

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 550 604**

51 Int. Cl.:

C07K 5/107 (2006.01)

A61K 38/07 (2006.01)

A61P 25/30 (2006.01)

A61P 29/00 (2006.01)

A61P 1/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.12.2008 E 14189232 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **23.09.2015 EP 2826786**

54 Título: **Salas ventajosas de péptidos de receptores opioides mu**

30 Prioridad:

13.12.2007 US 7617 P

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

11.11.2015

73 Titular/es:

**CYTOGEL PHARMA, LLC (100.0%)
3 Thorndal Circle
Darien, CT 06820, US**

72 Inventor/es:

MAIONE, THEODORE

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 550 604 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

Sales ventajosas de péptidos de receptores opioides μ

Referencia cruzada con una solicitud relacionada

5 La solicitud objeto reivindica las ventajas de la solicitud provisional de EE.UU. con nº de serie 61/007.617, presentada el 13 de diciembre 2007.

Antecedentes de la invención

Campo de la invención

10 Esta invención se refiere a sales de péptidos que se unen con alta afinidad y selectividad al receptor opioide μ (morfina); a preparaciones farmacéuticas que contienen una cantidad eficaz de las sales de péptidos; y a métodos para proporcionar analgesia, alivio de trastornos gastrointestinales tales como diarrea y terapia para la dependencia de drogas que contienen una cantidad eficaz de las sales de péptidos.

Descripción de la técnica relacionada

15 Se han encontrado muchos péptidos que presentan actividad similar a la opioide a través de la unión a receptores opioides. Se han encontrado tres tipos diferentes de receptores opioides: delta (δ), kappa (κ) y μ (μ). La principal función aparente de los opioides es su papel para aliviar el dolor. Otras áreas en las que los opioides son muy adecuados para uso en un tratamiento, son afecciones relacionadas con trastornos gastrointestinales, esquizofrenia, obesidad, presión arterial, convulsiones y ataques. Aunque los receptores δ y κ también pueden mediar en la analgesia, la activación de los receptores μ es el medio principal y más eficaz para inducir una analgesia, y es el principal mecanismo por el que actúa la morfina.

20 Debido a que la morfina y otros compuestos con utilidad clínica actúan principalmente en el receptor μ , las composiciones farmacéuticas que tienen péptidos con alta afinidad y selectividad hacia este sitio, tienen una importancia considerable. Sería deseable producir estas composiciones de péptidos de una manera sencilla, eficaz y económica.

Compendio breve

25 El alcance de la invención se define por las reivindicaciones.

La invención objeto proporciona nuevas sales de un péptido de receptores opioides μ . Se ha encontrado que estas sales tienen excelentes propiedades en términos de su estructura cristalina, estabilidad, solubilidad, falta de impurezas y/o capacidad para ser producidas, con estas propiedades ventajosas, en cantidades suficientes para la producción de composiciones terapéuticas.

30 En el presente documento se describen sales aspartato, maleato, lactato e clorhidrato de péptidos de receptores opioides μ . En una realización particularmente preferida, la invención objeto proporciona sales clorhidrato de péptidos de endomorfina.

35 Los péptidos descritos en este documento tienen la fórmula general Tyr- X_1 - X_2 - X_3 en donde X_1 es Pro, D-Lys o D-Orn; X_2 es Trp, Phe o N-alkil-Phe en donde el alquilo contiene de 1 a aproximadamente 6 átomos de carbono; y X_3 es Phe, Phe-NH₂, D-Phe, D-Phe-NH₂ o p-Y-Phe en donde Y es NO₂, F, Cl o Br.

En una realización ventajosa específica, la invención objeto proporciona la sal acetato de un péptido cíclico de endomorfina-1 (denominada en esta memoria CYT-1010).

La invención objeto proporciona además composiciones farmacéuticas que comprenden estas sales ventajosas.

40 La invención objeto proporciona además las sales y las composiciones descritas en el presente documento o utilizadas en métodos terapéuticos.

También se describen métodos para preparar las sales de la invención objeto.

Breve descripción de las figuras

La Figura 1 muestra un difractograma de rayos X de la base libre CYT-1010 lote V05060N1.

La Figura 2 muestra una superposición DSC/TGA de la base libre CYT-1010 lote V05060N1.

45 La Figura 3 muestra un espectro H-RMN de la base libre CYT-1010 lote V05060N1.

La Figura 4 muestra un espectro FTIR de la base libre CYT-1010 lote V05060N1.

- La Figura 5 muestra una isoterma de humedad DVS de CYT-1010 base libre.
- La Figura 6 muestra un difractograma de rayos X de la sal aspartato del cribado primario.
- La Figura 7 muestra una superposición DSC/TGA de la sal aspartato del cribado primario.
- La Figura 8 muestra un difractograma de rayos X de la sal clorhidrato del cribado primario.
- 5 La Figura 9 muestra una superposición DSC/TGA de la sal clorhidrato del cribado primario.
- La Figura 10 muestra un difractograma de rayos X de la sal lactato del cribado primario.
- La Figura 11 muestra una superposición DSC/TGA de la sal lactato del cribado primario.
- La Figura 12 muestra un difractograma de rayos X de la sal maleato del cribado primario.
- La Figura 13 muestra una superposición DSC/TGA de la sal maleato del cribado primario.
- 10 La Figura 14 muestra difractogramas de rayos X de la sal aspartato: muestra del cribado primario (trazo azul), muestra a mayor escala (trazo negro).
- La Figura 15 muestra termogramas DSC/TGA de la sal aspartato de una muestra a mayor escala.
- La Figura 16 muestra una superposición DSC de la muestra del cribado primario (trazo superior) y la muestra a mayor escala (trazo inferior) de la sal aspartato.
- 15 La Figura 17 muestra espectros de H-RMN de la sal aspartato de la muestra a mayor escala.
- La Figura 18 muestra un espectro FTIR de aspartato a mayor escala.
- La Figura 19 muestra una isoterma de humedad DVS de aspartato a mayor escala.
- La Figura 20 muestra difractogramas de rayos X de clorhidrato: muestra del cribado primario (trazo negro), muestra a mayor escala (trazo rojo).
- 20 La Figura 21 muestra una superposición DSC/TGA de la sal clorhidrato a mayor escala.
- La Figura 22 muestra una superposición DSC de la muestra del cribado primario (trazo inferior) y la muestra a mayor escala (trazo superior) de la sal clorhidrato.
- La Figura 23 muestra espectros H-RMN de clorhidrato de la muestra a mayor escala.
- La Figura 24 muestra un espectro FTIR de clorhidrato a mayor escala.
- 25 La Figura 25 muestra una isoterma de humedad DVS de la sal clorhidrato a mayor escala.
- La Figura 26 muestra la comparación de termogramas TGA de CYT-1010 HCl antes y después de una exposición a 25°C/75% de HR.
- La Figura 27 muestra difractogramas de rayos X de CYT-1010 HCl (negro) y una muestra de suspensión acuosa (trazo azul).
- 30 La Figura 28 muestra difractogramas de rayos X de lactato: muestra del cribado primario (trazo negro), muestra a mayor escala (trazo rojo).
- La Figura 29 muestra una superposición DSC/TGA de la muestra a mayor escala de lactato.
- La Figura 30 muestra una superposición DSC de la muestra del cribado primario (trazo superior) y la muestra a mayor escala (trazo inferior) de la sal lactato.
- 35 La Figura 31 muestra espectros H-RMN de lactato a mayor escala.
- La Figura 32 muestra un espectro FTIR de lactato a mayor escala.
- La Figura 33 muestra una isoterma de humedad DVS de la sal lactato a mayor escala.
- La Figura 34 muestra difractogramas de rayos X de maleato: muestra del cribado primario (trazo negro), muestra a mayor escala (trazo rojo).
- 40 La Figura 35 muestra una superposición DSC/TGA de la muestra a mayor escala de maleato.
- La Figura 36 muestra una superposición DSC de la muestra del cribado primario (trazo superior) y la muestra a

mayor escala (trazo inferior) de la sal maleato.

La Figura 37 muestra un espectro H-RMN de la muestra a mayor escala de la sal maleato.

La Figura 38 muestra un espectro de la muestra a mayor escala de la sal maleato.

La Figura 39 muestra una isoterma de humedad DVS de la sal maleato a mayor escala.

5 La Figura 40 muestra la morfología de las partículas de cuatro sales a mayor escala.

La Figura 41 muestra datos de difracción de rayos X para la sal HCl.

La Figura 42 muestra datos de DSC/TGA para la sal HCl.

La Figura 43 muestra una comparación de DSC de la muestra a mayor escala (trazo superior) y una muestra a pequeña escala (trazo inferior).

10 La Figura 44 muestra datos de difracción de rayos X para la sal aspartato.

La Figura 45 muestra datos de DSC/TGA para la sal aspartato.

La Figura 46 muestra datos de DSC. Aspartato a mayor escala (trazo superior), muestra a menor escala (trazo inferior).

Breve descripción de las secuencias

15 SEQ ID NO: 1 es un péptido útil de acuerdo con la invención objeto.

SEQ ID NO: 2 es un péptido útil de acuerdo con la invención objeto.

SEQ ID NO: 3 es un péptido útil de acuerdo con la invención objeto.

SEQ ID NO: 4 es un péptido útil de acuerdo con la invención objeto.

SEQ ID NO: 5 es un péptido útil de acuerdo con la invención objeto.

20 SEQ ID NO: 6 es un péptido útil de acuerdo con la invención objeto.

SEQ ID NO: 7 es un péptido útil de acuerdo con la invención objeto.

SEQ ID NO: 8 es un péptido útil de acuerdo con la invención objeto.

SEQ ID NO: 9 es un péptido útil de acuerdo con la invención objeto.

SEQ ID NO: 10 es un péptido útil de acuerdo con la invención objeto.

25 SEQ ID NO: 11 es un péptido útil de acuerdo con la invención objeto.

SEQ ID NO: 12 es un péptido útil de acuerdo con la invención objeto.

SEQ ID NOS: 13-26 son péptidos adicionales útiles de acuerdo con la invención objeto.

Descripción detallada

30 La invención objeto proporciona una sal ventajosa de un péptido que se une al receptor opioide mu (morfina) con afinidad, selectividad y potencia elevadas.

Ventajosamente, la sal de la invención objeto tiene excelentes propiedades en términos de su cristalinidad, morfología, propiedades térmicas, estequiometría, hidrosopicidad, solubilidad acuosa y/o estabilidad química.

35 Esta invención también proporciona preparaciones farmacéuticas que contienen una cantidad eficaz de la sal de péptido. La invención objeto proporciona además la sal de péptido para uso en métodos para proporcionar analgesia, alivio de trastornos gastrointestinales tales como diarrea, tratamientos antiinflamatorios y terapia para la dependencia de drogas, en donde los métodos implican administrar a un paciente en necesidad de tal tratamiento, una composición que contiene una cantidad eficaz de una o varias de las sales de péptidos de la invención objeto.

40 Inicialmente, se seleccionaron para evaluar 16 sales de un análogo peptídico cíclico de endomorfina-1. Éstas incluían quince monosales y una hemisal. La caracterización de estas sales a una escala de 50 mg permitió la identificación de cuatro sales particularmente ventajosas: las sales aspartato, clorhidrato, maleato y lactato.

La sal clorhidrato mostraba buena cristalinidad. La estequiometría de la sal clorhidrato basada en la cromatografía

iónica, era próxima a la teórica. La monosal parece formar un monohidrato estable con una HR superior al 5%. La estabilidad química parece también excelente. La invención objeto proporciona la sal acetato de Cyt 1010, así como composiciones farmacéuticas que contienen esta sal.

Péptidos

- 5 Los péptidos descritos en este documento tienen la fórmula general Tyr-X₁-X₂-X₃ en donde X₁ es Pro, D-Lys o D-Orn; X₂ es Trp, Phe o N-alkil-Phe en donde el alquilo contiene de 1 a aproximadamente 6 átomos de carbono; y X₃ es Phe, Phe-NH₂, D-Phe, D-Phe-NH₂ o p-Y-Phe en donde Y es NO₂, F, Cl o Br. Algunos péptidos preferidos son:

H-Tyr-Pro-Trp-Phe-NH₂ (SEQ ID NO:1)

H-Tyr-Pro-Phe-Phe-NH₂ (SEQ ID NO:2)

- 10 H-Tyr-Pro-Trp-Phe-OH (SEQ ID NO:3)

H-Tyr-Pro-Phe-Phe-OH (SEQ ID NO:4)

H-Tyr-Pro-Trp-D-Phe-NH₂ (SEQ ID NO:5)

H-Tyr-Pro-Phe-D-Phe-NH₂ (SEQ ID NO:6)

H-Tyr-Pro-Trp-pNO₂-Phe-NH₂ (SEQ ID NO:7)

- 15 H-Tyr-Pro-Phe-pNO₂-Phe-NH₂ (SEQ ID NO:8)

H-Tyr-Pro-N-Me-Phe-Phe-NH₂ (SEQ ID NO:9)

H-Tyr-Pro-N-Et-Phe-Phe-NH₂ (SEQ ID NO:10)

H-Tyr-Pro-N-Me-Phe-D-Phe-NH₂ (SEQ ID NO:11)

H-Tyr-Pro-N-Et-Phe-D-Phe-NH₂ (SEQ ID NO:12)

- 20 H-Tyr-c-[D-Lys-Trp-Phe] (SEQ ID NO:13)

H-Tyr-c-[D-Lys-Phe-Phe] (SEQ ID NO:14)

H-Tyr-c-[D-Orn-Trp-Phe] (SEQ ID NO:15)

H-Tyr-c-[D-Orn-Phe-Phe] (SEQ ID NO:16)

H-Tyr-c-[D-Lys-Trp-pNO₂-Phe] (SEQ ID NO:17)

- 25 H-Tyr-c-[D-Lys-Phe-pNO₂-Phe] (SEQ ID NO:18)

H-Tyr-c-[D-Orn-Trp-pNO₂-Phe] (SEQ ID NO:19)

H-Tyr-c-[D-Orn-Phe-pNO₂-Phe] (SEQ ID NO:20)

H-Tyr-c-[D-Lys-N-Me-Phe-Phe] (SEQ ID NO:21)

H-Tyr-c-[D-Orn-N-Me-Phe-Phe] (SEQ ID NO:22)

- 30 H-Tyr-c-[D-Lys-N-Et-Phe-Phe] (SEQ ID NO:23)

H-Tyr-c-[D-Orn-N-Et-Phe-Phe] (SEQ ID NO:24)

H-Tyr-c-[D-Lys-N-Me-Phe-D-Phe] (SEQ ID NO:25)

H-Tyr-c-[D-Lys-N-Et-Phe-D-Phe] (SEQ ID NO:26)

El péptido de la invención se define en las reivindicaciones.

- 35 Los catorce últimos péptidos en la lista, son péptidos cíclicos cuyas secuencias de aminoácidos lineales primarias se proporcionan en SEQ ID NO: 13 hasta SEQ ID NO: 26. En este contexto, se hace referencia al documento de patente de EE.UU. n° 6.303.578.

El péptido de SEQ ID NO: 1 es muy selectivo y potente para el receptor opioide mu, y la unión a los receptores delta es más de 4000 veces más débil y la unión a los receptores kappa es más de 15.000 veces más débil, lo que reduce las posibilidades de efectos secundarios.

40

Los péptidos descritos en este documento se pueden preparar por métodos convencionales de fase en solución (Bodansky, M., *Peptide Chemistry: A Practical Textbook*, 2ª edición, Springer-Verlag, Nueva York (1993)) o de fase sólida (Stewart, J.M.; Young, J.D. *Solid Phase Peptide Synthesis*, 2ª edición, Pierce Chemical Company, 1984), con el uso de grupos protectores y agentes de acoplamiento adecuados. Un método de desprotección adecuado se puede emplear a continuación para eliminar grupos protectores especificados o la totalidad de los grupos protectores, incluyendo la división de la resina si se aplica la síntesis en fase sólida.

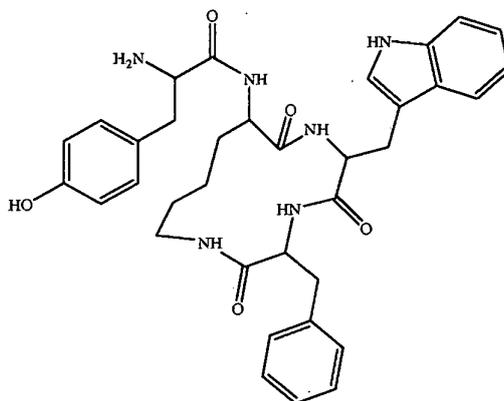
La ciclación de los péptidos lineales se puede realizar, por ejemplo, mediante la sustitución de un ácido diamino carboxílico apropiado para Pro en la posición 2 en los péptidos, mediante el cierre del anillo de los grupos funcionales amino y carboxílicos C-terminales de la cadena lateral de la posición 2. Las reacciones de ciclación se pueden realizar con el método de difenilfosforil azida (Schmidt, R., Neuhert, K., *Int. J. Pept. Protein Res.* 37:502-507, 1991).

Los péptidos sintetizados con síntesis en fase sólida se pueden separar de la resina con fluoruro de hidrógeno líquido (HF) en presencia del antioxidante y captador adecuados.

La cantidad de reactivos utilizados en las reacciones, así como las condiciones necesarias para facilitar las reacciones e impulsar una terminación eficaz, pueden variar ampliamente dependiendo de variaciones en las condiciones de reacción y de la naturaleza de los reactivos.

Los productos deseados se pueden aislar a partir de la mezcla de reacción mediante cristalización, electroforesis, extracción, cromatografía o por otros medios. Sin embargo, un método de aislamiento preferido es HPLC. Todos los péptidos brutos se pueden purificar con HPLC preparativa, y la pureza de los péptidos se puede comprobar con HPLC analítica. Se han obtenido purezas de los compuestos sintetizados superiores al 95%, utilizando HPLC.

En una realización preferida, ejemplificada específicamente en este documento, el péptido es el que se muestra como SEQ ID NO: 13 (péptido cíclico de endomorfin-1) y tiene la siguiente estructura:



Cyt 1010

 $C_{35}H_{40}N_6O_5$

Peso Mol.: 624,73

C, 67,29; H, 6,45; N, 13,45; O, 12,81

Composiciones farmacéuticas

La presente invención también proporciona preparaciones farmacéuticas que contienen una cantidad farmacéuticamente eficaz de las sales de péptido de esta invención y un vehículo o un adyuvante farmacéuticamente aceptable. El vehículo puede ser un vehículo orgánico o inorgánico que es adecuado para aplicaciones externas, entéricas o parenterales.

Las sales de péptidos de la presente invención pueden estar compuestas, por ejemplo, por vehículos farmacéuticamente aceptables usuales, no tóxicos, para comprimidos, gránulos, cápsulas, liposomas, supositorios, pulverizaciones intranasales, soluciones, emulsiones, suspensiones, aerosoles, sistemas de entrega de productos químicos dirigidos (Prokai-Tatrai, K.; Prokai, L.; Bodor, N., *J. Med. Chem.* 39: 4775-4782, 1991), y cualquier otra forma adecuada para el uso. Los vehículos que se pueden usar son agua, glucosa, lactosa, goma de acacia, gelatina, manitol, pasta de almidón, trisilicato de magnesio, talco, almidón de maíz, queratina, sílice coloidal, almidón de patata, urea y otros vehículos adecuados para uso en la fabricación de preparaciones, en forma sólida, semisólida, líquida o de aerosol, y además se pueden utilizar agentes auxiliares, estabilizantes, espesantes y colorantes, y perfumes.

Métodos terapéuticos

- La presente invención también proporciona la sal de péptido para uso en métodos para proporcionar analgesia, alivio de trastornos gastrointestinales tales como diarrea, y terapia para la dependencia de drogas en pacientes, tales como mamíferos, incluyendo los seres humanos, cuyo método comprende administrar al paciente una cantidad eficaz de los péptidos, o sales de los mismos, de esta invención. La diarrea puede estar causada por una serie de fuentes, tales como una enfermedad infecciosa, cólera, o un efecto o efecto secundario de diversos fármacos o terapias, incluyendo los utilizados para la terapia contra el cáncer. Para la aplicación de las sales de péptidos de la presente invención a humanos, es preferible administrarlas mediante administración parenteral o por vía entérica.
- Las sales de péptidos de la invención objeto también se pueden emplear para proporcionar tratamientos anti-inflamatorios. En este contexto, los solicitantes hacen referencia al documento de Estados Unidos 2004/0266805.
- La dosificación de la cantidad eficaz de los péptidos varía y también depende de la edad y el estado de cada paciente individual que se va a tratar. Sin embargo, las dosificaciones unitarias adecuadas pueden ser desde aproximadamente 0,01 a aproximadamente 100 mg. Por ejemplo, una dosis unitaria puede ser desde aproximadamente 0,2 mg a aproximadamente 50 mg. Una dosis unitaria de este tipo se puede administrar más de una vez al día, por ejemplo, dos o tres veces al día.
- Métodos experimentales
- Morfología. Un microscopio Zeiss universal configurado con una fuente de luz visible polarizada, se utilizó para evaluar las propiedades ópticas de las muestras. Los especímenes se montaron típicamente sobre un portaobjetos para el microscopio. El aumento era típicamente de 125X. Se registraron observaciones del tamaño y la forma de la partícula/cristal. También se observó la presencia de birrefringencia.
- Estequiometría - ^1H -RMN. Las muestras se prepararon disolviendo 3-7 mg en dimetilsulfóxido (DMSO)- d_6 con 0,05% (v/v) de tetrametilsilano (TMS). Los espectros se recogieron a temperatura ambiente en un espectrómetro de FT-RMN Varian Gemini de 300 MHz.
- Estequiometría - Cromatografía iónica. Se prepararon soluciones estándares generalmente en el intervalo de 5 a 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$. Las muestras se disolvieron y se analizaron con un cromatógrafo de iones Dionex DX-600, configurado con una columna AminiPac PA 10 para el análisis de ácido aspártico y una columna AS4A-SC/AG4A-SC para los ácidos maleico, clorhídrico y láctico y un detector de conductividad.
- Solubilidad. La solubilidad de las sales seleccionadas del cribado primario se determinó a temperatura ambiente en tampón acuoso con pH 7, mediante una técnica visual. La solubilidad de las sales a mayor escala se determinó visualmente en tampones acuosos a pH 4,7 y 10 tanto mediante técnica visual como análisis de HPLC junto con las muestras de estabilidad, utilizando la misma condición cromatográfica (véase la sección de análisis de HPLC).
- Propiedades térmicas mediante calorimetría diferencial de barrido (DSC). Los datos de la DSC se recogieron en un aparato DSC de TA Instruments 2910. En general, las muestras en el intervalo de masa de 1 a 10 mg se fijaron en crisoles de aluminio para muestras y se escanearon desde 25°C hasta más allá de la fusión a 10°C/minuto, usando una purga de nitrógeno a 50 mL/min.
- Propiedades térmicas mediante análisis termogravimétrico (TGA). Los datos del TGA se recogieron en un aparato de TGA de TA Instruments 2950. En general, las muestras en el intervalo de masa de 5 a 15 mg se colocaron en un crisol abierto de platino para muestras, tarado previamente y se exploraron desde 25 a aproximadamente 300°C a 10°C/minuto utilizando una purga de nitrógeno.
- Microscopía óptica de platina caliente (HSM). Un microscopio Zeiss universal configurado con una fuente de luz visible polarizada y un accesorio de platina caliente Mettler se utilizó para analizar la base libre CYT-1010. Se montó una muestra en un portaobjetos del microscopio con una gota de aceite de inmersión y una cubierta de vidrio. El aumento era 400X. La muestra se calentó desde 25°C a aproximadamente 300°C a 3 o 10°C/minuto. Se registraron observaciones de cambio de fase, recristalización, evolución de burbujas, etc.
- Cristalinidad mediante difracción de rayos X (DRX) de polvos. Los patrones de difracción se recogieron utilizando un difractómetro Bruker D8 Discovery, configurado con una etapa de XYZ, vídeomicroscopio láser para el posicionamiento y detector de área HiStar. Los tiempos de recogida fueron 120 segundos a temperatura ambiente. Un tubo de radiación de Cu K α de 1,5406 Å funcionaba a 40 kV y 40 mA. La óptica de rayos X consiste en un espejo Gobel acoplado con un colimador con agujero de alfiler de 0,5 mm. Análisis continuos theta-theta se emplearon con una distancia de muestra-detector de 15 cm, lo que proporciona un intervalo eficaz 2 θ de 4-40°. Las muestras se montaron en placas de cuarzo de fondo bajo (9 mm de diámetro, 0,2 mm de profundidad de la cavidad).
- Espectroscopia infrarroja (FTIR). Los espectros infrarrojos se obtuvieron con un espectrómetro infrarrojo Nicolet 510 M-O de transformada de Fourier, equipado con un dispositivo de reflectancia total atenuada Harrick Splitper[®]. Los espectros se adquirieron con 4000-400 cm^{-1} con una resolución de 4 cm^{-1} y se recogieron 128 exploraciones para cada análisis.
- Estabilidad de la solución. Cuatro candidatos de sales se disolvieron (por duplicado) en acetonitrilo:agua (90:10) con

ES 2 550 604 T3

0,1% de TFA, a una concentración de 0,3 mg (con respecto a la base libre) por ml de disolvente. Los viales de centelleo se sellaron. Un vial de cada solución de sal se colocó en un horno a 40°C durante 2 semanas. Otro vial de cada solución de sal se almacenó a 25°C durante 2 semanas. Estas soluciones (y las soluciones a "tiempo cero") se analizaron para estudiar CYT-1010 mediante HPLC.

