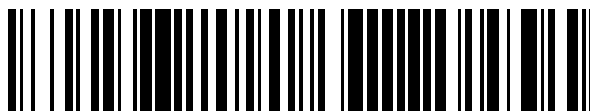


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 617 657**

51 Int. Cl.:

C07K 14/47	(2006.01) A61P 35/04	(2006.01)
A61K 47/48	(2006.01)	
A61P 3/06	(2006.01)	
A61P 3/10	(2006.01)	
A61P 5/24	(2006.01)	
A61P 15/00	(2006.01)	
A61P 15/06	(2006.01)	
A61P 15/08	(2006.01)	
A61P 25/28	(2006.01)	
A61P 35/00	(2006.01)	

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **29.07.2009 PCT/JP2009/063533**

87 Fecha y número de publicación internacional: **04.02.2010 WO2010013762**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.07.2009 E 09803004 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **30.11.2016 EP 2314609**

54 Título: **Derivado de metastina y uso del mismo**

30 Prioridad:

30.07.2008 JP 2008196598

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

19.06.2017

73 Titular/es:

**TAKEDA PHARMACEUTICAL COMPANY LIMITED
(100.0%)
1-1 Doshomachi 4-chome Chuo-ku
Osaka-shi, Osaka 541-0045, JP**

72 Inventor/es:

ASAMI TAIJI

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 617 657 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

Derivado de metastina y uso del mismo

CAMPO TÉCNICO

La presente invención se refiere a un derivado de metastina modificado con un polietilenglicol y uso del mismo.

5 TÉCNICA ANTERIOR

Se conocen metastina derivada de humano (también conocida como el péptido KiSS-1) (Documento de patente 1) y metastina derivada de ratón o de rata (Documento de patente 2). También se conocen preparaciones de liberación sostenida que contienen metastina (Documento de patente 3).

10 La metastina tiene un efecto supresor de la metástasis del cáncer y es así eficaz para prevenir o tratar cánceres (por ejemplo, cáncer de pulmón, cáncer gástrico, cáncer de hígado, cáncer pancreático, cáncer colorrectal, cáncer rectal, cáncer colónico, cáncer de próstata, cáncer de ovario, cáncer de cuello uterino, cáncer de mama, cáncer renal, cáncer de vejiga, tumor cerebral, etc.); la metastina también tiene un efecto de controlar la función pancreática y es eficaz para prevenir o tratar enfermedades pancreáticas (por ejemplo, pancreatitis aguda o crónica, cáncer pancreático, etc.); y la metastina tiene además un efecto de controlar la función placentaria y es eficaz para prevenir
15 o tratar coriocarcinoma, mola hidatídica, mola invasiva, aborto natural, hipoplasia fetal, metabolismo anormal de la glucosa, metabolismo anormal de los lípidos o parto anormal (Documentos de patente 1 a 3).

El Documento de patente 4 se refiere al tratamiento de trastornos reproductivos administrando composiciones que comprenden péptidos derivados de KiSS-1. El Documento de patente 5 se refiere al uso de ligandos GPR54 para el tratamiento de trastornos reproductivos, trastornos proliferativos y para la anticoncepción. Ambos Documentos de
20 patente 4 y 5 desvelan la modificación de un derivado de metastina con un polietilenglicol o sal del mismo.

DOCUMENTOS DEL ESTADO DE LA TÉCNICA

DOCUMENTOS DE PATENTE

Documento de patente 1: WO 00/24890

Documento de patente 2: WO 01/75104

25 Documento de patente 3: WO 02/85399

Documento de patente 4: WO 2005/117939 A2

Documento de patente 5: WO 2007/084211 A2

DIVULGACIÓN DE LA INVENCION

PROBLEMAS A RESOLVER POR LA INVENCION

30 Es un objetivo de la presente invención proporcionar un derivado de metastina modificado con un polietilenglicol que tiene excelentes actividades biológicas (una actividad supresora de la metástasis del cáncer, una actividad supresora del crecimiento del cáncer, una actividad promotora de la secreción de hormona gonadotrópica, una actividad promotora de la secreción de hormona sexual, una actividad supresora de la secreción de hormona gonadotrópica, una actividad supresora de la secreción de hormona sexual, etc.).

35 MEDIOS PARA RESOLVER LOS PROBLEMAS

Los presentes inventores han llevado a cabo amplios estudios para resolver los problemas anteriores y como resultado han observado que un derivado de metastina modificado con PEG, en el que los aminoácidos constituyentes de la metastina están sustituidos con aminoácidos específicos, y en el que el derivado de metastina se modifica además químicamente con un polietilenglicol (PEG), presenta farmacocinética mejorada y excelentes
40 acciones de liberación de LH y testosterona. Basándose en estos hallazgos, los presentes inventores han continuado con investigaciones adicionales y lograron alcanzar la presente invención.

Más específicamente, la presente invención proporciona las siguientes características.

[1] Un derivado de metastina que es

PEG5K(CS)-CO-Acp-Tyr-Asn-Trp-Asn-Ser-Phe-Gly-Leu-Arg-Phe-NH₂,

45 PEG2K(CS)-CO-Acp-Tyr-Asn-Trp-Asn-Ser-Phe-Gly-Leu-Arg-Phe-NH₂,

PEG20K(CS)-CO-Acp-Tyr-Asn-Trp-Asn-Ser-Phe-Gly-Leu-Arg-Phe-NH₂,

PEG40K(AL)-CH₂-Acp-Tyr-Asn-Trp-Asn-Ser-Phe-Gly-Leu-Arg-Phe-NH₂,

PEG20K(HS)-CO-Acp-Tyr-Asn-Trp-Asn-Ser-Phe-Gly-Leu-Arg-Phe-NH₂,

PEG40K(HS)-CO-Acp-Tyr-Asn-Trp-Asn-Ser-Phe-Gly-Leu-Arg-Phe-NH₂,

PEG30K(AL)-CH₂-Acp-Tyr-Asn-Trp-Asn-Ser-Phe-Gly-Leu-Arg-Phe-NH₂,

5 PEG20K(CS)-CO-Acp-D-Tyr-D-Trp-Asn-Thr-Phe-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂,

PEG20K(CS)-CO-Acp-D-Tyr-Hyp-Asn-Thr-Phe-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂,

PEG20K(CS)-CO-Acp-D-Tyr-Glu-Asn-Thr-Phe(3F)-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂, o

PEG20K(CS)-CO-Acp-D-Tyr-Hyp-Asn-Thr-Phe(4F)-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂

10 (en el que los números y K significan kDa, que es el peso molecular de PEG, (CS) representa -CO(CH₂)₂-, (AL) representa -(CH₂)₂- y (HS) representa -(CH₂)₅-).

[2] El derivado de metastina según [1] anterior que es PEG20K(CS)-CO-Acp-D-Tyr-Hyp-Asn-Thr-Phe-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ o una sal del mismo.

[3] Un producto farmacéutico que comprende el derivado de metastina según [1] anterior.

15 [4] El producto farmacéutico según [3] anterior, para su uso en la inhibición de metástasis del cáncer o proliferación del cáncer.

[5] El producto farmacéutico según [3] anterior, para su uso en la prevención o el tratamiento de cáncer.

[6] El producto farmacéutico según [3] anterior, para su uso en el control de la función placentaria.

20 [7] El producto farmacéutico según [3] anterior, para su uso en la prevención o el tratamiento de coriocarcinoma, mola hidatídica, mola invasiva, aborto natural, hipoplasia fetal, metabolismo anormal de la glucosa, metabolismo anormal de los lípidos o inducción de parto.

[8] El producto farmacéutico según [3] anterior, para su uso en la mejora de la función gonadal.

[9] El producto farmacéutico según [3] anterior, para su uso en la prevención o el tratamiento de cáncer dependiente de hormonas, infertilidad, endometriosis, pubertad precoz o histeriomioma.

[10] El producto farmacéutico según [3] anterior, para su uso en la inducción o estimulación de la ovulación.

25 [11] El producto farmacéutico según [3] anterior, para su uso en la promoción de la secreción de hormona gonadotrópica o secreción de hormona sexual.

[12] El producto farmacéutico según [3] anterior, para su uso en la prevención o el tratamiento de enfermedad de Alzheimer, deterioro cognitivo leve o autismo.

30 [13] El producto farmacéutico según [3] anterior, para su uso en la prevención o el tratamiento de cáncer dependiente de hormonas.

EFFECTOS DE LA INVENCION

35 Además de los excelentes efectos de suprimir la metástasis del cáncer y la proliferación del cáncer, el derivado de metastina modificado con un polietilenglicol (PEG) de la presente invención o sales del mismo tienen excelente estabilidad en sangre, etc., y excelente farmacocinética, y son útiles como agentes para prevenir o tratar cánceres (por ejemplo, cáncer de pulmón, cáncer gástrico, cáncer de hígado, cáncer pancreático, cáncer colorrectal, cáncer rectal, cáncer de colon, cáncer de próstata, cáncer de ovario, cáncer de cuello uterino, cáncer de mama, etc.).

40 El derivado de metastina modificado con un polietilenglicol (PEG) de la presente invención o sales del mismo tienen un efecto de controlar la función pancreática y son útiles como agentes para prevenir o tratar enfermedades pancreáticas (por ejemplo, pancreatitis aguda o crónica, cáncer pancreático, etc.). El derivado de metastina de la presente invención o sales del mismo tienen un efecto de controlar la función placentaria y son útiles como agentes para prevenir o tratar coriocarcinoma, mola hidatídica, mola invasiva, aborto natural, hipoplasia fetal, metabolismo anormal de la glucosa, metabolismo anormal de los lípidos o inducción de parto.

45 Asimismo, los derivados de metastina modificados con un polietilenglicol (PEG) de la presente invención o sales de los mismos tienen efectos de aumentar el nivel de glucosa en sangre, promover la secreción de glucagón pancreático y promover la formación de orina, y son útiles como agentes para prevenir o tratar obesidad, hiperlipemia, diabetes mellitus de tipo II, hipoglucemia, hipertensión, neuropatía diabética, nefropatía diabética,

retinopatía diabética, edema, alteraciones urinarias, resistencia a la insulina, diabetes mellitus inestable, atrofia grasa, alergia a la insulina, insulinoma, arteriosclerosis, trastornos trombóticos o lipotoxicidad.

Además, los derivados de metastina modificados con un polietilenglicol (PEG) de la presente invención o sales de los mismos tienen excelentes actividades de promoción de la secreción de hormona gonadotrópica, promoción de la secreción de hormona sexual, inducción o estimulación de la ovulación, y son útiles como agentes de baja toxicidad y seguros, por ejemplo, para mejorar la función gonadal, prevenir o tratar cáncer dependiente de hormonas (por ejemplo, cáncer de próstata, cáncer de mama, etc.), infertilidad, endometriosis, pubertad precoz, histeromioma, etc., agentes para inducir o estimular la ovulación, agentes para promover la secreción de hormona gonadotrópica, anticonceptivos, agentes para promover la secreción de hormona sexual, o similares.

- 10 Además, el compuesto de la presente invención es útil como agente para prevenir o tratar enfermedades reumáticas (por ejemplo, artritis reumatoide crónica, osteoartritis, gota, etc.), etc.

Además, los derivados de metastina modificados con un polietilenglicol (PEG) de la presente invención o sales de los mismos son útiles como agentes para prevenir o tratar la enfermedad de Alzheimer, deterioro cognitivo leve, autismo, etc.

- 15 Los derivados de metastina modificados con un polietilenglicol (PEG) de la presente invención o sales de los mismos son útiles como agentes para suprimir la secreción de hormona gonadotrópica o la secreción de hormona sexual; agentes para prevenir o tratar cánceres dependientes de hormonas (por ejemplo, cáncer de próstata, cáncer de mama, etc.; particularmente, cáncer de próstata sensible a las hormonas, cáncer de mama sensible a las hormonas, etc.); agentes para prevenir o tratar endometriosis; agentes para inhibir la maduración folicular del ovario; agentes de suspensión del ciclo menstrual; agentes para tratar histeromioma; agentes para tratar pubertad precoz; anticonceptivos, etc.

- Además, los derivados de metastina modificados con un polietilenglicol (PEG) de la presente invención o sales de los mismos son útiles como inmunopotenciadores (agentes profilácticos para la infección después del trasplante de hueso-médula ósea, inmunopotenciadores para su uso en cáncer); inmunoestimulantes (regeneración del timo, recrecimiento tímico, crecimiento de linfocitos T potenciado); agentes profilácticos/terapéuticos para atrofia muscular bulboespinal; agentes para proteger el ovario; agentes profilácticos/terapéuticos para hipertrofia prostática benigna (HPB); agentes profilácticos/terapéuticos para trastornos de identidad de género; agentes para la fecundación *in vitro* (FIV); etc. Estos derivados o sales también son útiles como agentes profilácticos/terapéuticos para infertilidad, hipogonadismo, oligospermia, azoospermia, aspermia, astenospermia, necrospermia, etc. Además, estos derivados o sales son útiles para enfermedades dependientes de hormonas (por ejemplo, cáncer dependiente de hormonas sexuales tales como cáncer de próstata, cáncer uterino, cáncer de mama, tumor de la hipófisis, etc.), agrandamiento de la glándula prostática, endometriosis, histeromioma, pubertad precoz, dismenorrea, amenorrea, síndrome premenstrual, síndrome del ovario multilocular, recaída posoperatoria de los cánceres anteriormente mencionados, metástasis de los cánceres anteriormente mencionados, hipopituitarismo, enanismo (el caso donde la secreción de hormona de crecimiento está comprometida con hiposecreción de la hormona pituitaria), trastornos menopáusicos, molestia indeterminada, trastornos dependientes de la hormona sexual tales como trastornos metabólicos del calcio, fósforo y hueso. También es aplicable a anticoncepción (o infertilidad cuando se usan efectos de rebote después del cese del fármaco), etc.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

- 40 En la Fig. 1, A muestra la concentración de LH cronológica en el plasma para el compuesto 1 y la metastina (45-54). El eje vertical representa la concentración de LH en el plasma y el eje horizontal representa el tiempo después del inicio de la administración. B muestra el área bajo la curva (ABC) de LH. El eje vertical representa ABC de LH, y el eje horizontal representa una dosis. El símbolo * indica una diferencia significativa ($p \leq 0,025$, prueba de Williams unilateral) en comparación con el grupo de control (0 nmol/kg), y el símbolo # indica una diferencia significativa ($p \leq 0,025$, prueba de Shirley-Williams unilateral) en comparación con el grupo de control.

En la Fig. 2, A muestra la concentración de LH cronológica en el plasma para el compuesto 3 y la metastina (45-54). El eje vertical representa la concentración de LH en el plasma y el eje horizontal representa el tiempo después del inicio de la administración. B muestra el área bajo la curva (ABC) de LH. El eje vertical representa ABC de LH, y el eje horizontal representa una dosis.

- 50 La Fig. 3 muestra el área bajo la curva (ABC) de LH para los compuestos 8-11 y la metastina (45-54). El eje vertical representa ABC de LH y el eje horizontal representa una dosis.

- En la Fig. 4, A muestra la concentración de testosterona total cronológica en el plasma para el compuesto 1 y la metastina (45-54). El eje vertical representa la concentración de testosterona total en el plasma y el eje horizontal representa el tiempo después del inicio de la administración. B muestra el área bajo la curva (ABC) de testosterona total. El eje vertical representa ABC de testosterona total y el eje horizontal representa una dosis. El símbolo # indica una diferencia significativa ($p \leq 0,025$, prueba de Shirley-Williams unilateral) en comparación con el grupo de control.

En la Fig. 5, A muestra la concentración de testosterona total cronológica en el plasma para el compuesto 3 y la metastina (45-54). El eje vertical representa la concentración de testosterona total en el plasma y el eje horizontal representa el tiempo después del inicio de la administración. B muestra el área bajo la curva (ABC) de testosterona total. El eje vertical representa ABC de testosterona total, y el eje horizontal representa una dosis.

- 5 La Fig. 6 muestra el área bajo la curva (ABC) de testosterona total para los compuestos 8-11 y la metastina (45-54). El eje vertical representa ABC de testosterona total, y el eje horizontal representa una dosis.

MODO PARA LLEVAR A CABO LA INVENCIÓN

Los derivados de metastina de la presente invención pueden prepararse por métodos en sí públicamente conocidos para la síntesis de péptidos. Como métodos para la síntesis de péptidos pueden usarse, por ejemplo, tanto la
10 síntesis en fase sólida como la síntesis en fase líquida. Más específicamente, el péptido parcial o los aminoácidos que pueden constituir el péptido de la presente invención se condensan repetidamente con la parte restante para dar el producto que tiene una secuencia deseada. Donde el producto tiene grupos protectores, estos grupos protectores se eliminan para dar el péptido deseado. Métodos públicamente conocidos para la condensación y eliminación de los grupos protectores se describen, por ejemplo, en (1) a (5) a continuación:

- 15 (1) M. Bodanszky y M.A. Ondetti: Peptide Synthesis, Interscience Publishers, Nueva York (1966);
(2) Schroeder y Luebke: The Peptide, Academic Press, Nueva York (1965);
(3) Nobuo Izumiya, et al.: Peptide Gosei-no-Kiso to Jikken (Basics and Experiments of Peptide Synthesis), publicado por Maruzen Co. (1975);
(4) Haruaki Yajima y Shunpei Sakakibara: Seikagaku Jikken Koza (Biochemical Experiment) 1, Tanpakushitsu
20 no Kagaku (Chemistry of Proteins) IV, 205 (1977); y
(5) Haruaki Yajima, ed.: Zoku Iyakuhi no Kaihatsu (A sequel to Development of Pharmaceuticals), Vol. 14, Peptide Synthesis, publicado por Hirokawa Shoten.

