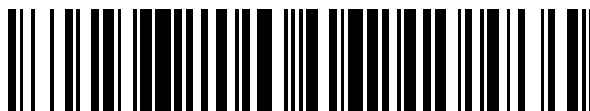


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 562 463**

51 Int. Cl.:

A61K 47/42 (2006.01)
A61K 31/198 (2006.01)
A61K 31/195 (2006.01)
A61K 38/16 (2006.01)
A61K 49/00 (2006.01)
C07K 14/775 (2006.01)
A61K 51/12 (2006.01)
A61K 47/48 (2006.01)
C07K 14/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **14.07.2010** **E 10800456 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.11.2015** **EP 2453923**

54 Título: **Administración no covalente, mediada por péptidos, de agentes activos a través de la barrera hematoencefálica**

30 Prioridad:

14.07.2009 US 225412 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
04.03.2016

73 Titular/es:

**MAYO FOUNDATION FOR MEDICAL EDUCATION
AND RESEARCH (100.0%)
200 First Street S.W.
Rochester, MN 55905, US**

72 Inventor/es:

**CURRAN, GEOFFRY L.;
SARKAR, GOBINDA;
PODUSLO, JOSEPH F.;
JENKINS, ROBERT B.;
LOWE, VAL J. y
MAHLUM, ERIC W.**

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 562 463 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

Administración no covalente, mediada por péptidos, de agentes activos a través de la barrera hematoencefálica

CAMPO TÉCNICO

- 5 Esta descripción se refiere a péptidos portadores, incluyendo composiciones y métodos de uso de los mismos. En particular, la descripción se refiere a péptidos portadores capaces de suministrar agentes activos a través de la barrera hematoencefálica y a composiciones y métodos de uso de los mismos.

ANTECEDENTES

- 10 La barrera hematoencefálica (BBB) impide que la mayoría de las macromoléculas (p. ej., ADN, ARN y polipéptidos) y muchas moléculas pequeñas penetren en el cerebro. La BBB se compone principalmente de células endoteliales especializadas con uniones estrechas altamente restrictivas, por consiguiente el paso de sustancias, pequeño y grande, de la sangre al sistema nervioso central es controlado por la BBB. Esta estructura hace difícil el tratamiento y la gestión de pacientes con enfermedades y trastornos neurológicos (p. ej., cáncer de cerebro y la enfermedad de Alzheimer), ya que muchos agentes terapéuticos no pueden ser administrados a través de la BBB con una eficiencia deseable.

- 15 MOUSAZADEH MOHAMMAD ET AL. JOURNAL OF DRUG TARGETING, vol. 15, nº 3, 2007, páginas 226-230, describe métodos de transportar material genético a través de la barrera hematoencefálica utilizando el receptor de LDL.

- 20 El documento US 2004/229219 A1 describe el uso de péptidos para inhibir la fusión de membranas y la infección por metapneumovirus humano y/o coronavirus humano en la prevención y el tratamiento del síndrome respiratorio agudo grave (SARS) u otras enfermedades respiratorias.

SUMARIO

- 25 Los péptidos descritos en esta memoria pueden funcionar como péptidos portadores. Estos péptidos pueden asociarse (p. ej., unirse de forma no covalente) con moléculas biológicamente activas y agentes formadores de imágenes para transportar las moléculas biológicamente activas y agentes formadores de imágenes a través de la barrera hematoencefálica. En algunos casos, un transporte de este tipo puede aumentar la eficacia de las moléculas biológicas y agentes formadores de imágenes.

Un péptido portador, tal como se describe en esta memoria, incluye la secuencia:



- 30 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde:
 X es un aminoácido hidrófilo;
 B es un agente de barrera hematoencefálica;
 n es un número entero de 4 a 50; y
 m es un número entero de 1 a 3,
 en donde el agente de barrera hematoencefálica incluye una secuencia de polipéptidos que tiene al menos una
 35 identidad de la secuencia de 80% con:
 L-R-V-R-L-A-S-H-L-R-K-L-R-K-R-L-L-R-D-A (SEQ ID NO: 13).

- 40 Un aminoácido hidrófilo (X) puede elegirse de arginina, asparagina, ácido aspártico, ácido glutámico, glutamina, histidina, lisina, serina, treonina, tirosina, o una combinación de los mismos. Por ejemplo, en algunas formas de realización, X_n puede comprender diez lisinas y seis argininas; seis lisinas y dieciséis argininas; ocho lisinas, ocho argininas y ocho histidinas. En algunas realizaciones, X es lisina.

La variable n es un número entero que oscila entre 4 y 50 (p. ej., 4, 6, 8, 10, 12, 16, 20, 24, 26, 28, 32, 36, 40, 42, 44, 48 y 50). En algunas formas de realización, n se selecciona de entre 4, 8, 12, 16 y 20. En algunas formas de realización, n es 16. En algunas formas de realización, m es 1.

Ejemplos de un péptido portador pueden incluir:

5 K-K-K-K-L-R-V-R-L-A-S-H-L-R-K-L-R-K-R-L-L-R-D-A (SEQ ID NO: 19);

K-K-K-K-K-K-K-L-R-V-R-L-A-S-H-L-R-K-L-R-K-R-L-L-R-D-A (SEQ ID NO:20);

K-K-K-K-K-K-K-K-K-K-L-R-V-R-L-A-S-H-L-R-K-L-R-K-R-L-L-R-D-A (SEQ ID NO:21);

K-K-K-K-K-K-K-K-K-K-K-K-K-L-R-V-R-L-A-S-H-L-R-K-L-R-K-R-L-L-R-D-A (SEQ ID NO:22); y

K-K-K-K-K-K-K-K-K-K-K-K-K-K-K-K-L-R-V-R-L-A-S-H-L-R-K-L-R-K-R-L-L-R-D-A (SEQ ID NO:23).

10 Además se proporciona en esta memoria un complejo, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, que tiene una molécula biológicamente activa o un agente formador de imágenes asociado a un péptido portador tal como se describe arriba. En algunas formas de realización, la molécula o el agente formador de imágenes biológicamente activo está unido de forma no covalente al péptido portador.

15 Un agente formador de imágenes puede ser cualquier producto químico o sustancia que se utiliza para proporcionar la señal o el contraste en la formación de imágenes. Por ejemplo, el agente formador de imágenes puede ser ¹²⁵I-IgG o magnevist. Una molécula biológicamente activa puede incluir un polipéptido; oligonucleótido; plásmido; molécula pequeña; anticuerpo; fragmento de anticuerpo; hidrato de carbono; polisacárido; lípido; glicolípido; antígeno; y péptido antigénico. En algunas formas de realización, la molécula biológicamente activa se selecciona de entre un: polipéptido; oligonucleótido; y plásmido. Un oligonucleótido puede incluir una secuencia de ADN codificante; una secuencia de ADN antisentido; ARNm, secuencia de ARN antisentido; ARNi; y ARNsi. En algunas formas de realización, la molécula biológicamente activa es una molécula pequeña, por ejemplo, un agente terapéutico.

25 Los péptidos portadores y complejos de péptidos portadores y agentes biológicamente activos o agentes formadores de imágenes tienen diversos usos y se pueden utilizar en diversos métodos. Por ejemplo, se proporciona en esta memoria un método de transportar una molécula biológicamente activa o un agente formador de imágenes a través de la barrera hematoencefálica de un sujeto. El método puede incluir la administración al sujeto de un complejo, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, que tiene la molécula biológicamente activa o el agente formador de imágenes asociado con un péptido portador.

30 El péptido portador de la invención es útil en un método de tratar un trastorno cerebral en un sujeto. El método puede incluir la administración al sujeto de un complejo, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, que tiene un agente biológicamente activo asociado con un péptido portador. El trastorno cerebral puede elegirse de meningitis, epilepsia, esclerosis múltiple, neuromielitis óptica, tripanosomiasis neurológica de fase tardía, Parkinson, leucoencefalopatía multifocal progresiva, enfermedad de De Vivo, enfermedad de Alzheimer, encefalitis por VIH y el cáncer.

35 Esta descripción proporciona, además, un método de formación de imágenes del sistema nervioso central de un sujeto. El método puede incluir la administración al sujeto de un complejo, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, que comprende un agente formador de imágenes asociado con un péptido portador; y la formación de imágenes del sistema nervioso central del sujeto.

40 También se describen composiciones farmacéuticas. Una composición farmacéutica puede incluir un complejo, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, que tiene una molécula o agente formador de imágenes biológicamente activo, un péptido portador y un soporte farmacéuticamente aceptable.

Finalmente, también se proporcionan kits. Un kit puede incluir un péptido portador. En algunas formas de realización, el kit incluye, además, una molécula biológicamente activa o un agente formador de imágenes.

Los detalles de una o más formas de realización de la invención se recogen en los dibujos adjuntos y en la descripción siguiente. Otras características, objetos y ventajas de la invención resultarán evidentes a partir de la descripción y los dibujos, y de las reivindicaciones.

DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

- 5 La **FIG. 1** es una serie de imágenes que ilustran las diferencias entre la administración de IgG Alexa complejada con K₁₆ApoE (SEQ ID NO: 22) en el cerebro e IgG Alexa no complejada.

La **FIG. 2** ilustra la acumulación de IgG 4.1 radiactiva en cerebro de ratón con la ayuda de K₁₆ApoE (SEQ ID NO: 22).

- 10 La **FIG. 3** muestra la administración de beta-galactosidasa, mediada por K₁₆ApoE (SEQ ID NO: 22), en el cerebro (parte superior) y en otros órganos (parte inferior). En un experimento, beta-galactosidasa se inyectó en ratones mezclada con (Fig. 3A') y sin mezclar con K₁₆ApoE (SEQ ID NO: 22) (Fig. 3A), rodajas de cerebro hechas seis horas después de la inyección se tiñeron para la actividad enzimática (parte superior). En un experimento relacionado separado, se hicieron láminas de diferentes órganos y se tiñeron para la actividad de beta-galactosidasa después de la administración sin (FIG. 3B-G) y con K₁₆ApoE (SEQ ID NO: 22) (FIG. 3B' - G'), B - cerebro, C - corazón, D - riñón, E - pulmón, F - hígado, G - bazo.

- La **FIG. 4** muestra la evaluación de la administración de IgG (A) e IgM (B), mediada por K₁₆ApoE (SEQ ID NO: 22), en cerebros de ratones por microSPECT. La formación de imágenes se realizó a intervalos de 1 hora hasta seis horas, después de lo cual se realizó una perfusión cardiaca, y la formación de imágenes final se llevó a cabo 30 minutos después de la perfusión. Barras de la izquierda - con K₁₆ApoE (SEQ ID NO: 22); barras de la derecha - sin K₁₆ApoE (SEQ ID NO: 22).

- La **FIG. 5** ilustra el marcaje de placas de amiloide con un anticuerpo específico para placas administrado a través de K₁₆ApoE (SEQ ID NO: 22) en cerebros de modelos de ratones de la enfermedad de Alzheimer. Se utilizaron dos ratones con la enfermedad de Alzheimer: uno representado por A, C y E, mientras que el otro está representado por B, D y F. A, C y E representan secciones de cerebro adyacentes de un ratón, mientras que B, D y F representan secciones de cerebro adyacentes de otro ratón. A, B - tinción con tioflavina S; C, D - inmunotinción para identificar placas utilizando el 4G8 como anticuerpo primario, y un anticuerpo anti-ratón como anticuerpo secundario; E, F - inmunotinción utilizando sólo el anticuerpo secundario. La IgG 4G8 se inyectó en el primer ratón (panel izquierdo) sin K₁₆ApoE (SEQ ID NO: 22), mientras que el segundo ratón (panel derecho) recibió la inyección de la IgG mezclada con K₁₆ApoE (SEQ ID NO: 22).

- 30 La **FIG. 6** muestra la evaluación de la integridad de la BBB después de la inyección de K₁₆ApoE (SEQ ID NO: 22). Cada uno de los ratones (representados por A a G) recibió una inyección de K₁₆ApoE (SEQ ID NO: 22), seguido de la inyección de β -galactosidasa en los tiempos indicados. Se hicieron rodajas de cerebro 4 horas después de la inyección de β -galactosidasa y fueron seguidas por tinción para determinar la actividad de la enzima. A - β -galactosidasa se inyectó 1 minuto después de la inyección de K₁₆ApoE (SEQ ID NO: 22). B - β -galactosidasa se inyectó 5 minutos después de la inyección de K₁₆ApoE (SEQ ID NO: 22). C - β -galactosidasa se inyectó 10 minutos después de la inyección de K₁₆ApoE (SEQ ID NO: 22). D - β -galactosidasa se inyectó 30 minutos después de la inyección de K₁₆ApoE (SEQ ID NO: 22). E - β -galactosidasa se inyectó 1 hora después de la inyección de K₁₆ApoE (SEQ ID NO: 22). F - β -galactosidasa se inyectó 2 horas después de la inyección de K₁₆ApoE (SEQ ID NO: 22). G - β -galactosidasa se inyectó 4 horas después de la inyección de K₁₆ApoE (SEQ ID NO: 22). H - se inyectó control positivo (β -galactosidasa mezclada con K₁₆ApoE (SEQ ID NO: 22), se hicieron rodajas de cerebro 4 horas después de la inyección y se procedió a la tinción para determinar la actividad enzimática).

- La **FIG. 7** demuestra la necesidad del enlace químico del K16 (SEQ ID NO: 4) y los restos de péptidos para la administración no covalente de ApoE a través de la BBB. La administración de β -galactosidasa en el cerebro con el péptido K16 (SEQ ID NO: 4) solo (A), con el péptido ApoE solo (B), con el péptido K16 (SEQ ID NO: 4) + péptido ApoE (C) y con el péptido K₁₆ApoE (SEQ ID NO: 22) (D).

La **FIG. 8** ilustra el ensayo de péptidos ApoE mutantes por su potencial como transportadores no covalentes de proteínas a través de la BBB. A - sin péptido, sin β -gal; B - K₁₆ApoE (SEQ ID NO: 22) + β -gal; C - K₁₆L3N7 (SEQ ID NO: 126) + β -gal; D - K₁₆L3L20 (SEQ ID NO: 127) + β -gal; E - K₁₆N7L20 (SEQ ID NO: 128) + β -gal.

La **FIG. 9** muestra un estudio de evolución en el tiempo de administración de β -galactosidasa al cerebro de ratones con K16ApoE (SEQ ID NO: 22). A- β -galactosidasa, sin péptido, 6 h; B- β -galactosidasa + péptido, 1 h; C- β -galactosidasa + péptido, 2 h; D- β -galactosidasa + péptido, 5 h; E- β -galactosidasa + péptido, 10 h

DESCRIPCIÓN DETALLADA

5 Los péptidos descritos en esta memoria pueden funcionar como péptidos portadores. Estos péptidos pueden asociarse (p. ej., unirse de forma no covalente) con moléculas biológicamente activas y agentes formadores de imágenes para el transporte de moléculas biológicamente activas y agentes formadores de imágenes a través de la barrera hematoencefálica. En algunos casos, este tipo de transporte puede aumentar la eficacia de las moléculas biológicas y agentes formadores de imágenes.

10 *Péptidos portadores*

Se proporcionan en esta memoria péptidos portadores que tienen la siguiente secuencia:

$$X_n - [B]_m$$

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde:

X es un aminoácido hidrófilo;

15 B es un agente de barrera hematoencefálica;

n es un número entero de 4 a 50; y

m es un número entero de 1 a 3,

en donde el agente de barrera hematoencefálica incluye una secuencia de polipéptidos que tiene al menos una identidad de la secuencia de 80% (p. ej. al menos 85%; al menos 90%; al menos 92%; al menos 95%; al menos 98%; y al menos 99%) con:

20 L-R-V-R-L-A-S-H-L-R-K-L-R-K-R-L-L-R-D-A (SEQ ID NO: 13).

Un aminoácido hidrófilo se puede elegir de: arginina, asparagina, ácido aspártico, ácido glutámico, glutamina, histidina, lisina, serina, treonina, tirosina, y combinaciones y derivados no naturales de los mismos. En algunas formas de realización, un aminoácido hidrófilo se puede elegir de lisina o un derivado de lisina no natural, arginina o un derivado de arginina no natural, y combinaciones de los mismos. En algunas realizaciones, el aminoácido hidrófilo es lisina. Ejemplos no limitativos de X_n pueden incluir KKKK (SEQ ID NO: 1); KKKKKKKK (SEQ ID NO: 2); KKKKKKKKKKKK (SEQ ID NO: 3); KKKKKKKKKKKKKKKK (SEQ ID NO: 4); RRRR (SEQ ID NO: 5); RRRRRRRR (SEQ ID NO: 6); RRRRRRRRRRRR (SEQ ID NO: 7); RRRRRRRRRRRRRRRR (SEQ ID NO: 8); KRKR (SEQ ID NO: 9); KKKR (SEQ ID NO: 10); KKKRRRKKRRR (SEQ ID NO: 11); y KKKKRRRRKKKKRRR (SEQ ID NO: 12).

30 La variable n es un número entero que oscila entre 4 y 50 (p. ej., 4, 6, 8, 10, 12, 16, 20, 24, 26, 28, 32, 36, 40, 42, 44, 48 y 50). Por ejemplo, n puede oscilar entre 4 y 20. En algunas formas de realización, n se selecciona de entre 4, 8, 12, 16 y 20. Por ejemplo, n puede ser 16. En algunas realizaciones, m es 1.

Un agente de barrera hematoencefálica, tal como se utiliza en esta memoria, es cualquier ligando polipéptido o no polipéptido que puede cruzar la barrera hematoencefálica. En algunas formas de realización, un agente de barrera hematoencefálica tiene un receptor afin en las células del cerebro, o puede unirse a dichos receptores. En algunas realizaciones, el agente de barrera hematoencefálica comprende un sitio de unión del receptor de transferencia de un transferrina.

En algunas formas de realización, el agente de barrera hematoencefálica incluye un polipéptido que comprende la siguiente secuencia:

40 L-R-V-R-L-A-S-H-L-R-K-L-R-K-R-L-L-R-D-A (SEQ ID NO: 13).

En algunas formas de realización, el agente de barrera hematoencefálica es de menos de 100 aminoácidos de longitud (p. ej., menos de 90 aminoácidos de longitud; menos de 80 aminoácidos de longitud; menos de 75 aminoácidos de longitud; menos de 70 aminoácidos de longitud; menos de 65 aminoácidos de longitud; menos de 62 aminoácidos de longitud; menos de 60 aminoácidos de longitud; menos de 55 aminoácidos de longitud; menos de 50 aminoácidos de longitud; y menos de 45 aminoácidos de longitud).

45 aminoácidos de longitud; y menos de 45 aminoácidos de longitud).