- 5 Estabilidad en estado sólido. Muestras en polvo de los cuatro candidatos finales de sales se transfirieron (por duplicado) a viales de centelleo y se sellaron. Un vial de cada sal se colocó en un horno a 60°C durante 2 semanas. Otro vial de cada sal se almacenó a 25°C durante 2 semanas. Estas muestras fueron analizadas (y las soluciones a "tiempo cero") para estudiar CYT-1010 mediante HPLC.

- 10 Fotoestabilidad. Las muestras de los cuatro candidatos de sales finales se transfirieron (por duplicado) a las placas de cristalización y se sellaron con envoltura de Saran®. Una placa de cada sal también se cubrió con papel de aluminio (como los controles oscuros). Otra placa de cada sal no se cubrió con papel de aluminio (como las muestras fotoexpuestas). Las muestras se expusieron a fuentes de UV de opción 2 compatibles con ICH para examinar su estabilidad con respecto a la luz a aproximadamente 25°C. También se analizaron los controles oscuros y las muestras a tiempo cero para comparar. Las muestras se analizaron para estudiar CYT-1010 mediante HPLC.

- 15 Estabilidad frente a la oxidación. Las muestras de los cuatro candidatos de sales finales se expusieron a una atmósfera de oxígeno puro durante 2 semanas para examinar su estabilidad con respecto a la oxidación a 25°C. Las muestras se analizaron para estudiar CYT-1010 mediante normalización del área total para el perfil de impurezas mediante HPLC.

- 20 Análisis HPLC. Los candidatos de sales se analizaron mediante normalización del área total (TAN). Las muestras se disolvieron en acetonitrilo:agua (90:10) con 0,1% de TFA con una concentración de base libre de 0,3 mg/mL.

Condiciones de la HPLC

	Columna de HPLC:	YMC-Pack ODS-A 150 mm, 4,6 mm, 5 micras
	Columna de protección (opcional)	Ninguna
	Temperatura de la columna:	25 ± 1°C
25	Temperatura de la muestra:	ambiente
	Lavado del muestreador automático:	1:1 de agua:CAN
	Caudal:	1,5 mL/min
	Volumen de inyección:	7 µl
	Detección UV:	215 nm
30	Tiempo de ejecución:	32 minutos
	Tiempo de análisis:	32 minutos
	Fase móvil:	A - 0,1% de TFA en agua B - 0,1% de TFA en CAN

Programa Puym del gradiente*:

Tiempo de etapa (minutos)	Tiempo transcurrido (minutos)	% de A (acuoso)	% de B (orgánico)	Curva
0,5	0,0	90	10	0
15,0	15,5	5	95	1
5,0	20,5	5	95	0
6,0	26,5	90	10	1
6,0	32,5	90	10	0

- 35 Sorción de vapor dinámica (DVS) (realizada por Surface Measurement Systems Ltd., Allentown, PA). Las muestras

5 se ejecutaron en un analizador de sorción de vapor dinámica, automatizado con una humedad relativa de 0 a 95% y de vuelta a una humedad relativa de 0% a 25°C en etapas del 5% de HR. Las muestras se secaron previamente (hasta tener una masa contante) bajo una corriente de nitrógeno seco antes del análisis. El cambio de peso como una función de la humedad y el tiempo, se registró para construir un gráfico isotérmico y cinético de la humedad, de la sorción y desorción de agua. Las masas de las muestras estaban generalmente en el intervalo de 1-5 mg.

Los siguientes son ejemplos que ilustran procedimientos para la puesta en práctica de la invención. Todos los porcentajes son en peso y todas las proporciones de mezclas de disolventes son en volumen a menos que se indique lo contrario.

Ejemplo 1 – Evaluación inicial

10 Se seleccionaron quince ácidos para una evaluación detallada. Los ácidos utilizados durante el estudio se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1
Acético
Aspártico (L)
Cítrico
Fumárico
Glucónico (D)
Hipúrico
Clorhídrico
Láctico
Málico
Maleico
Múcico
Fosfórico
Sulfúrico
Succínico
Tartárico (L)

15 Las sales se prepararon inicialmente a una escala de aproximadamente 50 mg. La base libre se suspendió en metanol. Todos los ácidos, excepto el aspártico y el múcico se disolvieron en agua. Porciones molares iguales de las soluciones de base libre y de ácido se mezclaron para formar las monosales. Las porciones molares de las soluciones de base libre y de ácido medio molar se mezclaron para formar la hemisal. Se añadió ácido aspártico y ácido múcico como polvos secos, ya que eran insolubles en agua. Las suspensiones de base libre después de añadir ácido clorhídrico, sulfúrico, maleico, fosfórico, tartárico y cítrico se volvieron claras y luego se evaporaron mientras que se agitaban sobre una placa agitadora a temperatura ambiente. Las preparaciones restantes de sales turbias se siguieron agitando tapadas durante aproximadamente dos días, para permitir que tuvieran lugar las reacciones, a continuación, se evaporaron de la misma manera, mientras que se agitaban sobre una placa agitadora a temperatura ambiente. Las sales se secaron al vacío a 40°C.

20 Se prepararon y evaluaron las propiedades térmicas y la cristalinidad de quince sales de la base libre. Las diferentes formas salinas se muestran en la Tabla 2.

Acetato	Hipurato	Mucato	Tartrato (L)
Aspartato (L)	Clorhidrato	Fosfato	Gluconato (D)
Citrato	Lactato	Sulfato	Maleato
Fumarato	Malato (L)	Hemi-sulfato	Succinato

Ejemplo 2 - Caracterización de la base libre

El análisis DRX indicó que la base libre era cristalina, tal y como se muestra en la Figura 1. Una superposición de termogramas DSC y TGA se puede observar en la Figura 2. El termograma DSC mostraba múltiples eventos térmicos: una pequeña endoterma con una temperatura de inicio de 256,2°C y un valor de entalpía de $\Delta H = 20$ J/g, seguida inmediatamente por una pequeña exoterma. El segundo pico endotérmico era un pico agudo con una temperatura de inicio de 286,3°C y un valor de entalpía de 95,7 J/g. El termograma TGA mostraba la pérdida de peso debido a compuestos volátiles de 2,9% en peso (25°C-150°C).

Un análisis con microscopía de fase caliente indicó que las partículas de la base libre tenían una forma irregular, laminar y no parecían birrefringentes. La fusión de la muestra se completó a aproximadamente 288°C. No había otros eventos térmicos evidentes.

Los espectros H-MHR y FTIR de la base libre se muestran en la Figura 3 y la Figura 4, respectivamente.

El análisis DVS de la base libre indicaba una absorción de agua no estequiométrica de hasta 1,7% en peso con 90% de HR (Figura 5).

Los datos de la estabilidad de la base libre no mostraron cambios significativos en los valores de HPLC-TAN después de la exposición al calor, la luz o el oxígeno (Tablas 6-9).

Ejemplo 3 – Caracterización de sales primarias

Se prepararon y se analizaron quince monosales y una hemisal mediante difracción de rayos X de polvos. El comportamiento térmico de las sales primarias se estudió mediante un análisis DSC y TGA. Los resultados analíticos se resumen en la Tabla 3. Como se puede observar en la tabla, algunas sales eran cristalinas, otras estaban poco ordenadas o eran amorfas. La cristalinidad de algunas sales mejoró suspendiéndolas en agua durante aproximadamente una semana. El comportamiento térmico de algunas sales era complejo con los múltiples eventos térmicos observados en el calentamiento. Endotermas debidas a la deshidratación y/o la eliminación de disolvente para algunas de las sales también eran evidentes.

Sal		Cristalinidad por DRX	Resultados de DSC	Resultados de TGA (pérdida de peso)
HCl	Mono	Poco ordenada, madurada por agitación en agua, cristalinidad mejorada.	Pequeña endoterma a 230°C con $\Delta H = 10$ J/g, fusión con descomposición a 283°C.	Pérdida de peso del 3% a 150°C
Sulfato	Hemi	Amorfa, madurada por agitación en agua, permaneció amorfa		
Sulfato	Mono	cristalina	Endoterma amplia a ~100°C, fusión con descomposición a 283°C.	Pérdida de peso del 5% a 150°C y continuó hasta la fusión
Aspartato (L)	Mono	Cristalina	Inicio endoterma: 270°C, $\Delta H = 241$ J/g (fusión + descomposición).	1,4% (25-150°C). Peso estable hasta 225°C

Tabla 3: Cristalinidad y datos térmico de las sales seleccionadas				
Sal		Cristalinidad por DRX	Resultados de DSC	Resultados de TGA (pérdida de peso)
Maleato	Mono	Poco ordenada, madurada por agitación en agua, cristalinidad mejorada.	Inicio endoterma: 237°C, $\Delta H = 95$ J/g	Pérdida de peso del 2,3% a 150°C, y gran pérdida de peso después de 150°C.
Fosfato	Mono	Cristalina	Endoterma amplia a ~200°C con $\Delta H = 40$ J/g, fusión con descomposición a 308°	Pérdida de peso del 2,2% a 150°C, y gran pérdida de peso después de 175°C.
Tartrato (L)	Mono	Cristalina	Endoterma amplia a 86°C, pequeña endoterma a 139°C, con descomposición a 252°C	2,0% (25-150°C)
Fumarato	Mono	Cristalina	Inicio endoterma: 263°C, $\Delta H = 111$ J/g,	5,3% (25-175°C)
Mucato	Mono	Cristalina	Una endoterma amplia a ~75-100°C, una endoterma doble a 207°C	2,7% (25-150°C)
Citrato	Mono	Amorfa, madurada por agitación en agua, permaneció amorfa.		
Malato (L)	Mono	Cristalina	Inicio endoterma: 260,3°C, $\Delta H = 157$ J/g,	1,0% (25-150°C), pérdida de peso después de 150°C y hasta la fusión
Hipurato	Mono	Poco ordenada, madurada por agitación en agua, cristalinidad mejorada, pero el patrón de DRX se emparejó con el material de partida de la base libre, no se formó sal.		
Gluconato (D)	Mono	El patrón de DRX se emparejó con el material de partida de la base libre, no se formó sal.		
Lactato (L)	Mono	Cristalina	Inicio endoterma: 234°C, $\Delta H = 116$ J/g,	3,0% (25-150°C)
Succinato	Mono	Poco ordenada, madurada por agitación en agua, cristalinidad mejorada.	Una endoterma amplia a ~75°C, una endoterma doble a 248°C	2,5% (25-150°C)
Acetato	Mono	Dos muestras generadas: DRX de una muestra se emparejó con la base libre, la otra muestra estaba poco ordenada.		

Solubilidad. Se determinó la solubilidad de las sales seleccionadas a partir del cribado primario. Las mediciones de la solubilidad se realizaron a temperatura ambiente en un tampón acuoso a pH 7,0. Los resultados de las mediciones de la solubilidad se muestran en la Tabla 4. Incluso a una concentración de 0,05 mg/ml, las soluciones de todas las sales todavía estaban turbias, indicando que la solubilidad de todas las sales era <0,05 mg/mL. Las soluciones de las sales lactato, malato y aspartato parecían menos nubladas/turbias que otras, lo que sugiere que su

solubilidad puede ser ligeramente superior a la de las otras formas.

Sal	Solubilidad visual (mg/ml)
Aspartato (L)	<0,05
Tartrato (L)	<0,05
Maleato	<0,05
Malato	<0,05
Fosfato	<0,05
Lactato (L)	<0,05
Succinato	<0,05
Clorhidrato	<0,05

La evaluación de las sales primarias se resume en la Tabla 5. Esta evaluación permitió la selección de cuatro sales para una evaluación adicional: aspartato, clorhidrato, lactato y maleato.

Forma salina	Comentarios
Aspartato (L)	Endoterma de fusión aislada, pequeña cantidad de volátiles, parece ligeramente más soluble que la mayoría de las otras formas salinas.
Maleato	Ligeramente más soluble que la mayoría de las otras formas salinas, TGA indicaba inestabilidad térmica después de 150°C.
Lactato (L)	No era tan soluble como algunas otras, la muestra tenía 3% de volátiles, endoterma de fusión aislada.
Clorhidrato	La cristalinidad fue mejorada mediante maduración, 3% de volátiles, múltiples eventos en DSC.
Tartrato (L)	El patrón de DRX era muy similar a maleato, era ligeramente más soluble, pero una pequeña endoterma adicional en trazas de DSC podría indicar un comportamiento polimórfico.
Malato	El patrón de DRX era muy similar a tartrato, era ligeramente más soluble, endoterma aislada, poca cantidad de volátiles, pero pérdida de peso después de 150°C.
Succinato	La sal no cristalizaba bien, tuvo que madurar mediante suspensión, una de las sales menos solubles, la muestra tenía 2,5% de volátiles, endoterma doble en DSC.
Sulfato	La muestra tenía 5% de volátiles.
Fumarato	Pérdida de peso de 5,3% en TGA.
Mucato	No es una sal prometedora basándose en el comportamiento térmico.
Fosfato	Una de las menos solubles, múltiples endotermas, el perfil de pérdida de peso no es bueno.

Escrutinio de la sal a mayor escala. Basándose en los resultados del escrutinio primario de la sal, se seleccionaron cuatro monosales para un aumento de la escala hasta la escala de 400 mg: aspartato, clorhidrato, lactato y maleato. Se utilizó el mismo método preparativo para el aumento de la escala que para la evaluación de la sal primaria.

5 A continuación se describen las características de las cuatro formas salinas.

Aspartato

10 El material era un sólido cristalino blanco. El patrón de difracción de rayos X del lote se muestra en la Figura 6. El termograma DSC mostró una endoterma de fusión con una temperatura de inicio extrapolada de aproximadamente 270°C. Parece que hay fusión con descomposición. Los compuestos volátiles totales mediante TGA en un intervalo de temperatura de 25-150°C eran 1,4% en peso. Un gráfico de superposición DSC/TGA se muestra en la Figura 7.

Clorhidrato

15 La sal clorhidrato aislada era un sólido cristalino blanco. El patrón de difracción de rayos X del lote se muestra en la Figura 8. El material mostraba una pequeña endoterma (8 J/g) con una temperatura de inicio de 230°C y la endoterma principal con un inicio de 282,7°C (la superposición DSC/TGA se muestra en la Figura 9). La pérdida de peso observada usando TGA a 150°C era del 2,9% en peso.

Lactato

20 El patrón de DRX de la sal lactato se muestra en la Figura 10, era menos cristalina que el aspartato o el clorhidrato. Era un sólido blanco. El termograma DSC reveló una única endoterma de fusión con una temperatura de inicio de 234°C y un valor de entalpía de 116 J/g. La muestra perdió aproximadamente 2,9% en peso a 150°C mediante TGA tal y como se muestra en la Figura 11.

Maleato

25 El maleato era un sólido cristalino ligeramente blanquecino, el patrón de DRX se muestra en la Figura 12. El termograma DSC tenía una endoterma con una temperatura de inicio de 236,7°C y un calor de fusión de 93,9 J/g. El termograma TGA indicó una pérdida de peso a 150°C, de 2,3% en peso, pero la muestra comenzó a perder masa aproximadamente a 150°C. El gráfico de superposición de termogramas DSC/TGA se muestra en la Figura 13.

Ejemplo 4 – Caracterización de sales a mayor escala

30 Después de la evaluación inicial, se prepararon cantidades adicionales de cuatro sales (aspartato, clorhidrato, lactato y maleato) para su posterior evaluación. Estas sales se sometieron a aumento progresivo hasta aproximadamente 400 mg para facilitar un ensayo adicional y determinar si las características de los sólidos eran reproducibles. Los resultados de los análisis a mayor escala se resumen a continuación.

Aspartato. El material producido en el lote a mayor escala se analizó mediante DRX, DSC, TGA, H-RMN y FTIR.

35 La superposición DRX de la sal aspartato a mayor escala (trazo negro) con un lote a pequeña escala (azul) se muestra en la Figura 14. Los datos de DSC/TGA para el aspartato a mayor escala se muestran en la Figura 15. La Figura 16 muestra el gráfico de la superposición DSC de la muestra a pequeña escala con la muestra a mayor escala. La muestra a mayor escala parece ser menos cristalina que la muestra a pequeña escala, a pesar de que la maduración adicional en agua se realizó para mejorar la cristalinidad. El termograma DSC muestra una única fusión con un inicio de fusión anterior al de la muestra a pequeña escala, probablemente debido a la cristalinidad inferior. La muestra tenía 1,7% en peso de compuestos volátiles.

40 El contenido en ácido aspártico determinado por cromatografía de iones, era de aproximadamente 13,5% en peso, algo menor que el valor teórico para la monosal (17,6% en peso). Esto pudo haber contribuido a la menor cristalinidad de la muestra.

El espectro de protones FT-NRM del aspartato se recogió y se muestra en la Figura 17. Los picos alifáticos aspirados estaban superpuestos a los picos alifáticos de CYT-1010, de modo que la relación molar no se pudo determinar por RMN.

45 El espectro FTIR del aspartato a mayor escala, se muestra en la Figura 18.

Se realizó un análisis DVS de la sal aspartato a mayor escala. La sal aspartato puede formar un hemihidrato después monohidrato con mayor humedad. El gráfico de los datos de isoterma de sorción de humedad y de la cinética se muestran en la Figura 19. La forma del gráfico de la isoterma dificulta tener seguridad de si forman hidratos.

50 Los resultados de la solubilidad acuosa a pH 4, pH 7, pH 10 se muestran en la Tabla 10.

Clorhidrato

La muestra a mayor escala de la sal clorhidrato mostraba el mismo patrón de DRX que en la evaluación inicial (véanse los gráficos de superposición DRX de las dos muestras en la Figura 20). El comportamiento térmico de ambos lotes también era similar. Los termogramas DSC/TGA de la muestra a mayor escala están en la Figura 21 y una comparación de los termogramas DSC de la muestra primaria y a mayor escala está en la Figura 22. El material mostraba una endoterma baja (10,2 J/g) con una temperatura de inicio de 231,3°C y la endoterma principal con un inicio de 285,9°C. La muestra había perdido 2,6% en peso de compuestos volátiles a 150°C.

La microscopía de fase caliente del clorhidrato no reveló cambios en la morfología de las partículas hasta la fusión, lo que se observó a aproximadamente 280°C. La evolución de las burbujas era evidente a 108°C y de nuevo a 230°C.

El espectro RMN de los protones (Figura 23) sugiere que la estequiometría de la sal es de aproximadamente 1:1. El espectro FTIR de la sal clorhidrato a mayor escala se muestra en la Figura 24.

La CI se utilizó para evaluar el contenido en cloruro de la sal a mayor escala. La CI indicaba que el contenido en cloruro era de 5,2% en peso (teórico 5,5% en peso).

El análisis DVS sugirió una formación de hidratos reversible con 5% de HR (Figura 25). Teniendo en cuenta la absorción de agua de aproximadamente 2,5% en peso, esto implicaría formas monohidrato (2,7% en peso de agua teórico).

Una muestra de HCl se almacenó a 25°C y 75% de HR durante una semana y luego se volvió a pesar, no se observó un aumento de peso. La muestra expuesta se analizó mediante TGA para comprobar el perfil térmico después de la exposición de la muestra a humedad. No mostró ninguna pérdida de peso adicional debido a la humedad. Una comparación de los termogramas TGA antes y después de la exposición a la humedad, se muestra en la Figura 26.

Una suspensión de la sal clorhidrato en agua se llevó a cabo agitando con un exceso de sal HCl en agua, sobre una placa agitadora durante aproximadamente una semana. La suspensión se filtró y la torta húmeda se analizó mediante DRX para comprobar los cambios estructurales. Los patrones de DRX de las muestras antes y después de la suspensión eran esencialmente los mismos (Figura 27), lo que sugiere que el patrón de DRX representa probablemente la forma monohidrato del material.

Los datos de la estabilidad de la sal clorhidrato se describen a continuación.

Los resultados de solubilidad acuosa a pH 4, pH 7 y pH 10 se muestran en la Tabla 10.

