

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 407 107**

51 Int. Cl.:

**C07K 14/685** (2006.01)

**A61K 38/34** (2006.01)

**A61P 29/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **26.08.2005 E 05773801 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.02.2013 EP 1919947**

54 Título: **Análogos de alfa-MSH terapéuticamente activos**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**11.06.2013**

73 Titular/es:

**ABBVIE INC. (100.0%)**  
**1 North Waukegan Road**  
**North Chicago, IL 60064 , US**

72 Inventor/es:

**JONASSEN, THOMAS, ENGELBRECHT,**  
**NORKILD;**  
**NIELSEN, SØREN;**  
**FRØKIÆR, JØRGEN y**  
**LARSEN, BJARNE DUE**

74 Agente/Representante:

**CARPINTERO LÓPEZ, Mario**

**ES 2 407 107 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

Análogos de alfa-MSH terapéuticamente activos

5 **Campo de la invención**

La invención se refiere a análogos peptídicos de la hormona estimulante de los melanocitos  $\alpha$  ( $\alpha$ -MSH), que poseen una mayor eficacia en comparación con el péptido nativo  $\alpha$ -MSH. Los análogos de  $\alpha$ -MSH exhiben mayores efectos antiinflamatorios y mayor capacidad para tratar o prevenir daños en todo el organismo, un órgano o una célula asociados a isquemia o isquemia seguida de reperfusión vascular, en comparación con  $\alpha$ -MSH.

**Antecedentes**

El péptido nativo hormona estimulante de los melanocitos  $\alpha$  ( $\alpha$ -MSH) se conoce como el agonista nativo del receptor tipo 1, tipo 3, tipo 4 y tipo 5 de melanocortina (MC). Los receptores de MC pertenecen a la clase de receptores acoplados a proteínas-G. Todos los subtipos de receptores están acoplados a una proteína G estimulante, lo que significa que la estimulación del receptor implica aumento de la producción de AMPc. ACTH es el ligando nativo del receptor tipo 2 (MC2).

Se realizó una serie de estudios sobre los receptores de MC en diversos tejidos. El receptor tipo 1 (MC1), al cual se une  $\alpha$ -MSH con gran afinidad, se sabe que se expresa en varios tejidos y células como cerebro incluidos astrocitos, testículo, ovario, macrófagos y neutrófilos. Es probable, sin embargo, que MC1 se exprese en una gama aún más amplia de tejidos aunque esto está por establecerse. La selectividad de los receptores de MC por unirse a diferentes péptidos MSH varía. MC1 se une con gran afinidad a  $\alpha$ -MSH y con menor afinidad también a  $\beta$ -MSH,  $\gamma$ -MSH y ACTH. Se ha informado que MC2 sólo se une a ACTH, pero no a ninguno de los péptidos MSH. La mayor afinidad por los ligandos de los otros receptores incluyen  $\gamma$ -MSH (receptor MC3) y  $\beta$ -MSH (receptor MC4). Por el contrario, MC5 se une con mucha menor afinidad a los péptidos MSH con el mismo patrón que MC1 (es decir, mayor afinidad por  $\alpha$ -MSH).

Los péptidos MSH actuando a través de la estimulación de los receptores de MC tienen una diversidad de funciones que incluyen inmunomodulación, antiinflamación, regulación de la temperatura corporal, percepción del dolor, síntesis de aldosterona, regulación de la presión arterial, frecuencia cardíaca, tono vascular, flujo sanguíneo cerebral, crecimiento del nervio, desarrollo de la placenta, síntesis/liberación de diversas hormonas como aldosterona, tiroxina, prolactina y FSH. ACTH tiene un efecto importante sobre la estimulación de la esteroidoneogénesis. Asimismo  $\alpha$ -MSH induce la formación de pigmento en la piel.

Es importante destacar que no está completamente establecido cuáles receptores están implicados en una serie de acciones de los péptidos MSH, especialmente de  $\alpha$ -MSH. Se ha especulado que la acción antiinflamatoria de  $\alpha$ -MSH involucra diversos procesos que incluyen interferencia sin producción, acción de endotelina-1, formación de interleucina 10, la cual nuevamente se une a receptores MC1 expresados en macrófagos y monocitos.

La estimulación del receptor MC con  $\alpha$ -MSH ha demostrado ser importante en diversos procesos inflamatorios (Lipton y Catania, 1997): 1) inhiben la migración quimiotáctica de los neutrófilos (Catania, 1996). 2)  $\alpha$ -MSH incluidos los análogos inhiben la liberación de citocinas (IL-1, TNF- $\alpha$ ) en respuesta al tratamiento con LPS (Goninard 1996). 3) Inhiben a TNF- $\alpha$  en respuesta a una endotoxina bacteriana (Wong, K.Y. *et al.*, 1997). 4) La administración ICV o IP de  $\alpha$ -MSH inhibe la producción de TNF- $\alpha$  por LPS administradas localmente. 5) Se ha demostrado que  $\alpha$ -MSH reduce la inflamación en la enfermedad inflamatoria intestinal experimental (Rajora, N. *et al.*, 1997), y la insuficiencia renal aguda inducida por isquemia (Star, R.A. *et al.*, 1995). 6)  $\alpha$ -MSH también tiene algún efecto protector al inhibir la inducción y el desencadenamiento de la hipersensibilidad de contacto e induce tolerancia al hapteno, y se especula que  $\alpha$ -MSH puede mediar en una importante regulación negativa de la inflamación cutánea y enfermedades cutáneas hiperproliferativas (Luger, T.A., 1997). Con este fin,  $\alpha$ -MSH causa una mayor liberación de IL-8 desde las células endoteliales de la microvasculatura dérmica (Hartmeyer, M., 1997).

Tanto las lesiones por hipoxia (isquemia) como las lesiones por reperfusión son factores importantes en la fisiopatología humana. Los ejemplos de hipoxia tisular que predisponen a lesión durante la reperfusión incluyen choque circulatorio, isquemia de miocardio, accidente cerebrovascular, isquemia renal temporal, cirugía mayor y trasplante de órganos. Como las enfermedades debidas a isquemia son causas sumamente comunes de morbimortalidad y debido a que el trasplante de órganos es cada vez más frecuente, son muy necesarias estrategias de tratamiento con potencial para limitar las lesiones de reperfusión para mejorar la salud pública. La fisiopatología subyacente de las lesiones de isquemia-reperfusión es compleja e implica no sólo una respuesta de reperfusión inflamatoria clásica con infiltración de neutrófilos, sino también la expresión de genes de citocinas como el factor de necrosis tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), las interleucinas (IL)-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, el interferón- $\gamma$  y la molécula de adhesión intercelular 1 (ICAM-1) en el órgano o tejido de reperfusión. Además, se ha sugerido que el TNF- $\alpha$  producido localmente contribuye a la disfunción postisquémica del órgano como en el corazón postinfarto por depresión directa de la contractilidad e inducción de apoptosis. Debido a la naturaleza compleja de las lesiones de isquemia y/o reperfusión los conceptos de tratamiento antiinflamatorio simples han demostrado ser ineficaces: por lo tanto, la mayoría de los

estudios experimentales apuntan al hecho de que es necesaria la interacción concomitante con más de una de las vías activadas para proteger contra lesiones por reperfusión. Se ha demostrado que  $\alpha$ -MSH tiene habilidades antiinflamatorias, antioxidantes y antiapoptóticas, lo cual proporciona una buena explicación de la eficacia de este compuesto para proteger contra lesiones de reperfusión.

Se sabe que ciertas modificaciones de los residuos de aminoácidos en la secuencia de aminoácidos de  $\alpha$ -MSH produce una mayor afinidad por el receptor (por ejemplo el receptor MC4), una actividad biológica prolongada o un perfil de unión del péptido al receptor más específico (Schiöth *et al.* 1998, Hruby *et al.* 1995, Sawyer *et al.* 1980, Hiltz *et al.* 1991, Scardenings *et al.* 2000). Sin embargo, al apuntar hacia la generación de fármacos peptídicos, estos péptidos siguen teniendo problemas con la baja estabilidad frente a la degradación enzimática.

WO0190140 da a conocer derivados de melanocortinas incluida  $\alpha$ -MSH que se vuelven resistentes a la degradación *in vivo*. Esta resistencia se obtiene reemplazando la fenilalanina de la secuencia central de  $\alpha$ -MSH -Glu-His-Phe-Arg-Trp- con un aminoácido D, además, reemplazando la arginina y el aminoácido siguiente con bloques de construcción de aminoácidos N-sustituídos.

Como se indicó antes, el problema en el desarrollo de fármacos peptídicos terapéuticamente activos es que los péptidos son degradados rápida y muy eficazmente por las enzimas, generalmente con semividas en el rango de minutos. Las proteasas y otras enzimas proteolíticas son ubicuas, especialmente en el tubo digestivo, y por lo tanto los péptidos son generalmente susceptibles de degradación en varios sitios luego de la administración oral y en alguna medida en la sangre, el hígado, el riñón y el endotelio vascular. Además, un péptido dado es generalmente susceptible de degradación en más de una unión dentro del esqueleto; cada locus de hidrólisis es mediado por una cierta proteasa. Incluso si se superan dichos obstáculos, para los neuropéptidos en particular, se han encontrado dificultades en su transporte a través de la barrera hematoencefálica.

Con el fin de aumentar la estabilidad metabólica de los péptidos, Larsen *et al.*, 1999 (WO 99/46283) desarrollaron una tecnología denominada SIP (sonda de inducción estructural). La tecnología SIP se basa en el uso sondas que inducen estructura, que son representadas por secuencias peptídicas cortas, por ejemplo,  $(Lys)_6$  añadidas al extremo C-terminal o al N-terminal o a ambos extremos C y N-terminales del péptido original. La sonda que induce estructura constriñe al péptido original en una conformación más ordenada basada en enlaces de hidrógeno intramoleculares, mediante lo cual el péptido quimera (péptido unido a la sonda) es menos susceptible a las proteasas en contraste con los péptidos con la conformación de bobina aleatoria. Como resultado de la estructuración, es mucho más difícil que una proteasa degrade al péptido quimera. La adición de una SIP a un péptido biológicamente activo generalmente se traduce en un aumento en la estabilidad enzimática del péptido manteniendo simultáneamente la actividad biológica (Rizzi *et al.*, 2002).

### Resumen de la invención

El inventor de la presente ha demostrado sorprendentemente que la modificación con SIP de  $\alpha$ -MSH y análogos de  $\alpha$ -MSH en el extremo N-terminal de los péptidos aumenta la eficacia máxima de los péptidos en comparación con el péptido  $\alpha$ -MSH nativo. Los péptidos de la invención muestran mayores efectos antiinflamatorios y mayor capacidad para prevenir enfermedades isquémicas en comparación con  $\alpha$ -MSH nativa.

Por consiguiente, la presente invención se refiere a péptidos específicos que comprenden una modificación con una SIP en la parte N-terminal del péptido y una secuencia de aminoácidos de  $\alpha$ -MSH o una variante de  $\alpha$ -MSH en la parte C-terminal del péptido.

En un primer aspecto, la descripción proporciona un péptido que asciende a un total de 12 a 19 residuos de aminoácidos que comprende la secuencia de aminoácidos:

X -Aa<sub>1</sub>-Aa<sub>2</sub>-Aa<sub>3</sub>-Aa<sub>4</sub>-Aa<sub>5</sub>-Y-Aa<sub>6</sub>-Aa<sub>7</sub>-Z

donde X comprende seis residuos de aminoácidos R1-R2-R3-R4-R5-R6, donde R1, R2, R3, R4, R5 y R6 pueden ser independientemente Lys o Glu, y

donde Y comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre His-Phe-Arg, His-(D-Phe)-Arg, His-Nal-Arg e His-(D-Nal)-Arg, y

donde Z comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre Lys-Pro-Val y Lys-Pro-(D-Val), y

donde Aa<sub>1</sub>, Aa<sub>2</sub>, Aa<sub>3</sub>, Aa<sub>4</sub>, Aa<sub>5</sub>, Aa<sub>6</sub> y Aa<sub>7</sub> pueden ser independientemente cualquier residuo de aminoácido natural o artificial o estar ausente, y

donde el extremo carboxi terminal de dicho péptido es -C(=O)-B1, en el que B1 se selecciona entre OH, NH<sub>2</sub>, NHB2, N(B2)(B3), OB2 y B2, donde B2 y B3 se seleccionan independientemente entre C<sub>1-6</sub> alquilo opcionalmente sustituido, C<sub>2-6</sub> alquenoil opcionalmente sustituido, C<sub>6-10</sub> arilo opcionalmente sustituido, C<sub>7-16</sub> aralquilo opcionalmente sustituido y C<sub>7-16</sub> alquilarilo opcionalmente sustituido; y

donde el extremo amino terminal de dicho péptido es (B4)HN-, (B4)(B5)N- o (B6)HN-, donde B4 y B5 se seleccionan independientemente entre H, C<sub>1-6</sub> alquilo opcionalmente sustituido, C<sub>2-6</sub> alquenoil opcionalmente sustituido, C<sub>6-10</sub> arilo opcionalmente sustituido, C<sub>7-16</sub> aralquilo opcionalmente sustituido, y C<sub>7-16</sub> alquilarilo opcionalmente sustituido; B6 es B4-C(=O)-.

La presente invención proporciona un péptido que consiste en la secuencia:

Lys-Lys-Lys-Lys-Lys-Lys-Ser-Tyr-Ser-Met-Glu-His-Phe-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-Val (SEC. ID N°: 1),

donde el extremo amino terminal de dicho péptido es CH<sub>3</sub>-C(=O)-.

Asimismo, la presente invención proporciona un péptido que consiste en la secuencia:

Glu-Glu-Glu-Glu-Glu-Glu-Ser-Tyr-Ser-Met-Glu-His-Phe-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-Val (SEC. ID N°: 2),

donde el extremo amino terminal de dicho péptido es CH<sub>3</sub>-C(=O)-.

Asimismo, la presente invención proporciona un péptido seleccionado del grupo que consiste en:

Lys-Lys-Lys-Lys-Lys-Lys-Ser-Tyr-Ser-Met-Glu-His-Phe-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-(D-Val) (SEC. ID N°: 3),  
 Glu-Glu-Glu-Glu-Glu-Glu-Ser-Tyr-Ser-Met-Glu-His-Phe-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-(D-Val) (SEC. ID N°: 4),  
 Lys-Lys-Lys-Lys-Lys-Lys-Ser-Tyr-Ser-Nle-Glu-His-(D-Phe)-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-Val (SEC. ID N°: 5),  
 Glu-Glu-Glu-Glu-Glu-Glu-Ser-Tyr-Ser-Nle-Glu-His-(D-Phe)-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-Val (SEC. ID N°: 6),  
 Lys-Lys-Lys-Lys-Lys-Lys-Ser-Tyr-Ser-Nle-Glu-His-(D-Phe)-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-(D-Val) (SEC. ID N°: 7),  
 Glu-Glu-Glu-Glu-Glu-Glu-Ser-Tyr-Ser-Nle-Glu-His-(D-Phe)-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-(D-Val) (SEC. ID N°: 8),  
 Lys-Lys-Lys-Lys-Lys-Lys-Ser-Tyr-Ser-Nle-Glu-His-D-Nal-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-Val (SEC. ID N°: 9),  
 Glu-Glu-Glu-Glu-Glu-Glu-Ser-Tyr-Ser-Nle-Glu-His-D-Nal-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-Val (SEC. ID N°: 10),  
 Lys-Lys-Lys-Lys-Lys-Lys-Ser-Tyr-Ser-Nle-Glu-His-D-Nal-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-(D-Val) (SEC. ID N°: 11),  
 Glu-Glu-Glu-Glu-Glu-Glu-Ser-Tyr-Ser-Nle-Glu-His-D-Nal-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-(D-Val) (SEC. ID N°: 12),

donde el extremo amino terminal de dicho péptido es (B4)HN-, (B4)(B5)N-, o (B6)HN-, donde B4 y B5 se seleccionan independientemente entre H, C<sub>1-6</sub> alquilo, C<sub>2-6</sub> alquenoilo, C<sub>6-10</sub> arilo, C<sub>7-16</sub> aralquilo, y C<sub>7-16</sub> alquilarilo; B6 es B4-C(=O)-; y donde el extremo carboxi terminal de dicho péptido es -C(=O)-B1, en el que B1 se selecciona entre OH, NH<sub>2</sub>, NHB2, N(B2)(B3), OB2 y B2, donde B2 y B3 se seleccionan independientemente entre C<sub>1-6</sub> alquilo, C<sub>2-6</sub> alquenoilo, C<sub>6-10</sub> arilo, C<sub>7-16</sub> aralquilo y C<sub>7-16</sub> alquilarilo.

La invención también se refiere al uso de dichos péptidos para la fabricación de composiciones farmacéuticas destinada al tratamiento o la profilaxis de una afección en el tejido de uno o más órganos de un mamífero. Además, la presente invención se refiere a una composición, por ejemplo, una composición farmacéutica que comprende uno o más péptidos de acuerdo con la invención y un vehículo farmacéuticamente aceptable, a péptidos de acuerdo con la invención para usar en medicina y a métodos para tratar una afección en el tejido de uno o más órganos de un mamífero que comprende administrar una dosis eficaz de un péptido de acuerdo con la invención. Específicamente, la invención apunta a un método para tratar las afecciones causadas por isquemia, inflamación y/o los efectos tóxicos del envenenamiento o la farmacoterapia.

#### Descripción de la invención

La presente invención se refiere a péptidos terapéuticamente activos que tienen el efecto de mejorar o prevenir la disfunción de un órgano inducida por isquemia, inflamación y/o los efectos tóxicos del envenenamiento o la farmacoterapia.

Según se define en este documento, una secuencia peptídica es "terapéuticamente activa" si se puede utilizar destinada al tratamiento, la remisión o la atenuación de una enfermedad, una afección fisiológica, los síntomas o las indicaciones etiológicas, o la evaluación o el diagnóstico de éstos. Una secuencia peptídica es "profilácticamente activa" si se puede utilizar para prevenir una enfermedad, una afección fisiológica, los síntomas o las indicaciones etiológicas. Un agente farmacológicamente activo también es fisiológica y/o biológicamente activo. La actividad farmacológica mide el efecto de una sustancia (péptido) sobre los sistemas fisiológicos y/o biológicos *in vitro*, *in vivo* o *ex vivo* y se puede probar usando ensayos estándar *in vitro*, *in vivo* o *ex vivo* conocidos en el área, para un péptido particular o un péptido con una función fisiológica similar.

#### Los péptidos de la invención

La presente invención se refiere a péptidos que comprenden la secuencia de aminoácidos de α-MSH o una variante de α-MSH en la parte C-terminal del péptido y una sonda de inducción estructural (SIP) en la parte N-terminal del péptido. Los péptidos de la invención se denominan análogos de α-MSH. En la presente especificación y las reivindicaciones, estos términos se utilizan como sinónimos.

La variante de α-MSH se define como una secuencia de aminoácidos que está modificada en comparación con α-MSH natural (Ser-Tyr-Ser-Met-Glu-His-Phe-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-Val, SEC. ID N°: 101) por tener al menos una eliminación, sustitución, adición o modificación de un residuo de aminoácido dentro de la secuencia. La variante de

5  $\alpha$ -MSH tiene preferentemente la estructura: Aa1-Aa2-Aa3-Aa4-Aa5-Y-Aa6-Aa7-Z, donde Y comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre His-Phe-Arg, His-(D-Phe)-Arg, His-Nal-Arg y His-(D-Nal)-Arg, y donde Z comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre Lys-Pro-Val y Lys-Pro-(D-Val), y donde Aa1, Aa2, Aa3, Aa4, Aa5, Aa6 y Aa7 pueden ser independientemente un residuo de aminoácido natural o artificial o estar ausente.

En el contexto de la presente, el término "residuo de aminoácido" significa cualquier residuo de aminoácido de origen natural (residuo de aminoácido natural) o residuo de aminoácido que no es de origen natural (residuo de aminoácido artificial).

Un residuo de aminoácido natural se define como un residuo de aminoácido que existe en la naturaleza, como Ala, Arg, Asn, Asp, Cys, Gln, Glu, Gly, His, Ile, Leu, Lys, Met, Phe, Pro, Ser, Tyr, Thr, Trp y Val.

Los ejemplos de residuos de aminoácidos naturales preferidos con respecto a la estructura variante de  $\alpha$ -MSH, son Ser, Tyr, Met, Glu, Ile, Trp y Gly.

Un residuo de aminoácido artificial se define como un residuo de aminoácido que no existe en la naturaleza, sino que es creado experimentalmente. Los residuos de aminoácidos artificiales incluyen residuos de  $\alpha$ ,  $\beta$  o  $\gamma$ -aminoácidos sintéticos (ya sea en la configuración L o la configuración D) así como aminoácidos de cadena lateral modificada como tirosinas modificadas en las que el anillo aromático está además sustituido, por ejemplo, con uno o más halógenos, grupos sulfono, grupos nitro etc. o el grupo fenol se convierte en un grupo éster, etc., incluidos aminoácidos de cadena lateral protegidas, en los que las cadenas laterales de los aminoácidos se protegen de acuerdo con métodos conocidos por los expertos en química de péptidos, como se describe, por ejemplo, en Bodanszky *et al.* 1994, y J. Jones, y Jones 1991. Los ejemplos de residuos de aminoácidos artificiales preferidos son Norleucina (Nle), Nal (beta-2-naftil-alanina), D-Nal (beta-2-naftil-d-alanina), D-fenilalanina (D-Phe) y D-Valina (D-Val).

La presente invención proporciona un péptido que consiste en la secuencia:

Lys-Lys-Lys-Lys-Lys-Lys-Ser-Tyr-Ser-Met-Glu-His-Phe-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-Val (SEC. ID N°: 1),

donde el extremo amino terminal de dicho péptido es  $\text{CH}_3\text{-C(=O)-}$ .

Asimismo, la presente invención proporciona un péptido que consiste en la secuencia:

Glu-Glu-Glu-Glu-Glu-Glu-Ser-Tyr-Ser-Met-Glu-His-Phe-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-Val (SEC. ID N°: 2),

donde el extremo amino terminal de dicho péptido es  $\text{CH}_3\text{-C(=O)-}$ .

Asimismo, la presente invención proporciona un péptido seleccionado del grupo que consiste en:

Lys-Lys-Lys-Lys-Lys-Lys-Ser-Tyr-Ser-Met-Glu-His-Phe-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-(D-Val) (SEC. ID N°: 3),  
 Glu-Glu-Glu-Glu-Glu-Glu-Ser-Tyr-Ser-Met-Glu-His-Phe-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-(D-Val) (SEC. ID N°: 4),  
 Lys-Lys-Lys-Lys-Lys-Lys-Ser-Tyr-Ser-Nle-Glu-His-(D-Phe)-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-Val (SEC. ID N°: 5),  
 Glu-Glu-Glu-Glu-Glu-Glu-Ser-Tyr-Ser-Nle-Glu-His-(D-Phe)-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-Val (SEC. ID N°: 6),  
 Lys-Lys-Lys-Lys-Lys-Lys-Ser-Tyr-Ser-Nle-Glu-His-(D-Phe)-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-(D-Val) (SEC. ID N°: 7),  
 Glu-Glu-Glu-Glu-Glu-Glu-Ser-Tyr-Ser-Nle-Glu-His-(D-Phe)-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-(D-Val) (SEC. ID N°: 8),  
 Lys-Lys-Lys-Lys-Lys-Lys-Ser-Tyr-Ser-Nle-Glu-His-D-Nal-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-Val (SEC. ID N°: 9),  
 Glu-Glu-Glu-Glu-Glu-Glu-Ser-Tyr-Ser-Nle-Glu-His-D-Nal-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-Val (SEC. ID N°: 10),  
 Lys-Lys-Lys-Lys-Lys-Lys-Ser-Tyr-Ser-Nle-Glu-His-D-Nal-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-(D-Val) (SEC. ID N°: 11),  
 Glu-Glu-Glu-Glu-Glu-Glu-Ser-Tyr-Ser-Nle-Glu-His-D-Nal-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-(D-Val) (SEC. ID N°: 12),

donde el extremo amino terminal de dicho péptido es (B4)HN-, (B4)(B5)N-, o (B6)HN-, donde B4 y B5 se seleccionan independientemente entre H, C<sub>1-6</sub> alquilo, C<sub>2-6</sub> alquenoilo, C<sub>6-10</sub> arilo, C<sub>7-16</sub> aralquilo, y C<sub>7-16</sub> alquilarilo; B6 es B4-C(=O)-; y donde el extremo carboxi terminal de dicho péptido es -C(=O)-B1, en el que B1 se selecciona entre OH, NH<sub>2</sub>, NHB2, N(B2)(B3), OB2 y B2, donde B2 y B3 se seleccionan independientemente entre C<sub>1-6</sub> alquilo, C<sub>2-6</sub> alquenoilo, C<sub>6-10</sub> arilo, C<sub>7-16</sub> aralquilo y C<sub>7-16</sub> alquilarilo.

En el contexto de la presente invención, la expresión "opcionalmente sustituido" pretende dar a entender que ese grupo en cuestión puede estar sustituido una o varias veces, como 1 a 5 veces, preferentemente 1 a 3 veces, muy preferentemente una a dos veces, con uno o más grupos seleccionados entre C<sub>1-8</sub>-alquilo, C<sub>1-8</sub>-alcoxi, oxo (que puede estar representado en la forma tautomérica enol), carboxilo, amino, hidroxilo (que cuando está presente en un sistema enol puede estar representado en la forma tautomérica ceto), nitro, ciano, dihalógeno-C<sub>1-8</sub>-alquilo, trihalógeno-C<sub>1-8</sub>-alquilo, halógeno. En general, los sustituyentes anteriores pueden ser susceptibles de sustitución opcional posterior.

En el contexto de la presente, el término "C<sub>1-6</sub>-alquilo" pretende dar a entender una cadena de un hidrocarburo

saturado, lineal o ramificada, donde las cadenas más largas tienen de uno a seis átomos de carbono, como metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, isobutilo, sec-butilo, terc-butilo, pentilo, isopentilo, neopentilo, hexilo, heptilo y octilo. Una cadena de un hidrocarburo ramificada pretende dar a entender un C<sub>1-6</sub>-alquilo sustituido en cualquier carbono con una cadena de un hidrocarburo.

5 En el contexto de la presente el término "C<sub>2-6</sub>-alqueniilo" pretende dar a entender un grupo hidrocarburo lineal o ramificado que tiene de dos a seis átomos de carbono y que contiene uno o más dobles enlaces. Los ejemplos ilustrativos de grupos C<sub>2-6</sub>-alqueniilo incluyen alilo, homo-alilo, vinilo, crotilo, buteniilo, penteniilo y hexeniilo. Los ejemplos ilustrativos de grupos C<sub>2-6</sub>-alqueniilo con más de un doble enlace incluyen grupos butadieniilo, pentadieniilo, hexadieniilo y hexatrieniilo, así como las formas ramificadas de éstos. La posición de la insaturación (doble enlace) puede estar en cualquier posición a lo largo de la cadena carbonada.

15 En el contexto de la presente el término "C<sub>3-8</sub>-cicloalquilo" está destinado a abarcar anillos de tres, cuatro, cinco, seis, siete y ocho miembros que comprenden sólo átomos de carbono, en tanto el término "heterociclilo" está destinado a dar a entender anillos de tres, cuatro, cinco, seis, siete y ocho miembros donde los átomos de carbono junto con 1 a 3 heteroátomos constituyen dicho anillo. Los heteroátomos se seleccionan independientemente entre oxígeno, azufre y nitrógeno.

20 Los anillos C<sub>3-8</sub>-cicloalquilo y heterociclilo pueden contener opcionalmente uno o más enlaces insaturados situados de tal manera, sin embargo, que no se origina un sistema aromático de electrones π.

25 Los ejemplos ilustrativos de "C<sub>3-8</sub>-cicloalquilos" preferidos son los carbociclos ciclopropano, ciclobutano, ciclopentano, ciclopenteno, ciclopentadieno, ciclohexano, ciclohexeno, 1,3-ciclohexadieno, 1,4-ciclohexadieno, cicloheptano, ciclohepteno, 1,2-cicloheptadieno, 1,3-cicloheptadieno, 1,4-cicloheptadieno y 1,3,5-cicloheptatrieno.

30 Los ejemplos ilustrativos de "heterociclilos" son los heterociclos 2*H*-tipirano, 3*H*-tipirano, 4*H*-tipirano, tetrahidrotipirano, 2*H*-pirano, 4*H*-pirano, tetrahidropirano, piperidina, 1,2-ditiino, 1,2-ditiano, 1,3-ditiino, 1,3-ditiano, 1,4-ditiino, 1,4-ditiano, 1,2-dioxina, 1,2-dioxano, 1,3-dioxina, 1,3-dioxano, 1,4-dioxina, 1,4-dioxano, piperazina, 1,2-oxatiino, 1,2-oxatiano, 4*H*-1,3-oxatiino, 1,3-oxatiano, 1,4-oxatiino, 1,4-oxatiano, 2*H*-1,2-tiazina, tetrahidro-1,2-tiazina, 2*H*-1,3-tiazina, 4*H*-1,3-tiazina, 5,6-dihidro-4*H*-tiazina, 4*H*-1,4-tiazina, tetrahidro-1,4-tiazina, 2*H*-1,2-oxazina, 4*H*-1,2-oxazina, 6*H*-1,2-oxazina, 2*H*-1,3-oxazina, 4*H*-1,3-oxazina, 4*H*-1,4-oxazina, maleimida, succinimida, imidazol, pirazol, pirrol, oxazol, furazano, ácido barbitúrico, ácido tiobarbitúrico, dioxopiperazina, isoxazol, hidantoína, dihidrouracilo, morfolina, trioxano, 4*H*-1,2,3-tritiino, 1,2,3-tritiano, 1,3,5-tritiano, hexahidro-1,3,5-triazina, tetrahidrotiofeno, tetrahidrofurano, pirrolina, pirrolidina, pirrolidona, pirrolidiona, pirazolina, pirazolidina, imidazolina, imidazolidina, 1,2-dioxol, 1,2-dioxolano, 1,3-dioxol, 1,3-dioxolano, 3*H*-1,2-ditiol, 1,2-ditiolano, 1,3-ditiol, 1,3-ditiolano, isoxazolina, isoxazolidina, oxazolina, oxazolidina, tiazolina, tiozolidina, 3*H*-1,2-oxatiol, 1,2-oxatiolano, 5*H*-1,2-oxatiol, 1,3-oxatiol, 1,3-oxatiolano, 1,2,3-tritriol, 1,2,3-tritriolano, 1,2,4-tritriolano, 1,2,3-trioxol, 1,2,3-trioxolano, 1,2,4-trioxolano, 1,2,3-triazolina y 1,2,3-triazolidina. La unión al heterociclo puede ser en la posición del heteroátomo o a través del átomo de carbono del heterociclo.

40 En el contexto de la presente el término "arilo" pretende dar a entender un anillo o sistema de anillo carbocíclico aromático. Por otra parte, el término "arilo" incluye sistemas de anillo fusionados donde al menos dos anillos arilo, o al menos un arilo y al menos un C<sub>3-8</sub>-cicloalquilo, o al menos un arilo y al menos un heterociclilo, comparten al menos un enlace químico. Los ejemplos ilustrativos de anillos "arilo" incluyen fenilo, naftalenilo, fenantrenilo, antraceniilo, acenaftilenilo, tetralinilo, fluorenilo, indenilo, indolilo, cumaranilo, cumarinilo, cromanilo, isocromanilo y azuleniilo opcionalmente sustituidos. Un grupo arilo preferido es fenilo.

En el contexto de la presente "C<sub>7-16</sub> aralquilo" pretende dar a entender un C<sub>6-10</sub> arilo sustituido con C<sub>1-6</sub> alquilo.

50 En el contexto de la presente "C<sub>7-16</sub> alquilarilo" pretende dar a entender un C<sub>1-6</sub> alquilo sustituido con C<sub>1-6</sub> arilo.

La descripción también se refiere a un péptido que asciende a un total de 12 a 19 residuos de aminoácidos que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en

55 X-Y-Z,  
X -Aa<sub>1</sub>-Y-Z,  
X -Aa<sub>1</sub>-Aa<sub>2</sub>-Y-Z,  
X -Aa<sub>1</sub>-Aa<sub>2</sub>-Aa<sub>3</sub>-Y-Z,  
X -Aa<sub>1</sub>-Aa<sub>2</sub>-Aa<sub>3</sub>-Aa<sub>4</sub>-Y-Z,  
60 X -Aa<sub>1</sub>-Aa<sub>2</sub>-Aa<sub>3</sub>-Aa<sub>4</sub>-Aa<sub>5</sub>-Y-Z,  
X -Aa<sub>1</sub>-Y-Aa<sub>6</sub>-Z,  
X -Aa<sub>1</sub>-Aa<sub>2</sub>-Y-Aa<sub>6</sub>-Z,  
X -Aa<sub>1</sub>-Aa<sub>2</sub>-Aa<sub>3</sub>-Y-Aa<sub>6</sub>-Z,  
X -Aa<sub>1</sub>-Aa<sub>2</sub>-Aa<sub>3</sub>-Aa<sub>4</sub>-Y-Aa<sub>6</sub>-Z,  
65 X -Aa<sub>1</sub>-Aa<sub>2</sub>-Aa<sub>3</sub>-Aa<sub>4</sub>-Aa<sub>5</sub>-Y-Aa<sub>6</sub>-Z,  
X -Aa<sub>1</sub>-Y-Aa<sub>6</sub>-Aa<sub>7</sub>-Z,

X -Aa<sub>1</sub>-Aa<sub>2</sub>-Y-Aa<sub>6</sub>-Aa<sub>7</sub>-Z,  
 X -Aa<sub>1</sub>-Aa<sub>2</sub>-Aa<sub>3</sub>-Y-Aa<sub>6</sub>-Aa<sub>7</sub>-Z,  
 X -Aa<sub>1</sub>-Aa<sub>2</sub>-Aa<sub>3</sub>-Aa<sub>4</sub>-Y-Aa<sub>6</sub>-Aa<sub>7</sub>-Z, y  
 X -Aa<sub>1</sub>-Aa<sub>2</sub>-Aa<sub>3</sub>-Aa<sub>4</sub>-Aa<sub>5</sub>-Y-Aa<sub>6</sub>-Aa<sub>7</sub>-Z

5 donde X comprende seis residuos de aminoácidos R1-R2-R3-R4-R5-R6, donde R1, R2, R3, R4, R5 y R6 pueden ser independientemente Lys o Glu, y  
 donde Y comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre His-Phe-Arg, His-(D-Phe)-Arg, His-Nal-Arg e His-(D-Nal)-Arg, y  
 10 donde Z comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre Lys-Pro-Val y Lys-Pro-(D-Val), y  
 donde Aa<sub>1</sub>, Aa<sub>2</sub>, Aa<sub>3</sub>, Aa<sub>4</sub>, Aa<sub>5</sub>, Aa<sub>6</sub> y Aa<sub>7</sub> pueden ser independientemente cualquier residuo de aminoácido natural o artificial o estar ausente, y  
 donde el extremo carboxi terminal de dicho péptido es -C(=O)-B1, en el que B1 se selecciona entre OH, NH<sub>2</sub>, NHB2, N(B2)(B3), OB2 y B2, donde B2 y B3 se seleccionan independientemente entre C<sub>1-6</sub> alquilo opcionalmente sustituido, C<sub>2-6</sub> alqueno opcionalmente sustituido, C<sub>6-10</sub> arilo opcionalmente sustituido, C<sub>7-16</sub> aralquilo opcionalmente sustituido y C<sub>7-16</sub> alquilarilo opcionalmente sustituido; y  
 15 donde el extremo amino terminal de dicho péptido es (B4)HN-, (B4)(B5)N- o (B6)HN-, donde B4 y B5 se seleccionan independientemente entre H, C<sub>1-6</sub> alquilo opcionalmente sustituido, C<sub>2-6</sub> alqueno opcionalmente sustituido, C<sub>6-10</sub> arilo opcionalmente sustituido, C<sub>7-16</sub> aralquilo opcionalmente sustituido, y C<sub>7-16</sub> alquilarilo opcionalmente sustituido; B6 es B4-C(=O)-.

