente a partir del ácido carboxílico correspondiente y una amina. Generalmente, la formación de amida puede realizarse mediante técnicas sintéticas convencionales. Véase, por ejemplo, marzo 1992 Advanced Organic Chemistry, 4^a Ed., John Wiley & Sons, Nueva York, pág. 393 y Mark, *et al.* 1980 Encyclopedia of Chemical Technology, John Wiley & Sons, Nueva York.

Como se usa en el presente documento, "transportador farmacéuticamente aceptable" se refiere a un medio transportador que no interfiere con la eficacia de la actividad biológica de los principios activos y que no es tóxico para el hospedador o para el paciente.

Como se usa en el presente documento, "estereoisómero" se refiere a una entidad que tiene el mismo peso molecular, la misma composición química y secuencia de enlace que otra, pero que tiene sus átomos agrupados de manera diferente en el espacio sobre uno o más centros quirales. Es decir, estereoisómeros de la misma fórmula química contendrán grupos químicos idénticos localizados en diferentes orientaciones espaciales aproximadamente al menos un centro quiral. Cuando son puros, los estereoisómeros tienen la capacidad de girar en la luz polarizada plana. Sin embargo, algunos estereoisómeros puros, pueden tener una rotación óptica que sea tan ligera que no sea detectable con instrumentación actual. Los antagonistas del péptido relacionado con el gen de la calcitonina modificada, como se desvela en el presente documento, pueden tener uno o más átomos de carbono asimétricos y por lo tanto incluir varios estereoisómeros. Todos los estereoisómeros se incluyen en el ámbito de las realizaciones.

Como se usa en el presente documento, "cantidad terapéutica o farmacéuticamente eficaz" como se aplica a las composiciones que se desvelan en el presente documento, se refiere a la cantidad de composición suficiente para

inducir un resultado biológico deseado. Este resultado puede ser alivio de los signos, síntomas, o causas de una enfermedad, o cualquier otra alteración deseada de un sistema biológico.

Como se usa en el presente documento, las expresiones "resto peptídico" y "estructura peptídica" pretenden incluir péptidos que comprenden L-aminoácidos de origen natural y los D-aminoácidos correspondientes, así como derivados peptídicos, análogos peptídicos y peptidomiméticos de las estructuras de L-aminoácidos de origen natural. En la técnica se conocen estrategias para diseñar análogos peptídicos, derivados peptídicos y peptidomiméticos.

Véase, por ejemplo, Laguero K. D. *et al.*, publicación de patente PCT n.º WO 2006/105527 A2; Farmer, P.S. en: Drug Design E. J. Ariens, ed. Academic Press, Nueva York, 1980, vol. 10, pp. 119-143; Ball J. B. y Alewood, P. F. 1990 *J. Mol. Recognition* 3: 55; Morgan, B. A. y Gainor, J. A. 1989 *Ann. Rep. Med. Chem.* 24: 243 y Freidinger, R. M. 1989 *Trends Pharmacol. Sci.* 10: 270; Luthman, *et al.* 1996 *A Textbook of Drug Design and Development*, 14: 386-406, 2nd Ed., Harwood Academic Publishers; Joachim Grante, Angew. 1994 *Chem. Int. Ed. Engl.* 33: 1699-1720; Fauchere, J. 1986 *Adv. Drug Res.* 15: 29; Veber y Freidinger 1985 *TINS* p. 392; Evans, *et al.* 1987 *J. Med. Chem.* 30: 229. Los peptidomiméticos, que son estructuralmente similares a péptidos terapéuticamente útiles, pueden utilizarse para producir un efecto terapéutico o profiláctico equivalente o mejorado, mediante métodos conocidos en la técnica y descritos adicionalmente en las siguientes referencias: Spatola, A. F. 1983 en: *Chemistry and Biochemistry of Amino Acids, Peptides, and Proteins*, B. Weinstein, eds., Marcel Dekker, Nueva York, p. 267; Spatola, A. F. 1983 *Vega Data*, Vol. 1, Issue 3, Peptide Backbone Modifications (revisión general); Morley, 1980 *Trends. Pharm. Sci.* pp. 463-468, (revisión general); Hudson, *et al.* 1979 *Int. J. Pept. Prot. Res.* 14: 177-185 (-CH₂NH-, CH₂CH₂-); Spatola, *et al.* 1986 *Life Sci.* 38: 1243-1249 (-CH₂-S); Hann, 1982 *J. Chem. Soc. Parkin. Trans. I* 307-314 (-CH-CH-, cis and trans); Almquist, *et al.* 1980 *J. Med. Chem.* 23: 1392-1398, (-COCH₂-); Jennings-White, *et al.* 1982 *Tetrahedron Lett.* 23: 2533 (-COCH₂); Szelke, *et al.* 1982, solicitud europea EP 45665 (-CH(OH)CH₂-); Holladay, *et al.* 1983 *Tetrahedron Lett.* 24: 4401-4404 (-C(OH)CH₂-) y Hruby, 1982 *Life Sci.* 31: 189-199 (-CH₂-S-).

Taylor C. K. *et al.*: "Pharmacological characterization of novel alpha-calcitonin gene-related peptide (CGRP) receptor antagonists that are selective for human CGRP receptors", *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics, US, vol. 319, no. 2, 1 de noviembre de 2006, páginas 749-757, XP009084228, ISSN: 0022-3565, DOI: 1124/JPET.108316, describen antagonistas del péptido CGRP(8-37) truncado que tiene una modificación en el extremo N dando como resultado una afinidad aumentada por el receptor de CGRP humano y un aumento de la inhibición.

Como se usa en el presente documento, la expresión "estructura de aminoácido" (tal como una "estructura de leucina", una "estructura de fenilalanina" o una "estructura de glutamina") pretende incluir el aminoácido, así como análogos, derivados y miméticos del aminoácido que conservan la actividad funcional del compuesto. Por ejemplo, la expresión "estructura de fenilalanina" pretende incluir fenilalanina así como piridilalanina y homofenilalanina. La expresión "estructura de leucina" pretende incluir leucina, así como una sustitución con valina, isoleucina u otro aminoácido natural o no natural que tiene una cadena lateral alifática, tal como norleucina.

Como se usa en el presente documento, "marcador detectable" o "agente formador de imágenes" se refiere a materiales, que cuando se unen de manera covalente a un compuesto, permiten la detección del compuesto, incluyendo, pero sin limitación, la detección *in vivo* en un paciente al cual se le va a administrar un antagonista del péptido relacionado con el gen de la calcitonina modificada. En la materia se conocen bien marcadores detectables adecuados e incluyen, como ejemplo, radioisótopos, marcadores fluorescentes (por ejemplo, fluoresceína) y similares. El marcador detectable particular empleado no es crítico y se selecciona en relación con la cantidad de marcador a emplear así como con la toxicidad del marcador a la cantidad de marcador empleado. La selección del marcador en relación con dichos factores es bien conocida por el experto en la técnica.

La unión covalente del marcador detectable con el péptido o peptidomimético se realiza mediante métodos convencionales bien conocidos en la técnica. Por ejemplo, cuando se emplea el radioisótopo ¹²⁵I como marcador detectable, la unión covalente de ¹²⁵I con el péptido o el peptidomimético puede realizarse incorporando el aminoácido tirosina en el péptido o peptidomimético y después yodando el péptido (véase, por ejemplo, Weaner, *et al.* 1994 *Synthesis and Applications of Isotopically Labelled Compounds*, págs. 137-140). Si la tirosina no está presente en el péptido o peptidomimético, la incorporación de tirosina en el extremo N o C del péptido o peptidomimético puede realizarse mediante química bien conocida. Del mismo modo, ³²P puede incorporarse sobre el péptido o peptidomimético como un grupo fosfato a través de, por ejemplo, un grupo hidroxilo en el péptido o peptidomimético utilizando química convencional.

Como se usa en el presente documento, la expresión "agente terapéutico" significa un agente capaz de tener un efecto terapéutico deseado para una indicación de enfermedad específica, incluyendo, pero sin limitación, una migraña o un agente reductor del dolor.

Como se usa en el presente documento, la expresión "hélice α" significa un componente estructural que forma una estructura de proteína α-helicoidal o cualquier otro análogo estructural que dé como resultado un posicionamiento similar de los dominios X¹ y Z¹ en un receptor.

Preparación de péptidos y peptidomiméticos

1. Síntesis en fase sólida

- 5 Los antagonistas del péptido relacionado con el gen de la calcitonina modificado descritos en el presente documento pueden prepararse por métodos clásicos conocidos en la materia, por ejemplo, utilizando técnicas en fase sólida convencionales. Véase, por ejemplo, Merrifield, 1963 J. Am. Chem. Soc. 85: 2149.
- 10 Estos procedimientos de síntesis de péptidos en fase sólida son muy conocidos en la materia y se describen adicionalmente en J. M. Stewart y J. D. Young, 1984 Solid Phase Peptide Syntheses 2nd Ed., Pierce Chemical Company.

15 Tabla 2: Abreviaturas de una letra de los aminoácidos canónicos. Entre paréntesis se indican las abreviaturas de tres letras.