- Después de completarse la reacción, el péptido de la presente invención puede purificarse y aislarse mediante una
25 combinación de métodos de purificación convencionales tales como extracción con disolvente, destilación, cromatografía en columna, cromatografía de líquidos y recristalización. Cuando el péptido obtenido mediante los métodos anteriores está en una forma libre, el péptido puede convertirse en una sal apropiada por un método públicamente conocido; en cambio, cuando el péptido se obtiene en una forma de sal, puede convertirse en su forma libre por métodos públicamente conocidos.

- Para la condensación de los aminoácidos o péptidos protegidos, puede usarse una variedad de reactivos de
30 activación para la síntesis de péptidos, y son particularmente preferidas las sales de trifosfonio, sales de tetrametiluronio, carbodiimidas, etc. Ejemplos de las sales de trifosfonio incluyen hexafluorofosfato de benzotriazol-1-iloxitris(pirrolidino)fosfonio (PyBOP), hexafluorofosfato de bromotris(pirrolidino)fosfonio (PyBroP) y hexafluorofosfato de 7-azabenzotriazol-1-iloxitris(pirrolidino)fosfonio (PyAOP); ejemplos de las sales de tetrametiluronio incluyen 2-(1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-hexafluorofosfato (HBTU), 2-(7-azabenzotriazol-1-il)-1,1,3,3-hexafluorofosfato (HATU), tetrafluoroborato de 2-(1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio (TBTU),
35 tetrafluoroborato de 2-(5-norborneno-2,3-dicarboxiimido)-1,1,3,3-tetrametiluronio (TNTU) y tetrafluoroborato de O-(N-succinimidil)-1,1,3,3-tetrametiluronio (TSTU); y ejemplos de las carbodiimidas incluyen DCC, N,N'-diisopropilcarbodiimida (DIPCDI), clorhidrato de N-etil-N'-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDCI·HCl), etc. Para la condensación usando estos reactivos, se añade preferentemente un inhibidor de la racemización (por ejemplo, HONB, HOBt, HOAt, HOOBt, etc.). Los disolventes usados en la condensación pueden ser apropiadamente elegidos de disolventes que son conocidos por ser útiles para la reacción de condensación de péptidos. Por ejemplo, se usan amidas de ácido tales como N,N-dimetilformamida anhidra o hidratada, N,N-dimetilacetamida, N-metilpirrolidona, etc., hidrocarburos halogenados tales como cloruro de metileno, cloroformo, etc., alcoholes tales como trifluoroetanol, fenol, etc., sulfóxidos tales como sulfóxido de dimetilo, etc., aminas terciarias tales como piridina, etc.,
45 éteres tales como dioxano, tetrahidrofurano, etc., nitrilos tales como acetonitrilo, propionitrilo, etc., ésteres tales como acetato de metilo, acetato de etilo, etc., o mezclas adecuadas de los mismos, etc. La temperatura de reacción se elige apropiadamente del intervalo conocido para aplicarse a las reacciones de unión de péptidos y normalmente se elige adecuadamente del intervalo de aproximadamente -20 °C a 50 °C. Los derivados de aminoácido activados se usan generalmente en un exceso de 1,5 a 6 veces. En el caso de la síntesis en fase sólida, la condensación se
50 examina usando la reacción de ninhidrina; cuando la condensación es insuficiente, la condensación puede completarse repitiendo la reacción de condensación sin eliminación de los grupos protectores. Cuando la condensación es aún insuficiente incluso después de repetir la reacción, los aminoácidos sin reaccionar se acilan con anhídrido acético o acetilimidazol para cancelar cualquier efecto adverso sobre la reacción posterior.

- Ejemplos de los grupos protectores usados para proteger los grupos amino en los aminoácidos de partida incluyen
55 Z, Boc, terc-pentiloxycarbonilo, isoborniloxycarbonilo, 4-metoxibenciloxycarbonilo, Cl-Z, Br-Z, adamantiloxycarbonilo, trifluoroacetilo, ftaloilo, formilo, 2-nitrofenilsulfenilo, difenilfosfinotioilo, Fmoc, tritilo, etc. Ejemplos de grupos protectores para un grupo carboxilo incluyen un grupo alquilo C₁₋₆, un grupo cicloalquilo C₃₋₈ y un grupo aralquilo C₇.

¹⁴, que se han descrito anteriormente para R, y además, alilo, 2-adamantilo, 4-nitrobencilo, 4-metoxibencilo, 4-clorobencilo, grupo fenacilo, benciloxicarbonilhidrazida, terc-butoxicarbonilhidrazida, tritilhidrazida, etc.

- 5 El grupo hidroxilo de serina y treonina puede protegerse, por ejemplo, por esterificación o eterificación. Ejemplos del grupo adecuados para esta esterificación incluyen un grupo derivado de ácidos orgánicos, por ejemplo, un grupo alcanóilo (C₂₋₄) inferior tal como un grupo acetilo, un grupo aroilo tal como un grupo benzoilo, etc. Ejemplos del grupo adecuados para la eterificación incluyen un grupo bencilo, un grupo tetrahidropirano, un grupo terc-butilo, un grupo tritilo (Trt), etc.

Ejemplos de grupos para proteger el grupo hidroxilo fenólico de tirosina incluyen Bzl, 2,6-diclorobencilo, 2-nitrobencilo, Br-Z, terc-butilo, etc.

- 10 Ejemplos de grupos usados para proteger el resto de imidazol de histidina incluyen Tos, 4-metoxi-2,3,6-trimetilbencenosulfonilo (Mtr), DNP, Bom, Bum, Boc, Trt, Fmoc, etc.

Ejemplos de grupos protectores para el grupo guanidino en arginina incluyen Tos, Z, 4-metoxi-2,3,6-trimetilbencenosulfonilo (Mtr), p-metoxibencenosulfonilo (MBS), 2,2,5,7,8-pentametilcroman-6-sulfonilo (Pmc), mesitilen-2-sulfonilo (Mts), 2,2,4,6,7-pentametildihidrobencofuran-5-sulfonilo (Pbf), Boc, Z, NO₂, etc.

- 15 Ejemplos de grupos protectores para el grupo amino de la cadena lateral de lisina incluyen Z, Cl-Z, trifluoroacetilo, Boc, Fmoc, Trt, Mtr, 4,4-dimetil-2,6-dioxociclohexilidenetilo (Dde), etc.

Ejemplos de grupos protectores para el indolilo de triptófano incluyen formilo (For), Z, Boc, Mts, Mtr, etc.

Ejemplos de grupos protectores para asparagina y glutamina incluyen Trt, xantilo (Xan), 4,4'-dimetoxibenzhidrido (Mbh), 2,4,6-trimetoxibencilo (Tmob), etc.

- 20 Ejemplos de los grupos carboxilo activados en el material de partida incluyen los anhídridos de ácido correspondientes, azidas, ésteres activados [ésteres con alcoholes (por ejemplo, pentaclorofenol, 2,4,5-triclorofenol, 2,4-dinitrofenol, alcohol cianometílico, p-nitrofenol, HONB, N-hidroxisuccimida, 1-hidroxibenzotriazol (HOBt) o 1-hidrox-7-azabenzotriazol (HOAt)], etc. Ejemplos de aminoácidos en los que los grupos amino en el material de partida están activados incluyen las amidas de fósforo correspondientes.

- 25 Ejemplos de un método de eliminación (retirada) de los grupos protectores incluyen reducción catalítica en flujo de gas hidrógeno en presencia de un catalizador tal como negro de Pd o Pd-carbono; un tratamiento con ácido con fluoruro de hidrógeno anhidro, ácido metanosulfónico, ácido trifluorometanosulfónico, ácido trifluoroacético, bromuro de trimetilsilano (TMSBr), trifluorometanosulfonato de trimetilsililo, ácido tetrafluorobórico, tris(trifluoro)boro, tribromuro de boro o una disolución mixta de los mismos, un tratamiento con base con diisopropiletilamina, trietilamina, piperidina, piperazina, etc., y reducción con sodio en amoniaco líquido. La eliminación de grupos protectores por el tratamiento con ácido descrito anteriormente se lleva a cabo generalmente a una temperatura de -20 °C a 40 °C. En el tratamiento con ácido, es eficiente añadir un secuestrante de cationes tal como anisol, fenol, tioanisol, m-cresol, p-cresol, etc., sulfuro de dimetilo, 1,4-butanoditiol, 1,2-etanoditiol, etc. Además, un grupo 2,4-dinitrofenilo que se usa como grupo protector para el imidazol de histidina se elimina por un tratamiento con tiofenol.
- 30 Un grupo formilo que se usa como grupo protector del indol de triptófano se elimina por el tratamiento con ácido anteriormente dicho en presencia de 1,2-etanoditiol, 1,4-butanoditiol, etc., además de por un tratamiento con un álcali como una disolución diluida de hidróxido sódico, amoniaco diluido, etc.

- 35 La protección de grupos funcionales que no deben participar en la reacción de los materiales de partida, grupos protectores, eliminación de los grupos protectores y activación de grupos funcionales que participan en la reacción puede ser apropiadamente elegida de grupos públicamente conocidos o medios públicamente conocidos.

- 40 En otro método de obtención de las amidas del péptido, por ejemplo, se lleva a cabo síntesis en fase sólida usando una resina para la síntesis de amidas, o el grupo α -carboxilo del aminoácido del extremo carboxilo se convierte en amida; la cadena de péptido se extiende entonces desde el lado del grupo amino a una longitud deseada. A partir de aquí, se preparan un péptido (o un aminoácido) en el que solo el grupo protector del grupo α -amino del extremo N en la cadena de péptido se ha eliminado del péptido; y un péptido (o un aminoácido) en el que solo el grupo protector del grupo carboxilo del extremo C se ha eliminado. Los dos péptidos se condensan en una mezcla de los disolventes descritos anteriormente. Los detalles de la reacción de condensación son los mismos que aquellos descritos anteriormente. Después de la purificación del péptido protegido obtenido por la condensación, todos los grupos protectores se eliminan por el método descrito anteriormente para dar el péptido en bruto deseado. Este péptido en bruto se purifica por diversos medios de purificación conocidos. La liofilización de la fracción principal da la amida del péptido deseado.

- 45 La metastina modificada de la presente invención puede prepararse según un método en sí públicamente conocido para modificar químicamente un péptido. Ejemplos del método para modificar químicamente un péptido que puede usarse incluyen, por ejemplo, un método de unir conjugativamente un polietilenglicol (PEG) con el extremo amino de un péptido, restos de Cys, Asp, Glu o Lys, o el extremo carboxi de un aminoácido. Además, ejemplos del método para modificar químicamente un péptido que puede usarse incluyen, por ejemplo, un método descrito en Roberts,

M., et al., *Advanced Drug Delivery Reviews*, 54, 457-476 (2002) o modificaciones de estos métodos. La unión de PEG al extremo carboxi puede llevarse a cabo por acoplamiento enzimático usando péptido GLP-1 recombinante, o por un método en sí públicamente conocido descrito en la patente de EE. UU. N.º 4.343.898, o *International Journal of Peptide & Protein Research*, 43, 127-138 (1994), etc., o por modificaciones de estos métodos.

- 5 Más específicamente, puede prepararse un derivado de metastina modificado previsto uniendo un sitio, que es modificable con PEG (por ejemplo, resto de lisina, etc.), y un polietilenglicol con una parte del derivado de metastina de la presente invención por un método de modificación química en sí públicamente conocido; o uniendo una parte deseada de un derivado de metastina a una parte deseada de un polietilenglicol mediante un conector por modificación química; o uniendo un polietilenglicol a un conector que tiene una estructura específica de antemano, y
10 uniendo el polietilenglicol que tiene el conector a un derivado de metastina por un método de modificación química, etc.

- El peso molecular del PEG que se usa en la modificación del derivado de metastina de la presente invención puede seleccionarse apropiadamente dependiendo de un grado de duración de la eficacia del fármaco, un grado de estabilidad en sangre, etc. El peso molecular de una molécula de PEG es 1 a 1000 kDa, preferentemente 10 a 500
15 kDa. La configuración molecular del PEG que se usa en la presente invención puede seleccionarse apropiadamente de un tipo lineal, un tipo ramificado o un tipo estelar, etc.

- Además, después de la reacción, la metastina modificada con PEG puede purificarse y aislarse por un método de purificación convencional, por ejemplo, combinación de extracción con disolvente, destilación, cromatografía en columna, cromatografía de líquidos, recristalización y distribución en dos fases de PEG/dextrano. Cuando la
20 metastina modificada con PEG obtenida por los métodos anteriores está en una forma libre, la metastina modificada con PEG puede convertirse en una sal apropiada por un método públicamente conocido; en cambio, cuando la metastina modificada con PEG se obtiene en una forma de sal, puede convertirse en su forma libre por métodos públicamente conocidos.

- Cuando la metastina modificada de la presente invención está presente en forma de un isómero configuracional, diaestereómero, confórmero, o similares, cada uno puede aislarse por los medios de separación y purificación descritos anteriormente, si se desea. Además, cuando el compuesto de la presente invención es racémico, puede separarse en un isómero S y un isómero R por un medio de resolución óptica convencional.

Cuando existen isómeros estéricos para el derivado de metastina de la presente invención, la presente invención engloba tanto estos isómeros solos como los isómeros presentes como una mezcla de los mismos.

- 30 Además, la metastina modificada de la presente invención también puede ser hidrato o anhidrato. La metastina modificada de la presente invención también puede marcarse con un isótopo (por ejemplo, ^3H , ^{14}C , ^{35}S), etc.

- Como se usa en el presente documento, los péptidos se representan según la forma convencional de describir los péptidos, es decir, el extremo N (extremo amino) a mano izquierda y el extremo C (extremo carboxilo) a mano derecha. En los péptidos, el extremo C está normalmente en forma de una amida ($-\text{CONH}_2$), un grupo carboxilo ($-\text{COOH}$), un carboxilato ($-\text{COO}^-$), una alquilamida ($-\text{CONHR}$) o un éster ($-\text{COOR}$), y la amida ($-\text{CONH}_2$) es particularmente preferida. Ejemplos del éster o alquilamida como R incluyen un grupo alquilo C_{1-6} tal como metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, etc.; un grupo cicloalquilo C_{3-8} tal como ciclopentilo, ciclohexilo, etc.; un grupo arilo C_{6-12} tal como fenilo, α -naftilo, etc.; un grupo aralquilo C_{7-14} tal como un grupo fenil-alquilo C_{1-2} (por ejemplo, bencilo, fenetilo, benzhidrilo, etc.), o un grupo α -naftil-alquilo C_{1-2} (por ejemplo, α -naftilmetilo, etc.); grupo
40 pivaloiloximetilo, que se usan ampliamente como un éster para uso oral, y similares.

- Ejemplos de las sales de la metastina modificada de la presente invención incluyen sales metálicas, sales de amonio, sales con bases orgánicas, sales con ácidos inorgánicos, sales con ácidos orgánicos, sales con aminoácidos básicos o ácidos, y similares. Ejemplos preferidos de las sales metálicas incluyen sales de metales alcalinos tales como sales de sodio, sales de potasio, etc.; sales de metales alcalinotérreos tales como sales de calcio, sales de magnesio, sales de bario, etc.; sales de aluminio; y similares. Ejemplos preferidos de las sales con bases orgánicas incluyen sales con trimetilamina, trietilamina, piridina, picolina, 2,6-lutidina, etanolamina, dietanolamina, trietanolamina, ciclohexilamina, dicitlohexilamina, N,N'-dibenciletilendiamina, etc. Ejemplos preferidos de las sales con ácidos inorgánicos incluyen sales con ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido nítrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, etc. Ejemplos preferidos de sales con ácidos orgánicos incluyen sales con ácido fórmico, ácido acético, ácido trifluoroacético, ácido ftálico, ácido fumárico, ácido oxálico, ácido tartárico, ácido maleico, ácido cítrico, ácido succínico, ácido málico, ácido metanosulfónico, ácido bencenosulfónico, ácido p-toluenosulfónico, etc. Ejemplos preferidos de sales con aminoácidos básicos incluyen sales con arginina, lisina, ornitina, etc., y ejemplos preferidos de sales con aminoácidos ácidos incluyen sales con ácidos aspártico, ácido glutámico, etc.

- En particular, se prefieren sales farmacéuticamente aceptables. Por ejemplo, cuando el compuesto tiene un grupo funcional ácido en el mismo, se prefieren sales inorgánicas tales como sales de metales alcalinos (por ejemplo, sal de sodio, sal de potasio, etc.), sales de metales alcalinotérreos (por ejemplo, sal de calcio, sal de magnesio, sal de bario, etc.), sales de amonio, etc. Cuando el compuesto tiene un grupo funcional básico en el mismo, se prefieren sales con ácidos inorgánicos con ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido nítrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico,
55

etc., y sales con ácidos orgánicos tales como ácido acético, ácido ftálico, ácido fumárico, ácido oxálico, ácido tartárico, ácido maleico, ácido cítrico, ácido succínico, ácido metanosulfónico, ácido p-toluenosulfónico, etc.