En una realización preferida, la descripción se refiere a un péptido, donde el péptido comprende la secuencia de aminoácidos:

X -Aa<sub>1</sub>-Aa<sub>2</sub>-Aa<sub>3</sub>-Aa<sub>4</sub>-Aa<sub>5</sub>-Y-Aa<sub>6</sub>-Aa<sub>7</sub>-Z.

25 donde Aa<sub>1</sub>, Aa<sub>2</sub>, Aa<sub>3</sub>, Aa<sub>4</sub>, Aa<sub>5</sub>, Aa<sub>6</sub> y Aa<sub>7</sub> pueden ser independientemente cualquier residuo de aminoácido natural o artificial. Por lo tanto, Aa<sub>1</sub>, Aa<sub>2</sub>, Aa<sub>3</sub>, Aa<sub>4</sub>, Aa<sub>5</sub>, Aa<sub>6</sub> y Aa<sub>7</sub> están todos presentes en el péptido de la invención.

En una realización, la invención se refiere a péptidos de acuerdo con la invención, donde el extremo amino terminal es (B4)HN-, en el que B4 = H.

En otra realización, la invención se refiere a péptidos de acuerdo con la invención, donde el extremo carboxi terminal de dicho péptido es -C(=O)-B1, en el que B1 = OH.

Se pueden utilizar varios métodos para estabilizar péptidos contra la degradación y para disminuir la capacidad de los péptidos para reaccionar con otros compuestos, agentes y/o péptidos/proteínas por ejemplo en el plasma. La invención también se refiere a péptidos de acuerdo con la invención modificados por dichos métodos conocidos en el área. En una realización preferida, la invención se refiere a péptidos de acuerdo con la invención, donde el extremo amino terminal del péptido está modificado por acetilación. Por lo tanto, en una realización preferida, la invención se refiere a péptidos de acuerdo con la invención, donde el extremo amino terminal es (B6)HN-, en el que B6 = B4-C(=O)- y B4 = CH<sub>3</sub>. En otra realización preferida, la invención se refiere a péptidos de acuerdo con la invención, donde el extremo carboxi terminal del péptido está modificado por amidación. Por lo tanto, la invención se refiere a péptidos de acuerdo con la invención, donde el extremo carboxi terminal de dicho péptido es -C(=O)-B1, en el que B1 = NH<sub>2</sub>.

En el aspecto más amplio, X se selecciona entre Lys-Lys-Lys-Lys-Lys-Lys (SEC. ID N°: 37), Glu-Lys-Lys-Lys-Lys-Lys (SEC. ID N°: 38), Lys-Glu-Lys-Lys-Lys-Lys (SEC. ID N°: 39), Lys-Lys-Glu-Lys-Lys-Lys (SEC. ID N°: 40), Lys-Lys-Lys-Glu-Lys-Lys (SEC. ID N°: 41), Lys-Lys-Lys-Lys-Glu-Lys (SEC. ID N°: 42), Lys-Lys-Lys-Lys-Lys-Glu (SEC. ID N°: 43), Glu-Glu-Lys-Lys-Lys-Lys (SEC. ID N°: 44), Glu-Lys-Glu-Lys-Lys-Lys (SEC. ID N°: 45), Glu-Lys-Lys-Glu-Lys-Lys (SEC. ID N°: 46), Glu-Lys-Lys-Lys-Glu-Lys (SEC. ID N°: 47), Glu-Lys-Lys-Lys-Lys-Glu (SEC. ID N°: 48), Lys-Glu-Glu-Lys-Lys-Lys (SEC. ID N°: 49), Lys-Glu-Lys-Glu-Lys-Lys (SEC. ID N°: 50), Lys-Glu-Lys-Lys-Glu-Lys (SEC. ID N°: 51), Lys-Glu-Lys-Lys-Lys-Glu (SEC. ID N°: 52), Lys-Lys-Glu-Glu-Lys-Lys (SEC. ID N°: 53), Lys-Lys-Glu-Lys-Glu-Lys (SEC. ID N°: 54), Lys-Lys-Glu-Lys-Lys-Glu (SEC. ID N°: 55), Lys-Lys-Lys-Glu-Glu-Lys (SEC. ID N°: 56), Lys-Lys-Lys-Glu-Lys-Glu (SEC. ID N°: 57), Lys-Lys-Lys-Lys-Glu-Glu (SEC. ID N°: 58), Glu-Glu-Glu-Lys-Lys-Lys (SEC. ID N°: 59), Glu-Glu-Lys-Glu-Lys-Lys (SEC. ID N°: 60), Glu-Glu-Lys-Lys-Glu-Lys (SEC. ID N°: 61), Glu-Glu-Lys-Lys-Lys-Glu (SEC. ID N°: 62), Glu-Lys-Glu-Glu-Lys-Lys (SEC. ID N°: 63), Glu-Lys-Glu-Lys-Glu-Lys (SEC. ID N°: 64), Glu-Lys-Glu-Lys-Lys-Glu (SEC. ID N°: 65), Glu-Lys-Lys-Glu-Glu-Lys (SEC. ID N°: 66), Glu-Lys-Lys-Glu-Lys-Glu (SEC. ID N°: 67), Glu-Lys-Lys-Lys-Glu-Glu (SEC. ID N°: 68), Lys-Lys-Lys-Glu-Glu-Glu (SEC. ID N°: 69), Lys-Lys-Lys-Lys-Glu-Glu (SEC. ID N°: 70), Lys-Lys-Glu-Glu-Lys-Glu (SEC. ID N°: 71), Lys-Lys-Glu-Glu-Glu-Lys (SEC. ID N°: 72), Lys-Glu-Lys-Lys-Glu-Glu (SEC. ID N°: 73), Lys-Glu-Lys-Glu-Lys-Glu (SEC. ID N°: 74), Lys-Glu-Lys-Glu-Glu-Lys (SEC. ID N°: 75), Lys-Glu-Glu-Lys-Lys-Glu (SEC. ID N°: 76), Lys-Glu-Glu-Lys-Glu-Lys (SEC. ID N°: 77), Lys-Glu-Glu-Glu-Lys-Lys (SEC. ID N°: 78), Lys-Lys-Glu-Glu-Glu-Glu (SEC. ID N°: 79), Lys-Glu-Lys-Glu-Glu-Glu (SEC. ID N°: 80), Lys-Glu-Glu-Lys-Glu-Glu (SEC. ID N°: 81), Lys-Glu-Glu-Glu-Lys-Glu (SEC. ID N°: 82), Lys-Glu-Glu-Glu-Glu-Lys (SEC. ID N°: 83), Glu-Lys-Lys-Glu-Glu-Glu (SEC. ID N°: 84), Glu-Lys-Glu-Lys-Glu-Glu (SEC. ID N°: 85), Glu-Lys-Glu-Glu-Lys-Glu (SEC. ID N°: 86), Glu-Lys-Glu-Glu-Glu-Lys (SEC. ID N°: 87), Glu-Glu-Lys-Lys-Glu-Glu (SEC. ID N°: 88), Glu-Glu-Lys-Lys-Glu-Lys (SEC. ID N°: 89), Glu-Glu-Lys-Glu-Glu-Lys (SEC. ID N°: 90), Glu-Glu-Glu-Lys-Lys-Glu (SEC. ID N°: 91), Glu-Glu-Glu-Lys-Glu-Lys (SEC. ID N°: 92), Glu-Glu-Glu-Glu-Lys-Lys (SEC. ID N°: 93), Lys-Glu-Glu-Glu-Glu-Glu

(SEC. ID N°: 94), Glu-Lys-Glu-Glu-Glu-Glu (SEC. ID N°: 95), Glu-Glu-Lys-Glu-Glu-Glu (SEC. ID N°: 96), Glu-Glu-Glu-Lys-Glu-Glu (SEC. ID N°: 97), Glu-Glu-Glu-Glu-Lys-Glu (SEC. ID N°: 98), Glu-Glu-Glu-Glu-Glu-Lys (SEC. ID N°: 99), Glu-Glu-Glu-Glu-Glu-Glu (SEC. ID N°: 100).

5 Los péptidos actualmente preferidos de la invención son compuestos estabilizados de las secuencias peptídicas siguientes:

Lys-Lys-Lys-Lys-Lys-Lys-Ser-Tyr-Ser-Met-Glu-His-Phe-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-Val (SEC. ID N°: 1)  
 Glu-Glu-Glu-Glu-Glu-Glu-Ser-Tyr-Ser-Met-Glu-His-Phe-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-Val (SEC. ID N°: 2)  
 10 Lys-Lys-Lys-Lys-Lys-Lys-Ser-Tyr-Ser-Met-Glu-His-Phe-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-(D-Val) (SEC. ID N°: 3)  
 Glu-Glu-Glu-Glu-Glu-Glu-Ser-Tyr-Ser-Met-Glu-His-Phe-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-(D-Val) (SEC. ID N°: 4)  
 Lys-Lys-Lys-Lys-Lys-Lys-Ser-Tyr-Ser-Nle-Glu-His-(D-Phe)-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-Val (SEC. ID N°: 5)  
 Glu-Glu-Glu-Glu-Glu-Glu-Ser-Tyr-Ser-Nle-Glu-His-(D-Phe)-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-Val (SEC. ID N°: 6)  
 15 Lys-Lys-Lys-Lys-Lys-Lys-Ser-Tyr-Ser-Nle-Glu-His-(D-Phe)-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-(D-Val) (SEC. ID N°: 7)  
 Glu-Glu-Glu-Glu-Glu-Glu-Ser-Tyr-Ser-Nle-Glu-His-(D-Phe)-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-(D-Val) (SEC. ID N°: 8)  
 Lys-Lys-Lys-Lys-Lys-Lys-Ser-Tyr-Ser-Nle-Glu-His-D-Nal-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-Val (SEC. ID N°: 9)  
 Glu-Glu-Glu-Glu-Glu-Glu-Ser-Tyr-Ser-Nle-Glu-His-D-Nal-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-Val (SEC. ID N°: 10)  
 Lys-Lys-Lys-Lys-Lys-Lys-Ser-Tyr-Ser-Nle-Glu-His-D-Nal-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-(D-Val) (SEC. ID N°: 11)  
 Glu-Glu-Glu-Glu-Glu-Glu-Ser-Tyr-Ser-Nle-Glu-His-D-Nal-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-(D-Val) (SEC. ID N°: 12)

20 La estabilización se puede efectuar modificando el extremo N-terminal y/o el extremo C-terminal del péptido como se describió antes, por ejemplo se puede acetilar el extremo N-terminal del péptido de la invención y/o amidar el extremo C-terminal del péptido de la invención.

25 Las secuencias de aminoácidos se indican mediante el código de tres letras conocido para los aminoácidos naturales. Las modificaciones y sustituciones de los residuos de aminoácidos naturales se abrevian como sigue: Nle es la abreviatura para Norleucina. D-Nal es la abreviatura para beta-2-naftil-d-alanina. D-Val (D-valina) es la abreviatura para la configuración D de la valina. D-Phe (D-fenilalanina) es la abreviatura para la configuración D de la fenilalanina.

30 En una realización preferida, la invención se refiere a un péptido, que es un compuesto acetilado N-terminalmente y amidado C-terminalmente de:

Lys-Lys-Lys-Lys-Lys-Lys-Ser-Tyr-Ser-Met-Glu-His-Phe-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-Val (SEC. ID N°: 1).

35 En otra realización preferida, la invención se refiere a un péptido de acuerdo con la invención, que es un compuesto acetilado N-terminalmente y amidado C-terminalmente de: Glu-Glu-Glu-Glu-Glu-Glu-Ser-Tyr-Ser-Met-Glu-His-Phe-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-Val (SEC. ID N°: 2)

40 Aún en otra realización preferida, la invención se refiere a un péptido de acuerdo con la invención, que es un compuesto acetilado N-terminalmente y amidado C-terminalmente de: Lys-Lys-Lys-Lys-Lys-Lys-Ser-Tyr-Ser-Met-Glu-His-Phe-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-(D-Val) (SEC. ID N°: 3).

45 Todavía en otra realización preferida, la invención se refiere a un péptido de acuerdo con la invención, que es un compuesto acetilado N-terminalmente y amidado C-terminalmente de: Lys-Lys-Lys-Lys-Lys-Lys-Ser-Tyr-Ser-Nle-Glu-His-(D-Phe)-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-Val (SEC. ID N°: 5).

50 En otra realización preferida más, la invención se refiere a un péptido de acuerdo con la invención, que es un compuesto acetilado N-terminalmente y amidado C-terminalmente de: Lys-Lys-Lys-Lys-Lys-Lys-Ser-Tyr-Ser-Nle-Glu-His-(D-Nal)-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-Val (SEC. ID N°: 9).

Como se describió antes, los péptidos de la invención poseen un mayor efecto terapéutico y/o una mayor respuesta máxima y/o mayor eficacia máxima en comparación con el péptido natural  $\alpha$ -MSH.

55 El inventor examinó los efectos biológicos de algunos de los péptidos de la invención:

Ac-(Lys)<sub>6</sub>-Ser-Tyr-Ser-Met-Glu-His-Phe-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-Val-NH<sub>2</sub> (SEC. ID N°: 1  
 \*acetilado en el extremo N-terminal y amidado en el C-terminal),  
 Ac-(Glu)<sub>6</sub>-Ser-Tyr-Ser-Met-Glu-His-Phe-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-Val-NH<sub>2</sub> (SEC. ID N°: 2  
 60 \*acetilado en el extremo N-terminal y amidado en el C-terminal),  
 Ac-(Lys)<sub>6</sub>-Ser-Tyr-Ser-Met-Glu-His-Phe-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-(D-Val)-NH<sub>2</sub> (SEC. ID N°: 3  
 \*acetilado en el extremo N-terminal y amidado en el C-terminal),  
 Ac-(Lys)<sub>6</sub>-Ser-Tyr-Ser-Nle-Glu-His-(D-Phe)-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-Val-NH<sub>2</sub> (SEC. ID N°: 5  
 \*acetilado en el extremo N-terminal y amidado en el C-terminal),  
 65 Ac-(Lys)<sub>6</sub>-Ser-Tyr-Ser-Nle-Glu-His-(D-Nal)-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-Val-NH<sub>2</sub> (SEC. ID N°: 9  
 \*acetilado en el extremo N-terminal y amidado en el C-terminal),



En general, "Ac-" indica que el péptido de la invención está acetilado en el extremo N-terminal, y "-NH<sub>2</sub>" indica que el péptido de la invención está amidado en el extremo C-terminal.

5 En una suspensión de leucocitos humanos (diseño experimental 1), los siete péptidos inhiben de manera dependiente de la dosis, la acumulación de TNF- $\alpha$  inducida por LPS (ejemplos 1-7). Sorprendentemente, se encontró que los siete péptidos fueron más eficaces, definida la eficacia como el máximo efecto inhibitorio sobre la producción de TNF- $\alpha$ , así como más potentes, definida la potencia como la concentración de compuesto necesaria para proporcionar la máxima inhibición de la acumulación de TNF- $\alpha$ , que la hormona estimulante de los melanocitos nativa,  $\alpha$ -MSH (ejemplos 1-7).

15 El inventor también investigó el efecto de los siete péptidos mencionados antes (SEC. ID N°: 1\*, SEC. ID N°: 2\*, SEC. ID N°: 3\*, SEC. ID N°: 5\*, SEC. ID N°: 9\*, SEC. ID N°: 13\* y SEC. ID N°: 17\*, todos \*acetilados en el extremo N-terminal y amidados en el C-terminal) en un diseño en el que se indujo inflamación sistémica por infusión intravenosa de LPS en ratas (diseño experimental 2). Los péptidos de SEC. ID N°: 13 y SEC. ID N°: 17 se listan a título de referencia. Se demostró que los péptidos inhiben significativamente la acumulación de TNF- $\alpha$  en la sangre circulante inducida por LPS. Sorprendentemente, los siete péptidos (SEC. ID N°: 1\*, SEC. ID N°: 2\*, SEC. ID N°: 3\*, SEC. ID N°: 5\*, SEC. ID N°: 9\*, SEC. ID N°: 13\* y SEC. ID N°: 17\*, todos \*acetilados en el extremo N-terminal y amidados en el C-terminal) fueron capaces de inhibir la concentración de TNF- $\alpha$  en la sangre circulante en mayor grado que la hormona estimulante de los melanocitos nativa  $\alpha$ -MSH (ejemplos 1-7).

El inventor también investigó el efecto de los péptidos:

25 Ac-(Lys)<sub>6</sub>-Ser-Tyr-Ser-Met-Glu-His-Phe-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-Val-NH<sub>2</sub> (SEC. ID N°: 1 \*acetilado en el extremo N-terminal y amidado en el C-terminal), y Ac-(Lys)<sub>6</sub>-Ser-Tyr-Ser-Nle-Glu-His-D-Phe-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-Val-NH<sub>2</sub> (SEC. ID N°: 5 \*acetilado en el extremo N-terminal y amidado en el C-terminal)

30 en un diseño en el que la inflamación fue inducida por inhalación de LPS en ratas (diseño experimental 3), y demostró que los dos péptidos (SEC. ID N°: 1\* y 5\*) inhiben significativamente la acumulación de eosinófilos en los pulmones inducida por LPS (ejemplos 1 y 2). Sorprendentemente, el péptido (SEC. ID N°: 5\*) además de este efecto sobre los eosinófilos también inhibió marcadamente la infiltración de neutrófilos en mucho mayor grado que el encontrado en las ratas tratadas con la hormona estimulante de los melanocitos nativa,  $\alpha$ -MSH (ejemplo 2).

35 La isquemia temporal de riñón se ve con frecuencia como consecuencia de baja presión sanguínea, hipovolemia, intervenciones quirúrgicas que implican la reducción del flujo sanguíneo renal y/o aórtico, o asociada a septicemia. Esto se traduce en insuficiencia renal aguda inducida por isquemia, que para una gran proporción deriva en insuficiencia renal crónica. No existe actualmente ningún tratamiento eficaz para prevenir la aparición de insuficiencia renal. Un hallazgo frecuente en la fase postisquémica es el desarrollo de defectos de concentración urinaria con formación de mayor producción de orina sin soluto.

40 Se sabe que la insuficiencia renal aguda (IRA) experimental inducida por isquemia y reperfusión en ratas causa alteraciones estructurales características en el epitelio del túbulo renal asociadas a un deterioro del mecanismo de concentración urinaria. Este modelo de IRA inducida por isquemia proporciona un marco adecuado para evaluar el efecto de un análogo de MSH en una lesión inducida por isquemia. El inventor de la presente investigó el efecto del péptido Ac-(Lys)<sub>6</sub>-Ser-Tyr-Ser-Met-Glu-His-Phe-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-Val-NH<sub>2</sub> (SEC. ID N°: 1\*acetilado en el extremo N-terminal y amidado en el C-terminal) y comparó el efecto del péptido con el efecto del péptido nativo  $\alpha$ -MSH en la insuficiencia renal aguda severa inducida por oclusión bilateral temporal de las arterias renales (diseño experimental 6). Cuando se evaluó cinco días después de la oclusión temporal de la arteria renal, las ratas tratadas con vehículo presentaron poliuria definida por una diuresis 101% mayor que las ratas de control, que habían sido sometidas a un tratamiento simulado de oclusión de las arterias renales. Sorprendentemente, el compuesto (SEC. ID N°: 1 \*acetilado en el extremo N-terminal y amidado en el C-terminal) administrado en la misma cantidad molar que el péptido nativo  $\alpha$ -MSH, normalizó completamente la diuresis lo que indica que el péptido tiene la capacidad de proteger contra la IRA inducida por isquemia, mientras que el tratamiento con el péptido nativo en este escenario no pudo normalizar la producción de orina.

55 El infarto agudo de miocardio (IAM) es una de las causas más comunes de muerte en los países desarrollados. El IAM casi siempre ocurre en pacientes con ateroma coronario debido a trombosis coronaria repentina. Hoy en día, el tratamiento fibrinolítico o la angioplastia coronaria transluminal percutánea primaria (ACTPp) son tratamientos corrientes y pueden lograr la reperfusión temprana en 50-70% de los pacientes (la tasa de reperfusión espontánea es menor de 30%). El objetivo de la reperfusión es reducir el tamaño del infarto, reduciendo así el desarrollo de la disfunción miocárdica. El efecto general de la fibrinólisis/ACTPp es una reducción del 20% en la mortalidad a corto y largo plazo. Sin embargo, el IAM se asocia a una reacción inflamatoria, que es un requisito previo para la curación y la formación de cicatriz. La oclusión de la arteria coronaria reduce críticamente el flujo sanguíneo a la porción del miocardio, que deteriora notablemente el metabolismo energético. Una prolongada duración de la isquemia (>20 min) induce el infarto y da lugar a una respuesta inflamatoria, que es acelerada y aumentada cuando el miocardio isquémico es reperfundido.

La isquemia/reperfusión miocárdica (IRM) activa no sólo una respuesta de reperfusión inflamatoria clásica con infiltración de neutrófilos, sino también la expresión de genes de citocinas del miocardio como el factor de necrosis tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), las interleucinas (IL)-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, el interferón- $\gamma$  y la molécula de adhesión intercelular 1 (ICAM-1). Esta sobreexpresión miocárdica local de las citocinas puede desempeñar un papel fundamental no sólo en la modulación del tamaño del infarto, sino también en el progreso de la disfunción miocárdica, incluidas la remodelación de la pared vascular, la insuficiencia cardíaca y la hipertrofia cardíaca. Además, se ha sugerido que el TNF- $\alpha$  producido localmente contribuye a la disfunción miocárdica postisquémica a través de la depresión directa de la contractilidad y la inducción de apoptosis.

Un número creciente de estudios experimentales ha demostrado que las estrategias antiinflamatorias/antioxidantes/antiapoptóticas tienen la capacidad de reducir el tamaño del infarto en modelos animales de IRM. Sin embargo, ningún estudio clínico ha demostrado efectos significativos en los seres humanos.

En un modelo de isquemia/reperfusión miocárdica en ratas en el cual se ocluyó la arteria coronaria anterior izquierda durante 60 minutos, se administró tratamiento con un péptido de acuerdo con la invención justo antes de eliminar la oclusión de la arteria coronaria y después las ratas se controlaron durante otras tres horas. Después se evaluó la capacidad de los péptidos para reducir el tamaño del infarto y se comparó con el efecto del péptido nativo  $\alpha$ -MSH (diseño experimental 5).

Sorprendentemente los tres péptidos:

25	Ac-(Lys) <sub>6</sub> -Ser-Tyr-Ser-Met-Glu-His-Phe-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-Val-NH <sub>2</sub> *acetilado en el extremo N-terminal y amidado en el C-terminal),	(SEC.	ID	Nº:	1
	Ac-(Lys) <sub>6</sub> -Ser-Tyr-Ser-Nle-Glu-His-D-Phe-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-Val-NH <sub>2</sub> *acetilado en el extremo N-terminal y amidado en el C-terminal), y	(SEC.	ID	Nº:	5
	Ac-(Lys) <sub>6</sub> -Ser-Tyr-Ser-Nle-Glu-His-D-Nal-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-Val-NH <sub>2</sub> *acetilado en el extremo N-terminal y amidado en el C-terminal) redujeron el tamaño del infarto en mayor grado que el péptido nativo $\alpha$ -MSH (ejemplos 1, 3-4).	(SEC.	ID	Nº:	9

A la luz de las propiedades funcionales de los péptidos descritos antes y en los ejemplos, la invención se refiere a péptidos que tienen al menos una de las propiedades siguientes:

- a) inhiben la producción de TNF- $\alpha$  por los leucocitos humanos inducida por LPS
- b) inhiben la infiltración de eosinófilos en los pulmones inducida por inflamación
- c) inhiben la infiltración de neutrófilos en los pulmones inducida por inflamación
- d) inhiben la acumulación de TNF- $\alpha$  en la sangre circulante inducida por inflamación
- e) reducen la insuficiencia renal aguda inducida por isquemia
- f) reducen el tamaño del infarto de miocardio
- g) reducen el grado de insuficiencia cardíaca postinfarto de miocardio
- h) reducen la hipertensión vascular pulmonar
- i) reducen la insuficiencia renal inducida por cisplatino

El péptido puede tener más de una de esas propiedades, como por ejemplo 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 o todas las propiedades anteriores. Esas propiedades se pueden probar como se indica en los ejemplos.

Como se describió antes, los análogos de  $\alpha$ -MSH de la invención se caracterizan por tener una mayor eficacia en comparación con la  $\alpha$ -MSH nativa.

En esta especificación y las reivindicaciones, el término "eficacia" se define como la máxima respuesta obtenible por un compuesto. Los análogos de  $\alpha$ -MSH de la invención son capaces de producir una respuesta máxima mayor en comparación con  $\alpha$ -MSH nativa en los distintos experimentos descritos en los ejemplos.

Preferentemente, un análogo de  $\alpha$ -MSH de la invención inhibe la producción de TNF- $\alpha$  por los leucocitos humanos inducida por LPS, en un mínimo de 10%, más preferentemente en 25% y muy preferentemente en 40% en comparación con  $\alpha$ -MSH.

Además, un análogo de  $\alpha$ -MSH de la invención puede inhibir la infiltración de eosinófilos en los pulmones inducida por inflamación, medida por la capacidad de reducir el número de eosinófilos en el líquido recogido por lavado bronquioalveolar o un método comparable. El efecto mínimo esperado es de 10%, más preferentemente de 25% y muy preferentemente se encuentra 50% de reducción en los eosinófilos en comparación con  $\alpha$ -MSH.

Además, un análogo de  $\alpha$ -MSH de la invención puede inhibir la infiltración de neutrófilos en los pulmones inducida por inflamación, medida por la capacidad de reducir el número de neutrófilos en el líquido recogido por lavado bronquioalveolar o un método comparable. El efecto mínimo esperado es de 10%, más preferentemente de 20% y muy preferentemente se encuentra 40% de reducción en los neutrófilos en comparación con  $\alpha$ -MSH.

Un análogo de  $\alpha$ -MSH de la invención también puede inhibir la acumulación de TNF- $\alpha$  en la sangre circulante inducida por inflamación en un mínimo de 10%, más preferentemente en 25% y muy preferentemente en 40% en comparación con  $\alpha$ -MSH.

Por otra parte, un análogo de  $\alpha$ -MSH de la invención puede reducir la insuficiencia renal aguda inducida por isquemia, medida por la capacidad de reducir el grado de poliuria postisquémica. El efecto mínimo esperado es 10%, más preferentemente 30% y muy preferentemente se encuentra 50% de reducción en la poliuria en comparación con  $\alpha$ -MSH.

Además, un análogo de la  $\alpha$ -MSH de la invención puede reducir el tamaño del infarto de miocardio evidenciado por la capacidad de reducir el tamaño del área necrótica en el miocardio isquémico. El efecto mínimo esperado es 10%, más preferentemente 20% y muy preferentemente se encuentra 30% de reducción en el tamaño del infarto cuando se compara con  $\alpha$ -MSH.

En otro aspecto, un análogo de  $\alpha$ -MSH de la invención puede reducir el grado de insuficiencia cardíaca postinfarto de miocardio como se evidencia por el rendimiento cardíaco evaluado mediante medición directa de la presión diastólica final del ventrículo izquierdo o una medida cuantitativa similar. El efecto mínimo esperado es 10%, más preferentemente 20% y muy preferentemente se encuentra 25% de reducción en el grado de insuficiencia cardíaca cuando se compara con  $\alpha$ -MSH.

Aún en otro aspecto, un análogo de  $\alpha$ -MSH de la invención puede reducir la hipertensión vascular pulmonar. El efecto mínimo esperado es 10%, más preferentemente 20% y muy preferentemente se encuentra 30% de reducción en la presión arterial pulmonar cuando se compara con  $\alpha$ -MSH.

En otro aspecto, un análogo de  $\alpha$ -MSH de la invención puede reducir la insuficiencia renal inducida por cisplatino. El efecto mínimo esperado es 10%, más preferentemente 20% y en el escenario que más se prefiere se encuentra 30% de reducción en la hipomagnesemia final o la tasa de filtración glomerular cuando se compara con  $\alpha$ -MSH.

Como se describió antes, el péptido nativo hormona estimulante de los melanocitos  $\alpha$  ( $\alpha$ -MSH) se conoce como el agonista nativo para el receptor de melanocortina (MC) tipo 1, tipo 3, tipo 4 y tipo 5, mientras que ACTH es el ligando nativo para el receptor tipo 2 (MC2). Como los péptidos comprenden la secuencia de aminoácidos de  $\alpha$ -MSH o un análogo de la misma, los péptidos de la invención tienen la capacidad de estimular uno o más receptores de melanocortina, es decir el receptor de melanocortina tipo 1, 3, 4 o 5.

#### *Métodos de preparación de los péptidos de la invención*

Los péptidos de la invención se pueden preparar por métodos conocidos por sí mismos en el área. Por lo tanto,  $\alpha$ -MSH, las variantes de  $\alpha$ -MSH, los análogos de  $\alpha$ -MSH y el motivo X se pueden preparar mediante técnicas corrientes de preparación de péptidos como síntesis en solución o síntesis en fase sólida tipo Merrifield.

En una estrategia de síntesis posible, los péptidos de la invención se pueden preparar por síntesis en fase sólida construyendo en primer lugar la secuencia peptídica farmacológicamente activa ( $\alpha$ -MSH, variante de  $\alpha$ -MSH o análogo de  $\alpha$ -MSH) empleando los procedimientos estándar bien conocidos de protección, acoplamiento y desprotección, luego acoplando secuencialmente la secuencia de aminoácidos del motivo X en el péptido activo de manera similar a la construcción del péptido activo, y finalmente escindiendo el péptido entero del portador. Esta estrategia produce un péptido, en donde la secuencia peptídica X se une covalentemente al péptido farmacológicamente activo en el átomo de nitrógeno N-terminal del péptido.

Otra estrategia posible es preparar la secuencia del péptido o el análogo de  $\alpha$ -MSH y el motivo X (o partes de éstos) por separado, mediante síntesis en solución, síntesis en fase sólida, técnicas de recombinación o síntesis enzimática, seguidas del acoplamiento de las dos secuencias por procedimientos de condensación del segmento bien conocidos, ya sea en solución o utilizando técnicas en fase sólida o una combinación de éstos. En una realización, el péptido/análogo de  $\alpha$ -MSH se puede preparar por métodos de recombinación de ADN y el motivo X se puede preparar por síntesis en fase sólida. La conjugación del péptido/análogo de  $\alpha$ -MSH y el motivo X se puede llevar a cabo mediante el uso de ligadura química. Esta técnica permite el ensamblaje de segmentos peptídicos totalmente desprotegidos de manera altamente específica (Liu *et al.*, 1996). La conjugación también se puede realizar por formación del enlace peptídico catalizada por proteasa, que ofrece una técnica altamente específica para combinar segmentos peptídicos totalmente desprotegidos a través de un enlace peptídico (Kullmann, 1987).

Ejemplos de materiales de soporte sólidos (MSS) adecuados son por ejemplo, resinas funcionalizadas como poliestireno, poliácridamida, polidimetilacrilamida, polietilenglicol, celulosa, polietileno, polietilenglicol injertado en poliestireno, látex, dynabeads, etc.

Se debe entender que puede ser necesario o deseable que el aminoácido C-terminal de la secuencia peptídica del motivo X o el aminoácido C-terminal de  $\alpha$ -MSH, la variante de  $\alpha$ -MSH o el análogo de  $\alpha$ -MSH esté unido al material

de soporte sólido por medio de un ligador común como 2,4-dimetoxi-4'-hidroxi-benzofenona, ácido 4-(4-hidroximetil-3-metoxifenoxi)butírico, ácido 4-hidroximetilbenzoico, ácido 4-hidroximetil-fenoxiacético, ácido 3-(4-hidroximetilfenoxi)propiónico y ácido p-[(R,S)-a[1-(9H-fluoren-9-il)metoxiformamido]-2,4-dimetoxibencil]fenoxiacético.