TABLA 2

Alanina (Ala)	A
Glutamina (Gln)	Q
Leucina (Leu)	L
Serina (Ser)	S
Arginina (Arg)	R
Ácido glutámico (Glu)	E
Lisina (Lys)	K
Treonina (Thr)	T
Asparagina (Asn)	N
Glicina (Gly)	G
Metionina (Met)	M
Triptófano (Trp)	W
Ácido aspártico (Asp)	D
Histidina (His)	H
Fenilalanina (Phe)	F
Tirosina (Tyr)	Y
Cisteína (Cys)	C
Isoleucina (Ile)	I
Prolina (Pro)	P
Valina (Val)	V

20 La nomenclatura y simbolismo de los aminoácidos y péptidos por la UPAC-IUB Joint Commission on Biochemical Nomenclature (JCBN) se han publicado en los siguientes documentos: Biochem. J., 1984, 219, 345-373; Eur. J. Biochem., 1984, 138, 9-5 37; 1985, 152, I; 1993, 213, 2; Internat. J. Pept. Prot. Res., 1984, 24, following p 84; J. Biol. Chem., 1985, 260, 14-42; Pure Appl. Chem., 1984, 56, 595-624; Amino Acids and Peptides, 1985, 16, 387-410; Biochemical Nomenclature and Related Documents, 2^a edición, Portland Press, 1992, págs. 39-69.

25 En algunas realizaciones, la secuencia de aminoácidos del presente antagonista del péptido relacionado con el gen de la calcitonina modificado puede modificarse, con respecto a la secuencia de las SEQ ID NO: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 o 15 de tal manera que la modificación reduce la susceptibilidad del presente antagonista del péptido relacionado con el gen de la calcitonina modificado a la proteólisis enzimática. En algunas realizaciones esta modificación puede comprender la adición N terminal de una secuencia que comprende todo o parte del polipéptido XTENS de 864 restos, un polipéptido que se ha mostrado que aumenta a estabilidad de la proteína después de la administración a un sujeto. Véase, por ejemplo, Schellenberger, *et al.*, 2009, Nature Biotechnology 27(12): 1186-1192.

30 En algunas realizaciones, el presente antagonista del péptido relacionado con el gen de la calcitonina modificado puede incluir uno o más restos de D-aminoácidos. En algunas realizaciones, la secuencia de aminoácidos del presente antagonista del péptido relacionado con el gen de la calcitonina modificado puede modificarse, con respecto a la secuencia de las SEQ ID NO: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 o 15 de tal manera que la modificación incluye el reemplazo de uno o más restos de L-aminoácidos con restos de D-aminoácidos correspondientes.

35 En algunas realizaciones, la secuencia de aminoácidos del antagonista del péptido relacionado con el gen de la calcitonina modificado puede modificarse, con respecto a la secuencia de las SEQ ID NO: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 o 15 de tal manera que la modificación incluye la sustitución con un aminoácido conservativo.

40 Los restos de origen natural pueden dividirse en clases basándose en propiedades comunes de la cadena lateral:

hidrófobos: norleucina (Nor), Met, Ala, Val, Leu, Ile;
 hidrófilos neutros: Cys, Ser, Thr, Asn, Gln;
 ácidos: Asp, Glu;
 básicos: His, Lys, Arg;
 5 restos que influyen en la orientación de la cadena: Gly, Pro; y
 aromáticos: Trp, Tyr, Phe.

Las sustituciones conservativas de aminoácidos pueden implicar el intercambio de un miembro de una clase con otro miembro de la misma clase. Las sustituciones conservativas de aminoácidos pueden incluir restos de 10 aminoácidos de origen no natural, que se incorporan típicamente mediante síntesis peptídica química en lugar de mediante síntesis en sistemas biológicos. Estos incluyen peptidomiméticos y otras formas invertidas o inversas de aminoácidos.

En algunas realizaciones, las sustituciones conservativas pueden incluir la sustitución de un resto de aminoácido no 15 polar (hidrófobo), tal como isoleucina, valina, leucina, norleucina, alanina o metionina por otro, la sustitución de un resto de aminoácido polar (hidrófilo) por otro, tal como entre arginina y lisina, entre glutamina y asparagina, entre treonina y serina, la sustitución de un resto aminoácido básico, tal como lisina, arginina o histidina por otro, o la sustitución de un resto ácido, tal como ácido aspártico o ácido glutámico, por otro. La frase "sustitución conservativa 20 de aminoácidos" también incluye el uso de un resto químicamente derivatizado en lugar de un resto no derivatizado, siempre que dicho polipéptido presente el requisito de actividad antagonista.

La Tabla 3 proporciona ejemplo de sustituciones de restos de aminoácidos que pueden ser útiles de acuerdo con las presentes realizaciones.

TABLA 3

Restos originales	Sustituciones
Ala	Val, Leu, He, Aib
Arg	Lys, Gln, Asn, homoarginina
Asn	Gln
Asp	Glu
Cys	Ser, Ala
Gln	Asn
Glu	Asp
Gly	Pro, Ala
His	Asn, Gln, Lys, Arg
Ile	Leu, Val, Met, Ala, Phe, Norleucina
Leu	Norleucina, Ile, Val, Met, Ala, Phe
Lys	Arg, Ácido 1,4-diamino-butírico, Gln, Asn, ornitina
Met	Leu, Phe, Ile
Phe	Leu, Val, Ile, Ala, Tyr
Pro	Ala
Ser	Thr, Ala, Cys
Thr	Ser, Val, He
Trp	Tyr, Phe
Tyr	Trp, Phe, Thr, Ser
Val	He, Met, Leu, Phe, Ala, Norleucina

25 En algunas realizaciones, un grupo básico de un aminoácido como se desvela en el presente documento, tal como la guanidina de Arg, puede reemplazarse por un bioisóstero de base.

"Hidroxiprolina" se refiere a cualquiera y a todos los parientes de hidroxilación conocidos de prolina bien como un 30 aminoácido libre o incorporado en el polipéptido. Este incluye (2S,4R)-4-hidroxiprolina, así como restos de prolina que difieren con diferentes esteroquímicas o carbonos hidroxilados.

Un grupo "O-carboxilo" se refiere a un grupo "RC(=O)O⁻" en el que R puede ser hidrógeno, alquilo, alquenilo, 35 alquinilo, cicloalquilo, cicloalquenilo, cicloalquinilo, arilo, heteroarilo, heteroalliciclico, aralquilo o (heteroalliciclico)alquilo, como se define en el presente documento. Un O-carboxilo puede estar sustituido o no sustituido.

Un grupo "C-carboxilo" se refiere a un grupo "-C(=O)OR" en el que R puede ser el mismo como se define con respecto a O-carboxilo. Un C-carboxilo puede estar sustituido o no sustituido.

40 Un grupo "C-amido" se refiere a un grupo "-C(=O)NR^AR^B" en el que R^A y R^B pueden ser o no iguales y pueden definirse como se define R con respecto a O-carboxilo. Un C-amido puede estar sustituido o no sustituido.

Un grupo "N-amido" se refiere a un grupo "RC(=O)NR^A" en el que R y R^A pueden ser o no iguales y pueden definirse como se define R con respecto a O-carboxilo. Un N-amido puede estar sustituido o no sustituido.

Como se usa en el presente documento, una "amida" se refiere a un grupo "-C(=O)NR^AR^B" en el que R^A y R^B pueden ser o no iguales y pueden definirse como se define R con respecto a O-carboxilo. En algunas realizaciones R^A y R^B pueden ser hidrógeno.

5 Como se usa en el presente documento, una "amina" se refiere a un grupo "-NR^AR^B" en el que R^A y R^B pueden ser o no iguales y pueden definirse como se define R con respecto a O-carboxilo.

Como se usa en el presente documento, una "urea" se refiere a -NR^AC(=O)NR^B₂ en el que cada R^A y R^B se define individualmente como se define R con respecto a O-carboxilo.

10 Formación de enlace disulfuro

Los compuestos pueden existir en una forma ciclada con un enlace disulfuro intramolecular entre los grupos tiol de las cisteínas.

15 Otras realizaciones incluyen análogos de estos derivados de disulfuro en los que uno de los azufres se ha reemplazado por un grupo CH₂ u otro isósteros por azufre. Estos análogos pueden producirse mediante un desplazamiento intramolecular o intermolecular, utilizando métodos conocidos en la técnica.

20 Como alternativa, el extremo amino del péptido puede protegerse con un ácido acético alfa sustituido, en el que el alfa sustituyente es un grupo saliente, tal como un ácido α-haloacético, por ejemplo, ácido α-cloroacético, ácido α-bromoacético o ácido α-yodoacético. Los péptidos de las presentes realizaciones pueden ciclarse o dimerizarse mediante desplazamiento del grupo saliente por el azufre del resto de cisteína o de homocisteína. Véase, por ejemplo, Andreu, *et al.* 1994, *Meth. Mol. Bio.* 35(7): 91-169; Barker, *et al.* 1992, *J. Med. Chem.* 35: 2040-2048 y Or, *et al.* 1991, *J. Org. Chem.* 56: 3146-3149.

25 En algunas realizaciones, los antagonistas del péptido relacionado con el gen de la calcitonina modificado, como se desvela y describe en el presente documento, también pueden prepararse por técnicas de ADN recombinante bien conocidas en la materia.

30 Algunas realizaciones incluyen composiciones farmacéuticas que comprenden, como principio activo, al menos uno de los péptidos modificados presentes, o peptidomiméticos desvelados en el presente documento, en asociación con un transportador o diluyente farmacéutico. Estas composiciones farmacéuticas pueden administrarse por cualquier medio, como saben los expertos en la técnica, e incluyen, sin limitación, las vías de administración oral, pulmonar, parenteral (inyección intramuscular, intraperitoneal, intravenosa o subcutánea), inhalacional (mediante una formulación de un polvo fino, o aerosol), transdérmica, intranasal o sublingual y pueden formularse en formas de dosificación apropiadas para cada vía de administración. Véase, por ejemplo, Bernstein, *et al.* publicación de patente PCT n.º WO 93/25221, publicada el 23 de diciembre de 1993; Pitt, *et al.* publicación de patente PCT n.º WO 94/17784, publicada el 18 de agosto de 1994 y Pitt, *et al.* solicitud de patente europea 613.683, publicada el 7 de 40 septiembre de 1994. Los compuestos también pueden administrarse en formas de dosificación de liberación sostenida o controlada, incluyendo, pero sin limitación, inyecciones en depósito, bombas osmóticas, parches transdérmicos (incluyendo electrotransporte) y similares, para administración pulsada, prolongada y/o temporalizada, a una velocidad predeterminada.