Lactato

La muestra a mayor escala de la sal lactato era cristalina y tenía el mismo patrón de DRX que en la evaluación inicial. Los perfiles térmicos también eran similares (véanse los gráficos de superposición DRX de las dos muestras en la Figura 28 y los datos DSC/TGA para la muestra a mayor escala en la Figura 29). El termograma DSC de la muestra a mayor escala tenía una endoterma de fusión con una temperatura de inicio de aproximadamente 237,5°C y un valor de entalpía de 143 J/g. Los compuestos volátiles totales mediante TGA eran 1,7% en peso a 150°C. Una comparación de los termogramas DSC de la muestra primaria y a mayor escala se muestra en la Figura 30.

La estequiometría de la monosal se evaluó usando cromatografía de iones (CI). La muestra contenía aproximadamente 9,8% en peso de ácido láctico, lo que es menor que el resultado teórico esperado (12,6% en peso). Para determinar por qué era inferior, una solución de ácido láctico utilizada para la preparación de sales (Fisher, ensayo 88,3%) fue analizada mediante CI y el valor del ensayo se determinó que era solamente 76,8% en peso frente a la ficha técnica de 88,3% en peso.

Los espectros RMN y FTIR del lactato a mayor escala están en la Figura 31 y la Figura 32, respectivamente. El pico de metina en ~4,0 ppm se integraba en 1,23. Esto indicaría que la relación molar es de aproximadamente 1 a 1 (una monosal).

El análisis DVS indicaba una absorción de agua no estequiométrica de 1 a 3% en peso con un intervalo de 0-70% de HR y hasta 6% en peso con 90% de HR (Figura 33). Dada la forma suave de la curva, no era posible deducir si esta absorción representa la formación de hidratos o no.

Los resultados de la solubilidad acuosa a pH 4, pH 7 y pH 10 se muestran en la Tabla 10.

Maleato

La muestra a mayor escala de la sal maleato era cristalina. Los patrones de DRX del escrutinio primario y las sales malato a mayor escala eran muy similares, como se puede observar en la Figura 34.

5 El termograma DSC mostraba el mismo comportamiento térmico que en la evaluación inicial. La pérdida de peso observada a 125°C era de ~2% en peso. Después de un secado adicional, el contenido en compuestos volátiles era 1,5% en peso. El gráfico de la superposición DSC/TGA del maleato a mayor escala se muestra en la Figura 35. Una comparación de los termogramas DSC de las muestras primarias y a mayor escala se muestra en la Figura 36. Los termogramas muestran una repetibilidad adecuada.

La estequiometría de la monosal se evaluó usando cromatografía de iones (CI). La muestra contenía aproximadamente 14,0% en peso de ácido maleico, que está cerca al valor teórico de 15,7% en peso.

El espectro H-RMN del maleato se muestra en la Figura 37. El espectro FTIR de la sal maleato a mayor escala está en la Figura 38.

10 El análisis DVS (Figura 39) indicaba la absorción de agua no estequiométrica de aproximadamente 3,5% en peso en el intervalo de 0-95% de HR. Si se formaba un hidrato o no, realmente no se pudo deducir a partir de estos datos.

Los resultados de la solubilidad acuosa a pH 4, pH 7 y pH 10 se muestran en la Tabla 10.

Ejemplo 5 – Estabilidad de las sales a mayor escala

15 Las sales aspartato, clorhidrato, lactato y maleato a mayor escala junto con la base libre se analizaron por duplicado mediante normalización del área total (TAN) para determinar sus perfiles de impurezas. Las sales se sometieron a estrés en estado sólido utilizando calor, luz y atmósfera de oxígeno puro para determinar si las formas salinas mostraban diferentes características de estabilidad química. Las sales también se sometieron a estrés en solución utilizando calor.

20 Las muestras se prepararon con una concentración de base libre de 0,3 mg/mL. El diluyente para todas las preparaciones de muestras era 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1% de TFA. Todas las soluciones se sometieron a ultrasonidos durante al menos cinco minutos antes del análisis. El análisis se realizó durante cuatro días. El perfil de impurezas de la base libre, como se muestra en la tabla a continuación, era coherente durante este tiempo.

Perfil de impurezas de la base libre CYT-1010 ¹							
Forma	0,89	0,92	0,95	1,02	1,03	1,14	1,18
Día 1 de la base libre	0,09	0,05	ND	0,53	0,16	ND	ND
Día 2 de la base libre	0,12	0,06	ND	0,51	0,13	ND	ND
Día 3 de la base libre	0,13	0,07	ND	0,53	0,18	ND	ND

¹ Perfil de impurezas un promedio de las tres primeras inyecciones de las inyecciones de base libre WI

Estabilidad de la solución

25 Las características de la estabilidad de la solución se evaluaron mediante la recopilación de datos de HPLC en soluciones almacenadas en viales sellados durante dos semanas, a aproximadamente 25 y 40°C. La solución de almacenamiento consistía en 90:10 de acetonitrilo:agua con TFA al 0,1%, que es el diluyente para el ensayo de HPLC. La Tabla 6 resume los resultados de los análisis de HPLC de estos experimentos.

Tabla 6. Resultados de la estabilidad de la solución			
Sal	Tiempo cero (% de área)	2 semanas a 25°C (% de área)	2 semanas a 40°C (% de área)
Base libre	99,2	98,6	98,7
L-aspartato	99,1	98,6	98,6
Maleato	96,2	96,7	97,2
Lactato	99,2	98,5	98,5
Clorhidrato	99,1	98,5	98,5

5 Los datos de la estabilidad de la solución para la base libre y tres de las cuatro sales, L-aspartato, lactato y clorhidrato, mostraron una disminución entre 0,6 y 0,7% del área a 25°C. Estos compuestos mostraron casi la misma disminución en el porcentaje de área a 40°C. Este comportamiento sugiere que los cambios de estos compuestos eran debidos a la exposición al diluyente y no al calor. Por otro lado, la sal maleato mostró un aumento de 0,5% del área a 25°C y un aumento adicional de 0,5% del área a 40°C.

Estabilidad en estado sólido

Las características de la estabilidad en estado sólido se evaluaron mediante la recopilación de datos de HPLC de las muestras de sales almacenadas en viales sellados a 25 y 60°C, durante dos semanas. Los resultados de los análisis de HPLC se resumen en la Tabla 7.

Sal	Tiempo cero (% de área)	2 semanas a 25°C (% de área)	2 semanas a 60°C (% de área)
Base libre	99,2	98,8	98,7
L-aspartato	99,1	99,1	98,9
Maleato	96,2	96,2	89,1
Lactato	99,2	99,0	98,5
Clorhidrato	99,1	98,9	98,9

10 Los datos de la estabilidad térmica para las sales L-aspartato y maleato no mostraron cambios significativos en los valores del ensayo después de una exposición a 25°C. Las sales lactato y clorhidrato solamente disminuyeron ligeramente, una disminución de 0,2% del área, mientras que la base libre disminuyó 0,4% del área a 25°C. La sal clorhidrato no mostró una disminución adicional en % de área a 60°C. La base libre disminuyó ligeramente en % de área y la sal lactato disminuyó 0,5% de área a 60°C, en comparación con los datos a 25°C. La sal maleato mostró una disminución significativa, 7,1% del área.

Fotoestabilidad

20 Las muestras de las cuatro sales candidatas se expusieron a fuentes de UV opción 2 compatibles con ICH para examinar su estabilidad con respecto a la luz a aproximadamente 25°C. También se analizaron los controles en oscuridad para comparar. La Tabla 8 resume los resultados de los datos de HPLC sobre las muestras de fotoestabilidad.

Sal	Tiempo cero (% de área)	Control en oscuridad durante 2 semanas (% de área)	Exposición a UV durante 2 semanas (% de área)
Base libre	99,2	99,0	98,9
L-aspartato	99,1	99,1	98,8
Maleato	96,2	96,3	96,3
Lactato	99,2	99,0	98,6
Clorhidrato	99,1	99,1	99,0

25 Los datos de la fotoestabilidad de dos de las cuatro sales no mostraron cambios significativos en los valores del ensayo después de la exposición. La sal lactato mostró el mayor cambio en el % de área, una disminución de 0,6% del área desde el tiempo cero hasta la exposición, mientras que la base libre y la sal L-aspartato ambas disminuyeron 0,3% del área desde el tiempo cero hasta la exposición.

Estabilidad de la oxidación

Las muestras de las cuatro sales fueron expuestas a una atmósfera de oxígeno puro para examinar su estabilidad con respecto a la oxidación a 25°C. La Tabla 9 resume los resultados de los datos de HPLC sobre la fotoestabilidad.

Tabla 9. Resultados de la estabilidad frente a la oxidación		
Sal	Tiempo cero (% de área)	2 semanas de oxidación (% de área)
Base libre	99,2	97,7
L-aspartato	99,1	98,8
Maleato	96,2	95,8
Lactato	99,2	98,8
Clorhidrato	99,1	98,7

5 Los datos de la estabilidad oxidativa para la base libre tenían el mayor cambio con una disminución del 1,5% del área. Las cuatro sales mostraron una disminución entre 0,3 y 0,4% de área.

Ejemplo 6 - Solubilidad de las sales a mayor escala

10 Las mediciones de la solubilidad se realizaron a temperatura ambiente en tampón a pH 4 (tampón biftalato de potasio 0,05 molar), tampón a pH 7 (tampón fosfato de potasio mono básico-hidróxido de sodio 0,05 molar) y tampón a pH 10 (tampón carbonato de potasio-hidróxido de potasio 0,05 molar). Se probaron dos metodologías. Una técnica visual y el análisis por HPLC se utilizaron para determinar las solubilidades.

Mediante la técnica visual, las solubilidades de las cuatro sales y de la base libre en tampones a pH 4, 7 y 10 eran menores que 0,05 mg/ml.

15 Los resultados de las determinaciones de la solubilidad mediante HPLC se muestran en la Tabla 10. Los datos de la HPLC se recogieron sobre soluciones almacenadas en viales sellados, durante aproximadamente una semana a 25°C a pH 4, pH 7 y pH 10. Las porciones de estas soluciones se filtraron con un filtro de Teflón de 0,45 micras antes del análisis HPLC. Los resultados se calibraron con una curva de calibración de seis puntos que iba desde 0,12 a 0,003 mg/ml. Se utilizaron las mismas condiciones de HPLC que se han indicado anteriormente, excepto que el volumen de inyección se aumentó a 10 µl.

Tabla 10: Solubilidad de las sales en tampones acuosos			
Resultados a pH - mg/ml			
Sal	pH 4	pH 7	pH 10
Base libre	ND	<0,003	0,006
L-aspartato	ND	<0,003	0,007
Maleato	ND	<0,003	0,007
Lactato	ND	<0,003	0,007
Clorhidrato	ND	<0,003	0,006

20 El comportamiento de la solubilidad era similar en los cinco compuestos porque la solubilidad aumentó con el aumento del pH.

Ejemplo 7 - Perfiles de impurezas con HPLC

25 Tiempo cero. Se hicieron algunas observaciones en relación con el perfil de impurezas con HPLC de las muestras de base libre y de sales. En primer lugar, las impurezas a (tiempo de retención relativo) 0,89, 0,92, 1,02 y 1,03 se detectan en las preparaciones de muestras a tiempo cero de la base libre y de las cuatro sales. La mayor de estas

cuatro impurezas es la impureza a TRR 1,02, que está entre 0,4 y 0,5% del área en los cinco compuestos. La sal maleato también tiene un pico de impurezas muy elevado en el tiempo cero (2,7% del área) a TRR 1,14. Por tanto, la sal maleato tiene un % de área de pureza relativamente bajo de 96% del área. Los datos del perfil de impurezas a tiempo cero se muestran en la Tabla 11.

Tabla 11. Perfil de impurezas a tiempo cero								
Impurezas a TRR								
Sal	0,87	0,89	0,92	0,95	1,02	1,03	1,14	1,18
Base libre	ND	0,09	0,05	ND	0,53	0,16	ND	ND
L-aspartato	ND	0,05	0,09	0,07	0,46	0,10	0,12	<0,03
Maleato	ND	0,11	0,13	0,16	0,40	0,18	2,67	0,11
Lactato	ND	0,04	0,08	0,10	0,49	0,13	ND	<0,03
Clorhidrato	<0,03	0,04	0,08	0,19	0,49	0,09	ND	ND

5

Ejemplo 8 - Estabilidad

Estabilidad de la solución

Los datos de la estabilidad de la solución para la base libre y tres de las cuatro sales, L-aspartato, lactato y clorhidrato, mostraron una disminución entre 0,6 y 0,7% del área a 25°C y 60°C. En todas las soluciones de estabilidad, incluyendo el maleato, apareció un nuevo pico de impurezas a TRR 0,21 que es de 0,5 a 0,6% del área de tamaño. Este pico es único para las muestras de estabilidad de la solución. Otra diferencia se observa con la sal maleato. El pico a TRR 1,14 disminuye desde un valor de tiempo cero de 2,7% a 1,7% del área a 25°C en solución y a 1,1% del área a 40°C en solución. Este es el mismo pico de impurezas que aumenta el 10% del área en la muestra de maleato en estado sólido a 60°C. Los datos del perfil de impurezas de la estabilidad de la solución se muestran en las Tablas 12 y 13.

10

15

Tabla 12: Estabilidad de la solución a 25°C Perfil de impurezas										
Impurezas a TRR										
Sal	0,21	0,89	0,92	0,95	0,98	1,02	1,03	1,14	1,18	
Base libre	0,50	0,06	0,04	0,06	ND	0,53	0,18	ND	ND	
L-aspartato	0,52	ND	0,08	0,12	ND	0,48	0,16	0,07	ND	
Maleato	0,62	0,04	0,09	0,18	ND	0,42	0,16	1,71	0,07	
Lactato	0,59	0,05	0,11	0,14	ND	0,49	0,15	ND	ND	
Clorhidrato	0,59	ND	0,04	0,21		0,50	0,14	ND	ND	

Tabla 13: Estabilidad de la solución a 40°C Perfil de impurezas

Impurezas a TRR											
Sal	0,21	0,89	0,92	0,95	0,98	1,02	1,03	1,14	1,18	1,32	2,39

Base libre	0,50	0,04	ND	0,03	ND	0,51	0,18	ND	ND	ND	ND
L-aspartato	0,58	<0,03	0,07	0,13	<0,03	0,47	0,15	ND	ND	ND	ND
Maleato	0,57	0,06	0,07	0,27	<0,03	0,43	0,15	1,14	0,05	ND	0,03
Lactato	0,62	0,04	0,04	0,14	<0,03	0,50	0,16	ND	ND	<0,03	<0,03
Clorhidrato	0,57	ND	ND	0,23	0,03	0,51	0,15	ND	ND	ND	0,03

Estabilidad en estado sólido

5 Para las muestras de estabilidad en estado sólido, la base libre a 25°C y el maleato a 60°C mostraron el mayor cambio en el perfil de impurezas, como se muestra en las siguientes tablas. Para la base libre a 25°C, las impurezas a TRR 0,89 y 0,92 mostraron el mayor incremento, en comparación con los datos a tiempo cero. Para la sal maleato a 60°C, el pico de TRR 1,14 aumenta desde 2,7% a 10% del área, mientras que la impureza a TRR 1,02 se redujo de 0,5% del área a un nivel no detectable.

Fotoestabilidad

10 Para las muestras de fotoestabilidad, la sal lactato mostró el mayor cambio en el perfil de impurezas. En el control de oscuridad, las impurezas a TRR 0,89 y 0,92 se incrementaron en comparación con los datos a tiempo cero, mientras que en el fotoexpuesto, las impurezas a TRR 0,92 y 0,95 aumentaron significativamente.

Estabilidad oxidativa

15 Para las muestras de oxidación, la base libre mostró el mayor cambio en el perfil de impurezas, como se muestra en la Tabla 14. Las impurezas a TRR 0,89 y 0,92 mostraron el mayor incremento, en comparación con los datos a tiempo cero. Estas dos impurezas también aumentaron en todas las sales.

Tabla 14: Perfil de impurezas con oxidación									
Impureza a TRR									
Sal	0,87	0,89	0,92	0,95	0,98	1,02	1,03	1,14	1,18
Base libre ¹	0,04	0,30	0,20	0,04	ND	0,53	0,20	ND	ND
L-aspartato	ND	0,12	0,14	0,09	ND	0,48	0,16	0,09	<0,03
Maleato.	0,04	0,36	0,27	0,21	ND	0,38	0,15	2,70	0,12
Lactato	<0,03	0,24	0,20	0,13	ND	0,49	0,15	ND	<0,03
Clorhidrato	0,05	0,18	0,16	0,22	ND	0,52	0,18	ND	ND

¹Diferentes perfiles de impurezas para las dos preparaciones de muestras

Morfología de sales a mayor escala

20 Se evaluó la morfología de las partículas de las cuatro sales a mayor escala. Partículas de aspartato, clorhidrato y maleato tenían una forma irregular, laminadas y no parecían birrefringentes. Las partículas de lactato parecían más grandes y no tan delgadas como las otras sales (véase la Figura 40).

Ejemplo 9 – Propiedades de las sales a mayor escala

- Se realizó un aumento progresivo (sobre una escala de 300 mg) de cuatro sales: aspartato, lactato, maleato y clorhidrato. Las sales HCl y aspartato se analizaron por DRX, DSC, TGA.
- Una superposición DRX de la sal a mayor escala (rojo) con un lote a pequeña escala (negro) se encuentra en la Figura 41. Los datos DSC/TGA para el HCl a mayor escala están en la Figura 42, la Figura 43 muestra la superposición DSC con una muestra a pequeña escala. Tanto los datos de DRX como DSC eran compatibles con la

muestra a pequeña escala. La sal estaba relativamente seca: la cantidad de compuestos volátiles detectados para HCl era de 2,6%.

- La superposición DRX de la sal a mayor escala (negro) con un lote a pequeña escala (azul) se encuentra en la Figura 44. Los datos DSC/TGA para el aspartato a mayor escala están en la Figura 45, la Figura 46 muestra la superposición DSC con una muestra a pequeña escala. La muestra a mayor escala parece ser menos cristalina que la muestra a pequeña escala, a pesar de que la maduración adicional en agua se realizó para mejorar la cristalinidad. DSC muestra una sola fusión con un inicio de fusión más temprano que la muestra a pequeña escala, probablemente debido a la reducción de la cristalinidad. La muestra tenía 1,7% en peso de compuestos volátiles.

Realizaciones numeradas

- 10 La descripción se describe a continuación haciendo referencia a las siguientes realizaciones numeradas. El alcance de la invención está definido por las reivindicaciones.
1. Una sal de péptido en donde el péptido tiene una secuencia seleccionada a partir de SEQ ID NOs: 1-26 y la sal se selecciona entre el grupo que consiste en maleato, clorhidrato, lactato y aspartato.
 2. La sal de péptido, de acuerdo con la realización 1, en donde el péptido es SEQ ID NO: 13.
 - 15 3. La sal de péptido, de acuerdo con la realización 2, en donde la sal es la sal clorhidrato.
 4. Una composición farmacéutica que comprende una sal de péptido en donde el péptido tiene una secuencia seleccionada a partir de SEQ ID NOs: 1-16 y la sal se selecciona entre el grupo que consiste en maleato, clorhidrato, lactato y aspartato.
 5. La composición farmacéutica, de acuerdo con la realización 4, en donde el péptido es SEQ ID NO: 13.
 - 20 6. La composición farmacéutica, de acuerdo con la realización 5, en donde la sal es la sal clorhidrato.
 7. Una sal de péptido para uso en un método para tratar una afección que está modulada por la actividad del receptor de opioides μ , en donde dicho método comprende administrar a un paciente que requiera tal tratamiento, una sal de péptido en donde el péptido tiene una secuencia seleccionada a partir de SEQ ID NOs: 1-26 y la sal se selecciona entre el grupo que consiste en maleato, clorhidrato, lactato y aspartato.
 - 25 8. La sal de péptido para uso en un método, de acuerdo con la realización 7, en donde el péptido es SEQ ID NO: 13.
 9. La sal de péptido para uso en un método, de acuerdo con la realización 8, en donde la sal es la sal clorhidrato.
 10. La sal de péptido para uso en un método, de acuerdo con la realización 7, que se utiliza para proporcionar analgesia o para tratar una afección seleccionada a partir del grupo que consiste en trastornos gastrointestinales, inflamación y dependencia de drogas.
 - 30

LISTADO DE SECUENCIAS

- <110> Cytogel Pharma, LLC
- 5 <120> Sales ventajosas de péptidos de receptores opioides mu
 <130> APC00230EP1
 <140>
 10 <141>
 <150> EP08858817.3
 <151> 15-12-2008
- 15 <150> PCT/US2008/086838
 <151> 15-12-2008
 <150> 61/007 617
 <151> 13-12-2007
- 20 <160> 26
 <170> PatentIn versión 3.5
- 25 <210> 1
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
- 30 <220>
 <221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA
 <222> (4) .. (4)
 <223> Fenilalanina amidada
- 35 <400> 1
Tyr Pro Trp Phe
 1
- <210> 2
 <211> 4
 40 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
- <220>
 <221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA
 45 <222> (4) .. (4)
 <223> Fenilalanina amidada
- <400> 2
Tyr Pro Phe Phe
 1 ,
- 50 <210> 3
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
- 55 <220>
 <223> Péptidos de receptores opioides mu sintéticos
- <220>
 60 <221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA
 <222> (4) .. (4)
 <223> Fenilalanina hidroxilada

- <400> 3
Tyr Pro Trp Phe
1
- 5 <210> 4
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
- 10 <220>
 <223> Péptidos de receptores opioides mu sintéticos
- <220>
 <221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA
 <222> (4) .. (4)
 15 <223> Fenilalanina hidroxilada
- <400> 4
Tyr Pro Phe Phe
1
- 20 <210> 5
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
- 25 <220>
 <223> Péptidos de receptores opioides mu sintéticos
- <220>
 <221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA
 30 <222> (4) .. (4)
 <223> Fenilalanina amidada
- <400> 5
Tyr Pro Trp Phe
1
- 35 <210> 6
 <211> 4
 <212> PRT
 40 <213> Secuencia artificial
- <220>
 <223> Péptidos de receptores opioides mu sintéticos
- 45 <400> 6
Tyr Pro Phe Phe
1
- <210> 7
 <211> 4
 50 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
- <220>
 <223> Péptidos de receptores opioides mu sintéticos
- 55 <220>
 <221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA
 <222> (3) .. (3)
 60 <223> Triptófano nitrosilado