5 Los péptidos de la invención se pueden escindir del material de soporte sólido por medio de un ácido como ácido trifluoracético, ácido trifluorometanosulfónico, ácido bromhídrico, ácido clorhídrico, ácido fluorhídrico, etc. opcionalmente en combinación con uno o más "antioxidantes" adecuados para el propósito, por ejemplo, etanoditiol, triisopropilsilano, fenol, tioanisol, etc., o el conjugado del péptido de la invención se puede escindir del soporte sólido por medio de una base como amoniaco, hidrazina, un alcóxido como etóxido de sodio, un hidróxido como hidróxido de sodio, etc.

10 Los péptidos de la invención también se pueden preparar por medio de tecnología de recombinación del ADN usando los métodos y los principios generales conocidos por los expertos en el área. Una secuencia de ácido nucleico que codifica el péptido de la invención se puede preparar sintéticamente por métodos de estándar establecidos, por ejemplo, el método de fosfoamidita. Según el método de la fosfoamidita, los oligonucleótidos se sintetizan, por ejemplo, en un sintetizador automático de ADN, se purifican, aparean, ligan y clonan en vectores adecuados.

15 La secuencia de ácido nucleico que codifica el péptido de la invención, se inserta después en un vector de expresión recombinante, que puede ser cualquier vector que pueda ser convenientemente sometido a procedimientos de recombinación del ADN. La elección del vector dependerá a menudo de la célula huésped en la cual debe ser introducido. Por lo tanto, el vector puede ser un vector que se replica autónomamente, es decir, un vector, que existe como una entidad extracromosómica, cuya replicación es independiente de la replicación cromosómica, por ejemplo, un plásmido. Alternativamente, el vector puede ser uno que, cuando se introduce en una célula huésped, se integra en el genoma de la célula huésped y se replica junto con el o los cromosomas en los que se ha integrado.

20 En el vector, la secuencia de ácido nucleico que codifica el péptido de la presente invención debe estar conectada operativamente a una secuencia promotora adecuada. El promotor puede ser cualquier secuencia de ácido nucleico que tenga actividad transcripcional en la célula huésped de elección y se pueda derivar de genes que codifican proteínas homólogas o heterólogas a la célula huésped. Los ejemplos de promotores adecuados para dirigir la transcripción de la secuencia de ácido nucleico que codifica dicho péptido en células de mamíferos son, el promotor de SV40, el promotor de MT-1 (gen de la metalotioneína) o el promotor principal tardío de los adenovirus tipo 2, un promotor del virus del sarcoma de Rous (RSV), el promotor del citomegalovirus (CMV) y un promotor del virus del papiloma bovino (BPV). Un promotor adecuado para utilizar en células de insectos es el promotor de la poliedrina.

30 Los ejemplos de promotores adecuados para dirigir la transcripción de la secuencia de ácido nucleico que codifica el péptido de la invención, especialmente en una célula huésped bacteriana, son los promotores obtenidos del operón lac de *E. coli*, del gen de la agarasa del *Streptomyces coelicolor* (*dagA*), el gen de la levansucrasa del *Bacillus subtilis* (*sacB*), el gen de la alfa-amilasa del *Bacillus licheniformis* (*amyL*), el gen de la amilasa maltogénica del *Bacillus stearothermophilus* (*amyM*), el gen de la alfa-amilasa del *Bacillus amyloliquefaciens* (*amyQ*), el gen de la penicilinas del *Bacillus licheniformis* (*penP*), los genes *xylA* y *xylB* del *Bacillus subtilis* y el gen de la beta-lactamasa procariótica, así como el promotor *tac*. Otros promotores se describen en "Useful proteins from recombinant bacteria" in *Scientific American*, 1980, 242:74-94; y en Sambrook *et al.*, 1989, supra.

45 Los ejemplos de promotores adecuados para dirigir la transcripción de la secuencia de ácido nucleico que codifica el péptido de la invención en una célula huésped de un hongo filamentoso son promotores obtenidos de los genes que codifican la TAKA amilasa de *Aspergillus oryzae*, la proteinasa aspártica de *Rhizomucor miehei*, la alfa-amilasa neutra del *Aspergillus niger*, la alfa-amilasa estable al ácido del *Aspergillus niger*, la glucoamilasa del *Aspergillus niger* o *Aspergillus awamori* (*glaA*), la lipasa del *Rhizomucor miehei*, la proteasa alcalina del *Aspergillus oryzae*, la triosa fosfato isomerasa del *Aspergillus oryzae*, la acetamidasa del *Aspergillus nidulans*, la proteasa tipo tripsina del *Fusarium oxysporum* (como se describe en la patente de los Estados Unidos N° 4,288,627, que se incorpora aquí por referencia) y sus híbridos. Los promotores particularmente preferidos para usar en células huésped de hongos filamentosos son la TAKA amilasa, NA2-tpi (un híbrido de los promotores de los genes que codifican la  $\alpha$ -amilasa neutra del *Aspergillus niger* y la triosa fosfato isomerasa del *Aspergillus oryzae*) y los promotores de *glaA*.

50 En una célula huésped de levadura, los promotores útiles se obtienen del gen de la enolasa del *Saccharomyces cerevisiae* (*ENO-1*), el gen de la galactocinasa del *Saccharomyces cerevisiae* (*GAL1*), los genes de la alcohol deshidrogenasa/gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa del *Saccharomyces cerevisiae* (*ADH2/GAP*) y el gen de la 3-fosfoglicerato cinasa del *Saccharomyces cerevisiae*. Otros promotores útiles para las células huésped de levadura son descritos por Romanos *et al.*, 1992, *Yeast* 8:423-488.

60 La secuencia de ácido nucleico que codifica dicho péptido de la invención también puede estar conectada operativamente a un terminador adecuado, como el terminador de la hormona del crecimiento humana. Los terminadores preferidos para las células huésped de hongos filamentosos se obtienen de los genes que codifican la TAKA amilasa del *Aspergillus oryzae*, la glucoamilasa del *Aspergillus niger*, la antranilato sintasa del *Aspergillus nidulans*, la alfa-glucosidasa del *Aspergillus niger* y la proteasa tipo tripsina del *Fusarium oxysporum*.

Los terminadores preferidos para las células huésped de levadura se obtienen de los genes que codifican la enolasa del *Saccharomyces cerevisiae*, el citocromo C (CYC1) del *Saccharomyces cerevisiae* o la gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa del *Saccharomyces cerevisiae*. Otros terminadores útiles para las células huésped de levaduras son descritos por Romanos *et al.*, 1992, *supra*.

El vector puede comprender además elementos como señales de poliadenilación (por ejemplo, de SV40 o la región 5' Elb del adenovirus), secuencias potenciadoras de la transcripción, (por ejemplo, el potenciador de SV40) y secuencias potenciadoras de la traducción (por ejemplo, las que codifican los ARN AV de los adenovirus). Por otra parte, las secuencias de poliadenilación preferidas para las células huésped de hongos filamentosos se obtienen de los genes que codifican la TAKA amilasa del *Aspergillus oryzae*, la glucoamilasa del *Aspergillus niger*, la antranilato sintasa del *Aspergillus nidulans* y la alfa-glucosidasa del *Aspergillus niger*. Las secuencias de poliadenilación útiles para las células huésped de levadura son descritas por Guo y Sherman, 1995, *Molecular Cellular Biology* 15:5983-5990.

El vector de expresión recombinante puede comprender además una secuencia de ADN que permita que el vector se replique en la célula huésped en cuestión. Ejemplos de tal secuencia (cuando la célula huésped es una célula de mamífero) es el origen de replicación del SV40 o el poliovirus. Los ejemplos de orígenes de replicación bacterianos son los orígenes de replicación de los plásmidos pBR322, pUC19, pACYC177, pACYC184, pUB110, pE194, pTA1060 y pAMβ1. Los ejemplos de orígenes de replicación para usar en una célula huésped de levadura son el origen de replicación de 2 micras, la combinación de CEN6 y ARS4 y la combinación de CEN3 y ARS1. El origen de replicación puede ser uno que tenga una mutación para hacer su función sensible a la temperatura en la célula huésped (véase, por ejemplo, Ehrlich, 1978, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 75:1433).

El vector también puede comprender un marcador seleccionable, por ejemplo, un gen cuyo producto complemente un defecto de la célula huésped, como el gen que codifica la dihidrofolato reductasa (DHFR) o uno que le confiera resistencia a un fármaco, por ejemplo, neomicina, geneticina, ampicilina o higromicina. Los marcadores adecuados para las células huésped de levadura son ADE2, HIS3, LEU2, LYS2, MET3, TRP1 y URA3. Un marcador seleccionable para usar en una célula huésped de hongo filamentosos se puede seleccionar del grupo, que incluye, pero no exclusivamente, amdS (acetamidasa), argB (ornitina carbamoiltransferasa), bar (fosfinotricina acetiltransferasa), hygB (higromicina fosfotransferasa), niaD (nitrito reductasa), pyrG (orotidina 5'-fosfato decarboxilasa), sC (sulfato adeniltransferasa), trpC (antranilato sintasa) y marcadores de resistencia al glufosinato, así como equivalentes de otras especies. Los marcadores preferidos para usar en una célula de *Aspergillus* son los marcadores amdS y pyrG de *Aspergillus nidulans* o *Aspergillus oryzae* y el marcador bar de *Streptomyces hygrosopicus*. Además, la selección se puede lograr por cotransformación, por ejemplo, como se describe en WO 91/17243, donde el marcador seleccionable está en un vector separado.

Los procedimientos que se utilizan para enlazar las secuencias de ácido nucleico que codifican el péptido de la invención, el promotor y el terminador, respectivamente, y para insertarlos en vectores adecuados que contienen la información necesaria para la replicación, son bien conocidos por los expertos en la materia (cf., por ejemplo, Sambrook *et al.*, *op.cit.*).

La célula huésped en la cual se introduce el vector de expresión puede ser cualquier célula que sea capaz de producir el péptido de la invención y puede ser una célula eucariota, como células de invertebrados (insectos) o células de vertebrados, por ejemplo, ovocitos de *Xenopus laevis* o células de mamíferos, en particular células de mamíferos y de insectos. Los ejemplos de líneas celulares de mamífero adecuadas son las líneas celulares COS (p. ej., ATCC CRL 1650), BHK (p. ej., ATCC CRL 1632, ATCC CCL 10) o CHO (p. ej., ATCC CCL 61).

Los métodos para transfectar células de mamífero y expresar secuencias de ADN introducidas en las células pueden ser cualquier método conocido en el área (p. ej. MANIATIS, T., E. F. FRITSCH y J. SAMBROOK, 1982 *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, Nueva York).

La célula huésped también puede ser un patógeno unicelular, por ejemplo, un procarionte, o un patógeno no unicelular, por ejemplo, un eucariota. Las células unicelulares útiles son células bacterianas como bacterias grampositivas que incluyen, pero no exclusivamente, una célula de *Bacillus*, por ejemplo, *Bacillus alkalophilus*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus brevis*, *Bacillus circulans*, *Bacillus coagulans*, *Bacillus lautus*, *Bacillus lentus*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus stearothermophilus*, *Bacillus subtilis*, y *Bacillus thuringiensis*; o una célula de *Streptomyces*, por ejemplo, *Streptomyces lividans* o *Streptomyces murinus*, o bacterias gramnegativas como *E. coli* y *Pseudomonas* sp. La transformación de una célula huésped bacteriana, por ejemplo, puede ser efectuada mediante transformación por protoplastos, mediante el uso de células competentes, mediante electroporación o mediante conjugación.

La célula huésped puede ser una célula fúngica. "Hongos" como se usa en el presente documento incluye filos Ascomycota, Basidiomycota, Chytridiomycota y Zygomycota, y todos los hongos mitospóricos. Los grupos representativos de Ascomycota incluyen, por ejemplo, *Neurospora*, *Eupenicillium* (=Penicillium), *Emmericella* (=Aspergillus), *Eurotium* (=Aspergillus), y las levaduras verdaderas mencionadas antes. La célula huésped de hongo

también puede ser una célula de levadura. "Levadura" como se usa en este documento incluye levaduras ascosporógenas (Endomycetales), levaduras basidiosporógenas y levaduras perteneciente a los hongos imperfectos (Blastomycetes). El medio utilizado para cultivar las células puede ser cualquier medio convencional adecuado para el cultivo de células de mamífero, como un medio que contenga suero o un medio exento de suero que contenga suplementos apropiados, o un medio adecuado para el cultivo de células de insectos, levaduras u hongos. Los medios adecuados se pueden adquirir a proveedores comerciales o se pueden preparar según fórmulas publicadas (por ejemplo, en catálogos de la American Type Culture Collection).

El péptido de la invención producido por las células se puede recuperar después del medio de cultivo por procedimientos convencionales, que incluyen la separación de las células huésped del medio por centrifugación o filtración, la precipitación de los componentes proteicos del sobrenadante o filtrado por medio de una sal, por ejemplo, sulfato de amonio, la purificación por diversos procedimientos cromatográficos, por ejemplo, cromatografía de intercambio iónico, cromatografía de afinidad, o similares.

Por lo tanto, la presente invención se refiere a los métodos para la preparación de los péptidos de acuerdo con la invención, mediante tecnología de recombinación del ADN que incluye los pasos de (a) introducir una secuencia de ácido nucleico que codifica dicho péptido en una célula huésped y (b) cultivar dicha célula huésped y (c) aislar dicho péptido del cultivo o (a) cultivar una célula huésped recombinada que comprenda una secuencia de ácido nucleico que codifica dicho péptido en condiciones que permitan la producción de dicho péptido y (b) aislar dicho péptido del cultivo.

#### *Uso*

La invención también se refiere a péptidos de acuerdo con la invención para usar en medicina, en particular para usar en relación con una o más de las afecciones, trastornos o enfermedades mencionados antes o a continuación.

En una realización, la invención se refiere al uso de uno o más péptidos de acuerdo con la invención para la fabricación de una composición farmacéutica destinada al tratamiento o la profilaxis de una afección en el tejido de uno o más órganos de un mamífero. El órgano se puede seleccionar, pero no exclusivamente, del grupo que consiste en riñón, hígado, cerebro, corazón, músculos, médula ósea, piel, esqueleto, pulmones, aparato respiratorio, bazo, glándulas exocrinas, vejiga, glándulas endocrinas, órganos reproductivos, incluidas las trompas de falopio, ojo, oído, sistema vascular, aparato digestivo que incluyen intestino delgado, colon, recto y canal anal, y próstata.

Como se describió antes, los péptidos de la invención muestran mayores efectos antiinflamatorios y mayor capacidad para prevenir enfermedades isquémicas en comparación con  $\alpha$ -MSH.

Por lo tanto, la presente invención se refiere al uso de uno o más péptidos de acuerdo con la invención para la fabricación de una composición farmacéutica destinada al tratamiento o la profilaxis de una afección en el tejido de uno o más órganos de un mamífero, donde dicha afección es una afección isquémica o inflamatoria. La afección también se puede deber a una insuficiencia de un tejido u órgano inducida por una toxina o por un fármaco.

En la presente especificación y las reivindicaciones, el término "tratamiento" incluirá en general el tratamiento de una afección existente, así como la prevención de dicha afección (tratamiento profiláctico) a menos que el texto excluya específicamente esta interpretación.

En su concepto más amplio la invención se refiere a cualquier afección en la que se altera la función normal de los órganos o tejidos debido a isquemia o inflamación. La lesión puede incluir lesión aguda y/o crónica. La lesión crónica incluye situaciones de lesiones repetitivas, alternando con períodos de recuperación total o parcial de la función de los órganos o tejidos.

#### *Isquemia*

En la presente especificación y las reivindicaciones, isquemia se define como una reducción del flujo sanguíneo a uno o más órganos, resultando en una reducción del suministro de oxígeno y/o la utilización de éste por los tejidos. La isquemia se puede producir en uno o más órganos como: cerebro, corazón, extremidades, riñones, bazo, hígado, intestino, estómago, pulmón, ojos, piel, músculos, páncreas, órganos endocrinos y otros.

La isquemia induce, por reducción o detención total del suministro de sangre arterial, múltiples reacciones del tejido, como acumulación de neutrófilos, otras respuestas inflamatorias y muerte celular. La isquemia está implicada en múltiples enfermedades, está asociada a una cirugía mayor y es secundaria a otras enfermedades graves. La identificación de compuestos que puedan inhibir o impedir (total o parcialmente) muchas de las deficiencias o destrucciones de células/tejidos/órganos que se producen como resultado de la isquemia es muy beneficiosa.

La afección a tratar puede ser debida a, o ser causada por, isquemia del tejido como una estenosis arterial o cualquier otra restricción total o parcial en el suministro de sangre. La isquemia puede ser aguda o crónica dependiendo de la gravedad de la enfermedad y, además, la afección puede ser reversible o irreversible. Un ejemplo

de una afección reversible puede deberse a la caída en la presión arterial durante una cirugía u otra intervención, que afecte la perfusión sanguínea del órgano. Por consiguiente, la afección a tratar puede ser cualquier disminución del flujo sanguíneo sistémico como hipotensión, que pueda afectar el flujo sanguíneo sistémico al intestino, riñón corazón o cualquier otro órgano.

5 En una realización, la invención se refiere al uso de un péptido de acuerdo con la invención para la fabricación de una composición farmacéutica destinada al tratamiento de la isquemia, donde dicha afección es causada por isquemia aguda, subaguda o crónica.

10 La isquemia aguda, subaguda o crónica de una extremidad, un órgano o un tejido puede ser causada por una amplia diversidad de enfermedades. Esto incluye (lista no limitante) enfermedad ateromatosa con trombosis, embolia cardíaca o de los vasos sanguíneos de cualquier órgano, vasoespasmo, aneurisma aórtico o aneurismas en otros órganos, aneurisma torácico o abdominal o aórtico por disección, hipotensión debida a enfermedad cardíaca, hipotensión debida a enfermedad sistémica, incluidas infección o reacciones alérgicas, hipotensión debida a uno o más compuestos tóxicos o venenos o fármacos.

15 En una segunda realización, la invención se refiere al uso de un péptido de acuerdo con la invención para la fabricación de una composición farmacéutica destinada al tratamiento de isquemia, donde dicha afección es causada por isquemia secundaria.

20 La isquemia secundaria a una enfermedad o afección se puede observar en una o más de las enfermedades y afecciones elegidas entre: diabetes mellitus, hiperlipidemia, tromboangeítis obliterante (enfermedad de Buerger), síndrome de Takayasu, arteritis temporal, síndrome mucocutáneo linfonodular (enfermedad de Kawasaki), sífilis cardiovascular, trastornos del tejido conectivo como la enfermedad de Raynaud, flegmasia cerúlea dolorosa, traumatismo de vasos sanguíneos, incluido traumatismo yatrogénico como por canulación o cirugía o trasplante de órgano. Por otra parte, la lista incluye isquemia causada por cirugía de uno o más órganos, trasplante de uno o más órganos, inserción quirúrgica de trasplantes, dispositivos, injertos, prótesis u otros compuestos biomédicos o dispositivos.

25 En una tercera realización, la invención se refiere al uso de un péptido de acuerdo con la invención, donde dicha afección es causada por isquemia debida a choque séptico o afecciones asociadas a hipotensión sistémica.

#### Afección inflamatoria

35 Mediante la expresión "una afección inflamatoria" se da a entender en el contexto de la presente una afección en la cual mecanismos como la reacción de los linfocitos T o anticuerpos específicos con el antígeno provoca el reclutamiento de células inflamatorias y productos químicos mediadores endógenos. En algunos casos, la función normal del órgano o tejido se verá alterada por un aumento en la permeabilidad vascular y/o por la contracción del músculo liso visceral. Dichas afecciones inflamatorias pueden dar lugar a enfermedades inflamatorias.

40 En una realización, la invención se refiere al uso de uno o más péptidos de acuerdo con la invención para la fabricación de una composición farmacéutica destinada al tratamiento o la profilaxis de una afección en el tejido de uno o más órganos de un mamífero, donde dicha afección es una afección inflamatoria. Una afección inflamatoria puede ser causada por enfermedades inflamatorias que incluyen (lista no limitante): artritis, (incluidas enfermedades asociadas a artritis), artrosis, artritis reumatoidea; espondiloartropatías (por ej. espondilitis anquilosante), artritis reactiva (incluida artritis después de fiebre reumática), púrpura de Henoch-Schonlein y enfermedad de Reiter. Además las enfermedades inflamatorias incluyen trastornos del tejido conectivo como lupus eritematoso sistémico, polimiositis, dermatomiositis, esclerodermia, enfermedad mixta del tejido conectivo, sarcoidosis y síndrome primario de Sjogrens que incluye queratoconjuntivitis seca, polimialgia reumática y otros tipos de vasculitis, enfermedades de depósito de cristales (como gota), artropatía por pirofosfato, periartitis calcificada aguda. Además las enfermedades inflamatorias incluyen artritis juvenil (enfermedad de Still), psoriasis, artrosis, artrosis secundaria por hipermovilidad, displasias congénitas, epífisis femoral deslizada, enfermedad de Perthes, fracturas intraarticulares, menissectomía, obesidad, dislocación recurrente, acciones repetitivas, depósitos de cristales y enfermedades y anomalías metabólicas del cartilago como artropatía por pirofosfato, ocrónosis, hemocromatosis, necrosis avascular, inclusive enfermedad de células falciformes, terapia con corticoides u otros fármacos, enfermedad de Caisson, artritis séptica o infecciosa (inclusive artritis tuberculosa, artritis meningocócica, artritis gonocócica, artritis por Salmonella), endocarditis infecciosa (inclusive endocarditis inducida por Streptococcus viridans, Enterococcus Faecalis, Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, Histoplasma, Brucella, Candida y especies de Aspergillus y Coxiella Burnetii), artritis viral (inclusive la infección por rubéola, paperas, hepatitis B, VIH o parvovirus) o hemartrosis recurrente. Además las enfermedades inflamatorias incluyen vasculitis como vasculitis infecciosa debida a infecciones con especies bacterianas incluidas las enfermedades por espiroqueta como la enfermedad de Lyme, sífilis, infecciones por rickettsia y micobacterias, infecciones fúngicas, virales o por protozoarios. Además las enfermedades inflamatorias incluyen vasculitis no infecciosa como arteritis de Takayasu, arteritis de células gigantes (arteritis temporal y polimialgia reumática), enfermedad de Buerger, poliarteritis nodosa, poliarteritis microscópica, granulomatosis de Wegener, síndrome de Churg-Strauss, vasculitis secundaria a enfermedades del tejido conectivo como lupus eritematoso sistémico, polimiositis, dermatomiositis, esclerodermia, enfermedad mixta

del tejido conectivo, sarcoidosis y síndrome primario Sjogrens. Además las enfermedades inflamatorias incluyen vasculitis secundaria a artritis reumatoidea.

5 Además las enfermedades inflamatorias incluyen vasculitis no infecciosa secundaria a hipersensibilidad y vasculitis leucocitoclástica que incluye enfermedad del suero, púrpura de Henoch-Schonlein, vasculitis medicamentosa, crioglobulinemia mixta esencial, hipocomplementemia, vasculitis asociada a otros tipos de neoplasias, enfermedad inflamatoria intestinal y cirrosis biliar primaria, y síndrome de Goodpasture.

10 Además las enfermedades inflamatorias incluyen todo tipo de artritis en niños como artritis crónica juvenil, incluidas enfermedad de Still, artritis reumatoidea juvenil y espondilitis anquilosante juvenil.

15 Además, las enfermedades inflamatorias incluyen enfermedades de las vías respiratorias superiores e inferiores como enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), asma alérgica y no alérgica, rinitis alérgica, conjuntivitis alérgica y no alérgica. Además, las enfermedades inflamatorias incluyen también dermatitis alérgica y no alérgica.

Además las enfermedades inflamatorias incluyen todo tipo de enfermedades de depósito como gota, artropatía por pirofosfato y periartitis calcificada aguda.

20 Además las enfermedades inflamatorias incluyen todo tipo de afecciones inflamatorias que causan lumbalgia como infecciones, discitis séptica, tuberculosis, neoplasias (como metástasis, mieloma y otras), tumores espinales, espondilitis anquilosante, prolapsos agudos de disco, enfermedad discal crónica/artrosis, osteoporosis y osteomalacia. También incluye la enfermedad de Paget, el hiperparatiroidismo, la osteodistrofia renal, la espondilolistesis, malformaciones congénitas de estenosis de columna y fibromialgia.

25 Además las enfermedades inflamatorias incluyen todo tipo de reumatismo de tejidos blandos como bursitis, tenosinovitis o peritendonitis, entesitis, compresión de nervios, periartitis o capsulitis, tensión muscular y disfunción muscular.

30 Además las enfermedades inflamatorias incluyen enfermedades inflamatorias del sistema digestivo (incluidas estomatitis de todo tipo, pénfigo, penfigoide ampolloso y penfigoide benigno de la membrana mucosa), enfermedades de la glándula salival (como sarcoidosis, obstrucción del conducto salival y síndrome de Sjogrens), inflamación del esófago (por ej. debido a reflujo gastroesofágico o infecciones producidas por especies de Candida, herpes simple y citomegalovirus), enfermedades inflamatorias del estómago (incluyendo gastritis aguda y crónica infección por helicobacter pylori y enfermedad de Menetriers), inflamación del intestino delgado (que incluye enfermedad celiaca, enteropatía por sensibilidad al gluten, dermatitis herpetiforme, esprúe tropical, enfermedad de Whipple, enteritis por radiación, amiloidosis sistémica, trastornos del tejido conectivo como lupus eritematoso sistémico, polimiositis, dermatomiositis, esclerodermia, enfermedad mixta del tejido conectivo y sarcoidosis), gastroenteritis eosinofílica, limfangiectasia intestinal, enfermedad inflamatoria intestinal (incluidas la enfermedad de Crohn y la colitis ulcerosa), enfermedad diverticular del colon y síndrome del intestino irritable.

40 En una realización preferida, la invención se refiere al uso de uno o más péptidos de acuerdo con la invención para la fabricación de una composición farmacéutica destinada al tratamiento o la profilaxis de una afección en el tejido de uno o más órganos de un mamífero, donde dicha afección es una afección inflamatoria seleccionada entre inflamación pulmonar, artritis, dermatitis, pancreatitis y enfermedades inflamatorias intestinales.

45 *Insuficiencia celular, tisular y orgánica inducida por fármacos*

50 En una realización, la presente invención se refiere al uso de uno o más péptidos de acuerdo con la invención para la fabricación de una composición farmacéutica destinada al tratamiento o la profilaxis de una insuficiencia celular, tisular u orgánica inducida por una toxina o un fármaco.

55 En la presente especificación y las reivindicaciones, "insuficiencia celular, tisular y orgánica inducida por fármacos" se define como cambios en la función y/o la morfología de una célula, un tejido o un órgano, inducida por un compuesto farmacológico. El compuesto farmacológico incluye, pero no exclusivamente, antineoplásicos incluidos cisplatino, carboplatino, dacarbezina, procarbazona, altretamina, semustina, lomustina, carmustina, busulfán, tiotepa, melfalán, ciclofosfamida, clorambucilo, mecloretamina, azacitidina, cladribina, citarabina, fludarabina, fluorouracilo, mercaptopurina, metotrexato, tioguanina, alopurinol, bleomicina, dactinomicina, daunorrubicina, docetaxel, doxorubicina (adriamicina), etopósido, idarrubicina, irinotecán, mitomicina, paclitaxel, plicamicina, topotecán, vinblastina, vincristina, vinorelbina, amasacrina, asparaginasa, hidroxurea, mititano, mitoxantrona; antibióticos como los aminoglucósidos por ejemplo estreptomina, neomicina, kanamicina, amikacina, gentamicina, tobramicina, sisomicina y nitilmicina; compuestos inmunosupresores como ciclosporina, antidepresivos tricíclicos, sales de litio, prenilamina y derivados de fenotiazina.

65 Afecciones en las que se altera la función normal de la célula, el tejido o el órgano que incluyen las afecciones asociadas a isquemia, inflamación aguda o crónica, alergias, enfermedades reumáticas, infección incluidas las infecciones virales, fúngicas, bacterianas, por priones y otros microbios y agentes infecciosos conocidos en el área,



5 todas las formas de reacciones tóxicas inclusive la toxicidad inducida por fármacos, y lesiones agudas y crónicas. La lesión crónica incluye situaciones de lesiones repetitivas, alternando con períodos de recuperación total o parcial de la función de los órganos o tejidos. Las afecciones en las que se altera la función normal de la célula, el tejido o el órgano también pueden incluir lesiones, asociadas a inserción de uno o más órganos u otros dispositivos para trasplante y se prevé que los péptidos de la invención también serán útiles en el tratamiento o la prevención de dichas afecciones. El órgano puede ser del propio individuo, del propio animal o de otros individuos o animales. Esto incluye: trasplantes de órganos, trasplantes de hueso, implantes de tejidos blandos (implantes de silicona), implantes metálicos y plásticos u otros dispositivos médicos implantables. Individuo representa a los seres humanos así como a otros mamíferos.

10 La afección a tratar también puede ser causada por un cáncer o una enfermedad premaligna que tenga un impacto en el órgano, por ejemplo en el sistema respiratorio, que incluye pulmón, bronquiolo, vías aéreas superiores, y/o en el corazón y/o en el riñón y/o en el sistema digestivo, por ejemplo leucemia aguda, leucemia mielocítica crónica, leucemia linfocítica crónica, enfermedad de Hodgkin, linfosarcoma, mieloma y metástasis de carcinoma de cualquier origen. Se prevé que los péptidos de la invención también serán útiles en el tratamiento o la prevención de dichas afecciones.

15 Además, la afección a tratar puede ser causada por cualquier enfermedad seleccionada entre diabetes mellitus, afecciones con niveles de LDL-colesterol en ayunas mayores de los normales, afecciones con niveles combinados de LDL-colesterol y triglicéridos en ayunas mayores de lo normales, afecciones con niveles de triglicéridos en ayunas mayores de los normales, afecciones con niveles de HDL-colesterol en ayunas mayores de los normales, fibrosis retroperitoneal, lupus eritematoso, poliarteritis nodosa, esclerodermia, polimiositis, dermatomiositis, artritis reumatoidea, anafilaxia, enfermedad del suero, anemia hemolítica y agranulocitosis alérgica. Se prevé que los péptidos de la invención también serán útiles en el tratamiento o la prevención de dichas afecciones.

20 Muchas infecciones pueden tener una influencia sobre el tejido y perturbar la función normal provocando un menor rendimiento, que se puede mejorar mediante administración de una dosis eficaz de un péptido de la invención. Dichas infecciones incluyen infecciones por protozoarios, virus, bacterias y hongos e incluyen afecciones como SIDA, septicemia bacteriana, micosis sistémicas, enfermedades por Rickettsia, síndrome de choque tóxico, mononucleosis infecciosa, infección por chlamydia thrachomatis, chlamydia psittaci, citomegalovirus, campylobacter, salmonella, gripe, poliomeilitis, toxoplasmosis, fiebre de Lassa, fiebre amarilla, bilarciasis, colibacterias, enterococcus, proteus, klebsiella, pseudomonas, staphylococcus aureus, staphylococcus epidermidis, candida albicans, tuberculosis, paperas, mononucleosis infecciosa, hepatitis y virus coxackie

25 La afección a tratar puede estar asociada a un trauma químico que involucre una o más sustancias tóxicas y/o fármacos. Dichos fármacos incluyen antidepresivos tricíclicos, sales de litio, prenilamina, derivados de fenotiazina, antineoplásicos como cisplatino, carboplatino, dacarbezina, procarbazina, altretamina, semustina, lomustina, carmustina, busulfán, tiotepa, melfalán, ciclofosfamida, clorambucilo, mecloretamina, azacitidina, cladribina, citarabina, fludarabina, fluorouracilo, mercaptopurina, metotrexato, tioguanina, alopurinol, bleomicina, dactinomomicina, daunorrubicina, docetaxel, doxorubicina (adriamicina), etopósido, idarrubicina, irinotecán, mitomicina, paclitaxel, plicamicina, topotecán, vinblastina, vincristina, vinorelbina, amasacrina, asparaginasa, hidroxiurea, mititano, mitoxantrona; antibióticos como los aminoglucósidos por ejemplo estreptomomicina, neomicina, kanamicina, amikacina, gentamicina, tobramicina, sisomicina y nitilmicina; y compuestos inmunosupresores como ciclosporina. También los traumatismos físicos, inclusive la radiación electromagnética pueden provocar daños, que pueden ser aliviados por administración de una dosis eficaz de un análogo de  $\alpha$ -MSH de acuerdo con la presente invención.

30 La afección a ser tratada de acuerdo con la presente invención, puede incluir además una enfermedad del tejido conectivo, como esclerodermia, lupus eritematoso sistémico o trastornos neuromiopáticos como distrofia muscular progresiva de tipo Duchenne, ataxia de Friedreich y distrofia miotónica. La afección puede estar relacionada por ej. con el tejido del intestino de los mamíferos.

35 La invención también se refiere al uso de un péptido de acuerdo con la invención, donde la afección se selecciona del grupo que consiste en isquemia miocárdica, angina, pericarditis, infarto de miocardio, isquemia de miocardio, miocarditis, mixedema y endocarditis.

40 En una realización, la invención se refiere al uso de un péptido de acuerdo con, donde esta afección está asociada a arritmia cardíaca.

#### 45 *Métodos de tratamiento*

50 La invención también se refiere a métodos para el tratamiento o la prevención de una afección en el tejido de uno o más órganos de un individuo mamífero que lo necesita, donde el método comprende la administración de una dosis eficaz de uno o más péptidos de acuerdo con la invención. Dicha afección puede ser una afección isquémica o inflamatoria o el resultado de los efectos tóxicos de un veneno o el tratamiento farmacológico.

55 El método de tratamiento de la invención puede ser especialmente beneficioso en relación con las afecciones

causadas por, o asociadas a, trasplante de cualquier órgano o vaso, incluida la prevención de la reacción injerto contra huésped. En dichas afecciones, todo el órgano es extremadamente sensible a todas las alteraciones con respecto a la nutrición, el metabolismo, la perfusión, etc. y se cree que el tratamiento de acuerdo con la presente invención estabiliza la afección y hace al tejido más resistente a cualquier situación que acentúe la función del órgano. El método de acuerdo con la presente invención también abarca la administración de una dosis eficaz de un péptido de la invención para el trasplante de órganos durante el transporte al receptor, que incluye la adición de una dosis eficaz de un péptido de la invención al medio de transporte.