45 Las composiciones farmacéuticas de las presentes realizaciones pueden fabricarse de una manera que en sí misma es conocida, por ejemplo, mediante procesos convencionales de mezcla, disolución, granulación, preparación de grageas, levigación, emulsificación, encapsulación, atrapamiento o formación de comprimidos.

50 Las composiciones farmacéuticas para su uso de acuerdo con las presentes realizaciones pueden por tanto formularse de una manera convencional utilizando uno o más transportadores fisiológicamente aceptables que comprenden excipientes y auxiliares que facilitan en procesamiento de los compuestos activos en preparaciones que pueden utilizarse farmacéuticamente. La formulación adecuada depende de la vía de administración seleccionada. Cualquiera de las técnicas bien conocidas, transportadores y excipientes puede utilizarse según sea adecuado y como se sabe en la técnica, por ejemplo, en Remington's Pharmaceutical Sciences, citado anteriormente.

55 Los inyectables pueden prepararse en formas convencionales, como soluciones o suspensiones líquidas, formas sólidas adecuadas para solución o suspensión en líquido antes de inyección, o como emulsiones. Los excipientes adecuados son, por ejemplo, agua, solución salina, dextrosa, manitol, lactosa, lecitina, albúmina, glutamato de sodio, clorhidrato de cisteína y similares. Además, si se desea, las composiciones farmacéuticas inyectables pueden 60 contener cantidades minoritarias de sustancias auxiliares no tóxicas, tales como agentes humectantes, agentes tamponadores de pH y similares. Los tampones fisiológicamente compatibles incluyen, pero sin limitación, solución de Hanks, solución de Ringer o solución salina fisiológica. Si se desea, pueden utilizarse preparaciones que potencian la absorción (por ejemplo, liposomas).

65 Para la administración transmucosa, en la formulación pueden utilizarse penetrantes apropiados para atravesar barreras.

Las formulaciones farmacéuticas para administración parenteral, por ejemplo, mediante inyección en embolada o infusión continua, incluyen soluciones acuosas de los compuestos activos en forma hidrosoluble. Adicionalmente, pueden prepararse suspensiones de los compuestos activos como suspensiones apropiadas para inyección oleaginosa. Como disolventes o vehículos lipófilos adecuados se incluyen aceites grasos, tales como aceite de sésamo u otros aceites orgánicos tales como aceites de semilla de soja, pomelo o almendra, o ésteres de ácidos grasos sintéticos, tales como etil oleato o triglicéridos, o liposomas. Las suspensiones acuosas para inyección pueden contener sustancias que aumenten la viscosidad de la suspensión, tal como carboximetil celulosa de sodio, sorbitol o dextrano. Opcionalmente, la suspensión también puede contener estabilizantes o agentes adecuados que aumentan la solubilidad de los presentes compuestos para permitir la preparación de soluciones muy concentradas.

Las formulaciones para inyección pueden presentarse en forma de dosificación unitaria, por ejemplo, en ampollas o en envases multidosis, con un conservante añadido. Las composiciones pueden adoptar formas tales como suspensiones, soluciones o emulsiones en vehículos oleaginosos o acuosos, y pueden contener agentes de formulación tales como agentes de suspensión, estabilizantes y/o dispersantes. Como alternativa, el principio activo puede estar en forma de polvo para su constitución con un vehículo adecuado, por ejemplo, agua apirógena estéril, antes de su uso.

Para la administración oral, los presentes compuestos pueden formularse combinando los compuestos activos con transportadores farmacéuticamente aceptables, tales como los desvelados en D. J. Sarubbi, Oral GLP-1 Formulations, solicitud de patente de Estados Unidos n.º 2010/0016229 A1, publicada el 21 de enero de 2010. Como se indica en su interior, las administraciones orales pueden adoptar la forma de comprimidos o cápsulas de transportadores farmacéuticamente aceptables mezclados con el fármaco. Como agentes de liberación adecuados, adicionales, enseñados en Goldberg, 2009, Compositions for Delivering Parathyroid Hormone and Calcitonin, solicitud de patente de Estados Unidos n.º 2009/0264368 A1, publicada el 22 de octubre de 2009, se incluyen cualquiera de las formas de dosificación líquidas o sólidas conocidas.

Para la administración por inhalación, los presentes compuestos para su uso de acuerdo con las presentes realizaciones, se liberan convenientemente en forma de una presentación de pulverización en aerosol a partir de envases presurizados o de un nebulizador, con el uso de un propulsor adecuado, por ejemplo, diclorodifluorometano, triclorofluorometano, diclorotetrafluoroetano, dióxido de carbono u otro gas adecuado. En el caso de un aerosol presurizado, la unidad de dosificación puede determinarse proporcionando una válvula para suministrar una cantidad medida. Las capsulas y cartuchos, por ejemplo, de gelatina, para su uso en un inhalador o insuflador, pueden formularse para que contengan una mezcla en polvo del compuesto y una base en polvo adecuada tal como lactosa o almidón. Como un ejemplo, las preparaciones para administración por inhalación pueden prepararse de acuerdo con las enseñanzas de Quay, *et al.*, patente de Estados Unidos n.º 7.812.120 B2, presentada el 12 de octubre de 2010.

Adicionalmente en el presente documento se desvelan diversas composiciones farmacéuticas bien conocidas en la técnica farmacéutica para usos que incluyen liberación intraocular, intranasal e intraauricular. Los penetrantes adecuados para estos usos son conocidos en general en la técnica. Las composiciones farmacéuticas para liberación intraocular incluyen soluciones oftálmicas acuosas de los compuestos activos en forma hidrosoluble, tales como gotas oculares, o en goma gelana (Shedden *et al.*, 2001, Clin. Ther., 23(3): 440-50) o hidrogeles (Mayer *et al.*, 1996, Ophthalmologica, 210(2): 101-3); pomadas oftálmicas; suspensiones oftálmicas, tales como micropartículas, partículas poliméricas pequeñas que contienen fármaco que se suspenden en un medio transportador líquido (Joshi, A., J. Ocul. Pharmacol., 1994 10(1): 29-45), formulaciones solubles en lípido (Alm *et al.*, 1989 Prog. Clin. Biol. Res., 312: 447-58) y microesferas (Mordenti, 1999, Toxicol. Sci., 52(1): 101-6); e insertos oculares. Dichas formulaciones farmacéuticas adecuadas se formulan más frecuente y preferentemente para que sean estériles, isotónicas y tamponadas para estabilidad y comodidad. Las composiciones farmacéuticas para liberación intranasal pueden también incluir gotas y pulverizaciones a menudo preparadas para simular en muchos aspectos secreciones nasales para garantizar el mantenimiento de la acción ciliar normal, dichas composiciones incluyen, por ejemplo y sin limitación, las soluciones nasales desveladas por Azria, *et al.*, en la patente de Estados Unidos n.º 5.733.569, presentada el 31 de marzo de 1998. Como se desvela en Remington's Pharmaceutical Sciences, 18^a Ed., Mack Publishing Co., Easton, PA (1990), muy conocida por los expertos en la técnica, las formulaciones adecuadas son más a menudo y preferentemente isotónicas, ligeramente tamponadas para mantener un pH de 5,5 a 6,5, y más a menudo y preferentemente incluyen conservantes antimicrobianos y estabilizantes farmacológicos apropiados. Las formulaciones farmacéuticas para liberación intraauricular incluyen suspensiones y pomadas para aplicación tópica en el oído. Los disolventes habituales para dichas formulaciones óticas incluyen glicerina y agua.

Además de las formulaciones descritas anteriormente, los presentes compuestos también pueden formularse como una preparación en depósito. Dichas formulaciones de larga actuación pueden administrarse por implante (por ejemplo por vía subcutánea o intramuscular) o por inyección intramuscular. Por tanto, por ejemplo, los compuestos pueden formularse con materiales poliméricos o hidrófobos adecuados (por ejemplo como una emulsión en un aceite aceptable) o resinas de intercambio iónico, o como derivados moderadamente solubles, por ejemplo, como una sal moderadamente soluble.

Dependiendo de la naturaleza química y de la estabilidad biológica del reactivo terapéutico, pueden emplearse estrategias adicionales para la estabilización de los péptidos.

En las composiciones farmacéuticas pueden incorporarse agentes de diagnóstico o terapéuticos adicionales. De manera alternativa o adicional, las composiciones farmacéuticas pueden combinarse con otras composiciones que contengan otros agentes de diagnóstico o terapéuticos.

Como ejemplos no limitantes de métodos de administración se incluyen, entre otros, (a) administración a través de rutas orales, tales como las descritas en M. Goldberg, publicación n.º US 2009/0264368 A1, publicada el 22 de octubre de 2009 y en D. Sarubbi, publicación n.º US 2010/0016229 A1, publicada el 21 de enero de 2010; (b) la administración puede ser a través de rutas no orales, tales como intraocular, intranasal o intraauricular, cuya administración incluye la administración como una suspensión acuosa, una preparación oleaginosa o similar o como un gotero, pulverizador, bálsamo, pomada o similar; (c) administración mediante inyección, por vía subcutánea, intraperitoneal, intravenosa, intramuscular, intradérmica, intraorbital o similar, incluyendo suministro con bomba de infusión; (d) administración por vía local, tal como por inyección directamente intracraneal, por ejemplo, mediante un implante en depósito; así como (e) administración por vía tópica; como estimen oportuno los expertos en la técnica para poner al péptido de las presentes realizaciones en contacto con tejido vivo. Un ejemplo representativo no limitante de aplicación nasal se describe en Quay, *et al.*, patente de Estados Unidos n.º 7.812.120 B2, presentada el 12 de octubre del 2010.