"Porcentaje de identidad de la secuencia" se refiere al grado de identidad de la secuencia entre cualquier secuencia dada de referencia, p. ej., SEQ ID NO: 13, y una secuencia de agente de barrera hematoencefálica candidata. Una secuencia candidata tiene típicamente una longitud que es de 80 por ciento a 200 por ciento la longitud de la secuencia de referencia (p. ej., 82, 85, 87, 89, 90, 93, 95, 97, 99, 100, 105, 110, 115, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190 ó 200 por ciento de la longitud de la secuencia de referencia). Un porcentaje de identidad de cualquier ácido nucleico o polipéptido candidato con relación a un ácido nucleico o polipéptido de referencia se puede determinar como sigue. Una secuencia de referencia (p. ej., una secuencia de ácido nucleico o una secuencia de aminoácidos) se alinea a una o más secuencias candidatas utilizando el programa informático ClustalW (versión 1.83, parámetros por defecto), que permite alineamientos de ácido nucleico o secuencias de polipéptidos que se han de llevar a cabo a través de toda su longitud (alineación global). Chenna *et al.*, Nucleic Acids Res, 31(13):3497-500 (2003).

ClustalW calcula la mejor combinación entre una referencia y una o más secuencias candidatas, y las alinea de manera que se pueden determinar las identidades, similitudes y diferencias. Los huecos de uno o más residuos pueden ser insertados en una secuencia de referencia, una secuencia candidata, o ambas, para maximizar las alineaciones de secuencia. Para una rápida alineación por pares de secuencias de ácidos nucleicos se utilizan los siguientes parámetros por defecto: tamaño de palabra: 2; tamaño de la ventana: 4; método de puntuación: porcentaje; número de las diagonales superiores: 4; y penalización por hueco: 5. Para el alineamiento múltiple de secuencias de ácidos nucleicos, se utilizan los siguientes parámetros: penalización por apertura de hueco: 10.; penalización por extensión de hueco: 5,0; y transiciones de peso: sí. Para un rápido alineamiento por pares de secuencias de péptidos se utilizan los siguientes parámetros: tamaño de la palabra: 1; tamaño de la ventana: 5; método de puntuación: porcentaje; número de las diagonales superiores: 5; penalización por hueco: 3. Para el alineamiento múltiple de secuencias de péptidos se utilizan los siguientes parámetros: peso de la matriz: blosum; penalización por apertura de hueco: 10.; penalización por extensión de hueco: 0,5; huecos hidrófilos: on; residuos hidrófilos: Gly, Pro, Ser, Asn, Asp, Gln, Glu, Arg y Lys; penalizaciones por hueco específico para residuos: on. La salida ClustalW es un alineamiento de secuencia que refleja la relación entre las secuencias. ClustalW se puede ejecutar, por ejemplo, en el sitio Baylor College of Medicine Search Launcher (searchlauncher.bcm.tmc.edu/multi-align/multi-align.html) y en el sitio del Instituto Europeo de Bioinformática en la World Wide Web (ebi.ac.uk/clustalw).

Para determinar el porcentaje de identidad de un ácido nucleico o una secuencia de aminoácidos candidato a una secuencia de referencia, las secuencias se alinean utilizando ClustalW, el número de coincidencias idénticas en la alineación se divide por la longitud de la secuencia de referencia y el resultado se multiplica por 100. Se observa que el valor de porcentaje de identidad puede ser redondeado a la décima más cercana. Por ejemplo, 78,11, 78,12, 78,13, 78,14 y se redondean a 78,1, mientras que 78,15, 78,16, 78,17, 78,18 y 78,19 se redondean a 78,2.

La variable m es un número entero de 1 a 3. En algunas realizaciones, m es 1.

En algunas realizaciones, un péptido portador se puede elegir de:

K-K-K-K-L-R-V-R-L-A-S-H-L-R-K-L-R-K-R-L-L-R-D-A (SEQ ID NO: 19);

K-K-K-K-K-K-K-L-R-V-R-L-A-S-H-L-R-K-L-R-K-R-L-L-R-D-A (SEQ ID NO: 20);

K-K-K-K-K-K-K-K-K-K-L-R-V-R-L-A-S-H-L-R-K-L-R-K-R-L-L-R-D-A (SEQ ID NO: 21);

K-K-K-K-K-K-K-K-K-K-K-K-K-L-R-V-R-L-A-S-H-L-R-K-L-R-K-R-L-L-R-D-A (SEQ ID NO: 22); y

K-K-K-K-K-K-K-K-K-K-K-K-K-K-K-K-L-R-V-R-L-A-S-H-L-R-K-L-R-K-R-L-L-R-D-A (SEQ ID NO: 23).

Complejos

También se proporcionan en esta memoria complejos que tienen una molécula biológicamente activa o un agente formador de imágenes asociado a un péptido portador tal como se describe en esta memoria. En algunas formas de realización, la molécula biológicamente activa o el agente formador de imágenes está unido de forma no covalente al péptido portador.

Tal como se utiliza en esta memoria, una "molécula biológicamente activa" incluye cualquier molécula que, si es transportada a través de la barrera hematoencefálica, puede tener un efecto biológico. Ejemplos de moléculas biológicamente activas incluyen polipéptidos, que incluyen dominios funcionales de moléculas biológicamente activas, ejemplos particulares incluyen factores de crecimiento, enzimas, factores de transcripción, toxinas, péptidos antigénicos (tales como para vacunas), anticuerpos y fragmentos de anticuerpos. Por ejemplo, factor neurotrófico derivado del cerebro, factor de crecimiento de fibroblastos (p. ej., (FGF)-2 o FGFs múltiples), factor de crecimiento nervioso, neurotrofina (p. ej., NT-3 y NT-4/5), factor neurotrófico derivado de la glia, factor neurotrófico ciliar, neurturina, neuregulinas, interleucinas, factor de crecimiento transformante (p. ej., TGF- α y TGF- β), péptido intestinal vasoactivo, factor de crecimiento epidérmico (EGF), eritropoyetina, factor de crecimiento de hepatocitos, factor de crecimiento derivado de plaquetas, artemina, persefina, netrinas, cardiotrofina-1, factor de células madre, midkina, pleiotrofina, proteínas morfogénicas óseas, saposinas, semaporinas, factor inhibidor de leucemia, anti-A β , anti-HER2, anti-EGF, anti-nogo A, anti-TRAIL (ligando inductor de apoptosis relacionado con el factor de necrosis tumoral), anti- α -sinucleína, anti-htt, anti-priones, anti-virus del Nilo Occidental, α L-iduronidasa, iduronato-2-sulfatasa, N-acetil-galactosamina-6-sulfatasa, arilsulfatasa B, α -glucosidasa ácida y esfingomielinasa ácida (Véase, Pardridge, WM, *Bioconj. Chem.* 19 (7): 1327-38 **2008**). Ejemplos adicionales de moléculas biológicamente activas incluyen oligonucleótidos tales como plásmidos naturales o modificados que codifican secuencias de ADN, secuencias de ADN antisentido, ARNms, secuencias de ARN antisentido, ARNis y ARNsis; hidratos de carbono; lípidos; y glicolípidos.

Ejemplos adicionales de moléculas biológicamente activas incluyen moléculas pequeñas, incluyendo agentes terapéuticos, en particular aquellos con una baja permeabilidad a la barrera hematoencefálica. Algunos ejemplos de estos agentes terapéuticos incluyen fármacos contra el cáncer tales como daunorubicina y productos químicos tóxicos que, debido a la menor dosis que se puede administrar mediante este método, ahora se pueden administrar de forma más segura. Por ejemplo, un agente terapéutico puede incluir bevacizumab, irinotecan, zoledronato y temozolomida.

En otra realización, el agente terapéutico puede incluir un antibiótico de amplio espectro (p. ej., cefotaxima, ceftriaxona, ampicilina y vancomicina); un agente antiviral (p. ej., aciclovir); acetazolamida; carbamazepina; clonazepam; clorazepato dipotásico; diazepam; divalproex sódico; etosuximida; felbamato; fosfenitoína sódica; gabapentina; lamotrigina; levetiracetam; lorazepam; oxcarbazepina; fenobarbital; fenitoína; fenitoína sódica; pregabalina; primidona; hidrocóloruro de tiagabina; topiramato; trimetadiona; ácido valproico; zonisamida; copaxone; tysabri; novantrona; donezepil HCl; rivastigmina; galantamina; memantina; levodopa; carbidopa; parlorel, permax, requip, mirapex; symmetrel; artane; cogentin; eldepryl; y deprenil.

Numerosos otros ejemplos de moléculas biológicamente activas resultarán evidentes para el experto en la materia.

Todavía otro ejemplo de una molécula biológicamente activa es un péptido antigénico. Los péptidos antigénicos se pueden administrar para proporcionar protección inmunológica cuando son importados por células implicadas en la respuesta inmune. Otros ejemplos incluyen péptidos inmunosupresores (p. ej., péptidos que bloquean las células T autorreactivas, péptidos que son conocidos en la técnica).

Se pueden utilizar polipéptidos de unos pocos aminoácidos a aproximadamente mil aminoácidos. En algunas formas de realización, el intervalo de tamaños de polipéptidos es de unos pocos aminoácidos a aproximadamente 250 aminoácidos (p. ej., aproximadamente 3 a aproximadamente 250 aminoácidos; aproximadamente 20 a aproximadamente 250 aminoácidos; aproximadamente 50 a aproximadamente 250 aminoácidos; aproximadamente 100 a aproximadamente 250 aminoácidos; aproximadamente 150 a aproximadamente 250 aminoácidos; aproximadamente 3 aminoácidos a aproximadamente 200 aminoácidos; aproximadamente 3 aminoácidos a aproximadamente 150 aminoácidos; aproximadamente 3 aminoácidos a aproximadamente 175 aminoácidos; aproximadamente 3 aminoácidos a aproximadamente 125 aminoácidos; aproximadamente 25 aminoácidos a aproximadamente 200 aminoácidos; aproximadamente 50 aminoácidos a aproximadamente 150 aminoácidos, y aproximadamente 75 aminoácidos a aproximadamente 225 aminoácidos). Para cualquier molécula, los intervalos de tamaños pueden ser de hasta aproximadamente un peso molecular de aproximadamente 1 millón. En algunas formas de realización, el tamaño oscila entre un peso molecular de aproximadamente 25.000, y en realizaciones particulares, los intervalos de tamaños puede ser de hasta un peso molecular de aproximadamente 3.000.

Por "antisentido" se quiere dar a entender una molécula de ácido nucleico no enzimática que se une a un ARN diana por medio de interacciones ARN-ARN o ARN-ADN o ARN-APN (ácido nucleico proteína; Egholm *et al.*, **1993** *Nature* 365, 566) y altera la actividad del ARN diana (para una revisión, véase Stein y Cheng, **1993** *Science* 261, 1004; Agrawal *et al.*, patente de EE.UU. N° 5.591.721; Agrawal, patente de EE.UU. N° 5.652.356). Típicamente, las

moléculas antisentido serán complementarias a una secuencia diana a lo largo de una única secuencia contigua de la molécula antisentido. Sin embargo, en determinadas formas de realización, una molécula antisentido puede unirse a un sustrato de tal manera que la molécula de sustrato forma un bucle y/o una molécula antisentido puede unirse de tal manera que la molécula antisentido forma un bucle. Por lo tanto, la molécula antisentido puede ser complementaria a dos (o incluso más) secuencias de sustrato no contiguas o dos (o incluso más) porciones de secuencias no contiguas de una molécula antisentido pueden ser complementarias a una secuencia diana o ambos.

Se pueden utilizar secuencias de ARN de interferencia (ARNi) y ARN de interferencia corto (ARNsi) para modular (p. ej., inhibir) la expresión de genes (véase, p. ej., Elbashir *et al.*, 2001, Nature, 411, 494-498; y Bass, 2001, Nature, 411, 428-429; Bass, 2001, Nature, 411, 428-429; y Kreutzer *et al.*, Publicación Internacional PCT N° WO 00/44895; Zernicka-Goetz *et al.*, publicación Internacional PCT N° WO 01/36646; Fire, Publicación Internacional PCT N° WO 99/32619; Plaetinck *et al.*, Publicación Internacional PCT N° WO 00/01846; Mello y Fire, Publicación Internacional PCT N° WO 01/29058; Deschamps-Depaillette, Publicación Internacional PCT N° WO 99/07409; y Li *et al.*, Publicación Internacional PCT N° WO 00/44914). En una realización, una molécula de ARNsi comprende un ARN de doble cadena, en el que una cadena del ARN es complementaria al ARN de interés. En otra realización, una molécula de ARNsi comprende un ARN de doble cadena, en el que una cadena del ARN comprende una parte de una secuencia de un ARN de interés. En aún otra realización, una molécula de ARNsi de la invención comprende un ARN de doble cadena en el que las dos cadenas de ARN están conectadas por un enlazador de no nucleótidos. Alternativamente, una molécula de ARNsi de la invención comprende un ARN de doble cadena, en el que las dos cadenas de ARN están conectadas por un enlazador de nucleótidos tal como una estructura de bucle o de tallo-bucle.

El término "anticuerpo", tal como se utiliza en esta memoria, se refiere a moléculas de inmunoglobulina y partes inmunológicamente activas de moléculas de inmunoglobulina (es decir, moléculas que contienen un sitio de unión a antígeno que se une específicamente a un péptido). Un anticuerpo puede ser un anticuerpo monoclonal, un anticuerpo policlonal, un anticuerpo humanizado, un anticuerpo completamente humano, un anticuerpo de cadena sencilla, un anticuerpo quimérico, o un fragmento de los mismos. La expresión "fragmento de anticuerpo" de un anticuerpo de longitud completa se refiere a uno o más fragmentos de un anticuerpo de longitud completa que conservan la capacidad de unirse específicamente a una diana de interés.

Un agente formador de imágenes, tal como se usa en esta memoria, puede ser cualquier producto químico o sustancia que se utiliza para proporcionar la señal o el contraste en la formación de imágenes. El dominio potenciador de señales puede ser una molécula orgánica, ion, sal o quelato metálico, partículas (particularmente partícula de hierro), o péptido marcado, proteína, polímero o liposoma.

En algunas formas de realización, el agente formador de imágenes es un compuesto de quelato metálico fisiológicamente compatible que consiste en uno o más agentes quelantes orgánicos cíclicos o acíclicos complejados con uno o más iones metálicos con números atómicos 21-29, 42, 44 o 57-83.

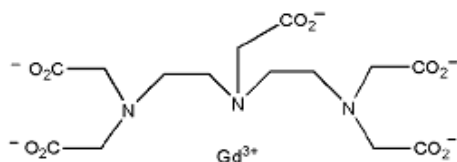
Para la formación de imágenes por rayos x, el agente formador de imágenes puede consistir en moléculas orgánicas yodadas o quelatos de iones de metales pesados de números atómicos 57 a 83. En algunas formas de realización, el agente formador de imágenes es ¹²⁵I-IgG. Ejemplos de compuestos adecuados se describen en M. Sovak, comp., "Radiocontrast Agents", editorial Springer, págs. 23-125 (1984) y la patente de EE.UU. N° 4.647.447.

Para la formación de imágenes por ultrasonidos, el agente de formación de imágenes puede consistir en burbujas llenas de gas tales como Albunex, Echovist o Levovist, o partículas o quelatos metálicos, en donde los iones de metales tienen números atómicos 21-29, 42, 44 ó 57-83. Ejemplos de compuestos adecuados se describen en Tyler *et al.*, Ultrasonic Imaging, 3, págs. 323-29 (1981) y D.P. Swanson, "Enhancement Agents for Ultrasound Fundamentals", Pharmaceuticals in Medical Imaging, págs. 682-87. (1990).

Para la formación de imágenes radiofarmacéutica nuclear o la radioterapia, el agente formador de imágenes puede consistir en una molécula radiactiva. En algunas formas de realización, se pueden utilizar los quelatos de Tc, Re, Co, Cu, Au, Ag, Pb, Bi, In y Ga. En algunas formas de realización, se pueden utilizar los quelatos de Tc-99m. Ejemplos de compuestos adecuados se describen en GVS, Radiotracers for Medical Applications, I, págs. 201 y D. P. Swanson *et al.*, comp., Pharmaceuticals in Medical Imaging, págs. 279-644 (1990).

Para la formación de imágenes de luz ultravioleta/visible/infrarroja, el agente formador de imágenes puede consistir en cualquier tinte orgánico o inorgánico o cualquier quelato metálico.

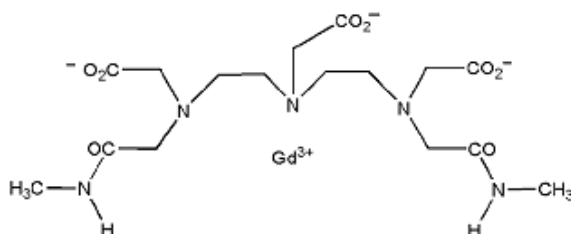
Para MRI, el agente formador de imágenes puede consistir en un complejo de metal-ligando de una forma paramagnética de un ión metálico con números atómicos 21-29, 42, 44 ó 57-83. En algunas formas de realización, el metal paramagnético se elige entre: Gd(III), Fe(III), Mn(II y III), Cr(III), Cu(II), Dy(III), Tb(III), Ho(III), Er(III) y Eu(III). Se conocen en la técnica muchos ligandos quelantes adecuados para agentes de MRI. Estos también se pueden utilizar para quelatos metálicos para otras formas de formación de imágenes biológicas. Por ejemplo, un agente formador de imágenes puede incluir:



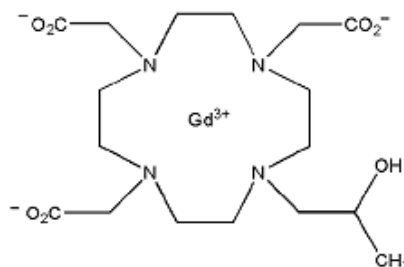
Magnevist
gadopentato de dimeglumina
DTPA



Dotarem
gadoterato de meglumina
DOTA



Omniscan
gadobutamida
DTPA-BMA



ProHance
gadoteridol
HP-DO3A

"Asociado con", tal como se utiliza en esta memoria, quiere dar a entender que la molécula biológicamente activa o el agente formador de imágenes se conjuga con el péptido portador de tal manera que cuando el péptido portador cruza la barrera hematoencefálica, también se importa la molécula o el agente. En determinadas formas de realización, la molécula biológicamente activa o el agente formador de imágenes está unido de forma no covalente al péptido portador. Por ejemplo, la molécula biológicamente activa y el péptido portador pueden estar asociados a través de interacciones electrostáticas. En otras formas de realización, el péptido portador puede estar unido de forma covalente, ya sea directa o indirectamente (p. ej., a través de un enlazador), a la molécula biológicamente activa o el agente formador de imágenes.

Un enlazador puede ser cualquier resto adecuado para la unión de un péptido portador a una molécula biológicamente activa. Un enlazador puede estar unido en el extremo C, el extremo N, o en ambos, de un péptido portador. Adicionalmente, un enlazador puede estar unido a la cadena lateral de un péptido portador. Si un péptido portador está unido a múltiples enlazadores, cada uno de los enlazadores puede ser diferente. Un enlazador puede estar unido de forma covalente a una cadena lateral de un aminoácido, p. ej., lisina, glutamina, cisteína, metionina, glutamato, aspartato, asparagina.