Un profármaco de un derivado de metastina modificado con un polietilenglicol (PEG) o una sal del mismo se refiere a una metastina modificada tal que se convierte en la metastina modificada de la presente invención mediante una reacción con una enzima, ácido gástrico, etc., en el cuerpo vivo en condiciones fisiológicas. En otras palabras, el profármaco se refiere a una metastina modificada que experimenta oxidación enzimática, reducción, hidrólisis, etc. para convertirse en la metastina modificada de la presente invención, o una metastina modificada que experimenta hidrólisis, etc., por ácido gástrico, etc., para convertirse en la metastina modificada de la presente invención.

Ejemplos del profármaco de la metastina modificada incluyen metastinas modificadas en las que el grupo amino de la metastina modificada de la presente invención está acilado, alquilado, fosforilado, etc. (por ejemplo, metastinas modificadas en las que el grupo amino de la metastina modificada de la presente invención está eicosanoilado, alanilado, pentilaminocarbonilado, (5-metil-2-oxo-1,3-dioxolen-4-il)metoxycarbonilado, tetrahidrofuranilado, pirrolidilmetilado, pivaloiloximetilado, terc-butilado, etc.); metastinas modificadas en las que el grupo hidroxilo de la metastina modificada de la presente invención está acilado, alquilado, fosforilado, borado, etc. (por ejemplo, metastinas modificadas en las que el grupo hidroxilo de la metastina modificada de la presente invención está acetilado, palmitoilado, propanoilado, pivaloilado, succinilado, fumarilado, alanilado, dimetilaminometilcarbonilado, etc.); y metastinas modificadas en las que el grupo carboxi del derivado de metastina de la presente invención está esterificado, amidado, etc. (por ejemplo, metastinas modificadas en las que el grupo carboxi de la metastina modificada de la presente invención está esterificado con etilo, esterificado con fenilo, esterificado con carboximetilo, esterificado con dimetilaminometilo, esterificado con pivaloiloximetilo, esterificado con etoxycarboniloxietilo, esterificado con ftalidilo, esterificado con (5-metil-2-oxo-1,3-dioxolen-4-il)metilo, esterificado con ciclohexiloxycarboniletilo, metilamidado, etc.); y similares. Estos profármacos de las metastinas modificadas pueden producirse a partir de la metastina modificada de la presente invención por métodos en sí conocidos.

Los profármacos de la metastina modificada puede ser aquellos que se convierten en la metastina modificada de la presente invención en las condiciones fisiológicas que se describen en "Iyakuhi no Kaihatsu (Pharmaceutical Research and Development)", Vol. 7 (Bunshisekkei (Drug Design)), páginas 163-198, publicado en 1990 por Hirokawa Publishing Co.

La metastina modificada de la presente invención o sus sales (en lo sucesivo denominadas algunas veces simplemente el compuesto de la presente invención) poseen una actividad supresora de la metástasis del cáncer o una actividad supresora del crecimiento del cáncer. Así, la metastina modificada es útil para medicamentos tales como agentes para prevenir o tratar todos los tipos de cáncer (por ejemplo, cáncer de pulmón, cáncer gástrico, cáncer de hígado, cáncer pancreático, cáncer colorrectal, cáncer rectal, cáncer colónico, cáncer de próstata, cáncer de ovario, cáncer de cuello uterino, cáncer de mama, etc.), y similares.

El compuesto de la presente invención también posee el efecto de controlar la función pancreática y es así útil como producto farmacéutico tal como un agente para prevenir o tratar diversas enfermedades pancreáticas (por ejemplo, pancreatitis aguda o crónica, cáncer pancreático, etc.).

Además, el compuesto de la presente invención posee el efecto de controlar la función placentaria y es así útil como producto farmacéutico tal como un agente para prevenir o tratar coriocarcinoma, mola hidatídica, mola invasiva, aborto natural, hipoplasia fetal, metabolismo anormal de la glucosa, metabolismo anormal de los lípidos o inducción de parto, etc.

Además, el compuesto de la presente invención posee los efectos de aumentar el nivel de glucosa en sangre, promover la secreción de glucagón pancreático y promover la formación de orina, y así es útil como agentes hiperglucémicos, agentes secretagogos del glucagón pancreático o agentes para promover la formación de orina, y como producto farmacéutico tal como agentes para prevenir o tratar obesidad, hiperlipemia, diabetes mellitus de tipo II, hipoglucemia, hipertensión, neuropatía diabética, nefropatía diabética, retinopatía diabética, edema, alteraciones urinarias, resistencia a la insulina, diabetes mellitus inestable, atrofia grasa, alergia a la insulina, insulinoma, arteriosclerosis, trastornos trombóticos o lipotoxicidad; y similares.

Además, el compuesto de la presente invención también posee los efectos de promover la secreción de hormona gonadotrópica (por ejemplo, FSH, LH, etc.), promover la secreción de hormona sexual [por ejemplo, andrógenos (por ejemplo, testosterona, androstenodiona, etc.), estrógenos (por ejemplo, estradiol, estrona, etc.), progesteronas, etc.], mejorar la función gonadal e inducir o estimular la ovulación, además de un efecto de maduración sexual, etc., por lo tanto, puede usarse como producto farmacéutico para mejorar la función gonadal, un producto farmacéutico para inducir o estimular la ovulación, un producto farmacéutico para promover la secreción de hormona gonadotrópica o la secreción de hormona sexual, o un producto farmacéutico para prevenir o tratar cánceres dependientes de hormonas [por ejemplo, cáncer de próstata, cáncer de mama, etc.], infertilidad [por ejemplo, menstruación irregular, dismenorrea, amenorrea, amenorrea inducida por pérdida de peso, amenorrea secundaria, anovulación, hipoovarismo, hipogonadismo, fallo espermatogénico, hipogonadismo (por ejemplo, impotencia, etc.), atrofia genital, atrofia testicular, trastorno de la función testicular, azoospermia, hipoandrogenemia, etc.], endometriosis, pubertad precoz, histeriomioma, etc.

Además, el profármaco del derivado de metastina de la presente invención o su sal es útil como producto farmacéutico para prevenir o tratar la enfermedad de Alzheimer, deterioro cognitivo moderado, autismo, etc.

Además, el compuesto de la presente invención es útil como producto farmacéutico para prevenir o tratar enfermedades reumáticas (por ejemplo, artritis reumatoide, osteoartritis, gota, etc.).

5 El compuesto de la presente invención también es útil como producto farmacéutico para prevenir o tratar autismo, un inmunoestimulante (regeneración de timo, recrecimiento tímico, crecimiento de linfocitos T potenciado), un producto farmacéutico para prevenir o tratar hipertensión, neuropatía diabética, nefropatía diabética, retinopatía diabética, trastornos tromboticos o lipotoxicidad;

10 un producto farmacéutico para prevenir o tratar hiperlipemia, diabetes mellitus de tipo II, hipertensión, neuropatía diabética, nefropatía diabética o retinopatía diabética; un agente ansiolítico; un agente antiestrés; un agente antiinsomnio; un agente antimaniaco-depresivo; un producto farmacéutico para prevenir o tratar hipertensión (por ejemplo, hipertensión esencial, hipertensión renal, hipertensión sensible a la sal, etc.), angina de pecho (por ejemplo, angina estable, angina inestable, etc.), infarto de miocardio, trastornos cerebrovasculares (por ejemplo, trastorno cerebrovascular asintomático, ataque isquémico transitorio, apoplejía, demencia cerebrovascular, encefalopatía hipertensora, infarto cerebral, etc.), insuficiencia venosa, trastornos circulatorios periféricos obliterantes, enfermedad de Raynaud, arteriosclerosis que incluye aterosclerosis (por ejemplo, aneurisma, arteriosclerosis coronaria, arteriosclerosis cerebral, arteriosclerosis periférica, etc.), engrosamiento vascular u oclusión y alteraciones de órganos después de intervención (por ejemplo, intervención coronaria percutánea, colocación de prótesis endovascular, terapia trombolítica coronaria, etc.), hipertensión portal, trastornos respiratorios (por ejemplo, asma, hipertensión pulmonar, etc.); un producto farmacéutico para prevenir o tratar la intolerancia a la glucosa (IGT, por sus siglas en inglés); un secretagogo de insulina, un inhibidor para la transición de IGT a diabetes; y,

25 un producto farmacéutico para prevenir o tratar complicaciones diabéticas [por ejemplo, neuropatía, nefropatía, retinopatía, cataratas, macroangiopatía, osteopenia, coma diabético hiperosmolar, enfermedades infecciosas (por ejemplo, infección respiratoria, infección de las vías urinarias, infección del tubo digestivo, infección de piel y tejido blando, infección de la parte inferior de la pierna), gangrena diabética, xerostomía, hipoacusia, trastorno cerebrovascular, alteración circulatoria periférica], osteoporosis, caquexia (por ejemplo, caquexia cancerosa, caquexia tuberculosa, caquexia diabética, caquexia por enfermedad de la sangre, caquexia por enfermedad endocrina, caquexia por enfermedad infecciosa o caquexia debida al síndrome de inmunodeficiencia adquirida), esteatosis hepática, síndrome del ovario poliquístico, enfermedades renales (por ejemplo, nefropatía diabética, glomerulonefritis, glomeruloesclerosis, síndrome nefrótico, nefroesclerosis hipertensora, enfermedad renal terminal), distrofia muscular, infarto de miocardio, angina de pecho, trastornos cerebrovasculares (por ejemplo, infarto cerebral, apoplejía), enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, demencia, síndrome de resistencia a la insulina, síndrome X, síndrome metabólico, hiperinsulinemia, trastornos sensoriales inducidos por hiperinsulinemia, tumores (por ejemplo, leucemia, cáncer de piel), síndrome del intestino irritable, diarrea aguda o crónica, enfermedades inflamatorias (por ejemplo, espondilitis deformante, artritis deformante, lumbago, gota, inflamación posoperatoria o postraumática, hinchamiento, neuralgia, faringolaringitis, cistitis, hepatitis (incluyendo esteatohepatitis no alcohólica), neumonía, enteritis, trastorno inflamatorio del intestino (incluyendo enfermedades inflamatorias del intestino), colitis ulcerosa, lesión de la mucosa gástrica (incluyendo lesión de la mucosa gástrica inducida por aspirina)), lesión de la mucosa del intestino delgado, malabsorción, trastorno de la función testicular, síndrome de obesidad visceral, etc.; y,

40 El compuesto de la presente invención también es útil para la reducción de adiposidad visceral, inhibición de la acumulación de grasa visceral, mejora del metabolismo de la glucosa, mejora del metabolismo de los lípidos, supresión de la producción de LDL oxidada, mejora del metabolismo de las lipoproteínas, mejora del metabolismo de las arterias coronarias, prevención o tratamiento de complicaciones cardiovasculares, prevención o tratamiento de complicaciones por insuficiencia cardíaca, disminución en los restos de sangre, prevención o tratamiento de anovulación, prevención o tratamiento de hirsutismo, o prevención o tratamiento de hiperandrogenemia; como un producto farmacéutico para mejorar la función pancreática (células β), un producto farmacéutico para la regeneración del páncreas (células β), un producto farmacéutico para estimular la regeneración pancreática (células β), un regulador del apetito, etc.

50 Estos compuestos también pueden usarse en combinación con fármacos distintos de los compuestos descritos anteriormente.

Como fármacos (en lo sucesivo denominados algunas veces simplemente fármacos concomitantes) que pueden usarse en combinación con estos compuestos, los medicamentos descritos anteriormente como fármacos que pueden usarse en combinación con el compuesto de la presente invención pueden usarse de una forma similar.

55 El compuesto de la presente invención puede usarse en combinación con medicamentos, por ejemplo, agentes quimioterapéuticos para tratar cáncer, agentes terapéuticos hormonales, agentes inmunoterapéuticos, fármacos para inhibir las acciones de factores de crecimiento celular y sus receptores, etc. (en lo sucesivo denominados simplemente fármacos concomitantes). Ejemplos de los "agentes quimioterapéuticos" son agentes alquilantes, antagonistas metabólicos, antibióticos contra el cáncer, agentes contra el cáncer derivados de plantas, etc. Específicamente, pueden usarse los fármacos descritos anteriormente.

Además, el compuesto de la presente invención tiene excelente estabilidad en sangre y farmacocinética, en comparación con la metastina nativa tal como la metastina 54 (1-54) o la metastina 10 (45-54). El derivado de metastina de la presente invención o su sal es útil como producto farmacéutico para suprimir la secreción de hormona gonadotrópica (por ejemplo, FSH, LH) o la secreción de hormona sexual [por ejemplo, andrógeno (por ejemplo, testosterona, androstenodiona), estrógeno (por ejemplo, estradiol, estrona), progesterona]; en particular, es útil para suprimir la secreción de hormona gonadotrópica o la secreción de hormona sexual mediante la regulación por disminución de la hormona gonadotrópica u hormona sexual (en la que la regulación por disminución de la hormona gonadotrópica u hormona sexual puede ser pérdida de pulso de LHRH o agotamiento de LHRH) o regulación por disminución de la proteína OT7T175 humana (receptor de metastina) que consiste en la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 9; particularmente útil como producto farmacéutico para prevenir o tratar cánceres dependientes de hormonas (por ejemplo, cáncer de próstata, cáncer de mama, etc.; especialmente cáncer de próstata sensible a hormonas, cáncer de mama sensible a hormonas, etc.); un producto farmacéutico para prevenir o tratar endometriosis; un producto farmacéutico para inhibir la maduración folicular del ovario; un agente de suspensión del ciclo menstrual; un producto farmacéutico para tratar histeromioma; un producto farmacéutico para tratar pubertad precoz; o como anticonceptivo, etc. Donde el derivado de metastina de la presente invención o su sal tienen actividad agonista normal, una dosis eficaz del derivado de metastina suficiente para suprimir la secreción de la hormona gonadotrópica u hormona sexual se administra en el sitio o tejido donde van a ejercerse los efectos terapéuticos, de manera que el derivado de metastina está presente en una dosis superior a la requerida (es decir, el derivado de metastina se administra en un exceso con respecto a la dosis eficaz normal, a la que el derivado de metastina ejerce los efectos de suprimir metástasis del cáncer, suprimir crecimiento de cáncer, etc.; o el agente de secreción de hormona gonadotrópica, el efecto de promover la secreción de hormona sexual, etc.) para presentar los efectos de suprimir la secreción de hormona gonadotrópica o la secreción de hormona sexual. Ejemplos específicos incluyen administración sostenida o continua de la dosis eficaz normal (incluyendo una técnica de administración para liberar gradualmente los componentes farmacéuticos por administración en bolo); y similares. Adicionalmente, cuando el derivado de metastina de la presente invención o su sal tienen una actividad agonista suficiente superior a la requerida (una actividad super-agonista), es posible sostener las actividades superiores a las presentadas por la dosis necesaria en el sitio o tejido donde va a presentarse el efecto terapéutico. Es, por tanto, suficiente incluso por administración de dosis eficaz normal para suprimir la secreción de hormona gonadotrópica u hormona sexual, por lo que se presenta el efecto de suprimir la secreción de hormona gonadotrópica o la secreción de hormona sexual.

En otras palabras, se administra una dosis eficaz del derivado de metastina de la presente invención o su sal suficiente para suprimir la secreción de hormona gonadotrópica u hormona sexual, de manera que el derivado de metastina esté presente en una dosis superior a la requerida en el sitio o tejido donde van a ejercerse los efectos terapéuticos, o sus actividades pueden ser sostenidas más de lo requerido, permitiendo presentar los efectos de supresión de la secreción de hormona gonadotrópica o supresión de la secreción de hormona sexual.

El producto farmacéutico que comprende el compuesto de la presente invención tiene baja toxicidad. Por tanto, el compuesto de la presente invención puede ser administrado de forma segura o bien directamente como está o bien como una mezcla con vehículos farmacológicamente aceptables, por vía oral o por vía parenteral (por ejemplo, por vía tópica, rectal, intravenosa, etc.), en forma de preparaciones farmacéuticas tales como comprimidos (incluyendo comprimidos recubiertos de azúcar y comprimidos recubiertos de película), polvos, gránulos, cápsulas (incluyendo cápsulas blandas), formas de dosificación líquidas, inyecciones, supositorios, formas de dosificación de liberación sostenida, etc., según medios públicamente conocidos generalmente usados en el proceso de producción de preparaciones farmacéuticas.

El compuesto de la presente invención está contenido en la preparación farmacéutica de la presente invención en aproximadamente del 0,01 a aproximadamente el 100 % en peso, basado en el peso total de la preparación.

Una dosis del compuesto de la presente invención puede variar dependiendo del sujeto que va a administrarse, órgano diana, afecciones, vía de administración, etc., y en la administración por vía oral, el compuesto se administra generalmente al paciente con cáncer (de 60 kg de peso corporal) en una dosis diaria de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 100 mg, preferentemente aproximadamente 0,1 a aproximadamente 50 mg y más preferentemente aproximadamente 0,1 a aproximadamente 20 mg. En administración parenteral, una dosis única del compuesto puede variar dependiendo del sujeto que va a administrarse, órgano diana, afecciones, vía de administración, etc., y en forma de una forma de dosificación inyectable, es ventajoso administrar el compuesto al paciente con cáncer (de 60 kg de peso corporal) mediante inyección intravenosa, subcutánea o intramuscular generalmente en una dosis diaria de aproximadamente 0,001 a aproximadamente 30 mg, preferentemente aproximadamente 0,01 a aproximadamente 20 mg, y más preferentemente aproximadamente 0,01 a aproximadamente 10 mg. Para otras especies de animal, puede administrarse la dosis correspondiente calculada a partir de los 60 kg de peso.