La formulación, la vía de administración y la dosificación exacta para las composiciones farmacéuticas de las presentes realizaciones puede seleccionarlas el médico individual a la vista de la afección del paciente. (Véase, por ejemplo, Fingl *et al.* 1975, in "The Pharmacological Basis of Therapeutics", con particular referencia al cap. 1, pág. 1). Típicamente, el intervalo de dosis de la composición administrada al paciente puede ser de aproximadamente 0,000001 a 100 mg/kg de peso corporal del paciente. La dosificación también ser individual o una serie de dos o más dadas durante el ciclo de uno o más días, según necesite el paciente. En los casos en los que las dosificaciones humanas para los compuestos se hayan establecido para al menos alguna afección, las presentes realizaciones utilizarán las mismas dosificaciones, o dosificaciones que estén entre aproximadamente 0,1 % y 500 %, más preferentemente entre aproximadamente 25 % y 250 % de la dosificación humana establecida. Cuando no se establece dosificación humana, así como es el caso de compuestos farmacéuticos recientemente descubiertos, una dosificación humana adecuada puede inferirse a partir de valores de DE₅₀ o DI₅₀, u otros valores apropiados obtenidos de estudios *in vitro* o *in vivo*, cualificados por estudios de toxicidad y estudios de eficacia en animales.

Debe observarse que el médico tratante sabe cómo y cuándo finalizar, interrumpir o ajustar la administración debido a toxicidad o disfunciones orgánicas. A la inversa, el médico tratante también sabrá ajustar el tratamiento a niveles más altos si la respuesta clínica no fuera adecuada (excluyendo toxicidad). La magnitud de una dosis administrada en la gestión del trastorno de interés, variará con la gravedad de la afección a tratar y con la vía de administración. La gravedad de la afección puede, por ejemplo, evaluarse, en parte, por métodos de evaluación de pronóstico convencionales. Además, la dosis y quizás su frecuencia, también variará de acuerdo con la edad, el peso corporal y la respuesta del paciente individual. Un programa comparable con el indicado anteriormente puede utilizarse en medicina veterinaria.

Aunque la dosificación exacta se determinará en función de un fármaco u otro, en la mayoría de los casos, pueden hacerse algunas generalizaciones con respecto a la dosificación. El régimen de dosificación diario para un paciente humano adulto puede ser, por ejemplo, una dosis intravenosa, subcutánea o intramuscular de cada principio activo a un intervalo ejemplar de entre 0,001 mg y 100 mg, o un intervalo ejemplar de entre 0,005 mg y 5 mg. En casos de administración de una sal farmacéuticamente aceptable, las dosificaciones pueden calcularse como la base libre. En algunas realizaciones, la composición se administra de 1 a 4 veces al día o como una sola dosis intensa, por ejemplo, para mejorar el dolor, tal como el asociado a migraña. Como alternativa las composiciones descritas en el presente documento pueden administrarse mediante infusión intravenosa continua, preferentemente a una dosis de cada principio activo de hasta 1.000 mg por día. Como sabrán los expertos en la técnica, en determinadas situaciones puede ser necesario administrar los péptidos desvelados en el presente documento en cantidades que superen, o incluso superen de lejos, el intervalo de dosificación ejemplar, anteriormente indicado, para tratar de un modo eficaz y agresivo enfermedades o infecciones particularmente agresivas. En algunas realizaciones, los péptidos se administrarán durante un periodo de terapia continua, por ejemplo, durante una semana o más, o durante meses o años.

La cantidad e intervalo de dosificación pueden ajustarse individualmente para proporcionar niveles plasmáticos del grupo activo que sean suficientes para mantener los efectos moduladores, o la concentración eficaz mínima (CEM). La CEM variará para cada uno de los compuestos pero puede estimarse a partir de datos *in vitro*. Las dosificaciones necesarias para conseguir la CEM dependerán de características individuales y de la vía de administración. Sin embargo, para determinar las concentraciones plasmáticas pueden utilizarse ensayos o bioensayos con HPLC.

Los intervalos de dosificación también pueden determinarse utilizando valores CEM. Las composiciones deben administrarse utilizando un régimen que mantenga los niveles plasmáticos por encima de la CEM durante el 10-90 % del tiempo, preferentemente entre el 30-90 % y más preferentemente entre el 50-90 %.

- 5 En casos de administración local o captación selectiva, la concentración local eficaz del fármaco puede no estar relacionada con la concentración plasmática.

La cantidad de la presente composición administrada puede depender del sujeto que vaya a tratarse, del peso del sujeto, de la gravedad de la dolencia, de la forma de administración y del criterio del médico que prescribe.

- 10 Los compuestos desvelados en el presente documento pueden evaluarse con respecto a su eficacia y toxicidad utilizando métodos conocidos. Por ejemplo, la toxicología de un compuesto particular, o de un subconjunto de compuestos, que comparten determinados grupos químicos, puede estabilizarse determinando la toxicidad *in vitro* hacia a una línea celular, tal como una línea celular de mamífero, y preferentemente de un ser humano. Los resultados de dichos estudios son a menudo predictivos de toxicidad en animales, tales como mamíferos, o más específicamente, seres humanos. Como alternativa, la toxicidad de compuestos particulares en un modelo animal, tal como ratones, ratas, conejos o monos, puede determinarse utilizando métodos conocidos. La eficacia de un compuesto particular puede establecerse utilizando diversos métodos reconocidos, tales como métodos *in vitro*, modelos animales o ensayos clínicos con seres humanos. Existen modelos *in vitro* reconocidos para casi cada clase de afección, incluyendo pero sin limitación, cáncer, enfermedad cardiovascular y diversas disfunciones inmunitarias.

- 20 De manera similar, pueden utilizarse modelos animales aceptables para establecer eficacia de productos químicos para tratar dichas afecciones. Cuando se selecciona un modelo para determinar la eficacia, el experto en la técnica puede orientarse mediante el estado de la técnica para seleccionar un modelo, una dosis y una vía de administración y régimen apropiados. Por supuesto, también pueden utilizarse ensayos clínicos humanos para determinar la eficacia de un compuesto en seres humanos.

- 25 Las presentes composiciones pueden, si se desea, presentarse en un envase o dispositivo dispensador que puede contener una o más formas de dosificación unitaria que contienen el principio activo.

- 30 A lo largo de la memoria descriptiva, cualquier comentario sobre un compuesto particular debe entenderse que incluye ese compuesto y cualquier (otra) sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

- 35 Las presentes composiciones que contienen los compuestos pueden administrarse para tratamientos profilácticos y/o terapéuticos. En aplicaciones terapéuticas, las composiciones de administran a un paciente que ya padece una enfermedad, como se describe anteriormente, en una cantidad suficiente para curar o al menos detener parcialmente los síntomas de la enfermedad y sus complicaciones. Una cantidad adecuada para lograr esto se define como "dosis terapéuticamente eficaz". Las cantidades eficaces para este uso dependerán de la gravedad de la enfermedad y del peso y estado general del paciente.

- 40 Las composiciones descritas en el presente documento también pueden microencapsularse, por ejemplo, mediante el método de Tice y Bibi (en: Treatise on Controlled Drug Delivery, ed. A. Kydonieus, Marcel Dekker, N.Y. 1992, págs. 315-339).

- 45 En aplicaciones profilácticas, las composiciones que contienen los compuestos desvelados en el presente documento se administran a un paciente susceptible, o de otra manera en riesgo, de padecer una enfermedad particular. Dicha cantidad se define que es una "dosis profilácticamente eficaz". En este uso, las cantidades exactas de nuevo dependerán del estado de salud y del peso del paciente, y un experto habitual en la materia puede determinarlas fácilmente.

- 50 Las cantidades del presente antagonista, necesarias para una terapia eficaz, dependerán de muchos factores diferentes, incluyendo medios de administración, sitio diana, estado fisiológico del paciente y otras medicaciones administradas. Por tanto, las dosificaciones del tratamiento deben valorarse para optimizar la seguridad y eficacia. Típicamente, las dosificaciones utilizadas *in vitro* pueden proporcionar orientaciones útiles en las cantidades útiles para la administración *in situ* de estos reactivos. El ensayo con animales de dosis eficaces para el tratamiento de trastornos particulares proporcionará una indicación predictiva adicional de la dosificación humana. Varias consideraciones se describen por ejemplo en: Gilman, et al. (eds.), 1990 Goodman and Gilman's: The Pharmacological Basis of Therapeutics 8th ed., Pergamon Press y Remington's Pharmaceutical Sciences, 7^a Ed., Mack Publishing Co., Easton, Pa. (1985). En particular, la dosificación debe ajustarse para adaptar métodos de liberación tales como inyección intramuscular, inyección subcutánea, liberación oral o subcutánea, introducción del antagonista sin aguja.

- 65 Los péptidos antagonistas y peptidomiméticos descritos en el presente documento son eficaces en el tratamiento de afecciones mediadas por el receptor de CGRP cuando se administra a un intervalo de dosificación ejemplar, por ejemplo, de aproximadamente 0,01 µg a aproximadamente 50 mg/kg de peso corporal al día. La dosis específica empleada se regula por la afección particular que vaya a tratarse, la vía de administración así como por el criterio del

médico tratante dependiendo de factores tales como la gravedad de la afección, la edad y estado general del paciente y similar. Los expertos en la técnica pueden determinar fácilmente dichas dosis.