- <220>
 <221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA
 <222> (4) .. (4)
 <223> Fenilalanina amidada
 5
 <400> 7
Tyr Pro Trp Phe
1
- <210> 8
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 10
- <220>
 <223> Péptidos de receptores opioides mu sintéticos
 15
- <220>
 <221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA
 <222> (3) .. (3)
 <223> Fenilalanina nitrosilada
 20
- <220>
 <221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA
 <222> (4) .. (4)
 <223> Fenilalanina amidada
 25
- <400> 8
Tyr Pro Phe Phe
1
- <210> 9
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 30
- <220>
 <223> Péptidos de receptores opioides mu sintéticos
 35
- <220>
 <221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA
 <222> (3) .. (3)
 <223> Fenilalanina alquilada
 40
- <220>
 <221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA
 <222> (4) .. (4)
 <223> Fenilalanina amidada
 45
- <400> 9
Tyr Pro Phe Phe
1
- <210> 10
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 50
- <220>
 <223> Péptidos de receptores opioides mu sintéticos
 55
- <220>
 <221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA
 <222> (3) .. (3)
 60

<223> Fenilalanina alquilada

<220>
 <221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA
 5 <222> (4) .. (4)
 <223> Fenilalanina amidada

<400> 10
Tyr Pro Phe Phe
1

10 <210> 11
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223> Péptidos de receptores opioides mu sintéticos

<220>
 20 <221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA
 <222> (3) .. (3)
 <223> Fenilalanina alquilada

<220>
 25 <221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA
 <222> (4) .. (4)
 <223> Fenilalanina amidada

<400> 11
Tyr Pro Phe Phe
 30 **1**

<210> 12
 <211> 4
 <212> PRT
 35 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Péptidos de receptores opioides mu sintéticos

40 <220>
 <221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA
 <222> (3) .. (3)
 <223> Fenilalanina alquilada

45 <220>
 <221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA
 <222> (4) .. (4)
 <223> Fenilalanina amidada

50 <400> 12
Tyr Pro Phe Phe
1

<210> 13
 <211> 4
 55 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Péptidos de receptores opioides mu sintéticos

60 <220>

- <221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA
 <222> (2) .. (4)
 <223> Péptido cíclico
- 5 <400> 13
Tyr Lys Trp Phe
 1
- <210> 14
 <211> 4
 10 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
- <220>
 <223> Péptidos de receptores opioides mu sintéticos
- 15 <220>
 <221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA
 <222> (2) .. (4)
 <223> Péptido cíclico
- 20 <400> 14
Tyr Lys Phe Phe
 1
- <210> 15
 <211> 4
 25 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
- <220>
 30 <223> Péptidos de receptores opioides mu sintéticos
- <220>
 <221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA
 <222> (2) .. (4)
 35 <223> Péptido cíclico
- <220>
 <221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA
 <222> (2) .. (2)
 40 <223> Ornatina
- <400> 15
Tyr Xaa Trp Phe
 1
- 45 <210> 16
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
- 50 <220>
 <223> Péptidos de receptores opioides mu sintéticos
- <220>
 <221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA
 55 <222> (2) .. (4)
 <223> Péptido cíclico
- <220>
 <221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA
 60 <222> (2) .. (2)
 <223> Ornatina

- <400> 16
Tyr Xaa Phe Phe
1
- 5 <210> 17
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
- 10 <220>
 <223> Péptidos de receptores opioides mu sintéticos
- <220>
 <221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA
- 15 <222> (2) .. (4)
 <223> Péptido cíclico
- <220>
 <221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA
- 20 <222> (3) .. (3)
 <223> Triptófano nitrosilado
- <400> 17
Tyr Lys Trp Phe
1
- 25 <210> 18
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
- 30 <220>
 <223> Péptidos de receptores opioides mu sintéticos
- <220>
 <221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA
- 35 <222> (2) .. (4)
 <223> Péptido cíclico
- <220>
 <221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA
- 40 <222> (3) .. (3)
 <223> Fenilalanina nitrosilada
- <400> 18
Tyr Lys Phe Phe
1
- 45 <210> 19
 <211> 4
 <212> PRT
- 50 <213> Secuencia artificial
- <220>
 <223> Péptidos de receptores opioides mu sintéticos
- <220>
 <221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA
- 55 <222> (2) .. (4)
 <223> Péptido cíclico
- <220>
 <221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA
- 60

- <222> (2) .. (2)
 <223> Ornatina
- <400> 19
Tyr Xaa Trp Phe
 5 **1**
- <210> 20
 <211> 4
 <212> PRT
 10 <213> Secuencia artificial
- <220>
 <223> Péptidos de receptores opioides mu sintéticos
- 15 <220>
 <221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA
 <222> (2) .. (4)
 <223> Péptido cíclico
- 20 <220>
 <221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA
 <222> (2) .. (2)
 <223> Ornatina
- 25 <220>
 <221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA
 <222> (3) .. (3)
 <223> Fenilalanina nitrosilada
- 30 <400> 20
Tyr Xaa Phe Phe
1
- <210> 21
 <211> 4
 35 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
- <220>
 <223> Péptidos de receptores opioides mu sintéticos
- 40 <220>
 <221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA
 <222> (2) .. (4)
 <223> Péptido cíclico
- 45 <220>
 <221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA
 <222> (3) .. (3)
 <223> Fenilalanina nitrosilada
- 50 <400> 21
Tyr Lys Phe Phe
1
- 55 <210> 22
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
- 60 <220>
 <223> Péptidos de receptores opioides mu sintéticos

- <220>
 <221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA
 <222> (2) .. (4)
 <223> Péptido cíclico
- 5
- <220>
 <221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA
 <222> (2) .. (2)
 <223> Ornatina
- 10
- <220>
 <221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA
 <222> (3) .. (3)
 <223> Fenilalanina alquilada
- 15
- <400> 22
Tyr Xaa Phe Phe
 1
- <210> 23
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
- 20
- <220>
 <223> Péptidos de receptores opioides mu sintéticos
- 25
- <220>
 <221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA
 <222> (2) .. (4)
 <223> Péptido cíclico
- 30
- <220>
 <221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA
 <222> (3) .. (3)
 <223> Fenilalanina alquilada
- 35
- <400> 23
Tyr Lys Phe Phe
 1
- 40
- <210> 24
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
- 45
- <220>
 <223> Péptidos de receptores opioides mu sintéticos
- <220>
 <221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA
 <222> (2) .. (4)
 <223> Péptido cíclico
- 50
- <220>
 <221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA
 <222> (2) .. (2)
 <223> Ornatina
- 55
- <220>
 <221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA
 <222> (3) .. (3)
 <223> Fenilalanina alquilada
- 60
- <400> 24

Tyr Xaa Phe Phe
1

- <210> 25
- <211> 4
- 5 <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
- <220>
- 10 <223> Péptidos de receptores opioides mu sintéticos
- <220>
- <221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA
- <222> (2) .. (4)
- <223> Péptido cíclico
- 15 <220>
- <221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA
- <222> (3) .. (3)
- 20 <223> Fenilalanina alquilada

<400> 25

Tyr Lys Phe Phe
1

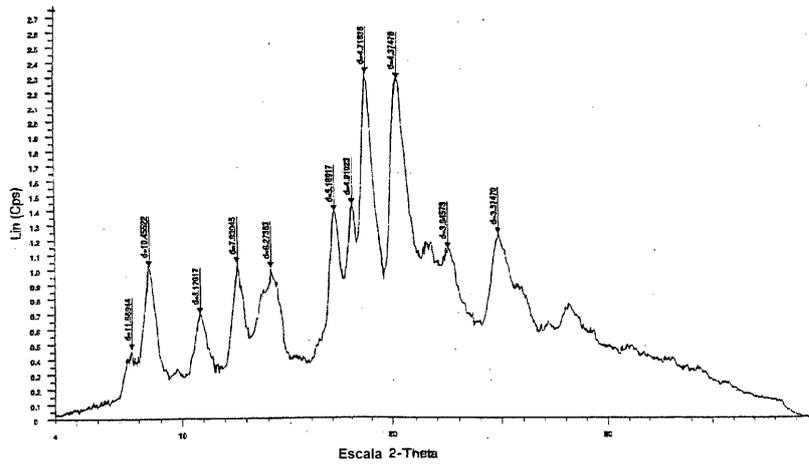
- 25 <210> 26
- <211> 4
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
- 30 <220>
- <223> Péptidos de receptores opioides mu sintéticos
- <220>
- 35 <221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA
- <222> (2) .. (4)
- <223> Péptido cíclico
- <220>
- 40 <221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA
- <222> (3) .. (3)
- <223> Fenilalanina alquilada

<400> 26

Tyr Lys Phe Phe
1

REIVINDICACIONES

1. Una sal de péptido en donde el péptido es SEQ ID NO: 13 y en donde la sal es acetato.
2. Una composición farmacéutica que comprende la sal acetato de SEQ ID NO: 13.
3. Una sal de péptido según la reivindicación 1, para uso en el tratamiento de una afección que está modulada por la actividad del receptor opioide μ .
- 5 4. La sal de péptido según la reivindicación 3, que se emplea para proporcionar analgesia o para tratar una afección seleccionada a partir del grupo que consiste en trastornos gastrointestinales, inflamación y dependencia de drogas.



Archivo: V05060N1_01.raw
 Funciones: Y Scale Mul 0.633 | Import

Ángulo 2-Theta °	valor d Angstrom	Intensidad Cps	% de intensidad %
7.622	11.58944	0.47	20.1
8.45	10.45522	1.02	44.3
10.82	8.17017	0.7	30.3
12.58	7.03045	1.04	44.9
14.105	6.27383	1.01	43.5
17.14	5.16917	1.38	59.8
18.051	4.91023	1.43	61.8
18.791	4.71836	2.31	100
20.282	4.37476	2.28	98.6
22.515	3.94573	1.14	49.1
24.887	3.5747	1.24	53.4

FIG. 1

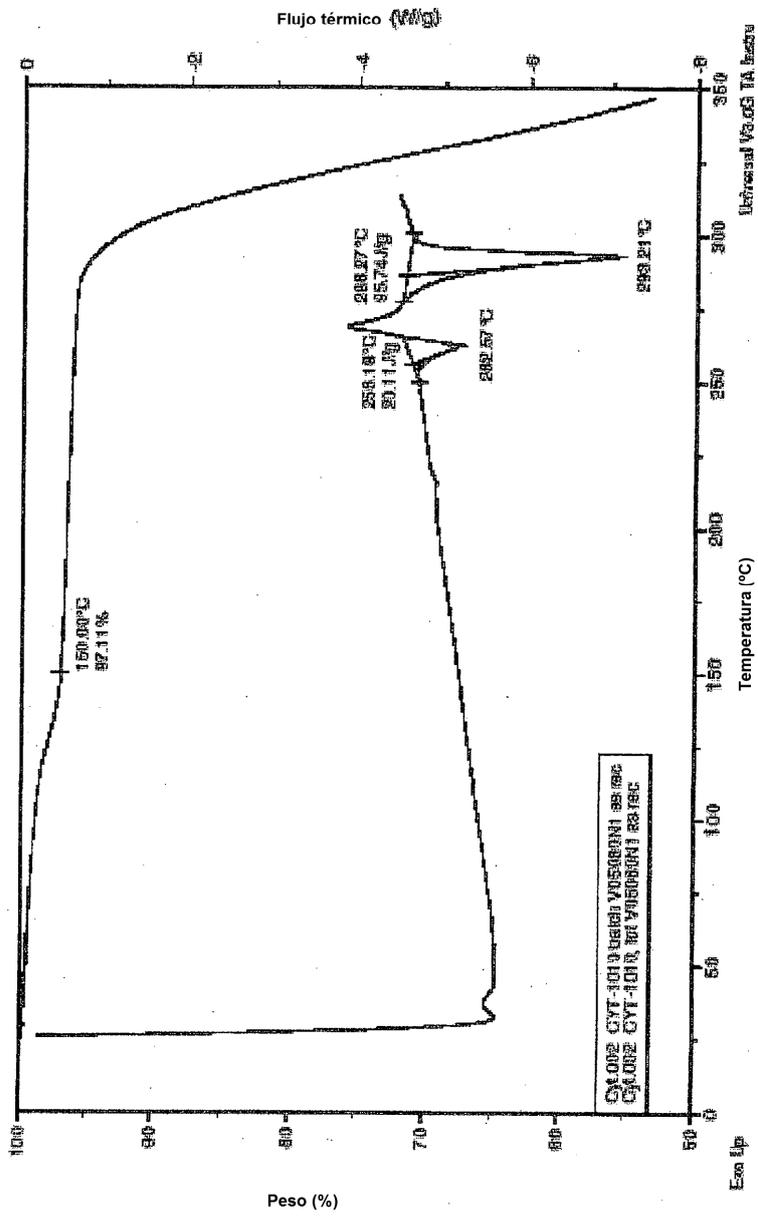


FIG. 2

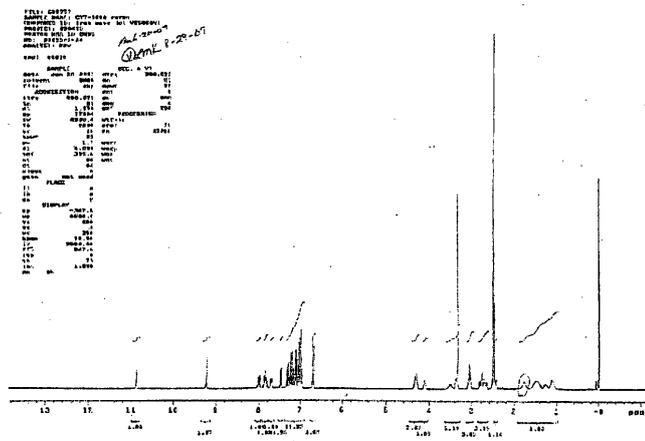


FIG. 3

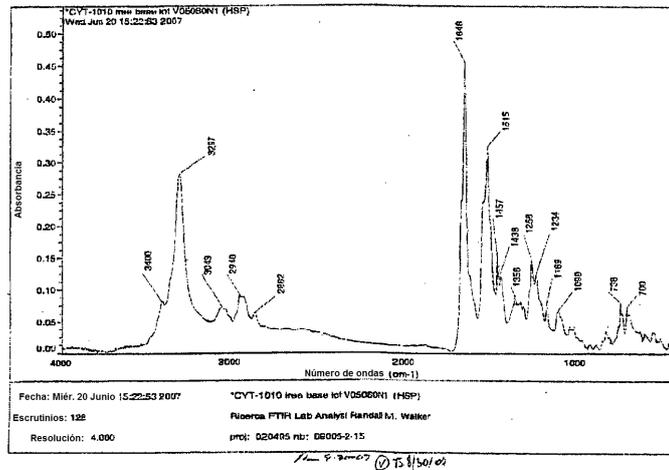


FIG. 4

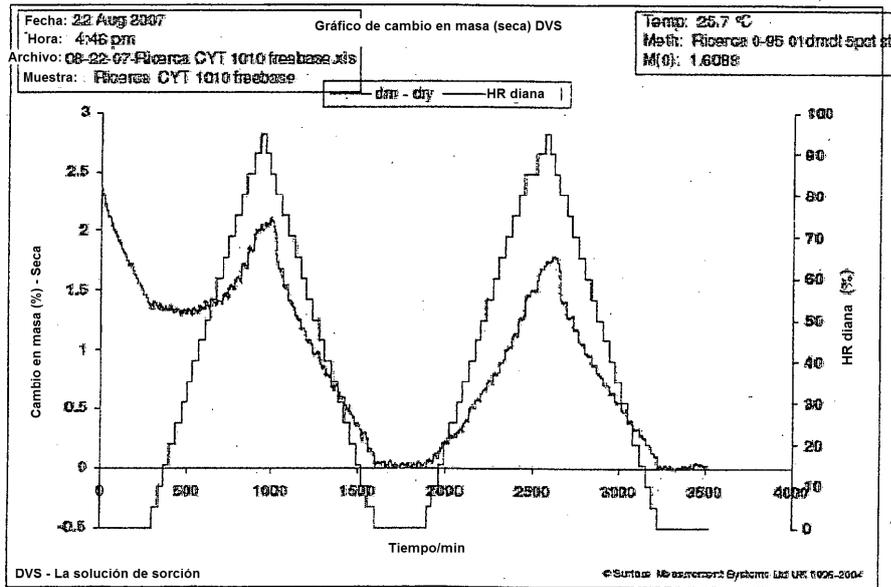
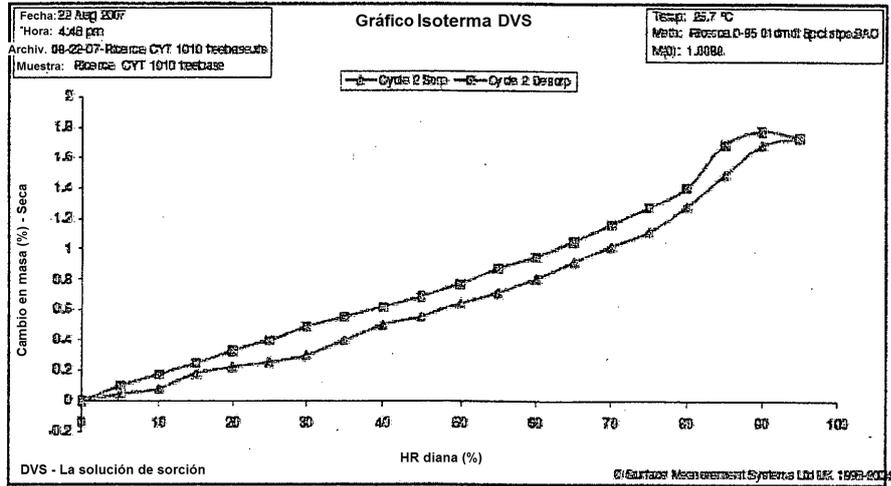


FIG. 5

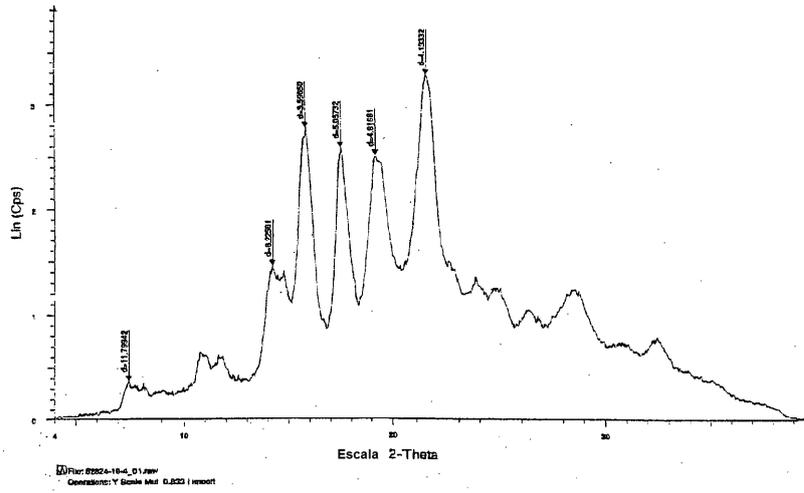


FIG. 6

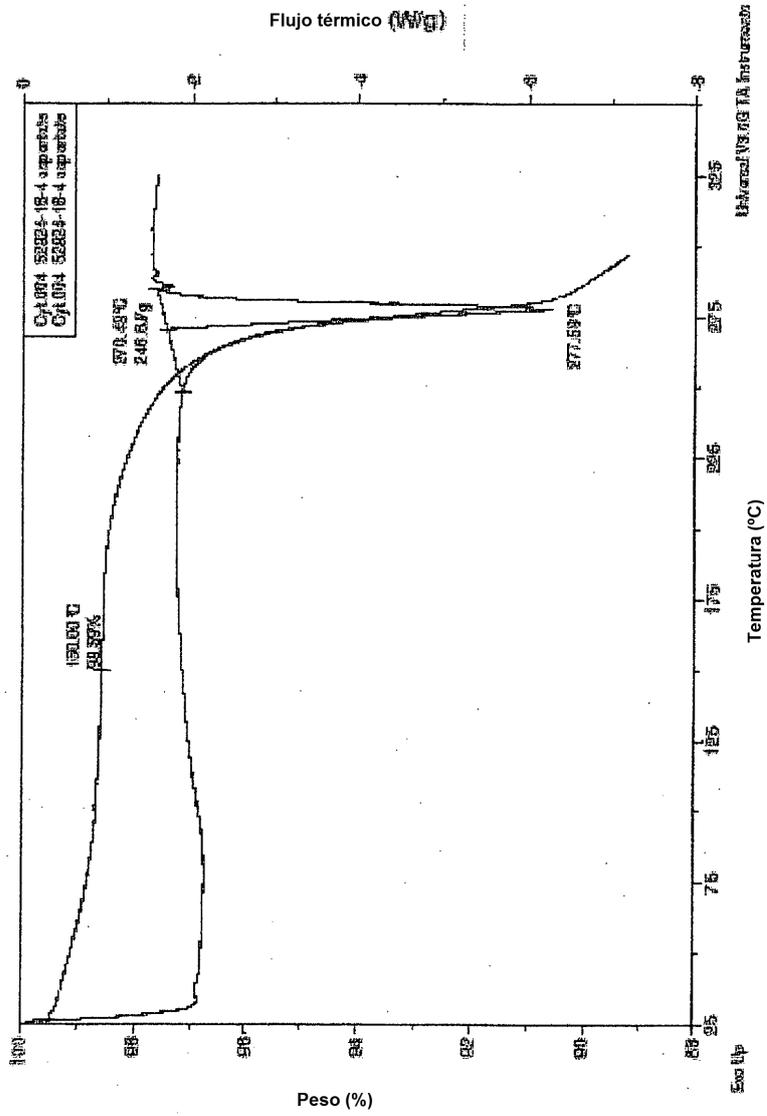
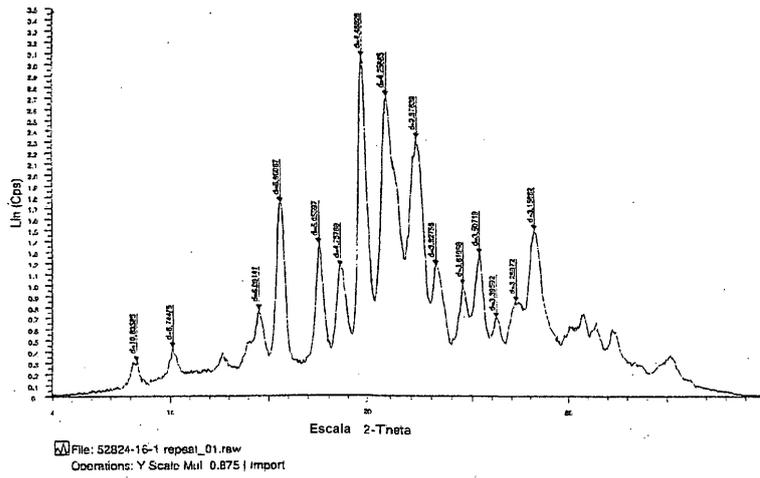