Por otra parte, la presente solicitud proporciona evidencia de que el tratamiento con un análogo de  $\alpha$ -MSH de acuerdo con la invención en enfermedades graves como la isquemia de miocardio previene excepcionalmente la muerte y la disfunción del órgano.

Una de las cardiopatías más comunes es la angina intermitente o dolor torácico en la cual el tratamiento de acuerdo con la invención puede ser de especial interés. Las afecciones relacionadas con angina incluyen angina inestable, angina estable y angina variante de Prinzmetal.

En otro aspecto, la prevención y el tratamiento se pueden utilizar en situaciones causadas por pericarditis, infarto de miocardio, isquemia miocárdica, miocarditis, mixedema y endocarditis.

La afección a tratar se puede asociar a arritmia cardíaca. Ya sea como enfermedad primaria o secundaria a otra afección del individuo. Los ejemplos de diversas causas de arritmia incluyen infecciones agudas, particularmente las que afectan los pulmones, embolia pulmonar, hipotensión, choque, anoxemia o anemia que puede precipitar isquemia miocárdica y así causar arritmia. La arritmia agravará el trastorno circulatorio y establecerá así un ciclo vicioso que se autoperpetúa.

Se cree que el tratamiento de acuerdo con la presente invención aumentará el umbral para el desarrollo de arritmia evitando así la aparición de la misma. El efecto puede ser actuando directamente sobre el sistema de conducción o indirectamente sobre una afección que desencadene o sea la causa de la arritmia.

Un síndrome o una arritmia que se puede aliviar de acuerdo con el método de la presente puede ser primaria o secundaria y se puede seleccionar entre taquiarritmias ventriculares o supraventriculares, bloqueo auriculoventricular, enfermedad del nodo sinusal, síndrome de Wolff-Parkinson-White, enfermedad de Lenégres, enfermedad de Lev y cualquier síndrome que implique una conexión miocárdica anómala entre la aurícula y el ventrículo.

La terapia antiarrítmica realizada con el objetivo de suprimir una arritmia se asocia siempre a un riesgo de crear nuevas arritmias. Las arritmias se pueden producir como una reacción tóxica debida a sobredosis de un fármaco. Sin embargo, particularmente durante el tratamiento con el grupo de fármacos conocidos como fármacos clase IA, las arritmias se pueden producir como un efecto secundario no dependiente de la dosis - una reacción idiosincrásica - que se desarrolla a concentraciones del fármaco dentro del rango terapéutico. De acuerdo con otra realización, la afección puede ser causada por uno o más antiarrítmicos incluidos, digitalina, quinidina, disopiramida, adenosina, aprindina, flecainida, amiodarona, sotalol, meciletina, beta bloqueantes y verapamilo.

Se prevé que el tratamiento con un análogo de  $\alpha$ -MSH de acuerdo con la invención disminuirá el riesgo de presentar arritmias debido al tratamiento concomitante con otro(s) medicamento(s) antiarrítmico(s).

En otro aspecto de la invención, la afección se puede caracterizar por una o más anomalías medidas por electrocardiografía (ECG). La anomalía en el ECG se puede relacionar con una alteración elegida entre uno o más cambios en la configuración seleccionada entre la onda P, el segmento ST, la onda T, el complejo QRS, la onda Q, la onda delta y la onda U.

Otras afecciones que pueden ser aliviadas por administración de una dosis eficaz de un péptido de acuerdo con la invención son el efecto de perturbación electrolítica en el órgano (por ejemplo el corazón) así como la perturbación en sí misma, incluidas las anomalías en las concentraciones relativas de los iones individuales entre sí. Dicha afección incluye una concentración sérica anormal de uno o más de los electrólitos seleccionados del grupo que consiste en potasio, calcio, sodio y magnesio.

De acuerdo con la presente invención, el tejido que se puede ver afectado incluye uno o más tipos de células presentes en el órgano y se pueden seleccionar entre células epiteliales, macrófagos, monocitos del sistema reticuloendotelial, granulocitos neutrófilos, granulocitos eosinófilos, granulocitos basófilos, linfocitos T, linfocitos B, mastocitos y células dendríticas. Especialmente, los linfocitos T, los linfocitos B, y los mastocitos pueden ser de cierto interés a este respecto.

Un aspecto preferido de la invención se refiere a la prevención o el tratamiento en el que una dosis de análogo de  $\alpha$ -MSH de acuerdo con la invención se administra profilácticamente para prevenir el empeoramiento de una afección o de cualquier síntoma de la afección.

5 Un tratamiento preventivo o profiláctico puede ser un tratamiento en curso durante por ejemplo una cirugía o para la prevención de ataques cardíacos en un paciente que sufre de estenosis coronaria. El tratamiento preventivo puede ser también por un período limitado. El experto podrá evaluar el programa de tratamiento específico basándose en la situación real. En una realización preferida, el tratamiento o la prevención puede reducir el tamaño del infarto luego de la isquemia de las arterias coronarias. Dicho tamaño del infarto se puede reducir en un 20%, por ejemplo en al menos un 30%, preferentemente en al menos un 50% en comparación con el individuo sin tratar.

10 En consecuencia, la dosis de un análogo de  $\alpha$ -MSH de acuerdo con la invención se administra como profilaxis para la prevención de la instalación de la afección o de cualquier síntoma de la afección.

La dosis de un análogo de  $\alpha$ -MSH de acuerdo con la invención se puede administrar como una dosis única, administrar de forma periódica o continua, o administrar secuencialmente.

15 La administración puede ser administración sistémica, administración local, que incluye el uso de sistemas de fármacos dirigidos, catéteres e implantes, administración oral, administración parenteral, como administración subcutánea, intramuscular, intravenosa, administración intraperitoneal, administración intratecal, administración pulmonar por ejemplo por inhalación, administración tópica, administración transmucosa y administración transdérmica.

20 En consecuencia, la administración incluye la administración sistémica; la inyección en el tejido o en una cavidad corporal como las articulaciones; la implantación en el tejido o en una cavidad corporal; la aplicación tópica a la piel o a cualquier superficie gastrointestinal o a una superficie mucosa, incluso el revestimiento de las cavidades corporales.

25 Como resulta evidente de lo anterior, la presente invención se refiere a la utilización de un péptido de acuerdo con la invención para la preparación de un medicamento destinado al tratamiento o la prevención de cualquiera de las afecciones dadas a conocer en este documento por cualquier vía pertinente de administración.

### 30 *Composiciones y formulaciones farmacéuticas*

La invención también se refiere a composiciones farmacéuticas que contienen uno o más péptidos de acuerdo con la invención. Dichas composiciones farmacéuticas pueden contener además uno o más vehículos farmacéuticos. Asimismo, dichas composiciones farmacéuticas pueden contener además uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables.

35 Las composiciones farmacéuticas de acuerdo con la invención pueden ser, pero no exclusivamente, una composición parental, oral, tópica, transmucosa o transdérmica.

40 En los ejemplos siguientes, se proporcionan composiciones adecuadas que contienen uno o más péptidos de acuerdo con la invención. Para la administración a un individuo (un animal o un humano) la sustancia o sustancias se formulan preferentemente en una composición farmacéutica que contiene la sustancia o sustancias y, opcionalmente, uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables.

45 Las composiciones pueden estar en forma, por ejemplo, de composiciones sólidas, semisólidas o líquidas como, por ejemplo, pero no exclusivamente parches bioabsorbibles, pócimas, apósitos, apósitos de hidrogel, apósitos de hidrocoloides, películas, espumas, láminas, vendajes, yesos, dispositivos de administración, implantes, polvos, gránulos, granulados, cápsulas, perlas de agarosa o quitosano, comprimidos, pastillas, pellas, microcápsulas, microesferas, nanopartículas, sprays, aerosoles, dispositivos de inhalación, geles, hidrogeles, pastas, pomadas, cremas, jabones, supositorios, óvulos vaginales, dentífricos, soluciones, dispersiones, suspensiones, emulsiones, mezclas, lociones, enjuagues bucales, champúes, enemas, juegos que contienen por ejemplo dos envases separados, donde el primer envase contiene un péptido de acuerdo con la invención y el segundo envase contiene un medio adecuado destinado a ser añadido al primer envase antes de usarlo para obtener una composición pronta para usar; y en otras formas adecuadas como, por ejemplo, implantes o recubrimiento de implantes o en una forma adecuada para usar en relación con la implantación o el trasplante.

55 Las composiciones se pueden formular de acuerdo con la práctica farmacéutica convencional, véase, por ejemplo, "Remington: The science and practice of pharmacy" 20ª ed. Mack Publishing, Easton PA, 2000 ISBN 0-912734-04-3 y "Encyclopedia of Pharmaceutical Technology", editado por Swarbrick, J. & J. C. Boylan, Marcel Dekker, Inc., Nueva York, 1988 ISBN 0-8247-2800-9.

60 Una composición farmacéutica que comprende un principio activo sirve como un sistema de administración de fármacos. En el contexto de la presente, el término "sistema de administración de fármacos" indica una composición farmacéutica (una formulación farmacéutica o una forma farmacéutica), que luego de la administración presenta el principio activo al organismo de un humano o un animal. Por lo tanto, la expresión "sistema de administración de

65

fármacos" abarca las composiciones farmacéuticas comunes como, por ejemplo, cremas, pomadas, líquidos, polvos, comprimidos, etc. así como formulaciones más sofisticadas como sprays, vendajes, apósitos, dispositivos, etc.

5 Como se mencionó antes, una composición farmacéutica para usar de acuerdo con la invención puede contener excipientes farmacéuticamente o cosméticamente aceptables.

10 La elección de excipientes farmacéuticamente aceptables en una composición para usar de acuerdo con la invención y su concentración óptima, en general no se pueden predecir, y se deben definir basándose en una determinación experimental de las mismas. Asimismo si un excipiente farmacéuticamente aceptable es adecuado para usar en una composición farmacéutica depende generalmente de qué tipo de forma farmacéutica se elige. Sin embargo, un experto en el área de la formulación farmacéutica puede encontrar orientación, por ejemplo, en "Remington: The science and practice of pharmacy" 20ª ed. Mack Publishing, Easton PA, 2000 ISBN 0-912734-04-3.

15 Un excipiente farmacéuticamente aceptable es una sustancia, que es sustancialmente inofensiva para el individuo al que se administrará la composición. Dicho excipiente normalmente cumple con las exigencias de los organismos nacionales de fármacos. Las farmacopeas oficiales como la Farmacopea Británica, la Farmacopea de Estados Unidos de América y la Farmacopea Europea establecen normas para excipientes bien conocidos farmacéuticamente aceptables.

20 A continuación se proporciona una revisión de composiciones farmacéuticas pertinentes para usar según la invención. La revisión se basa en la vía de administración particular. Sin embargo, se aprecia que en los casos en los que se puede emplear un excipiente farmacéuticamente aceptable en diferentes formas farmacéuticas o composiciones, la aplicación de un excipiente farmacéuticamente aceptable particular, no se limita a una forma farmacéutica particular ni a una función particular del excipiente.

25 *Composiciones parenterales*

30 Para el uso sistémico, las composiciones de acuerdo con la invención pueden contener vehículos y excipientes farmacéuticamente aceptables convencionalmente atóxicos como microesferas y liposomas.

Las composiciones para usar de acuerdo con la invención incluyen todo tipo de composiciones sólidas, semisólidas y líquidas. Las composiciones de particular relevancia son por ejemplo soluciones, suspensiones, emulsiones, geles, comprimidos de implantación e implantes.

35 Los excipientes farmacéuticamente aceptables pueden incluir solventes, amortiguadores, conservantes, humectantes, quelantes, antioxidantes, estabilizantes, emulsionantes, suspendentes, gelificantes, diluyentes, desintegrantes aglutinantes, lubricantes y humectantes. Por ejemplos de los diferentes agentes véase más adelante.

40 *Composiciones tópicas, transmucosas y transdérmicas*

Para la aplicación a la mucosa o la piel, las composiciones para usar de acuerdo con la invención pueden contener vehículos y excipientes farmacéuticamente aceptables convencionalmente atóxicos incluidos microesferas y liposomas.

45 Las composiciones para usar de acuerdo con la invención incluyen todo tipo de composiciones sólidas, semisólidas y líquidas. Las composiciones de particular relevancia son por ejemplo pastas, pomadas, pomadas hidrófilas, cremas, geles, hidrogeles, soluciones, emulsiones, suspensiones, lociones, linimentos, resoriblets, supositorios, enemas, pesarios, pesarios moldeados, cápsulas, tabletas vaginales, champúes, jaleas, jabones, tiras, sprays, polvos, películas, espumas, almohadillas, esponjas (por ejemplo esponjas de colágeno), almohadillas, apósitos (como, por ejemplo, apósitos absorbentes para heridas), pócimas, vendajes, yesos y sistemas de administración transdérmica.

50 Los excipientes farmacéuticamente aceptables pueden incluir solventes, amortiguadores, conservantes, humectantes, quelantes, antioxidantes, estabilizantes, emulsionantes, suspendentes, gelificantes, bases de pomadas, bases de supositorios, potenciadores de la penetración, perfumes, protectores cutáneos, diluyentes, desintegrantes aglutinantes, lubricantes y humectantes. Por ejemplos de los diferentes agentes véase más adelante.

55 *Composiciones orales*

60 Para la aplicación a la mucosa o la piel, las composiciones para usar de acuerdo con la invención pueden contener vehículos y excipientes farmacéuticamente aceptables convencionalmente atóxicos como microesferas y liposomas.

65 La composición para usar de acuerdo con la invención incluye todo tipo de composiciones sólidas, semisólidas y líquidas. Las composiciones de particular relevancia son por ejemplo soluciones, suspensiones, emulsiones, comprimidos sin recubrir, comprimidos de liberación modificada, comprimidos gastroresistentes, comprimidos bucodispersables, comprimidos efervescentes, comprimidos masticables, cápsulas blandas, cápsulas duras,

cápsulas de liberación modificada, cápsulas gastroresistentes, gránulos sin recubrimiento, gránulos efervescentes, gránulos para la preparación de líquidos para uso oral, gránulos recubiertos, gránulos gastroresistentes, gránulos de liberación modificada, polvos para administración oral y polvos para la preparación de líquidos para uso oral.

5 Los excipientes farmacéuticamente aceptables pueden incluir solventes, amortiguadores, conservantes, humectantes, quelantes, antioxidantes, estabilizantes, emulsionantes, suspendentes, gelificantes, diluyentes, desintegrantes aglutinantes, lubricantes, agentes de recubrimiento y humectantes. Por ejemplos de los diferentes agentes véase más adelante.

10 *Ejemplos de diferentes agentes*

Algunos ejemplos de solventes son, pero no exclusivamente, agua, alcoholes, aceites vegetales o marinos (por ej. aceites comestibles como aceite de almendras, aceite de ricino, manteca de cacao, aceite de coco, aceite de maíz, aceite de semilla de algodón, aceite de linaza, aceite de oliva, aceite de palma, aceite de cacahuete, aceite de semillas de amapola, aceite de colza, aceite de sésamo, aceite de soja, aceite de girasol y aceite de camelia), aceites minerales, aceites grasos, parafina líquida, polietilenglicoles, propilenglicoles, glicerol, polialquilsiloxanos líquidos y sus mezclas.

15 Los ejemplos de amortiguadores son, pero no exclusivamente, ácido cítrico, ácido acético, ácido tartárico, ácido láctico, ácido hidrogenofosfórico, dietilamina etc.

Los ejemplos de conservantes para usar en composiciones son, pero no exclusivamente, parabenos, como p-hidroxibenzoato de metilo, etilo, propilo, butilparabeno, isobutilparabeno, isopropilparabeno, sorbato de potasio, ácido sórbico, ácido benzoico, benzoato de metilo, fenoxietanol, bronopol, bronidox, MDM hidantoína, yodopropinil butilcarbamato, EDTA, cloruro de benzalconio y alcohol bencílico o mezclas de conservantes.

20 Los ejemplos de humectantes son, pero no exclusivamente, glicerol, propilenglicol, sorbitol, ácido láctico, urea y sus mezclas.

30 Los ejemplos de quelantes son, pero no exclusivamente, EDTA sódico y ácido cítrico.

Los ejemplos de antioxidantes son, pero no exclusivamente, hidroxianisol butilado (BHA), ácido ascórbico y sus derivados, tocoferol y sus derivados, cisteína, y sus mezclas.

35 Los ejemplos de emulsionantes son, pero no exclusivamente, gomas de origen natural, por ejemplo goma de acacia o goma tragacanto; fosfátidos naturales, por ejemplo lecitina de soja; derivados de monooleato de sorbitán; grasas de la lana; alcoholes de la lana; ésteres de sorbitán; monoglicéridos; alcoholes grasos, ésteres de ácidos grasos (por ejemplo triglicéridos de ácidos grasos); y sus mezclas.

40 Los ejemplos de suspendentes son, pero no exclusivamente, celulosas y derivados de celulosa como, por ejemplo, carboximetilcelulosa, hidroxietilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, carragenina, goma de acacia, goma arábiga, goma tragacanto y sus mezclas.

45 Los ejemplos de bases y viscosantes de geles son, pero no exclusivamente, parafina líquida, polietileno, aceites grasos, sílice o aluminio coloidal, jabones de cinc, glicerol, propilenglicol, tragacanto, polímeros de carboxivinilo, silicatos de magnesio y aluminio, Carbopol®, polímeros hidrófilos como, por ejemplo almidón o derivados de celulosa como, por ejemplo, carboximetilcelulosa, hidroxietilcelulosa y otros derivados de celulosa, hidrocoloides hinchables en agua, carrageninas, hialuronatos (por ej. gel de hialuronato que contenga opcionalmente cloruro de sodio) y alginatos, como alginato de propilenglicol.

50 Los ejemplos de bases de pomadas son, pero no exclusivamente, cera de abejas, parafina, cetanol, palmitato de cetilo, aceites vegetales, ésteres de ácidos grasos de sorbitán (Span), polietilenglicoles y productos de condensación entre ésteres de ácidos grasos de sorbitán y óxido de etileno, por ejemplo monooleato de polioxietilensorbitán (Tween).

55 Los ejemplos de bases de pomadas hidrófobas son, pero no exclusivamente, parafinas, aceites vegetales, grasas animales, glicéridos sintéticos, ceras, lanolina y polialquilsiloxanos líquidos.

Los ejemplos de bases de pomadas hidrófilas son, pero no exclusivamente macrogoles sólidos (polietilenglicoles).

60 Los ejemplos de componentes en polvo son, pero no exclusivamente, alginato, colágeno, lactosa, polvo capaz de formar un gel cuando se aplica a una herida (absorbe el exudado/líquido de la herida).

65 Los ejemplos de diluyentes y desintegrantes son, pero no exclusivamente, lactosa, sacarosa, emdex, fosfatos de calcio, carbonato de calcio, sulfato de calcio, manitol, almidones y celulosa microcristalina.

Los ejemplos de aglutinantes son, pero no exclusivamente, sacarosa, sorbitol, goma de acacia, alginato de sodio, gelatina, almidones, celulosa, carboximetilcelulosa sódica, metilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, polivinilpirrolidona y polietilenglicol.

5

Los ejemplos de humectantes son, pero no exclusivamente, laurilsulfato de sodio y polisorbato 80.

Los ejemplos de lubricantes son, pero no exclusivamente, talco, estearato de magnesio, estearato de calcio, óxido de silicio, precirol y polietilenglicol.

10

Los ejemplos de agentes de recubrimiento son, pero no exclusivamente, hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, polivinilpropilidona, etilcelulosa y polimetacrilatos.

15

Los ejemplos de bases de supositorios son, pero no exclusivamente, manteca de cacao, glicéridos semisintéticos sólidos (adepts solidus) y polietilenglicoles.

El análogo de  $\alpha$ -MSH puede estar presente en el medicamento en una cantidad de 0.001-99%, típicamente de 0.01-75%, más típicamente de 0.1-20%, especialmente de 1-15% por ejemplo de 1-10% en peso del medicamento.

20

La dosis depende de la afección a tratar. Los fármacos individuales se pueden usar en las dosis conocidas en el área. Se prevé que la dosis de uno o más de los péptidos de acuerdo con la invención estará en el rango de 1 ng a 100 mg por kg de peso corporal, por lo general de 1  $\mu$ g a 10 mg por kg de peso corporal, más típicamente de 10  $\mu$ g a mg 1 por kg de peso corporal, por ejemplo de 50-500  $\mu$ g por kg de peso corporal.

25

En otro aspecto, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica como la descrita antes que contiene uno o más péptidos de acuerdo con la invención opcionalmente con un excipiente farmacéuticamente aceptable.

30

Las composiciones farmacéuticas de acuerdo con la presente invención se pueden preparar mediante el uso de técnicas convencionales, conocidas en el área y con excipientes farmacéuticos convencionales. Además, la composición farmacéutica puede estar en cualquier forma adecuada para cualquiera de los usos descritos en este documento.

35

La invención descrita y reivindicada en este documento no está limitada en su alcance por las realizaciones específicas dadas a conocer aquí, puesto que estas realizaciones pretenden ser ilustraciones de varios aspectos de la invención. Se pretende que todas las realizaciones equivalentes estén comprendidas por el alcance de esta invención. En efecto, diversas modificaciones de la invención además de las que se muestran y se describen en este documento se tornarán evidentes para los técnicos con experiencia en el área de la descripción anterior. Dichas modificaciones también pretenden estar comprendidas por el alcance de las reivindicaciones adjuntas.

40

Se citan diversas referencias en este documento, cuya divulgación se incorpora por referencia en su totalidad.

45

En toda esta especificación la palabra "contiene(n)", o sus variaciones como "que contienen" o "comprende(n)", se entenderá que implican la inclusión de un elemento, número entero o paso, o grupo de elementos, números enteros o pasos indicados, pero no la exclusión de ningún otro elemento, número entero o paso o grupo de elementos, números enteros o pasos.

50

Con respecto a la descripción anterior de los distintos aspectos de la presente invención y de las realizaciones específicas de estos aspectos se debe entender que toda función y característica descrita o mencionada en relación con un aspecto y/o una realización de un aspecto de la invención también aplica por analogía a cualquiera o todos los demás aspectos y/o realizaciones de la invención descrita.

En lo sucesivo la invención se describirá a través de los ejemplos y figuras siguientes, no limitantes.

55

## Ejemplos

60

En lo que sigue se describen en general los métodos para probar los péptidos de la invención. Los resultados para los péptidos probados se dan en los ejemplos 1-7. El objetivo de los métodos es probar los péptidos de la invención en cuanto a sus efectos antiinflamatorios y su capacidad para inhibir o evitar el deterioro o la destrucción de la célula/el tejido/el órgano que se producen como resultado de isquemia, inflamación o efectos tóxicos de un fármaco.

65

Una respuesta inflamatoria o una exacerbación de la inflamación crónica se caracteriza por la producción de mediadores derivados de células como el factor de necrosis tumoral  $\alpha$  (TNF)- $\alpha$ , las interleucinas (IL-1 $\beta$ , IL-8), el óxido nítrico (NO) y los radicales libres de oxígeno, los cuales en última instancia inducirán daño endotelial generalizado con pérdida del tono arteriolar en vasos sistémicos, aumento de la permeabilidad capilar, hipotensión sostenida y disfunción del órgano, que en el pulmón se asocia a la acumulación de leucocitos, por ejemplo,

neutrófilos y eosinófilos en el espacio alveolar. El lipopolisacárido (LPS), liberado por los agentes infecciosos, desempeña un papel central en la respuesta inflamatoria a la infección mediante la inducción de un número de mediadores inflamatorios como TNF- $\alpha$ . Se cree, por tanto, que los tratamientos con la capacidad de inhibir la producción de TNF- $\alpha$  tienen marcados efectos antiinflamatorios. El inventor utiliza la estimulación con LPS para producir una respuesta inflamatoria en una serie de diseños (véase diseños experimentales 1-3) y el marcador principal para un efecto antiinflamatorio de los péptidos de acuerdo con la invención es la capacidad de inhibir la producción de TNF- $\alpha$ .

La isquemia inducida por la reducción o detención completa del suministro de sangre arterial induce múltiples reacciones tisulares, como acumulación de neutrófilos, otras respuestas inflamatorias y muerte celular. La identificación de compuestos que puedan inhibir o prevenir (total o parcialmente) muchas de las deficiencias o destrucciones de células/tejidos/órganos que se producen como resultado de isquemia/inflamación es muy beneficiosa. El inventor utiliza dos modelos de isquemia temporal: 1) el modelo de isquemia reperfusión miocárdica en ratas, que imita el desarrollo de infarto agudo de miocardio seguido de restauración del suministro de sangre como se logra por tratamiento fibrinolítico o angioplastia coronaria (diseño experimental 4); 2) la oclusión bilateral de arteria renal, que induce insuficiencia renal aguda (IRA) semejante a la IRA inducida por reducción temporal en el suministro sanguíneo renal, como se ve en pacientes sometidos a intervenciones quirúrgicas mayores (un ejemplo podría ser la intervención quirúrgica debido a aneurisma aórtico abdominal) (diseño experimental 5).

La nefrotoxicidad es un efecto secundario bien conocido del tratamiento con cisplatino. Aunque no necesariamente, la toxicidad renal limitante de la dosis aún afecta a la mayoría de los pacientes y se observa una disminución significativa en la tasa de filtración glomerular durante el tratamiento. La toxicidad renal del cisplatino es vista como un daño citotóxico directo en las nefronas de la médula externa, especialmente en el segmento S3 de los túbulos proximales y en la rama gruesa ascendente del asa de Henle. Por lo tanto, el tratamiento con cisplatino a menudo produce defectos de reabsorción tubular, incluso un deterioro de la capacidad para diluir la orina. Se observa hipomagnesemia en aproximadamente el 50% de los pacientes tratados con cisplatino y es probablemente debido a un defecto en la reabsorción renal de magnesio (Mg). Un estudio reciente sugirió que la complementación con magnesio es un factor crucial en la protección contra las acciones nefrotóxicas de la ciclosporina A y se ha sugerido recientemente una posible relación entre la pérdida de Mg y la nefrotoxicidad inducida por cisplatino. Un tratamiento que apunte a prevenir la hipomagnesemia tendría por lo tanto efectos beneficiosos no sólo para reducir la necesidad de complementación con magnesio, sino también para reducir la toxicidad renal del cisplatino. El efecto de los péptidos de acuerdo con la invención en la nefrotoxicidad inducida por cisplatino se examina en el diseño experimental 6.

### 35 **Materiales y métodos**

Los péptidos de la presente invención son los compuestos de prueba en los métodos que se describen a continuación.

### 40 **Diseño experimental 1**

#### **Inhibición de la producción de TNF- $\alpha$ por los leucocitos humanos inducida por LPS *in vitro***

Se extraen 20 mL de sangre humana en tubos vacutainer que contienen EDTA. Se aíslan PBMC (células mononucleares de sangre periférica) con Ficoll-Paque Plus según las indicaciones de Amersham 71-7167-00 AD, 2002-06. Se cuentan las PBMC con solución de azul de tripano (Sigma) y se incuban en RPMI 1640, (Applichem), complementado con Hepes 10 mM (Sigma), L-glutamina (Sigma) 2 mM, BSA al 0.1% (Sigma) y 50 U/50  $\mu$ g/mL de penicilina/estreptomina (Sigma) en la concentración de  $5 \times 10^5$  células/mL. Las PBMC aisladas se incuban en atmósfera de aire al 95%, humidificado con 5% de CO<sub>2</sub>, a 37° C, en placas de 24 pocillos de fondo plano (Corning Incorporated) con medio, 10 ng de LPS/mL (Sigma) y compuesto de prueba. Después de 18 horas, las muestras se centrifugan y se mide TNF- $\alpha$  en los sobrenadantes utilizando el factor de necrosis tumoral alfa [(h)-FNT- $\alpha$ ] del sistema Human Biotrak ELISA (Amersham).

Las muestras se incuban de la manera siguiente por delante:

- PBMC en RPMI (Control de tiempo)
- PBMC con 10 ng de LPS/mL (vehículo)
- PBMC, 10 ng de LPS/mL,  $10^{-17}$  M de  $\alpha$ -MSH o análogo de  $\alpha$ -MSH
- PBMC, 10 ng de LPS/mL,  $10^{-15}$  M de  $\alpha$ -MSH o análogo de  $\alpha$ -MSH
- 60 PBMC, 10 ng de LPS/mL,  $10^{-13}$  M de  $\alpha$ -MSH o análogo de  $\alpha$ -MSH
- PBMC, 10 ng de LPS/mL,  $10^{-11}$  M de  $\alpha$ -MSH o análogo de  $\alpha$ -MSH
- PBMC, 10 ng de LPS/mL,  $10^{-9}$  M de  $\alpha$ -MSH o análogo de  $\alpha$ -MSH
- PBMC, 10 ng de LPS/mL,  $10^{-7}$  M de  $\alpha$ -MSH o análogo de  $\alpha$ -MSH

65 Todas las muestras se diluyen de una solución madre inicial entre  $1.4 \times 10^{-4}$  M y  $1.8 \times 10^{-3}$  M. Todas las soluciones se manipulan en viales recubiertos de BSA para evitar la unión del compuesto a la superficie de los viales.

Los datos se presentan como la media  $\pm$  DE. El efecto de los compuestos de prueba sobre la liberación de TNF- $\alpha$  inducida por LPS se expresa como porcentaje de la acumulación de TNF- $\alpha$  en el grupo de LPS-vehículo. Todas las comparaciones se analizan con la prueba de t de Student para muestras independientes. Las diferencias se consideran significativas en los niveles de probabilidad ( $p$ ) de 0.05.

## Diseño experimental 2

### Inhibición de la producción de TNF- $\alpha$ inducida por LPS en ratas *in vivo*

**Animales de experimentación.** Se obtienen ratas Wistar hembras (220-240 g) de Charles River, Sulzfeld, Alemania y se alojan en una habitación con temperatura (22-24 °C) y humedad (40-70%) controladas en un ciclo de luz-oscuridad de 12 h (luz de 6:00 A.M. a 6:00 P.M.). Las ratas se mantienen en una dieta estándar para roedores con 140 mmol/kg de sodio, 275 mmol/kg de potasio y 23% de proteína (Altromin International, Lage, Alemania) y acceso libre al agua.

**Preparación de los animales.** Anestesiados con óxido nitroso-isoflurano, a los animales se les implantan catéteres permanentes Tygon de calidad médica en la aorta abdominal y la vena cava inferior, respectivamente, a través de una arteria y vena femoral. Después de la instrumentación, los animales se alojan individualmente durante 7-10 días hasta el día del experimento.

**Protocolo experimental.** Antes de los experimentos todas las ratas se adaptan a la jaula de contención utilizada para los experimentos, entrenándolas durante dos períodos de dos horas cada uno. El día del experimento, el animal se transfiere a una jaula de contención, y se inicia una infusión intravenosa de solución de vehículo que contiene glucosa 150 mM. La velocidad de infusión es de 0.5 ml/h durante todo el experimento. Después de un período de adaptación corto, se inicia la infusión del lipopolisacárido (LPS). Se administra el LPS (E coli serotipo 0127 B8, L 3129, Sigma, St. Louis, Estados Unidos) a una dosis de 4 mg/kg de peso corporal como una infusión IV durante 1 hora. Se extraen muestras de sangre arterial de 0.3 ml 60, 90 y 120 minutos después del comienzo de la infusión de LPS y se las reemplaza inmediatamente con sangre heparinizada de una rata donante normal.

#### Grupos experimentales:

Además de la infusión de LPS todas las ratas se tratan con una inyección en bolo:

Vehículo (0.5 mL de solución salina isotónica);  
 $\alpha$ -MSH en una de las dosis siguientes: 50  $\mu$ g/kg de peso corporal; 200  $\mu$ g/kg de peso corporal o 1000  $\mu$ g/kg de peso corporal;

El compuesto de prueba en una de las dosis siguientes: 50  $\mu$ g/kg de peso corporal; 200  $\mu$ g/kg de peso corporal o 1000  $\mu$ g/kg de peso corporal.

**Medición de TNF- $\alpha$  en plasma:** las muestras de sangre se extraen en un tubo de ensayo previamente enfriado con EDTA 0.5 mM, pH 7.4 y  $20 \times 10^6$  UI/ml de aprotinina. Después de la centrifugación a 4°C, las muestras de plasma se transfieren a tubos de ensayo preenfriados y se almacenan a -20 °C para medidas posteriores de TNF- $\alpha$ . TNF- $\alpha$  en el plasma se determina mediante ELISA (Biotrak, Amersham, Reino Unido).

**Análisis estadísticos.** Los resultados se presentan como medias  $\pm$  DE. Se usa un ANOVA de dos vías para medidas repetidas para probar las diferencias entre grupos. En el caso de  $P < 0.05$ , las diferencias entre los períodos correspondientes se evalúan por pruebas t para muestras independientes con la corrección del nivel de significación de Bonferroni.

## Diseño experimental 3

### Inhibición de la infiltración de neutrófilos y eosinófilos después de la inhalación de LPS en ratas.

Para todos los experimentos se utilizan ratas Sprague-Dawley machos (peso ~200 g) de M&B A/S, DK-8680 Ry, Dinamarca. Las ratas se enjaulan en jaulas estándar tipo 3 y se alojan en una habitación con temperatura (22-24 °C) y humedad (40-70%) controladas en un ciclo de luz-oscuridad de 12 h (luz de 6:00 A.M. a 6:00 P.M.) La dieta es formulación especial Altromin 1324 autoclavada, producida por Altromin Dinamarca, Chr. Pedersen A/S, 4100 Ringsted, Dinamarca. La dieta y el agua se administran a voluntad.

Después de la aclimatación las ratas se asignan al azar a los grupos experimentales y se les administran dosis IV del compuesto de prueba al comienzo de la inducción con LPS y una vez más 8 horas después de la inducción con LPS.

Las ratas en los grupos de 3 se anestesian con 0.1 mL de hypnorm/dormicum por 100 g y se les administra IV el



compuesto de prueba. Inmediatamente después de la administración se colocan en una cámara de inhalación, donde son sometidas a una solución de LPS nebulizada. La concentración de LPS es de 1 mg/ml. El tiempo de dosificación es de 15 minutos. Las ratas se sacrifican 24 horas después de la dosificación con la sustancia de prueba. A la finalización las ratas se sacrifican con CO<sub>2</sub>/O<sub>2</sub>.