- 5 Para administración parenteral, los péptidos pueden formularse, por ejemplo, como una solución, suspensión, emulsión o polvo liofilizado en asociación con un vehículo parenteral farmacéuticamente aceptable. Como ejemplos de dichos vehículos se incluyen agua, solución salina, solución de Ringer, solución de dextrosa y albúmina de suero humano al 5 %. También pueden utilizarse liposomas y vehículos no acuosos tales como aceites no volátiles. El vehículo o polvo liofilizado puede contener aditivos que mantengan la isotonicidad (por ejemplo, cloruro de sodio, manitol) y estabilidad química (por ejemplo, tampones y conservantes). La formulación se esteriliza mediante técnicas de uso habitual. Por ejemplo, una composición parenteral adecuada para administración por inyección se prepara disolviendo 1,5 % en peso de principio activo en solución de cloruro de sodio al 0,9 %.
- 10 Las composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento pueden administrarse como una sola dosis o en múltiples dosis; administrarse bien como agentes terapéuticos individuales o en combinación con otros agentes terapéuticos; y combinarse con terapias convencionales, que pueden administrarse secuencial o simultáneamente.
- 15 Los compuestos pueden administrarse en una formulación de liberación sincronizada, por ejemplo, una composición que incluye un polímero de liberación lenta. Los compuestos activos pueden prepararse con transportadores que protegerán al compuesto contra a una liberación rápida, tal como una formulación de liberación contralada, incluyendo implantes y sistemas de suministro microencapsulado. Pueden utilizarse polímeros biodegradables, biocompatibles, tales como etilenvinilacetato, polianhídridos, ácido poliglicólico, colágeno, poliortoésteres, ácido poliláctico y copolímeros de ácido poliláctico, poliglicólicos (PLG). Los expertos en la técnica generalmente conocen muchos métodos para la preparación de dichas formulaciones.
- 20
- 25 Los compuestos descritos en el presente documento pueden formularse en una composición farmacéutica en la que el compuesto es el único agente activo en su interior. Como alternativa, la composición farmacéutica puede contener agentes activos adicionales. Además, el compuesto peptídico puede combinarse con uno o más agentes distintos que tienen efectos moduladores sobre la actividad del receptor de CGRP.
- 30 Otra utilidad
- 35 Los compuestos descritos en el presente documento son útiles *in vitro* como herramientas únicas para entender la función biológica de los receptores de CGRP, incluyendo la evaluación de muchos factores a través de la influencia, e influenciados por, la producción de ligandos de efrina y procesos de unión a receptores. Los presentes compuestos son también útiles en el desarrollo de otros compuestos que se unen a, y activan, receptores de CGRP, porque los presentes compuestos proporcionan información importante sobre la relación entre la estructura y la actividad para facilitar dicho desarrollo.
- 40 Los compuestos también son útiles como aglutinantes competitivos en ensayos para explorar nuevos antagonistas de receptores de CGRP. En dichas realizaciones de ensayo, los compuestos descritos en el presente documento pueden utilizarse sin modificación o pueden modificarse de diversas maneras; por ejemplo, marcando, tal como uniendo de manera covalente o no covalente, un grupo que proporciona directa o indirectamente una señal detectable. En cualquiera de estos ensayos, los materiales de los mismos pueden marcarse bien directa o indirectamente. Las posibilidades para el marcaje directo incluyen grupos marcadores tales como: radiomarcadores tales como ¹²⁵I, enzimas (patente de Estados Unidos n.º 3.645.090) tales como peroxidasa y fosfatasa alcalina, y marcadores fluorescentes (patente de Estados Unidos n.º 3.940.475) capaces de supervisar el cambio de densidad de fluorescencia, el desplazamiento de longitud de onda o polarización de fluorescencia. Las posibilidades del marcaje indirecto incluyen biotinilación del constituyente seguido de unión a avidina acoplada a uno de los grupos marcadores anteriores. Los compuestos también pueden incluir espaciadores o enlazadores en los casos en los que los compuestos se vayan a unir a un soporte sólido.
- 45
- 50
- 55 La espectroscopía de resonancia magnética nuclear (RMN) se conoce por su capacidad para caracterizar estructuras macromoleculares y es una técnica para investigar características tanto estáticas como transitorias de la unión de ligandos a una molécula diana (Pellecchia, et al. 2002 Nature Rev Drug Disc 1: 211). La espectroscopía RMN es una herramienta útil para determinar la unión de ligandos a moléculas diana, y tiene la ventaja de poder detectar y cuantificar interacciones con alta sensibilidad sin requerir un conocimiento previo de la función de las proteínas. Además, la espectroscopía RMN puede proporcionar información estructural tanto sobre la diana como sobre el ligando para ayudar en la optimización posterior de aciertos de unión débil en conductores de alta afinidad.
- 60 En las patentes de Estados Unidos n.º 5.698.401 y 5.804.390 se describen métodos de detección de unión de un compuesto ligando con una biomolécula diana generando un primer y segundo espectros de correlación de resonancia magnética nuclear de biomoléculas diana que se han marcado uniformemente. El primer espectro se genera a partir de datos recogidos en la sustancia diana en ausencia de ligandos y el segundo en presencia de uno o más ligandos. Una comparación de los dos espectros permite determinar que compuestos en la mezcla de supuestos ligandos se une(n) con la molécula diana.
- 65

Además, basándose en su capacidad para unirse selectivamente a receptores de CGRP, los péptidos descritos en el presente documento pueden utilizarse como reactivos para detectar selectivamente receptores de CGRP en células vivas, células fijadas, en fluidos biológicos, en homogeneizados tisulares, en materiales biológicos naturales purificados, etc.

5

Ejemplos

Para ilustrar adicionalmente las presentes realizaciones se proporcionan los siguientes ejemplos. Dichos ejemplos no pretenden limitar el alcance de las realizaciones.

10

Ejemplo 1

Utilizando un ensayo de flujo de calcio, la respuesta inhibidora dependiente de la dosis de los antagonistas peptídicos de la presente invención sobre un receptor de amilina, AMY1, se determinó un complejo de receptor de CT (calcitonina)/RAMP1 (proteína modificadora de la actividad del receptor). En el ensayo se empleó la línea celular recombinante CHO-K1/AMY1/G_{α15} (GenScript, Piscataway, NJ, catálogo n.º M00475). Las actividades antagonistas peptídicas se ensayaron por duplicado a cinco concentraciones diferentes, comenzando con 1 µM y se diluyeron en serie cinco veces, en DMSO. Como un control positivo, en los ensayos se utilizó AC187 (SEQ ID NO: 55), un antagonista del receptor de amilina conocido (disponible, por ejemplo, en Tocris Bioscience, Minneapolis, MN, catálogo n.º 3419) y como un control positivo, en los ensayos se utilizó α-CGRP humano, un agonista del receptor de amilina conocido (SEQ ID NO: 56), (disponible, por ejemplo, en Tocris Bioscience, Minneapolis, MN, catálogo n.º 3012). Se utilizó el kit de ensayo FLIPR® Calcium 4 (Molecular Devices, Sunnyvale, CA).

25

Reactivos de control

25

El α-CGRP humano que tiene la secuencia de aminoácidos NH₂-ACDTATCVTHRLAGLLSRSGGVVKNNFPTNVG-SKAF-NH₂ (SEQ ID NO: 56) y AC187 que tiene la secuencia VLGKLSQELHKLQTYPRNTGSNTY (SEQ ID NO: 55) se emplearon como controles negativo y positivo, respectivamente. Adicionalmente, se diluyeron soluciones de reserva en tampón HBSS-HEPES para preparar soluciones de control final 5X.

30

Tabla 4: Reactivos de control

Compuesto de referencia	PM (g/mol)	Solución de reserva (disolvente)	Pureza (%)	Condición de almacenamiento
α-CGRP	3787,32	2 mM (DMSO)	97,1	-20 °C
AC187	2849,17	50 mM (DMSO)	99,1	-20 °C

Otros reactivos

35

En la Tabla 5 se proporcionan otros materiales utilizados en el ensayo.

Tabla 5: Reactivos

Nombre	Fuente	Número de catálogo	Número de registro de la proteína diana
CHO-K1/AMY1/G _{α15}	Genscript	M00475	NM_005855, NM_001742
Probenecid	Sigma	P8761	N/A
Kit de ensayo FLIPR ® Calcium 4	Molecular Devices	R8141	N/A

Preparación del cultivo celular

40

Se sembraron células CHO-K1/AMY1/G_{α15} en una placa de fondo transparente, de paredes negras, de 384 pocillos, a una densidad de 20.000 células/pocillo en 20 µl de medio de crecimiento 20 horas antes del día del experimento y se mantuvieron a 37 °C/CO₂ 5 %.

45

Protocolo del ensayo

50

Según el protocolo del kit de ensayo, se añadió una solución de carga colorante (a una concentración final de 2X) en la placa de ensayo, 20 µl por pocillo. Se añadió solución de compuesto (a una concentración final de 5X) en la placa de ensayo, 10 µl por pocillo. La placa de ensayo se colocó en una incubadora a 37 °C durante 1 hora, y después se dejó durante 15 min a TA. La placa con el agonista (a una concentración CE₈₀ 5x) se colocó en la Fuente 2. El tiempo de lectura total fue de 120 s. Se añadió agonista después de una lectura de 20 segundos de la línea basal y la señal de fluorescencia se capturó durante otros 100 segundos (21 s a 120 s).

55

En la exploración, las células estimuladas con tampón de ensayo se seleccionaron como el fondo; las células estimuladas con agonista (a una concentración CE₉₀) se seleccionaron como control negativo.