Vehículos farmacológicamente aceptables que pueden usarse para fabricar el producto farmacéutico de la presente invención incluyen diversas sustancias de vehículo orgánico o inorgánico convencionalmente usadas como materiales para preparaciones farmacéuticas. Estas sustancias incluyen, por ejemplo, un excipiente, un lubricante, un aglutinante y un agente disgregante en una forma de dosificación sólida, y un disolvente, un adyuvante de disolución, un agente de suspensión, un agente isotonizante, un tampón, un agente calmante, etc., en una forma de dosificación líquida. Además, aditivos convencionales tales como un conservante, un antioxidante, un colorante, un

edulcorante, un adsorbente, un agente humectante, etc., pueden ser apropiadamente usados en cantidades adecuadas, si fuera necesario.

Ejemplos de excipientes incluyen lactosa, sacarosa, D-manitol, almidón, almidón de maíz, celulosa cristalina, ácido silícico anhidro ligero, etc. Ejemplos de lubricantes incluyen estearato de magnesio, estearato de calcio, talco, sílice coloidal, etc.

Ejemplos de aglutinantes incluyen celulosa cristalina, sacarosa, D-manitol, dextrina, hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, polivinilpirrolidona, almidón, sacarosa, gelatina, metilcelulosa, carboximetilcelulosa de sodio, etc.

Ejemplos de agentes disgregantes incluyen almidón, carboximetilcelulosa, carboximetilcelulosa cálcica, carboximetilalmidón sódico, L-hidroxipropilcelulosa, etc.

Ejemplos de disolventes incluyen agua para inyección, alcohol, propilenglicol, Macrogol, aceite de sésamo, aceite de maíz, aceite de oliva, etc.

Ejemplos de adyuvantes de disolución incluyen polietilenglicol, propilenglicol, D-manitol, benzoato de bencilo, etanol, trisaminometano, colesterol, trietanolamina, carbonato sódico, citrato de sodio, etc.

Ejemplos de agentes de suspensión incluyen tensioactivos tales como esteariltrietanolamina, laurilsulfato de sodio, laurilaminopropionato, lecitina, cloruro de benzalconio, cloruro de bencetonio, monoestearato de glicerina, etc.; polímeros hidrófilos tales como poli(alcohol vinílico), polivinilpirrolidona, carboximetilcelulosa sódica, metilcelulosa, hidroximetilcelulosa, hidroxietilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, etc.

Ejemplos de agentes isotonizantes incluyen glucosa, D-sorbitol, cloruro sódico, glicerina, D-manitol, etc.

Ejemplos de tampones incluyen disoluciones de tamponamiento de un fosfato, acetato, carbonato, citrato, etc.

Ejemplos de agentes calmantes incluyen alcohol bencílico, etc.

Ejemplos de conservantes incluyen p-hidroxibenzoatos, clorobutanol, alcohol bencílico, alcohol fenético, ácido dehidroacético, ácido sórbico, etc.

Ejemplos de antioxidantes incluyen un sulfito, ácido ascórbico, α -tocoferol, etc.

Además, el compuesto de la presente invención puede usarse en combinación con fármacos distintos del compuesto de la presente invención.

Los fármacos que pueden usarse en combinación con el compuesto de la presente invención (en lo sucesivo denominados algunas veces simplemente fármacos concomitantes) incluyen medicamentos tales como agentes quimioterapéuticos para tratar cáncer, agentes terapéuticos hormonales, agentes inmunoterapéuticos, fármacos para inhibir las acciones de factores del crecimiento celular y sus receptores, etc. (en lo sucesivo denominados simplemente fármacos concomitantes).

El "agente quimioterapéutico" incluye, por ejemplo, un agente alquilante, un antagonista metabólico, un antibiótico contra el cáncer, un agente contra el cáncer derivado de plantas, etc.

Ejemplos del "agente alquilante" incluyen mostaza de nitrógeno, mostaza de nitrógeno-clorhidrato de N-óxido, clorambutilo, ciclofosfamida, ifosfamida, tiotepa, carbocina, tosilato de improsulfan, busulfan, clorhidrato de nimustina, mitobronitol, melfalan, dacarbazina, ranimustina, fosfato sódico de estramustina, trietilenmelamina, carmustina, lomustina, estreptozocina, pipobroman, etoglucida, carboplatino, cisplatino, miboplatino, nedaplatino, oxaliplatino, altretamina, ambamustina, clorhidrato de dibrospidio, fotemustina, prednimustina, pumitepa, ribomustina, temozolomida, treosulfan, trofosfamida, estimalámero de zinostatina, carbocina, adozelesina, cistemustina, bizelesina, etc.

Ejemplos del "antagonista metabólico" incluyen mercaptopurina, ribósido de 6-mercaptopurina, tiinosina, metotrexato, enocitabina, citarabina, ocfosfato de citarabina, clorhidrato de ancitabina, fármacos de 5-FU (por ejemplo, fluorouracilo, tegafur, UFT, doxifluridina, carmofur, galocitabina, emitefur, etc.), aminopterina, leucovorina de calcio, tabloid, butocina, folinato de calcio, levofolinato de calcio, cladribina, emitefur, fludarabina, gemcitabina, hidroxycarbamida, pentostatina, piritrexim, idoxuridina, mitoguazona, tiazoprina, ambamustina, etc.

Ejemplos del "antibiótico contra el cáncer" incluyen actinomicina D, actinomicina C, mitomicina C, cromomicina A3, clorhidrato de bleomicina, sulfato de bleomicina, sulfato de peplomicina, clorhidrato de daunorubicina, clorhidrato de doxorubicina, clorhidrato de aclarubicina, clorhidrato de pirarubicina, clorhidrato de epirubicina, neocarzinostatina, mitramicina, sarcomicina, carzinofilina, mitotano, clorhidrato de zorubicina, clorhidrato de mitoxantrona, clorhidrato de idarubicina, etc.

Ejemplos del "agente contra el cáncer derivado de plantas" incluyen etopósido, fosfato de etopósido, sulfato de vinblastina, sulfato de vincristina, sulfato de vindesina, tenipósido, paclitaxel, docetaxel, vinorelbina, etc.

Ejemplos del "agente terapéutico hormonal" incluyen fosfestrol, dietilestilbestrol, clorotrianiseno, acetato de medroxiprogesterona, acetato de megestrol, acetato de clormadinona, acetato de ciproterona, danazol, alilestrenol, gestrinona, meparticina, raloxifeno, ormeloxifeno, levormeloxifeno, antiestrógenos (por ejemplo, citrato de tamoxifeno, citrato de toremifeno, etc.), formas de dosificación de píldora, mepitiostano, testrolactona, aminoglutetimida, agonistas de LH-RH (por ejemplo, acetato de goserelina, buserelina, leuprorelina, etc.), droloxifeno, epitioestanol, sulfonato de etinilestradiol, inhibidores de la aromatasas (por ejemplo, clorhidrato de fadrozol, anastrozol, retrozol, exemestano, vorozol, formestano, etc.), antiandrógenos (por ejemplo, flutamida, bicartamida, nilutamida, etc.), inhibidores de la 5 α -reductasa (por ejemplo, finasterida, epristerida, etc.), fármacos adrenocortico hormonales (por ejemplo, dexametasona, prednisolona, betametasona, triamcinolona, etc.), inhibidores de la síntesis de andrógenos (por ejemplo, abiraterona, etc.), retinoide y fármacos que retardan el metabolismo de los retinoides (por ejemplo, liarozol, etc.), regulador por disminución de ER (por ejemplo, fulvestrant (Faslodex (marca registrada), etc.), etc., y entre otros, se prefieren agonistas de LH-RH (por ejemplo, acetato de goserelina, buserelina, leuprorelina, etc.).

Ejemplos del "agente inmunoterapéutico (BRM)" incluyen picibanilo, krestin, sizofiran, lentinan, ubenimex, interferonas, interleucinas, factor estimulante de colonias de macrófagos, factor estimulante de colonias de granulocitos, eritropoyetina, linfotóxina, vacuna de BCG, *Corynebacterium parvum*, levamisol, polisacárido K, procodazol, etc.

El "factor de crecimiento celular" en los "fármacos para inhibir las acciones de factores de crecimiento celular y sus receptores" puede ser cualquier sustancia mientras que sea una sustancia capaz de estimular el crecimiento celular y, normalmente, péptidos que tienen un peso molecular de 20.000 o menos y se unen a sus receptores para presentar las acciones en un nivel más bajo pueden usarse como factor. Ejemplos específicos son (1) EGF (factor de crecimiento epidérmico) o una sustancia que tiene sustancialmente la misma actividad que EGF [por ejemplo, EGF, heregulina, etc.], (2) insulina o una sustancia que tiene sustancialmente la misma actividad que la insulina [por ejemplo, insulina, IGF (factor de crecimiento similar a la insulina)-1, IGF-2, etc.], (3) FGF (factor de crecimiento de fibroblastos) o una sustancia que tiene sustancialmente la misma actividad que FGF [por ejemplo, FGF ácido, FGF básico, KGF (factor de crecimiento de queratinocitos), FGF-10, etc.], (4) otros factores de crecimiento celular [por ejemplo, CSF (factor estimulante de colonias), EPO (eritropoyetina), IL-2 (interleucina-2), NGF (factor de crecimiento nervioso), PDGF (factor de crecimiento derivado de plaquetas), TGF β (factor de crecimiento transformante β), HGF (factor de crecimiento de hepatocitos), VEGF (factor de crecimiento endotelial vascular), etc.] y similares.

El "receptor del factor de crecimiento celular" puede ser cualquier receptor en tanto que sea capaz de unirse a los factores de crecimiento celular descritos anteriormente, y ejemplos específicos son receptor de EGF, receptor de heregulina (HER2), receptor de insulina, receptor de IGF, receptor-1 de FGF o receptor-2 de FGF, etc.

El "fármaco para inhibir las acciones de los factores de crecimiento celular" incluye anticuerpo para HER2 (trastuzumab (Herceptin (marca registrada)), etc.), mesilato de imatinib, ZD1839 o anticuerpo para EGFR (cetuximab (Erbix (marca registrada)), etc.), anticuerpo contra VEGF (por ejemplo, bevacizumab (Avastin (marca registrada))), anticuerpo para VEGFR, inhibidor de VEGFR, inhibidor de EGFR (erlotinib (Tarceva (marca registrada)) y gefitinib (Iressa (marca registrada)), etc.).

Además de los medicamentos descritos anteriormente, también se usan L-asparaginasa, aceglatona, clorhidrato de procarbazona, complejo de protoporfirina-cobalto, mercurio-hematoporfirina sódica, inhibidor de la topoisomerasa I (por ejemplo, irinotecan, topotecan, etc.), inhibidor de la topoisomerasa II (por ejemplo, sobzoxan, etc.), agente inductor de diferenciación (por ejemplo, retinoide, grupo de la vitamina D, etc.), inhibidor de la angiogénesis (por ejemplo, talidomida, SU11248, etc.), α -bloqueante (por ejemplo, clorhidrato de tamsulosin, naftopidilo, urapidilo, alfuzosin, terazosin, prazosin, silodosin, etc.), inhibidor de serina-treonina cinasas, antagonista del receptor de endotelina (por ejemplo, atrasentan, etc.), inhibidor del proteasoma (por ejemplo, bortezomib, etc.), inhibidor de Hsp90 (por ejemplo, 17-AAG, etc.), espironolactona, minoxidilo, 11 α -hidroxiprogesterona, inhibidor de la resorción ósea o supresor de la metástasis ósea (por ejemplo, ácido zoledrónico, ácido alendrónico, ácido pamidrónico, ácido etidrónico, ácido ibandrónico, ácido clodrónico), etc.

El uso del compuesto de la presente invención en combinación con el fármaco concomitante presenta los siguientes efectos excelentes.

(1) La dosis puede reducirse en comparación con la dosis cuando el compuesto de la presente invención o el fármaco concomitante se administra solo.

(2) Un fármaco concomitantemente administrado con el compuesto de la presente invención puede elegirse dependiendo de la afección (leve, grave, etc.) de un paciente.

(3) El fármaco concomitante, cuyo mecanismo funcional es diferente de aquél del compuesto de la presente invención, puede elegirse de manera que pueda establecerse un periodo de tratamiento más largo.

(4) El fármaco concomitante, cuyo mecanismo funcional es diferente de aquél del compuesto de la presente invención, puede elegirse de manera que puedan lograrse efectos terapéuticos sostenidos.

(5) Pueden obtenerse efectos sinérgicos por el uso del compuesto de la presente invención en combinación con el fármaco concomitante.

- 5 En lo sucesivo, el uso del compuesto de la presente invención en combinación con el fármaco concomitante se denomina "la preparación concomitante de la presente invención".

10 Cuando la preparación concomitante de la presente invención se usa, un periodo de dosificación del compuesto de la presente invención y el fármaco concomitante no está limitado; el compuesto de la presente invención o su composición farmacéutica y el fármaco concomitante o su composición farmacéutica pueden administrarse al sujeto para ser administrados tanto simultáneamente como a ciertos intervalos de tiempo. La dosis del fármaco concomitante puede modificarse según la dosis clínicamente usada y puede elegirse apropiadamente dependiendo del sujeto que va a administrarse, la vía para administración, enfermedad, combinación, etc.

15 Un modo para la administración de la preparación concomitante de la presente invención no está particularmente limitado, pero es suficiente que el compuesto de la presente invención se use en combinación con el fármaco concomitante en el momento de la administración. Para tal modo de administración, hay, por ejemplo, (1) administración de una forma de dosificación única obtenida mezclando el compuesto de la presente invención y el fármaco concomitante juntos al mismo tiempo, (2) administración simultánea de dos formas de dosificación preparadas por separado del compuesto de la presente invención y el fármaco concomitante mediante la misma vía para administración, (3) administración de dos formas de dosificación preparadas por separado a partir del compuesto de la presente invención y el fármaco concomitante a ciertos intervalos de tiempo mediante la misma vía para administración, (4) administración simultánea de dos formas de dosificación preparadas por separado a partir del compuesto de la presente invención y el fármaco concomitante mediante diferentes vías para administración, (5) administración de dos formas de dosificación preparadas por separado a partir del compuesto de la presente invención y el fármaco concomitante a ciertos intervalos de tiempo (por ejemplo, administración del compuesto de la presente invención y el fármaco concomitante en este orden, o administración en un orden inverso) mediante diferentes vías para administración, etc.

20 La preparación concomitante de la presente invención es de baja toxicidad y así puede ser administrada de forma segura por vía oral o por vía parenteral (por ejemplo, por vía tópica, rectal, intravenosa, etc.) en forma de preparaciones farmacéuticas tales como comprimidos (incluyendo comprimidos recubiertos de azúcar y comprimidos recubiertos de película), polvos, gránulos, cápsulas (incluyendo cápsulas blandas), formas de dosificación líquidas, inyecciones, supositorios, formas de dosificación de liberación sostenida, etc., que se obtienen mezclando el compuesto de la presente invención o (y) el fármaco concomitante descritos anteriormente con vehículos farmacológicamente aceptables. Formas de dosificación inyectables pueden administrarse por vía intravenosa, por vía intramuscular o por vía subcutánea, en el órgano, o directamente en el foco.

35 Vehículos farmacológicamente aceptables, que pueden usarse para fabricar la preparación concomitante de la presente invención, incluyen diversas sustancias de vehículo orgánico o inorgánico convencionalmente usadas como materiales para preparaciones farmacéuticas. Estas sustancias incluyen, por ejemplo, un excipiente, un lubricante, un aglutinante y un agente disgregante en una forma de dosificación sólida, y un disolvente, un adyuvante de disolución, un agente de suspensión, un agente isotonizante, un tampón, un agente calmante, etc., en una forma de dosificación líquida. Además, pueden usarse apropiadamente aditivos convencionales tales como un conservante, un antioxidante, un colorante, un edulcorante, un adsorbente, un agente humectante, etc., en cantidades adecuadas, si fuera necesario.

Ejemplos de excipientes incluyen lactosa, sacarosa, D-manitol, almidón, almidón de maíz, celulosa cristalina, ácido silícico anhídrido ligero, etc.

45 Ejemplos de lubricantes incluyen estearato de magnesio, estearato de calcio, talco, sílice coloidal, etc.

Ejemplos de aglutinantes incluyen celulosa cristalina, sacarosa, D-manitol, dextrina, hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, polivinilpirrolidona, almidón, sacarosa, gelatina, metilcelulosa, carboximetilcelulosa de sodio, etc.

50 Ejemplos de agentes disgregantes incluyen almidón, carboximetilcelulosa, carboximetilcelulosa cálcica, carboximetilalmidón sódico, L-hidroxipropilcelulosa, etc.

Ejemplos de disolventes incluyen agua para inyección, alcohol, propilenglicol, Macrogol, aceite de sésamo, aceite de maíz, aceite de oliva, etc.

Ejemplos de adyuvantes de disolución incluyen polietilenglicol, propilenglicol, D-manitol, benzoato de bencilo, etanol, trisaminometano, colesterol, trietanolamina, carbonato sódico, citrato de sodio, etc.

Ejemplos de agentes de suspensión incluyen tensioactivos tales como esteariltriectanolamina, laurilsulfato de sodio, laurilaminopropionato, lecitina, cloruro de benzalconio, cloruro de bencetonio, monoestearato de glicerina, etc.; polímeros hidrófilos tales como poli(alcohol vinílico), polivinilpirrolidona, carboximetilcelulosa sódica, metilcelulosa, hidroximetilcelulosa, hidroxietilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, etc.