Después se realiza un lavado bronquioalveolar instilando y extrayendo 6 x 2.5 ml de PBS en el pulmón derecho. El lavado se realiza con los pulmones en el tórax después de quitar el esternón y las costillas. La conexión al pulmón izquierdo se ata durante este procedimiento. El líquido bronquioalveolar (LBA) se centrifuga a 1000 rpm a 4 °C durante 10 minutos. Después de eliminar el sobrenadante el sedimento celular se resuspende en 0.5 ml de PBS y se lleva a cabo el recuento celular total. Se realizan dos frotis de LBA teñidos con tinción May-Grüwald de Giemsa. Un LBA de cada rata se somete a recuento celular total y recuento diferencial de leucocitos.

#### Grupos experimentales:

Además de la infusión de LPS todas las ratas se tratan con inyecciones en bolo de:

- Vehículo (0.5 mL de solución salina isotónica);
- α-MSH: 200 µg/kg de peso corporal
- Análogo de α-MSH: 200 µg/kg de peso corporal

Finalmente un grupo de control temporal sin inhalación de LPS se trata con vehículo.

#### Estadística

Los datos se presentan como la media ± DE. Las comparaciones entre grupos se realizan mediante un análisis de varianza de una vía seguido de la prueba de mínima diferencia significativa de Fisher. Las diferencias se consideran significativas al nivel de 0.05.

#### Diseño experimental 4

##### Inhibición de la liberación de citocinas y de la hipertensión pulmonar inducidas por LPS en cerdos *in vivo*.

Se mantiene en ayunas durante la noche a cerdas Landrace (~30 kg) pero permitiéndoles libre acceso al agua. Después las cerdas se premedican con ketamina intramuscular (10 mg/kg) y midazolam (0,25 mg/kg). Se les induce anestesia con ketamina intravenosa (5 mg/kg). Las cerdas se intuban oralmente, y se mantiene la anestesia con una infusión intravenosa continua de fentanilo (60 µg/kg/h y midazolam (6 mg/kg/h). Los animales se ventilan con un ventilador de volumen controlado (ventilador Servo 900; Siemens Elema, Solna, Suecia) con una presión espiratoria final positiva de 5 cm de H<sub>2</sub>O. El volumen tidal se mantiene en 10-15 ml/kg, y la velocidad respiratoria se ajusta (20-25 respiraciones/minuto) para mantener la normocapnia (presión de dióxido de carbono arterial [PaCO<sub>2</sub>] en el rango de 34-45 mm de Hg). La ventilación se realiza con oxígeno en el aire para alcanzar una presión de oxígeno arterial (PaO<sub>2</sub>) superior a 105 mm de Hg. Se colocan una vaina arterial y 2 venosas en la arteria carótida y las venas correspondientes para infusión, mediciones de la presión sanguínea a través del catéter lleno de líquido, extracción de muestras de sangre y para la introducción de catéteres.

Se introduce un catéter Swan-Ganz (Edwards Lifescience Corp., Irvine, CA) en la arteria pulmonar a través de la vena cava superior derecha. La localización del catéter con punta de balón se determina observando la señal característica de la presión en el monitor a medida que avanza por el lado derecho del corazón hacia la arteria pulmonar, así como por rayos X. Se introduce otro catéter (5 de la escala francesa; St. Jude Medical Company, St. Paul, MN) en la arteria carótida izquierda para monitoreo continuo de la presión sanguínea y extracción de muestras de sangre. Se introduce una sonda urinaria para recolección de orina. Se introduce un catéter temporal para marcar el ritmo a través de la vaina venosa hasta la aurícula derecha (usando rayos X para guiarse) para estandarizar la frecuencia cardíaca, al evaluar el rendimiento cardíaco

**Monitoreo hemodinámico.** Se realizan observaciones continuas de la presión arterial, la frecuencia cardíaca (del electrocardiograma) y la presión de la arteria pulmonar (PAP). Infusión de lipopolisacárido. Se disuelve endotoxina lipopolisacárido de *Escherichia coli*, (E. coli 026:\_6, lipopolisacáridos Bacto; Difco Laboratories, Detroit, MI) en solución salina 120 min antes de cada experimento para disolver cualquier precipitado. Después de un período de estabilización, se inicia la infusión de lipopolisacárido en la línea de base a una velocidad de 2.5 µg/kg/h y se aumenta progresivamente a 15 µg/kg/min durante 30 minutos. Después de esto, la infusión se mantiene a una velocidad de 2.5 µg/h kg/h durante 150 min y posteriormente se discontinúa.

**Grupos de intervención:** al grupo de control se le administra vehículo en igual volumen que al grupo de intervención inmediatamente antes de iniciar la infusión de LPS. Al grupo de intervención se le administra una dosis de análogo de α-MSH, 200 µg/kg, como una sola inyección en bolo intravenosa. Citocinas. Se utilizan muestras de plasma recién congelado (-80 °C) obtenidas de sangre estabilizada con EDTA para mediciones de TNFα utilizando ensayos comerciales de ELISA según las instrucciones del fabricante.

**Estadísticas.** Los datos se presentan como la media  $\pm$  DE. Las comparaciones entre grupos se realizan mediante un análisis de varianza de una vía seguido de la prueba de mínima diferencia significativa de Fisher. Las diferencias se consideran significativas al nivel de 0.05.

5

#### Diseño experimental 5

#### Inhibición del tamaño del infarto de miocardio, inducido por oclusión durante 60 minutos de la arteria coronaria descendente anterior izquierda en ratas.

10

Se obtuvieron ratas hembras Wistar (250 g) criadas bajo barrera y libres de patógenos específicos de Charles River, Hannover, Alemania. Los animales se alojan en una habitación de temperatura (22-24 °C) y humedad (40-70%) controladas en un ciclo de 12 horas de luz-oscuridad (las luces se encienden de 6:00 A.M. a 6:00 P.M.). Todos los animales tienen acceso libre al agua de grifo y una dieta granulada para ratas que contiene aproximadamente 140 mmol/kg de sodio, 275 mmol/kg de potasio y 23% de proteína (Altromin N° de catálogo 1310, Altromin International, Lage, Alemania).

15

A las ratas se les colocan catéteres Tygon permanentes de calidad médica en la vena cava inferior y la aorta abdominal a través de la vena y la arteria femoral. Una semana más tarde las ratas se anestesian en una cámara de inhalación con 4% de isoflurano en O<sub>2</sub>. Después de la introducción de un tubo endotraqueal el animal se ventila artificialmente con isoflurano al 1.0% en O<sub>2</sub> con un ventilador Hugo Basile Rodent. El volumen tidal es 8-10 ml/kg de peso corporal y la frecuencia respiratoria de 75 min<sup>-1</sup>, lo que mantiene el pH arterial entre 7.35 y 7.45. Durante la cirugía el animal se coloca sobre una mesa calefaccionada que mantiene la temperatura rectal a 37-38 °C. Un ECG estándar (segunda derivación) se mide con un acoplador de ECG Hugo Sachs y se recogen los datos en línea a 4.000 Hz en PowerLab. Después de la toracotomía paraesternal y la apertura del pericardio se localiza visualmente la arteria coronaria descendente anterior izquierda (ADI). Una sutura con seda 6-0 atraumática con un ocluidor que permite la reapertura de la ligadura se coloca alrededor de la ADI entre el tronco pulmonar y el extremo inferior derecho de la aurícula izquierda. Después de 10 minutos la arteria coronaria descendente anterior izquierda (ADI) se ocluye. La oclusión exitosa es confirmada por alteraciones en el ECG (elevación del segmento ST y aumento en la amplitud de la onda R) y por la caída en PAM. Se produce la reperfusión después de 60 minutos abriendo el ocluidor. Las ratas de control se operan falsamente.

20

25

30

Las ratas se someten a uno de los tratamientos IV siguientes:

35

**Vehículo:** 0.5 ml de NaCl 150 mM.

**$\alpha$ -MSH:** 200  $\mu$ g o 1000  $\mu$ g de hormona estimulante de los melanocitos  $\alpha$ -MSH/kg de peso corporal en 0.5 ml de NaCl 150 mM.

**Compuesto de prueba** 200  $\mu$ g o 1000  $\mu$ g/kg de peso corporal en 0.5 ml de NaCl 150 mM. El tratamiento se administra 5 minutos antes de la reperfusión.

40

#### Determinación del tamaño del miocardio isquémico y necrótico

Las ratas se mantienen anestesiadas tras la isquemia/reperfusión y se vuelve a ocluir la ADI tres horas después de la reperfusión. Durante este período se miden continuamente el ECG y PAM. Después se administra colorante azul de Evans (1 ml, 2% peso/volumen) para determinar el tamaño del área isquémica. Se extrae el corazón y se corta en rebanadas horizontales para determinar el tamaño del área isquémica y separar el miocardio isquémico del miocardio no isquémico. El área isquémica se aísla y se incuba en una solución de cloruro de trifeniltetrazolio al 0.5% durante 10 minutos a 37 °C. Después se mide el tamaño del tejido necrótico con un programa computarizado de imágenes. Otro conjunto de animales se trata con buprenorfina poscirugía y se retorna a las jaulas para medir la presión diastólica final del ventrículo izquierdo (PDFVI) dos semanas más tarde con el fin de evaluar el efecto del tratamiento farmacológico en el desarrollo de insuficiencia cardíaca congestiva. La PDFVI se mide con un catéter de micropunta 2F introducido en el ventrículo izquierdo a través de la arteria carótida derecha. La concentración de isoflurano se ajusta para estabilizar la presión arterial media (PAM) en 85-90 mm de Hg.

45

50

#### Estadística

Los datos se presentan como la media  $\pm$  DE. Las comparaciones dentro del grupo se analizan con la prueba t de Student para muestras relacionadas. Las comparaciones entre grupos se realizan mediante un análisis de varianza de una vía seguido de la prueba de mínima diferencia significativa de Fisher. Las diferencias se consideran significativas al nivel de 0.05.

60

#### Diseño experimental 6

#### Inhibición de insuficiencia renal inducida por oclusión bilateral de las arterias renales durante 40 minutos en ratas

65

Se obtuvieron ratas hembras Wistar (250 g) criadas bajo barrera y libres de patógenos específicos de Charles River, Hannover, Alemania. Los animales se alojan en una habitación de temperatura (22-24 °C) y humedad (40-70%) controladas en un ciclo de 12 horas de luz-oscuridad (las luces se encienden de 6:00 A.M. a 6:00 P.M.). Todos los animales tienen acceso libre al agua de grifo y una dieta granulada para ratas que contiene aproximadamente 140 mmol/kg de sodio, 275 mmol/kg de potasio y 23% de proteína (Altromin N° de catálogo 1310, Altromin International, Lage, Alemania).

Las ratas, a las que previamente se les colocó un catéter venoso crónico, se colocan en jaulas metabólicas y después de un período de aclimatación de dos días a las jaulas metabólicas, se les induce IRA experimental por oclusión de ambas arterias renales durante 60 minutos. Durante la cirugía, las ratas se anestesian con óxido nitroso-isoflurano y se colocan sobre una mesa calefaccionada para mantener la temperatura rectal a 37 °C. Ambos riñones se exponen a través de incisiones en el flanco, se movilizan al ser disecados de la grasa perirrenal, luego una pequeña porción de la arteria renal se disecciona cuidadosamente de la vena. Las arterias renales se ocluyen con un clip vascular de superficie lisa (presión de 60 g; World Precision Instruments, Reino Unido) durante 40 minutos. Se confirma la isquemia total mediante observación del blanqueamiento de la superficie de todo el riñón. Durante el período de isquemia, las heridas se cierran temporalmente para mantener la temperatura corporal. Después de quitar los clips, los riñones se observan otros 2-5 minutos para asegurarse del cambio de color, que indica reflujo sanguíneo. Luego la herida se cierra con ligaduras de seda 3-0. Las ratas vuelven a las jaulas metabólicas, y se mide diariamente la producción de orina de 24 h y la ingesta de agua durante cinco días. Como grupo de control, las ratas se someten a operaciones falsas idénticas a las utilizadas para las ratas con IRA, sin obstrucción de las arterias renales. Las ratas falsamente operadas se monitorean en paralelo con las ratas con IRA.

Las ratas se someten a uno de los tratamientos IV siguientes:

**Vehículo:** 0.5 ml de NaCl 150 mM.

**α-MSH:** 200 µg de hormona estimulante de los melanocitos α-MSH/kg de peso corporal en 0.5 ml de NaCl 150 mM.

**Compuesto de prueba:** 200 µg de compuesto de prueba/kg de peso corporal en 0.5 ml de NaCl 150 mM. El tratamiento se administra 5 minutos antes de la reperusión del riñón y posteriormente 6 y 24 horas más tarde.

### Estadística

Los datos se presentan como la media ± DE. Las comparaciones dentro del grupo se analizan con la prueba t de Student para muestras relacionadas. Las comparaciones entre grupos se realizan mediante un análisis de varianza de una vía seguido de la prueba de mínima diferencia significativa de Fisher. Las diferencias se consideran significativas al nivel de 0.05.

### Diseño experimental 7

#### Inhibición de la insuficiencia renal inducida por cisplatino

Las ratas, a las que previamente se les colocó un catéter venoso crónico, se colocan en jaulas metabólicas y después de un período de aclimatación a las jaulas metabólicas, las ratas se tratan con inyección de cisplatino 5.0 mg/kg de peso corporal en 0.5 ml de NaCl o vehículo (0.5 ml de NaCl 150 mM). Cinco días más tarde las ratas se retornan a las jaulas metabólicas, y se miden diariamente la producción de orina de 24 h (que se recoge) y la ingesta de agua durante los cinco días siguientes. Después todas las ratas se anestesian con halotano/N<sub>2</sub>O y se les extrae una muestra de sangre arterial en viales preenfriados recubiertos con EDTA. Las muestras de sangre se extraen en un tubo de ensayo previamente enfriado que contiene EDTA 0.5 mM, pH 7.4 y 20 x 10<sup>6</sup> UI/ml de aprotinina. Después de la centrifugación a 4 °C, las muestras de plasma se transfieren a tubos de ensayo preenfriados y se almacenan a -20 °C para medidas posteriores de creatinina y magnesio (Mg). Además de esto la creatinina también se mide en la orina recogida en el último período de 24 horas antes de la extracción de sangre. La depuración de creatinina ( $C_{cr}$ ), utilizada como un índice de la tasa de filtración glomerular (GFR), se puede calcular después como  $C_{cr} = V_u \times U_{cr} / P_{cr}$ , donde  $V_u$  es la producción de orina de 24 horas;  $U_{cr}$  es la concentración de creatinina en la orina y  $P_{cr}$  es la concentración de creatinina en el plasma. La medición de creatinina en la orina y el plasma se realiza utilizando los sistemas de bioquímica clínica VITROS 950 (Ortho-Clinical Diagnostics Inc., Johnson & Johnson, NJ) y Roche Hitachi Modular (Roche Diagnostics, Mannheim, Alemania).

Las ratas se someten a uno de los tratamientos IV siguientes:

**Vehículo:** 0.5 ml de NaCl 150 mM.

**α-MSH:** 200 µg de hormona estimulante de los melanocitos α-MSH/kg de peso corporal en 0.5 ml de NaCl 150 mM.

**Compuesto de prueba:** 200 µg de compuesto de prueba/kg de peso corporal en 0.5 ml de NaCl 150 mM. El tratamiento se administra 5 minutos antes de la reperusión del riñón y posteriormente 6 y 24 horas más tarde.

**Estadística**

5 Los datos se presentan como la media  $\pm$  DE. Las comparaciones dentro del grupo se analizan con la prueba t de Student para muestras relacionadas. Las comparaciones entre grupos se realizan mediante un análisis de varianza de una vía seguido de la prueba de mínima diferencia significativa de Fisher. Las diferencias se consideran significativas al nivel de 0.05.

**Resultados**

10

**Ejemplo 1**

El compuesto de prueba es el análogo de  $\alpha$ -MSH N° 1:

15 **Ac-Lys-Lys-Lys-Lys-Lys-Lys-Ser-Tyr-Ser-Met-Glu-His-Phe-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-Val-NH<sub>2</sub>** (SEC. ID N°: 1 \*acetilado en el extremo N-terminal y amidado en el C-terminal)

El compuesto se prueba en los diseños experimentales 1-7.

**20 Inhibición de la producción de TNF- $\alpha$  por los leucocitos humanos inducida por LPS *in vitro***

25 Tanto  $\alpha$ -MSH como el análogo de  $\alpha$ -MSH N° 1 (SEC. ID N°: 1\*) reducen de manera dependiente de la dosis la acumulación de TNF- $\alpha$  inducida por LPS en la suspensión de leucocitos humanos. Sorprendentemente, el efecto inhibitorio del análogo de  $\alpha$ -MSH N° 1 (SEC. ID N°: 1\*) es notablemente más pronunciado que el efecto antiinflamatorio del péptido nativo  $\alpha$ -MSH,  $\alpha$ -MSH inhibe la acumulación de TNF- $\alpha$  a  $73 \pm 9\%$  de la respuesta máxima (LPS-vehículo). En contraste con esto el análogo de  $\alpha$ -MSH N° 1 (SEC. ID N°: 1\*) es capaz de reducir la acumulación de TNF- $\alpha$  a  $47 \pm 2\%$  del vehículo ( $P < 0.01$  vs  $\alpha$ -MSH) (véase figura 1).

**30 Inhibición de la producción de TNF- $\alpha$  inducida por LPS en ratas *in vivo***

35 Tanto  $\alpha$ -MSH como el análogo de  $\alpha$ -MSH N° 1 (SEC. ID N°: 1\*) reducen la acumulación de TNF- $\alpha$  durante la infusión IV de LPS. El efecto inhibitorio máximo de  $\alpha$ -MSH así como del análogo de  $\alpha$ -MSH N° 1 (SEC. ID N°: 1\*) se consigue a una dosis de 200  $\mu$ g/kg de peso corporal y el efecto inhibitorio máximo sobre la producción de TNF- $\alpha$  se muestra 120 minutos después de la iniciación de la infusión de LPS. Sorprendentemente, el efecto inhibitorio del análogo de  $\alpha$ -MSH N° 1 (SEC. ID N°: 1\*) es notablemente más pronunciado que el efecto antiinflamatorio del péptido nativo  $\alpha$ -MSH. Mientras que  $\alpha$ -MSH inhibe la concentración de TNF- $\alpha$  en el plasma de las ratas a  $17 \pm 3\%$  de la respuesta máxima (LPS-vehículo), el análogo de  $\alpha$ -MSH N° 1 (SEC. ID N°: 9\*) es capaz de reducir la acumulación de TNF- $\alpha$  a  $9 \pm 1\%$  del vehículo ( $P = 0.05$  vs  $\alpha$ -MSH) (véase figura 2).

**40 Inhibición de la infiltración de neutrófilos y eosinófilos después de la inhalación de LPS en ratas.**

45 Tanto  $\alpha$ -MSH como el análogo de  $\alpha$ -MSH N° 1 (SEC. ID N°: 1\*) reducen la respuesta inflamatoria a la inhalación de LPS dentro del espacio alveolar como demuestra la marcada reducción de eosinófilos en el LBA obtenido 24 horas después de la inhalación de LPS. El tratamiento con  $\alpha$ -MSH reduce el número de eosinófilos en el LBA a  $26.7 \pm 4.3 \times 10^5$  células ( $P$  vs vehículo  $< 0.05$ ) y el análogo de  $\alpha$ -MSH N° 1 (SEC. ID N°: 1\*) reduce el número de eosinófilos a  $49.0 \pm 10.5 \times 10^5$  células ( $P$  vs vehículo  $< 0.05$ ) en comparación con las ratas tratadas con vehículo donde el número de eosinófilos en el LBA es de  $164.6 \pm 42.2 \times 10^5$  células (véase figura 3). De conformidad con lo anterior, el efecto del número de neutrófilos en el LBA es similar para  $\alpha$ -MSH y el análogo de  $\alpha$ -MSH N° 1 (SEC. ID N°: 1\*).

**50 Inhibición de la liberación de citocinas y de la hipertensión pulmonar inducidas por LPS en cerdos *in vivo*.**

55 El análogo de  $\alpha$ -MSH N° 1 (SEC. ID N°: 1\*) tiene efectos antiinflamatorios marcados que se muestran por una reducción importante de las concentraciones plasmáticas de TNF $\alpha$ , después de la infusión de LPS en los cerdos tratados con el análogo de  $\alpha$ -MSH N° 1 (SEC. ID N°: 1\*). Además de este efecto antiinflamatorio, el análogo de  $\alpha$ -MSH N° 1 (SEC. ID N°: 1\*) también tiene, sorprendentemente, la capacidad de proteger contra el desarrollo de hipertensión pulmonar, como lo demuestra una marcada atenuación de los aumentos en PAP inducidos por LPS encontrados en ratas tratadas con el análogo de  $\alpha$ -MSH N° 1 (SEC. ID N°: 1\*) (aumento máximo en PAP: vehículo:  $22 \pm 4$  mm de Hg vs análogo de  $\alpha$ -MSH N° 1 (SEC. ID N°: 1\*):  $8 \pm 2$  mm de Hg;  $p = 0.05$ ) (véase figura 4).

**60 Inhibición del tamaño del infarto de miocardio, inducido por oclusión durante 60 minutos de la arteria coronaria descendente anterior izquierda en ratas.**

65 En contraposición a  $\alpha$ -MSH el análogo de  $\alpha$ -MSH N° 1 (SEC. ID N°: 1\*) reduce sorprendentemente el tamaño del infarto de miocardio expresado como el área necrótica como fracción del área de riesgo medida 3 horas después de la reperusión de ADI. El efecto inhibitorio máximo del análogo de  $\alpha$ -MSH N° 1 (SEC. ID N°: 1\*) se consigue a una dosis de 200  $\mu$ g/kg de peso corporal donde la reducción en el tamaño del infarto es  $\sim 30\%$  en comparación con las

ratas tratada con vehículo (Vehículo:  $50.6 \pm 2.6\%$  del área de riesgo vs análogo de  $\alpha$ -MSH N° 1 (SEC. ID N°: 1\*):  $35.7 \pm 5.6\%$  del área de riesgo,  $p = 0.01$ ). A la dosis de  $1000 \mu\text{g}/\text{kg}$  de peso corporal la reducción en el tamaño del infarto es también  $\sim 30\%$  en comparación con las ratas tratadas con vehículo (análogo de  $\alpha$ -MSH N° 1 (SEC. ID N°: 1\*):  $35.0 \pm 4.4\%$  del área de riesgo,  $p < 0.01$  vs vehículo) (véase la figura 5). La medición de la presión diastólica final del ventrículo izquierdo (PDFVI) en otro conjunto de animales 14 días después de la oclusión durante 60 minutos de ADI, muestra que el efecto beneficioso del análogo de  $\alpha$ -MSH N° 1 (SEC. ID N°: 1\*) en el tamaño de los infartos se asoció a una marcada reducción en PDFVI y por lo tanto al desarrollo de insuficiencia cardíaca congestiva postinfarto (PDFVI: análogo de  $\alpha$ -MSH N° 1 (SEC. ID N°: 1\*):  $10.4 \pm 2.9$  mm de Hg; vs vehículo:  $20.0 \pm 2.2$  mm de Hg;  $P < 0.01$ ; vs control temporal :  $7.5 \pm 2.3$  mm de Hg; NS) (véase figura 6).

#### **Inhibición de la insuficiencia renal inducida por oclusión bilateral de las arterias renales durante 40 minutos en ratas**

La isquemia renal bilateral (IRB) durante 60 minutos induce una marcada poliuria postisquémica. Las ratas con IRB tienen poliuria ininterrumpida, que en el día 5 después de la lesión isquémica se incrementa en 101% en comparación con las ratas de control falsamente operadas (IRB-vehículo:  $34.8 \pm 3.3$  ml/24 horas vs control temporal:  $17.3 \pm 2.1$  ml/24 horas,  $p < 0.01$ ). El tratamiento con  $\alpha$ -MSH es incapaz de reducir la poliuria (IRB- $\alpha$ -MSH:  $29.0 \pm 2.9$  ml/24 horas; NS vs IRB-vehículo). Sorprendentemente, el análogo de  $\alpha$ -MSH N° 1 (SEC. ID N°: 1\*) es capaz de inducir una normalización completa del flujo de orina (IRB-análogo de  $\alpha$ -MSH N° 1 (SEC. ID N°: 1\*):  $18.8 \pm 3.6$  ml/24 horas; NS vs control temporal;  $P < 0.01$  vs IRB-vehículo) (véase figura 7).

#### **Inhibición de la insuficiencia renal inducida por cisplatino**

El tratamiento con cisplatino induce una marcada hipomagnesemia y nefrotoxicidad como lo evidencia la caída en la tasa de filtración glomerular. De conformidad con esto las ratas tratadas con cisplatino y vehículo desarrollan hipomagnesemia (Plasma Mg:  $0.61 \pm 0.04$  mM vs ratas de control:  $0.77 \pm 0.05$  mM,  $P < 0.05$ ) y una marcada caída en la tasa de filtración glomerular. El Mg plasmático también se reduce en las ratas tratadas con cisplatino y  $\alpha$ -MSH ( $0.37 \pm 0.04$  mM,  $P < 0.05$  vs ratas de control). Sorprendentemente, el tratamiento con el análogo de  $\alpha$ -MSH N° 1 (SEC. ID N°: 1\*) previene la hipomagnesemia inducida por cisplatino ( $0.84 \pm 0.04$  mM, NS vs ratas de control) y previene la caída en la tasa de filtración glomerular inducida por cisplatino.

#### **Ejemplo 2**

El compuesto de prueba es el análogo de  $\alpha$ -MSH N° 2:

**Ac-Lys-Lys-Lys-Lys-Lys-Lys-Ser-Tyr-Ser-Nle-Glu-His-(D-Phe)-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-Val-NH<sub>2</sub>** (SEC. ID N°: 5 \*acetilado en el extremo N-terminal y amidado en el C-terminal)

El análogo de  $\alpha$ -MSH N° 2 (SEC. ID N°: 5) difiere del análogo de  $\alpha$ -MSH N° 1 (SEC. ID N°: 1\*) por sustitución de Met con Nle en la posición 10 y por sustitución estereoquímica de Phe con (D-Phe) en la posición 13.

El compuesto se prueba en los diseños experimentales 1-3 y 5-7.

#### **Inhibición de la producción de TNF- $\alpha$ por los leucocitos humanos inducida por LPS *in vitro***

Tanto  $\alpha$ -MSH como el análogo de  $\alpha$ -MSH N° 2 (SEC. ID N°: 5 \*) reducen de manera dependiente de la dosis la acumulación de TNF- $\alpha$  inducida por LPS en la suspensión de leucocitos humanos. Sorprendentemente, el efecto inhibitorio del análogo de  $\alpha$ -MSH N° 2 (SEC. ID N°: 5\*) es notablemente más pronunciado que el efecto antiinflamatorio del péptido nativo  $\alpha$ -MSH,  $\alpha$ -MSH inhibe la acumulación de TNF- $\alpha$  a  $73 \pm 9\%$  de la respuesta máxima (LPS-vehículo). En contraposición a esto el análogo de  $\alpha$ -MSH N° 2 (SEC. ID N°: 5 \*) es capaz de reducir la acumulación de TNF- $\alpha$  a  $42 \pm 11\%$  del vehículo ( $P < 0.01$  vs  $\alpha$ -MSH) (véase figura 8).

#### **Inhibición de la producción de TNF- $\alpha$ inducida por LPS en ratas *in vivo***

Tanto  $\alpha$ -MSH como el análogo de  $\alpha$ -MSH N° 2 (SEC. ID N°: 5 \*) reducen la acumulación de TNF- $\alpha$  en ratas durante la infusión IV de LPS. El efecto inhibitorio máximo de  $\alpha$ -MSH así como del análogo de  $\alpha$ -MSH N° 2 (SEC. ID N°: 5\*) se consigue a una dosis de  $200 \mu\text{g}/\text{kg}$  de peso corporal. Sorprendentemente, el efecto inhibitorio del análogo de  $\alpha$ -MSH N° 2 (SEC. ID N°: 5 \*) es notablemente más pronunciado que el efecto antiinflamatorio del péptido nativo  $\alpha$ -MSH. Mientras que  $\alpha$ -MSH inhibe la concentración de TNF- $\alpha$  en el plasma de las ratas a  $17 \pm 3\%$  de la respuesta máxima (LPS-vehículo), el análogo de  $\alpha$ -MSH N° 2 (SEC. ID N°: 5\*) es capaz de reducir la acumulación de TNF- $\alpha$  a  $9 \pm 1\%$  del vehículo ( $P < 0.05$  vs  $\alpha$ -MSH) (véase figura 9).

#### **Inhibición de la infiltración de neutrófilos y eosinófilos después de la inhalación de LPS en ratas.**

Tanto  $\alpha$ -MSH como el análogo de  $\alpha$ -MSH N° 2 (SEC. ID N°: 5\*) reducen la respuesta inflamatoria a la inhalación de LPS dentro del espacio alveolar como demuestra la marcada reducción de eosinófilos en el LBA obtenido 24 horas

después de la inhalación de LPS. El tratamiento con  $\alpha$ -MSH reduce el número de eosinófilos en el LBA a  $26.7 \pm 4.3 \times 10^5$  células (P vs vehículo  $<0.05$ ) y el análogo de  $\alpha$ -MSH N° 2 (SEC. ID N°: 5\*) reduce el número de eosinófilos a  $34.0 \pm 8.6 \times 10^5$  células (P vs vehículo  $<0.05$ ) en comparación con las ratas tratadas con vehículo donde el número de eosinófilos en el LBA es  $164.6 \pm 42.2 \times 10^5$  células (véase figura 10). Sorprendentemente, el análogo de  $\alpha$ -MSH N° 2 (SEC. ID N°: 5\*) tiene un efecto mucho más pronunciado sobre los neutrófilos dentro del LBA que  $\alpha$ -MSH (análogo de  $\alpha$ -MSH N° 2 (SEC. ID N°: 5\*):  $9.1 \pm 2.4 \times 10^5$  células vs  $\alpha$ -MSH:  $20.1 \pm 2.5 \times 10^5$  células  $P < 0.05$ ) (véase figura 11).

#### **Inhibición del tamaño del infarto de miocardio, inducido por oclusión durante 60 minutos de la arteria coronaria descendente anterior izquierda en ratas.**

En contraposición a  $\alpha$ -MSH el análogo de  $\alpha$ -MSH N° 2 (SEC. ID N°: 5\*) reduce sorprendentemente el tamaño del infarto de miocardio expresado como el área necrótica como fracción del área de riesgo medida 3 horas después de la reperfusión de ADI. El efecto inhibitorio máximo del análogo de  $\alpha$ -MSH N° 2 (SEC. ID N°: 5\*) se consigue a una dosis de 200  $\mu$ g/kg de peso corporal donde la reducción en el tamaño del infarto es ~27% en comparación con las ratas tratadas con vehículo (Vehículo:  $51.4 \pm 2.1\%$  del área de riesgo vs análogo de  $\alpha$ -MSH N° 2 (SEC. ID N°: 5\*):  $37.4 \pm 5.1\%$  del área de riesgo,  $p = 0.01$ ). (Véase figura 12). La medición de la presión diastólica final del ventrículo izquierdo (PDFVI) en otro conjunto de animales 14 días después de la oclusión durante 60 minutos de ADI, muestra que el efecto beneficioso del análogo de  $\alpha$ -MSH N° 2 (SEC. ID N°: 5\*) en el tamaño de los infartos se asocia a una marcada reducción en PDFVI y por lo tanto al desarrollo de insuficiencia cardíaca congestiva postinfarto.

#### **Inhibición de la insuficiencia renal inducida por oclusión bilateral de las arterias renales durante 40 minutos en ratas**

La isquemia renal bilateral (IRB) durante 60 minutos induce una marcada poliuria postisquémica. Las ratas con IRB tienen poliuria ininterrumpida, que en el día 5 después de la lesión isquémica se incrementa en 101% en comparación con las ratas de control falsamente operadas (IRB-vehículo:  $34.8 \pm 3.3$  ml/24 horas vs control temporal:  $17.3 \pm 2.1$  ml/24 horas,  $p < 0.01$ ). El tratamiento con  $\alpha$ -MSH es incapaz de reducir la poliuria (IRB- $\alpha$ -MSH:  $29.0 \pm 2.9$  ml/24 horas; NS vs IRB-vehículo) en contraposición a esto el tratamiento con el análogo de  $\alpha$ -MSH N° 2 (SEC. ID N°: 5\*) reduce marcadamente el grado de poliuria encontrado después de la IRB.

#### **Inhibición de la insuficiencia renal inducida por cisplatino**

El tratamiento con cisplatino induce una marcada hipomagnesemia y nefrotoxicidad como lo evidencia la caída en la tasa de filtración glomerular. De conformidad con esto las ratas tratadas con cisplatino y vehículo desarrollan hipomagnesemia (Mg plasmático:  $0.61 \pm 0.04$  mM vs ratas de control:  $0.77 \pm 0.05$  mM,  $P < 0.05$ ) asociada a una caída en la tasa de filtración glomerular. El Mg plasmático también se reduce en las ratas tratadas con cisplatino y  $\alpha$ -MSH ( $0.37 \pm 0.04$  mM,  $P < 0.05$  vs ratas de control). En contraposición a esto el análogo de  $\alpha$ -MSH N° 2 (SEC. ID N°: 5\*) previene la hipomagnesemia inducida por cisplatino así como la caída en la tasa de filtración glomerular inducida por cisplatino.

#### **Ejemplo 3**

El compuesto de prueba es el análogo de  $\alpha$ -MSH N° 3:

**Ac-Lys-Lys-Lys-Lys-Lys-Lys-Ser-Tyr-Ser-Nle-Glu-His-D-Nal-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-Val-NH<sub>2</sub>** (SEC. ID N°: 9 \*acetilado en el extremo N-terminal y amidado en el C-terminal)

El análogo de  $\alpha$ -MSH N° 3 (SEC. ID N°: 9) difiere del análogo de  $\alpha$ -MSH N° 1 (SEC. ID N°: 1\*) por sustitución de Met con Nle en la posición 10 y por sustitución de Phe con D-Nal en la posición 13.