Análisis de los datos

Los datos se registraron mediante ScreenWorks (versión 3.1) como archivos FMD y se guardaron en la red informática GenScript para análisis fuera de línea. La adquisición de los datos y los análisis se realizaron utilizando el programa ScreenWorks (versión 3.1) y se exportó a Excel. El valor promedio de 20 segundos (1 s a 20 s) de lectura se calculó como la lectura inicial y los valores de intensidad de unidades de fluorescencia relativa (ΔUFR) se calcularon con las unidades de fluorescencia máxima (21 s a 120 s) restando el valor promedio de la lectura inicial.

El valor de Cl_{50} de AC187 fue de 8 μM . La actividad inhibidora de los antagonistas péptidos ensayados se normalizó con el control negativo (AC187) y se describió como % de inhibición, calculado a partir de la siguiente ecuación:

$$\% \text{ de Inhibición} = (\Delta\text{UFR}_{\text{compuesto}} - \Delta\text{UFR}_{\text{fondo}})/(\Delta\text{UFR}_{\text{control negativo}} - \Delta\text{UFR}_{\text{fondo}}) * 100 \%$$

Después, la inhibición se representó gráficamente a lo largo del eje Y, indicando las concentraciones de ensayo en el eje X. Los péptidos utilizados se indican en la Tabla 1 anterior. Los resultados de estos experimentos se presentan en la Tabla 6, enumerándose los valores de control positivos en la Tabla 7 más adelante. Los péptidos se ensayaron a las concentraciones indicadas y se estimularon con α -CGRP 32 nM (CE₈₀) (media +/- DT, n = 2). Los resultados demuestran la fuerza sorprendentemente alta de los péptidos seleccionados, por ejemplo, muchos tenían concentraciones Cl_{50} en el intervalo nanomolar bajo en comparación con la concentración Cl_{50} en el intervalo micromolar bajo del control positivo, AC187.

Tabla 6: Resultados

SEQ ID. NO	Cl_{50} nM	% de Inhibición a concentración máxima (media +/- DT, n = 2)
1	17	94,4 +/- 0,6
2	5	96,5
3	4	95,9 +/- 2,3
4	12	94,6 +/- 0,1
5	75	88,5 +/- 0,9
6	33	93,9 +/- 0,4
7	8	96,0 +/- 1,3
8	16	95,4 +/- 0,2
9	9	95,6 +/- 0,4
10	9	96,8 +/- 0,3
11	9	96,5 +/- 0,2
12	9	96,1 +/- 0,4
13	4	95,8 +/- 0,6
14	1024	51,9 +/- 3,3
15	1238	23,3 +/- 5,2

Tabla 7: Control de ensayo positivo

Péptido	Cl_{50} nM
AC187	8152

LISTA DE SECUENCIAS

<110> Soares, Christopher J.

<120> ANTAGONISTAS PÉPTIDICOS DE LA FAMILIA CALCITONINA CGRP DE HORMONAS PEPTÍDICAS Y SU USO

<130> CSOAR.001WO

<150> 61/591.236
<151> 26-01-2012

<160> 56

<170> FastSEQ para Windows Versión 4.0

5 <210> 1
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Péptido sintético

15 <400> 1

Ala	Cys	Asp	Thr	Ala	Ala	Cys	Val	Leu	Gly	Arg	Leu	Ser	Gln	Glu	Leu													
1															15													
													His	Arg	Leu	Gln	Thr	Tyr	Pro	Arg	Thr	Asn	Val	Gly	Ser	Lys	Ala	Phe
													20													25		30

15 <210> 2
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Péptido sintético

25 <400> 2

Ala	Cys	Asp	Thr	Ala	Ser	Cys	Val	Leu	Gly	Arg	Leu	Ser	Gln	Glu	Leu													
1															15													
													His	Arg	Leu	Gln	Thr	Tyr	Pro	Arg	Thr	Asn	Val	Gly	Ser	Lys	Ala	Phe
													20													25		30

25 <210> 3
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Péptido sintético

35 <400> 3

Ala	Cys	Asp	Thr	Ala	Val	Cys	Val	Leu	Gly	Arg	Leu	Ser	Gln	Glu	Leu													
1															15													
													His	Arg	Leu	Gln	Thr	Tyr	Pro	Arg	Thr	Asn	Val	Gly	Ser	Lys	Ala	Phe
													20													25		30

40 <210> 4
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

45 <220>
 <223> Péptido sintético

45 <400> 4

Ala	Cys	Asn	Thr	Ala	Ala	Cys	Val	Leu	Gly	Arg	Leu	Ser	Gln	Glu	Leu													
1															15													
													His	Arg	Leu	Gln	Thr	Tyr	Pro	Arg	Thr	Asn	Val	Gly	Ser	Lys	Ala	Phe
													20													25		30

5 <210> 5
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 5 <220>
 <223> Péptido sintético

10 <400> 5

Ala	Cys	Val	Leu	Gly	Ala	Cys	Val	Leu	Gly	Arg	Leu	Ser	Gln	Glu	Leu															
1					5					10				15																
															His	Arg	Leu	Gln	Thr	Tyr	Pro	Arg	Thr	Asn	Val	Gly	Ser	Lys	Ala	Phe
															20					25							30			

15 <210> 6
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 5 <220>
 <223> Péptido sintético

20 <400> 6

Ala	Cys	Arg	Phe	Gly	Ala	Cys	Val	Leu	Gly	Arg	Leu	Ser	Gln	Glu	Leu															
1					5					10				15																
															His	Arg	Leu	Gln	Thr	Tyr	Pro	Arg	Thr	Asn	Val	Gly	Ser	Lys	Ala	Phe
															20					25							30			

25 <210> 7
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30 5 <220>
 <223> Péptido sintético

30 <400> 7

35 5 <210> 8
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

40 5 <220>
 <223> Péptido sintético

45 <400> 8

Cys	Ser	Asn	Thr	Ala	Ala	Cys	Val	Leu	Gly	Arg	Leu	Ser	Gln	Glu	Leu															
1						5				10				15																
															His	Arg	Leu	Gln	Thr	Tyr	Pro	Arg	Thr	Asn	Val	Gly	Ser	Lys	Ala	Phe
															20					25							30			

5 <210> 9
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 10 <220>
 <223> Péptido sintético

 10 <400> 9

 Ala Cys Asp Thr Ala Leu Cys Val Leu Gly Arg Leu Ser Gln Glu Leu
 1 5 10 15
 His Arg Leu Gln Thr Tyr Pro Arg Thr Asn Val Gly Ser Lys Ala Phe
 20 25 30

 15 <210> 10
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Péptido sintético

 20 <400> 10

 Ala Cys Asp Thr Ala Ile Cys Val Leu Gly Arg Leu Ser Gln Glu Leu
 1 5 10 15
 His Arg Leu Gln Thr Tyr Pro Arg Thr Asn Val Gly Ser Lys Ala Phe
 20 25 30

 25 <210> 11
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 30 <220>
 <223> Péptido sintético

 <400> 11

 35 Ala Cys Asn Leu Ser Val Cys Val Leu Gly Arg Leu Ser Gln Glu Leu
 1 5 10 15
 His Arg Leu Gln Thr Tyr Pro Arg Thr Asn Val Gly Ser Lys Ala Phe
 20 25 30

 40 <210> 12
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Péptido sintético

 45 <400> 12

 Cys Ser Asn Thr Ala Val Cys Val Leu Gly Arg Leu Ser Gln Glu Leu
 1 5 10 15
 His Arg Leu Gln Thr Tyr Pro Arg Thr Asn Val Gly Ser Lys Ala Phe
 20 25 30

5 <210> 13
 <211> 31
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 5 <220>
 <223> Péptido sintético

10 10 <400> 13

Ala	Cys	Asn	Leu	Ser	Ala	Cys	Val	Leu	Gly	Arg	Leu	Ser	Gln	Glu	Leu	
1					5				10				15			
His	Arg	Leu	Gln	Thr	Tyr	Pro	Thr	Asn	Thr	Gly	Ser	Gly	Thr	Pro		
					20				25				30			

15 15 <210> 14
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 15 <220>
 <223> Péptido sintético

20 20 <400> 14

Ala	Cys	Val	Leu	Gly	Ala	Cys	Val	Leu	Gly	Arg	Leu	Ser	Gln	Glu	Leu	
				5					10				15			
His	Arg	Leu	Gln	Thr	Tyr	Pro	Val	Asp	Pro	Ser	Ser	Pro	His	Ser	Tyr	
				20				25				30				

25 25 <210> 15
 <211> 37
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30 30 <220>
 <223> Péptido sintético

30 35 <400> 15

Ala	Cys	Asp	Thr	Ala	Ala	Cys	Val	Thr	His	Arg	Leu	Ala	Gly	Leu	Leu	
1				5					10				15			
Ser	Arg	Ser	Gly	Gly	Val	Val	Lys	Asn	Asn	Phe	Val	Pro	Thr	Asn	Val	
				20				25				30				
Gly	Ser	Lys	Ala	Phe												
				35												

35 35 <210> 16
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

40 40 <220>
 <223> Péptido sintético

45 45 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> (1)...(1)
 <223> Xaa se selecciona del grupo que consiste en Ala, Cys, Gly, Ile, Leu, Met, Phe, Pro, Tyr y Val