5 Ejemplos de agentes isotonzantes incluyen glucosa, D-sorbitol, cloruro sódico, glicerina, D-manitol, etc.

Ejemplos de tampones incluyen disoluciones de tamponamiento de un fosfato, acetato, carbonato, citrato, etc.

Ejemplos de agentes calmantes incluyen alcohol bencílico, etc.

Ejemplos de conservantes incluyen p-hidroxibenzoatos, clorobutanol, alcohol bencílico, alcohol fenético, ácido dehidroacético, ácido sórbico, etc.

10 Ejemplos de antioxidantes incluyen un sulfito, ácido ascórbico, α -tocoferol, etc.

En la preparación concomitante de la presente invención, una relación del compuesto de la presente invención con respecto al fármaco concomitante puede ser apropiadamente elegida dependiendo del sujeto que va a administrarse, vía de administración, enfermedad, etc.

15 Por ejemplo, la cantidad del compuesto de la presente invención contenida en la preparación concomitante de la presente invención varía dependiendo de la forma de dosificación de la preparación, pero es normalmente aproximadamente del 0,01 al 100 % en peso, preferentemente aproximadamente del 0,1 al 50 % en peso, y más preferentemente aproximadamente del 0,5 al 20 % en peso, basado en el peso total de la preparación.

20 La cantidad del fármaco concomitante contenida en la preparación concomitante de la presente invención varía dependiendo de la forma de dosificación de la preparación, pero es normalmente aproximadamente del 0,01 al 100 % en peso, preferentemente aproximadamente del 0,1 al 50 % en peso, y más preferentemente aproximadamente del 0,5 al 20 % en peso, basado en el peso total de la preparación.

25 La cantidad de aditivos tales como un vehículo, etc., contenida en la preparación concomitante de la presente invención varía dependiendo de la forma de dosificación de la preparación, y es normalmente aproximadamente del 1 al 99,99 % en peso, preferentemente aproximadamente del 10 al 90 % en peso, basado en el peso total de la preparación.

Estas cantidades pueden ser las mismas, también cuando el compuesto de la presente invención y el fármaco concomitante se preparen por separado.

Estas preparaciones pueden fabricarse por métodos en sí públicamente conocidos convencionalmente usados en la etapa de fabricación de preparaciones farmacéuticas.

30 Por ejemplo, puede prepararse una forma de dosificación inyectable en una inyección acuosa del compuesto de la presente invención o el fármaco concomitante junto con un agente dispersante (por ejemplo, Tween 80 (fabricado por Atlas Powder Company, EE. UU.), HCO 60 (fabricado por Nikko Chemicals Co., Ltd.), polietilenglicol, carboximetilcelulosa, alginato de sodio, hidroxipropilmetilcelulosa, dextrina, etc.), un estabilizante (por ejemplo, ácido ascórbico, pirosulfito de sodio), un tensioactivo (por ejemplo, polisorbato 80, macrogol, etc.), un agente solubilizante
35 (por ejemplo, glicerina, etanol, etc.), un agente de tamponamiento (por ejemplo, ácido fosfórico o su sal de metal alcalino, ácido cítrico o su sal de metal alcalino, etc.), un agente isotonzante (por ejemplo, cloruro sódico, cloruro de potasio, manitol, sorbitol, glucosa, etc.), un agente de ajuste del pH (por ejemplo, ácido clorhídrico, hidróxido sódico, etc.), un conservante (por ejemplo, p-oxibenzoato de etilo, ácido benzoico, metilparabeno, propilparabeno, alcohol bencílico, etc.), un solubilizante (por ejemplo, glicerina concentrada, meglumina, etc.), un adyuvante de disolución
40 (por ejemplo, propilenglicol, sacarosa, etc.), un agente calmante (por ejemplo, glucosa, alcohol bencílico, etc.), y similares; o, disolviendo, suspendiendo o emulsionando el compuesto de la presente invención o el fármaco concomitante en un aceite vegetal tal como aceite de oliva, aceite de sésamo, aceite de semilla de algodón, aceite de maíz, etc., y un adyuvante de disolución tal como propilenglicol o similares para disolver, suspender o emulsionar y preparar en una inyección oleosa; que puede usarse como la forma de dosificación inyectable.

45 Puede producirse una forma de dosificación oral de un modo convencional añadiendo al compuesto de la presente invención o el fármaco concomitante, por ejemplo, un excipiente (por ejemplo, lactosa, sacarosa, almidón, etc.), un agente disgregante (por ejemplo, almidón, carbonato cálcico, etc.), un aglutinante (por ejemplo, almidón, goma arábica, carboximetilcelulosa, polivinilpirrolidona, hidroxipropilcelulosa, etc.), un lubricante (por ejemplo, talco, estearato de magnesio, polietilenglicol 6000, etc.) y otros aditivos, comprimiendo la mezcla resultante y, si fuera necesario, recubriendo el producto comprimido con el fin de enmascarar el sabor, degradación entérica o liberación sostenida por técnicas en sí públicamente conocidas. Agentes de recubrimiento para este fin incluyen, por ejemplo, hidroxipropilmetilcelulosa, etilcelulosa, hidroximetilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, polioxietilenglicol, Tween 80, Pluronic F68, acetato-ftalato de celulosa, ftalato de hidroxipropilmetilcelulosa, acetato-succinato de hidroximetilcelulosa, Eudragit (fabricado por Rohm Company, Alemania, copolímero de ácido metacrílico-ácido

acrílico) y pigmentos (por ejemplo, colcothar, dióxido de titanio). La forma de dosificación oral puede ser tanto una forma de dosificación de liberación inmediata como una forma de dosificación de liberación sostenida.

Por ejemplo, para preparar un supositorio, el compuesto de la presente invención o el fármaco concomitante se prepara en un sólido oleoso o acuoso, composición de supositorio semisólida o líquida por técnicas en sí públicamente conocidas. Las bases oleosas usadas para la composición descrita anteriormente incluyen glicéridos de ácidos grasos superiores [por ejemplo, manteca de cacao, Witepsol (fabricado por Dynamite Nobel Company, Alemania), etc.], ácidos grasos moderados [por ejemplo, Miglyol (fabricado por Dynamite Nobel Company, Alemania), etc.], aceites vegetales (por ejemplo, aceite de sésamo, aceite de soja, aceite de semilla de algodón, etc.), y similares. Las bases acuosas incluyen, por ejemplo, polietilenglicoles y propilenglicol. Las bases de gel acuosas incluyen, por ejemplo, cauchos naturales, derivados de celulosa, polímeros de vinilo, polímeros acrílicos, etc.

La forma de dosificación de liberación sostenida anterior incluye microcápsulas de liberación sostenida, y similares.

Pueden obtenerse microcápsulas de liberación sostenida por métodos en sí públicamente conocidos, y se preparan preferentemente en forma de, por ejemplo, una forma de dosificación de liberación sostenida por el método [2] mostrado a continuación para administración.

Preferentemente, el compuesto de la presente invención se prepara en una forma de dosificación para administración por vía oral tal como una forma de dosificación sólida (por ejemplo, polvos, gránulos, comprimidos, cápsulas) o en una forma de dosificación para administración rectal tal como un supositorio, etc. Una forma de dosificación para administración por vía oral es particularmente preferida.

El fármaco concomitante puede prepararse en la forma de dosificación descrita anteriormente, dependiendo del tipo del fármaco.

En lo sucesivo, a continuación se describen específicamente [1] una preparación inyectable del compuesto de la presente invención o el fármaco concomitante y su producción, [2] una preparación de liberación sostenida o liberación inmediata del compuesto de la presente invención o el fármaco concomitante y su producción y [3] preparaciones disgregantes sublinguales, bucales u orales rápidas del compuesto de la presente invención o el fármaco concomitante y su producción.

[1] Preparación inyectable y su producción

Se prefiere una preparación inyectable obtenida disolviendo el compuesto de la presente invención o el fármaco concomitante en agua. La preparación inyectable puede contener un benzoato y/o un salicilato.

La preparación inyectable se obtiene disolviendo el compuesto de la presente invención o el fármaco concomitante y opcionalmente un benzoato y/o un salicilato en agua.

Ejemplos del benzoato y/o salicilato descritos anteriormente incluyen una sal de metal alcalino tal como sales de sodio y de potasio, etc., una sal de metal alcalinotérreo tal como sales de calcio y de magnesio, etc., una sal de amonio, una sal de meglumina, una sal de un ácido orgánico tal como trometamol, y similares.

La concentración del compuesto de la presente invención o el fármaco concomitante en la preparación inyectable es del 0,05 al 50 % en peso/volumen, preferentemente aproximadamente del 0,3 al 20 % en peso/volumen. La concentración del benzoato y/o salicilato es del 0,5 al 50 % en peso/volumen, preferentemente del 3 al 20 % en peso/volumen.

Además, pueden añadirse apropiadamente a la preparación los aditivos generalmente usados en una preparación inyectable tales como un estabilizante (ácido ascórbico, piro sulfito de sodio, etc.), un tensioactivo (polisorbato 80, macrogol, etc.), un agente solubilizante (glicerina, etanol, etc.), un agente de tamponamiento (ácido fosfórico y sus sales de metales alcalinos, ácido cítrico y sus sales de metales alcalinos, etc.), un agente isotonzante (cloruro sódico, cloruro de potasio, etc.), un agente dispersante (hidroxipropilmetilcelulosa, dextrina), un agente de ajuste del pH (ácido clorhídrico, hidróxido sódico, etc.), un conservante (p-oxibenzoato de etilo, ácido benzoico, etc.), un solubilizante (glicerina concentrada, meglumina, etc.), un adyuvante de disolución (propilenglicol, sacarosa, etc.), un agente calmante (glucosa, alcohol bencílico, etc.). Cualquiera de estos aditivos se añade en una cantidad generalmente usada en una preparación inyectable.

La preparación inyectable se ajusta a pH de 2 a 12, preferentemente 2,5 a 8,0, añadiendo un agente de ajuste del pH.

La preparación inyectable puede obtenerse disolviendo tanto el compuesto de la presente invención como el fármaco concomitante y opcionalmente un benzoato y/o salicilato, y, si fuera necesario, los aditivos anteriores en agua. Estos componentes pueden disolverse en cualquier orden y la disolución puede realizarse apropiadamente según los mismos procedimientos para preparar una preparación inyectable convencional.

Una disolución acuosa para la preparación inyectable se calienta preferentemente, y se usa como la preparación inyectable después de esterilización por filtración por filtración o esterilización en autoclave como en una preparación inyectable convencional para proporcionar la preparación inyectable.

- 5 Una disolución acuosa para la preparación inyectable se esteriliza preferentemente en autoclave, por ejemplo, a 100 a 121 °C durante 5 a 30 minutos.

Además, la preparación puede estar en una forma de disolución a la que se confiere actividad antibacteriana para ser útil como una forma de dosificación múltiple en dosificación dividida.

[2] Preparación de liberación sostenida o de liberación inmediata y su producción

- 10 Una preparación de liberación sostenida preferida comprende un núcleo que comprende el compuesto de la presente invención o el fármaco concomitante, que se recubre opcionalmente con un material insoluble en agua o un polímero de hinchamiento. Por ejemplo, se prefiere una preparación de liberación sostenida para administración por vía oral de una forma de dosificación de una vez al día.

- 15 Ejemplos del material insoluble en agua usado para el agente de recubrimiento incluye éteres de celulosa tales como etilcelulosa, butilcelulosa, etc., ésteres de celulosa tales como acetato de celulosa, propionato de celulosa, etc., poli(ésteres de vinilo) tales como poli(acetato de vinilo), poli(butirato de vinilo), etc., polímeros de ácido acrílico tales como un copolímero de ácido acrílico/ácido metacrílico, un copolímero de metacrilato de metilo, un copolímero de metacrilato de etoxietilo/metacrilato de cinamoetilo/metacrilato de aminoalquilo, un ácido poliacrílico, un ácido polimetacrílico, un copolímero de ácido metacrílico-alquilamida, un poli(metacrilato de metilo), un polimetacrilato, una polimetacrilamida, un copolímero de metacrilato de aminoalquilo, un poli(anhídrido metacrílico), un copolímero de metacrilato de glicidilo, en particular, una serie de Eudragit (Rohm & Pharma) tal como Eudragit RS-100, RL-100, RS-30D, RL-30D, RL-PO y RS-PO (copolímero de acrilato de etilo/metacrilato de metilo/metacrilato de clorotrimetilo/etilamonio) y Eudragit NE-30D (copolímero de metacrilato de metilo/acrilato de etilo), etc., aceites hidrogenados tales como aceite de ricino hidrogenado (por ejemplo, LUBRI WAX (Freund Industrial Co., Ltd.), etc.), ceras tales como cera carnauba, un éster de glicerina de ácido graso, parafina, etc., ésteres de ácidos grasos de poliglicerina, etc.

El polímero de hinchamiento es preferentemente un polímero que tiene un grupo escindible con ácido y que presenta hinchamiento dependiente del pH. Se prefiere que un polímero tenga un grupo escindible con ácido y se someta a menos hinchamiento a un pH ácido tal como en el estómago, pero se hinche ampliamente a pH neutro tal como en los intestinos delgado y grueso.

- 30 Ejemplos de un polímero tal que tiene un grupo escindible con ácido y que presenta hinchamiento dependiente del pH incluyen polímero de ácido poliacrílico reticulado tal como Carbomer 934P, 940, 941, 974P, 980, 1342, etc., policarbófilo y policarbófilo de calcio (todos fabricados por BF Goodrich Chemicals), Hivis Wakos 103, 104, 105 y 304 (todos fabricados por Wako Pure Chemical Industries, Ltd.), etc.

- 35 El agente de recubrimiento usado en la preparación de liberación sostenida puede contener además un material hidrófilo.

Ejemplos del material hidrófilo incluyen un polisacárido que puede tener un grupo sulfato, tal como pululano, dextrina, un alginato de metal alcalino, etc., un polisacárido que tiene un grupo hidroxialquilo o un grupo carboxialquilo tal como hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, carboximetilcelulosa de sodio, etc., metilcelulosa, polivinilpirrolidona, poli(alcohol vinílico), polietilenglicol, etc.

- 40 La cantidad de material insoluble en agua contenida en el agente de recubrimiento de la preparación de liberación sostenida es aproximadamente del 30 a aproximadamente el 90 % (peso/peso), preferentemente aproximadamente del 35 a aproximadamente el 80 % (peso/peso), más preferentemente aproximadamente del 40 a aproximadamente el 75 % (peso/peso), y el contenido de polímero de hinchamiento es aproximadamente del 3 a aproximadamente el 30 % (peso/peso), preferentemente aproximadamente del 3 a aproximadamente el 15 % (peso/peso). El agente de recubrimiento puede contener además un material hidrófilo, y la cantidad de material hidrófilo contenido en el agente de recubrimiento es aproximadamente del 50 % (peso/peso) o menos, preferentemente aproximadamente del 5 a aproximadamente el 40 % (peso/peso), más preferentemente aproximadamente del 5 a aproximadamente el 35 % (peso/peso). Como se usa en el presente documento, el término % (peso/peso) anterior se usa para significar el % en peso basado en la composición de agente de recubrimiento, que es el resto de la disolución de agente de recubrimiento después de eliminar cualquier disolvente (por ejemplo, agua, un alcohol inferior tal como metanol, etanol, etc.).

- 55 La preparación de liberación sostenida se fabrica preparando un núcleo que contiene un fármaco como se muestra ilustrativamente a continuación, y después recubriendo el núcleo resultante con una disolución de agente de recubrimiento obtenida por fusión térmica de un material insoluble en agua o un polímero de hinchamiento o disolviendo o dispersando un material tal en un disolvente.

I. Producción de núcleo que contiene fármaco

La forma de un núcleo que contiene un fármaco que va a recubrirse con un agente de recubrimiento (en lo sucesivo denominado algunas veces simplemente un núcleo) no está específicamente limitada, pero preferentemente se prepara en una forma en partículas tal como gránulos, gránulos finos, o similares.

- 5 Cuando el núcleo es gránulos o gránulos finos, tienen un tamaño de partícula medio de preferentemente aproximadamente 150 a aproximadamente 2.000 μm , más preferentemente aproximadamente 500 a aproximadamente 1.400 μm .

El núcleo puede prepararse de un modo convencional. Por ejemplo, un fármaco se combina con un excipiente, aglutinante, agente disgregante, lubricante, estabilizante, etc., adecuado, que entonces se somete a granulación por extrusión en húmedo, granulación en lecho fluidizado, o similares.

- 10 El contenido de fármaco en el núcleo es aproximadamente del 0,5 a aproximadamente el 95 % (peso/peso), preferentemente aproximadamente del 5,0 a aproximadamente el 80 % (peso/peso), más preferentemente aproximadamente del 30 a aproximadamente el 70 % (peso/peso).

- 15 Ejemplos del excipiente contenido en el núcleo incluyen un sacárido tal como sacarosa, lactosa, manitol, glucosa, etc., almidón, celulosa cristalina, fosfato de calcio, almidón de maíz, etc. Entre otros, se prefieren celulosa cristalina y almidón de maíz.

- 20 Ejemplos del aglutinante usado incluyen poli(alcohol vinílico), hidroxipropilcelulosa, polietilenglicol, polivinilpirrolidona, Pluronic F68, goma arábiga, gelatina, almidón, etc. Ejemplos del agente disgregante incluyen carboximetilcelulosa de calcio (ECG505), croscarmelosa sódica (Ac-Di-Sol), polivinilpirrolidona reticulada (crospovidona), una hidroxipropilcelulosa de baja sustitución (L-HPC), etc. Entre ellos, se prefieren hidroxipropilcelulosa, polivinilpirrolidona y una hidroxipropilcelulosa de baja sustitución. Ejemplos del lubricante y el anticoagulante incluyen talco, estearato de magnesio y sus sales inorgánicas, y ejemplos del lubricante incluyen polietilenglicol, etc. Ejemplos del estabilizante incluyen un ácido tal como ácido tartárico, ácido cítrico, ácido succínico, ácido fumárico, ácido maleico, etc.