El compuesto se prueba en los diseños experimentales 1, 2 y 5.

#### **Inhibición de la producción de TNF- $\alpha$ por los leucocitos humanos inducida por LPS *in vitro***

Tanto  $\alpha$ -MSH como el análogo de  $\alpha$ -MSH N° 3 (SEC. ID N°: 9\*) reducen de manera dependiente de la dosis la acumulación de TNF- $\alpha$  inducida por LPS en la suspensión de leucocitos humanos. Sorprendentemente, el efecto inhibitorio del análogo de  $\alpha$ -MSH N° 3 (SEC. ID N°: 9\*) es notablemente más pronunciado que el efecto antiinflamatorio del péptido nativo  $\alpha$ -MSH,  $\alpha$ -MSH inhibe la acumulación de TNF- $\alpha$  a  $73 \pm 9\%$  de la respuesta máxima (LPS-vehículo). En contraposición a esto, el análogo de  $\alpha$ -MSH N° 3 (SEC. ID N°: 9\*) es capaz de reducir la acumulación de TNF- $\alpha$  a  $53 \pm 13\%$  del vehículo ( $P < 0.05$  vs  $\alpha$ -MSH) (véase figura 13).

#### **Inhibición de la producción de TNF- $\alpha$ inducida por LPS en ratas *in vivo***

Tanto  $\alpha$ -MSH como el análogo de  $\alpha$ -MSH N° 3 (SEC. ID N°: 9\*) reducen la acumulación de TNF- $\alpha$  en ratas durante la infusión IV de LPS. El efecto inhibitorio máximo de  $\alpha$ -MSH así como del análogo de  $\alpha$ -MSH N° 3 (SEC. ID N°: 9\*)

se consigue a una dosis de 200 µg/kg de peso corporal. Sorprendentemente, el efecto inhibitorio del análogo de α-MSH N° 3 (SEC. ID N°: 9\*) es notablemente más pronunciado que el efecto antiinflamatorio del péptido nativo α-MSH. Mientras que α-MSH inhibe la concentración de TNF-α en el plasma de las ratas a 17 ± 3% de la respuesta máxima (LPS-vehículo), el análogo de α-MSH N° 3 (SEC. ID N°: 9\*) es capaz de reducir la acumulación de TNF-α a 11 ± 3% del vehículo (P<0.05 vs α-MSH) (véase figura 14).

#### **Inhibición del tamaño del infarto de miocardio, inducido por oclusión durante 60 minutos de la arteria coronaria descendente anterior izquierda en ratas.**

En contraposición a α-MSH, el análogo de α-MSH N° 3 (SEC. ID N°: 9\*) reduce sorprendentemente el tamaño del infarto de miocardio expresado como el área necrótica como fracción del área de riesgo medida 3 horas después de la reperusión de ADI. El efecto inhibitorio máximo del análogo de α-MSH N° 3 (SEC. ID N°: 9\*) se consigue a una dosis de 200 µg/kg de peso corporal donde la reducción en el tamaño del infarto es ~24% en comparación con las ratas tratada con vehículo (Vehículo: 51.3 ± 2.1% del área de riesgo vs el análogo de α-MSH N° 3 (SEC. ID N°: 9\*): 39.0 ± 3.4% del área de riesgo, p = 0.05). (véase figura 15). La medición de la presión diastólica final del ventrículo izquierdo (PDFVI) en otro conjunto de animales 14 días después de la oclusión durante 60 minutos de ADI, muestra que el efecto beneficioso del análogo de α-MSH N° 3 (SEC. ID N°: 9\*) en el tamaño de los infartos se asocia a una marcada reducción en PDFVI y por lo tanto al desarrollo de insuficiencia cardíaca congestiva postinfarto.

#### **Ejemplo 4**

El compuesto de prueba es el análogo de α-MSH N° 4:

**Ac-Lys-Lys-Lys-Lys-Lys-Lys-Ser-Ser-Ile-Ile-Ser-His-Phe-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-Val-NH<sub>2</sub>** (SEC. ID N°: 13 \*acetilado en el extremo N-terminal y amidado en el C-terminal)

El análogo de α-MSH N° 4 (SEC. ID N°: 13) difiere del análogo de α-MSH N° 1 (SEC. ID N°: 1\*) por sustitución de Tyr con Ser en la posición 8, por sustitución de Ser con Ile en la posición 9, por sustitución de Met con Ile en la posición 10 y por sustitución de Glu con Ser en la posición 11.

El compuesto se prueba en los diseños experimentales 1 y 2.

#### **Inhibición de la producción de TNF-α por los leucocitos humanos inducida por LPS *in vitro***

Tanto α-MSH como el análogo de α-MSH N° 4 (SEC. ID N°: 13\*) reducen de manera dependiente de la dosis la acumulación de TNF-α inducida por LPS en la suspensión de leucocitos humanos. Sorprendentemente, el efecto inhibitorio del análogo de α-MSH N° 4 (SEC. ID N°: 13 \*) es notablemente más pronunciado que el efecto antiinflamatorio del péptido nativo α-MSH.

#### **Inhibición de la producción de TNF-α inducida por LPS en ratas *in vivo***

Tanto α-MSH como el análogo de α-MSH N° 4 (SEC. ID N°: 13\*) reducen la acumulación de TNF-α en ratas durante la infusión IV de LPS. El efecto inhibitorio máximo de α-MSH así como del análogo de α-MSH N° 4 se consigue a una dosis de 200 µg/kg de peso corporal. Sorprendentemente, el efecto inhibitorio del análogo de α-MSH N° 4 es notablemente más pronunciado que el efecto antiinflamatorio del péptido nativo α-MSH. Mientras que α-MSH inhibe la concentración de TNF-α en el plasma de las ratas a 17 ± 3% de la respuesta máxima (LPS-vehículo), el análogo de α-MSH N° 4 (SEC. ID N°: 13\*) es capaz de reducir la acumulación de TNF-α a 12 ± 2% del vehículo (P<0.05 vs α-MSH) (véase figura 16).

#### **Ejemplo 5**

El compuesto de prueba es el análogo de α-MSH N° 5:

**Ac-Lys-Lys-Lys-Lys-Lys-Lys-Ser-Ser-Ile-Ile-Ser-His-(D-Phe)-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-Val-NH<sub>2</sub>** (SEC. ID N°: 17 \*acetilado en el extremo N-terminal y amidado en el C-terminal)

El análogo de α-MSH N° 5 (SEC. ID N°: 17) difiere del análogo de α-MSH N° 1 (SEC. ID N°: 1\*) por sustitución de Tyr con Ser en la posición 8, por sustitución de Ser con Ile en la posición 9, por sustitución de Met con Ile en la posición 10, por sustitución de Glu con Ser en la posición 11 y por sustitución estereoquímica de Phe con (D-Phe) en la posición 13.

El compuesto se prueba en los diseños experimentales 1 y 2.

#### **Inhibición de la producción de TNF-α por los leucocitos humanos inducida por LPS *in vitro***

Tanto  $\alpha$ -MSH como el análogo de  $\alpha$ -MSH N° 5 (SEC. ID N°: 17\*) reducen de manera dependiente de la dosis la acumulación de TNF- $\alpha$  inducida por LPS en la suspensión de leucocitos humanos. Sorprendentemente, el efecto inhibitorio del análogo de  $\alpha$ -MSH N° 5 (SEC. ID N°: 17 \*) es notablemente más pronunciado que el efecto antiinflamatorio del péptido nativo  $\alpha$ -MSH.

#### **Inhibición de la producción de TNF- $\alpha$ inducida por LPS en ratas *in vivo***

Tanto  $\alpha$ -MSH como el análogo de  $\alpha$ -MSH N° 5 (SEC. ID N°: 17\*) reducen la acumulación de TNF- $\alpha$  en ratas durante la infusión IV de LPS. El efecto inhibitorio máximo de  $\alpha$ -MSH así como del análogo de  $\alpha$ -MSH N° 5 (SEC. ID N°: 17\*) se consigue a una dosis de 200  $\mu$ g/kg de peso corporal. Sorprendentemente, el efecto inhibitorio del análogo de  $\alpha$ -MSH N° 5 (SEC. ID N°: 17\*) es notablemente más pronunciado que el efecto antiinflamatorio del péptido nativo  $\alpha$ -MSH.

#### **Ejemplo 6**

El compuesto de prueba es el análogo de  $\alpha$ -MSH N° 6:

Ac-Glu-Glu-Glu-Glu-Glu-Glu-Ser-Tyr-Ser-Met-Glu-His-Phe-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-Val-NH<sub>2</sub> (SEC. ID N°: 2 \*acetilado en el extremo N-terminal y amidado en el C-terminal)

El análogo de  $\alpha$ -MSH N° 6 (SEC. ID N°: 2) difiere del análogo de  $\alpha$ -MSH N° 1 (SEC. ID N°: 1\*) por sustitución de (Lys)<sub>6</sub> con (Glu)<sub>6</sub> en la posición 1-6.

El compuesto se prueba en los diseños experimentales 1 y 2.

#### **Inhibición de la producción de TNF- $\alpha$ por los leucocitos humanos inducida por LPS *in vitro***

Tanto  $\alpha$ -MSH como el análogo de  $\alpha$ -MSH N° 6 (SEC. ID N°: 2\*) reducen de manera dependiente de la dosis la acumulación de TNF- $\alpha$  inducida por LPS en la suspensión de leucocitos humanos. Sorprendentemente, el efecto inhibitorio del análogo de  $\alpha$ -MSH N° 6 (SEC. ID N°: 2 \*) es notablemente más pronunciado que el efecto antiinflamatorio del péptido nativo  $\alpha$ -MSH.

#### **Inhibición de la producción de TNF- $\alpha$ inducida por LPS en ratas *in vivo***

Tanto  $\alpha$ -MSH como el análogo de  $\alpha$ -MSH N° 6 (SEC. ID N°: 2\*) reducen la acumulación de TNF- $\alpha$  en ratas durante la infusión IV de LPS. El efecto inhibitorio máximo de  $\alpha$ -MSH así como del análogo de  $\alpha$ -MSH N° 6 (SEC. ID N°: 2\*) se consigue a una dosis de 200  $\mu$ g/kg de peso corporal. Sorprendentemente, el efecto inhibitorio del análogo de  $\alpha$ -MSH N° 6 (SEC. ID N°: 2\*) es notablemente más pronunciado que el efecto antiinflamatorio del péptido nativo  $\alpha$ -MSH.

#### **Ejemplo 7**

El compuesto de prueba es el análogo de  $\alpha$ -MSH N° 7:

Ac-Lys-Lys-Lys-Lys-Lys-Lys-Ser-Tyr-Ser-Met-Glu-His-Phe-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-(D-Val)-NH<sub>2</sub> (SEC. ID N°: 3 \*acetilado en el extremo N-terminal y amidado en el C-terminal)

El análogo de  $\alpha$ -MSH N° 7 (SEC. ID N°: 3) difiere del análogo de  $\alpha$ -MSH N° 1 (SEC. ID N°: 1\*) por sustitución estereoquímica de Phe con (D-Val) en la posición 19.

El compuesto se prueba en los diseños experimentales 1 y 2.

#### **Inhibición de la producción de TNF- $\alpha$ por los leucocitos humanos inducida por LPS *in vitro***

Tanto  $\alpha$ -MSH como el análogo de  $\alpha$ -MSH N° 7 (SEC. ID N°: 3\*) reducen de manera dependiente de la dosis la acumulación de TNF- $\alpha$  inducida por LPS en la suspensión de leucocitos humanos. Sorprendentemente, el efecto inhibitorio del análogo de  $\alpha$ -MSH N° 7 (SEC. ID N°: 3 \*) es notablemente más pronunciado que el efecto antiinflamatorio del péptido nativo  $\alpha$ -MSH.

#### **Inhibición de la producción de TNF- $\alpha$ inducida por LPS en ratas *in vivo***

Tanto  $\alpha$ -MSH como el análogo de  $\alpha$ -MSH N° 7 (SEC. ID N°: 3\*) reducen la acumulación de TNF- $\alpha$  durante la infusión IV de LPS. El efecto inhibitorio máximo de  $\alpha$ -MSH así como del análogo de  $\alpha$ -MSH N° 7 (SEC. ID N°: 3\*) se consigue a una dosis de 200  $\mu$ g/kg de peso corporal. Sorprendentemente, el efecto inhibitorio del análogo de  $\alpha$ -MSH N° 7 (SEC. ID N°: 3\*) es notablemente más pronunciado que el efecto antiinflamatorio del péptido nativo  $\alpha$ -MSH.



**Leyendas de las figuras****Figura 1 Acumulación de TNF- $\alpha$  inducida por LPS en una suspensión de linfocitos humanos**

5 La figura muestra el efecto antiinflamatorio máximo del análogo de  $\alpha$ -MSH N° 1 (SEC. ID N°: 1\*) (MCA N° 1) en el diseño experimental 1. El efecto inhibitorio máximo sobre la producción de TNF- $\alpha$  inducida por LPS se consiguió con  $10^{-7}$  M para  $\alpha$ -MSH y MCA N° 1. Media  $\pm$  DE (N = 6-9 en cada grupo). \*:p<0.05 vs Vehículo #: p<0.05 vs  $\alpha$ -MSH.

**Figura 2 Acumulación de TNF- $\alpha$  en el plasma inducida por LPS**

10 La figura muestra el efecto antiinflamatorio máximo del análogo de  $\alpha$ -MSH N° 1 (SEC. ID N°: 1\*) (MCA N° 1) en el diseño experimental 2. El efecto inhibitorio máximo sobre la producción de TNF- $\alpha$  inducida por LPS en ratas, se consiguió con 200  $\mu$ g/kg de peso corporal administrado IV para  $\alpha$ -MSH y MCA N° 1. Media  $\pm$  DE (N = 4-6 en cada grupo). \*:p<0.05 vs Vehículo #: p<0.05 vs  $\alpha$ -MSH.

**Figura 3 Eosinófilos**

15 La figura muestra el efecto de  $\alpha$ -MSH y el análogo de  $\alpha$ -MSH N° 1 (SEC. ID N°: 1\*) (MCA N° 1) en la acumulación de eosinófilos en los pulmones en el diseño experimental 3. Ambos compuestos se administraron en una dosis de 200  $\mu$ g/kg de peso corporal por vía IV 2 veces al día. Media  $\pm$  DE (N = 6-9 en cada grupo). \*: diferente del vehículo.

**Figura 4 Presión de la arteria pulmonar**

20 La figura muestra el efecto del análogo de  $\alpha$ -MSH N° 1 (SEC. ID N°: 1\*) (MCA N° 1) sobre los cambios en la presión de la arteria pulmonar inducidos por LPS en cerdos. Media  $\pm$  DE (N = 3 y 6 en los dos grupos). \*: diferente del vehículo.

**Figura 5 Tamaño del infarto 3 horas después de la reperfusión**

25 La figura muestra el efecto protector del análogo de  $\alpha$ -MSH N° 1 (SEC. ID N°: 1\*) (MCA N° 1) sobre el tamaño del infarto de miocardio en el diseño experimental 4. El efecto máximo de MCA N° 1 se consiguió con 200  $\mu$ g/kg de peso corporal administrado IV. Media  $\pm$  DE (N = 5-10 en cada grupo). \*: diferente del vehículo.

**Figura 6 PDFVI dos semanas después de la oclusión de ADI durante 60 min.**

30 La figura muestra el efecto protector del análogo de  $\alpha$ -MSH N° 1 (SEC. ID N°: 1\*) (MCA N° 1) en el desarrollo de insuficiencia cardíaca congestiva postinfarto en el diseño experimental 4. El efecto de MCA N° 1 se consiguió con 200  $\mu$ g/kg de peso corporal. Media  $\pm$  DE (N = 6-9 en cada grupo). \*: <0.05 vs falsos; #: p<0.05 vs vehículo.

**Figura 7 Diuresis**

35 La figura muestra el efecto protector del análogo de  $\alpha$ -MSH N° 1 (SEC. ID N°: 1\*) (MCA N° 1) en el desarrollo de poliuria postisquémica en el diseño experimental 5. El efecto de MCA N° 1 se consiguió con 200  $\mu$ g/kg de peso corporal administrado IV. Media  $\pm$  DE (N = 5-7 en cada grupo). \*: diferente del vehículo.

**Figura 8 Acumulación de TNF- $\alpha$  inducida por LPS en una suspensión de linfocitos humanos**

40 La figura muestra el efecto antiinflamatorio máximo del análogo de  $\alpha$ -MSH N° 2 (SEC. ID N°: 5) (MCA N° 2) en el diseño experimental 1. El efecto inhibitorio máximo sobre la producción de TNF- $\alpha$  inducida por LPS se consiguió con  $10^{-7}$  M para  $\alpha$ -MSH y MCA N° 2. Media  $\pm$  DE (N = 6-9 en cada grupo). \*:p<0.05 vs Vehículo #: p<0.05 vs  $\alpha$ -MSH.

**Figura 9 Acumulación de TNF- $\alpha$  en el plasma inducida por LPS**

45 La figura muestra el efecto antiinflamatorio máximo del análogo de  $\alpha$ -MSH N° 2 (SEC. ID N°: 5) (MCA N° 2) en el diseño experimental 2. El efecto inhibitorio máximo sobre la producción de TNF- $\alpha$  inducida por LPS en ratas, se consiguió con 200  $\mu$ g/kg de peso corporal administrado IV para  $\alpha$ -MSH y MCA N° 2. Media  $\pm$  DE (N = 4-6 en cada grupo). \*:p<0.05 vs Vehículo #: p<0.05 vs  $\alpha$ -MSH.

**Figura 10 Eosinófilos**

50 La figura muestra el efecto de  $\alpha$ -MSH y del análogo de  $\alpha$ -MSH N° 2 (SEC. ID N°: 5\*) (MCA N° 2) sobre la acumulación de eosinófilos en los pulmones en el diseño experimental 3. Ambos compuestos se administraron en una dosis de 200  $\mu$ g/kg de peso corporal por vía IV 2 veces al día. Media  $\pm$  DE (N = 6-9 en cada grupo). \*: diferente del vehículo.

**Figura 11 Neutrófilos**

La figura muestra el efecto de  $\alpha$ MSH y del análogo de  $\alpha$ -MSH N° 2 (SEC. ID N°: 5\*) (MCA N° 2) sobre la acumulación de neutrófilos en los pulmones en el diseño experimental 3. Ambos compuestos se administraron en una dosis de 200  $\mu$ g/kg de peso corporal por vía IV 2 veces al día. Media  $\pm$  DE (N = 6-9 en cada grupo). \*: diferente del vehículo.

**Figura 12 Tamaño del infarto 3 horas después de la reperfusión**

La figura muestra el efecto protector del análogo de  $\alpha$ -MSH N° 2 (SEC. ID N°: 5\*) (MCA N° 2) en el tamaño del infarto de miocardio en el diseño experimental 4. El efecto de MCA N° 3 se consiguió con 200  $\mu$ g/kg de peso corporal administrado IV. Media  $\pm$  DE (N = 5-10 en cada grupo). \*: diferente del vehículo.

**Figura 13 Acumulación de TNF- $\alpha$  inducida por LPS en una suspensión de linfocitos humanos**

La figura muestra el efecto antiinflamatorio máximo del análogo de  $\alpha$ -MSH N° 3 (SEC. ID N°: 9\*) (MCA N° 3) en el diseño experimental 1. El efecto inhibitorio máximo sobre la producción de TNF- $\alpha$  inducida por LPS se consiguió con  $10^{-7}$  M para  $\alpha$ -MSH y MCA N° 3. Media  $\pm$  DE (N = 6-9 en cada grupo). \*:p<0.05 vs Vehículo #: p<0.05 vs  $\alpha$ -MSH.

**Figura 14 Acumulación de TNF- $\alpha$  en el plasma inducida por LPS**

La figura muestra el efecto antiinflamatorio máximo del análogo de  $\alpha$ -MSH N° 3 (SEC. ID N°: 9) (MCA N° 3) en el diseño experimental 2. El efecto inhibitorio máximo sobre la producción de TNF- $\alpha$  inducida por LPS en ratas, se consiguió con 200  $\mu$ g/kg de peso corporal administrado IV para  $\alpha$ -MSH y MCA N° 3. Media  $\pm$  DE (N = 4-6 en cada grupo). \*:p<0.05 vs Vehículo #: p<0.05 vs  $\alpha$ -MSH.

**Figura 15 Tamaño del infarto 3 horas después de la reperfusión**

La figura muestra el efecto protector del análogo de  $\alpha$ -MSH N° 3 (SEC. ID N°: 9\*) (MCA N° 3) en el tamaño del infarto de miocardio en el diseño experimental 4. El efecto de MCA N° 3 se consiguió con 200  $\mu$ g/kg de peso corporal administrado IV. Media  $\pm$  DE (N = 5-10 en cada grupo). \*: diferente del vehículo.

**Figura 16 Acumulación de TNF- $\alpha$  en el plasma inducida por LPS**

La figura muestra el efecto antiinflamatorio máximo del análogo de  $\alpha$ -MSH N° 4 (SEC. ID N°: 13) (MCA N° 4) en el diseño experimental 2. El efecto inhibitorio máximo sobre la producción de TNF- $\alpha$  inducida por LPS en ratas, se consiguió con 200  $\mu$ g/kg de peso corporal administrado IV para  $\alpha$ -MSH y MCA N° 4. Media  $\pm$  DE (N = 4-6 en cada grupo). \*:p<0.05 vs Vehículo #: p<0.05 vs  $\alpha$ -MSH.

**Bibliografía****[0306]**

U.S. Patent No. 4,288,627

WO 91/17243

45 WO 99/46283

WO 0190140

Beaucage, S.L. and Caruthers, M.H. Tetrahedron Letters 22, 1981, pp. 1859-1869

Bodanszky, M. and Bodanszky, A., "The Practice of Peptide Synthesis", 2. Ed, Springer-Verlag, 1994.

Catania, A., Rajora, F., Capsoni, F., Minonzio, R.A., Star, and Lipton, J.M. Peptides 17: 675-679, 1996.

50 Ehrlich, 1978, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 75:1433).

Guo and Sherman, 1995, Molecular Cellular Biology 15:5983-5990.

Hartmeyer, M., Scholzen T., Becher E., Bhardwaj R.S., Schwarz T. and Luger T.A., J.Immunol., 159: 1930-1937, 1997.

Hiltz M.E. *et al.* (1991), Peptides, 12, 767-771.

55 Hruby V.J. *et al.* (1995), J. Med. Chem., 38, 3454-3461.

Jones, J. "The Chemical Synthesis of Peptides", Clarendon Press, 1991.

Kullmann, W. 1987, Enzymatic Peptide Synthesis, CRC Press, Boca Raton, Florida, pp. 41-59.

Lipton, J.M and Catania, A. Immunol. Today 18: 140-145. 1997

Liu *et al.*, 1996, J. Am. Chem. Soc. 118:307-312 and Dawson *et al.*, 1996, 226:776.

60 Luger, T.A., Scholzen T. and Grabbe S., J.Investig.Dermatol.Symp.Proc., 2: 87-93, 1997.

Matthes *et al.*, EMBO Journal 3, 1984, pp. 801-805.

MANIATIS, T., E. F. FRITSCH and J. SAMBROOK, 1982 Molecular Cloning: A Laboratory Manual. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY.

Remington: The science and practice of pharmacy" 20th ed. Mack Publishing, Easton PA, 2000 ISBN 0-912734-04-3

65 and "Encyclopedia of Pharmaceutical Technology", edited by Swarbrick, J. & J. C. Boylan, Marcel Dekker, Inc., New York, 1988 ISBN 0-8247-2800-9.

Rajora, N., Boccoli, G., Catania and Lipton J.M., Peptides, 18: 381-385, 1997.  
 Remington: The science and practice of pharmacy" 20th ed. Mack Publishing, Easton PA, 2000 ISBN 0-912734-04-3.  
 Rizzi A. *et al.* (2002), British Journal of Pharmacology, 137, 369-374.  
 Romanos *et al.*, 1992, Yeast 8:423-488.  
 5 Sawyer T.K. (1980), Proc. Nat. Acad. Sci., 10, 5754-5758.  
 Schiöth H.B. *et al.* (1998), Eur. J. Pharm., 349, 359-366.  
 Star, R.A., Rajora N., Huang J., Stock R.C., Catania A. and Lipton J.M.; Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A, 92: 8016-8020, 1995.  
 Wong, K.Y., Rojora, G., Boccoli, A., Catania, A., and Lipton J.M., Neuroimmunomodulation, 4: 37-41,1997.  
 10 Useful proteins from recombinant bacteria" in Scientific American, 1980, 242:74-94

Listado de secuencias

**[0307]**

15 <110> SOLICITANTE: Action Pharma A/S *et al.*

<120> TÍTULO: Análogos de alfa-MSH terapéuticamente activos

20 <130> EXPEDIENTE O ARCHIVO REFERENCIA: 39325PC01

<160> NÚMERO DE SECUENCIAS: 101

<170> SOFTWARE: FastSEQ para Windows versión 4.0

25 <210> SEC. ID Nº: 1

<211> LONGITUD: 19

<212> TIPO: PRT

<213> ORGANISMO: Secuencia artificial

30 <220>

CARACTERÍSTICA:

<223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH

35 <400> SEC. ID Nº: 1

```
Lys Lys Lys Lys Lys Lys Ser Tyr Ser Met Glu His Phe Arg Trp Gly
  1           5           10           15
Lys Pro Val
```

40 <210> SEC. ID Nº: 2

<211> LONGITUD: 19

<212> TIPO: PRT

<213> ORGANISMO: Secuencia artificial

45 <220>

CARACTERÍSTICA:

<223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH

<400> SEC. ID Nº: 2

```
Glu Glu Glu Glu Glu Glu Ser Tyr Ser Met Glu His Phe Arg Trp Gly
  1           5           10           15
Lys Pro Val
```

50

<210> SEC. ID Nº: 3

<211> LONGITUD: 19

<212> TIPO: PRT

55 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial

<220> CARACTERÍSTICA:

<221> NOMBRE/CLAVE: MUTÁGENO

<222> UBICACIÓN: 19

60 <223> OTRA INFORMACIÓN: d-valina

<223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH

<400> SEC. ID Nº: 3

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Ser Tyr Ser Met Glu His Phe Arg Trp Gly  
 1 5 10 15  
 Lys Pro Val  
 <210> SEC. ID Nº: 4  
 <211> LONGITUD: 19  
 5 <212> TIPO: PRT  
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial

<220> CARACTERÍSTICA:  
 <221> NOMBRE/CLAVE: MUTÁGENO  
 10 <222> UBICACIÓN: 19  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: d-valina

<223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH

15 <400> SEC. ID Nº: 4

Glu Glu Glu Glu Glu Glu Ser Tyr Ser Met Glu His Phe Arg Trp Gly  
 1 5 10 15  
 Lys Pro Val

<210> SEC. ID Nº: 5  
 20 <211> LONGITUD: 19  
 <212> TIPO: PRT  
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial

<220> CARACTERÍSTICA:  
 25 <223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH

<221> NOMBRE/CLAVE: MUTÁGENO  
 <222> UBICACIÓN: 13  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: d-fenilalanina

30 <221> NOMBRE/CLAVE: MUTÁGENO  
 <222> UBICACIÓN: 10  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Xaa = Nle

35 <400> SEC. ID Nº: 5

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Ser Tyr Ser Xaa Glu His Phe Arg Trp Gly  
 1 5 10 15  
 Lys Pro Val

<210> SEC. ID Nº: 6  
 40 <211> LONGITUD: 19  
 <212> TIPO: PRT  
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial

<220> CARACTERÍSTICA:  
 45 <223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH

<221> NOMBRE/CLAVE: MUTÁGENO  
 <222> UBICACIÓN: 13  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: d-fenilalanina

50 <221> NOMBRE/CLAVE: MUTÁGENO  
 <222> UBICACIÓN: 10  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Xaa = Nle

55 <400> SEC. ID Nº: 6

Glu Glu Glu Glu Glu Glu Ser Tyr Ser Xaa Glu His Phe Arg Trp Gly  
 1 5 10 15  
 Lys Pro Val

<210> SEC. ID Nº: 7

<211> LONGITUD: 19  
 <212> TIPO: PRT  
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial

5 <220> CARACTERÍSTICA:  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH

<221> NOMBRE/CLAVE: MUTÁGENO  
 <222> UBICACIÓN: 13  
 10 <223> OTRA INFORMACIÓN: d-fenilalanina

<221> NOMBRE/CLAVE: MUTÁGENO  
 <222> UBICACIÓN: 19  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: d-valina

15 <221> NOMBRE/CLAVE: MUTÁGENO  
 <222> UBICACIÓN: 10  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Xaa = Nle

20 <400> SEC. ID Nº: 7

Lys	Lys	Lys	Lys	Lys	Lys	Ser	Tyr	Ser	Xaa	Glu	His	Phe	Arg	Trp	Gly
1				5					10					15	
Lys	Pro	Val													

<210> SEC. ID Nº: 8  
 25 <211> LONGITUD: 19  
 <212> TIPO: PRT  
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial

<220> CARACTERÍSTICA:  
 30 <223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH

<221> NOMBRE/CLAVE: MUTÁGENO  
 <222> UBICACIÓN: 13  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: d-fenilalanina

35 <221> NOMBRE/CLAVE: MUTÁGENO  
 <222> UBICACIÓN: 19  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: d-valina

40 <221> NOMBRE/CLAVE: MUTÁGENO  
 <222> UBICACIÓN: 10  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Xaa = Nle

<400> SEC. ID Nº: 8

Glu	Glu	Glu	Glu	Glu	Glu	Ser	Tyr	Ser	Xaa	Glu	His	Phe	Arg	Trp	Gly
1				5					10					15	
Lys	Pro	Val													

45 <210> SEC. ID Nº: 9  
 <211> LONGITUD: 19  
 <212> TIPO: PRT  
 50 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial

<220> CARACTERÍSTICA:  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH

55 <221> NOMBRE/CLAVE: MUTÁGENO  
 <222> UBICACIÓN: 13  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: beta-2-naftil-d-alanina

<221> NOMBRE/CLAVE: MUTÁGENO  
 60 <222> UBICACIÓN: 10  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Xaa = Nle

<400> SEC. ID Nº: 9

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Ser Tyr Ser Xaa Glu His Xaa Arg Trp Gly  
 1 5 10 15  
 Lys Pro Val

5 <210> SEC. ID Nº: 10

<211> LONGITUD: 19

<212> TIPO: PRT

<213> ORGANISMO: Secuencia artificial

10 <220> CARACTERÍSTICA:

<223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH

<221> NOMBRE/CLAVE: MUTÁGENO

<222> UBICACIÓN: 13

15 <223> OTRA INFORMACIÓN: beta-2-naftil-d-alanina

<221> NOMBRE/CLAVE: MUTÁGENO

<222> UBICACIÓN: 10

<223> OTRA INFORMACIÓN: Xaa = Nle

20 <400> SEC. ID Nº: 10

Glu Glu Glu Glu Glu Glu Ser Tyr Ser Xaa Glu His Xaa Arg Trp Gly  
 1 5 10 15  
 Lys Pro Val

25 <210> SEC. ID Nº: 11

<211> LONGITUD: 19

<212> TIPO: PRT

<213> ORGANISMO: Secuencia artificial

30 <220> CARACTERÍSTICA:

<223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH

<221> NOMBRE/CLAVE: MUTÁGENO

<222> UBICACIÓN: 13

35 <223> OTRA INFORMACIÓN: beta-2-naftil-d-alanina

<221> NOMBRE/CLAVE: MUTÁGENO

<222> UBICACIÓN: 19

<223> OTRA INFORMACIÓN: d-valina

40 <221> NOMBRE/CLAVE: MUTÁGENO

<222> UBICACIÓN: 10

<223> OTRA INFORMACIÓN: Xaa = Nle

45 <400> SEC. ID Nº: 11

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Ser Tyr Ser Xaa Glu His Xaa Arg Trp Gly  
 1 5 10 15  
 Lys Pro Val

50 <210> SEC. ID Nº: 12

<211> LONGITUD: 19

<212> TIPO: PRT

<213> ORGANISMO: Secuencia artificial

55 <220> CARACTERÍSTICA:

<223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH

<221> NOMBRE/CLAVE: MUTÁGENO

<222> UBICACIÓN: 13

<223> OTRA INFORMACIÓN: beta-2-naftil-d-alanina

60

<221> NOMBRE/CLAVE: MUTÁGENO  
 <222> UBICACIÓN: 19  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: d-valina

5 <221> NOMBRE/CLAVE: MUTÁGENO  
 <222> UBICACIÓN: 10  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Xaa = Nle

<400> SEC. ID Nº: 12

10 Glu Glu Glu Glu Glu Glu Ser Tyr Ser Xaa Glu His Xaa Arg Trp Gly  
 1 5 10 15  
 Lys Pro Val

<210> SEC. ID Nº: 13  
 <211> LONGITUD: 19  
 <212> TIPO: PRT  
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial

15 <220> CARACTERÍSTICA:  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH

20 <400> SEC. ID Nº: 13

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Ser Ser Ile Ile Ser His Phe Arg Trp Gly  
 1 5 10 15  
 Lys Pro Val

25 <210> SEC. ID Nº: 14  
 <211> LONGITUD: 19  
 <212> TIPO: PRT  
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial

30 <220> CARACTERÍSTICA:  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH

<400> SEC. ID Nº: 14

Glu Glu Glu Glu Glu Glu Ser Ser Ile Ile Ser His Phe Arg Trp Gly  
 1 5 10 15

35 Lys Pro Val

<210> SEC. ID Nº: 15  
 <211> LONGITUD: 19  
 <212> TIPO: PRT  
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial

40 <220> CARACTERÍSTICA:  
 <221> NOMBRE/CLAVE: MUTÁGENO  
 <222> UBICACIÓN: 19  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: d-valina