FIG. 7



Ángulo	valor d	Intensidad	Intensidad
2-Theta °	Angstrom	Cps	%
8.306	10.63585	0.31	10
10.107	8.74475	0.43	13.9
14.529	6.09141	0.77	25.2
15.642	5.66067	1.75	57
17.526	5.05597	1.37	44.6
18.634	4.75788	1.16	37.8
19.764	4.48826	3.06	100
20.85	4.25685	2.72	88.7
22.339	3.97639	2.33	76.1
23.22	3.82756	1.18	38.4
24.574	3.61966	1	32.7
25.374	3.50719	1.28	41.9
26.22	3.39592	0.7	22.7
27.252	3.26972	0.85	27.7
28.228	3.15882	1.5	48.9

FIG. 8

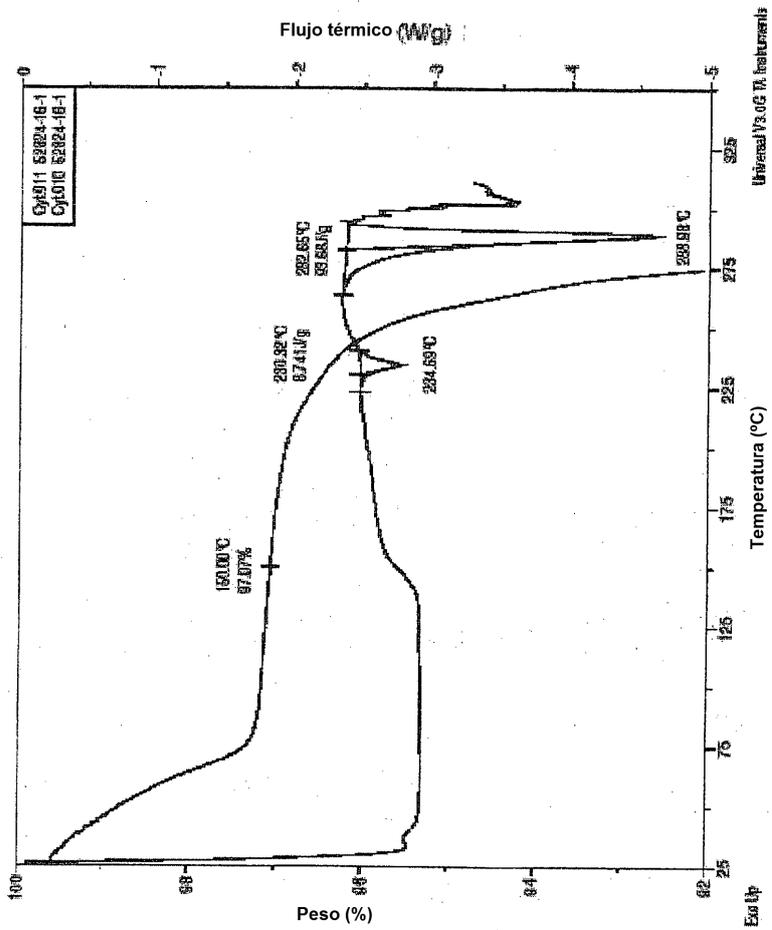
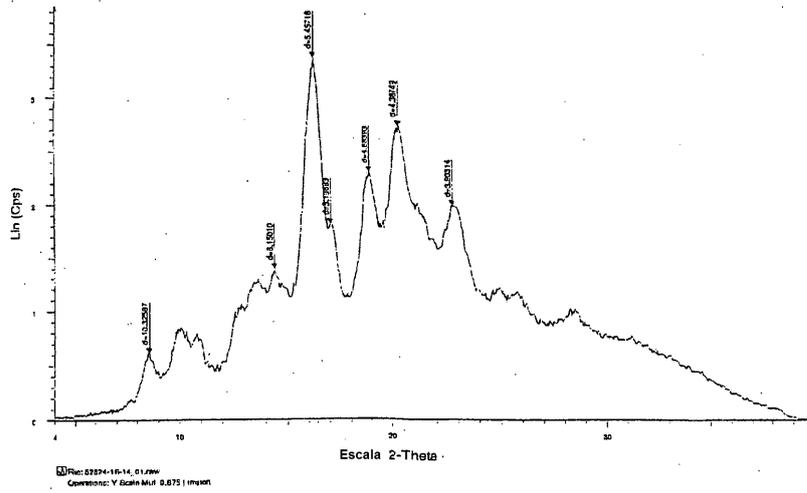


FIG. 9



Ángulo 2-Theta °	valor d Angstrom	Intensidad Cps	Intensidad %
8.556	10.32587	0.61	18.1
14.39	6.1501	1.39	41.3
16.229	5.45716	3.38	100
17.048	5.19683	1.81	53.7
18.931	4.68393	2.3	68.1
20.316	4.36749	2.73	80.9
22.764	3.90314	1.99	59

FIG. 10

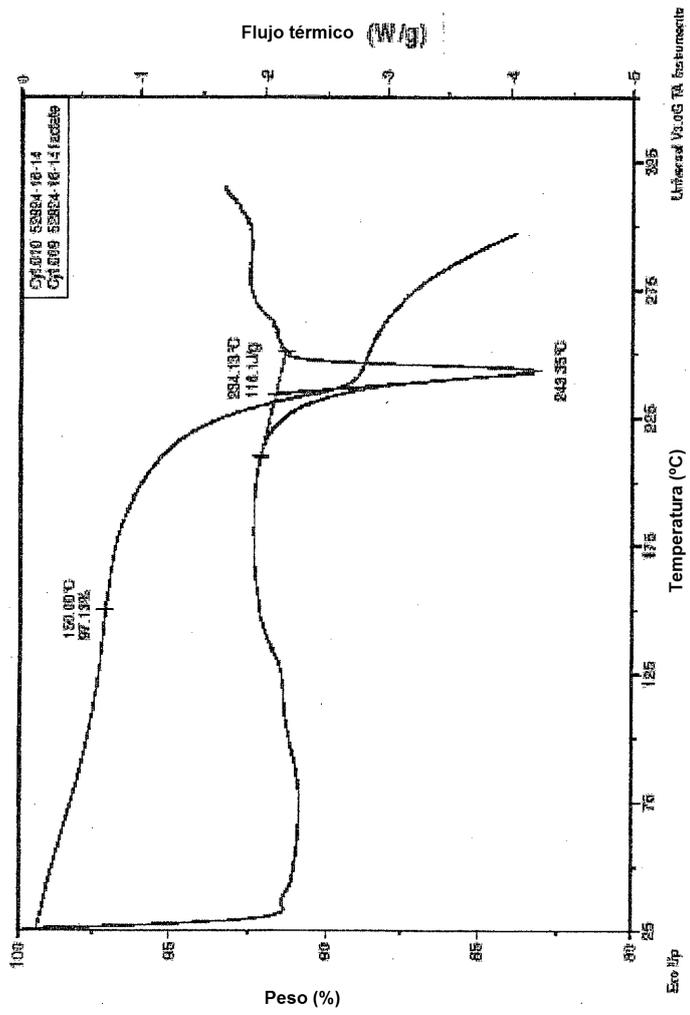
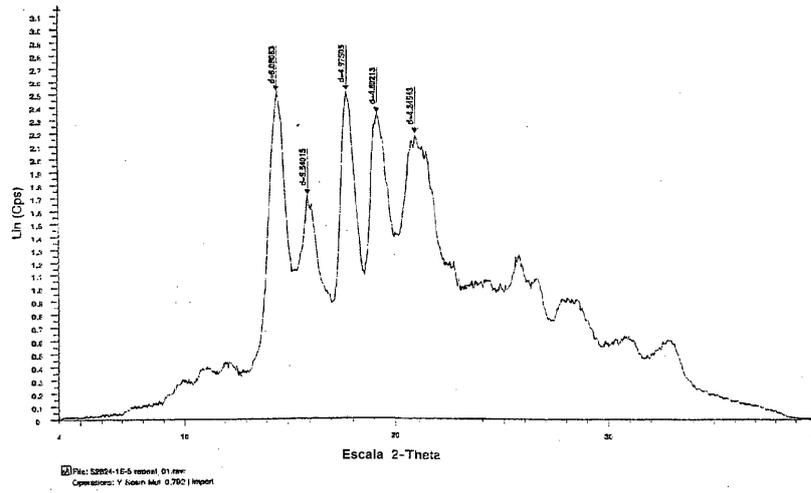


FIG. 11



Ángulo 2-Theta	valor d Angstrom	Intensidad Cps	Intensidad %
14.555	6.08063	2.52	99.8
15.984	5.54015	1.72	68.2
17.814	4.97505	2.52	100
19.27	4.60213	2.34	93
20.907	4.24543	2.19	87

FIG. 12

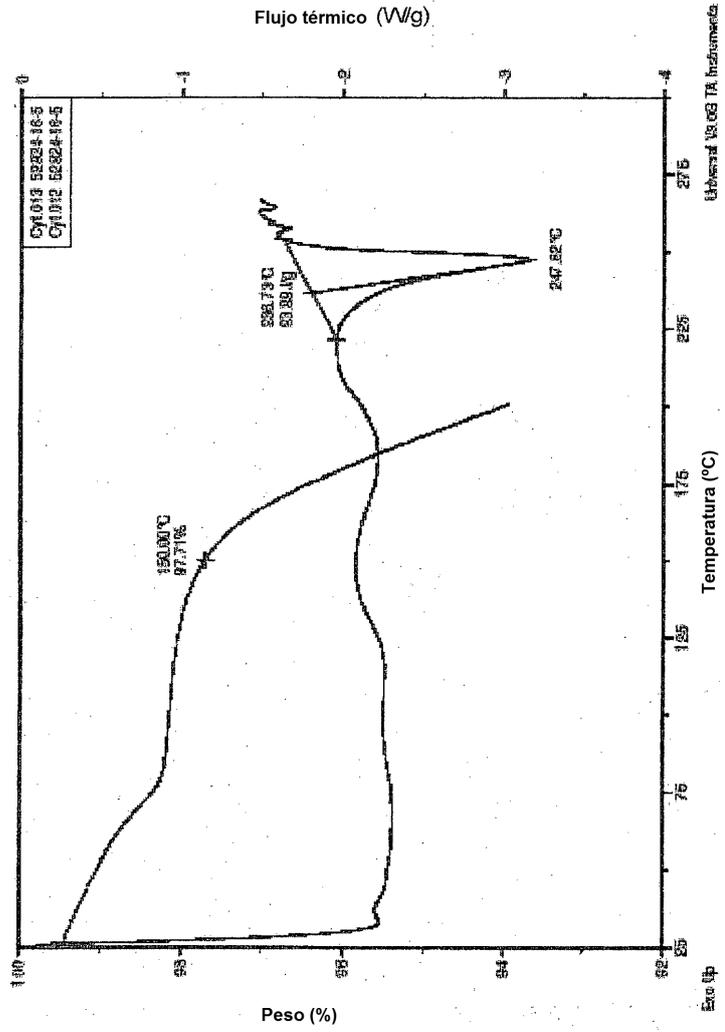


FIG. 13

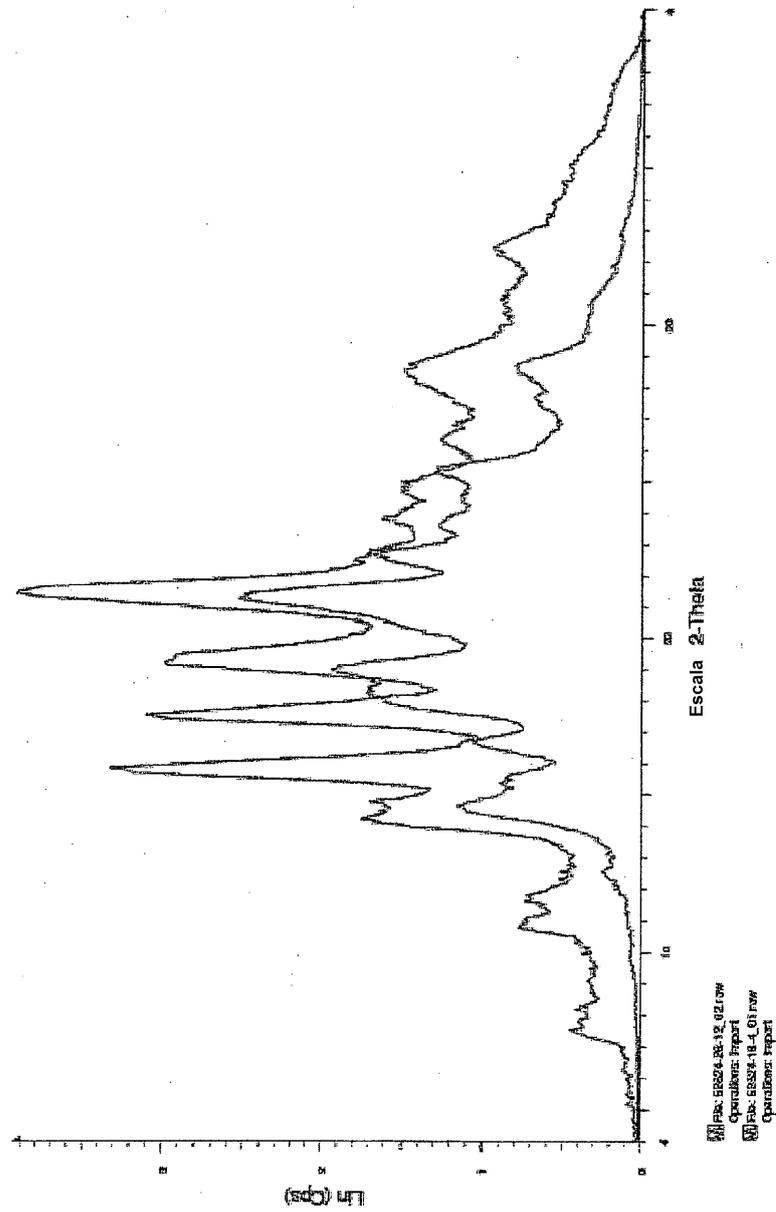


FIG. 14

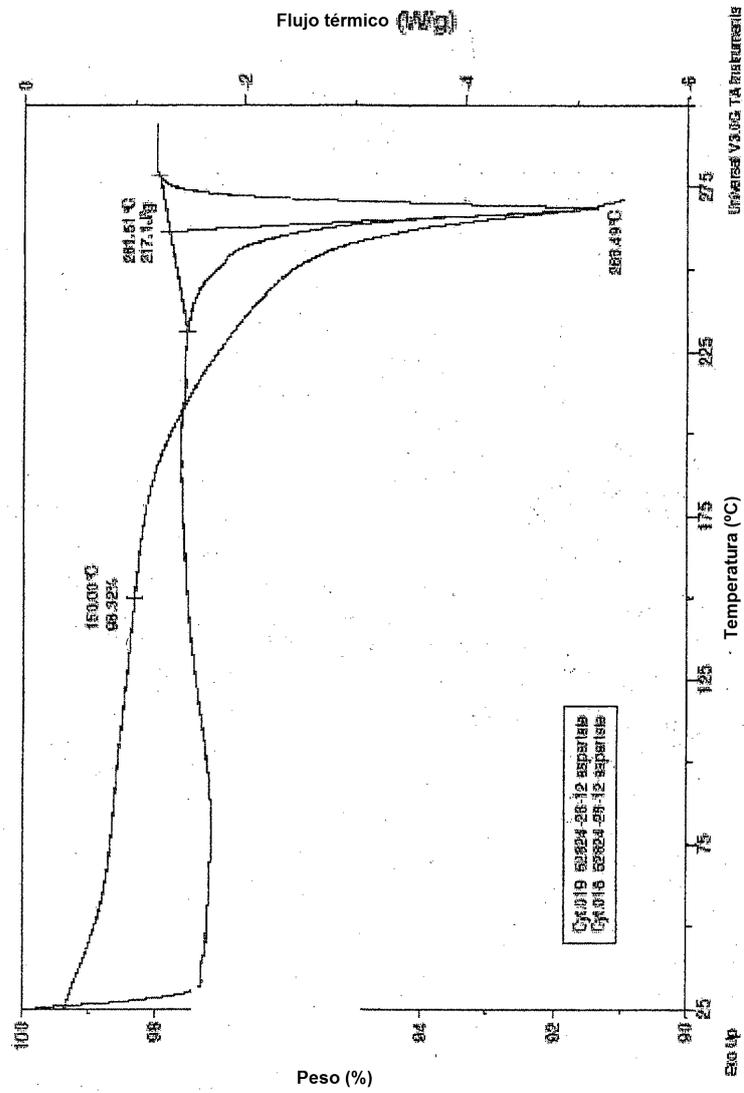


FIG. 15

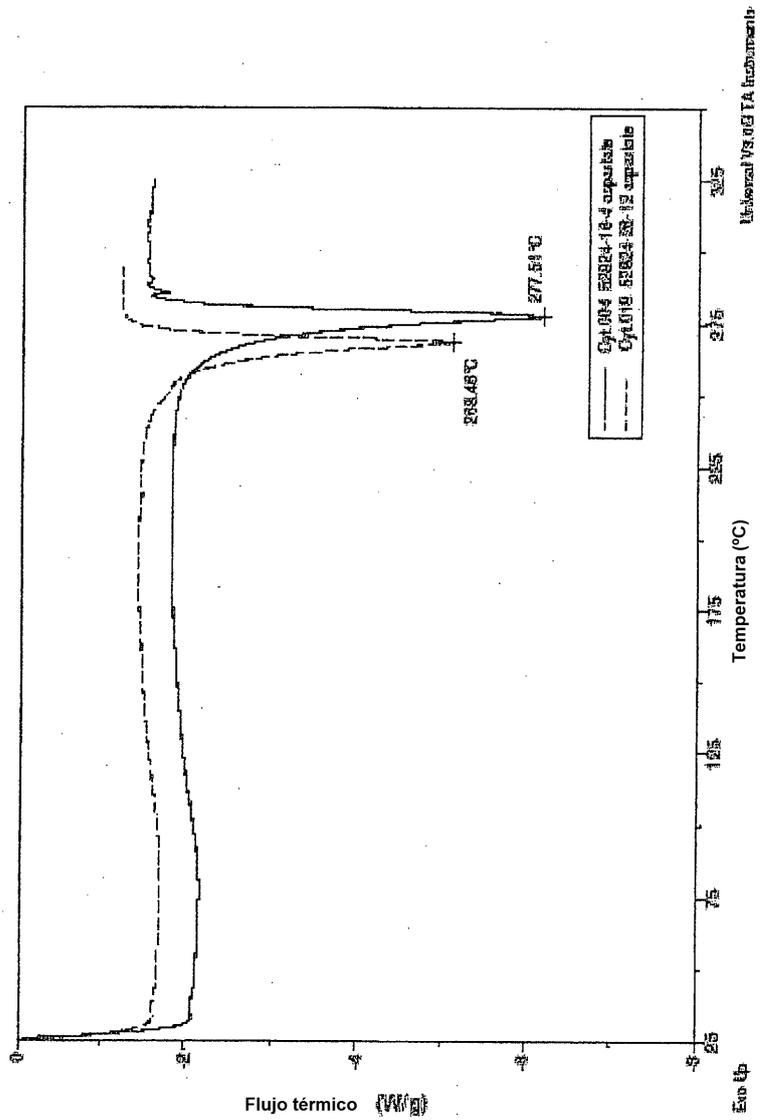


FIG. 16

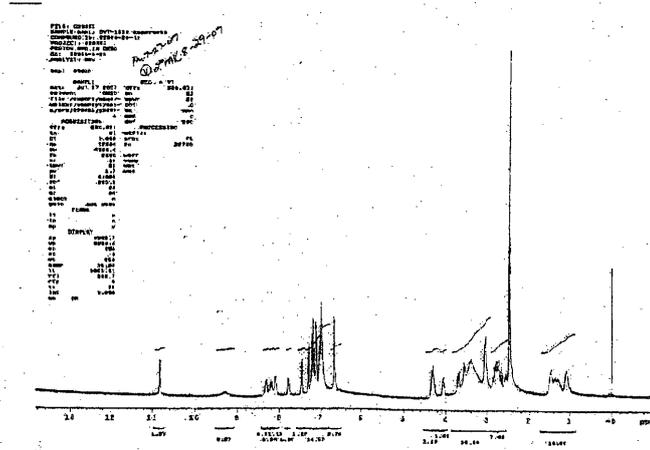


FIG. 17

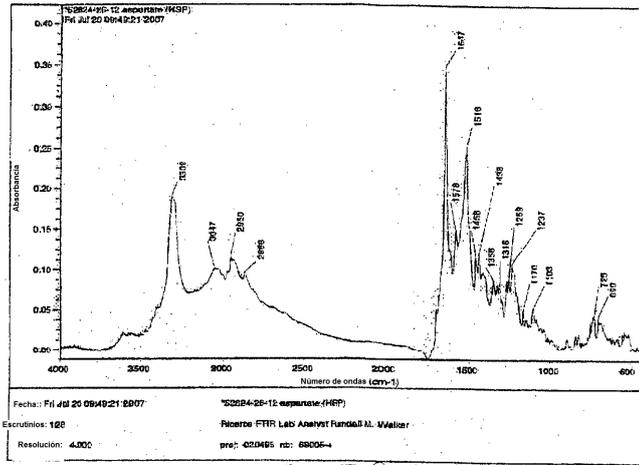


FIG. 18

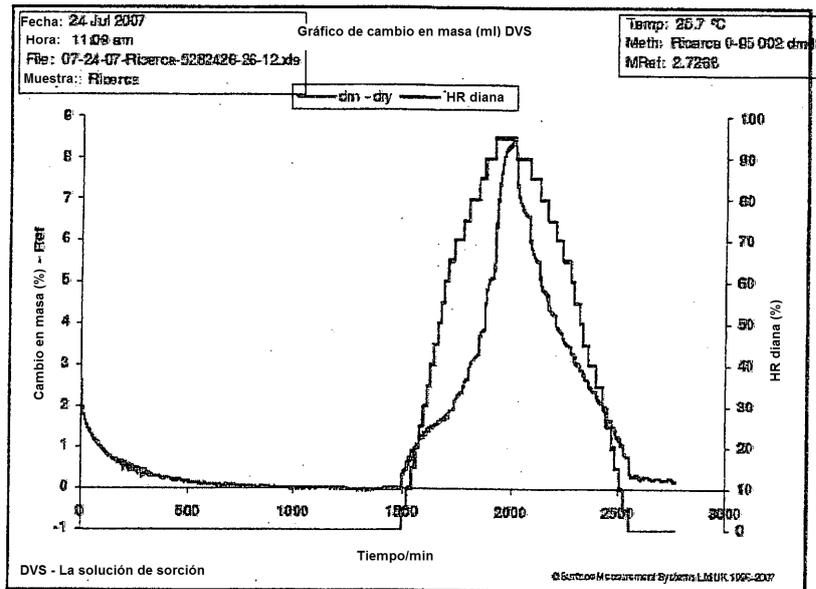
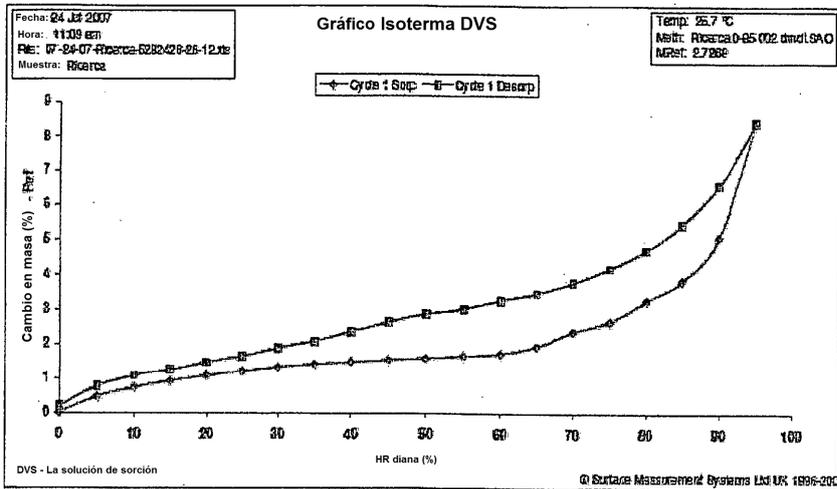