5 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> (2)...(2)
 <223> Xaa se selecciona del grupo que consiste en Cys, Ser y Tyr
 10 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> (3)...(3)
 <223> Xaa se selecciona del grupo que consiste en Arg, Asn, Asp, Cys, Glu, Gln, His, Lys, Ser, Thr, Tyr y Val
 15 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> (4)...(4)
 <223> Xaa se selecciona del grupo que consiste en Arg, Asn, Asp, Cys, Glu, Gln, His, Leu, Lys, Phe, Ser, Thr, Tyr y Val
 20 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> (5)...(5)
 <223> Xaa se selecciona del grupo que consiste en Ala, Gly, Ile, Leu, Met, Phe, Ser, Tyr y Val
 25 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> (6)...(6)
 <223> Xaa se selecciona del grupo que consiste en Ala, Cys, Asp, Glu, Phe, Gly, His, Ile, Lys, Leu, Met, Asn, Pro,
 Gln, Arg, Ser, Val, Trp y Tyr
 30 <400> 16
 35 Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys
 1 5
 <210> 17
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 40 <220>
 <223> Péptido sintético
 45 <210> 18
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 50 <220>
 <223> Péptido sintético
 <400> 18
 55 Ala Cys Asp Thr Ala Ala Cys
 1 5
 <210> 19
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Péptido sintético

<400> 19

5

Ala Cys Asp Thr Ala Val Cys
 1 5

<210> 20

<211> 7

<212> PRT

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido sintético

15 <400> 20

Ala Cys Asn Thr Ala Ala Cys
 1 5

<210> 21

<211> 7

20 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido sintético

25 <400> 21

Ala Cys Val Leu Gly Ala Cys
 1 5

<210> 22

30 <211> 7

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido sintético

<400> 22

Ala Cys Arg Phe Gly Ala Cys
 1 5

40 <210> 23

<211> 7

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

45 <220>

<223> Péptido sintético

<400> 23

Ala Cys Asp Leu Ser Ala Cys
 1 5

50 <210> 24

<211> 7

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

ES 2 641 325 T3

<220>
<223> Péptido sintético

5 <400> 24

Ala Cys Asn Leu Ser Ala Cys
1 5

10 <210> 25

<211> 7

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15 <220>

<223> Péptido sintético

15 <400> 25

Cys Ser Asn Thr Ala Ala Cys
1 5

20 <210> 26

<211> 7

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

25 <220>

<223> Péptido sintético

<400> 26

Ala Cys Asp Thr Ala Leu Cys
1 5

30 <210> 27

<211> 7

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

35 <220>

<223> Péptido sintético

<400> 27

Ala Cys Asp Thr Ala Ile Cys
1 5

40 <210> 28

<211> 7

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

45 <220>

<223> Péptido sintético

<400> 28

50

Ala Cys Asp Thr Ala Leu Cys
1 5

<210> 29

<211> 7

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Péptido sintético

5 <400> 29

Ala Cys Asp Thr Ala Ile Cys
 1 5

<210> 30

<211> 7

<212> PRT

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido sintético

15 <400> 30

Ala Cys Asp Leu Ser Val Cys
 1 5

<210> 31

<211> 7

20 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido sintético

25 <400> 31

Ala Cys Asp Leu Ser Val Cys
 1 5

<210> 32

<211> 7

<212> PRT

30 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido sintético

35 <400> 32

Ala Cys Asn Leu Ser Val Cys
 1 5

40 <210> 33

<211> 7

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

45 <220>

<223> Péptido sintético

<400> 33

Cys Ser Asn Thr Ala Val Cys
 1 5

50 <210> 34

<211> 19

<212> PRT

55 <213> Secuencia artificial

ES 2 641 325 T3

<220>
<223> Péptido sintético

5 <400> 34

Val Leu Gly Arg Leu Ser Gln Glu Leu His Arg Leu Gln Thr Tyr Pro
1 5 10 15
Arg Thr Asn

10 <210> 35

<211> 19

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15 <220>

<223> Péptido sintético

<400> 35

Val Leu Gly Lys Leu Ser Gln Glu Leu His Lys Leu Gln Thr Tyr Pro
1 5 10 15
Arg Thr Asn

20 <210> 36

<211> 19

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

25 <220>

<223> Péptido sintético

<400> 36

Val Leu Gly Lys Leu Ser Gln Glu Leu His Lys Leu Gln Thr Tyr Pro
1 5 10 15
Arg Thr Asn

30 <210> 37

<211> 19

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

35 <220>

<223> Péptido sintético

40 <400> 37

Val Leu Gly Lys Leu Ser Gln Glu Leu His Lys Leu Gln Thr Tyr Pro
1 5 10 15
Arg Thr Asp

45 <210> 38

<211> 19

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

50 <220>

<223> Péptido sintético

<400> 38

Val	Leu	Gly	Lys	Leu	Ser	Gln	Glu	Leu	His	Lys	Leu	Gln	Thr	Phe	Pro
1				5					10					15	
Arg Thr Asn															

5 <210> 39

<211> 19

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

10 <220>

<223> Péptido sintético

<400> 39

Val	Leu	Gly	Lys	Leu	Ser	Gln	Asp	Ile	His	Lys	Leu	Gln	Thr	Tyr	Pro
1				5					10					15	
Arg Thr Asn															

15 <210> 40

<211> 19

<212> PRT

20 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido sintético

25 <400> 40

Val	Leu	Gly	Lys	Leu	Ser	Gln	Glu	Leu	His	Lys	Met	Gln	Thr	Tyr	Pro
1				5					10					15	
Arg Thr Asp															

30 <210> 41

<211> 19

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

35 <223> Péptido sintético

<400> 41

Leu	Leu	Gly	Lys	Leu	Ser	Gln	Glu	Leu	His	Arg	Leu	Gln	Thr	Tyr	Thr
1				5					10					15	
Arg Thr Asp															

40 <210> 42

<211> 19

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

45 <220>

<223> Péptido sintético

ES 2 641 325 T3

<400> 42

Val Leu Gly Lys Leu Ser Gln Asp Leu His Lys Leu Gln Thr Phe Pro
1 5 10 15
Arg Thr Asp

5 <210> 43

<211> 19

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Péptido sintético

<400> 43

Met Leu Gly Lys Leu Ser Gln Asp Leu His Lys Leu Gln Thr Phe Pro
1 5 10 15
Arg Thr Asp

15 <210> 44

<211> 19

<212> PRT

20 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

25 <400> 44

Val Leu Gly Lys Leu Ser Gln Asp Ile His Lys Leu Gln Thr His Pro
1 5 10 15
Arg Thr Asp

30 <210> 45

<211> 6

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

35 <220>
<223> Péptido sintético

<220>
<221> VARIANTE

<222> (1)...(1)

40 <223> Xaa se selecciona del grupo que consiste en Ala, Gly, Ile, leu, Met, Phe, Pro, Trp y Val

<220>
<221> VARIANTE

<222> (2)...(2)

45 <223> Xaa se selecciona del grupo que consiste en Ala, Gly, Ile, leu, Met, Phe, Pro, Trp y Val

<220>
<221> VARIANTE

<222> (3)...(3)

50 <223> Xaa se selecciona del grupo que consiste en Cys, Ser y Tyr

<220>
<221> VARIANTE

<222> (4)...(4)

55 <223> Xaa se selecciona del grupo que consiste en Arg, Asn, Asp, Glu, Gln, His, Lys, Ser, Thr y Tyr

5 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> (5)...(5)
 <223> Xaa se selecciona del grupo que consiste en Ala, Gly, Ile, Ieu, Met, Phe, Pro, Trp y Val

10 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> (6)...(6)
 <223> Xaa se selecciona del grupo que consiste en Ala, Gly, Ile, Ieu, Met, Phe, Pro, Trp y Val

10 <400> 45

Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa
1				5	

15 <210> 46
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Péptido sintético

20 <400> 46

Val	Gly	Ser	Lys	Ala	Phe
1				5	

25 <210> 47
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Péptido sintético

30 <400> 47

Val	Gly	Ser	Lys	Ala	Phe
1				5	

35 <210> 48
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> Péptido sintético

40 <400> 48

45 Val Leu Gly Arg Leu Ser Gln Glu Leu His Arg Leu Gln Thr Tyr Pro
 1 5 10 15
 Arg Thr Asn

50 <210> 49
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

50 <220>
 <223> Péptido sintético

<400> 49

Val	Leu	Gly	Lys	Leu	Ser	Gln	Glu	Leu	His	Lys	Leu	Gln	Thr	Tyr	Pro
1				5					10				15		

Arg Thr Asn

<210> 50

<211> 7

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido sintético

<220>

<221> VARIANTE

<222> (6)...(6)

<223> Xaa = cualquier resto de aminoácido distinto de Thr

<400> 50

Ala	Cys	Asp	Thr	Ala	Xaa	Cys		
1					5			

20 <210> 51

<211> 17

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

25 <220>

<223> Péptido sintético

<400> 51

Ala	Glu	Ala	Ala	Ala	Lys	Glu	Ala	Ala	Ala	Lys		
1					5					10		

Ala

30 <210> 52

<211> 17

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

35 <220>

<223> Péptido sintético

<400> 52

40

Ala	Lys	Ala	Ala	Ala	Glu	Lys	Ala	Ala	Ala	Lys		
1					5					10		

Ala

<210> 53

<211> 16

<212> PRT

45 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido sintético

50

<400> 53

5 <210> 54
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Péptido sintético

<400> 54

Ala Lys Ala Ala Glu Ala Lys Ala Ala Glu Ala Lys Ala Ala Glu Ala
1 5 10 15

15 <210> 55
<211> 25
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> Péptido sintético

<400> 55

Val Leu Gly Lys Leu Ser Gln Glu Leu His Lys Leu Gln Thr Tyr Pro
 1 5 10 15
 Arg Thr Asn Thr Gly Ser Asn Thr Tyr
 20 25

25 <210> 56
30 <211> 37
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

35 <400> 56

```

Ala Cys Asp Thr Ala Thr Cys Val Thr His Arg Leu Ala Gly Leu Leu
   1          5          10          15
Ser Arg Ser Gly Gly Val Val Lys Asn Asn Phe Val Pro Thr Asn Val
   20         25          30
Gly Ser Lys Ala Phe
   35