En algunas formas de realización una cadena lateral de aminoácido puede servir como el enlazador. Por ejemplo, el grupo épsilon amino (ϵ -NH₂) se puede utilizar para conjugar a un portador, por ejemplo a través de un enlace amida o tiourea. De manera similar, el grupo delta amino de ornitina (orn), el grupo gamma amino de ácido diaminobutírico (dab) o el grupo beta amino de ácido diamino-propiónico (dpr) también pueden actuar como enlazadores. Estos aminoácidos pueden estar en el extremo C o N del péptido portador o pueden estar situados dentro de la secuencia del péptido portador.

El complejo compuesto de una molécula biológicamente activa o agente formador de imágenes y un péptido portador se puede preparar por cualquier método conocido por los expertos ordinarios en la técnica. En algunas

formas de realización, el péptido portador y la molécula biológicamente activa o agente formador de imágenes se combinan, se incuban a temperatura ambiente y luego se utilizan. Por ejemplo, se pueden preparar disoluciones del péptido de administración (K16ApoE (SEQ ID NO: 22)) e IgG en PBS (solución salina tamponada con fosfato) u OptiMem (comercialmente disponible) o medios de cultivo celular sin suero en concentraciones deseadas. El péptido de administración e IgG se pueden mezclar en las relaciones deseadas y después se incuban a la temperatura ambiente durante 30-60 minutos. Después de la incubación, la mezcla está lista para la inyección/administración.

Combinaciones de la molécula biológicamente activa y péptido portador se pueden preparar en una diversidad de relaciones molares. Por ejemplo, una relación molar de molécula biológicamente activa a péptido portador puede oscilar entre aproximadamente 1:1 y aproximadamente 1:200 (p. ej., 1:2; 1:5; 1:8; 1:10; 1:25; 1:30; 1:40; 1:45; 1:50; 1:60; 1:65; 1:70; 1:75; 1:80; 1:90; 1:100; 1:125; 1:135; 1:145, 1:150, 1:175 y 1:190). En algunas formas de realización se utiliza un exceso molar de péptido portador a molécula biológicamente activa. Por ejemplo, la relación molar de molécula biológicamente activa a péptido portador puede oscilar entre aproximadamente 1:20 y aproximadamente 1:100 (p. ej., 1:50 a 1:90). En algunos casos, la relación puede ser de 1:70.

La expresión "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a sales que poseen perfiles de toxicidad dentro de un intervalo que proporciona utilidad en aplicaciones farmacéuticas. Sales farmacéuticamente inaceptables pueden poseer, no obstante, propiedades tales como alta cristalinidad, lo que puede hacerlas útiles, por ejemplo en procesos de síntesis, purificación o formulación de compuestos descritos en esta memoria. En general las propiedades útiles de los compuestos descritos en esta memoria no dependen críticamente de si el compuesto está o no está en una forma de sal, a menos que se indique claramente lo contrario (tal como especificando que el compuesto debería estar en forma de "base libre" o "ácido libre"), una referencia en la memoria a un péptido portador o a un complejo que comprende un péptido portador debe entenderse como que abarca formas de sal del compuesto, ya se establezca o no explícitamente.

Sales por adición de ácidos farmacéuticamente aceptables adecuadas se pueden preparar a partir de un ácido inorgánico o de un ácido orgánico. Ejemplos de ácidos inorgánicos incluyen ácidos clorhídrico, bromhídrico, yodhídrico, nítrico, carbónico, sulfúrico y fosfórico. Ácidos orgánicos apropiados pueden seleccionarse de las clases alifática, cicloalifática, aromática, aralifática, heterocíclica, carboxílica y sulfónica de ácidos orgánicos, ejemplos de los cuales incluyen ácido fórmico, acético, propiónico, succínico, glicólico, glucónico, láctico, málico, tartárico, cítrico, ascórbico, glucurónico, maleico, fumárico, pirúvico, aspártico, glutámico, benzoico, antranílico, 4-hidroxibenzoico, fenilacético, mandélico, embónico (pamoico), metanosulfónico, etanosulfónico, bencenosulfónico, pantoténico, trifluorometanosulfónico, 2-hidroxietanosulfónico, p-toluenosulfónico, sulfanílico, ciclohexilaminosulfónico, esteárico, alginico, β -hidroxibutírico, salicílico, galactárico y galacturónico. Ejemplos de sales por adición de ácidos farmacéuticamente inaceptables incluyen, por ejemplo, percloratos y tetrafluoroboratos.

Sales por adición de bases farmacéuticamente aceptables adecuadas incluyen, por ejemplo, sales metálicas, incluyendo sales de metales alcalinos, de metales alcalinotérreos y de metales de transición tales como, por ejemplo, sales de calcio, magnesio, potasio, sodio y zinc.

Sales por adición de bases farmacéuticamente aceptables incluyen también sales orgánicas preparadas a partir de aminas básicas tales como, por ejemplo, *N,N'*-dibenciletilendiamina, cloroprocaína, colina, dietanolamina, etilendiamina, meglumina (N-metilglucamina) y procaína. Ejemplos de sales por adición de bases farmacéuticamente aceptables incluyen sales de litio y sales de cianato.

Todas estas sales pueden prepararse por medios convencionales a partir del correspondiente péptido portador o complejo haciendo reaccionar, por ejemplo, el ácido o base apropiado con un péptido portador o complejo como se describe en esta memoria. Preferiblemente, las sales están en forma cristalina, y preferiblemente se preparan por cristalización de la sal en un disolvente adecuado. Una persona experta en la técnica sabrá cómo preparar y seleccionar formas de sales adecuadas, por ejemplo tal como se describe en el *Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection and Use* P. H. Stahl y C. G. Wermuth (Wiley-VCH, 2002).

Métodos de Uso

También se consideran en esta memoria métodos de utilizar péptidos portadores para transportar una molécula biológicamente activa o agente formador de imágenes a través de la barrera hematoencefálica de un sujeto. El método puede incluir administrar al sujeto un complejo que tiene una molécula biológicamente activa o agente formador de imágenes asociado con un péptido portador, o una sal farmacéuticamente aceptable, tal como se describe en esta memoria.

Un sujeto puede incluir tanto mamíferos como no mamíferos. Los mamíferos incluyen, por ejemplo, seres humanos; primates no humanos, p. ej., simios y monos; ganado; caballos; ovejas; ratas; ratones; cerdos; y cabras. No mamíferos incluyen, por ejemplo, peces y aves.

5 El transporte de una molécula biológicamente activa puede incluir la importación de la molécula a través de la barrera hematoencefálica.

Además se considera en esta memoria un método de tratamiento de un trastorno cerebral en un sujeto. El método puede incluir la administración al sujeto de un complejo que comprende un agente biológicamente activo asociado con un péptido portador tal como se describe en esta memoria. En algunos ejemplos, la molécula biológicamente activa es un agente terapéutico. En algunos ejemplos, el trastorno cerebral se elige entre: meningitis, epilepsia, 10 esclerosis múltiple, neuromielitis óptica, tripanosomiasis neurológica de fase tardía, Parkinson, leucoencefalopatía multifocal progresiva, enfermedad de De Vivo, enfermedad de Alzheimer, encefalitis por VIH, y cáncer.

En algunos ejemplos, el trastorno del cerebro es un cáncer de cerebro, por ejemplo astrocitoma, meduloblastoma, glioma, ependimoma, germinoma (pinealoma), glioblastoma multiforme, oligodendroglioma, schwannoma, retinoblastoma y tumores congénitos; o un cáncer de la médula espinal, p. ej., neurofibroma, meningioma, glioma y 15 sarcoma.

Esta descripción también proporciona un método de formación de imágenes del sistema nervioso central de un sujeto. En algunas formas de realización, el método puede incluir administrar al sujeto un complejo que comprende un agente formador de imágenes asociado con un péptido portador, tal como se describe en esta memoria, y la formación de imágenes del sistema nervioso central del sujeto.

20 El complejo se puede administrar por cualquier vía, p. ej., IV, intramuscular, SC, oral, intranasal, por inhalación, transdérmica y parenteral.

El complejo se puede formular con un soporte farmacéuticamente aceptable, seleccionado sobre la base de la vía de administración seleccionada y la práctica farmacéutica estándar. El complejo se puede formular en formas de dosificación de acuerdo con las prácticas estándar en el campo de las preparaciones farmacéuticas. Véase 25 Alphonso Gennaro, comp., *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 18ª Edición (1990), Mack Publishing Co., Easton, PA. Formas de dosificación adecuados pueden comprender, por ejemplo, comprimidos, cápsulas, disoluciones, disoluciones parenterales, trociscos, supositorios o suspensiones.

Para la administración por vía parenteral, el complejo se puede mezclar con un soporte o diluyente adecuado tal como agua, un aceite (en particular un aceite vegetal), etanol, solución salina, dextrosa acuosa (glucosa) y 30 disoluciones de azúcares relacionadas, glicerol, o un glicol tal como propilenglicol o polietilenglicol. Las disoluciones para administración parenteral contienen preferiblemente una sal soluble en agua del complejo. Se pueden añadir también agentes estabilizantes, agentes antioxidantes y conservantes. Agentes antioxidantes adecuados incluyen sulfito, ácido ascórbico, ácido cítrico y sus sales, y EDTA sódico. Conservantes adecuados incluyen cloruro de benzalconio, metil- o propil-parabeno, y clorobutanol. La composición para administración parenteral puede adoptar 35 la forma de una disolución, dispersión, suspensión o emulsión acuosa o no acuosa.

Para la administración oral, el complejo se puede combinar con uno o más ingredientes inactivos sólidos para la preparación de comprimidos, cápsulas, píldoras, polvos, gránulos u otras formas de dosificación oral adecuadas. Por ejemplo, el complejo se puede combinar con al menos un excipiente tal como cargas, aglutinantes, humectantes, 40 agentes disgregantes, retardantes de solución, aceleradores de la absorción, agentes humectantes, absorbentes o agentes lubricantes.

La dosis específica de un complejo se determinará, por supuesto, por las circunstancias particulares de cada uno de los pacientes individuales incluyendo el tamaño, peso, edad y sexo del paciente, la naturaleza y la fase de la enfermedad que se esté tratando, la agresividad del trastorno patológico y la vía de administración del compuesto.

Composiciones farmacéuticas

45 Se proporcionan en esta memoria composiciones farmacéuticas que comprenden una molécula biológicamente activa o agente formador de imágenes asociado con un péptido portador. En algunas formas de realización, la

molécula biológicamente activa o el agente formador de imágenes está unido de forma no covalente al péptido portador.

- 5 Las composiciones farmacéuticas proporcionadas en esta memoria contienen una molécula biológicamente activa o agente formador de imágenes asociado con un péptido portador en una cantidad que resulta en el transporte de la molécula biológicamente activa o agente formador de imágenes a través de la barrera hematoencefálica, y un soporte farmacéuticamente aceptable. Soportes farmacéuticos adecuados para la administración de los compuestos proporcionados en esta memoria incluyen cualquiera de los soportes conocidos por los expertos en la técnica por ser adecuados para el modo particular de administración.
- 10 Las composiciones se pueden formular, en una forma de realización, en preparaciones farmacéuticas adecuadas tales como disoluciones, suspensiones, comprimidos, comprimidos dispersables, píldoras, cápsulas, polvos, formulaciones de liberación sostenida o elixires para la administración oral o en disoluciones o suspensiones estériles para la administración parenteral y la inyección intraperitoneal, así como la preparación de un parche transdérmico, inhaladores de polvo seco y ungüentos (véase, p. ej., Ansel Introduction to Pharmaceutical Dosage Forms, Cuarta Edición 1985, 126).
- 15 La concentración de la molécula biológicamente activa o agente formador de imágenes asociado con un péptido portador en la composición farmacéutica dependerá de las tasas de absorción, inactivación y excreción de los compuestos, de las características físico-químicas de los compuestos, de la pauta de dosificación y de la cantidad administrada, así como de otros factores conocidos por los expertos en la técnica.
- 20 La composición farmacéutica puede administrarse de una vez, o puede dividirse en un cierto número de dosis más pequeñas a ser administradas a intervalos de tiempo. Se entiende que la dosificación precisa y la duración del tratamiento es una función de la enfermedad que esté siendo tratada y éstas pueden determinarse empíricamente utilizando protocolos de ensayo conocidos o mediante extrapolación a partir de datos de ensayo *in vivo* o *in vitro*. Es de señalar que las concentraciones y los valores de dosificación también pueden variar con la gravedad de la afección a aliviar. Ha de entenderse, además, que para cualquier sujeto particular, los regímenes de dosificación
- 25 específicos deberían ajustarse a lo largo del tiempo de acuerdo con la necesidad individual y el juicio profesional de la persona que administra o supervisa la administración de las composiciones, y que los intervalos de concentración establecidos en esta memoria son a modo de ejemplo solamente y no pretenden limitar el alcance o la práctica de las composiciones reivindicadas.
- 30 Las composiciones farmacéuticas se proporcionan para la administración a seres humanos y animales en formas de dosificación unitarias tales como comprimidos, cápsulas, píldoras, polvos, gránulos, disoluciones o suspensiones parenterales estériles, y disoluciones o suspensiones orales, y emulsiones de aceite en agua que contienen cantidades adecuadas de los compuestos o derivados farmacéuticamente aceptables de los mismos. Los compuestos farmacéuticos terapéuticamente activos y derivados de los mismos, en una forma de realización, se formulan y administran en formas de dosificación unitaria o en formas de dosificación múltiple. Formas de dosis
- 35 unitaria tal como se utilizan en esta memoria se refieren a unidades físicamente discretas adecuadas para sujetos humanos y animales y envasadas individualmente tal como se conoce en la técnica. Cada dosis unitaria contiene una cantidad predeterminada del compuesto terapéuticamente activo, suficiente para producir el efecto terapéutico deseado, en asociación con el soporte, vehículo o diluyente farmacéutico requerido. Ejemplos de formas de dosis unitaria incluyen ampollas y jeringas y comprimidos o cápsulas envasados individualmente. Formas de dosis
- 40 unitarias se pueden administrar en fracciones o múltiplos de las mismas. Una forma de dosis múltiple es una pluralidad de formas de dosificación unitaria idénticas envasadas en un único recipiente a administrar en forma de dosis unitaria segregada. Ejemplos de formas de dosis múltiples incluyen viales, frascos de comprimidos o cápsulas o botellas de pintas o galones. Por lo tanto, la forma de dosis múltiple es un múltiplo de dosis unitarias que no se segregan en el envasado.
- 45 Composiciones líquidas farmacéuticamente administrables pueden prepararse, por ejemplo, mediante disolución, dispersión, o mezclando de otra manera un compuesto activo tal como se define arriba y adyuvantes farmacéuticos opcionales en un soporte tal como, por ejemplo, agua, solución salina, dextrosa acuosa, glicerol, glicoles, etanol, y similares, para formar de este modo una disolución o suspensión. Si se desea, la composición farmacéutica a administrar puede contener también cantidades menores de sustancias auxiliares no tóxicas tales como agentes
- 50 humectantes, agentes emulsionantes, agentes solubilizantes, agentes tamponadores del pH y similares, por ejemplo acetato, citrato de sodio, derivados de ciclodextrina, monolaurato de sorbitán, acetato sódico de trietanolamina, oleato de trietanolamina, y otros agentes de este tipo.

Métodos reales para preparar formas de dosificación de este tipo son conocidos, o resultarán evidentes para los expertos en esta técnica; por ejemplo, véase Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, Pa., 15ª Edición, 1975.

- 5 Se pueden preparar formas de dosificación o composiciones que contienen una molécula biológicamente activa o un agente formador de imágenes asociado con un péptido portador en el intervalo de 0,005% a 100%, estando el resto constituido por un soporte no tóxico. Métodos para la preparación de estas composiciones son conocidos para los expertos en la técnica. Las composiciones contempladas pueden contener 0,001% - 100% de ingrediente activo, en una forma de realización 0,1-95%, en otra forma de realización 75-85%.

Kits

- 10 También se proporcionan en esta memoria kits. Típicamente, un kit incluye un péptido portador tal como se describió previamente. En algunas formas de realización, un kit incluye un péptido portador y una molécula biológicamente activa y/o un agente formador de imágenes. En determinadas formas de realización, un kit puede incluir uno o más sistemas de administración, p. ej., para una molécula biológicamente activa, agente formador de imágenes, péptido portador, o cualquier combinación de los mismos, y las instrucciones de uso del kit (p. ej., instrucciones para la
- 15 administración a un sujeto). En determinadas formas de realización, un kit puede incluir una molécula biológicamente activa y/o un agente formador de imágenes, y/o un complejo de una molécula biológicamente activa o agente formador de imágenes y un péptido portador. En algunas formas de realización, el kit puede incluir un péptido portador y una etiqueta que indique que el contenido se ha de administrar a un sujeto con una molécula biológicamente activa o un agente formador de imágenes.

20 EJEMPLOS

Generalidades

Materiales:

- 25 Todos los ratones utilizados (B6SJLF1) eran hembras y se adquirieron de Jackson Laboratories. Los ratones fueron mantenidos y utilizados siguiendo un protocolo aprobado por IRB. β -galactosidasa bacteriana se adquirió de Calbiochem (Nº de catálogo 345788). IgG e IgM humanas se adquirieron de Sigma (Números de Producto I 4506 y I8260, respectivamente). El anticuerpo monoclonal 4G8 (Nº de cat SIG-39220) se adquirió de Covance (Emeryville, CA). El anticuerpo del receptor de LDL era de abcam (Nº de Cat ab30532).

Todos los péptidos se sintetizaron en la Instalación Mayo Proteomic Core

- 30 **Preparación del complejo de péptido-proteína para la administración al cerebro:** La cantidad requerida del péptido y la proteína se mezclaron en un volumen final de 300 μ L de PBS (solución salina tamponada con fosfato), y se incubó a temperatura ambiente durante 60 minutos. La mezcla se sometió a vórtice durante unos pocos segundos, cada quince minutos durante el periodo de incubación.

- 35 La mezcla se inyectó por vía intravenosa en forma de un bolo en el lumen de la vena femoral. Esto se logró utilizando un catéter PE50 estirado por calor. A la conclusión del experimento, el ratón fue sacrificado con una dosis letal de pentobarbital de sodio. Cada uno de los ratones fue perfundido con 10 mL de PBS. Esta perfusión se logró a través del método transcardial estándar. Se extrajo el cerebro del cráneo y se colocó para practicar un corte coronal inicial a -2,0 mm del bregma. Subsiguientemente, se cortaron secciones coronales de 25 μ m en un criostato y se colocaron en portaobjetos cargados para la tinción de la actividad β -galactosidasa.

- 40 **Tinción para la actividad de la enzima beta-galactosidasa:** Una evaluación de la actividad enzimática de β -galactosidasa se llevó a cabo mediante una fijación inicial durante 15 minutos de las secciones de cerebro en glutaraldehído al 0,25%. Los portaobjetos se lavaron con 3 cambios de PBS durante 5 minutos cada uno y luego se enjuagaron en agua destilada durante 5 minutos. Las secciones de cerebro se incubaron en disolución de trabajo X-Gal (al 0,2%), pH 7,38, durante 18 horas a 37 C en recipientes tapados. Después de esta incubación las secciones se deshidrataron y se aplicaron cubreobjetos.