- 25 Además de los procedimientos descritos anteriormente, el núcleo puede prepararse usando otras técnicas tales como un técnica de granulación por volteo, una técnica de recubrimiento en bandeja, una técnica de recubrimiento en lecho fluidizado y una técnica de granulación por fusión, en los que un fármaco o una mezcla del fármaco con un excipiente, un lubricante, etc., se añade en porciones a partículas de vehículo inerte como semillas para el núcleo, mientras que se pulveriza un aglutinante disuelto en un disolvente adecuado tal como agua, un alcohol inferior (por ejemplo, metanol, etanol, etc.) o similares. Ejemplos de las partículas de vehículo inerte incluyen aquellas preparadas a partir de sacarosa, lactosa, almidón, celulosa cristalina y ceras, y, preferentemente, estos vehículos tienen un tamaño de partícula medio de aproximadamente 100 μm a aproximadamente 1.500 μm .

- 35 Con el fin de separar el fármaco contenido en el núcleo de un agente de recubrimiento, la superficie del núcleo puede cubrirse con un material protector. Ejemplos del material protector incluyen el material hidrófilo descrito anteriormente y material insoluble en agua. El material protector preferido es polietilenglicol o un polisacárido que tiene un grupo hidroxialquilo o un grupo carboxialquilo, más preferentemente, hidroxipropilmetilcelulosa e hidroxipropilcelulosa. El material protector puede contener, como estabilizante, un ácido tal como ácido tartárico, ácido cítrico, ácido succínico, ácido fumárico, ácido maleico, etc., y un lubricante tal como talco. Cuando se usa el material protector, la cantidad del mismo que va a recubrirse es aproximadamente del 1 a aproximadamente el 15 % (peso/peso), preferentemente aproximadamente del 1 a aproximadamente el 10 % (peso/peso), más preferentemente aproximadamente del 2 a aproximadamente el 8 % (peso/peso) basado en el núcleo.

El material protector puede recubrirse por un método de recubrimiento convencional. Específicamente, el núcleo se recubre por pulverización con el material protector por una técnica de recubrimiento en lecho fluidizado, una técnica de recubrimiento en bandeja, etc.

II. Recubrimiento de núcleo con agente de recubrimiento

- 45 El núcleo obtenido en I anteriormente se recubre con una disolución del agente de recubrimiento preparada por calentamiento por fusión del material insoluble en agua y el polímero de hinchamiento dependiente del pH descrito anteriormente y un material hidrófilo o disolviéndolos o dispersándolos en un disolvente para obtener una preparación de liberación sostenida.

- 50 Un método de recubrimiento del núcleo con la disolución de agente de recubrimiento incluye, por ejemplo, recubrimiento por pulverización, etc.

La relación de composición del material insoluble en agua, polímero de hinchamiento y material hidrófilo en la disolución de agente de recubrimiento puede elegirse apropiadamente para estar dentro de las cantidades de los componentes respectivos contenidos en el recubrimiento.

- 55 La cantidad de agente de recubrimiento es aproximadamente del 1 a aproximadamente el 90 % (peso/peso), preferentemente aproximadamente del 5 a aproximadamente el 50 % (peso/peso), más preferentemente

aproximadamente del 5 a aproximadamente el 35 % (peso/peso) basado en el núcleo (excluyendo la cantidad de recubrimiento de material protector).

Como disolvente para la disolución de agente de recubrimiento puede usarse agua y un disolvente orgánico individualmente o como una mezcla del mismo. Cuando se usa una mezcla, la relación de agua y el disolvente orgánico (agua/disolvente orgánico: una relación de peso) puede variar dentro del intervalo del 1 al 100 %, y es preferentemente del 1 a aproximadamente el 30 %. El disolvente orgánico no está particularmente limitado en tanto que pueda disolver el material insoluble en agua, y ejemplos del disolvente incluyen un alcohol inferior tal como alcohol metílico, alcohol etílico, alcohol isopropílico, alcohol n-butilico, etc., una alcanona inferior tal como acetona, etc., acetonitrilo, cloroformo, cloruro de metileno, etc. Entre otros, se prefiere un alcohol inferior, siendo más preferido alcohol etílico y alcohol isopropílico. Se usan agua y una mezcla de agua y un disolvente orgánico preferentemente como disolventes para la disolución de agente de recubrimiento. En este caso, puede añadirse un ácido tal como ácido tartárico, ácido cítrico, ácido succínico, ácido fumárico, ácido maleico, etc., a la disolución de agente de recubrimiento, si fuera necesario, con el fin de estabilizar la disolución de agente de recubrimiento.

El recubrimiento mediante recubrimiento por pulverización puede realizarse usando un método de recubrimiento convencional. Específicamente, el núcleo se pulveriza con una disolución de agente de recubrimiento por una técnica de recubrimiento en lecho fluidizado, una técnica de recubrimiento en bandeja, o similares. Tras el recubrimiento, también puede añadirse un lubricante tal como talco, óxido de titanio, estearato de magnesio, estearato de calcio, anhídrido silícico ligero, etc., y un plastificante tal como éster graso de glicerina, aceite de ricino endurecido, citrato de trietilo, alcohol cetílico, alcohol estearílico, etc.

Después del recubrimiento con el agente de recubrimiento, también puede mezclarse un agente antiestático tal como talco, si fuera necesario.

La preparación de liberación inmediata puede ser un líquido (disolución, suspensión, emulsión, etc.) o un sólido (partículas, píldoras, comprimidos, etc.). Puede usarse una preparación oral y una preparación parenteral tal como una preparación inyectable, y se prefiere una preparación oral.

La preparación de liberación inmediata puede normalmente contener un vehículo, aditivos y un excipiente (en lo sucesivo abreviado algunas veces excipientes) que se usan convencionalmente en el campo farmacéutico, además de un fármaco que es un principio activo. Los excipientes farmacéuticos no están específicamente limitados, mientras que sean excipientes convencionalmente usados en el campo farmacéutico. Ejemplos del excipiente para una preparación sólida oral incluyen lactosa, almidón, almidón de maíz, celulosa cristalina (Avicel PH101, fabricada por Asahi Kasei Corporation, etc.), azúcar en polvo, azúcar granulada, manitol, anhídrido silícico ligero, carbonato de magnesio, carbonato cálcico, L-cisteína, etc., preferentemente, almidón de maíz y manitol. Cualquiera de estos excipientes puede emplearse solo o en combinación entre sí. Las cantidades de los excipientes son, por ejemplo, aproximadamente del 4,5 a aproximadamente el 99,4 % en peso/peso, preferentemente aproximadamente del 20 a aproximadamente el 98,5 % en peso/peso, más preferentemente aproximadamente del 30 a aproximadamente el 97 % en peso/peso, basado en el peso total de la preparación de liberación inmediata.

El contenido de fármaco en la preparación de liberación inmediata puede seleccionarse apropiadamente del intervalo de aproximadamente el 0,5 % a aproximadamente el 95 %, preferentemente aproximadamente del 1 % a aproximadamente el 60 % con respecto a la cantidad total de la preparación de liberación inmediata.

Cuando la preparación de liberación inmediata es una preparación sólida oral, la preparación contiene un agente disgregante, además de los componentes descritos anteriormente. Ejemplos del agente disgregante incluyen carboximetilcelulosa cálcica (ECG505 fabricada por GOTOKU CHEMICAL Co., Ltd.), croscarmelosa sódica (por ejemplo, Ac-Di-Sol fabricada por Asahi Kasei Corporation), crospovidona (por ejemplo, COLIDON CL fabricada por BASF), hidroxipropilcelulosa de baja sustitución (Shin-Etsu Chemical Co., Ltd.), carboximetilalmidón (MATSUTANI CHEMICAL INDUSTRY Co., Ltd.), carboximetilalmidón sódico (EXPLATAB fabricado por KIMURA SANGYO), α -almidón parcial (PCS fabricado por Asahi Kasei Corporation), etc. Por ejemplo, puede usarse el agente disgregante que disgrega gránulos por absorción de agua o hinchamiento en contacto con agua, o que forma un canal entre el principio activo que comprende el núcleo y un excipiente. Cualquiera de estos agentes disgregantes puede usarse solo o en combinación entre sí. La cantidad de agente disgregante usada puede elegirse apropiadamente dependiendo del tipo y la cantidad de fármaco usado o un diseño de preparación particular para el rendimiento de liberación previsto. Por ejemplo, la cantidad es aproximadamente del 0,05 a aproximadamente el 30 % en peso/peso, preferentemente de aproximadamente el 0,5 a aproximadamente el 15 % en peso/peso basado en el peso total de la preparación de liberación inmediata.

Cuando la preparación de liberación inmediata es una preparación sólida oral, la preparación sólida oral puede contener opcionalmente aditivos convencionalmente usados en una preparación sólida, además de los componentes descritos anteriormente. Ejemplos de los aditivos incluyen aglutinantes (por ejemplo, sacarosa, gelatina, goma arábiga en polvo, metilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, carboximetilcelulosa, polivinilpirrolidona, pululano, dextrina, etc.), lubricantes (polietilenglicol, estearato de magnesio, talco, anhídrido silícico ligero (por ejemplo, Aerosil (NIPPON AEROSIL)), tensioactivos (por ejemplo, tensioactivos aniónicos tales como alquilsulfato de sodio, tensioactivos no iónicos tales como éster graso de polioxietileno, éster graso de

polioxietileno-sorbitano, derivados de polioxietileno-aceite de ricino, etc.), colorantes (por ejemplo, colorantes de alquitrán, caramelo, colcothar, óxido de titanio, riboflavinas), si fuera necesario, correctores (por ejemplo, edulcorantes, aromas, etc.), adsorbentes, conservantes, agentes humectantes, agentes antiestáticos, etc. Además, también puede añadirse como estabilizante un ácido orgánico tal como ácido tartárico, ácido cítrico, ácido succínico, ácido fumárico, o similares.

Como el aglutinante anterior, se usan preferentemente hidroxipropilcelulosa, polietilenglicol y polivinilpirrolidona, etc.

La preparación de liberación inmediata puede prepararse mezclando los componentes descritos anteriormente y amasando la mezcla, si fuera necesario, y entonces moldeando según una técnica convencional para hacer preparaciones farmacéuticas. La mezcla anterior puede llevarse a cabo de un modo convencional, por ejemplo, mezclando, amasando, etc. Específicamente, donde la preparación de liberación inmediata esté en forma de partículas, la preparación puede prepararse mezclando componentes con un granulador vertical, una amasadora multiusos (HATA IRON WORKS CO., LTD), un granulador de lecho fluidizado FD-5S (POWREX CORPORATION) o similares, y entonces granulando lo resultante por granulación por extrusión en húmedo o granulación en lecho fluidizado por una técnica similar a la de preparar el núcleo de la preparación de liberación sostenida descrita anteriormente.

La preparación de liberación inmediata y la preparación de liberación sostenida así obtenidas pueden formularse, como tales, o, junto con excipientes farmacéuticos apropiados, en preparaciones farmacéuticas por separado de un modo convencional para preparar preparaciones respectivas para administrar en combinación entre sí simultáneamente o en ciertos intervalos de tiempo. De manera alternativa, ambas preparaciones pueden formularse en una forma de dosificación única para administración por vía oral (por ejemplo, gránulos, gránulos finos, comprimidos, cápsulas) como tales, o, junto con excipientes farmacéuticos apropiados. Ambas preparaciones en forma de gránulos o gránulos finos también pueden cargarse en una cápsula individual para administración por vía oral.

[3] Preparación disgregante sublingual, bucal u oral rápida y su producción

Una preparación disgregante sublingual, bucal u oral rápida puede estar en forma de una preparación sólida tal como un comprimido, o puede estar en forma de un parche mucoso oral (película), o una película disgregante oral.

La preparación disgregante sublingual, bucal u oral rápida es preferentemente una preparación que contiene el compuesto de la presente invención o el fármaco concomitante y un excipiente. La preparación también puede contener agentes auxiliares tales como un lubricante, un agente isotonzante, un vehículo hidrófilo, un polímero dispersable en agua, un estabilizante, etc. Además, con el fin de promover la absorción y potenciar la biodisponibilidad, la preparación también puede contener β -ciclodextrina o derivados de β -ciclodextrina (por ejemplo, hidroxipropil- β -ciclodextrina, etc.), y similares.

Ejemplos del excipiente anterior incluyen lactosa, sacarosa, D-manitol, almidón, celulosa cristalina, anhídrido silícico ligero, etc. Ejemplos del lubricante incluyen estearato de magnesio, estearato de calcio, talco, sílice coloidal, etc., preferentemente, estearato de magnesio y sílice coloidal. Ejemplos del agente isotonzante incluyen cloruro sódico, glucosa, fructosa, manitol, sorbitol, lactosa, sacarosa, glicerina y urea, en particular preferentemente, manitol. Como vehículo hidrófilo hay, por ejemplo, vehículos hidrófilos de hinchamiento tales como celulosa cristalina, etilcelulosa, polivinilpirrolidona reticulada, anhídrido silícico ligero, ácido silícico, fosfato de dicalcio, carbonato cálcico, etc., preferentemente, celulosa cristalina (por ejemplo, celulosa microcristalina, etc.). Como polímero dispersable en agua hay, por ejemplo, una goma (por ejemplo, goma tragacanto, goma arábica, goma guar), alginato (por ejemplo, alginato de sodio), derivados de celulosa (por ejemplo, metilcelulosa, carboximetilcelulosa, hidroximetilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa), gelatina, almidón soluble en agua, ácido poliacrílico (por ejemplo, carbomer), ácido polimetacrílico, poli(alcohol vinílico), polietilenglicol, polivinilpirrolidona, policarbófilo, sal de ascorbato-palmitato, etc., preferentemente, hidroxipropilmetilcelulosa, ácido poliacrílico, alginato, gelatina, carboximetilcelulosa, polivinilpirrolidona y polietilenglicol. La hidroxipropilmetilcelulosa es particularmente preferida. Como estabilizante hay, por ejemplo, cisteína, tiosorbitol, ácido tartárico, ácido cítrico, carbonato sódico, ácido ascórbico, glicina, sulfito de sodio, etc., en particular preferentemente ácido cítrico y ácido ascórbico.

La preparación disgregante sublingual, bucal u oral rápida puede prepararse mezclando el compuesto de la presente invención o el fármaco concomitante y un excipiente por un método en sí conocido. Además, si se desea, los agentes auxiliares descritos anteriormente, tales como el lubricante, agente isotonzante, vehículo hidrófilo, polímero dispersable en agua, estabilizante, colorante, edulcorante, conservante, etc., también pueden mezclarse con la misma. Después de mezclar los componentes descritos anteriormente simultáneamente o a ciertos intervalos de tiempo, la mezcla se comprime en comprimidos para obtener el comprimido de disgregación rápida sublingual, bucal u oral. Con el fin de obtener una dureza adecuada, puede usarse un disolvente tal como agua, un alcohol, etc., para humectar o humedecer los componentes antes o después de la formación de comprimidos, seguido de secado.

En la preparación del parche mucoso oral (película), el compuesto de la presente invención o el fármaco concomitante y el polímero dispersable en agua (preferentemente, hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa), excipiente, etc., descritos anteriormente se disuelven en un disolvente tal como agua, etc., y entonces la disolución

resultante se cuele en una película. Además, pueden añadirse aditivos tales como un plastificante, un estabilizante, un antioxidante, un conservante, un colorante, un agente de tamponamiento, un edulcorante, etc., a la preparación. Puede añadirse un glicol, tal como polietilenglicol, propilenglicol, etc., para conferir una elasticidad apropiada a una película, y también puede añadirse un polímero bioadhesivo (por ejemplo, polycarbófilo, carbopol) para potenciar la adhesión de la película al revestimiento de la mucosa oral. La colada puede llevarse a cabo vertiendo una disolución sobre una superficie no adhesiva, extendiendo la disolución usando una recubridora, tal como una racleta, en un espesor uniforme (preferentemente, aproximadamente 10 a 1000 micrómetros), y luego secando la disolución para formar una película. La película así formada se seca a temperatura ambiente o mientras que se calienta, y entonces se corta en trozos que tiene cada uno un área superficial deseada.

Una preparación disgregante oral rápida preferida es, por ejemplo, una preparación de difusión rápida en una forma de red sólida, que comprende el compuesto de la presente invención o el fármaco concomitante y un vehículo soluble en agua o difusible en agua inerte al compuesto de la presente invención o el fármaco concomitante. La red se forma sublimando un disolvente de la composición sólida que comprende una disolución del compuesto de la presente invención o el fármaco concomitante en un disolvente adecuado.

Además del compuesto de la presente invención o el fármaco concomitante, la composición de la preparación disgregante oral rápida puede contener preferentemente un agente de formación de matriz y componentes secundarios.