FIG. 19

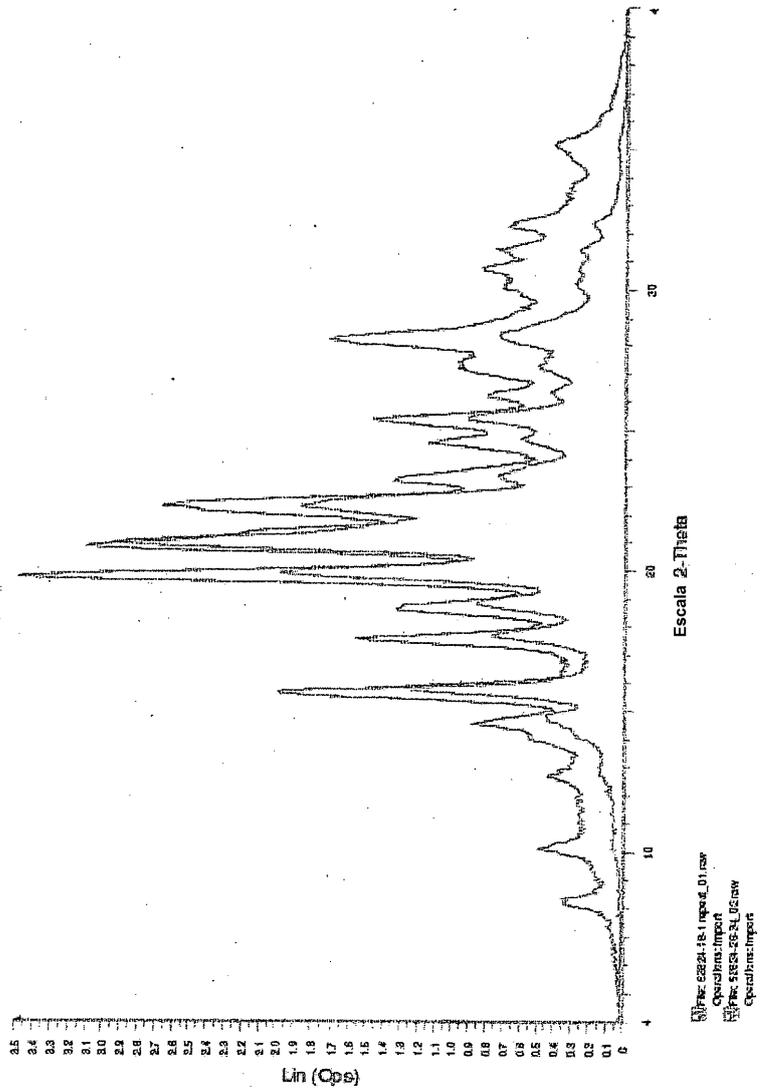


FIG. 20

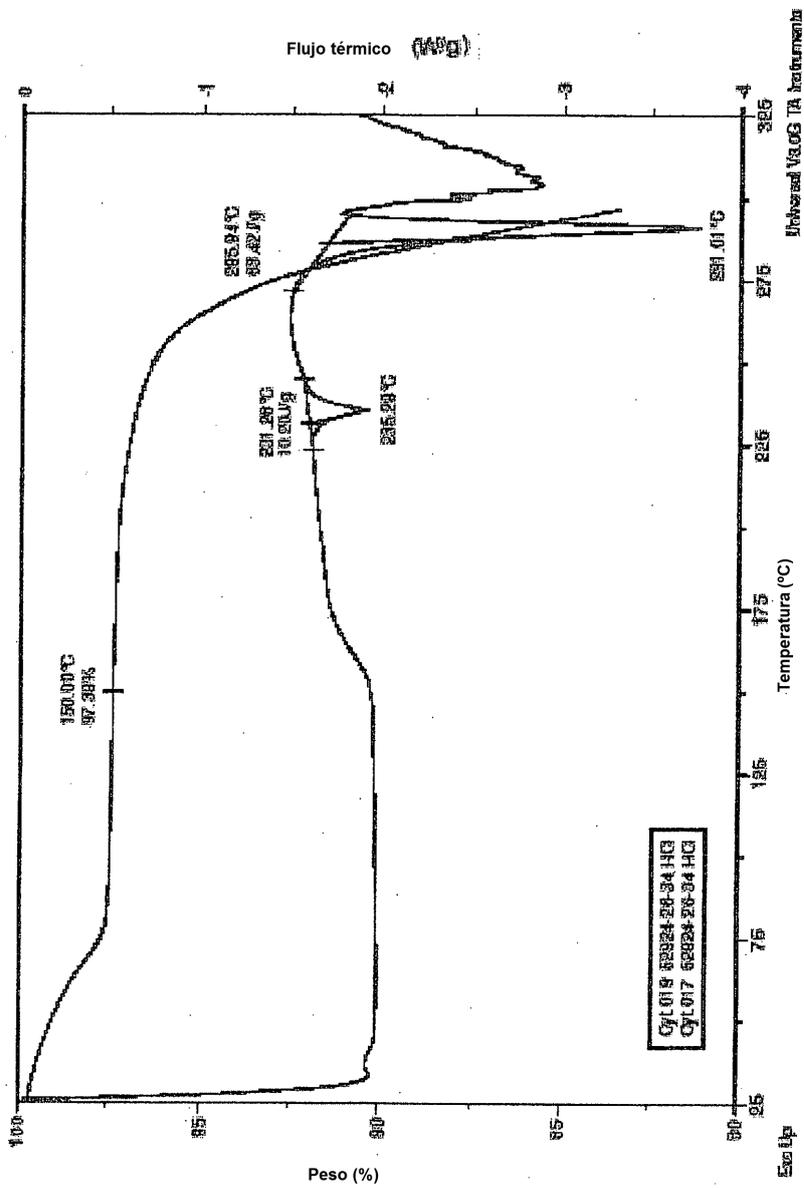


FIG. 21

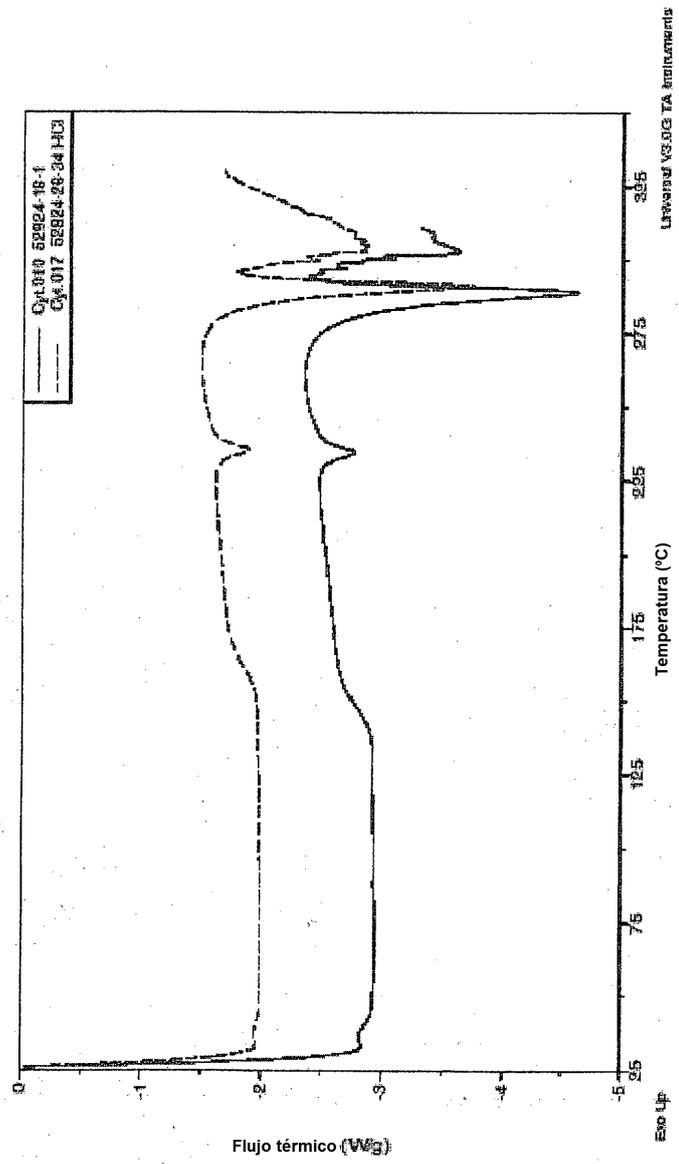


FIG. 22

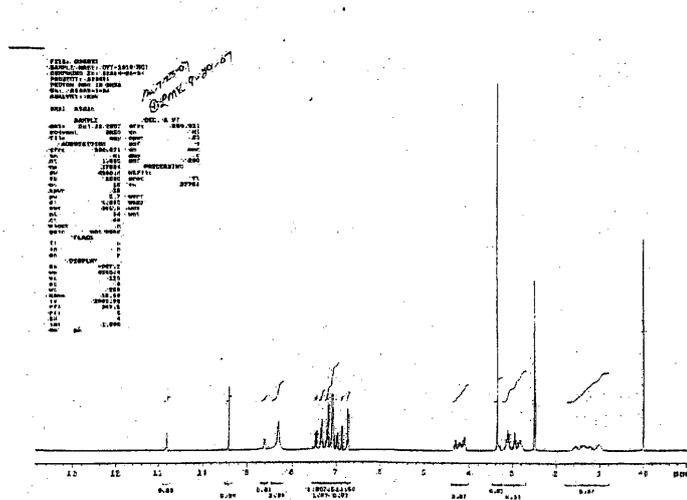


FIG. 23

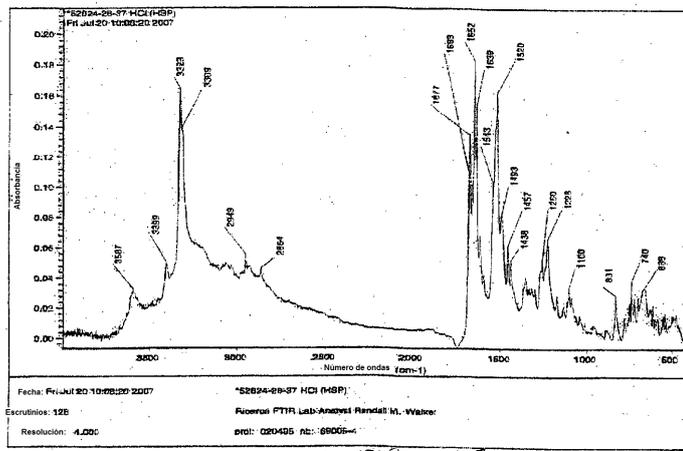


FIG. 24

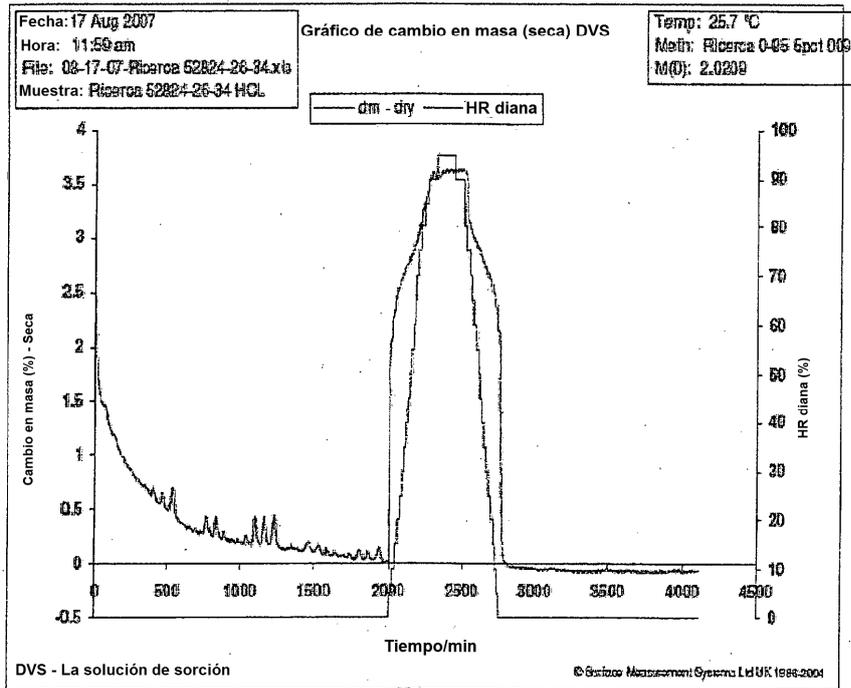
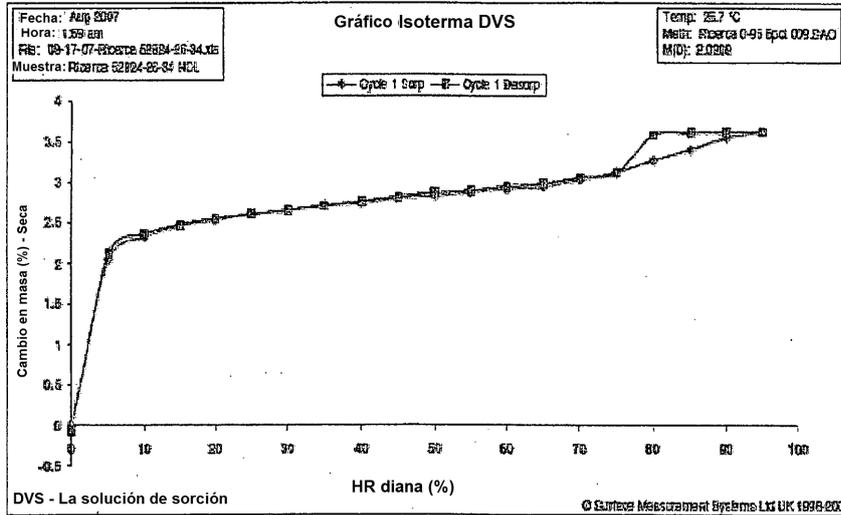