Formación de imágenes por microSPECT: Se llevaron a cabo experimentos micro SPECT/CT en un Sistema Gamma Medica SPECT X (GE Healthcare). IgG (Sigma) e IgM (Sigma) humanas se marcaron a una alta actividad específica utilizando el método cloramina-T. 80 µg (500 µCi) de cada una de las inmunoglobulinas (corresponde a 0,53 nanomoles de IgG y a 0,13 nanomoles de IgM, asumiendo pesos moleculares de 150 Kd y 600 Kd para IgG e IgM, respectivamente) se mezclaron con un exceso molar de 70 veces de K16ApoE (SEQ ID NO: 22) (según se requiera para el experimento) durante 1 hora a temperatura ambiente y se administraron a cada uno de los ratones mediante el uso de un catéter en la vena femoral. Inmediatamente después de la inyección en bolo intravenosa, se obtuvieron imágenes de cada uno de los ratones cada hora durante un total de 6 horas. Al completarse el tiempo de 6 horas, cada uno de los ratones fue sacrificado y el suministro de sangre sistémica se perfundió de forma transcardial con 10 mL de solución salina tamponada con fosfato, y se representó en imágenes después de 30 minutos.

Ejemplo 1 – Administración de IgG radiomarcada a través de la BBB

Se evaluó la administración de IgG radiomarcada a través de la BBB en diferentes regiones del cerebro en ratones con y sin el péptido K₁₆ApoE (SEQ ID NO 22). Además, se examinó la integridad de la BBB después de la administración de IgG con K₁₆ApoE (SEQ ID NO 22). 3 µmol de ¹²⁵I-IgG se mezclaron con cantidades variables del péptido K₁₆ApoE (SEQ ID NO 22) (0 - 55 µmol) y la mezcla se inyectó por vía intravenosa en los ratones. ¹³¹I-IgG no complejada con el péptido se inyectó en los mismos animales en 59 minutos y se dejó que circulara durante 1 minuto después de la inyección en la vena femoral inicial de ¹²⁵I-IgG + K₁₆ApoE (SEQ ID NO 22). La captación de ¹²⁵I-IgG e ¹³¹I-IgG se midieron en diferentes áreas del cerebro después de 60 minutos.

Tabla 1.

PSx10 ⁶ (ml/g/s)	IgG, 3 µmol	+ApoE, 8 µmol	+ApoE, 16 µmol	+ApoE, 32 µmol	+ApoE, 55 µmol
Córtex	0,13+- 0,02	0,30	0,47	9,58	15,30
Caudado	0,09+-0,01	0,35	0,86	16,65	22,60
Hipo	0,17+-0,02	0,58	1,05	12,52	20,90
Tálamo	0,13+-0,02	0,29	1,37	19,60	21,00
Bulbo raquídeo	0,20+-0,02	0,45	1,64	22,90	18,40
Cerebelo	0,15 +-0,02	0,48	0,72	13,43	21,60
Vp (ul/g)					
Córtex	13,53+-0,98	21,39	21,22	16,41	25,59
Caudado	8,53+-0,52	14,44	11,67	12,89	20,10
Hipo	15,13+-2,35	17,49	16,95	12,67	21,83
Tálamo	13,79+-1,09	19,96	21,00	18,34	26,92
Bulbo raquídeo	22,32+-1,51	19,02	31,50	20,54	34,60
Cerebelo	20,79+-1,24	21,28	23,74	19,79	24,31
N (nº de ratones)	4	2	2	2	1

Los valores de PS reflejan la cantidad de ¹²⁵I-IgG que ha atravesado la BBB, mientras que los valores Vp indican la cantidad de ¹³¹I-IgG en la BBB, pero que no ha atravesado la BBB.

Tal como se muestra en la Tabla 1, los valores de PS con IgG sola son muy pequeños para todas las regiones del cerebro, lo que indica muy poco transporte de la IgG a través de la BBB. Sin embargo, los valores aumentaron significativamente (~ 100 veces en 55 µmol de K₁₆ApoE (SEQ ID NO: 22)) con cantidades crecientes del péptido de administración.

Por otro lado, los valores Vp permanecieron prácticamente sin cambios en todas las regiones del cerebro examinadas, lo que indica que ¹³¹I-IgG no pudo atravesar la BBB (ya que no estaba complejada con el péptido), y avalando la noción de que la BBB no fue dañada debido a la exposición previa al péptido (durante la administración de ¹²⁵I-IgG complejada con K₁₆ApoE (SEQ ID NO: 22)).

5 *Ejemplo 2 - Administración de IgG alexa asistida por K₁₆ApoE (SEQ ID NO: 22) en el cerebro*

En este experimento, IgG488Alexa se inyectó en ratones con o sin mezcladura con el péptido K₁₆ApoE (SEQ ID NO: 22). Se realizaron secciones del cerebro 1 hora después de la administración. Tal como se muestra en la FIG. 1, el agente complejo muestra un contraste significativamente más brillante y la mejora de las estructuras del cerebro en comparación con la IgG488Alexa no complejada.

10 *Ejemplo 3 - Administración de péptido ApoE (sin resto K₁₆ (SEQ ID NO: 4)) a través de la BBB y unión del péptido a los receptores de LDL*

Los experimentos evaluarán el péptido ApoE (sin el resto K₁₆ (SEQ ID NO: 4)) que atraviesa la BBB y si se unirá a/localizará en receptores de LDL (LDLR) expresados en el cerebro. Un péptido ApoE marcado con FITC se sintetizará y se inyectará a ratones. Se recogerán muestras de cerebro después de 1 hora tras la inyección, y se prepararán láminas con secciones de cerebro de 10 micras de espesor. Las láminas se tiñeran con anticuerpo contra LDLR y se evaluarán para determinar si las señales para LDLR y el péptido ApoE están co-localizadas.

Ejemplo 4 - Ubicación de K₁₆ApoE (SEQ ID NO: 22) después de la administración a través de la BBB

Los experimentos determinarán la ubicación de la administración de proteínas por parte del péptido portador (K₁₆ApoE (SEQ ID NO: 22)) dentro del cerebro. Conjugado de K₁₆ApoE (p. ej., SEQ ID NO: 22) + IgG Alexa (fluorescencia verde) se preparará mezclando disoluciones de cada uno a las concentraciones deseadas e incubando la mezcla a temperatura ambiente durante 30 minutos. El complejo se inyectará a ratones y muestras del cerebro se recogerán al cabo de 1 hora. Las láminas se prepararán como antes, y se inmunotefñiran para GFAP, calbindina y neuregulina. Si se observa una ubicación conjunta de IgG y GFAP, este resultado puede indicar que la IgG administrada alcanzó los astrocitos. La ubicación conjunta de IgG y calbindina o neuregulina, sin embargo, puede indicar que la IgG administrada alcanzó las neuronas.

Ejemplo 5 - Integridad comprometida de la BBB por parte de K₁₆ApoE (SEQ ID NO: 22)

Estos experimentos evaluarán si el K₁₆ApoE (p. ej., SEQ ID NO: 22), solo o después de la formación de un complejo, compromete la integridad de la BBB. Se preparará n complejo con K₁₆ApoE (SEQ ID NO: 22) + IgGAlexa Rojo y se inyectará a ratones. Después de 1 hora se inyectará IgG Alexa Verde no complejoado. Se recogerán muestras de cerebro 1 hora después de la segunda inyección, y se prepararán láminas utilizando secciones de 10 micras. Las secciones se visualizarán utilizando microscopía confocal. En otros ratones, se implementará lo contrario el enfoque experimental utilizando IgG Alexa Verde complejoado con K₁₆ApoE (SEQ ID NO: 22) e IgG Alexa Rojo no complejoado. Si el péptido no compromete la BBB, entonces sólo se verá una fluorescencia roja en las células en el cerebro. Sin embargo, si el péptido compromete la BBB, entonces se verán tanto la fluorescencia roja como la verde, y viceversa.

Ejemplo 6 - Evaluación de microSPECT

Una máquina microSPECT puede representar en imágenes y cuantificar la radiactividad en diversos tejidos en los animales vivos bajo anestesia. Si K₁₆ApoE (SEQ ID NO: 22) de hecho porta una proteína (radiactiva) a través de la BBB, entonces debería haber más radiactividad en el cerebro de ratones a los que se inyectó un complejo péptido-proteína de este tipo que en el cerebro de ratones a los que se inyectó la proteína radiactiva sola.

IgG 4,1 (un anticuerpo contra la proteína precursora de amiloide (APP)) fue radioyodada. IgG4.1 sola o previamente complejada con K₁₆ApoE (SEQ ID NO: 22) se inyectó en un cierto número de ratones. Los ratones se anestesiaron y el cerebro se representó en imágenes con una máquina microSPECT a intervalos de 1 hora. La perfusión se realizó para algunos ratones después de seis horas de formación de imágenes cuantitativa, seguido de formación de imágenes después de 30 minutos.

La radiactividad medida en cada instante para cada uno de los ratones se representó gráficamente frente al tiempo (FIG. 2). Siete animales se utilizaron en total, que se numeran M3-M9. Los ratones M3 y M4 no fueron perfundidos. Dos ratones (M5 y M7) que recibieron IgG 4.1 fueron perfundidos después de 6 horas de la formación de imágenes, y tres ratones (M6, M8 y M9) recibieron la IgG complejada con el péptido de administración fueron perfundidos después de 6 horas de la formación de imágenes, seguido de la formación de imágenes a las 6,5 horas.

Es claro a partir de los datos presentados en la FIG. 2 que se registró ~ 2 veces más radiactividad en los cerebros de ratones a los que se administró la IgG complejada con el péptido que la IgG sola. Esta diferencia aumentó a casi 5 veces cuando se perfundieron los animales.

La radiactividad en los cerebros de los ratones que recibieron IgG sola indicaba que moléculas de IgG fueron retenidas en los capilares. La acumulación incrementada de radiactividad en los cerebros de los ratones que recibieron la IgG complejada con el péptido de administración indicaba que IgG estaba presente en los capilares, así como que había atravesado la BBB y estaba retenida en el cerebro. Si la IgG atraviesa la BBB y es retenida en células del cerebro, entonces la perfusión de los cerebros debería eliminar IgGs en los capilares, pero las IgGs que han atravesado la BBB deberían aún quedar retenidas, lo cual es esencial para los ratones M6, M8 y M9, proporcionando un fuerte indicio de que el péptido ayuda a transportar la proteína (IgG) a través de la BBB en el cerebro.

Ejemplo 7 – Administración de proteína a través de la BBB

Para evaluar el potencial de K16ApoE (SEQ ID NO: 22) para administrar una proteína a través de la BBB, la enzima β -galactosidasa se inyectó en ratones con o sin mezcla previa con K16ApoE (SEQ ID NO: 22) (a una relación molar de proteína a péptido de 1:70). El experimento se repitió más de una docena de veces. En esta serie de experimentos, se observó una intensa actividad de β -galactosidasa en el cerebro de ratones cuando se inyectó la mezcla de enzima-péptido y rodajas de cerebro se prepararon para la tinción de la actividad enzimática 6 horas después de la inyección, mientras que no se observó actividad alguna cuando la enzima se inyectó sola (FIG. 3A). Exploraciones de alto aumento de las imágenes de las secciones teñidas con β -galactosidasa en el cerebro demostraron que la enzima fue administrada en prácticamente todas las zonas del cerebro y tiñó tanto astrocitos como neuronas, sin embargo, las células piramidales en el hipocampo mostraron una tinción mucho más débil para la actividad de β -galactosidasa en comparación con células en otras zonas del cerebro. La débil tinción de la actividad de β -galactosidasa en las células piramidales no parece ser debida a la baja expresión de LDLR en el hipocampo de ratón, ya que las células en esta región exhiben una fuerte tinción inmunohistoquímica para el receptor. Se especula que, o bien X-gal o 5-bromo-4-cloroindol, o ambos, se separan de alguna manera por lixiviación fuera de esta región más rápidamente que otras regiones del cerebro, resultando una débil señal para la actividad de β -galactosidasa.

Para evaluar si la administración de β -galactosidasa en el cerebro a través de K16ApoE (SEQ ID NO: 22) está mediada por LDLR, también se evaluó la tinción de β -galactosidasa en hígado, cerebro, riñón, corazón y pulmón después de la inyección de la enzima con y sin mezcla con K16ApoE (SEQ ID NO: 22). La tinción más intensa se observó en el hígado y el cerebro, seguido de la tinción en el pulmón, corazón y riñón (FIG. 3B-G). Este patrón de absorción de beta-galactosidasa por parte de K16ApoE (SEQ ID NO: 22) en diversos órganos sigue aproximadamente el modelo de patrón de expresión LDLR reseñado, sugiriendo que la administración de β -galactosidasa a través de K16ApoE (SEQ ID NO: 22) es mediada por LDLR.

Ejemplo 8 - Administración de IgG e IgM utilizando K16ApoE (SEQ ID NO: 22)

Dado que muchas proteínas potencialmente terapéuticas contra enfermedades asociadas con el cerebro son inmunoglobulinas, se evaluó la administración de IgG e IgM a través K16ApoE (SEQ ID NO: 22) en cerebro de ratón mediante formación de imágenes por microtomografía computarizada por emisión de fotón único (microSPECT). Para ello, IgG humana (Sigma, producto nº I 4506) e IgM humana (Sigma, producto nº I 8260) radiyodadas se mezclaron con K16ApoE (SEQ ID NO: 22) y se inyectaron por vía intravenosa. Animales anestesiados se sometieron a continuación a la formación de imágenes durante 6 horas a intervalos de 1 hora. A continuación, se realizó una perfusión cardiaca, después de lo cual la formación final de imágenes se hizo a los 30 minutos post-perfusión. Los resultados de estos experimentos proporcionan una serie de indicaciones (FIG. 4): En primer lugar, parece que la administración pico tanto de IgG como de IgM en el cerebro ocurre alrededor de 2 horas post-inyección de la mezcla de péptido-proteína, después de lo cual la absorción de las proteínas en el cerebro se mantiene relativamente sin cambios hasta 6 horas (instante máximo sometido a ensayo). En segundo lugar, la perfusión cardiaca parece separar la mayor parte de la proteína radiactiva en la vasculatura, aumentando de forma

concomitante la diferencia entre la absorción aparente en el cerebro de la proteína con y sin el péptido portador (~ 5 veces). Finalmente, los resultados sugieren que aproximadamente el 1% de las inmunoglobulinas inyectadas son transportadas al cerebro por parte de K16ApoE (SEQ ID NO: 22) bajo la condición experimental. Es interesante observar que el grado de administración de la IgG e IgM radiomarcadas en riñón, hígado/bazo y corazón permanecieron prácticamente invariables independientemente de que las proteínas fueran administradas con o sin el péptido portador. La perfusión cardíaca tampoco cambió la acumulación de radiactividad en estos órganos, lo que implica que el transporte de las proteínas en estos órganos no depende de atravesar una barrera biológica.

Ejemplo 9 - Eficacia de producto terapéutico administrado

Por su actividad, la β -galactosidasa no necesita unirse con cualquier entidad molecular en el cerebro. Sin embargo, para todos los propósitos terapéuticos, la molécula administrada al cerebro debe ser capaz de reconocer y unirse con su molécula diana cognata. Para someter a ensayo esta premisa, un anticuerpo contra el péptido beta amiloide (4G8 de Cavance) se administró a través de K16ApoE (SEQ ID NO: 22) en los cerebros de ratones que modelan la enfermedad de Alzheimer. Este anticuerpo se conoce para reconocer placas beta amiloides. Los resultados indican que el anticuerpo administrado de esta manera marcó las placas amiloides en el cerebro de estos ratones, así como identificó las placas con el anticuerpo a través de inmunohistoquímica estándar (**FIG. 5**). Resultados similares también se obtuvieron con otro anticuerpo (4.1 IgG, 32) conocido para marcar estas placas.

Ejemplo 10 - Transporte de proteínas sin daño a la BBB

Un transportador que transporta de manera eficiente una proteína en el cerebro no debería hacerlo alterando la integridad de la BBB. Para evaluar si K16ApoE (SEQ ID NO: 22) altera la integridad de la BBB, el péptido fue inyectado primero por vía intravenosa, después se inyectó la β -galactosidasa a diferentes intervalos de tiempo. Los ratones de control recibieron la enzima mezclada con el péptido. Los ratones fueron perfundidos y sacrificados 6 horas después de la inyección de β -galactosidasa, se hicieron rodajas de cerebro y se prepararon para la tinción con β -galactosidasa. Los resultados presentados en la **FIG. 6** muestran una actividad de β -galactosidasa cada vez más débil en los cerebros de los ratones que recibieron β -galactosidasa a los 1, 5 y 10 minutos después de la inyección de K16ApoE (SEQ ID NO: 22) y ninguna tinción visible a partir de entonces. Estos resultados indican que la mayor parte del K16ApoE (SEQ ID NO: 22) inyectado se une con proteínas y células en la circulación, y esta unión se completa virtualmente en el espacio de 10 minutos, después de lo cual no permanece en circulación K16ApoE (SEQ ID NO: 22) alguno. K16ApoE (SEQ ID NO: 22) libre que queda en momentos tempranos se une con β -galactosidasa y porta a la enzima en el cerebro. El péptido por sí mismo y/o unido con proteínas/células de la sangre no parece afectar a la BBB, dado que no se observó actividad alguna de la enzima β -galactosidasa en el cerebro durante 10 min a 4 horas.

Ejemplo 11- Necesidad del enlace covalente de la cadena de aminoácidos hidrófilos y el péptido portador

La necesidad de la unión covalente de los restos peptídicos K16 (SEQ ID NO: 4) y ApoE (SEQ ID NO: 13) se evaluó para el transporte no covalente de una proteína a través de la BBB. Para ello, la β -galactosidasa se mezcló, ya sea con el péptido ApoE, el péptido K16 (SEQ ID NO: 4), ApoE más K16 (SEQ ID NO: 4) o con K16ApoE (SEQ ID NO: 22), y se inyectó a ratones. Las secciones del cerebro de estos ratones muestran una tinción con β -galactosidasa sola en láminas de ratones que recibieron β -galactosidasa mezclada con K16ApoE (SEQ ID NO: 22), lo que indica la unión de los restos peptídicos K16 (SEQ ID NO: 4) y ApoE es fundamental para el transporte de una proteína de una manera no covalente (**FIG. 7**).

Ejemplo 12 - Ensayo de péptidos ApoE mutantes para su potencial como transportadores no covalentes de las proteínas a través de la BBB

β -galactosidasa se mezcló con cantidades iguales de diversos transportadores de péptidos y se inyectó a ratones. Se prepararon láminas utilizando secciones de 25 μ m de los cerebros de los ratones una hora después de la inyección, seguido por el desarrollo de la tinción de la enzima (**FIG. 8**). Se evaluaron los siguientes péptidos:

A: KKKK KKKK KKKK KKKK LRLR LANH LRKL RKRL LRDA (SEQ ID NO: 126);

B: KKKK KKKK KKKK KKKK LRLR LASH LRKL RKRL LRDL (SEQ ID NO: 127);

C: KKKK KKKK KKKK KKKK LRVK LANH LRKL RKRL LRDL (SEQ ID NO: 128).