45 <223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH

<400> SEC. ID Nº: 15

50 Lys Lys Lys Lys Lys Lys Ser Ser Ile Ile Ser His Phe Arg Trp Gly  
 1 5 10 15  
 Lys Pro Val

<210> SEC. ID Nº: 16  
 <211> LONGITUD: 19  
 <212> TIPO: PRT  
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial

55 <220> CARACTERÍSTICA:

<221> NOMBRE/CLAVE: MUTÁGENO  
 <222> UBICACIÓN: 19  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: d-valina  
 5 <223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH  
 <400> SEC. ID Nº: 16  
 Glu Glu Glu Glu Glu Glu Ser Ser Ile Ile Ser His Phe Arg Trp Gly  
 1 5 10 15  
 10 Lys Pro Val  
 <210> SEC. ID Nº: 17  
 <211> LONGITUD: 19  
 <212> TIPO: PRT  
 15 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial  
 <220> CARACTERÍSTICA:  
 <221> NOMBRE/CLAVE: MUTÁGENO  
 <222> UBICACIÓN: 13  
 20 <223> OTRA INFORMACIÓN: d-fenilalanina  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH  
 <400> SEC. ID Nº: 17  
 25 Lys Lys Lys Lys Lys Lys Ser Ser Ile Ile Ser His Phe Arg Trp Gly  
 1 5 10 15  
 Lys Pro Val  
 <210> SEC. ID Nº: 18  
 <211> LONGITUD: 19  
 <212> TIPO: PRT  
 30 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial  
 <220> CARACTERÍSTICA:  
 <221> NOMBRE/CLAVE: MUTÁGENO  
 <222> UBICACIÓN: 13  
 35 <223> OTRA INFORMACIÓN: d-fenilalanina  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH  
 <400> SEC. ID Nº: 18  
 40 Glu Glu Glu Glu Glu Glu Ser Ser Ile Ile Ser His Phe Arg Trp Gly  
 1 5 10 15  
 Lys Pro Val  
 <210> SEC. ID Nº: 19  
 <211> LONGITUD: 19  
 <212> TIPO: PRT  
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial  
 <220> CARACTERÍSTICA:  
 <221> NOMBRE/CLAVE: MUTÁGENO  
 <222> UBICACIÓN: 13  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: d-fenilalanina  
 50 <223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH  
 <221> NOMBRE/CLAVE: MUTÁGENO  
 <222> UBICACIÓN: 19  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: d-valina  
 55 <223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH  
 <400> SEC. ID Nº: 19  
 60



ES 2 407 107 T3

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Ser Ser Ile Ile Ser His Phe Arg Trp Gly  
 1 5 10 15  
 Lys Pro Val

- 5 <210> SEC. ID Nº: 20
- <211> LONGITUD: 19
- <212> TIPO: PRT
- <213> ORGANISMO: Secuencia artificial

- 10 <220> CARACTERÍSTICA:
- <221> NOMBRE/CLAVE: MUTÁGENO
- <222> UBICACIÓN: 13
- <223> OTRA INFORMACIÓN: d-fenilalanina

- 15 <221> NOMBRE/CLAVE: MUTÁGENO
- <222> UBICACIÓN: 19
- <223> OTRA INFORMACIÓN: d-valina
- <223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH

- 20 <400> SEC. ID Nº: 20

Glu Glu Glu Glu Glu Glu Ser Ser Ile Ile Ser His Phe Arg Trp Gly  
 1 5 10 15  
 Lys Pro Val

- 25 <210> SEC. ID Nº: 21
- <211> LONGITUD: 19
- <212> TIPO: PRT
- <213> ORGANISMO: Secuencia artificial

- 30 <220> CARACTERÍSTICA:
- <223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH

- <221> NOMBRE/CLAVE: MUTÁGENO
- <222> UBICACIÓN: 13
- <223> OTRA INFORMACIÓN: Xaa = beta-2-naftil-d-alanina

- 35 <400> SEC. ID Nº: 21

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Ser Ser Ile Ile Ser His Xaa Arg Trp Gly  
 1 5 10 15  
 Lys Pro Val

- 40 <210> SEC. ID Nº: 22
- <211> LONGITUD: 19
- <212> TIPO: PRT
- <213> ORGANISMO: Secuencia artificial

- 45 <220> CARACTERÍSTICA:
- <223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH

- <221> NOMBRE/CLAVE: MUTÁGENO
- <222> UBICACIÓN: 13
- <223> OTRA INFORMACIÓN: Xaa = beta-2-naftil-d-alanina

- <400> SEC. ID Nº: 22

Glu Glu Glu Glu Glu Glu Ser Ser Ile Ile Ser His Xaa Arg Trp Gly  
 1 5 10 15

- 55 Lys Pro Val

- <210> SEC. ID Nº: 23

<211> LONGITUD: 19  
 <212> TIPO: PRT  
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial

5 <220> CARACTERÍSTICA:  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH

<221> NOMBRE/CLAVE: MUTÁGENO  
 <222> UBICACIÓN: 19  
 10 <223> OTRA INFORMACIÓN: d-valina

<221> NOMBRE/CLAVE: MUTÁGENO  
 <222> UBICACIÓN: 13  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Xaa = beta-2-naftil-d-alanina

15 <400> SEC. ID Nº: 23

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Ser Ser Ile Ile Ser His Xaa Arg Trp Gly  
 1 5 10 15  
 Lys Pro Val

20 <210> SEC. ID Nº: 24  
 <211> LONGITUD: 19  
 <212> TIPO: PRT  
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial

25 <220> CARACTERÍSTICA:  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH

<221> NOMBRE/CLAVE: MUTÁGENO  
 <222> UBICACIÓN: 19  
 30 <223> OTRA INFORMACIÓN: d-valina

<221> NOMBRE/CLAVE: MUTÁGENO  
 <222> UBICACIÓN: 13  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Xaa = beta-2-naftil-d-alanina

35 <400> SEC. ID Nº: 24

Glu Glu Glu Glu Glu Glu Ser Ser Ile Ile Ser His Xaa Arg Trp Gly  
 1 5 10 15  
 Lys Pro Val

40 <210> SEC. ID Nº: 25  
 <211> LONGITUD: 16  
 <212> TIPO: PRT  
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial

45 <220> CARACTERÍSTICA:  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH

<400> SEC. ID Nº: 25

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Met Glu His Phe Arg Trp Gly Lys Pro Val  
 1 5 10 15

50 <210> SEC. ID Nº: 26  
 <211> LONGITUD: 16  
 <212> TIPO: PRT  
 55 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial

<220> CARACTERÍSTICA:  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH

60 <400> SEC. ID Nº: 26

ES 2 407 107 T3

Glu Glu Glu Glu Glu Glu Met Glu His Phe Arg Trp Gly Lys Pro Val  
 1 5 10 15

- 5 <210> SEC. ID Nº: 27
- <211> LONGITUD: 16
- <212> TIPO: PRT
- <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
- <220> CARACTERÍSTICA:
- 10 <221> NOMBRE/CLAVE: MUTÁGENO
- <222> UBICACIÓN: 16
- <223> OTRA INFORMACIÓN: d-valina
- <223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH
- 15 <400> SEC. ID Nº: 27

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Met Glu His Phe Arg Trp Gly Lys Pro Val  
 1 5 10 15

- 20 <210> SEC. ID Nº: 28
- <211> LONGITUD: 16
- <212> TIPO: PRT
- <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
- <220> CARACTERÍSTICA:
- 25 <221> NOMBRE/CLAVE: MUTÁGENO
- <222> UBICACIÓN: 16
- <223> OTRA INFORMACIÓN: d-valina
- <223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH
- 30 <400> SEC. ID Nº: 28

Glu Glu Glu Glu Glu Glu Met Glu His Phe Arg Trp Gly Lys Pro Val  
 1 5 10 15

- 35 <210> SEC. ID Nº: 29
- <211> LONGITUD: 16
- <212> TIPO: PRT
- <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
- <220> CARACTERÍSTICA:
- 40 <223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH
- <221> NOMBRE/CLAVE: MUTÁGENO
- <222> UBICACIÓN: 10
- 45 <223> OTRA INFORMACIÓN: d-fenilalanina
- <221> NOMBRE/CLAVE: MUTÁGENO
- <222> UBICACIÓN: 7
- <223> OTRA INFORMACIÓN: Xaa = Nle
- 50 <400> SEC. ID Nº: 29

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Xaa Glu His Phe Arg Trp Gly Lys Pro Val  
 1 5 10 15

- 55 <210> SEC. ID Nº: 30
- <211> LONGITUD: 16
- <212> TIPO: PRT
- <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
- <220> CARACTERÍSTICA:
- 60 <223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH

<221> NOMBRE/CLAVE: MUTÁGENO  
 <222> UBICACIÓN: 10  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: d-fenilalanina

5 <221> NOMBRE/CLAVE: MUTÁGENO  
 <222> UBICACIÓN: 7  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Xaa = Nle

<400> SEC. ID Nº: 30

10 Glu Glu Glu Glu Glu Glu Xaa Glu His Phe Arg Trp Gly Lys Pro Val  
 1 5 10 15

<210> SEC. ID Nº: 31  
 <211> LONGITUD: 16  
 <212> TIPO: PRT  
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial

15 <220> CARACTERÍSTICA:  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH

20 <221> NOMBRE/CLAVE: MUTÁGENO  
 <222> UBICACIÓN: 10  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: d-fenilalanina

25 <221> NOMBRE/CLAVE: MUTÁGENO  
 <222> UBICACIÓN: 16  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: d-valina

30 <221> NOMBRE/CLAVE: MUTÁGENO  
 <222> UBICACIÓN: 7  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Xaa = Nle

<400> SEC. ID Nº: 31

35 Lys Lys Lys Lys Lys Lys Xaa Glu His Phe Arg Trp Gly Lys Pro Val  
 1 5 10 15

<210> SEC. ID Nº: 32  
 <211> LONGITUD: 16  
 <212> TIPO: PRT  
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial

40 <220> CARACTERÍSTICA:  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH

45 <221> NOMBRE/CLAVE: MUTÁGENO  
 <222> UBICACIÓN: 10  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: d-fenilalanina

50 <221> NOMBRE/CLAVE: MUTÁGENO  
 <222> UBICACIÓN: 16  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: d-valina  
 <221> NOMBRE/CLAVE: MUTÁGENO  
 <222> UBICACIÓN: 7  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Xaa = Nle

55 <400> SEC. ID Nº: 32

Glu Glu Glu Glu Glu Glu Xaa Glu His Phe Arg Trp Gly Lys Pro Val  
 1 5 10 15

60 <210> SEC. ID Nº: 33  
 <211> LONGITUD: 16  
 <212> TIPO: PRT  
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial

<220> CARACTERÍSTICA:  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH

5 <221> NOMBRE/CLAVE: MUTÁGENO  
 <222> UBICACIÓN: 10  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Xaa = beta-2-naftil-d-alanina

<223> OTRA INFORMACIÓN: Xa = Nle

10 <400> SEC. ID Nº: 33

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Xaa Glu His Xaa Arg Trp Gly Lys Pro Val  
 1 5 10 15

15 <210> SEC. ID Nº: 34  
 <211> LONGITUD: 16  
 <212> TIPO: PRT  
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial

20 <220> CARACTERÍSTICA:  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH

<221> NOMBRE/CLAVE: MUTÁGENO  
 <222> UBICACIÓN: 10

25 <223> OTRA INFORMACIÓN: Xaa = beta-2-naftil-d-alanina

<221> NOMBRE/CLAVE: MUTÁGENO  
 <222> UBICACIÓN: 7

30 <223> OTRA INFORMACIÓN: Xaa = Nle

<400> SEC. ID Nº: 34

Glu Glu Glu Glu Glu Glu Xaa Glu His Xaa Arg Trp Gly Lys Pro Val  
 1 5 10 15

35 <210> SEC. ID Nº: 35  
 <211> LONGITUD: 16  
 <212> TIPO: PRT  
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial

40 <220> CARACTERÍSTICA:  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH

<221> NOMBRE/CLAVE: MUTÁGENO  
 <222> UBICACIÓN: 10  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Xaa = beta-2-naftil-d-alanina

<221> NOMBRE/CLAVE: MUTÁGENO  
 <222> UBICACIÓN: 16

50 <223> OTRA INFORMACIÓN: d-valina

<221> NOMBRE/CLAVE: MUTÁGENO  
 <222> UBICACIÓN: 7  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Xaa = Nle

55 <400> SEC. ID Nº: 35

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Xaa Glu His Xaa Arg Trp Gly Lys Pro Val  
 1 5 10 15

60 <210> SEC. ID Nº: 36  
 <211> LONGITUD: 16  
 <212> TIPO: PRT  
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial

<220> CARACTERÍSTICA:  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH

5 <221> NOMBRE/CLAVE: MUTÁGENO  
 <222> UBICACIÓN: 10  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Xaa = beta-2-naftil-d-alanina

10 <221> NOMBRE/CLAVE: MUTÁGENO  
 <222> UBICACIÓN: 16  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: d-valina

15 <221> NOMBRE/CLAVE: MUTÁGENO  
 <222> UBICACIÓN: 7  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Xaa = Nle

<400> SEC. ID Nº: 36

Glu Glu Glu Glu Glu Glu Xaa Glu His Xaa Arg Trp Gly Lys Pro Val  
 1 5 10 15

20 <210> SEC. ID Nº: 37  
 <211> LONGITUD: 6  
 <212> TIPO: PRT

25 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial

<220> CARACTERÍSTICA:  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH

30 <400> SEC. ID Nº: 37

Lys Lys Lys Lys Lys Lys  
 1 5

35 <210> SEC. ID Nº: 38  
 <211> LONGITUD: 6  
 <212> TIPO: PRT  
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial

40 <220> CARACTERÍSTICA:  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH

<400> SEC. ID Nº: 38

Glu Lys Lys Lys Lys Lys  
 1 5

45 <210> SEC. ID Nº: 39  
 <211> LONGITUD: 6  
 <212> TIPO: PRT  
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial

50 <220> CARACTERÍSTICA:  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH

<400> SEC. ID Nº: 39

55 Lys Glu Lys Lys Lys Lys  
 1 5

60 <210> SEC. ID Nº: 40  
 <211> LONGITUD: 6  
 <212> TIPO: PRT  
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial

<220> CARACTERÍSTICA:  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH

5 <400> SEC. ID Nº: 40

Lys Lys Glu Lys Lys Lys  
 1 5

<210> SEC. ID Nº: 41  
 <211> LONGITUD: 6  
 <212> TIPO: PRT  
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial

10 <220> CARACTERÍSTICA:  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH

15 <400> SEC. ID Nº: 41

Lys Lys Lys Glu Lys Lys

20 1 5

<210> SEC. ID Nº: 42  
 <211> LONGITUD: 6  
 <212> TIPO: PRT  
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial

25 <220> CARACTERÍSTICA:  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH

30 <400> SEC. ID Nº: 42

Lys Lys Lys Lys Glu Lys  
 1 5

35 <210> SEC. ID Nº: 43  
 <211> LONGITUD: 6  
 <212> TIPO: PRT  
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial

40 <220> CARACTERÍSTICA:  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH

<400> SEC. ID Nº: 43

Lys Lys Lys Lys Lys Glu  
 1 5

45 <210> SEC. ID Nº: 44  
 <211> LONGITUD: 6  
 <212> TIPO: PRT  
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial

50 <220> CARACTERÍSTICA:  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH

<400> SEC. ID Nº: 44

55 Glu Glu Lys Lys Lys Lys  
 1 5

60 <210> SEC. ID Nº: 45  
 <211> LONGITUD: 6  
 <212> TIPO: PRT  
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial

<220> CARACTERÍSTICA:  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH  
  
 <400> SEC. ID Nº: 45  
 5  
 Glu Lys Glu Lys Lys Lys  
 1 5  
  
 <210> SEC. ID Nº: 46  
 <211> LONGITUD: 6  
 10 <212> TIPO: PRT  
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial  
  
 <220> CARACTERÍSTICA:  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH  
 15  
 <400> SEC. ID Nº: 46  
  
 Glu Lys Lys Glu Lys Lys  
 1 5  
 20 <210> SEC. ID Nº: 47  
 <211> LONGITUD: 6  
 <212> TIPO: PRT  
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial  
 25 <220> CARACTERÍSTICA:  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH  
  
 <400> SEC. ID Nº: 47  
  
 Glu Lys Lys Lys Glu Lys  
 1 5  
 30 <210> SEC. ID Nº: 48  
 <211> LONGITUD: 6  
 <212> TIPO: PRT  
 35 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial  
  
 <220> CARACTERÍSTICA:  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH  
 40 <400> SEC. ID Nº: 48  
  
 Glu Lys Lys Lys Lys Glu  
 1 5  
 45 <210> SEC. ID Nº: 49  
 <211> LONGITUD: 6  
 <212> TIPO: PRT  
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial  
  
 <220> CARACTERÍSTICA:  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH  
 50 <400> SEC. ID Nº: 49  
  
 Lys Glu Glu Lys Lys Lys  
 1 5  
 55 <210> SEC. ID Nº: 50  
 <211> LONGITUD: 6  
 <212> TIPO: PRT  
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial  
 60 <220> CARACTERÍSTICA:  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH



<400> SEC. ID Nº: 50

Lys Glu Lys Glu Lys Lys  
 1 5

5 <210> SEC. ID Nº: 51  
 <211> LONGITUD: 6  
 <212> TIPO: PRT  
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial

10 <220> CARACTERÍSTICA:  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH

<400> SEC. ID Nº: 51

15 Lys Glu Lys Lys Glu Lys  
 1 5

<210> SEC. ID Nº: 52  
 <211> LONGITUD: 6  
 <212> TIPO: PRT  
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial

20 <220> CARACTERÍSTICA:  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH

<400> SEC. ID Nº: 52

25 Lys Glu Lys Lys Lys Glu  
 1 5

<210> SEC. ID Nº: 53  
 <211> LONGITUD: 6  
 <212> TIPO: PRT  
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial

30 <220> CARACTERÍSTICA:  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH

<400> SEC. ID Nº: 53

35 Lys Lys Glu Glu Lys Lys  
 1 5

<210> SEC. ID Nº: 54  
 <211> LONGITUD: 6  
 <212> TIPO: PRT  
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial

40 <220> CARACTERÍSTICA:  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH

<400> SEC. ID Nº: 54

45 Lys Lys Glu Lys Glu Lys  
 1 5

<210> SEC. ID Nº: 55  
 <211> LONGITUD: 6  
 <212> TIPO: PRT  
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial

50 <220> CARACTERÍSTICA:  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH

<400> SEC. ID Nº: 55

Lys Lys Glu Lys Lys Glu  
 1 5

5 <210> SEC. ID Nº: 56  
 <211> LONGITUD: 6  
 <212> TIPO: PRT  
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial

<220> CARACTERÍSTICA:  
 10 <223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH

<400> SEC. ID Nº: 56

Lys Lys Lys Glu Glu Lys  
 1 5

15 <210> SEC. ID Nº: 57  
 <211> LONGITUD: 6  
 <212> TIPO: PRT  
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial

20 <220> CARACTERÍSTICA:  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH

<400> SEC. ID Nº: 57

25 Lys Lys Lys Glu Lys Glu  
 1 5

<210> SEC. ID Nº: 58  
 <211> LONGITUD: 6  
 <212> TIPO: PRT  
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial

30 <220> CARACTERÍSTICA:  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH

35 <400> SEC. ID Nº: 58

Lys Lys Lys Lys Glu Glu  
 1 5

40 <210> SEC. ID Nº: 59  
 <211> LONGITUD: 6  
 <212> TIPO: PRT  
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial

<220> CARACTERÍSTICA:  
 45 <223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH

<400> SEC. ID Nº: 59

Glu Glu Glu Lys Lys Lys  
 1 5

50 <210> SEC. ID Nº: 60  
 <211> LONGITUD: 6  
 <212> TIPO: PRT  
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial

55 <220> CARACTERÍSTICA:  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH

<400> SEC. ID Nº: 60

60 Glu Glu Lys Glu Lys Lys  
 1 5

5 <210> SEC. ID Nº: 61  
 <211> LONGITUD: 6  
 <212> TIPO: PRT  
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial

<220> CARACTERÍSTICA:  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH

10 <400> SEC. ID Nº: 61

Glu Glu Lys Lys Glu Lys  
 1 5

15 <210> SEC. ID Nº: 62  
 <211> LONGITUD: 6  
 <212> TIPO: PRT  
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial

<220> CARACTERÍSTICA:  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH

20 <400> SEC. ID Nº: 62

Glu Glu Lys Lys Lys Glu  
 1 5

25 <210> SEC. ID Nº: 63  
 <211> LONGITUD: 6  
 <212> TIPO: PRT  
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial

30 <220> CARACTERÍSTICA:  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH

<400> SEC. ID Nº: 63

35 Glu Lys Glu Glu Lys Lys  
 1 5

40 <210> SEC. ID Nº: 64  
 <211> LONGITUD: 6  
 <212> TIPO: PRT  
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial

<220> CARACTERÍSTICA:  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH

45 <400> SEC. ID Nº: 64

Glu Lys Glu Lys Glu Lys  
 1 5

50 <210> SEC. ID Nº: 65  
 <211> LONGITUD: 6  
 <212> TIPO: PRT  
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial

55 <220> CARACTERÍSTICA:  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH

<400> SEC. ID Nº: 65

60 Glu Lys Glu Lys Lys Glu  
 1 5

<210> SEC. ID Nº: 66

<211> LONGITUD: 6  
 <212> TIPO: PRT  
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial

5 <220> CARACTERÍSTICA:

<223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH

<400> SEC. ID Nº: 66  
 Glu Lys Lys Glu Glu Lys  
 1 5

10 <210> SEC. ID Nº: 67  
 <211> LONGITUD: 6  
 <212> TIPO: PRT  
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial

15 <220> CARACTERÍSTICA:  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH

20 <400> SEC. ID Nº: 67  
 Glu Lys Lys Glu Lys Glu  
 1 5

25 <210> SEC. ID Nº: 68  
 <211> LONGITUD: 6  
 <212> TIPO: PRT  
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial

30 <220> CARACTERÍSTICA:  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH

<400> SEC. ID Nº: 68  
 Glu Lys Lys Lys Glu Glu  
 1 5

35 <210> SEC. ID Nº: 69  
 <211> LONGITUD: 6  
 <212> TIPO: PRT  
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial

40 <220> CARACTERÍSTICA:  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH

45 <400> SEC. ID Nº: 69  
 Lys Lys Lys Glu Glu Glu  
 1 5

<210> SEC. ID Nº: 70  
 <211> LONGITUD: 6  
 <212> TIPO: PRT  
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial

50 <220> CARACTERÍSTICA:  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH

55 <400> SEC. ID Nº: 70  
 Lys Lys Glu Lys Glu Glu  
 1 5

60 <210> SEC. ID Nº: 71  
 <211> LONGITUD: 6  
 <212> TIPO: PRT

<213> ORGANISMO: Secuencia artificial

<220> CARACTERÍSTICA:  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH  
 5 <400> SEC. ID Nº: 71

Lys Lys Glu Glu Lys Glu  
 1 5

<210> SEC. ID Nº: 72  
 10 <211> LONGITUD: 6  
 <212> TIPO: PRT  
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial

<220> CARACTERÍSTICA:  
 15 <223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH

<400> SEC. ID Nº: 72

Lys Lys Glu Glu Glu Lys  
 1 5

20 <210> SEC. ID Nº: 73  
 <211> LONGITUD: 6  
 <212> TIPO: PRT  
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial

25 <220> CARACTERÍSTICA:  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH

<400> SEC. ID Nº: 73

30 Lys Glu Lys Lys Glu Glu  
 1 5

<210> SEC. ID Nº: 74  
 <211> LONGITUD: 6  
 35 <212> TIPO: PRT  
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial

<220> CARACTERÍSTICA:  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH

40 <400> SEC. ID Nº: 74

Lys Glu Lys Glu Lys Glu  
 1 5

45 <210> SEC. ID Nº: 75  
 <211> LONGITUD: 6  
 <212> TIPO: PRT  
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial

50 <220> CARACTERÍSTICA:  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH

<400> SEC. ID Nº: 75

Lys Glu Lys Glu Glu Lys  
 1 5

55 <210> SEC. ID Nº: 76  
 <211> LONGITUD: 6  
 <212> TIPO: PRT  
 60 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial

<220> CARACTERÍSTICA:

<223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH

<400> SEC. ID Nº: 76

5 Lys Glu Glu Lys Lys Glu  
1 5

<210> SEC. ID Nº: 77  
<211> LONGITUD: 6  
<212> TIPO: PRT  
10 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial

<220> CARACTERÍSTICA:  
<223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH

15 <400> SEC. ID Nº: 77

Lys Glu Glu Lys Glu Lys  
1 5

<210> SEC. ID Nº: 78  
<211> LONGITUD: 6  
20 <212> TIPO: PRT  
<213> ORGANISMO: Secuencia artificial

<220> CARACTERÍSTICA:  
<223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH

25 <400> SEC. ID Nº: 78

Lys Glu Glu Glu Lys Lys  
1 5

30 <210> SEC. ID Nº: 79  
<211> LONGITUD: 6  
<212> TIPO: PRT  
<213> ORGANISMO: Secuencia artificial

35 <220> CARACTERÍSTICA:  
<223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH

<400> SEC. ID Nº: 79

Lys Lys Glu Glu Glu Glu  
1 5

40 <210> SEC. ID Nº: 80  
<211> LONGITUD: 6  
<212> TIPO: PRT  
45 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial

<220> CARACTERÍSTICA:  
<223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH

50 <400> SEC. ID Nº: 80

Lys Glu Lys Glu Glu Glu  
1 5

55 <210> SEC. ID Nº: 81  
<211> LONGITUD: 6  
<212> TIPO: PRT  
<213> ORGANISMO: Secuencia artificial

<220> CARACTERÍSTICA:  
60 <223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH

<400> SEC. ID Nº: 81

Lys Glu Glu Lys Glu Glu  
 1 . 5

5 <210> SEC. ID Nº: 82  
 <211> LONGITUD: 6  
 <212> TIPO: PRT  
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial

<220> CARACTERÍSTICA:  
 10 <223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH

<400> SEC. ID Nº: 82

Lys Glu Glu Glu Lys Glu  
 1 5

15 <210> SEC. ID Nº: 83  
 <211> LONGITUD: 6  
 <212> TIPO: PRT  
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial

20 <220> CARACTERÍSTICA:  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH

<400> SEC. ID Nº: 83

25 Lys Glu Glu Glu Glu Lys  
 1 5

<210> SEC. ID Nº: 84  
 <211> LONGITUD: 6  
 <212> TIPO: PRT  
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial

30 <220> CARACTERÍSTICA:  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH

35 <400> SEC. ID Nº: 84

Glu Lys Lys Glu Glu Glu  
 1 . 5

40 <210> SEC. ID Nº: 85  
 <211> LONGITUD: 6  
 <212> TIPO: PRT  
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial

45 <220> CARACTERÍSTICA:  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH

<400> SEC. ID Nº: 85

Glu Lys Glu Lys Glu Glu  
 1 5

50 <210> SEC. ID Nº: 86  
 <211> LONGITUD: 6  
 <212> TIPO: PRT  
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial

55 <220> CARACTERÍSTICA:  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH

60 <400> SEC. ID Nº: 86

Glu Lys Glu Glu Lys Glu  
 1 5

5 <210> SEC. ID Nº: 87  
 <211> LONGITUD: 6  
 <212> TIPO: PRT  
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial

10 <220> CARACTERÍSTICA:  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH  
 <400> SEC. ID Nº: 87

Glu Lys Glu Glu Glu Lys  
 1 5

15 <210> SEC. ID Nº: 88  
 <211> LONGITUD: 6  
 <212> TIPO: PRT  
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial

20 <220> CARACTERÍSTICA:  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH  
 <400> SEC. ID Nº: 88

Glu Glu Lys Lys Glu Glu  
 1 5

25 <210> SEC. ID Nº: 89  
 <211> LONGITUD: 6  
 <212> TIPO: PRT  
 30 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial

<220> CARACTERÍSTICA:  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH

35 <400> SEC. ID Nº: 89

Glu Glu Lys Glu Lys Glu  
 1 5

40 <210> SEC. ID Nº: 90  
 <211> LONGITUD: 6  
 <212> TIPO: PRT  
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial

45 <220> CARACTERÍSTICA:  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH  
 <400> SEC. ID Nº: 90

Glu Glu Lys Glu Glu Lys  
 1 5

50 <210> SEC. ID Nº: 91  
 <211> LONGITUD: 6  
 <212> TIPO: PRT

55 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial  
 <220> CARACTERÍSTICA:  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH  
 <400> SEC. ID Nº: 91

60 Glu Glu Glu Lys Lys Glu  
 1 5



5 <210> SEC. ID Nº: 92  
 <211> LONGITUD: 6  
 <212> TIPO: PRT  
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial

<220> CARACTERÍSTICA:  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH

10 <400> SEC. ID Nº: 92

Glu Glu Glu Lys Glu Lys  
 1 . 5

15 <210> SEC. ID Nº: 93  
 <211> LONGITUD: 6  
 <212> TIPO: PRT  
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial  
 <220> CARACTERÍSTICA:  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH

20 <400> SEC. ID Nº: 93

Glu Glu Glu Glu Lys Lys  
 1 5

25 <210> SEC. ID Nº: 94  
 <211> LONGITUD: 6  
 <212> TIPO: PRT  
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial

30 <220> CARACTERÍSTICA:  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH

<400> SEC. ID Nº: 94

Lys Glu Glu Glu Glu Glu  
 1 5

35 <210> SEC. ID Nº: 95  
 <211> LONGITUD: 6  
 <212> TIPO: PRT  
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial

40 <220> CARACTERÍSTICA:  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH

<400> SEC. ID Nº: 95

45 Glu Lys Glu Glu Glu Glu  
 1 5

50 <210> SEC. ID Nº: 96  
 <211> LONGITUD: 6  
 <212> TIPO: PRT  
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial

<220> CARACTERÍSTICA:  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH

55 <400> SEC. ID Nº: 96

Glu Glu Lys Glu Glu Glu  
 1 5

60 <210> SEC. ID Nº: 97  
 <211> LONGITUD: 6  
 <212> TIPO: PRT  
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial

<220> CARACTERÍSTICA:  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH

5 <400> SEC. ID Nº: 97

Glu Glu Glu Lys Glu Glu  
 1 5

<210> SEC. ID Nº: 98  
 10 <211> LONGITUD: 6  
 <212> TIPO: PRT  
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial

<220> CARACTERÍSTICA:  
 15 <223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH

<400> SEC. ID Nº: 98

Glu Glu Glu Glu Lys Glu  
 1 5

20 <210> SEC. ID Nº: 99  
 <211> LONGITUD: 6  
 <212> TIPO: PRT  
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial

25 <220> CARACTERÍSTICA:  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH

<400> SEC. ID Nº: 99  
 Glu Glu Glu Glu Glu Lys  
 1 5

30 <210> SEC. ID Nº: 100  
 <211> LONGITUD: 6  
 <212> TIPO: PRT  
 35 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial  
 <220> CARACTERÍSTICA:  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH

<400> SEC. ID Nº: 100

40 Glu Glu Glu Glu Glu Glu  
 1 5

<210> SEC. ID Nº: 101  
 <211> LONGITUD: 13  
 45 <212> TIPO: PRT  
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial

<220> CARACTERÍSTICA:  
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Análogo de alfa-MSH  
 50 <400> SEC. ID Nº: 101

Ser Tyr Ser Met Glu His Phe Arg Trp Gly Lys Pro Val  
 1 5 10

## REIVINDICACIONES

1. Un péptido que consiste en la secuencia:

5 Lys-Lys-Lys-Lys-Lys-Lys-Ser-Tyr-Ser-Met-Glu-His-Phe-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-Val (SEC. ID N°: 1),

donde el extremo amino terminal de dicho péptido es  $\text{CH}_3\text{-C(=O)-}$ .

2. Un péptido que consiste en la secuencia:

10 Glu-Glu-Glu-Glu-Glu-Glu-Ser-Tyr-Ser-Met-Glu-His-Phe-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-Val (SEC. ID N°: 2),

donde el extremo amino terminal de dicho péptido es  $\text{CH}_3\text{-C(=O)-}$ .

15 3. El péptido de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, donde el extremo carboxi terminal de dicho péptido es  $\text{-C(=O)-OH}$ .

4. El péptido de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, donde el extremo carboxi terminal de dicho péptido es  $\text{-C(=O)-NH}_2$ .

20 5. Un péptido seleccionado del grupo que consiste en:

25 Lys-Lys-Lys-Lys-Lys-Lys-Ser-Tyr-Ser-Met-Glu-His-Phe-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-(D-Val) (SEC. ID N°: 3),  
 Glu-Glu-Glu-Glu-Glu-Glu-Ser-Tyr-Ser-Met-Glu-His-Phe-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-(D-Val) (SEC. ID N°: 4),  
<sup>o</sup>Lys-Lys-Lys-Lys-Lys-Lys-Ser-Tyr-Ser-Nle-Glu-His-(D-Phe)-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-Val (SEC. ID N°: 5),  
 Glu-Glu-Glu-Glu-Glu-Glu-Ser-Tyr-Ser-Nle-Glu-His-(D-Phe)-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-Val (SEC. ID N°: 6),  
 Lys-Lys-Lys-Lys-Lys-Lys-Ser-Tyr-Ser-Nle-Glu-His-(D-Phe)-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-(D-Val) (SEC. ID N°: 7),  
 Glu-Glu-Glu-Glu-Glu-Glu-Ser-Tyr-Ser-Nle-Glu-His-(D-Phe)-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-(D-Val) (SEC. ID N°: 8),  
 30 Lys-Lys-Lys-Lys-Lys-Lys-Ser-Tyr-Ser-Nle-Glu-His-D-Nal-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-Val (SEC. ID N°: 9),  
 Glu-Glu-Glu-Glu-Glu-Glu-Ser-Tyr-Ser-Nle-Glu-His-D-Nal-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-Val (SEC. ID N°: 10),  
 Lys-Lys-Lys-Lys-Lys-Lys-Ser-Tyr-Ser-Nle-Glu-His-D-Nal-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-(D-Val) (SEC. ID N°: 11),  
 Glu-Glu-Glu-Glu-Glu-Glu-Ser-Tyr-Ser-Nle-Glu-His-D-Nal-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-(D-Val) (SEC. ID N°: 12),

35 donde el extremo amino terminal de dicho péptido es (B4)HN-, (B4)(B5)N-, o (B6)HN-, donde B4 y B5 se seleccionan independientemente entre H, C<sub>1-6</sub> alquilo, C<sub>2-6</sub> alquenoilo, C<sub>6-10</sub> arilo, C<sub>7-16</sub> aralquilo, y C<sub>7-16</sub> alquilarilo; B6 es B4-C(=O)-; y donde el extremo carboxi terminal de dicho péptido es  $\text{-C(=O)-B1}$ , en el que B1 se selecciona entre OH, NH<sub>2</sub>, NHB2, N(B2)(B3), OB2 y B2, donde B2 y B3 se seleccionan independientemente entre C<sub>1-6</sub> alquilo, C<sub>2-6</sub> alquenoilo, C<sub>6-10</sub> arilo, C<sub>7-16</sub> aralquilo y C<sub>7-16</sub> alquilarilo.