Ejemplos del agente de formación de matriz incluyen gelatinas, dextrinas y proteínas animales o vegetales de soja, trigo, semilla de ispágula, etc.; materiales gomosos tales como goma arábica, goma guar, agar, goma xantana, etc.; polisacáridos; alginatos; carboximetilcelulosas; carrageninas; dextranos; pectinas; polímeros sintéticos tales como polivinilpirrolidona; materiales derivados de complejos de gelatina-goma arábica, etc. El agente de formación de matriz incluye además sacáridos tales como manitol, dextrosa, lactosa, galactosa, trehalosa, etc.; sacáridos cíclicos tales como ciclodextrinas, etc.; sales inorgánicas tales como fosfato de sodio, cloruro sódico, silicato de aluminio, etc.; aminoácidos que tienen 2 a 12 átomos de carbono tales como glicina, L-alanina, ácido L-aspartico, ácido L-glutámico, L-hidroxiprolina, L-isoleucina, L-leucina, L-fenilalanina, etc.

Pueden incorporarse uno o más agentes de formación de matriz en una disolución o suspensión antes de la solidificación. Pueden estar presentes agentes de formación de matriz, además de un tensioactivo, o pueden estar presentes en ausencia de un tensioactivo. Los agentes de formación de matriz sirven no solo para formar una misma matriz, sino también para ayudar a mantener la difusión del compuesto de la presente invención o el fármaco concomitante en la disolución o suspensión.

La composición puede contener un componente secundario tal como un conservante, un antioxidante, un tensioactivo, un espesante, un colorante, agente de ajuste del pH, un aroma, un edulcorante, un agente de enmascaramiento del sabor, etc. Como colorante adecuado hay, por ejemplo, óxido de hierro rojo, negro y amarillo, colorantes FD & C disponibles de ERIS & EVERALD tales como FD & C Blue No. 2 y FD & C Red No. 40, etc. Ejemplos de aromas adecuados incluyen aroma de menta, frambuesa, regaliz, naranja, limón, pomelo, caramelo, vainilla, cereza, uva y una combinación de los mismos. Ejemplos del agente de ajuste del pH adecuado incluyen ácido cítrico, ácido tartárico, ácido fosfórico, ácido clorhídrico y ácido maleico. Ejemplos del edulcorante adecuado incluyen aspartamo, acesulfamo K y taumatina. Ejemplos del agente de enmascaramiento del sabor adecuado incluyen bicarbonato sódico, resinas de intercambio iónico, compuestos de inclusión de ciclodextrina, adsorbentes y apomorfina microencapsulada.

La preparación generalmente contiene el compuesto de la presente invención o el fármaco concomitante en una cantidad de aproximadamente el 0,1 a aproximadamente el 50 % en peso, preferentemente aproximadamente del 0,1 a aproximadamente el 30 % en peso y, preferentemente, la preparación (el comprimido sublingual, bucal, etc., descritos anteriormente) permite que el 90 % o más del compuesto de la presente invención o el fármaco concomitante se disuelva (en agua) en el plazo de un periodo de tiempo de aproximadamente 1 a aproximadamente 60 minutos, preferentemente aproximadamente 1 minuto a aproximadamente 15 minutos, más preferentemente aproximadamente 2 minutos a aproximadamente 5 minutos, o es una preparación disgregante oral rápida que se disgrega en el plazo de aproximadamente 1 a aproximadamente 60 segundos, preferentemente aproximadamente 1 a aproximadamente 30 segundos, más preferentemente aproximadamente 1 a aproximadamente 10 segundos, después de colocarse en la cavidad bucal.

La cantidad de excipiente anterior es aproximadamente del 10 a aproximadamente el 99 % en peso, preferentemente aproximadamente del 30 a aproximadamente el 90 % en peso basado en el peso total de la preparación. La cantidad de β -ciclodextrina o derivado de β -ciclodextrina es del 0 a aproximadamente el 30 % en peso basado en el peso total de la preparación. La cantidad de lubricante es aproximadamente del 0,01 a aproximadamente el 10 % en peso, preferentemente aproximadamente del 1 a aproximadamente el 5 % en peso basado en el peso total de la preparación. La cantidad de agente isotonzante es aproximadamente del 0,1 a aproximadamente el 90 % en peso, preferentemente aproximadamente del 10 a aproximadamente el 70 % en peso basado en el peso total de la preparación. La cantidad de vehículo hidrófilo es aproximadamente del 0,1 a aproximadamente el 50 % en peso, preferentemente aproximadamente del 10 a aproximadamente el 30 % en peso basado en el peso total de la preparación. La cantidad de polímero dispersable en agua es aproximadamente del 0,1

a aproximadamente el 30 % en peso, preferentemente aproximadamente del 10 a aproximadamente el 25 % en peso basado en el peso total de la preparación. La cantidad de estabilizante es aproximadamente del 0,1 a aproximadamente el 10 % en peso, preferentemente aproximadamente del 1 a aproximadamente el 5 % en peso basado en el peso total de la preparación. Si fuera necesario, la preparación descrita anteriormente puede contener además aditivos tales como un colorante, un edulcorante, un conservante, etc.

Una dosis de las preparaciones concomitantes de la presente invención varía dependiendo del tipo del compuesto de la presente invención, edad, peso corporal, afecciones, forma de dosificación, vía para administración, periodo de dosificación, etc.

Una dosis del compuesto de la presente invención puede variar dependiendo del sujeto que va a administrarse, órgano diana, afecciones, vía de administración, etc., y en administración por vía oral, el compuesto se administra generalmente al paciente (de 60 kg de peso corporal) con cáncer en una dosis diaria de aproximadamente 0,01 a 100 mg, preferentemente aproximadamente 0,1 a 50 mg y más preferentemente aproximadamente 0,1 a 20 mg. En administración parenteral, una dosis única del compuesto puede variar dependiendo del sujeto que va a administrarse, órgano diana, afecciones, vía de administración, etc., y en forma de una forma de dosificación inyectable, es ventajoso administrar por vía intravenosa el compuesto al paciente (de 60 kg de peso corporal) con cáncer generalmente en una dosis diaria de aproximadamente 0,001 a 30 mg, preferentemente aproximadamente 0,01 a 20 mg, y más preferentemente aproximadamente 0,01 a 10 mg. Para otra especie de animal, puede administrarse la dosis correspondiente calculada a partir de los 60 kg de peso. Por supuesto, la dosis puede variar dependiendo de las afecciones individuales como se ha descrito anteriormente; en un caso tal, una dosis inferior a la dosis dada anteriormente puede ser suficiente, o puede ser superior al intervalo anterior.

Es posible establecer cualquier intervalo de una dosis para el fármaco concomitante, mientras que no produzca efectos secundarios adversos. Una dosis diaria del fármaco concomitante puede variar dependiendo de la gravedad de la enfermedad, la edad, sexo, peso corporal y susceptibilidad del sujeto, periodo e intervalos de dosificación, las propiedades, formulación, tipo y principios activos de la preparación farmacéutica, etc., y no está particularmente limitada. Por ejemplo, en la administración por vía oral, la dosis es aproximadamente 0,001 a 2000 mg, preferentemente aproximadamente 0,01 a 500 mg, y más preferentemente aproximadamente 0,1 a 100 mg en términos de un fármaco, por kg de peso corporal de un mamífero; normalmente, esta dosis se administra dividiéndola 1 a 4 veces por día.

Cuando el producto farmacéutico de la presente invención se administra, puede administrarse concomitantemente. De manera alternativa, el fármaco concomitante se administra primero y luego se administra el compuesto de la presente invención, o el compuesto de la presente invención se administra primero y luego se administra el fármaco concomitante. Cuando se administran a ciertos intervalos de tiempo, los intervalos varían dependiendo del principio activo que va a administrarse, forma de dosificación y vía de administración; por ejemplo, cuando el fármaco concomitante se administra primero, el compuesto de la presente invención puede administrarse en el plazo de 1 minuto a 3 días, preferentemente 10 minutos a 1 día, más preferentemente 15 minutos a 1 hora después de la administración del fármaco concomitante. Cuando el compuesto de la presente invención se administra primero, el fármaco concomitante puede administrarse en el plazo de 1 minuto a 1 día, preferentemente 10 minutos a 6 horas, más preferentemente 15 minutos a 1 hora después de la administración del compuesto de la presente invención.

Como método de dosificación preferido se administran por vía oral, por ejemplo, aproximadamente 0,001 a 200 mg/kg del fármaco concomitante en forma de una preparación de dosificación oral y, después de aproximadamente 15 minutos, se administran por vía parenteral aproximadamente 0,005 a 0,5 mg/kg del compuesto de la presente invención en forma de una preparación parenteral como dosis diaria.

Como metastinas se usan, por ejemplo, la metastina humana descrita en el documento WO 00/24890, metastina de ratón o rata descrita en el documento WO 01/75104, etc.

Ejemplos específicos de metastina humana incluyen un péptido que comprende la secuencia de aminoácidos 47°-54° del extremo N en la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 1 y que consiste en 8 a 54 restos de aminoácidos, y similares.

El "péptido que comprende la secuencia de aminoácidos 47°-54° del extremo N en la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 1 y que consiste en 8 a 54 restos de aminoácidos" puede ser cualquier péptido, en tanto que sea un péptido que comprende la secuencia de aminoácidos 47°-54° del extremo N en la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 1 y que consiste en 8 a 54 restos de aminoácidos, pero significa que estos péptidos tienen sustancialmente la misma actividad fisiológica (por ejemplo, una actividad de unión a receptor, una acción de transducción de señales, una acción de elevación del nivel de glucosa en sangre, una acción promotora de la secreción de glucagón pancreático, una acción promotora de la formación de orina, etc.). Específicamente, se usa (i) un péptido que tiene la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 1, (ii) un péptido que comprende la secuencia de aminoácidos 47°-54° del extremo N en el extremo C en la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 1 y que consiste en 8 a 15 restos de aminoácidos, etc.

Más específicamente, la metastina humana usada incluye (i) un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 1 (metastina humana 54 (1-54)), (ii) un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos 40°-54° del extremo N en la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 1 (metastina humana 15 (40-54); SEQ ID NO: 15), (iii) un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos 45°-54° del extremo N en la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 1 (metastina humana 10 (45-54); SEQ ID NO: 16), (iv) un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos 46°-54° del extremo N en la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 1 (metastina humana 9 (46-54); SEQ ID NO: 17), (v) un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos 47°-54° del extremo N en la secuencia de aminoácidos representada por (metastina humana 8 (47-54); SEQ ID NO: 18), etc.

Como metastina de ratón (A) se usa, por ejemplo, (i) un péptido que comprende la secuencia de aminoácidos 134°-141° del extremo N en la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 3 y que consiste en 8 a 52 restos de aminoácidos. Ejemplos específicos de metastina de ratón (A) usada incluyen (i) un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos 90°-141° del extremo N en la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 3, (ii) un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos 132°-141° del extremo N en la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 3, (iii) un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos 127°-141° del extremo N en la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 3, y similares.

Como metastina de ratón (B) se usa, por ejemplo, un péptido que comprende la secuencia de aminoácidos 138°-145° del extremo N en la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 5 y que consiste en 8 a 52 restos de aminoácidos. Ejemplos específicos de metastina de ratón (B) usada incluyen un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos 94°-145° del extremo N en la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 5, y similares.

Como metastina de rata se usa, por ejemplo, un péptido que comprende la secuencia de aminoácidos 112°-119° del extremo N en la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 7 y que consiste en 8 a 52 restos de aminoácidos. Ejemplos específicos de metastina de rata usada incluyen (i) un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos 68°-119° del extremo N en la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 7, (ii) un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos 110°-119° del extremo N en la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 7, (iii) un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos 105°-119° del extremo N en la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 7, y similares.

Como se usa en el presente documento, las metastinas se representan según la forma convencional de describir péptidos, es decir, el extremo N (extremo amino) a mano izquierda y el extremo C (extremo carboxilo) a mano derecha. En el péptido representado por SEQ ID NO: 1, el extremo C puede estar en cualquier forma de un grupo carboxilo (-COOH), un carboxilato (-COO-), una amida (-CONH₂) y un éster (-COOR). En el presente documento, ejemplos del grupo éster o alquilamida mostrados por R incluyen un grupo alquilo C₁₋₆ tal como metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, etc.; un grupo cicloalquilo C₃₋₈ tal como ciclopentilo, ciclohexilo, etc.; un grupo arilo C₆₋₁₂ tal como fenilo, α-naftilo, etc.; un aralquilo C₇₋₁₄ tal como un grupo fenil-alquilo C₁₋₂ tal como bencilo, fenetilo, etc., un grupo α-naftil-alquilo C₁₋₂ tal como α-naftilmetilo, etc.; grupo pivaloiloilometilo, que se usan ampliamente como un éster para uso oral, y similares.

Además, las metastinas incluyen péptidos, en los que el amino en el resto de metionina del extremo N está protegido con un grupo protector (por ejemplo, un grupo acilo C₁₋₆ tal como formilo, un grupo alcanilo C₂₋₆ tal como acetilo, etc.); aquellos en los que la región del extremo N se escinde *in vivo* y el grupo glutamilo así formado se piroglutamina; aquellos en los que un sustituyente (por ejemplo, -OH, -SH, -COOH, amino, imidazol, indol, guanidino, etc.) en la cadena lateral de un aminoácido en la molécula está protegido con un grupo protector adecuado (por ejemplo, un grupo acilo C₁₋₆ tal como formilo, un grupo alcanilo C₂₋₆ tal como acetilo, etc.), o péptidos conjugados tales como glucopéptidos unidos a cadenas de azúcar.

Sales de la metastina de la presente invención usadas son sales con bases fisiológicamente aceptables (por ejemplo, sales de metales alcalinos) o ácidos (por ejemplo, ácidos orgánicos o ácidos inorgánicos), especialmente se prefieren sales de adición de ácido fisiológicamente aceptables. Ejemplos de tales sales incluyen sales con ácidos inorgánicos (por ejemplo, ácido clorhídrico, ácido fosfórico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico); sales con ácidos orgánicos (por ejemplo, ácido acético, ácido fórmico, ácido propiónico, ácido fumárico, ácido maleico, ácido succínico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido málico, ácido oxálico, ácido benzoico, ácido metanosulfónico, ácido bencenosulfónico) y similares.

Como ADN que codifica las metastinas se usa, por ejemplo, un ADN que codifica la metastina humana descrita en el documento WO 00/24890, un ADN que codifica la metastina de ratón o de rata descrita en el documento WO 01/75104, etc.

Los ADN que codifican las metastinas pueden ser cualquiera de ADN genómico, genoteca de ADN genómico, ADNc derivado de las células y tejidos descritos anteriormente, genoteca de ADNc derivada de las células y tejidos descritos anteriormente y ADN sintético. El vector que va a usarse para la genoteca puede ser cualquiera de bacteriófago, plásmido, cósmido y fagémido. El ADN también puede amplificarse directamente por reacción en

cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (abreviada en lo sucesivo RT-PCR) usando ARN total o fracción de ARNm preparada a partir de las células y tejidos descritos anteriormente.

El ADN que codifica metastina humana, precursor de metastina de ratón (A), precursor de metastina de ratón (B) o precursor de metastina de rata puede ser cualquier ADN, mientras que cada uno sea un ADN que contiene una secuencia de nucleótidos representada por SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 6 o SEQ ID NO: 8, o un ADN que contiene una secuencia de nucleótidos hibridable con la secuencia de nucleótidos representada por cualquier secuencia de nucleótidos representada por SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 6 o SEQ ID NO: 8 en condiciones altamente rigurosas y que codifica la metastina humana, metastina de ratón (A), metastina de ratón (B) o metastina de rata descritas anteriormente.

Ejemplos específicos del ADN hibridable con la secuencia de nucleótidos representada por cualquiera de SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 6 o SEQ ID NO: 8 incluyen un ADN que contiene una secuencia de nucleótidos que tiene al menos aproximadamente el 70 % de homología, preferentemente al menos aproximadamente el 80 % de homología, más preferentemente al menos aproximadamente el 90 % de homología y lo más preferentemente al menos aproximadamente el 95 % de homología, con la secuencia de nucleótidos representada por cualquiera de SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 6 o SEQ ID NO: 8.

La homología en la secuencia de nucleótidos puede medirse en las siguientes condiciones (un valor esperado = 10; se permiten huecos; filtrado = ENCENDIDO; puntuación de coincidencias = 1; puntuación de discordancias = -3) usando el algoritmo de puntuación de homología NCBI BLAST (herramienta de búsqueda de alineamientos locales básicos del Centro Nacional para Información Biotecnológica).

La hibridación puede llevarse a cabo por métodos en sí públicamente conocidos o por modificaciones de estos métodos, por ejemplo, según el método descrito en Molecular Cloning, 2.^a (J. Sambrook et al., Cold Spring Harbor Lab. Press, 1989). También puede usarse una genoteca comercialmente disponible según las instrucciones del protocolo del fabricante adjunto. Preferentemente, la hibridación puede llevarse a cabo en condiciones altamente rigurosas.

Las condiciones altamente rigurosas usadas en el presente documento son, por ejemplo, aquellas en una concentración de sodio a aproximadamente 19 a 40 mM, preferentemente aproximadamente 19 a 20 mM a una temperatura de aproximadamente 50 a 70 °C, preferentemente aproximadamente 60 a 65 °C. En particular, las condiciones de hibridación en una concentración de sodio de aproximadamente 19 mM a una temperatura de aproximadamente 65 °C son las más preferidas.

Específicamente, como el ADN que codifica la metastina humana que comprende la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 1 puede usarse el ADN que consiste en la secuencia de nucleótidos representada por SEQ ID NO: 2. Por consiguiente, para la secuencia de nucleótidos que codifica la metastina humana que consiste en las diversas secuencias de aminoácidos descritas anteriormente, puede elegirse una secuencia de nucleótidos correspondiente a cada una de las secuencias de aminoácidos parciales en la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 1 de la secuencia de nucleótidos representada por SEQ ID NO: 2.