Tal como se muestra en la **FIG. 8**, el mutante A era peor que el agente de barrera hematoencefálica ApoE de tipo salvaje, mientras que los mutantes B y C eran capaces de transportar la β -galactosidasa al menos tan bien como el tipo salvaje o mejor.

Ejemplo 13 - Curso en el tiempo para la administración de β -galactosidasa en cerebro de ratón con K16ApoE (SEQ ID NO: 22)

En cada uno de los ratones, 1,38 nanomoles de β -galactosidasa se mezclaron con 89 nanomoles de K16ApoE (SEQ ID NO: 22) y se inyectaron por vía intravenosa. Rodajas de cerebro de 25 μ m se prepararon para la tinción para la actividad de β -galactosidasa en los instantes indicados (**FIG. 9**). La Figura 8 proporciona los siguientes instantes:

A- Beta-galactosidasa, sin péptido, 6 h.

B- Beta-galactosidasa + péptido, 1 h.

C- Beta-galactosidasa + péptido, 2 h.

D- Beta-galactosidasa + péptido, 5 h.

E- Beta-galactosidasa + péptido, 10 h.

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> MAYO FOUNDATION FOR MEDICAL EDUCATION AND RESEARCH

<120> ADMINISTRACIÓN NO COVALENTE, MEDIADA POR PÉPTIDOS, DE AGENTES ACTIVOS A TRAVÉS DE LA BARRERA HEMATOENCEFÁLICA

<130> 07039-0947W01

<140> PCT/US2010/041924

<141> 13-07-2010

<150> 61/225,412

<151> 14-07-2009

<160> 143

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 4

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 1

Lys Lys Lys Lys

1

<210> 2

<211> 8

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 2

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys
1 5

<210> 3

<211> 12

5 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 3

10 Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys
1 5 10

<210> 4

<211> 16

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

15 <220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 4

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys
1 5 10 15

<210> 5

20 <211> 4

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

25 <400> 5

Arg Arg Arg Arg
1

<210> 6

<211> 8

<212> PRT

30 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 6

Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg
1 5

<210> 7
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

5 <220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético
 <400> 7

Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg
 1 5 10

10 <210> 8
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

15 <400> 8

Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg
 1 5 10 15

20 <210> 9
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 9

Lys Arg Lys Arg
 1

25 <210> 10
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

30 <220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético
 <400> 10

Lys Lys Lys Arg
 1

35 <210> 11
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 11

Lys Lys Lys Arg Arg Arg Lys Lys Lys Arg Arg Arg
1 5 10

5 <210> 12
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>

10 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 12

Lys Lys Lys Lys Arg Arg Arg Arg Lys Lys Lys Lys Arg Arg Arg Arg
1 5 10 15

15 <210> 13
<211> 20
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 13

Leu Arg Val Arg Leu Ala Ser His Leu Arg Lys Leu Arg Lys Arg Leu
1 5 10 15

20 Leu Arg Asp Ala
20

<210> 14
<211> 40
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

25 <220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 14

Ser Ser Val Ile Asp Ala Leu Gln Tyr Lys Leu Glu Gly Thr Thr Arg
1 5 10 15

Leu Thr Arg Lys Arg Gly Leu Lys Leu Ala Thr Ala Leu Ser Leu Ser
20 25 30

Asn Lys Phe Val Glu Gly Ser His
35 40

<210> 15
 <211> 36
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

5 <220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (36)..(36)

10 <223> Tyr o un derivado de Tyr

<400> 15

Tyr Pro Ala Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu
 1 5 10 15

Leu Ser Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Val Thr
 20 25 30

Arg Gln Arg Xaa
 35

15 <210> 16
 <211> 34
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

20 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (34)..(34)
 <223> Tyr o un derivado de Tyr

<400> 16

Ala Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Ser
 1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Val Thr Arg Gln
 20 25 30

Arg Xaa

25 <210> 17
 <211> 36
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

30 <220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (36)..(36)
 <223> Tyr o un derivado de Tyr

5 <400> 17

Tyr Pro Ser Asp Pro Asp Asn Pro Gly Glu Asp Ala Pro Ala Glu Asp
 1 5 10 15
 Leu Ala Arg Tyr Tyr Ser Ala Leu Arg His Tyr Ile Asn Leu Ile Thr
 20 25 30
 Arg Gln Arg Xaa
 35

<210> 18
 <211> 36
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

10

<220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (36)..(36)
 <223> Tyr o un derivado de Tyr

15

<400> 18

Ala Pro Leu Glu Pro Val Tyr Pro Gly Asp Asp Ala Thr Pro Glu Gln
 1 5 10 15
 Met Ala Gln Tyr Ala Ala Glu Leu Arg Arg Tyr Ile Asn Met Leu Thr
 20 25 30
 Arg Pro Arg Xaa
 35

<210> 19
 <211> 24
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

20

<220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 19

25

Lys Lys Lys Lys Leu Arg Val Arg Leu Ala Ser His Leu Arg Lys Leu
 1 5 10 15
 Arg Lys Arg Leu Leu Arg Asp Ala
 20

<210> 20
 <211> 28
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

5 <220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 20

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Leu Arg Val Arg Leu Ala Ser His
 1 5 10 15

Leu Arg Lys Leu Arg Lys Arg Leu Leu Arg Asp Ala
 20 25

10 <210> 21
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

15 <400> 21

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Leu Arg Val Arg
 1 5 10 15

Leu Ala Ser His Leu Arg Lys Leu Arg Lys Arg Leu Leu Arg Asp Ala
 20 25 30

20 <210> 22
 <211> 36
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

25 <400> 22

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys
 1 5 10 15

Leu Arg Val Arg Leu Ala Ser His Leu Arg Lys Leu Arg Lys Arg Leu
 20 25 30

Leu Arg Asp Ala
 35

<210> 23
 <211> 40
 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 23

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys
1 5 10 15

Lys Lys Lys Lys Leu Arg Val Arg Leu Ala Ser His Leu Arg Lys Leu
20 25 30

Arg Lys Arg Leu Leu Arg Asp Ala
35 40

<210> 24

<211> 44

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

10 <220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 24

Lys Lys Lys Lys Ser Ser Val Ile Asp Ala Leu Gln Tyr Lys Leu Glu
1 5 10 15

Gly Thr Thr Arg Leu Thr Arg Lys Arg Gly Leu Lys Leu Ala Thr Ala
20 25 30

Leu Ser Leu Ser Asn Lys Phe Val Glu Gly Ser His
35 40

<210> 25

<211> 48

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

20 <220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 25

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Ser Ser Val Ile Asp Ala Leu Gln
1 5 10 15

Tyr Lys Leu Glu Gly Thr Thr Arg Leu Thr Arg Lys Arg Gly Leu Lys
20 25 30

Leu Ala Thr Ala Leu Ser Leu Ser Asn Lys Phe Val Glu Gly Ser His
35 40 45

<210> 26

<211> 52
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>

5 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 26

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Ser Ser Val Ile
1 5 10 15

Asp Ala Leu Gln Tyr Lys Leu Glu Gly Thr Thr Arg Leu Thr Arg Lys
20 25 30

Arg Gly Leu Lys Leu Ala Thr Ala Leu Ser Leu Ser Asn Lys Phe Val
35 40 45

Glu Gly Ser His
50

<210> 27

<211> 56

10 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 27

15 Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys
1 5 10 15

Ser Ser Val Ile Asp Ala Leu Gln Tyr Lys Leu Glu Gly Thr Thr Arg
20 25 30

Leu Thr Arg Lys Arg Gly Leu Lys Leu Ala Thr Ala Leu Ser Leu Ser
35 40 45

Asn Lys Phe Val Glu Gly Ser His
50 55

<210> 28

<211> 60

20 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 28

ES 2 562 463 T3

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys
1 5 10 15

Lys Lys Lys Lys Ser Ser Val Ile Asp Ala Leu Gln Tyr Lys Leu Glu
20 25 30

Gly Thr Thr Arg Leu Thr Arg Lys Arg Gly Leu Lys Leu Ala Thr Ala
35 40 45

Leu Ser Leu Ser Asn Lys Phe Val Glu Gly Ser His
50 55 60

<210> 29

<211> 20

<212> PRT

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<220>

<221> MOD_RES

10 <222> (3)..(3)

<223> Ala, Leu, Ser o Val

<220>

<221> MOD_RES

<222> (5)..(5)

15 <223> Leu o Met

<220>

<221> MOD_RES

<222> (6)..(6)

<223> Ala o Ser

20 <220>

<221> MOD_RES

<222> (7)..(7)

<223> Asn, Ser o Thr

<220>

25 <221> MOD_RES

<222> (11)..(11)

<223> Lys o Asn

<220>

<221> MOD_RES

30 <222> (12)..(12)

<223> Leu, Met o Val

<220>

<221> MOD_RES

<222> (13)..(13)

35 <223> Arg o Pro

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (17)..(17)
 <223> Leu o Met

5 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (20)..(20)
 <223> Ala o Leu

<400> 29

Leu Arg Xaa Arg Xaa Xaa Xaa His Leu Arg Xaa Xaa Xaa Lys Arg Leu
 1 5 10 15

10 Xaa Arg Asp Xaa
 20

<210> 30
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

15 <220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 30

Leu Arg Ser Arg Leu Ala Ser His Leu Arg Lys Leu Arg Lys Arg Leu
 1 5 10 15

Leu Arg Asp Ala
 20

20 <210> 31
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

25 <400> 31

Leu Arg Val Arg Met Ala Ser His Leu Arg Lys Leu Arg Lys Arg Leu
 1 5 10 15

Leu Arg Asp Ala
 20

30 <210> 32
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 32

Leu Arg Val Arg Leu Ala Thr His Leu Arg Lys Leu Arg Lys Arg Leu
1 5 10 15

Leu Arg Asp Ala
20

5 <210> 33
<211> 20
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>

10 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 33

Leu Arg Val Arg Leu Ala Ser His Leu Arg Lys Leu Pro Lys Arg Leu
1 5 10 15

Leu Arg Asp Ala
20

15 <210> 34
<211> 20
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 34

Leu Arg Val Arg Leu Ala Ser His Leu Arg Lys Leu Arg Lys Arg Leu
1 5 10 15

20 Met Arg Asp Ala
20

<210> 35
<211> 20
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

25 <220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 35

Leu Arg Val Arg Leu Ala Ser His Leu Arg Asn Leu Arg Lys Arg Leu
1 5 10 15

Leu Arg Asp Ala
20

<210> 36

<211> 20

<212> PRT

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 36

Leu Arg Val Arg Leu Ala Ser His Leu Arg Lys Val Arg Lys Arg Leu
1 5 10 15

Leu Arg Asp Ala
20

10 <210> 37

<211> 20

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

15 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 37

Leu Arg Val Arg Met Ser Ser His Leu Arg Lys Leu Arg Lys Arg Leu
1 5 10 15

Leu Arg Asp Ala
20

<210> 38

<211> 20

20 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 38

25 Leu Arg Val Arg Leu Ala Ser His Leu Arg Asn Val Arg Lys Arg Leu
1 5 10 15

Leu Arg Asp Ala
20

<210> 39

<211> 20

<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

5 <400> 39

Leu Arg Val Arg Leu Ala Ser His Leu Arg Asn Met Arg Lys Arg Leu
1 5 10 15

Leu Arg Asp Ala
20

<210> 40
<211> 20
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

10

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 40

Leu Arg Ala Arg Met Ala Ser His Leu Arg Lys Leu Arg Lys Arg Leu
1 5 10 15

Leu Arg Asp Ala
20

<210> 41
<211> 20
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

15

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

20

<400> 41

Leu Arg Val Arg Leu Ser Ser His Leu Arg Lys Leu Arg Lys Arg Leu
1 5 10 15

Met Arg Asp Ala
20

<210> 42
<211> 20
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

25

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 42

Leu Arg Ser Arg Leu Ala Ser His Leu Arg Lys Leu Arg Lys Arg Leu
1 5 10 15

Met Arg Asp Ala
20

<210> 43

<211> 20

<212> PRT

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 43

Leu Arg Val Arg Leu Ser Ser His Leu Pro Lys Leu Arg Lys Arg Leu
1 5 10 15

Leu Arg Asp Ala
20

10 <210> 44

<211> 20

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

15 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 44

Leu Arg Val Arg Leu Ala Ser His Leu Arg Lys Met Arg Lys Arg Leu
1 5 10 15

Met Arg Asp Ala
20

<210> 45

<211> 20

20 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 45

Leu Arg Val Arg Leu Ala Ser His Leu Arg Asn Leu Pro Lys Arg Leu
1 5 10 15

Leu Arg Asp Ala
20

25 <210> 46

<211> 24
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
5 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 46

Lys Lys Lys Lys Leu Arg Ser Arg Leu Ala Ser His Leu Arg Lys Leu
1 5 10 15

Arg Lys Arg Leu Leu Arg Asp Ala
20

<210> 47
10 <211> 28
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 47

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Leu Arg Ser Arg Leu Ala Ser His
1 5 10 15

15 Leu Arg Lys Leu Arg Lys Arg Leu Leu Arg Asp Ala
20 25

<210> 48
<211> 32
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

20 <220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 48

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Leu Arg Ser Arg
1 5 10 15

Leu Ala Ser His Leu Arg Lys Leu Arg Lys Arg Leu Leu Arg Asp Ala
20 25 30

25 <210> 49
<211> 36
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 49

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys
1 5 10 15

Leu Arg Ser Arg Leu Ala Ser His Leu Arg Lys Leu Arg Lys Arg Leu
20 25 30

Leu Arg Asp Ala
35

<210> 50

<211> 40

5 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 50

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys
1 5 10 15

Lys Lys Lys Lys Leu Arg Ser Arg Leu Ala Ser His Leu Arg Lys Leu
20 25 30

10 Arg Lys Arg Leu Leu Arg Asp Ala
35 40

<210> 51

<211> 24

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

15 <220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 51

Lys Lys Lys Lys Leu Arg Val Arg Met Ala Ser His Leu Arg Lys Leu
1 5 10 15

Arg Lys Arg Leu Leu Arg Asp Ala
20

20 <210> 52

<211> 28

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 52

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Leu Arg Val Arg Met Ala Ser His
1 5 10 15

Leu Arg Lys Leu Arg Lys Arg Leu Leu Arg Asp Ala
20 25

5 <210> 53
<211> 32
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

10 <220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 53

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Leu Arg Val Arg
1 5 10 15

Met Ala Ser His Leu Arg Lys Leu Arg Lys Arg Leu Leu Arg Asp Ala
20 25 30

15 <210> 54
<211> 36
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 54

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys
1 5 10 15

Leu Arg Val Arg Met Ala Ser His Leu Arg Lys Leu Arg Lys Arg Leu
20 25 30

20 Leu Arg Asp Ala
35

<210> 55
<211> 40
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

25 <220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 55

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys
1 5 10 15

Lys Lys Lys Lys Leu Arg Val Arg Met Ala Ser His Leu Arg Lys Leu
20 25 30

Arg Lys Arg Leu Leu Arg Asp Ala
35 40

<210> 56

<211> 24

<212> PRT

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 56

Lys Lys Lys Lys Leu Arg Val Arg Leu Ala Thr His Leu Arg Lys Leu
1 5 10 15

Arg Lys Arg Leu Leu Arg Asp Ala
20

10 <210> 57

<211> 28

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

15 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 57

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Leu Arg Val Arg Leu Ala Thr His
1 5 10 15

Leu Arg Lys Leu Arg Lys Arg Leu Leu Arg Asp Ala
20 25

<210> 58

<211> 32

20 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 58

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Leu Arg Val Arg
1 5 10 15

Leu Ala Thr His Leu Arg Lys Leu Arg Lys Arg Leu Leu Arg Asp Ala
20 25 30

<210> 59

<211> 36

<212> PRT

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 59

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys
1 5 10 15

Leu Arg Val Arg Leu Ala Thr His Leu Arg Lys Leu Arg Lys Arg Leu
20 25 30

Leu Arg Asp Ala
35

10 <210> 60

<211> 40

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

15 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 60

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys
1 5 10 15

Lys Lys Lys Lys Leu Arg Val Arg Leu Ala Thr His Leu Arg Lys Leu
20 25 30

Arg Lys Arg Leu Leu Arg Asp Ala
35 40

<210> 61

<211> 24

20 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 61

Lys Lys Lys Lys Leu Arg Val Arg Leu Ala Ser His Leu Arg Lys Leu
1 5 10 15

Pro Lys Arg Leu Leu Arg Asp Ala
20

<210> 62

<211> 28

<212> PRT

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 62

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Leu Arg Val Arg Leu Ala Ser His
1 5 10 15

10

Leu Arg Lys Leu Pro Lys Arg Leu Leu Arg Asp Ala
20 25

<210> 63

<211> 32

<212> PRT

15 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 63

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Leu Arg Val Arg
1 5 10 15

Leu Ala Ser His Leu Arg Lys Leu Pro Lys Arg Leu Leu Arg Asp Ala
20 25 30

20

<210> 64

<211> 36

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

25 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 64

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys
1 5 10 15

Leu Arg Val Arg Leu Ala Ser His Leu Arg Lys Leu Pro Lys Arg Leu
20 25 30

Leu Arg Asp Ala
35

<210> 65

<211> 40

<212> PRT

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 65

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys
1 5 10 15

Lys Lys Lys Lys Leu Arg Val Arg Leu Ala Ser His Leu Arg Lys Leu
20 25 30

Pro Lys Arg Leu Leu Arg Asp Ala

10

35

40

<210> 66

<211> 24

<212> PRT

15 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 66

Lys Lys Lys Lys Leu Arg Val Arg Leu Ala Ser His Leu Arg Lys Leu
1 5 10 15

Arg Lys Arg Leu Met Arg Asp Ala
20

20

<210> 67

<211> 28

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

25 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 67

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Leu Arg Val Arg Leu Ala Ser His
1 5 10 15

Leu Arg Lys Leu Arg Lys Arg Leu Met Arg Asp Ala
20 25

<210> 68

<211> 32

<212> PRT

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 68

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Leu Arg Val Arg
1 5 10 15

Leu Ala Ser His Leu Arg Lys Leu Arg Lys Arg Leu Met Arg Asp Ala
20 25 30

10 <210> 69

<211> 36

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

15 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 69

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys
1 5 10 15

Leu Arg Val Arg Leu Ala Ser His Leu Arg Lys Leu Arg Lys Arg Leu
20 25 30

Met Arg Asp Ala
35

<210> 70

<211> 40

20 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 70

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys
1 5 10 15

Lys Lys Lys Lys Leu Arg Val Arg Leu Ala Ser His Leu Arg Lys Leu
20 25 30

Arg Lys Arg Leu Met Arg Asp Ala
35 40

<210> 71

<211> 24

<212> PRT

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 71

Lys Lys Lys Lys Leu Arg Val Arg Leu Ala Ser His Leu Arg Asn Leu
1 5 10 15

Arg Lys Arg Leu Leu Arg Asp Ala
20

10 <210> 72

<211> 28

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

15 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 72

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Leu Arg Val Arg Leu Ala Ser His