```

REIVINDICACIONES

1. Un antagonista del péptido relacionado con el gen de la calcitonina que tiene la estructura de Fórmula I:

$$5 \hspace{10cm} X^1\text{-}Y^1\text{-}Z^1(\mathbb{I}),$$

en la que X^1 comprende X^{11} - X^{12} - X^{13} - X^{14} - X^{15} - X^{16} - X^{17} (SEQ ID NO: 16), en la que X^{11} se selecciona del grupo que consiste en alanina (Ala), cisteína (Cys) y glicina (Gly), y en la que X^{12} se selecciona del grupo que consiste en cisteína (Cys) y serina (Ser), siempre que uno de X^{11} y X^{12} sea Cys; X^{13} se selecciona del grupo que consiste en arginina (Arg), asparagina (Asn), ácido aspártico (Asp) y valina (Val); X^{14} se selecciona del grupo que consiste en leucina (Leu), fenilalanina (Phe) y treonina (Thr); X^{15} se selecciona del grupo que consiste en alanina (Ala), glicina (Gly) y serina (Ser); X^{16} se selecciona del grupo que consiste en alanina (Ala), isoleucina (Ile), leucina (Leu) y serina (Ser); X^{17} es Cys; y en la que Y^1 es -Val-Leu-Gly-Arg-Leu-Ser-Gln-Glu-Leu-His-Arg-Leu-Gln-Thr-Tyr-Pro-Arg-Thr-Asn- (SEQ ID NO: 34); y Z^1 es -Val-Gly-Ser-Lys-Ala-Phe-NH₂ (SEQ ID NO: 46).

2. El antagonista de la reivindicación 1, en la que:

X¹ se selecciona del grupo que consiste en NH₂-Ala-Cys-Asp-Thr-Ala-Ala-Cys (SEQ ID NO: 17), NH₂-Ala-Cys-Asp-Thr-Ala-Ser-Cys (SEQ ID NO: 18), NH₂-Ala-Cys-Asp-Thr-Ala-Val-Cys (SEQ ID NO: 19), NH₂-Ala-Cys-Asn-Thr-Ala-Ala-Cys (SEQ ID NO: 20), NH₂-Ala-Cys-Val-Leu-Gly-Ala-Cys (SEQ ID NO: 21), NH₂-Ala-Cys-Arg-Phe-Gly-Ala-Cys (SEQ ID NO: 22), NH₂-Ala-Cys-Asp-Leu-Ser-Ala-Cys (SEQ ID NO: 23), NH₂-Ala-Cys-Asn-Leu-Ser-Ala-Cys (SEQ ID NO: 24), NH₂-Cys-Ser-Asn-Thr-Ala-Ala-Cys (SEQ ID NO: 25), NH₂-Ala-Cys-Asp-Thr-Ala-Leu-Cys (SEQ ID NO: 26), NH₂-Ala-Cys-Asp-Thr-Ala-Ile-Cys (SEQ ID NO: 27), NH₂-Ala-Cys-Asp-Leu-Ser-Val-Cys (SEQ ID NO: 30), NH₂-Ala-Cys-Asn-Leu-Ser-Val-Cys (SEQ ID NO: 32) y NH₂-Cys-Ser-Asn-Thr-Ala-Val-Cys (SEQ ID NO: 33).

Y^1 es -Val¹-Leu-Gly-Arg-Leu-Ser-Gln-Glu-Leu-His-Arg-Leu-Gln-Thr-Tyr-Pro-Arg-Thr-Asn- (SEQ ID NO: 34); y
 Z^1 es -Val-Gly-Ser-Lys-Ala-Phe-NH₂ (SEQ ID NO: 46).

3. El antagonista de la reivindicación 2 que tiene la estructura:

NH₂-Ala-Cys-Asp-Thr-Ala-Ala-Cys-Val-Leu-Gly-Arg-Leu-Ser-Gln-Glu-Leu-His-Arg-Leu-Gln-Thr-Tyr-Pro-Arg-Thr-Asn-Val-Gly-Ser-Lys-Ala-Phe-NH₂ (SEQ ID NO: 1), NH₂-Ala-Cys-Asp-Thr-Ala-Ser-Cys-Val-Leu-Gly-Arg-Leu-Ser-Gln-Glu-Leu-His-Arg-Leu-Gln-Thr-Tyr-Pro-Arg-Thr-Asn-Val-Gly-Ser-Lys-Ala-Phe-NH₂ (SEQ ID NO: 2), NH₂-Ala-Cys-Asp-Thr-Ala-Val-Cys-Val-Leu-Gly-Arg-Leu-Ser-Gln-Glu-Leu-His-Arg-Leu-Gln-Thr-Tyr-Pro-Arg-Thr-Asn-Val-Gly-Ser-Lys-Ala-Phe-NH₂ (SEQ ID NO: 3), NH₂-Ala-Cys-Asn-Thr-Ala-Ala-Cys-Val-Leu-Gly-Arg-Leu-Ser-Gln-Glu-Leu-His-Arg-Leu-Gln-Thr-Tyr-Pro-Arg-Thr-Asn-Val-Gly-Ser-Lys-Ala-Phe-NH₂ (SEQ ID NO: 4), NH₂-Ala-Cys-Val-Leu-Gly-Ala-Cys-Val-Leu-Gly-Arg-Leu-Ser-Gln-Glu-Leu-His-Arg-Leu-Gln-Thr-Tyr-Pro-Arg-Thr-Asn-Val-Gly-Ser-Lys-Ala-Phe-NH₂ (SEQ ID NO: 5), NH₂-Ala-Cys-Arg-Phe-Gly-Ala-Cys-Val-Leu-Gly-Arg-Leu-Ser-Gln-Glu-Leu-His-Arg-Leu-Gln-Thr-Tyr-Pro-Arg-Thr-Asn-Val-Gly-Ser-Lys-Ala-Phe-NH₂ (SEQ ID NO: 6), NH₂-Ala-Cys-Asn-Leu-Ser-Ala-Cys-Val-Leu-Gly-Arg-Leu-Ser-Gln-Glu-Leu-His-Arg-Leu-Gln-Thr-Tyr-Pro-Arg-Thr-Asn-Val-Gly-Ser-Lys-Ala-Phe-NH₂ (SEQ ID NO: 7), NH₂-Cys-Ser-Asn-Thr-Ala-Ala-Cys-Val-Leu-Gly-Arg-Leu-Ser-Gln-Glu-Leu-His-Arg-Leu-Gln-Thr-Tyr-Pro-Arg-Thr-Asn-Val-Gly-Ser-Lys-Ala-Phe-NH₂ (SEQ ID NO: 8), NH₂-Ala-Cys-Asp-Thr-Ala-Leu-Cys-Val-Leu-Gly-Arg-Leu-Ser-Gln-Glu-Leu-His-Arg-Leu-Gln-Thr-Tyr-Pro-Arg-Thr-Asn-Val-Gly-Ser-Lys-Ala-Phe-NH₂ (SEQ ID NO: 9), NH₂-Ala-Cys-Asp-Thr-Ala-Ile-Cys-Val-Leu-Gly-Arg-Leu-Ser-Gln-Glu-Leu-His-Arg-Leu-Gln-Thr-Tyr-Pro-Arg-Thr-Asn-Val-Gly-Ser-Lys-Ala-Phe-NH₂ (SEQ ID NO: 10), NH₂-Ala-Cys-Asn-Leu-Ser-Val-Cys-Val-Leu-Gly-Arg-Leu-Ser-Gln-Glu-Leu-His-Arg-Leu-Gln-Thr-Tyr-Pro-Arg-Thr-Asn-Val-Gly-Ser-Lys-Ala-Phe-NH₂ (SEQ ID NO: 11), NH₂-Cys-Ser-Asn-Thr-Ala-Val-Cys-Val-Leu-Gly-Arg-Leu-Ser-Gln-Glu-Leu-His-Arg-Leu-Gln-Thr-Tyr-Pro-Arg-Thr-Asn-Val-Gly-Ser-Lys-Ala-Phe-NH₂ (SEQ ID NO: 12) o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

4. El antagonista de la reivindicación 1, que comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, NH₂-Ala-Cys-Asp-Leu-Ser-Ala-Cys-Val-Leu-Gly-Arg-Leu-Ser-Gln-Glu-Leu-His-Arg-Leu-Gln-Thr-Tyr-Pro-Arg-Thr-Asn-Val-Gly-Ser-Lys-Ala-Phe-NH₂ y NH₂-Ala-Cys-Asp-Leu-Ser-Val-Cys-Val-Leu-Gly-Arg-Leu-Ser-Gln-Glu-Leu-His-Arg-Leu-Gln-Thr-Tyr-Pro-Arg-Thr-Asn-Val-Gly-Ser-I vs-Ala-Phe-NH₂.

5. Una composición farmacéutica que comprende un excipiente farmacéuticamente aceptable y un antagonista del péptido relacionado con el gen de la calcitonina de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4.

6. La composición farmacéutica de la reivindicación 5, para su uso en el tratamiento de cefaleas.

7. La composición farmacéutica de la reivindicación 6, para su uso en el tratamiento de migraña

8. Un antagonista del péptido relacionado con el gen de la calcitonina de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 para su uso en el tratamiento de una afección asociada a niveles aberrantes de CGRP.
9. Un antagonista del péptido relacionado con el gen de la calcitonina de la reivindicación 8, para su uso en el tratamiento de cefalea.
10. Un antagonista del péptido relacionado con el gen de la calcitonina de la reivindicación 9, para su uso en el tratamiento de migraña.