FIG. 25

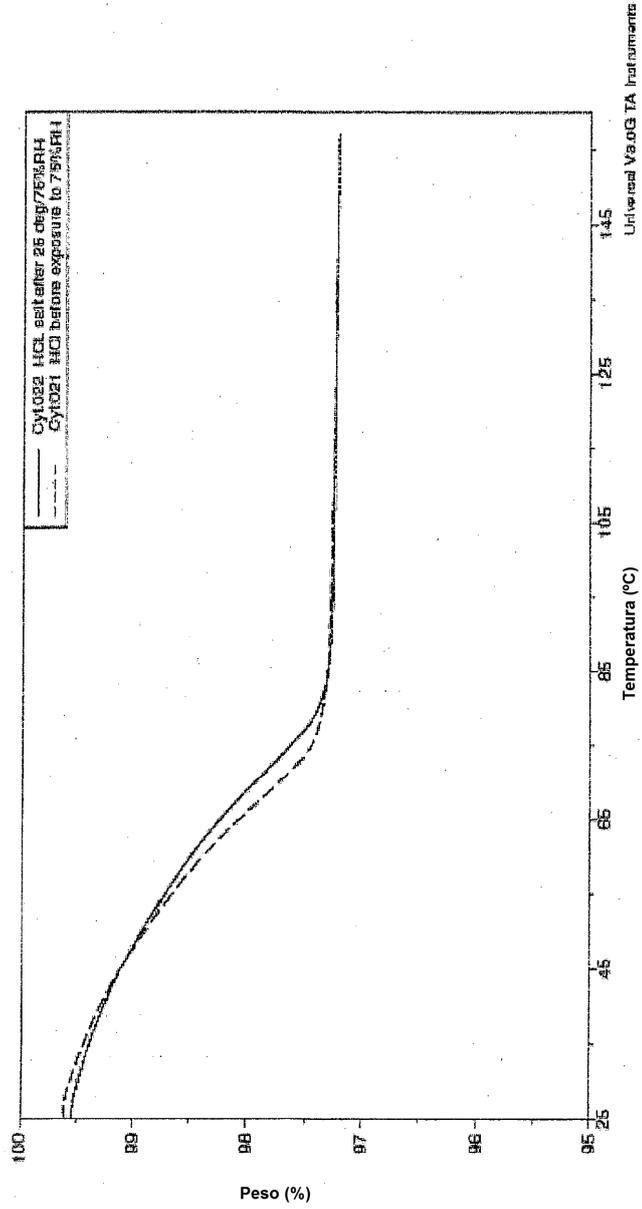


FIG. 26

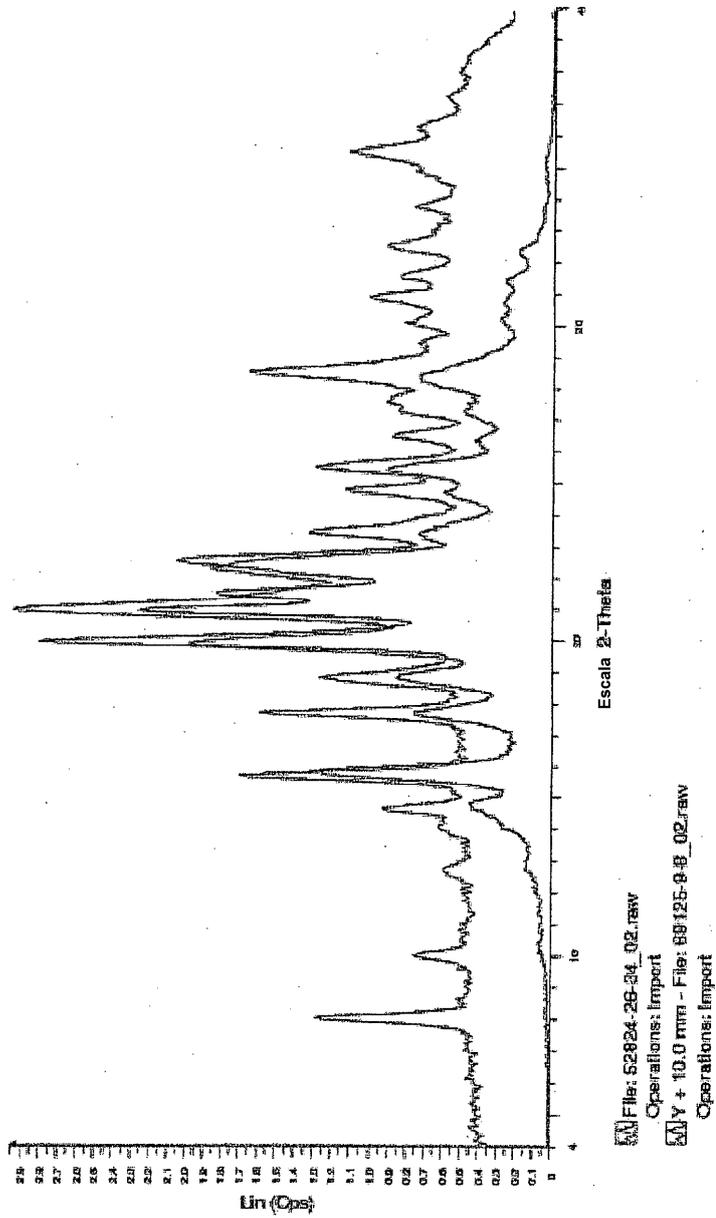


FIG. 27

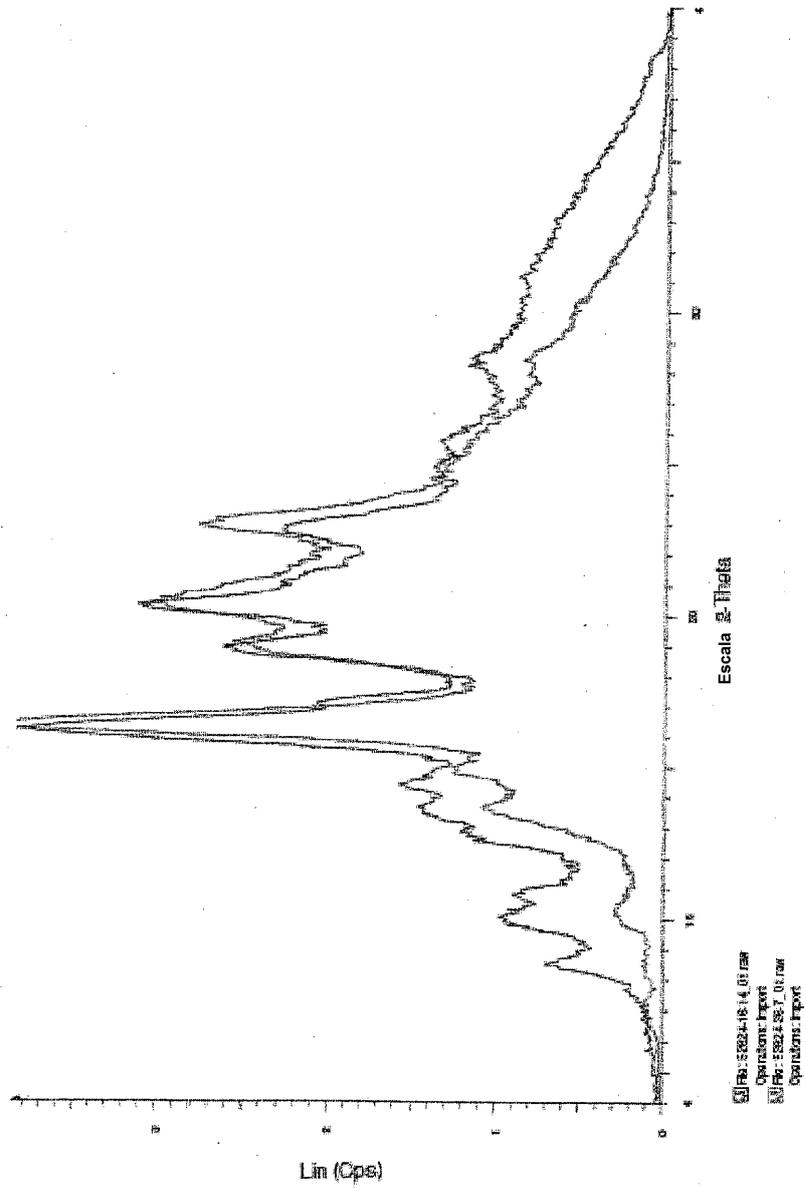


FIG. 28

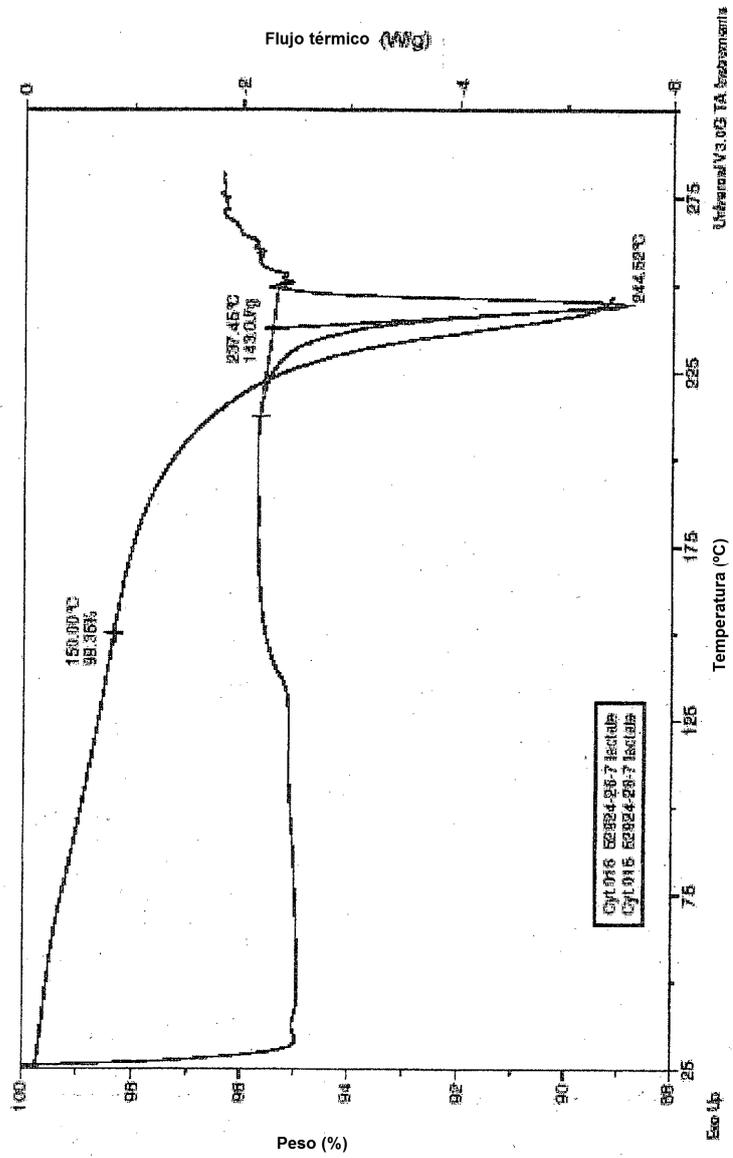


FIG. 29

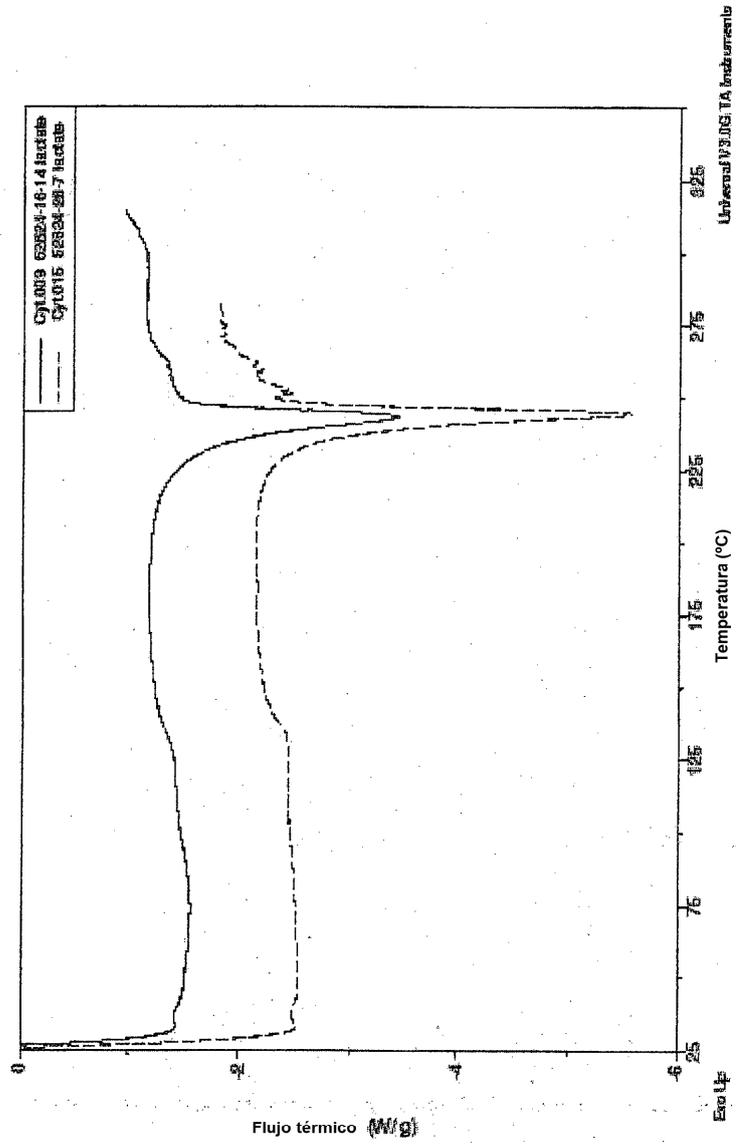


FIG. 30

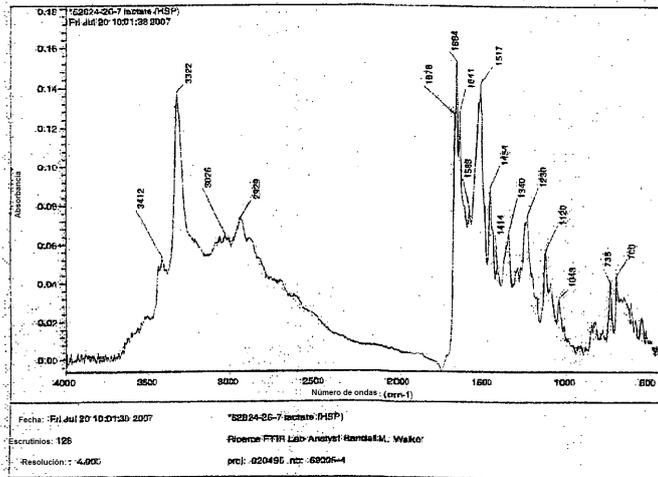


FIG. 32

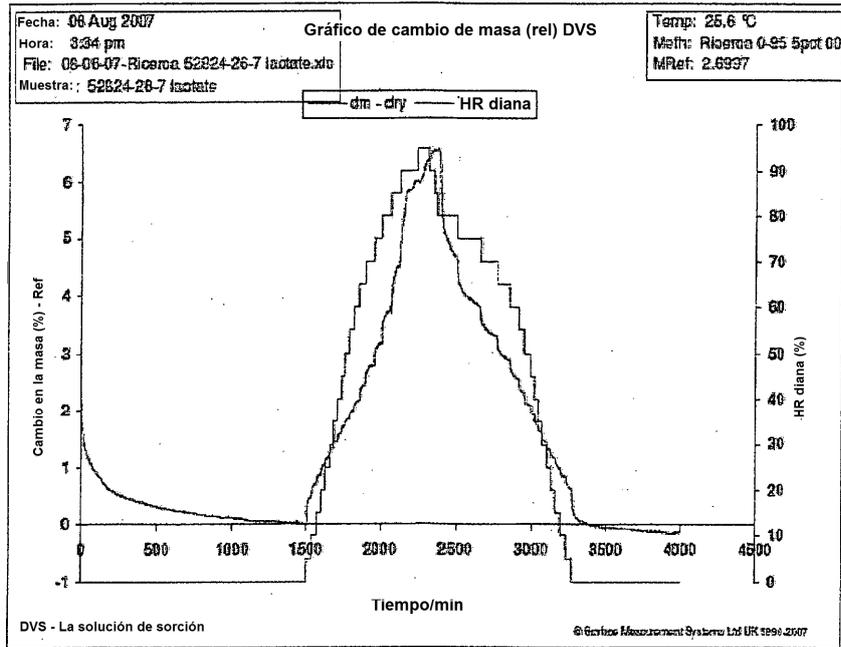
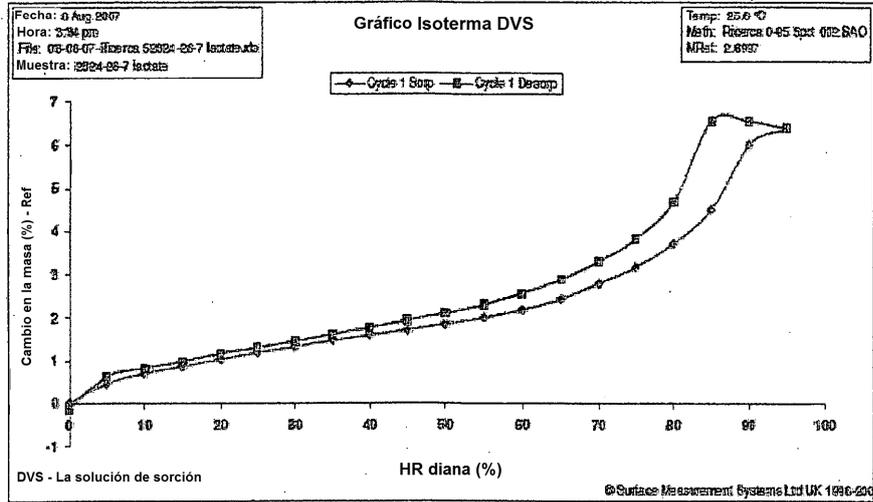


FIG. 33

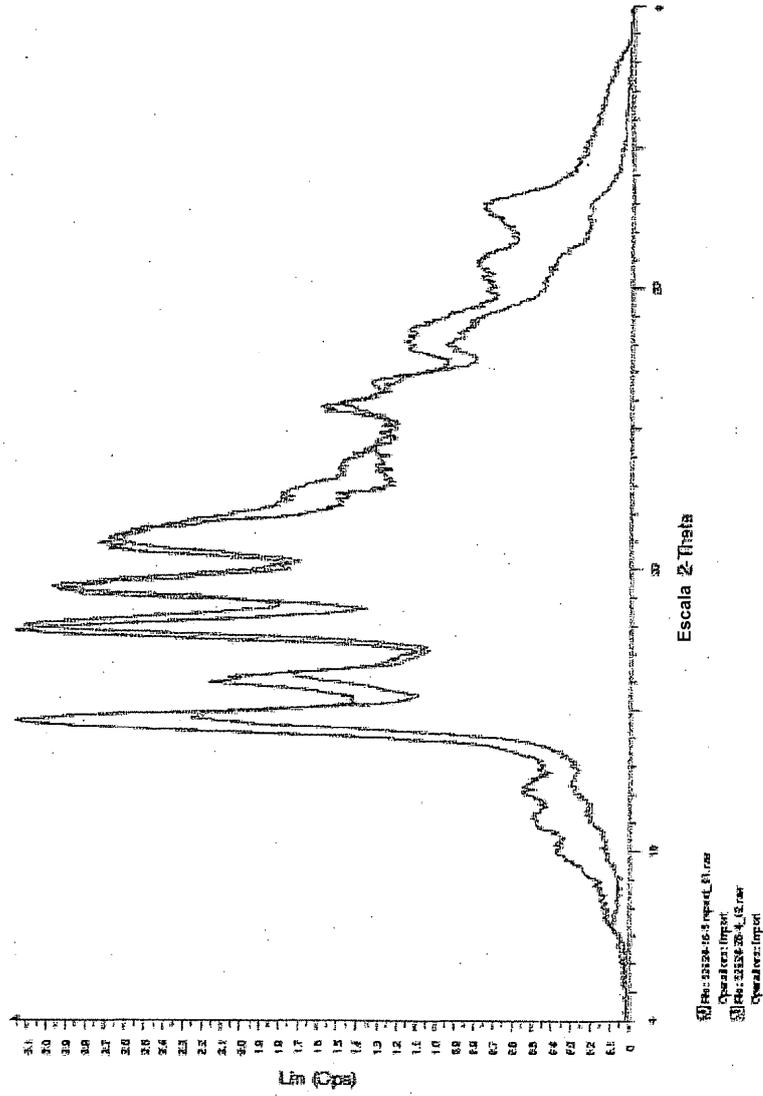


FIG. 34

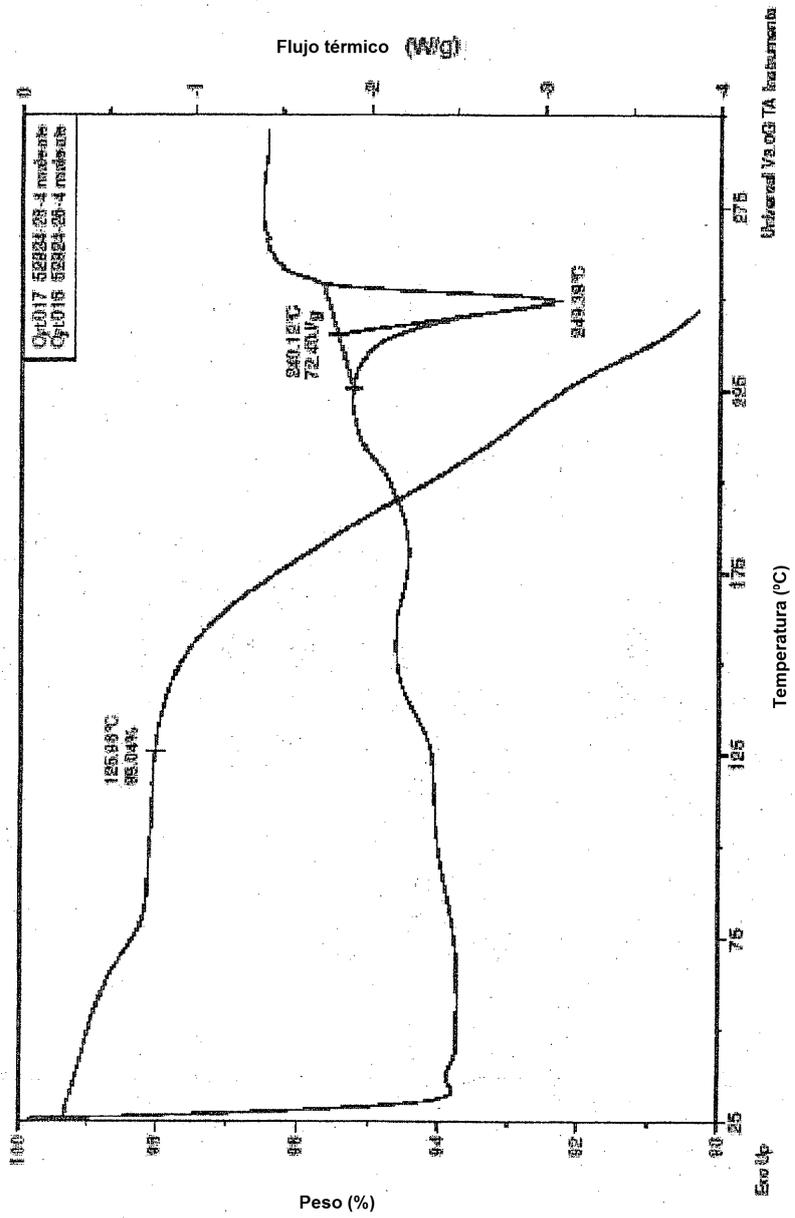


FIG. 35

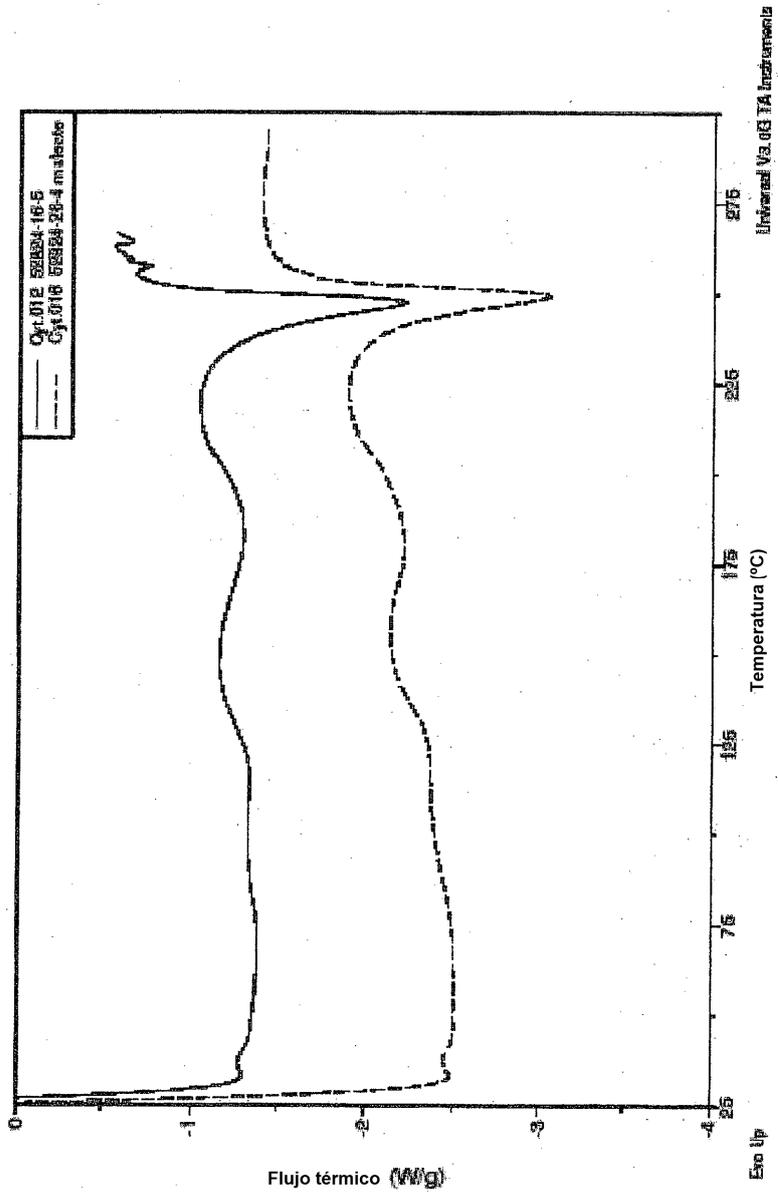


FIG. 36

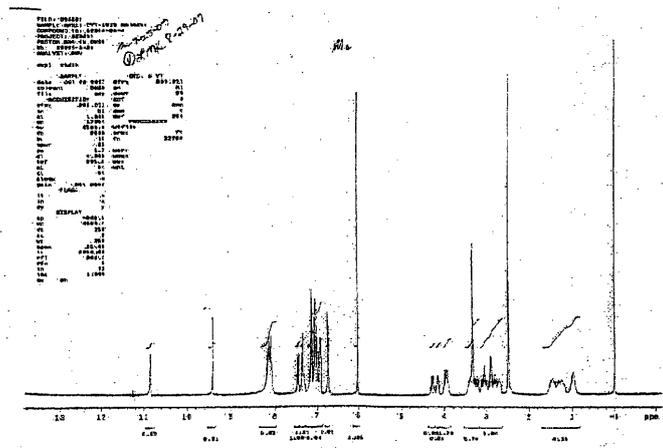


FIG. 37

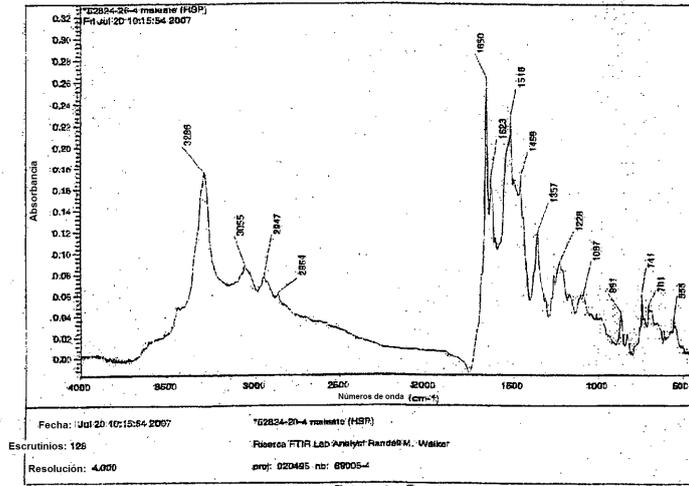


FIG. 38

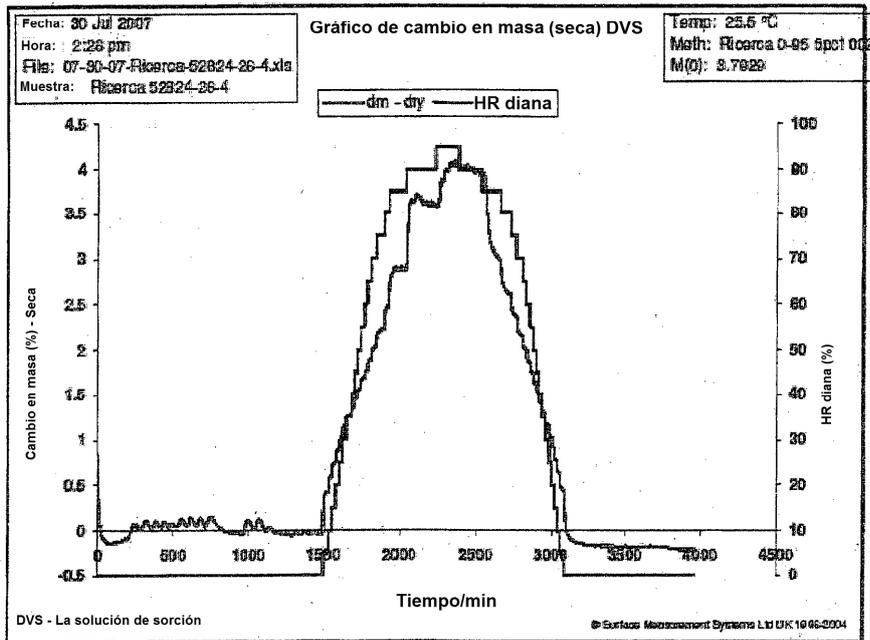
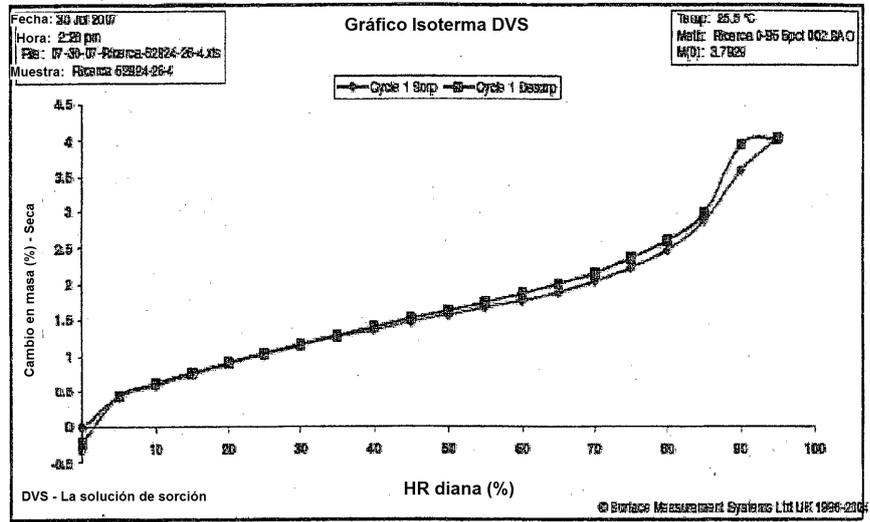