1 5 10 15

Leu Arg Asn Leu Arg Lys Arg Leu Leu Arg Asp Ala
20 25

20 <210> 73

<211> 32

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

25 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 73

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Leu Arg Val Arg
1 5 10 15

Leu Ala Ser His Leu Arg Asn Leu Arg Lys Arg Leu Leu Arg Asp Ala
20 25 30

<210> 74

<211> 36

<212> PRT

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 74

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys
1 5 10 15

Leu Arg Val Arg Leu Ala Ser His Leu Arg Asn Leu Arg Lys Arg Leu
20 25 30

Leu Arg Asp Ala
35

10 <210> 75

<211> 40

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

15 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 75

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys
1 5 10 15

Lys Lys Lys Lys Leu Arg Val Arg Leu Ala Ser His Leu Arg Asn Leu
20 25 30

Arg Lys Arg Leu Leu Arg Asp Ala
35 40

20 <210> 76

<211> 24

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

25 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 76

Lys Lys Lys Lys Leu Arg Val Arg Leu Ala Ser His Leu Arg Lys Val
1 5 10 15

Arg Lys Arg Leu Leu Arg Asp Ala
20

<210> 77

<211> 28

<212> PRT

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 77

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Leu Arg Val Arg Leu Ala Ser His
1 5 10 15

Leu Arg Lys Val Arg Lys Arg Leu Leu Arg Asp Ala
20 25

10 <210> 78

<211> 32

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

15 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 78

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Leu Arg Val Arg
1 5 10 15

Leu Ala Ser His Leu Arg Lys Val Arg Lys Arg Leu Leu Arg Asp Ala
20 25 30

<210> 79

<211> 36

20 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 79

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys
1 5 10 15

Leu Arg Val Arg Leu Ala Ser His Leu Arg Lys Val Arg Lys Arg Leu
20 25 30

Leu Arg Asp Ala
35

<210> 80

<211> 40

<212> PRT

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 80

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys
1 5 10 15

Lys Lys Lys Lys Leu Arg Val Arg Leu Ala Ser His Leu Arg Lys Val
20 25 30

Arg Lys Arg Leu Leu Arg Asp Ala
35 40

10 <210> 81

<211> 24

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

15 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 81

Lys Lys Lys Lys Leu Arg Val Arg Met Ser Ser His Leu Arg Lys Leu
1 5 10 15

Arg Lys Arg Leu Leu Arg Asp Ala
20

<210> 82

<211> 28

20 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 82

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Leu Arg Val Arg Met Ser Ser His
1 5 10 15

Leu Arg Lys Leu Arg Lys Arg Leu Leu Arg Asp Ala
20 25

<210> 83

<211> 32

<212> PRT

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 83

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Leu Arg Val Arg
1 5 10 15

Met Ser Ser His Leu Arg Lys Leu Arg Lys Arg Leu Leu Arg Asp Ala
20 25 30

10 <210> 84

<211> 36

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

15 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 84

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys
1 5 10 15

Leu Arg Val Arg Met Ser Ser His Leu Arg Lys Leu Arg Lys Arg Leu
20 25 30

Leu Arg Asp Ala
35

<210> 85

<211> 40

20 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 85

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys
1 5 10 15

Lys Lys Lys Lys Leu Arg Val Arg Met Ser Ser His Leu Arg Lys Leu
20 25 30

Arg Lys Arg Leu Leu Arg Asp Ala
35 40

5 <210> 86
<211> 24
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

10 <400> 86

Lys Lys Lys Lys Leu Arg Val Arg Leu Ala Ser His Leu Arg Asn Val
1 5 10 15

Arg Lys Arg Leu Leu Arg Asp Ala
20

15 <210> 87
<211> 28
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 87

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Leu Arg Val Arg Leu Ala Ser His
1 5 10 15

Leu Arg Asn Val Arg Lys Arg Leu Leu Arg Asp Ala
20 25

20 <210> 88
<211> 32
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

25 <220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 88

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Leu Arg Val Arg
1 5 10 15

Leu Ala Ser His Leu Arg Asn Val Arg Lys Arg Leu Leu Arg Asp Ala
20 25 30

<210> 89
 <211> 36
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

5 <220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 89

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys
 1 5 10 15

Leu Arg Val Arg Leu Ala Ser His Leu Arg Asn Val Arg Lys Arg Leu
 20 25 30

Leu Arg Asp Ala
 35

10 <210> 90
 <211> 40
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

15 <400> 90

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys
 1 5 10 15

Lys Lys Lys Lys Leu Arg Val Arg Leu Ala Ser His Leu Arg Asn Val
 20 25 30

Arg Lys Arg Leu Leu Arg Asp Ala
 35 40

20 <210> 91
 <211> 24
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 91

Lys Lys Lys Lys Leu Arg Val Arg Leu Ala Ser His Leu Arg Asn Met
 1 5 10 15

Arg Lys Arg Leu Leu Arg Asp Ala
 20

<210> 92
 <211> 28
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

5 <220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 92

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Leu Arg Val Arg Leu Ala Ser His
 1 5 10 15

Leu Arg Asn Met Arg Lys Arg Leu Leu Arg Asp Ala
 20 25

10 <210> 93
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

15 <400> 93

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Leu Arg Val Arg
 1 5 10 15

Leu Ala Ser His Leu Arg Asn Met Arg Lys Arg Leu Leu Arg Asp Ala
 20 25 30

20 <210> 94
 <211> 36
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 94

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys
 1 5 10 15

Leu Arg Val Arg Leu Ala Ser His Leu Arg Asn Met Arg Lys Arg Leu
 20 25 30

Leu Arg Asp Ala
 35

25 <210> 95
 <211> 40
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 95

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys
1 5 10 15

Lys Lys Lys Lys Leu Arg Val Arg Leu Ala Ser His Leu Arg Asn Met
20 25 30

5

Arg Lys Arg Leu Leu Arg Asp Ala
35 40

<210> 96

<211> 24

<212> PRT

10 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 96

Lys Lys Lys Lys Leu Arg Ala Arg Met Ala Ser His Leu Arg Lys Leu
1 5 10 15

Arg Lys Arg Leu Leu Arg Asp Ala
20

15

<210> 97

<211> 28

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

20 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 97

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Leu Arg Ala Arg Met Ala Ser His
1 5 10 15

Leu Arg Lys Leu Arg Lys Arg Leu Leu Arg Asp Ala
20 25

<210> 98

<211> 32

25 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 98

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Leu Arg Ala Arg
1 5 10 15

Met Ala Ser His Leu Arg Lys Leu Arg Lys Arg Leu Leu Arg Asp Ala
20 25 30

<210> 99

<211> 36

<212> PRT

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 99

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys
1 5 10 15

Leu Arg Ala Arg Met Ala Ser His Leu Arg Lys Leu Arg Lys Arg Leu
20 25 30

Leu Arg Asp Ala
35

10 <210> 100

<211> 40

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

15 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 100

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys
1 5 10 15

Lys Lys Lys Lys Leu Arg Ala Arg Met Ala Ser His Leu Arg Lys Leu
20 25 30

Arg Lys Arg Leu Leu Arg Asp Ala
35 40

<210> 101

<211> 24

20 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 101

Lys Lys Lys Lys Leu Arg Val Arg Leu Ser Ser His Leu Arg Lys Leu
1 5 10 15

Arg Lys Arg Leu Met Arg Asp Ala
20

<210> 102

<211> 28

<212> PRT

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 102

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Leu Arg Val Arg Leu Ser Ser His
1 5 10 15

Leu Arg Lys Leu Arg Lys Arg Leu Met Arg Asp Ala
20 25

10 <210> 103

<211> 32

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

15 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 103

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Leu Arg Val Arg
1 5 10 15

Leu Ser Ser His Leu Arg Lys Leu Arg Lys Arg Leu Met Arg Asp Ala
20 25 30

<210> 104

<211> 36

20 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 104

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys
1 5 10 15

Leu Arg Val Arg Leu Ser Ser His Leu Arg Lys Leu Arg Lys Arg Leu
20 25 30

Met Arg Asp Ala
35

<210> 105

<211> 40

<212> PRT

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 105

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys
1 5 10 15

10 Lys Lys Lys Lys Leu Arg Val Arg Leu Ser Ser His Leu Arg Lys Leu
20 25 30

Arg Lys Arg Leu Met Arg Asp Ala
35 40

<210> 106

<211> 24

<212> PRT

15 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 106

Lys Lys Lys Lys Leu Arg Ser Arg Leu Ala Ser His Leu Arg Lys Leu
1 5 10 15

Arg Lys Arg Leu Met Arg Asp Ala
20

20 <210> 107

<211> 28

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

25 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 107

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Leu Arg Ser Arg Leu Ala Ser His
1 5 10 15

Leu Arg Lys Leu Arg Lys Arg Leu Met Arg Asp Ala
20 25

<210> 108

<211> 32

<212> PRT

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 108

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Leu Arg Ser Arg
1 5 10 15

Leu Ala Ser His Leu Arg Lys Leu Arg Lys Arg Leu Met Arg Asp Ala
20 25 30

10 <210> 109

<211> 36

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

15 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 109

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys
1 5 10 15

Leu Arg Ser Arg Leu Ala Ser His Leu Arg Lys Leu Arg Lys Arg Leu
20 25 30

Met Arg Asp Ala
35

<210> 110

<211> 40

20 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 110

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys
1 5 10 15

Lys Lys Lys Lys Leu Arg Ser Arg Leu Ala Ser His Leu Arg Lys Leu
20 25 30

Arg Lys Arg Leu Met Arg Asp Ala
35 40

<210> 111

<211> 24

<212> PRT

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 111

Lys Lys Lys Lys Leu Arg Val Arg Leu Ser Ser His Leu Pro Lys Leu
1 5 10 15

Arg Lys Arg Leu Leu Arg Asp Ala
20

10 <210> 112

<211> 28

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

15 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 112

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Leu Arg Val Arg Leu Ser Ser His
1 5 10 15

Leu Pro Lys Leu Arg Lys Arg Leu Leu Arg Asp Ala
20 25

<210> 113

<211> 32

20 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 113

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Leu Arg Val Arg
1 5 10 15

Leu Ser Ser His Leu Pro Lys Leu Arg Lys Arg Leu Leu Arg Asp Ala
20 25 30

<210> 114

<211> 36

<212> PRT

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 114

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys
1 5 10 15

Leu Arg Val Arg Leu Ser Ser His Leu Pro Lys Leu Arg Lys Arg Leu
20 25 30

Leu Arg Asp Ala
35

10 <210> 115

<211> 40

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

15 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 115

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys
1 5 10 15

Lys Lys Lys Lys Leu Arg Val Arg Leu Ser Ser His Leu Pro Lys Leu
20 25 30

Arg Lys Arg Leu Leu Arg Asp Ala
35 40

20 <210> 116

<211> 24

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

25 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 116

Lys Lys Lys Lys Leu Arg Val Arg Leu Ala Ser His Leu Arg Lys Met
1 5 10 15

Arg Lys Arg Leu Met Arg Asp Ala
20

<210> 117

<211> 28

<212> PRT

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 117

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Leu Arg Val Arg Leu Ala Ser His
1 5 10 15

Leu Arg Lys Met Arg Lys Arg Leu Met Arg Asp Ala
20 25

10 <210> 118

<211> 32

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

15 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 118

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Leu Arg Val Arg
1 5 10 15

Leu Ala Ser His Leu Arg Lys Met Arg Lys Arg Leu Met Arg Asp Ala
20 25 30

<210> 119

20 <211> 36

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

25 <400> 119

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys
1 5 10 15

Leu Arg Val Arg Leu Ala Ser His Leu Arg Lys Met Arg Lys Arg Leu
20 25 30

Met Arg Asp Ala
35

<210> 120

<211> 40

<212> PRT

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 120

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys
1 5 10 15

Lys Lys Lys Lys Leu Arg Val Arg Leu Ala Ser His Leu Arg Lys Met
20 25 30

Arg Lys Arg Leu Met Arg Asp Ala
35 40

10 <210> 121

<211> 24

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

15 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 121

Lys Lys Lys Lys Leu Arg Val Arg Leu Ala Ser His Leu Arg Asn Leu
1 5 10 15

Pro Lys Arg Leu Leu Arg Asp Ala
20

<210> 122

<211> 28

20 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 122

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Leu Arg Val Arg Leu Ala Ser His
1 5 10 15

Leu Arg Asn Leu Pro Lys Arg Leu Leu Arg Asp Ala
20 25

<210> 123

<211> 32

<212> PRT

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 123

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Leu Arg Val Arg
1 5 10 15

Leu Ala Ser His Leu Arg Asn Leu Pro Lys Arg Leu Leu Arg Asp Ala
20 25 30

10 <210> 124

<211> 36

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

15 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 124

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys
1 5 10 15

Leu Arg Val Arg Leu Ala Ser His Leu Arg Asn Leu Pro Lys Arg Leu
20 25 30

Leu Arg Asp Ala
35

<210> 125

<211> 40

20 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 125

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys
1 5 10 15

Lys Lys Lys Lys Leu Arg Val Arg Leu Ala Ser His Leu Arg Asn Leu
20 25 30

Pro Lys Arg Leu Leu Arg Asp Ala
35 40

5 <210> 126
<211> 36
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

10 <400> 126

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys
1 5 10 15

Leu Arg Leu Arg Leu Ala Asn His Leu Arg Lys Leu Arg Lys Arg Leu
20 25 30

Leu Arg Asp Ala
35

15 <210> 127
<211> 36
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 127

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys
1 5 10 15

Leu Arg Leu Arg Leu Ala Ser His Leu Arg Lys Leu Arg Lys Arg Leu
20 25 30

Leu Arg Asp Leu
35

20 <210> 128
<211> 36
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

25

<400> 128

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys
1 5 10 15

Leu Arg Val Arg Leu Ala Asn His Leu Arg Lys Leu Arg Lys Arg Leu
20 25 30

Leu Arg Asp Leu
35

5 <210> 129
<211> 20
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

10 <220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 129

Leu Arg Leu Arg Leu Ala Ser His Leu Arg Lys Leu Arg Lys Arg Leu
1 5 10 15

Leu Arg Asp Leu
20

15 <210> 130
<211> 20
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 130

Leu Arg Val Arg Leu Ala Asn His Leu Arg Lys Leu Arg Lys Arg Leu
1 5 10 15

20 Leu Arg Asp Leu
20

<210> 131
<211> 24
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

25 <220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 131

Lys Lys Lys Lys Leu Arg Leu Arg Leu Ala Ser His Leu Arg Lys Leu
1 5 10 15

Arg Lys Arg Leu Leu Arg Asp Leu
20

<210> 132

<211> 28

<212> PRT

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 132

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Leu Arg Leu Arg Leu Ala Ser His
1 5 10 15

Leu Arg Lys Leu Arg Lys Arg Leu Leu Arg Asp Leu
20 25

10 <210> 133

<211> 32

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

15 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 133

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Leu Arg Leu Arg
1 5 10 15

Leu Ala Ser His Leu Arg Lys Leu Arg Lys Arg Leu Leu Arg Asp Leu
20 25 30

<210> 134

<211> 36

20 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 134

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys
1 5 10 15

Leu Arg Leu Arg Leu Ala Ser His Leu Arg Lys Leu Arg Lys Arg Leu
20 25 30

Leu Arg Asp Leu
35

<210> 135

<211> 40

<212> PRT

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 135

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys
1 5 10 15

Lys Lys Lys Lys Leu Arg Leu Arg Leu Ala Ser His Leu Arg Lys Leu
20 25 30

Arg Lys Arg Leu Leu Arg Asp Leu
35 40

10 <210> 136

<211> 24

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

15 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 136

Lys Lys Lys Lys Leu Arg Val Arg Leu Ala Asn His Leu Arg Lys Leu
1 5 10 15

Arg Lys Arg Leu Leu Arg Asp Leu
20

<210> 137

<211> 28

20 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 137

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Leu Arg Val Arg Leu Ala Asn His
1 5 10 15

Leu Arg Lys Leu Arg Lys Arg Leu Leu Arg Asp Leu
20 25

<210> 138

<211> 32

<212> PRT

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 138

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Leu Arg Val Arg
1 5 10 15

10 Leu Ala Asn His Leu Arg Lys Leu Arg Lys Arg Leu Leu Arg Asp Leu
20 25 30

<210> 139

<211> 36

<212> PRT

15 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 139

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys
1 5 10 15

Leu Arg Val Arg Leu Ala Asn His Leu Arg Lys Leu Arg Lys Arg Leu
20 25 30

Leu Arg Asp Leu
35

20 <210> 140

<211> 40

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

25 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 140

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys
1 5 10 15

Lys Lys Lys Lys Leu Arg Val Arg Leu Ala Asn His Leu Arg Lys Leu
20 25 30

Arg Lys Arg Leu Leu Arg Asp Leu
35 40

<210> 141

<211> 20

<212> PRT

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 141

Leu Arg Lys Leu Arg Lys Arg Leu Leu Arg Leu Arg Lys Leu Arg Lys
1 5 10 15

Arg Leu Leu Arg
20

10 <210> 142

<211> 40

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

15 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<220>

<221> MOD_RES

<222> (1)..(20)

<223> El aminoácido hidrófilo y esta región pueden abarcar 4 a 20 residuos

20 <220>

<221> MOD_RES

<222> (23)..(23)

<223> Ala, Leu, Ser o Val

<220>

25 <221> MOD_RES

<222> (25)..(25)

<223> Leu o Met

<220>

<221> MOD_RES

30 <222> (26)..(26)

<223> Ala o Ser

<220>

<221> MOD_RES

<222> (27)..(27)

<223> Asn, Ser o Thr

<220>
<221> MOD_RES
<222> (31)..(31)
5 <223> Lys o Asn

<220>
<221> MOD_RES
<222> (32)..(32)
<223> Leu, Met o Val

10 <220>
<221> MOD_RES
<222> (33)..(33)
<223> Arg o Pro

15 <220>
<221> MOD_RES
<222> (37)..(37)
<223> Leu o Met

20 <220>
<221> MOD_RES
<222> (40)..(40)
<223> Ala o Leu

<220>
<223> véase la memoria descriptiva tal como se ha presentado para una descripción detallada de sustituciones y formas de realización preferidas

25 <400> 142

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5 10 15

Xaa Xaa Xaa Xaa Leu Arg Xaa Arg Xaa Xaa Xaa His Leu Arg Xaa Xaa
20 25 30

Xaa Lys Arg Leu Xaa Arg Asp Xaa
35 40

<210> 143
<211> 70
<212> PRT
30 <213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<220>
<221> MOD_RES
35 <222> (1)..(50)
<223> El aminoácido hidrófilo y esta región pueden abarcar 4 a 50 residuos

	<220>
	<221> MOD_RES
	<222> (53)..(53)
	<223> Ala, Leu, Ser o Val
5	<220>
	<221> MOD_RES
	<222> (55)..(55)
	<223> Leu o Met
10	<220>
	<221> MOD_RES
	<222> (56)..(56)
	<223> Ala o Ser
15	<220>
	<221> MOD_RES
	<222> (57)..(57)
	<223> Asn, Ser o Thr
20	<220>
	<221> MOD_RES
	<222> (61)..(61)
	< 223> Lys o Asn
25	<220>
	<221> MOD_RES
	<222> (62)..(62)
	<223> Leu, Met o Val
30	<220>
	<221> MOD_RES
	<222> (63)..(63)
	<223> Arg o Pro
35	<220>
	<221> MOD_RES
	<222> (67)..(67)
	<223> Leu o Met
40	<220>
	<221> MOD_RES
	<222> (70)..(70)
	<223> Ala o Leu
	<220>
	<223> véase la memoria descriptiva tal como se ha presentado para una descripción detallada de sustituciones y formas de realización preferidas
40	400> 143

ES 2 562 463 T3

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5 10 15

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
20 25 30

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
35 40 45

Xaa Xaa Leu Arg Xaa Arg Xaa Xaa Xaa His Leu Arg Xaa Xaa Xaa Lys
50 55 60

Arg Leu Xaa Arg Asp Xaa
65 70

REIVINDICACIONES

1. Un péptido portador, que comprende la secuencia:

$X_n - [B]_m$

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde:

5 X es un aminoácido hidrófilo;

B es un agente de barrera hematoencefálica;

n es un número entero de 4 a 50; y

m es un número entero de 1 a 3,

10 en donde el agente de barrera hematoencefálica comprende una secuencia de polipéptidos que tiene al menos una identidad de la secuencia de 80% con:

L-R-V-R-L-A-S-H-L-R-K-L-R-K-R-L-L-R-D-A (SEQ ID NO: 13).