40 6. El péptido de acuerdo con la reivindicación 5, donde dicho péptido consiste en la secuencia:

Lys-Lys-Lys-Lys-Lys-Lys-Ser-Tyr-Ser-Met-Glu-His-Phe-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-(D-Val) (SEC. ID N°: 3).

45 7. El péptido de acuerdo con la reivindicación 5, donde dicho péptido consiste en la secuencia:

Lys-Lys-Lys-Lys-Lys-Lys-Ser-Tyr-Ser-Nle-Glu-His-(D-Phe)-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-Val (SEC. ID N°: 5).

8. El péptido de acuerdo con la reivindicación 5, donde dicho péptido consiste en la secuencia:

50 Lys-Lys-Lys-Lys-Lys-Lys-Ser-Tyr-Ser-Nle-Glu-His-(D-Nal)-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-Val (SEC. ID N°: 9).

9. El péptido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 5-8, donde el extremo amino terminal de dicho péptido (B4)HN-, en el que B4 es H.

55 10. El péptido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 5-8, donde el extremo amino terminal de dicho péptido es (B6)HN-, en el que B6 es B4-C(=O)- y donde B4 es C<sub>1-6</sub> alquilo.

11. El péptido de acuerdo con la reivindicación 10, donde B4 es C<sub>1</sub>alquilo.

60 12. El péptido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 5-11, donde el extremo carboxi terminal de dicho péptido es  $\text{-C(=O)-B1}$ , en el que B1 es OH.

13. El péptido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 5-11, donde el extremo carboxi terminal de dicho péptido es  $\text{-C(=O)-B1}$ , en el que B1 es NH<sub>2</sub>.

14. El péptido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde el péptido tiene la capacidad de estimular uno o más receptores de melanocortina seleccionados entre los receptores de melanocortina tipo 1, 3, 4 y 5.
- 5 15. El péptido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde el péptido tiene al menos una de las propiedades siguientes:
- 10 a) inhibe la producción de TNF- $\alpha$  por los leucocitos humanos inducida por LPS  
 b) inhibe la infiltración de eosinófilos en los pulmones inducida por inflamación  
 c) inhibe la infiltración de neutrófilos en los pulmones inducida por inflamación  
 d) inhibe la acumulación de TNF- $\alpha$  en la sangre circulante inducida por inflamación,  
 e) reduce la insuficiencia renal aguda inducida por isquemia,  
 f) reduce el tamaño del infarto de miocardio,  
 g) reduce el grado de insuficiencia cardíaca postinfarto de miocardio,  
 15 h) reduce la hipertensión vascular pulmonar,  
 i) reduce la insuficiencia renal inducida por cisplatino.
16. Un péptido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-15 para usar en medicina.
- 20 17. El uso de un péptido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-15 para la fabricación de una composición farmacéutica destinada al tratamiento o la profilaxis de la isquemia miocárdica.
18. El uso de un péptido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-15, para la fabricación de una composición farmacéutica destinada al tratamiento o la profilaxis de la angina o el infarto de miocardio.
- 25 19. El uso de un péptido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-15, para la fabricación de una composición farmacéutica destinada al tratamiento o la profilaxis de una afección inflamatoria seleccionado del grupo que consiste en inflamación pulmonar, artritis, dermatitis, pancreatitis, enfermedades inflamatorias intestinales, vasculitis, septicemia bacteriana, pericarditis, miocarditis y endocarditis.
- 30 20. El uso de un péptido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-15 para la fabricación de una composición farmacéutica destinada a reducir la hipertensión vascular pulmonar.
- 35 21. El uso de un péptido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-15 para la fabricación de una composición farmacéutica destinada a reducir la insuficiencia renal aguda inducida por isquemia.
22. El uso de un péptido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-15 para la fabricación de una composición farmacéutica destinada a reducir el tamaño del infarto de miocardio inducido por isquemia.
- 40 23. El uso de un péptido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-15 para la fabricación de una composición farmacéutica destinada a reducir el grado de insuficiencia cardíaca postinfarto de miocardio.
- 45 24. El uso de un péptido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-15 para la fabricación de una composición farmacéutica destinada al tratamiento de la isquemia causada por una intervención quirúrgica.
- 50 25. El uso de un péptido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-15 para la fabricación de una composición farmacéutica destinada al tratamiento de la isquemia causada por un trasplante de órgano.
26. El uso de un péptido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-15 para la fabricación de una composición farmacéutica destinada al tratamiento de la isquemia causada por inserción quirúrgica de trasplantes, dispositivos, injertos o prótesis.
- 55 27. El uso de un péptido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-15 para la fabricación de una composición farmacéutica destinada al tratamiento de la isquemia causada por choque séptico.
28. El uso de un péptido de acuerdo con la reivindicación 19 para la fabricación de una composición farmacéutica destinada al tratamiento de la enfermedad inflamatoria intestinal.
- 60 29. El uso de un péptido de acuerdo con la reivindicación 19 para la fabricación de una composición farmacéutica destinada al tratamiento de artritis seleccionada del grupo que consiste en artritis reumatoidea, artrosis y artritis reactiva.
- 65 30. Una composición farmacéutica que comprende un péptido como el definido en cualquiera de las reivindicaciones 1-15.

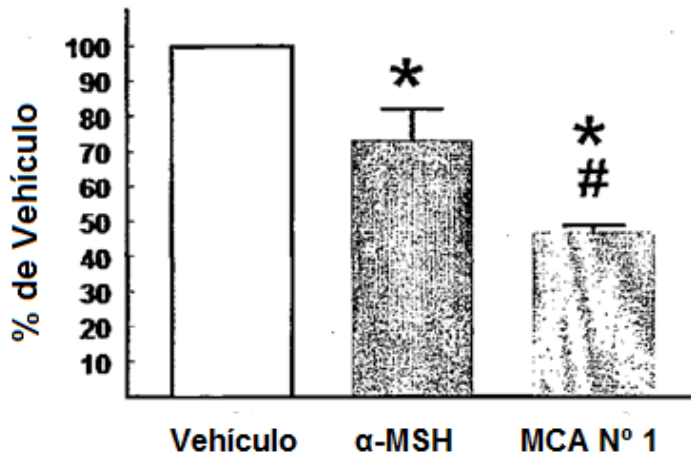
31. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 30 que comprende además uno o más vehículos farmacéuticos.

5 32. La composición farmacéutica de acuerdo con las reivindicaciones 30 o 31 que comprende además uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables.

33. La composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 30-32, donde la composición es una composición parental, oral, tópica, transmucosa o transdérmica.

Figura 1

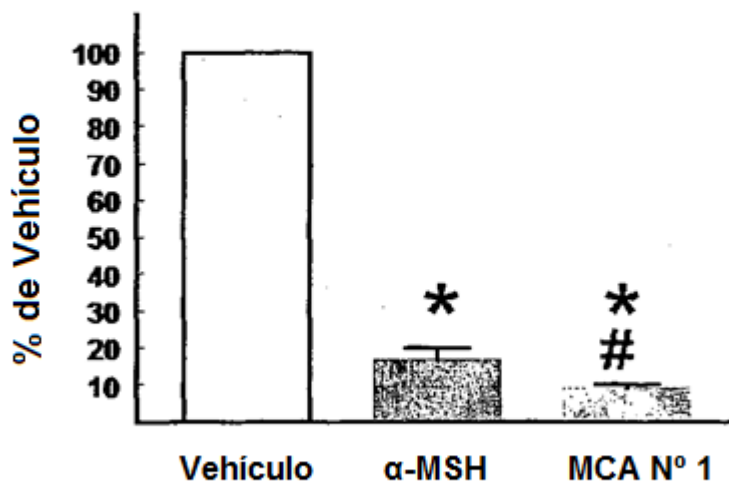
Acumulación de TNF- $\alpha$  inducida por LPS en suspensión de linfocitos humanos



Media  $\pm$  DE, \*:p<0.05 vs Vehículo #: p<0.05 vs  $\alpha$ -MSH

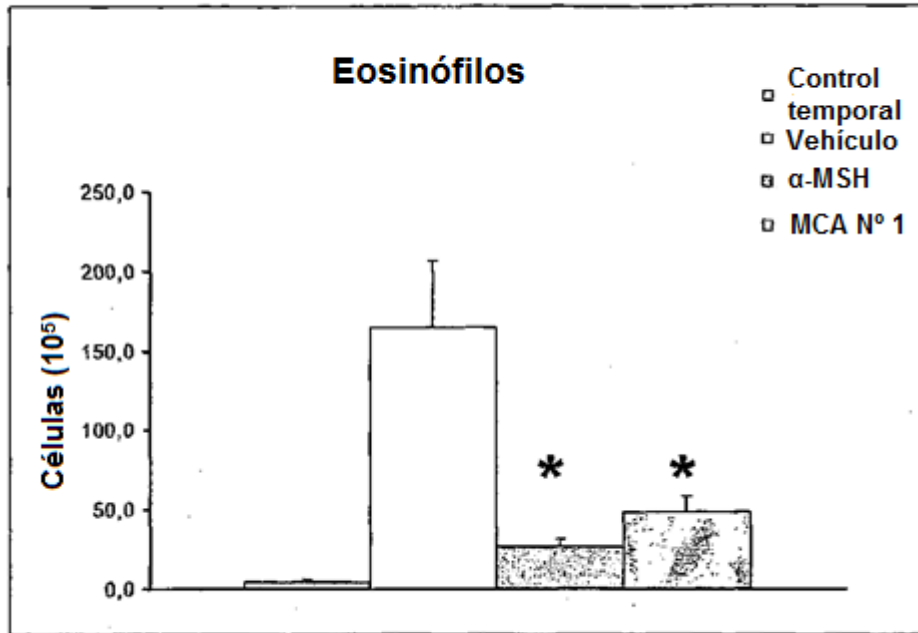
Figura 2

Acumulación de TNF- $\alpha$  en el plasma inducida por LPS



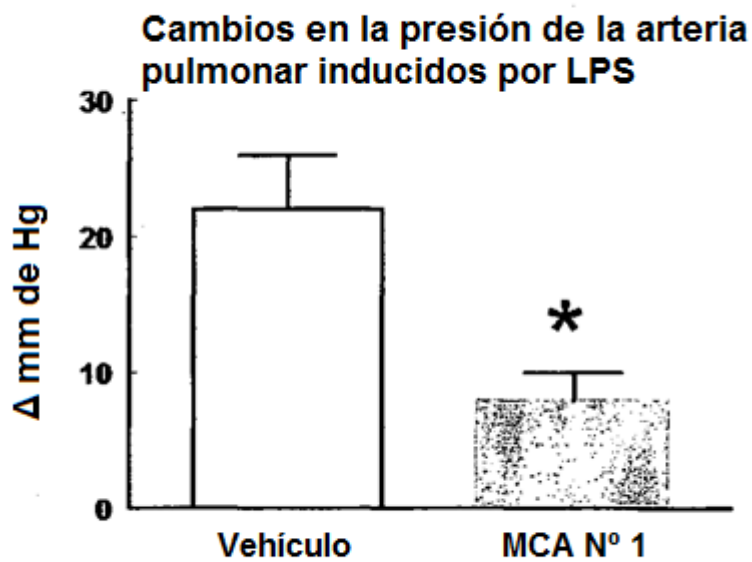
Media  $\pm$  DE, \*:p<0.05 vs Vehículo #: p<0.05 vs  $\alpha$ -MSH

Figura 3



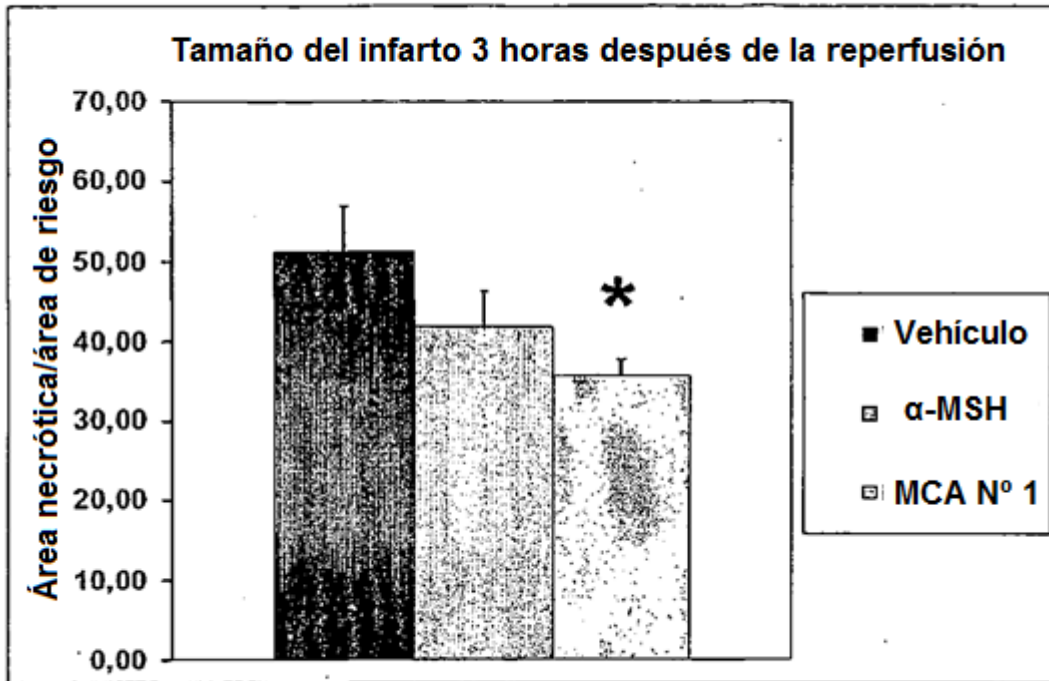
\*: Diferente del vehiculo

Figura 4



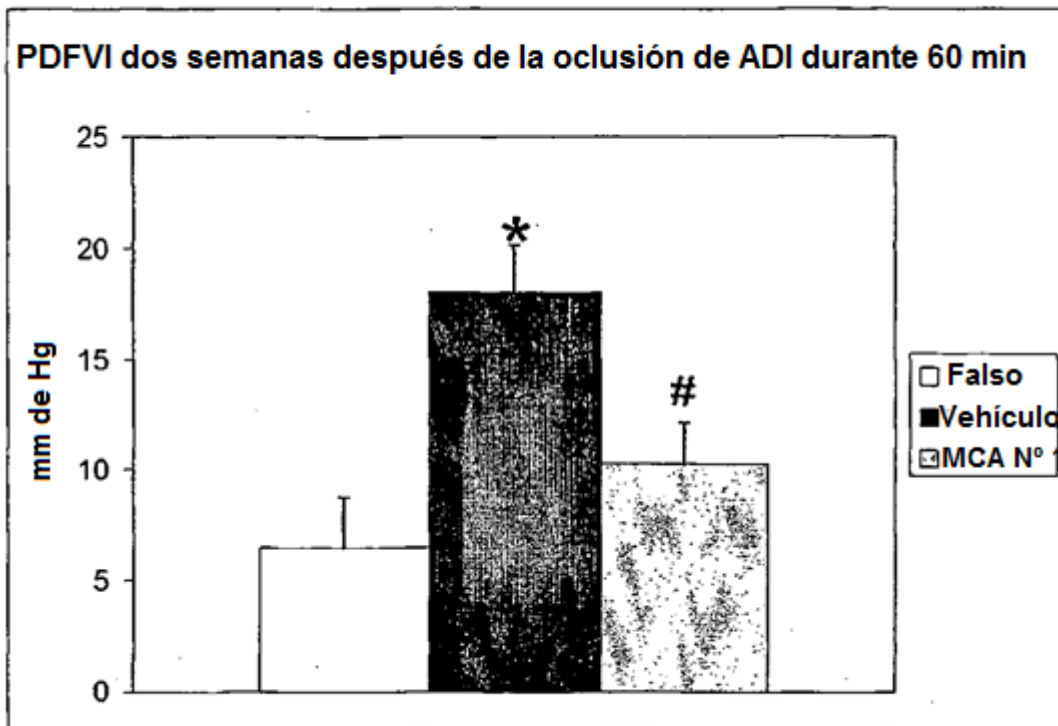
Media ± DE, \*:p<0.05 vs Vehículo

Figura 5



\*: Diferente del vehículo

Figura 6



Media  $\pm$  DE, \*:  $p < 0.05$  vs Falso, #:  $p < 0.05$  vs Vehículo



Figura 7

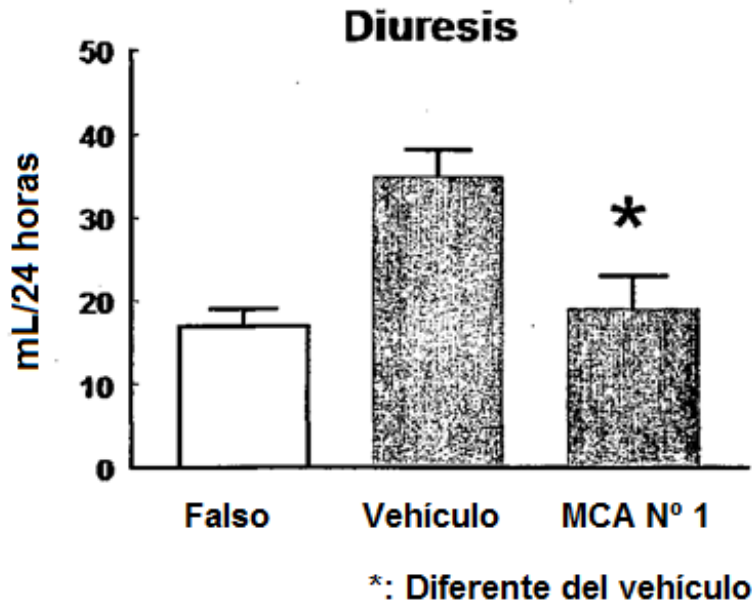
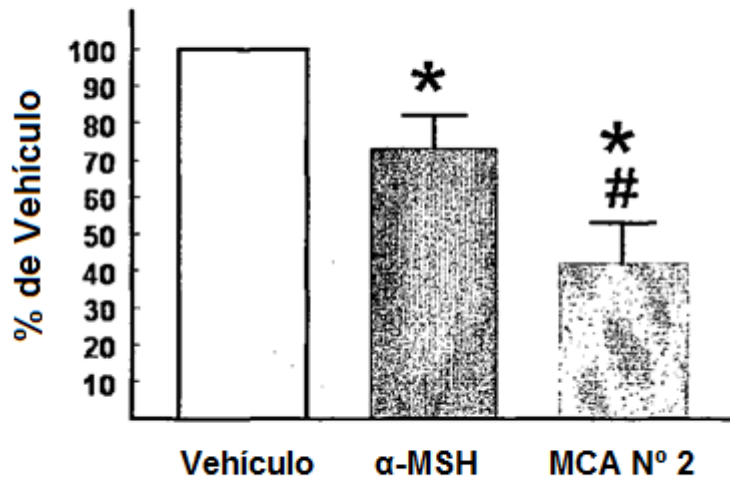


Figura 8

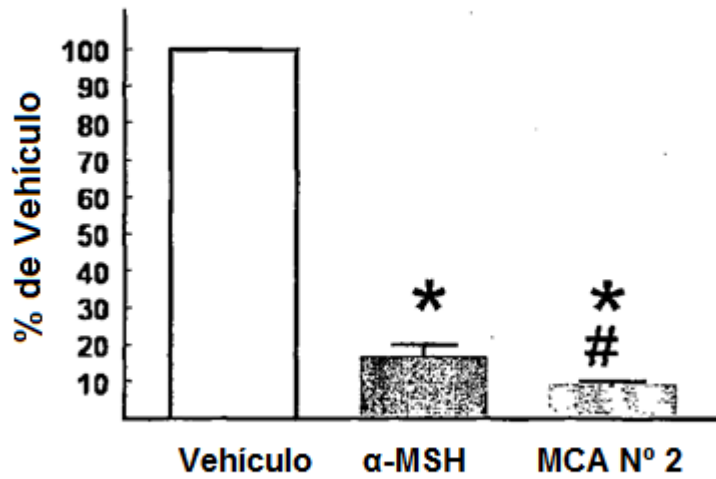
**Acumulación de TNF- $\alpha$  inducida por LPS  
en suspensión de linfocitos humanos**



Media  $\pm$  DE, \*:  $p < 0.05$  vs Vehículo #:  $p < 0.05$  vs  $\alpha$ -MSH

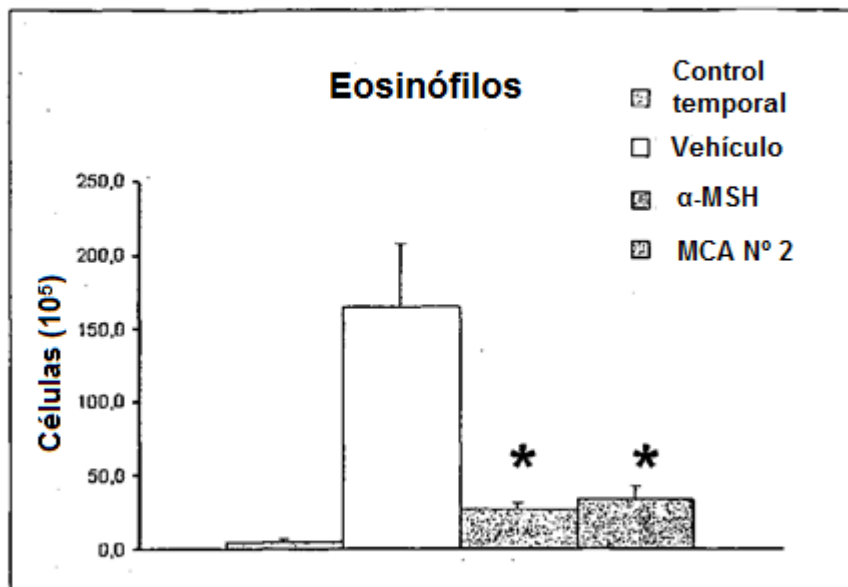
Figura 9

**Acumulación de TNF- $\alpha$  en el plasma inducida por LPS**



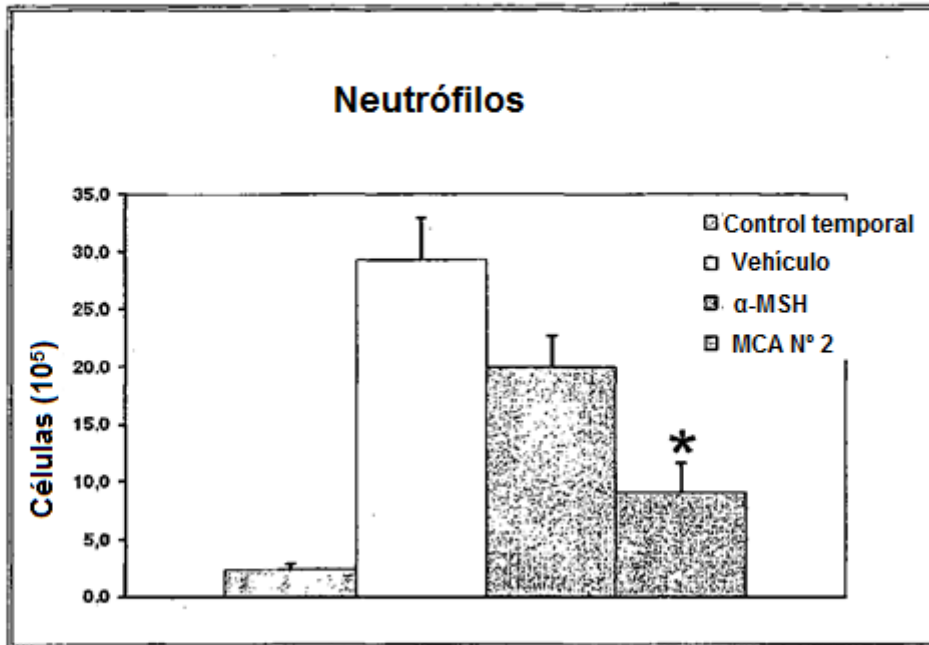
Media  $\pm$  DE, \*:  $p < 0.05$  vs Vehículo #:  $p < 0.05$  vs  $\alpha$ -MSH

Figura 10



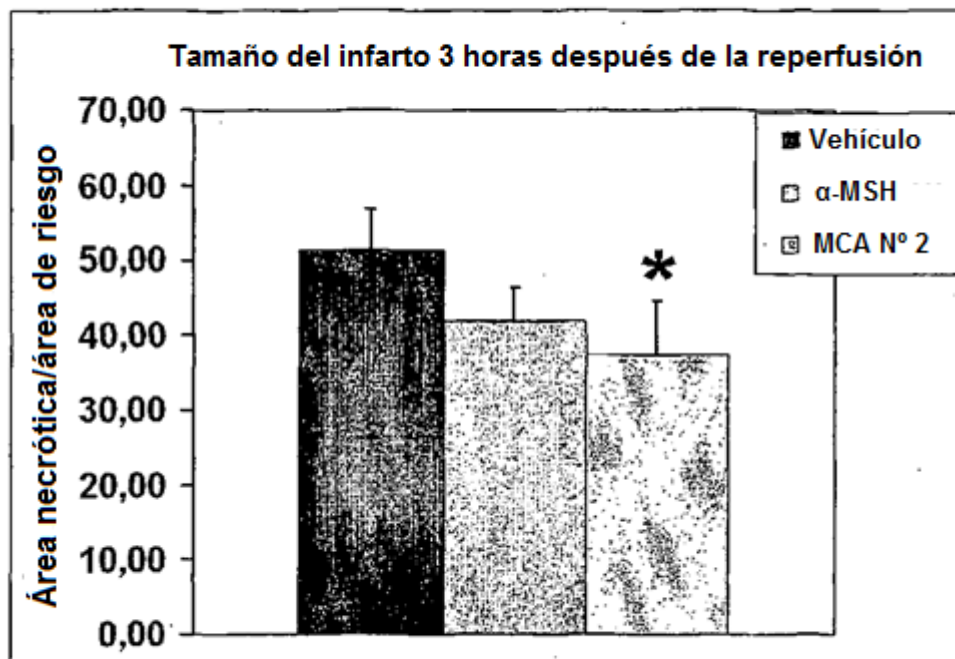
\*: Diferente del vehículo

Figura 11



\*: Diferente del vehiculo

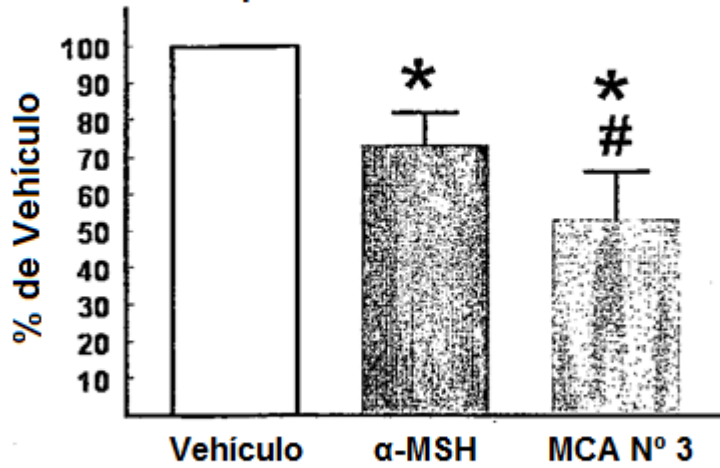
Figura 12



\*: Diferente del vehiculo

Figura 13

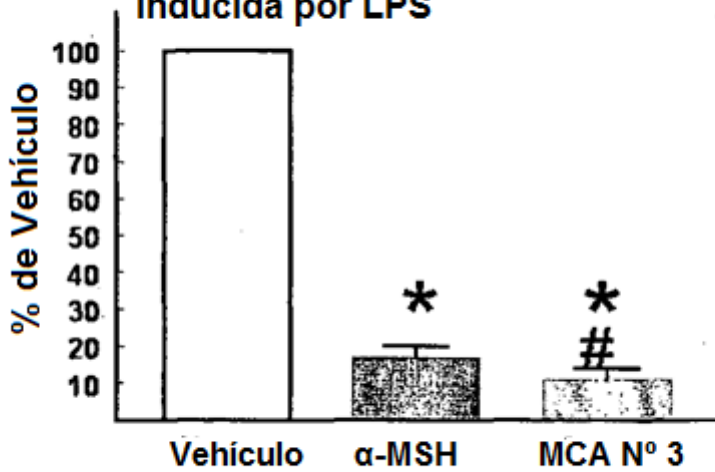
**Acumulación de TNF- $\alpha$  inducida por LPS en suspensión de linfocitos humanos**



Media  $\pm$  DE, \*:p<0.05 vs Vehículo #: p<0.05 vs  $\alpha$ -MSH

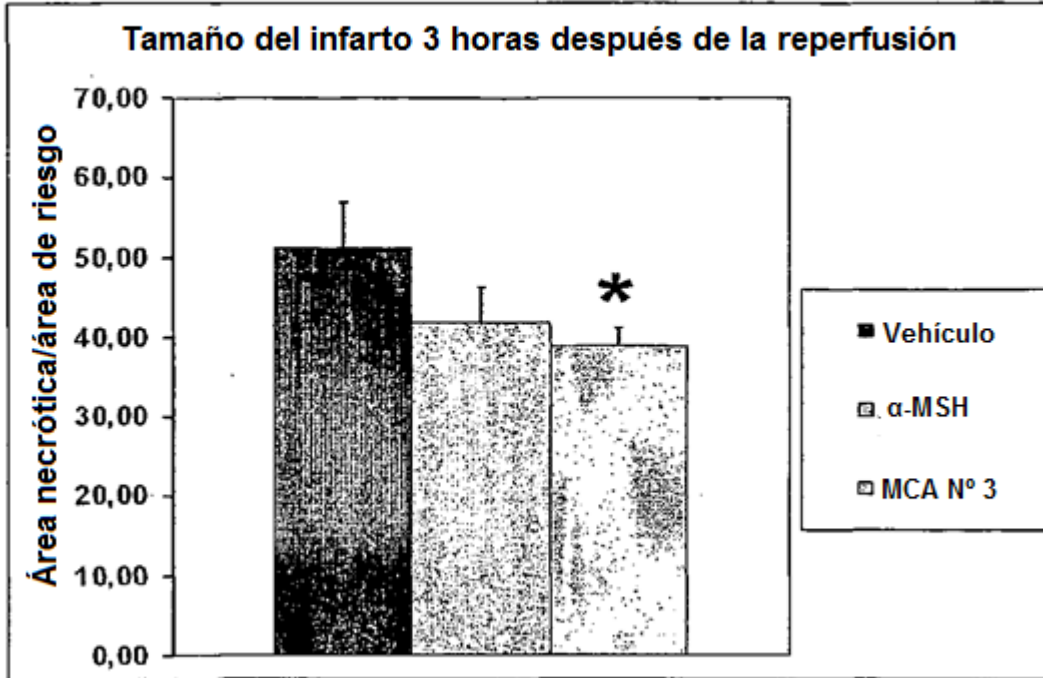
Figura 14

**Acumulación de TNF- $\alpha$  en el plasma inducida por LPS**



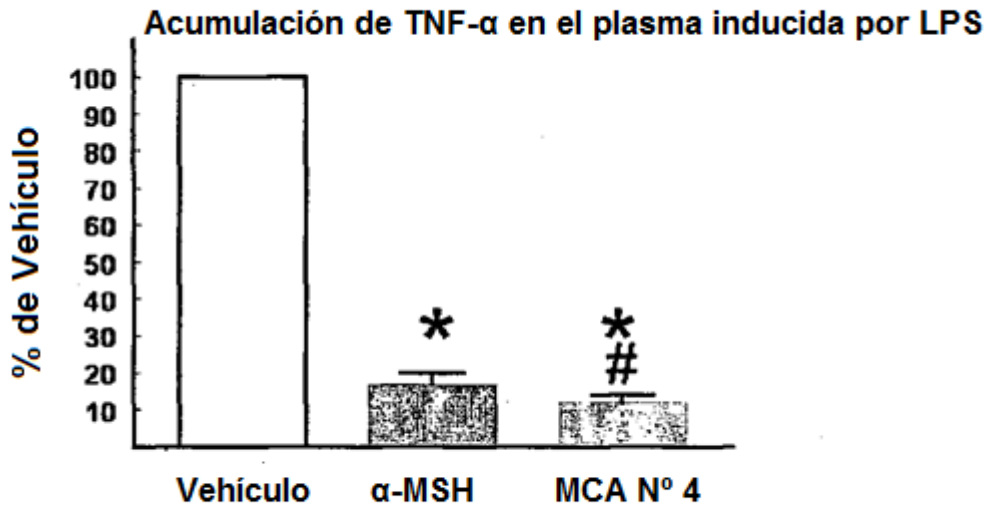
Media  $\pm$  DE, \*:p<0.05 vs Vehículo #: p<0.05 vs  $\alpha$ -MSH

Figura 15



\*: Diferente del vehículo

Figura 16



Media ± DE, \*: p<0.05 vs Vehículo #: p<0.05 vs α-MSH