FIG. 39

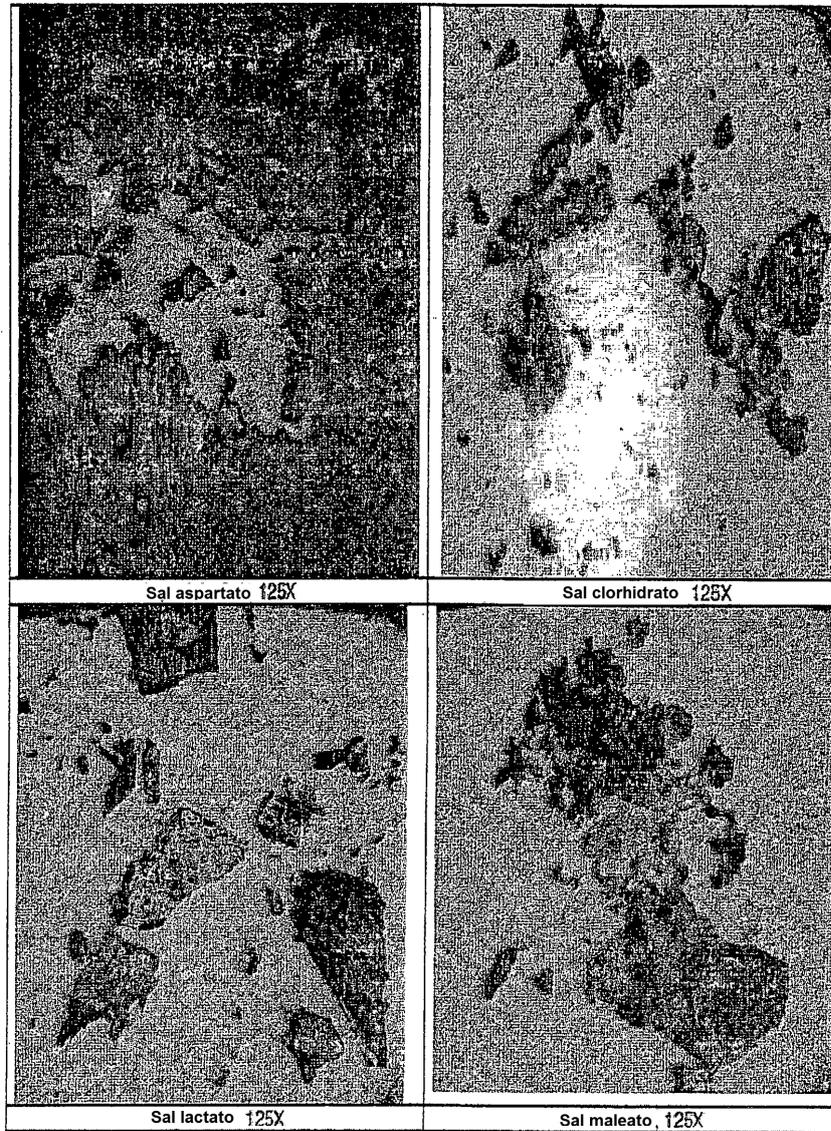


FIG. 40

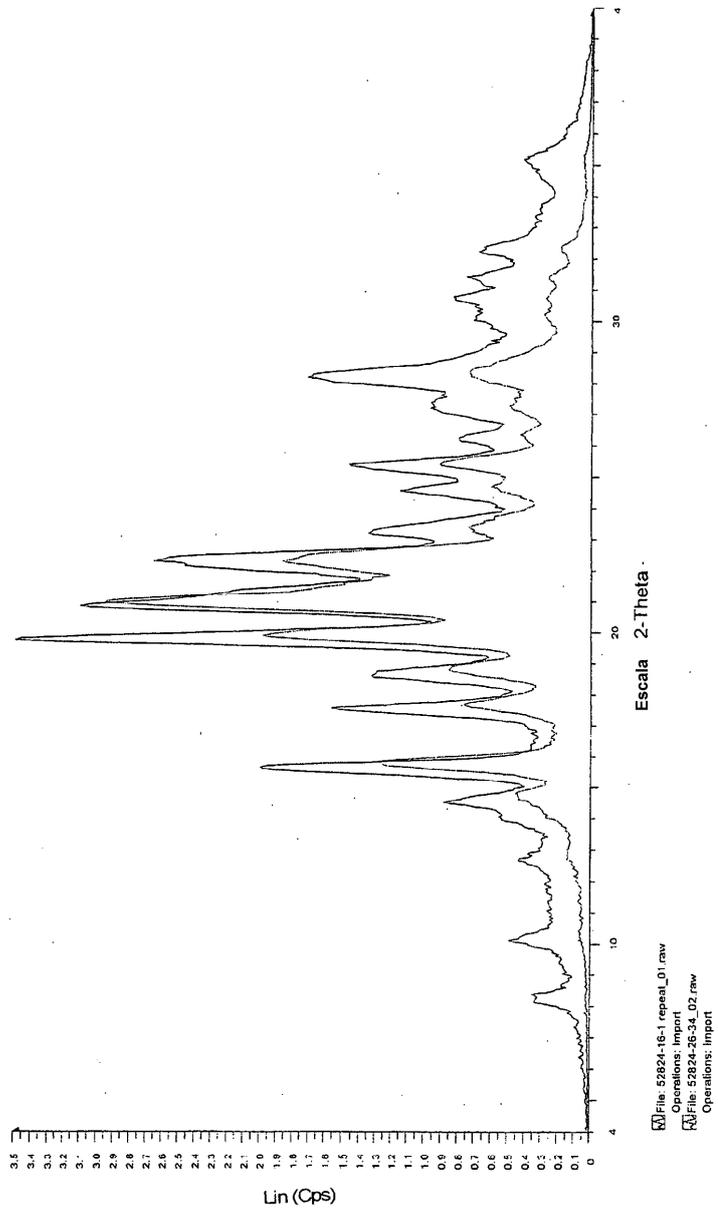


FIG. 41

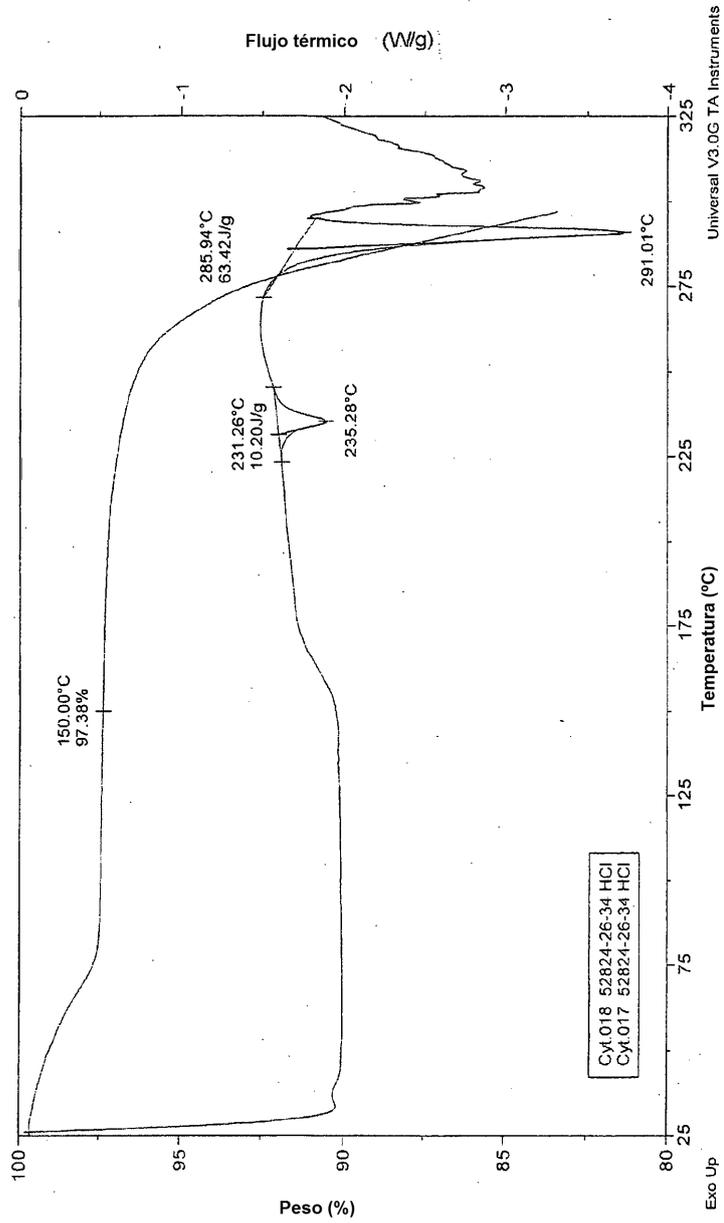


FIG. 42

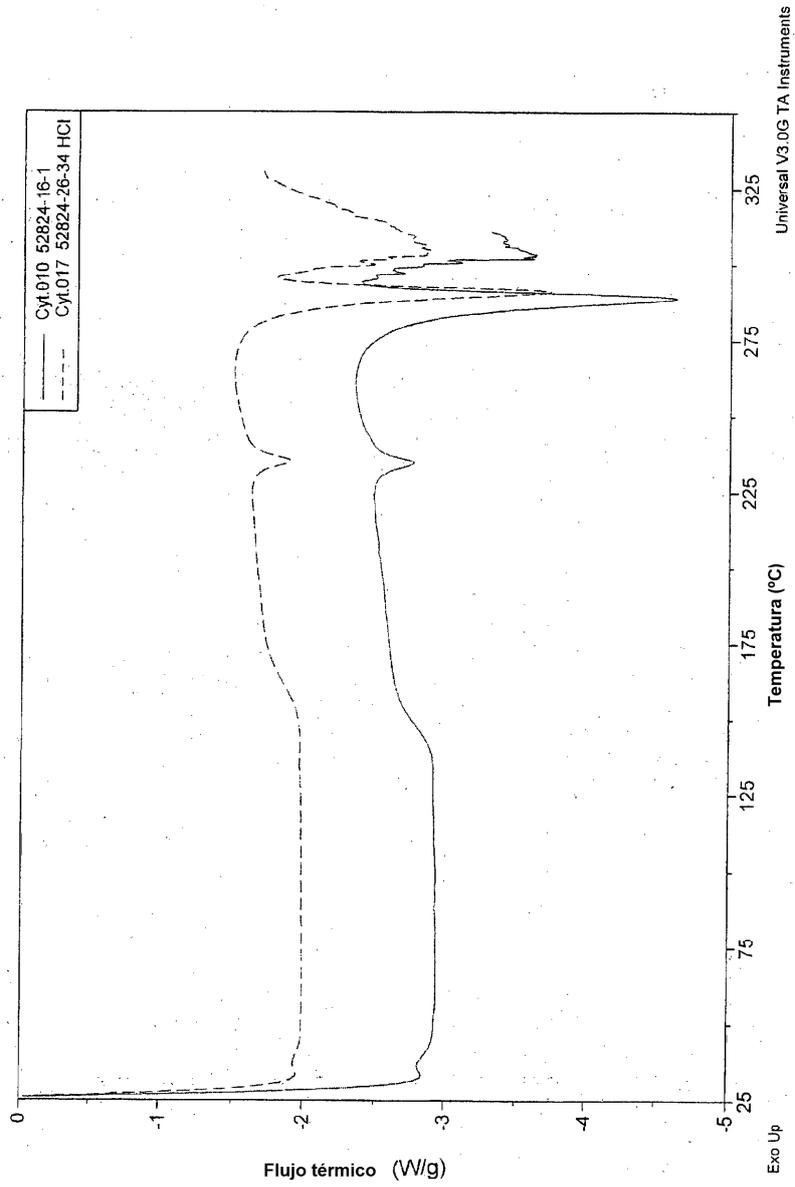


FIG. 43

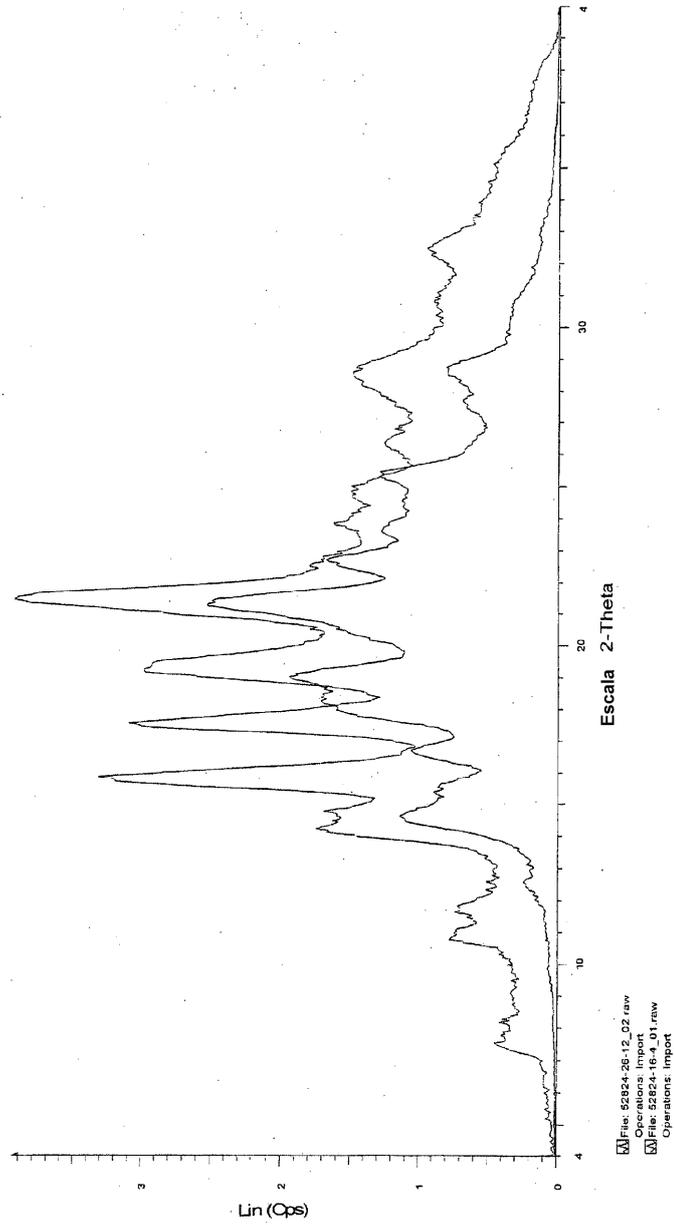


FIG. 44

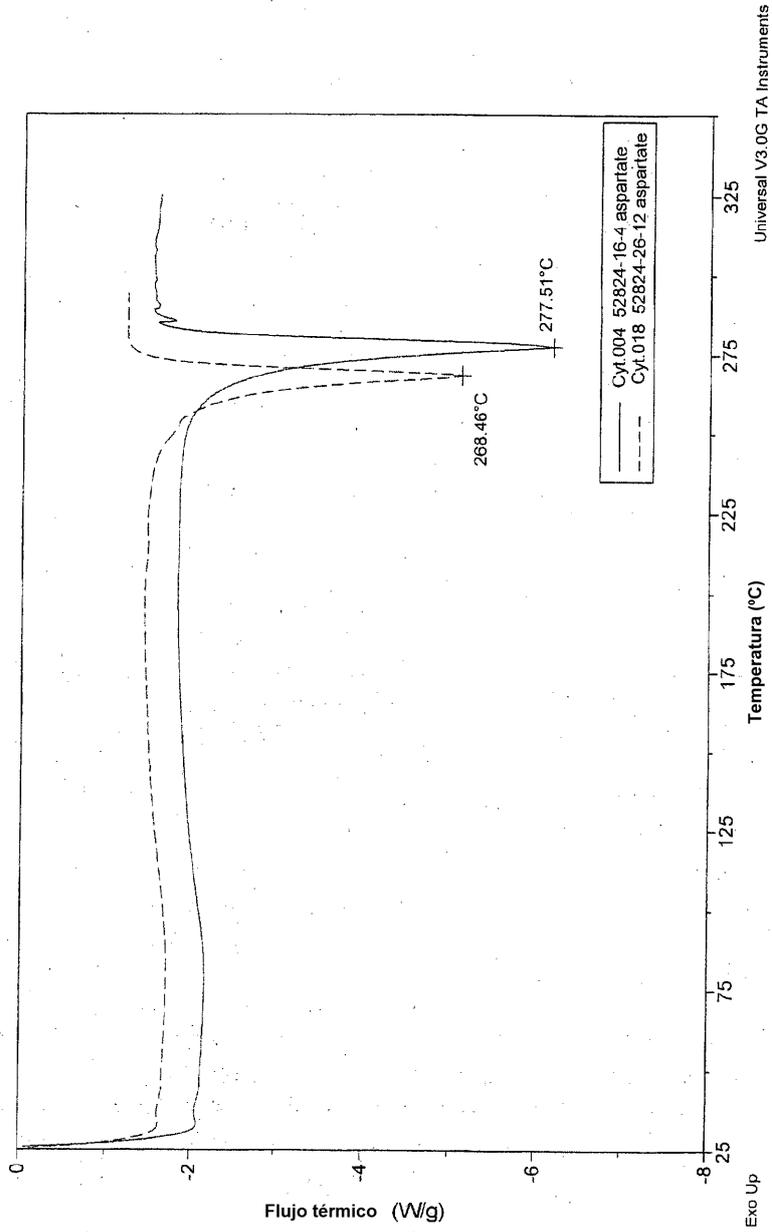


FIG. 45

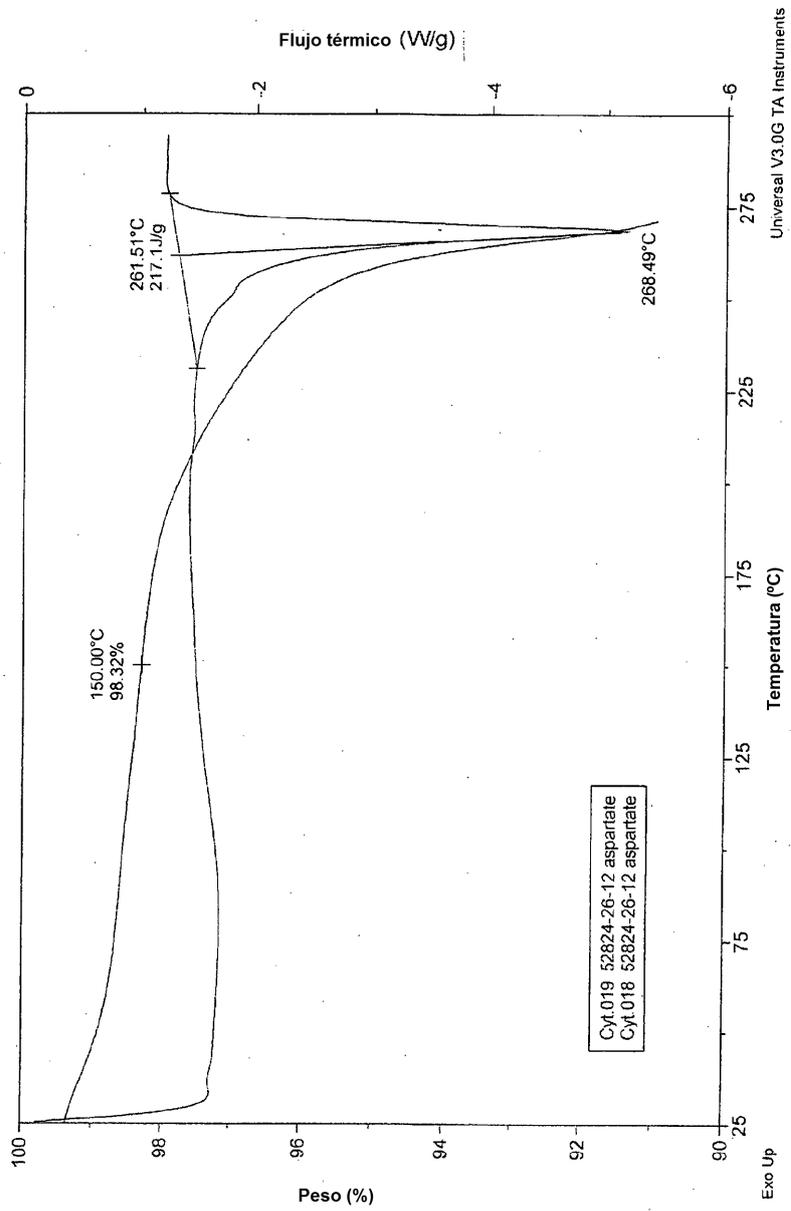


FIG. 46