2. El péptido portador de la reivindicación 1, en donde cada uno de los X se elige independientemente de arginina, asparagina, ácido aspártico, ácido glutámico, glutamina, histidina, lisina, serina, treonina y tirosina, o en donde n se elige de 4, 8, 12, 16 y 20, o en donde m es 1.

15 3. El péptido portador de la reivindicación 1, en donde el polipéptido es de menos de 100 aminoácidos de longitud.

4. El péptido portador de la reivindicación 1, en donde el péptido portador se elige de:

K-K-K-K-L-R-V-R-L-A-S-H-L-R-K-L-R-K-R-L-L-R-D-A (SEQ ID NO: 19);

K-K-K-K-K-K-K-L-R-V-R-L-A-S-H-L-R-K-L-R-K-R-L-L-R-D-A (SEQ ID NO:20);

K-K-K-K-K-K-K-K-K-K-L-R-V-R-L-A-S-H-L-R-K-L-R-K-R-L-L-R-D-A (SEQ ID NO:21);

20 K-K-K-K-K-K-K-K-K-K-K-K-K-K-L-R-V-R-L-A-S-H-L-R-K-L-R-K-R-L-L-R-D-A (SEQ ID NO:22);

K-K-K-K-K-K-K-K-K-K-K-K-K-K-K-K-L-R-V-R-L-A-S-H-L-R-K-L-R-K-R-L-L-R-D-A (SEQ ID NO:23).

5. Un complejo o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, que comprende una molécula biológicamente activa o un agente formador de imágenes asociado con el péptido portador de una de las reivindicaciones precedentes.

25 6. El complejo de la reivindicación 5, en donde el agente formador de imágenes se elige de: ^{125}I -IgG y magnevist.

7. El complejo de la reivindicación 5, en donde la molécula biológicamente activa se elige de un/una: polipéptido; oligonucleótido; plásmido; molécula pequeña; anticuerpo; fragmento de anticuerpo; hidrato de carbono; polisacárido; lípido; glicolípido; antígeno; y péptido antigénico, en particular en donde el oligonucleótido se elige de un/una: secuencia de ADN codificante; secuencia de ADN antisentido; ARNm, secuencia de ARN antisentido; ARNi; y ARNsi, o en donde la molécula pequeña es un agente terapéutico.

30 8. El complejo de la reivindicación 5, en donde la molécula biológicamente activa o el agente formador de imágenes está unido de forma no covalente al péptido portador.

9. Un complejo o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, que comprende un agente biológicamente activo asociado con un péptido portador, en donde el péptido portador comprende la secuencia:

35 $X_n - [B]_m$

en donde:

X es un aminoácido hidrófilo;

B es un agente de barrera hematoencefálica;

n es un número entero de 4 a 50; y

m es un número entero de 1 a 3,

en donde el agente de barrera hematoencefálica comprende una secuencia de polipéptidos que tiene al menos una identidad de la secuencia de 80% con: L-R-V-R-L-A-S-H-L-R-K-L-R-K-R-L-L-R-D-A (SEQ ID NO: 13), para uso en el tratamiento de trastorno cerebral, en particular, en donde el trastorno cerebral se elige de: meningitis, epilepsia, esclerosis múltiple, neuromielitis óptica, tripanosomiasis neurológica de fase tardía, Parkinson, leucoencefalopatía multifocal progresiva, enfermedad de De Vivo, enfermedad de Alzheimer, encefalitis por VIH y el cáncer.

10. Un método de formar imágenes del sistema nervioso central de un sujeto, comprendiendo el método administrar al sujeto un complejo o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, que comprende un agente biológicamente activo asociado con un péptido portador, en donde el péptido portador comprende la secuencia:

$X_n - [B]_m$

en donde:

X es un aminoácido hidrófilo;

B es un agente de barrera hematoencefálica;

n es un número entero de 4 a 50; y

m es un número entero de 1 a 3; y

formar imágenes del sistema nervioso central del sujeto,

en donde el agente de barrera hematoencefálica comprende una secuencia de polipéptidos que tiene al menos una identidad de la secuencia de 80% con: L-R-V-R-L-A-S-H-L-R-K-L-R-K-R-L-L-R-D-A (SEQ ID NO: 13).

11. Una composición farmacéutica que comprende un complejo o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, que comprende una molécula biológicamente activa o un agente formador de imágenes, un péptido portador y un soporte farmacéuticamente aceptable, en donde el péptido portador comprende la secuencia:

$X_n - [B]_m$

en donde:

X es un aminoácido hidrófilo;

B es un agente de barrera hematoencefálica;

n es un número entero de 4 a 50; y

m es un número entero de 1 a 3;

en donde el agente de barrera hematoencefálica comprende una secuencia de polipéptidos que tiene al menos una identidad de la secuencia de 80% con: L-R-V-R-L-A-S-H-L-R-K-L-R-K-R-L-L-R-D-A (SEQ ID NO: 13).

12. Un kit que comprende un péptido portador, en donde el péptido portador comprende la secuencia:

$X_n - [B]_m$

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,

en donde:

X es un aminoácido hidrófilo;

B es un agente de barrera hematoencefálica;

n es un número entero de 4 a 50; y

m es un número entero de 1 a 3;

en donde el agente de barrera hematoencefálica comprende una secuencia de polipéptidos que tiene al menos una identidad de la secuencia de 80% con: L-R-V-R-L-A-S-H-L-R-K-L-R-K-R-L-L-R-D-A (SEQ ID NO: 13),

en donde el kit comprende, además, una molécula biológicamente activa o un agente formador de imágenes.

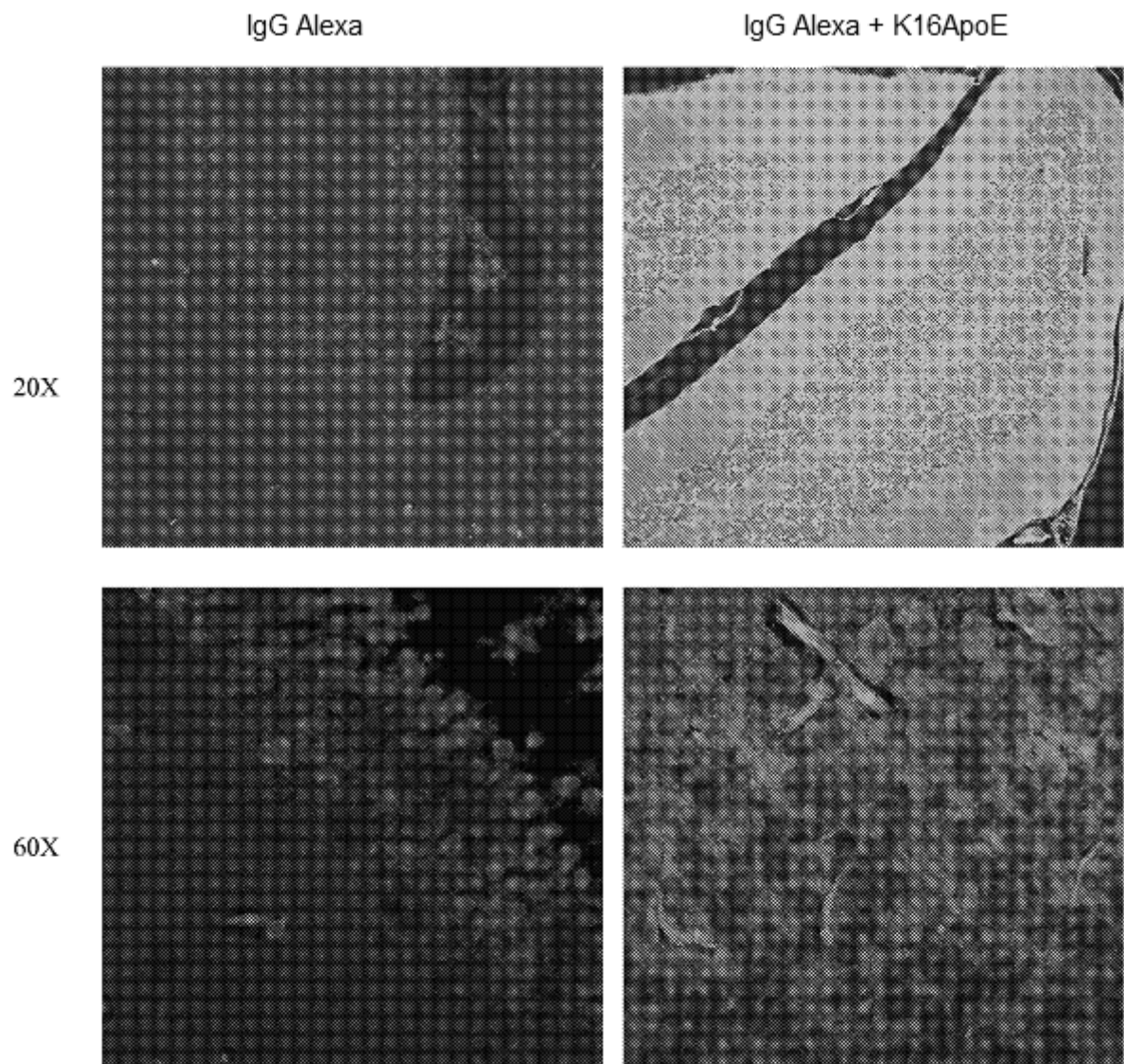


FIG. 1

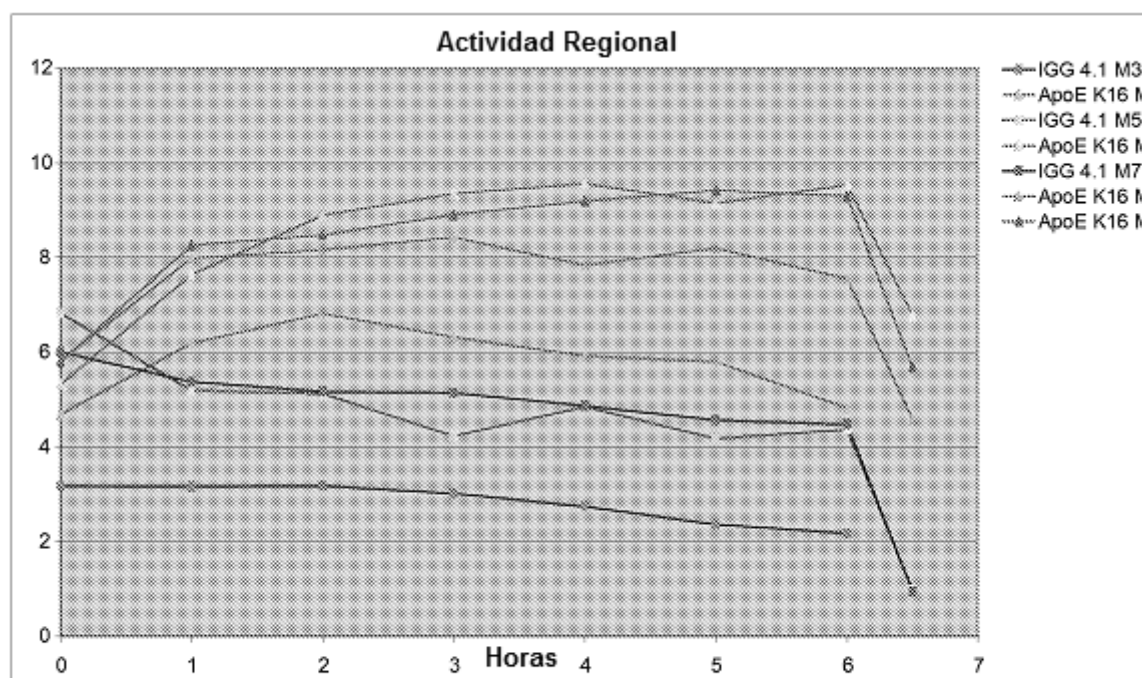


FIG. 2

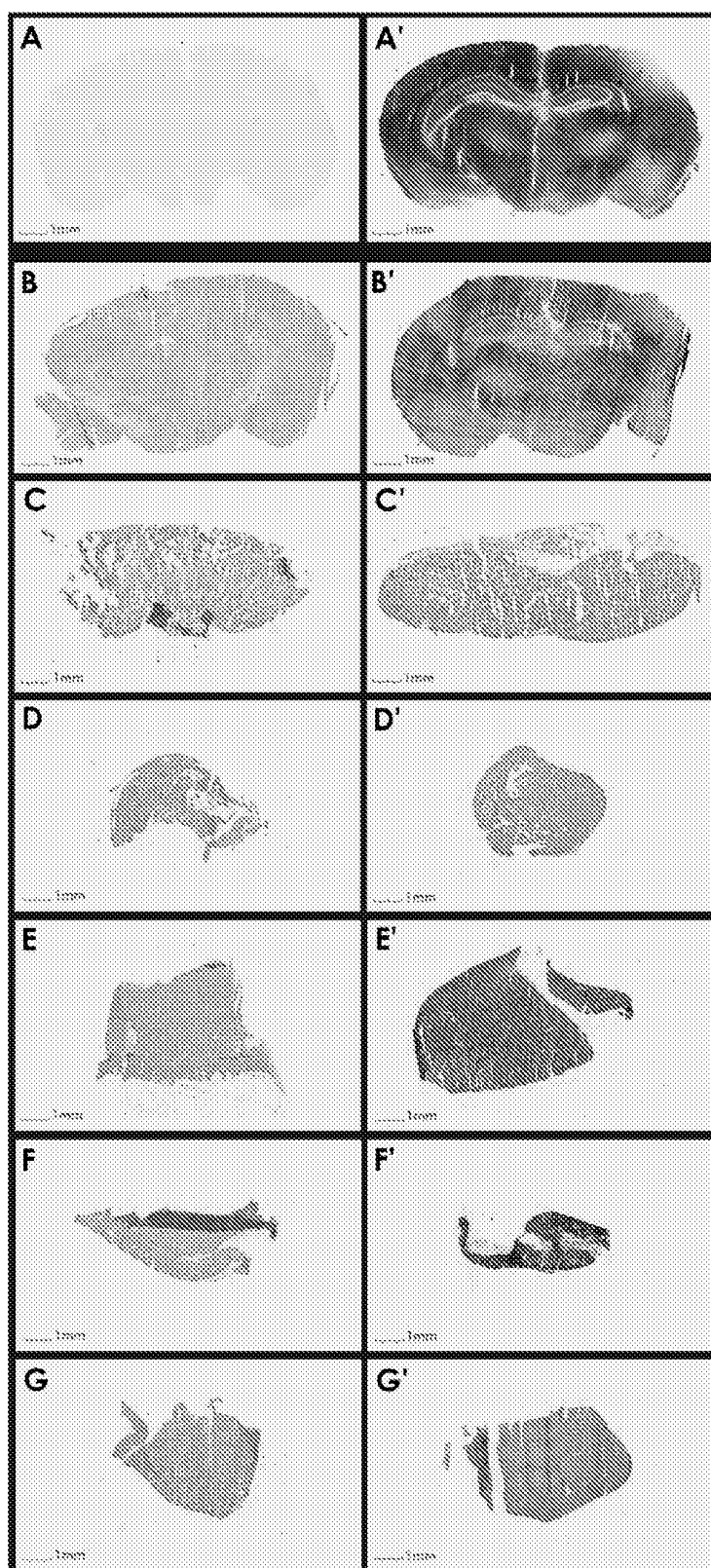


FIG. 3

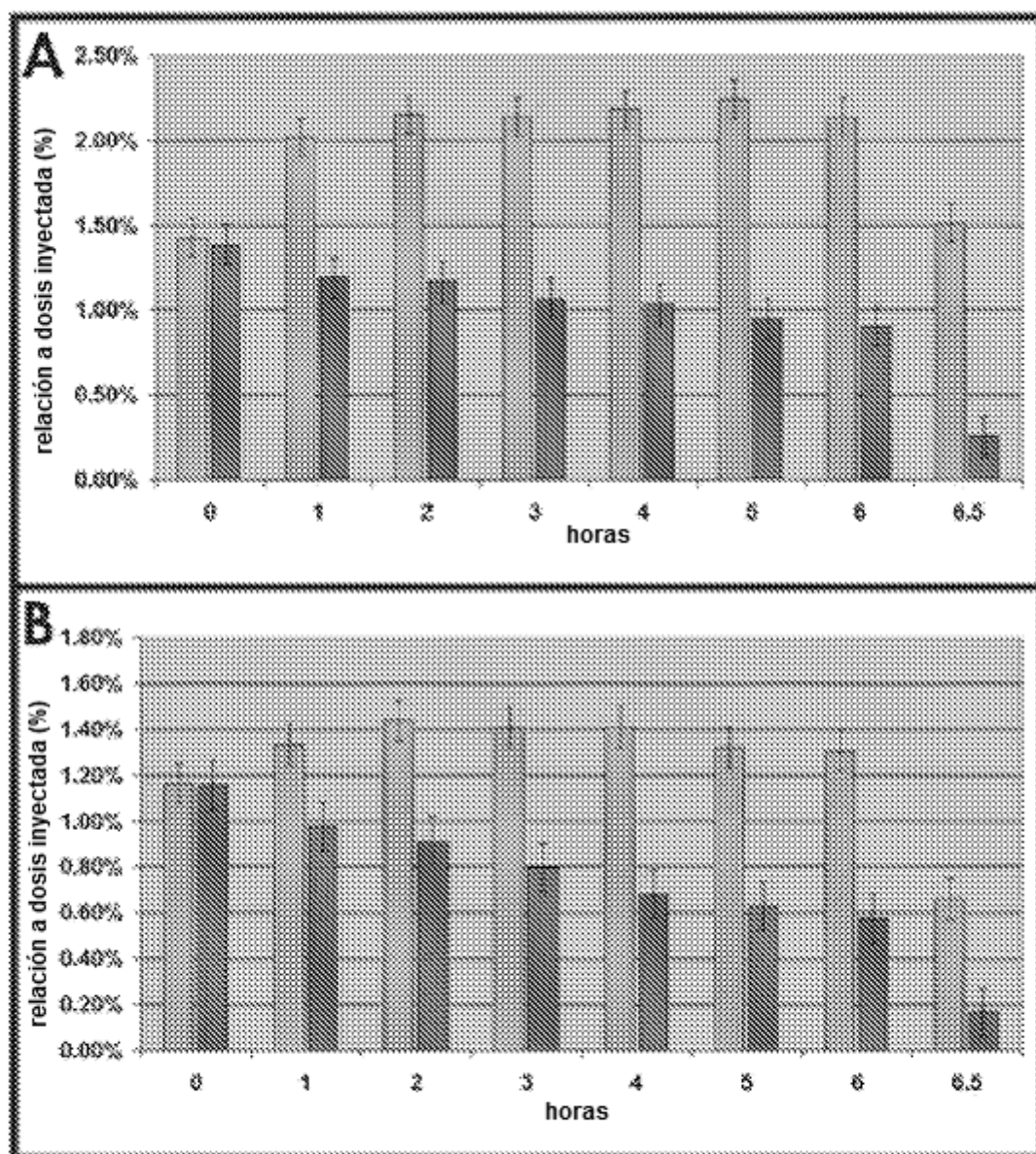


FIG. 4

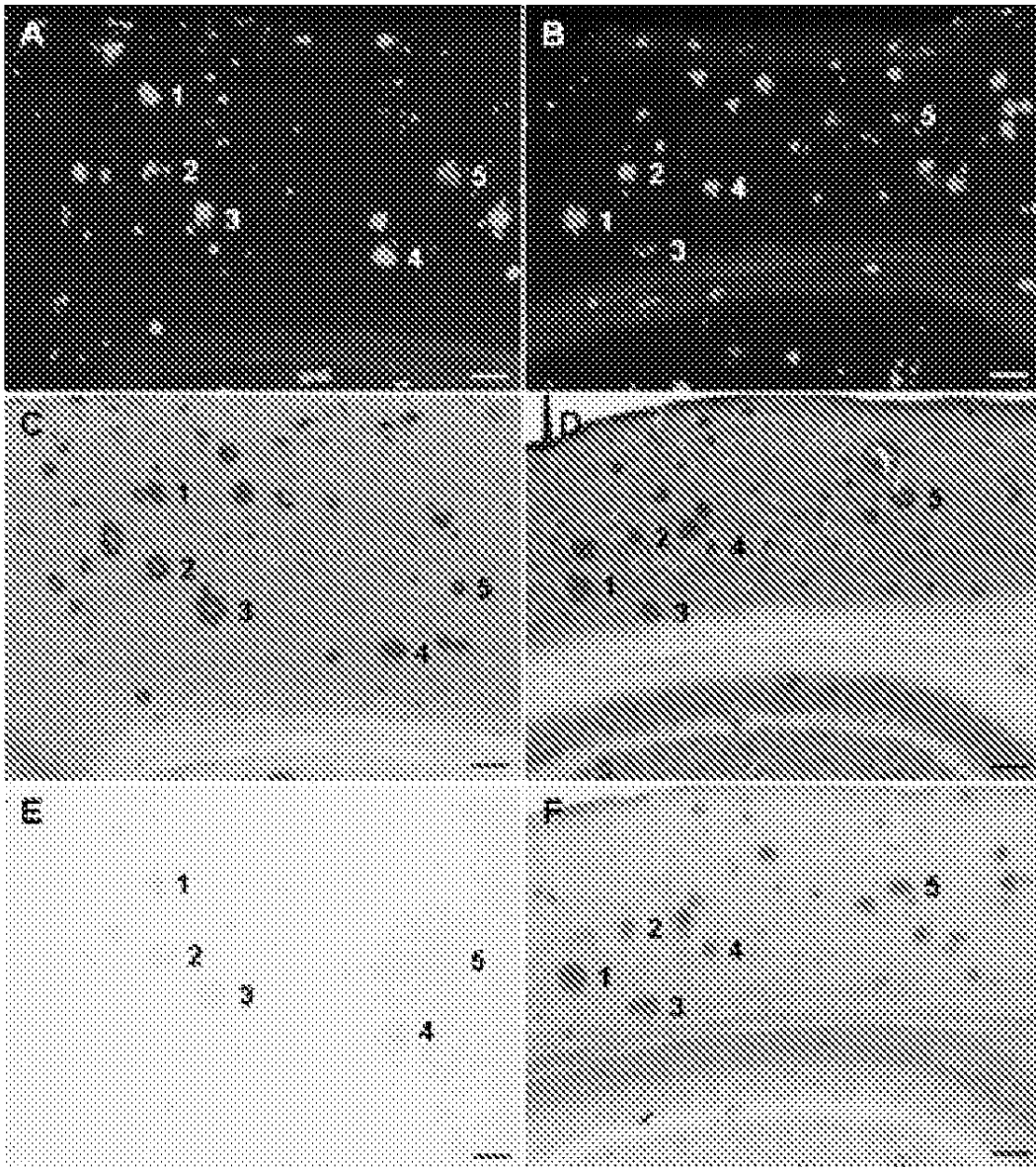


FIG. 5

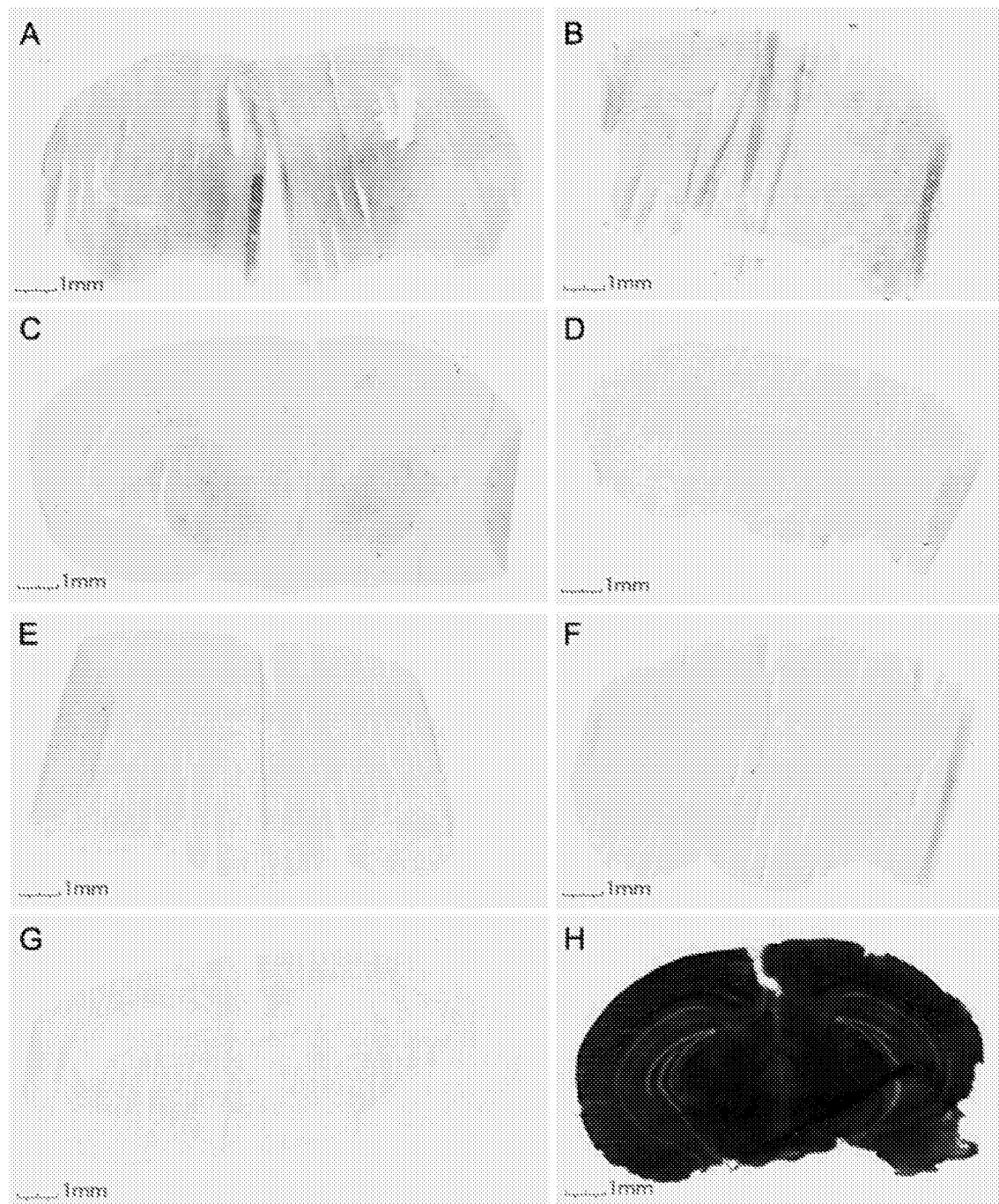


FIG. 6

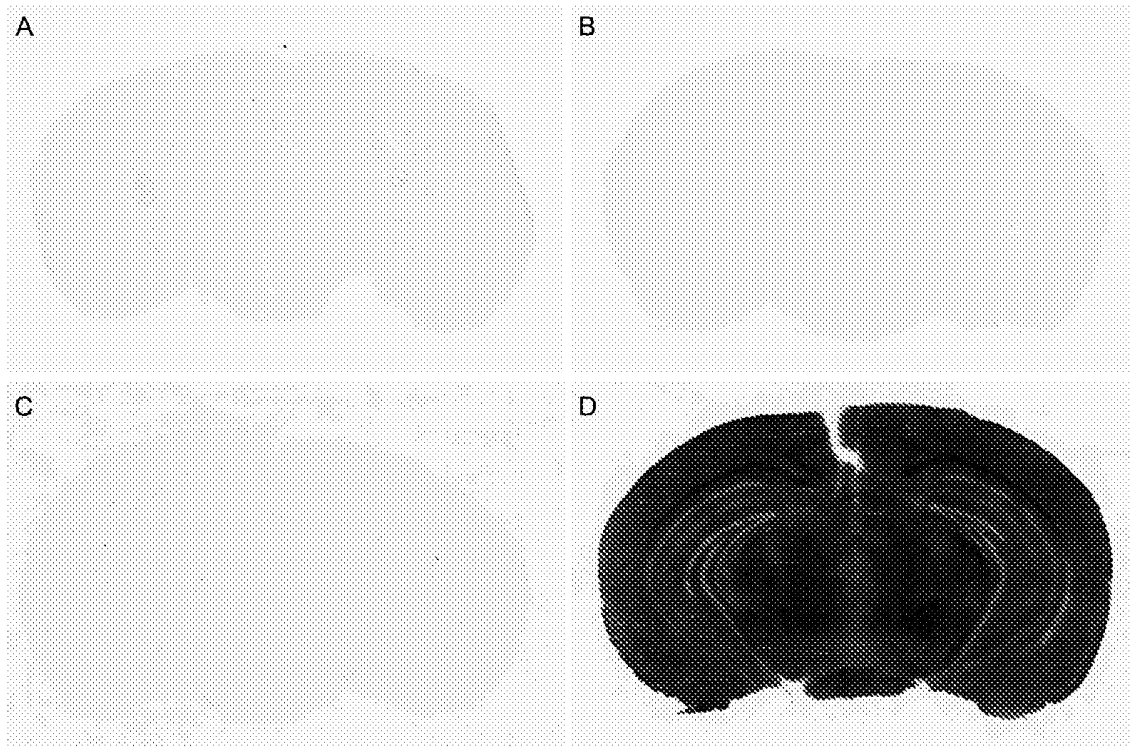


FIG. 7

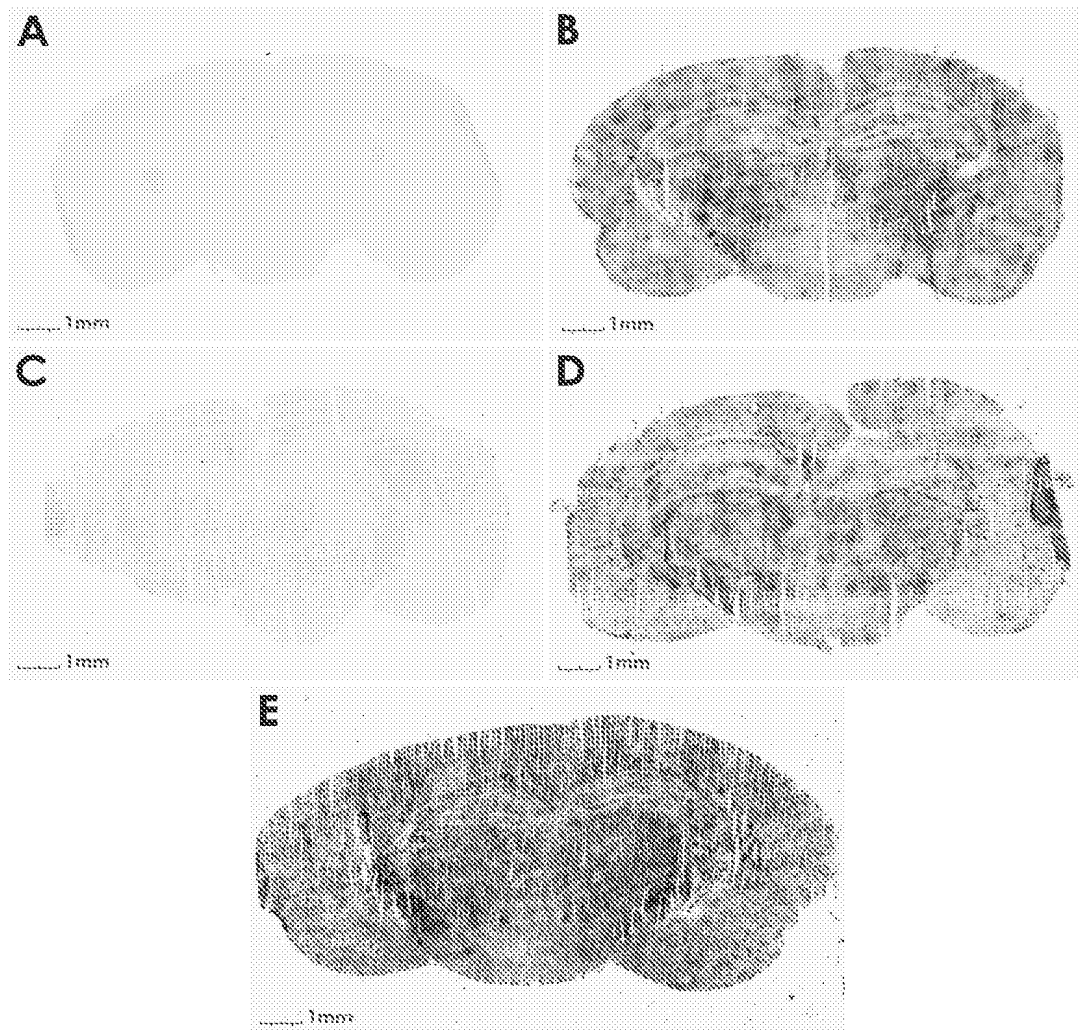


FIG. 8

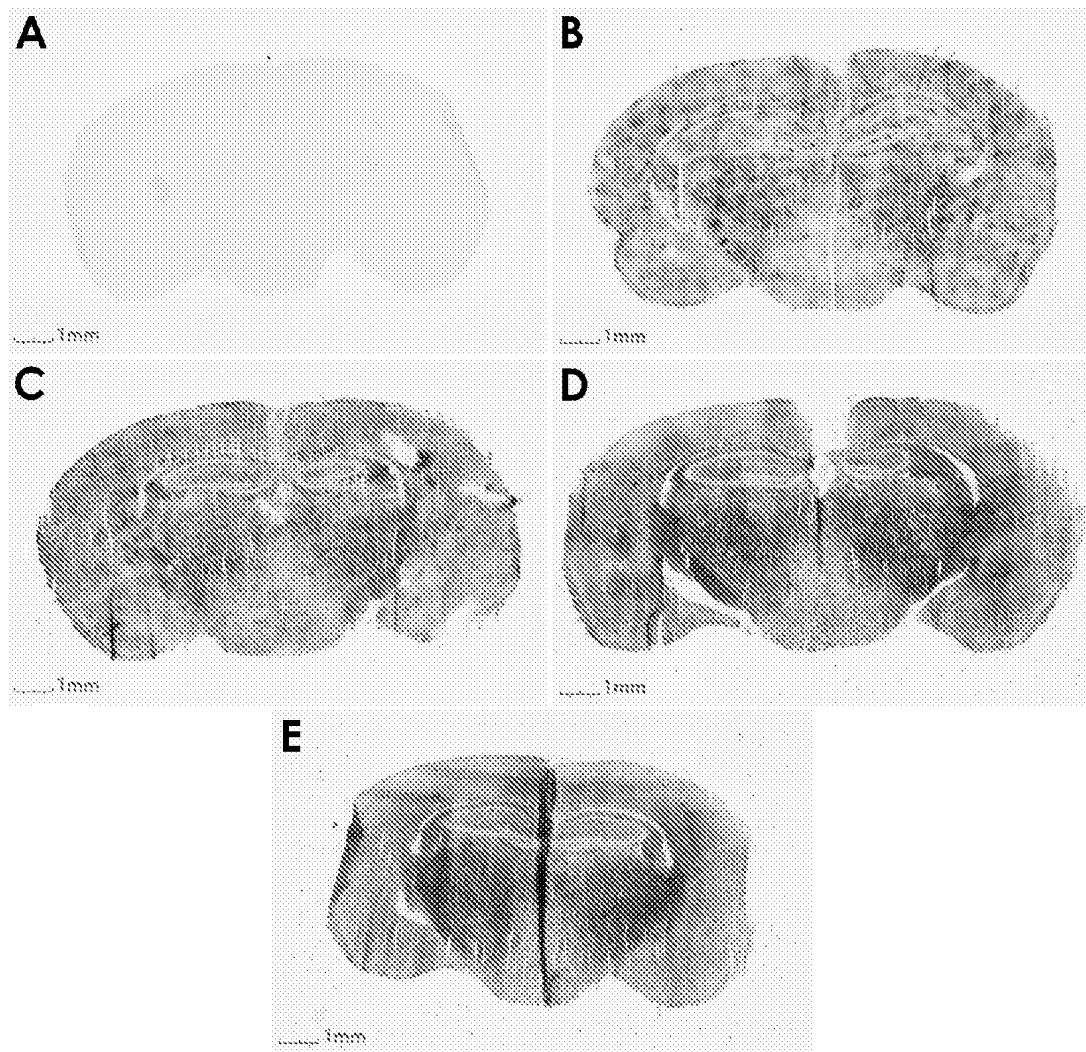


FIG. 9