Como ADN que codifica el precursor de metastina de ratón (A) que comprende la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 3 puede emplearse un ADN que consiste en la secuencia de nucleótidos representada por SEQ ID NO: 4. Por consiguiente, para la secuencia de nucleótidos que codifica el precursor de metastina de ratón (A) que consiste en las diversas secuencias de aminoácidos descritas anteriormente, puede elegirse una secuencia de nucleótidos correspondiente a cada una de las secuencias de aminoácidos parciales en la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 3 de la secuencia de nucleótidos representada por SEQ ID NO: 4.

Como ADN que codifica el precursor de metastina de ratón (B) que comprende la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 5 puede emplearse un ADN que consiste en la secuencia de nucleótidos representada por SEQ ID NO: 6. Por consiguiente, para la secuencia de nucleótidos que codifica el precursor de metastina de ratón (B) que comprende las diversas secuencias de aminoácidos descritas anteriormente, puede elegirse una secuencia de nucleótidos correspondiente a cada una de las secuencias de aminoácidos parciales en la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 5 de la secuencia de nucleótidos representada por SEQ ID NO: 6.

Como ADN que codifica la metastina de rata que comprende la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 7 puede emplearse un ADN que consiste en la secuencia de nucleótidos representada por SEQ ID NO: 8. Por consiguiente, para la secuencia de nucleótidos que codifica la metastina de rata que comprende las diversas secuencias de aminoácidos descritas anteriormente, puede elegirse una secuencia de nucleótidos correspondiente a cada una de las secuencias de aminoácidos parciales en la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 7 de la secuencia de nucleótidos representada por SEQ ID NO: 8.

Más específicamente, para el péptido que comprende la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 1 (metastina humana 54 (1-54)), se usa un ADN que comprende la secuencia de nucleótidos representada por SEQ ID NO: 2, etc.

Como ADN que codifica el péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos 40°-54° del extremo N en la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 1 (metastina humana 15 (40-54); SEQ ID NO: 15), se usa un ADN que comprende la secuencia de nucleótidos representada por SEQ ID NO: 19, etc.

- 5 Como ADN que codifica el péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos 45°-54° del extremo N en la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 1 (metastina humana 10 (45-54); representada por SEQ ID NO: 16), se usa un ADN que comprende la secuencia de nucleótidos representada por SEQ ID NO: 20, etc.

Como ADN que codifica el péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos 46°-54° del extremo N en la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 1 (metastina humana 9 (46-54); representada por SEQ ID NO: 17), se usa un ADN que comprende la secuencia de nucleótidos representada por SEQ ID NO: 21, etc.

- 10 Como ADN que codifica el péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos 47°-54° del extremo N en la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 1 (metastina humana 8 (47-54); representada por SEQ ID NO: 18), se usa un ADN que contiene la secuencia de nucleótidos representada por SEQ ID NO: 22, etc.

- 15 Como receptor de metastina, se usan sus péptidos parciales o sales de los mismos, por ejemplo, un receptor de metastina humana, sus péptidos parciales o sales de los mismos descritos en el documento WO 00/24890, un receptor de metastina de ratón o de rata, sus péptidos parciales o sales de los mismos descritos en el documento WO 01/75104, etc.

Específicamente, el receptor de metastina incluye una proteína que comprende la misma o sustancialmente la misma secuencia de aminoácidos que la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11 o SEQ ID NO: 13, etc.

- 20 La secuencia de aminoácidos que tiene sustancialmente la misma secuencia de aminoácidos que la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11 o SEQ ID NO: 13 incluye, por ejemplo, una secuencia de aminoácidos que tiene al menos aproximadamente el 70 % de homología, preferentemente al menos aproximadamente el 80 % de homología, más preferentemente al menos aproximadamente el 90 % de homología, y lo más preferentemente al menos aproximadamente el 95 % de homología, con la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11 o SEQ ID NO: 13.

La homología de las secuencias de aminoácidos puede determinarse en las siguientes condiciones (un valor esperado = 10; se permiten huecos; matriz = BLOSUM62; filtrado = APAGADO) usando un algoritmo de puntuación de homología NCBI BLAST (herramienta de búsqueda de alineamientos locales básicos del Centro Nacional para Información Biotecnológica).

- 30 Como proteína que comprende sustancialmente la misma secuencia de aminoácidos que la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11 o SEQ ID NO: 13, se prefiere una proteína que comprende sustancialmente la misma secuencia de aminoácidos que la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11 o SEQ ID NO: 13 y que tiene la actividad de la misma naturaleza que la de una proteína que tiene la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11 o SEQ ID NO: 13, etc.

- 35 La actividad de sustancialmente la misma naturaleza incluye, por ejemplo, una actividad de unión a ligando, una actividad de transducción de señales, y similares. "Sustancialmente la misma naturaleza" se usa para significar que la naturaleza de estas actividades es equivalente en términos de calidad. Así, actividades tales como una actividad de unión a ligando, una actividad de transducción de señales, etc., son preferentemente equivalentes (por ejemplo, aproximadamente 0,01 a 100 veces, preferentemente aproximadamente 0,5 a 10 veces, más preferentemente 0,5 a 2 veces), pero puede estar presentes y ser permisibles diferencias en cierto grado tales como un nivel de estas actividades, factores cuantitativos tales como un peso molecular de la proteína.

- 40 Actividades tales como una actividad de unión a ligando, una actividad de transducción de señales, etc., pueden ensayarse por métodos en sí públicamente conocidos con modificaciones y pueden determinarse según métodos para determinar un ligando o métodos de cribado descritos en, por ejemplo, los documentos WO 00/24890 o WO 01/75104.

- 45 Ejemplos del receptor de metastina usado incluyen proteínas que comprenden (i) la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11 o SEQ ID NO: 13, de la que al menos 1 o 2 (preferentemente aproximadamente 1 a aproximadamente 30, más preferentemente aproximadamente 1 a aproximadamente 10 y lo más preferentemente varios (1 o 2)) aminoácidos están delecionados; (ii) la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11 o SEQ ID NO: 13, a la que al menos 1 o 2 (preferentemente aproximadamente 1 a aproximadamente 30, más preferentemente aproximadamente 1 a aproximadamente 10 y lo más preferentemente varios (1 o 2)) aminoácidos se añaden; (iii) la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11 o SEQ ID NO: 13, en la que al menos 1 o 2 (preferentemente aproximadamente 1 a aproximadamente 30, más preferentemente aproximadamente 1 a aproximadamente 10 y lo más preferentemente varios (1 o 2)) aminoácidos están sustituidos con otros aminoácidos; o (iv) una combinación de estas secuencias de aminoácidos; y similares.

- Como se usa en el presente documento, los receptores de metastina se representan según la forma convencional de describir péptidos, es decir, el extremo N (extremo amino) a mano izquierda y el extremo C (extremo carboxilo) a mano derecha. En los receptores de metastina que incluyen el receptor de metastina representado por SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11 o SEQ ID NO: 13, el extremo C pueden estar en cualquier forma de un grupo carboxilo (-COOH), un carboxilato (-COO-), una amida (-CONH₂) y un éster (-COOR). En el presente documento, ejemplos del grupo éster mostrado por R incluyen un grupo alquilo C₁₋₆ tal como metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, etc.; un grupo cicloalquilo C₃₋₈ tal como ciclopentilo, ciclohexilo, etc.; un grupo arilo C₆₋₁₂ tal como fenilo, α-naftilo, etc.; un aralquilo C₇₋₁₄ tal como un grupo fenil-alquilo C₁₋₂ tal como bencilo, fenetilo, etc., un grupo α-naftil-alquilo C₁₋₂ tal como α-naftilmetilo, etc.; y grupo pivaloiloximetilo, que se usan ampliamente como un éster para uso oral, y similares.
- Donde los receptores de metastina contienen un grupo carboxilo (o un carboxilato) en una posición distinta del extremo C, el grupo carboxilo puede estar amidado o esterificado y tales amidas o ésteres también están incluidos dentro de la proteína de receptor de la presente invención. En este caso, el grupo éster usado puede ser el mismo grupo que los ésteres del extremo C descritos anteriormente.
- Además, los receptores de metastina incluyen aquellos en los que el grupo amino en el resto de metionina del extremo N está protegido con un grupo protector (por ejemplo, un grupo acilo C₁₋₆ tal como formilo, un grupo alcanilo C₂₋₆ tal como acetilo, etc.); aquellos en los que la región del extremo N se escinde *in vivo* y el grupo glutamilo así formado está piroglutaminado; aquellos en los que un sustituyente (por ejemplo, -OH, -SH, amino, imidazol, indol, guanidino, etc.) en la cadena lateral de un aminoácido en la molécula está protegido con un grupo protector adecuado (por ejemplo, un grupo acilo C₁₋₆ tal como formilo, un grupo alcanilo C₂₋₆ tal como acetilo, etc.), o proteínas conjugadas tales como glucoproteínas unidas a cadenas de azúcar.
- Ejemplos específicos de los receptores de metastina incluyen el receptor de metastina humana que consiste en la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 9, receptor de metastina de rata que consiste en la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 11, receptor de metastina de ratón que consiste en la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 13, etc.
- El péptido parcial del receptor de metastina (denominado algunas veces en lo sucesivo simplemente el péptido parcial) puede ser cualquier péptido, mientras que sea un péptido parcial del receptor de metastina descrito anteriormente; se usan aquellos tales como moléculas de proteínas del receptor de metastina, que son los sitios expuestos fuera de la membrana celular, y que tienen una actividad de unión a ligando.
- Específicamente, el péptido parcial del receptor de metastina que consiste en la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11 o SEQ ID NO: 13 es un péptido que contiene las partes analizadas para ser dominios extracelulares (dominios hidrófilos) en el análisis de representación hidrófoba. También puede usarse en parte un péptido que contiene un dominio hidrófobo. Además, el péptido puede contener cada dominio por separado o una pluralidad de dominios juntos.
- En el receptor de metastina, péptidos parciales preferidos son aquellos que tienen el número de aminoácidos de al menos 20, preferentemente al menos 50, y más preferentemente al menos 100, en la secuencia de aminoácidos descrita anteriormente, que constituye el receptor de metastina.
- El péptido parcial puede ser un péptido que tiene la secuencia de aminoácidos descrita anteriormente, de la que al menos 1 o 2 (preferentemente aproximadamente 1 a aproximadamente 10 y más preferentemente varios (1 o 2)) aminoácidos se delecionan; a la que al menos 1 o 2 (preferentemente aproximadamente 1 a aproximadamente 20, más preferentemente aproximadamente 1 a aproximadamente 10 y mucho más preferentemente varios (1 o 2)) aminoácidos se añaden; o, en la que al menos 1 o 2 (preferentemente aproximadamente 1 a aproximadamente 10 y más preferentemente varios (1 o 2)) aminoácidos están sustituidos con otros aminoácidos.
- En el péptido parcial, el extremo C puede ser cualquier forma de un grupo carboxilo (-COOH), un carboxilato (-COO-), una amida (-CONH₂) y un éster (-COOR), como en el receptor de metastina descrito anteriormente.
- Además, los péptidos parciales incluyen péptidos en los que el grupo amino en el resto de metionina del extremo N está protegido con un grupo protector; aquellos en los que la región del extremo N se escinde *in vivo* y la Gln así formada se piroglutamina; aquellos en los que un sustituyente en la cadena lateral de un aminoácido en la molécula está protegido con un grupo protector adecuado, o péptidos conjugados tales como glucopéptidos unidos a cadenas de azúcar, como en los receptores de metastina descritos anteriormente.
- Sales del receptor de metastina o el péptido parcial usado son sales con bases o ácidos fisiológicamente aceptables, especialmente se prefieren sales de adición de ácido fisiológicamente aceptables. Ejemplos de las sales incluyen sales con, por ejemplo, ácidos inorgánicos (por ejemplo, ácido clorhídrico, ácido fosfórico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico); sales con ácidos orgánicos (por ejemplo, ácido acético, ácido fórmico, ácido propiónico, ácido fumárico, ácido maleico, ácido succínico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido málico, ácido oxálico, ácido benzoico, ácido metanosulfónico, ácido bencenosulfónico) y similares.

El ADN que codifica el receptor de metastina o sus péptidos parciales usados incluye, por ejemplo, un ADN que codifica el receptor de metastina humana o sus péptidos parciales descritos en el documento WO 00/24890, un ADN

que codifica el receptor de metastina de ratón o de rata o sus péptidos parciales descritos en el documento WO 01/75104, etc.

Los ADN que codifican el receptor de metastina o sus péptidos parciales puede ser cualquiera de ADN genómico, genoteca de ADN genómico, ADNc derivado de las células y tejidos descritos anteriormente, genoteca de ADNc derivada de las células y tejidos descritos anteriormente y ADN sintético. El vector que va a usarse para la genoteca puede ser cualquiera de bacteriófago, plásmido, cósmido y fagémido. El ADN también puede ser directamente amplificado por reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (abreviada en lo sucesivo RT-PCR) usando ARN total o fracción de ARNm preparada a partir de las células y tejidos descritos anteriormente.

Específicamente, el ADN que codifica el receptor de metastina humana, receptor de metastina de ratón o receptor de metastina de rata puede ser cualquier ADN, mientras que sea un ADN que comprende cada secuencia de nucleótidos representada por SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 12 o SEQ ID NO: 14, o un ADN que comprende una secuencia de nucleótidos hibridable con la secuencia de nucleótidos representada por SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 12 o SEQ ID NO: 14 en condiciones altamente rigurosas y que codifica un receptor que tiene la actividad de sustancialmente la misma naturaleza (por ejemplo, una actividad de unión a ligando, una actividad de transducción de señales, etc.) que la del receptor de metastina humana, receptor de metastina de ratón o receptor de metastina de rata que consiste en la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 12 o SEQ ID NO: 14.

Ejemplos del ADN hibridable con la secuencia de nucleótidos representada por cualquiera de SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 12 o SEQ ID NO: 14 incluyen ADN que contienen una secuencia de nucleótidos que tiene al menos aproximadamente el 70 % de homología, preferentemente al menos aproximadamente el 80 % de homología, más preferentemente al menos aproximadamente el 90 % de homología y lo más preferentemente al menos aproximadamente el 95 % de homología, con la secuencia de nucleótidos representada por cualquiera de SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 12 o SEQ ID NO: 14.

La homología en la secuencia de nucleótidos puede medirse en las siguientes condiciones (un valor esperado = 10; se permiten huecos; filtrado = ENCENDIDO; puntuación de coincidencias = 1; puntuación de discordancias = -3) usando el algoritmo de puntuación de homología NCBI BLAST (herramienta de búsqueda de alineamientos locales básicos del Centro Nacional para Información Biotecnológica).

La hibridación puede llevarse a cabo por métodos en sí públicamente conocidos o por modificaciones de estos métodos, por ejemplo, según el método descrito en Molecular Cloning, 2.^a (J. Sambrook et al., Cold Spring Harbor Lab. Press, 1989), etc. También puede usarse una genoteca comercialmente disponible según las instrucciones del protocolo del fabricante adjunto. Preferentemente, la hibridación puede llevarse a cabo en condiciones altamente rigurosas.

Las condiciones altamente rigurosas usadas en el presente documento son, por ejemplo, aquellas en una concentración de sodio a aproximadamente 19 a 40 mM, preferentemente aproximadamente 19 a 20 mM a una temperatura de aproximadamente 50 a 70 °C, preferentemente aproximadamente 60 a 65 °C. En particular, las condiciones de hibridación en una concentración de sodio de aproximadamente 19 mM a una temperatura de aproximadamente 65 °C son las más preferidas.

Más específicamente, como el ADN que codifica el receptor de metastina humana que consiste en la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 9, se usa el ADN que consiste en la secuencia de nucleótidos representada por SEQ ID NO: 10.

Como ADN que codifica el receptor de metastina de rata que consiste en la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 11, se usa el ADN que consiste en la secuencia de nucleótidos representada por SEQ ID NO: 12.

Como ADN que codifica el receptor de metastina de ratón que consiste en la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 13, se usa el ADN que consiste en la secuencia de nucleótidos representada por SEQ ID NO: 14.

Los receptores de metastina, sus péptidos parciales o sales de los mismos y los ADN que codifican los receptores de metastina o sus péptidos parciales pueden obtenerse o producirse por los métodos descritos en los documentos WO 00/24890 o WO 01/75104.

La presente invención se describirá en detalle con referencia a EJEMPLOS, EJEMPLOS DE FORMULACIÓN y EJEMPLOS DE PRUEBA.

En los siguientes EJEMPLOS, el término "temperatura ambiente" normalmente significa una temperatura de aproximadamente 10 °C a aproximadamente 35 °C. En porcentajes, el rendimiento se muestra por % en mol/mol y el disolvente usado en cromatografía por % en vol, y el resto por % en peso. En espectros de RMN de protones, no se muestran los datos sobre protones OH, NH, etc., que son anchos y sin identificar.

Las otras abreviaturas usadas en la memoria descriptiva significan lo siguiente.

Abreviatura	Descripción
10Ψ, CSNH	: CONH ₂ del extremo C en la posición 10 está sustituido con -CSNH ₂
1Ψ2, CH ₂ NH	: El enlace -CONH- entre las posiciones 1 y 2 está sustituido con el enlace -CH ₂ NH-.
2Ψ3, CH ₂ NH	: El enlace -CONH- entre las posiciones 2 y 3 está sustituido con el enlace -CH ₂ NH-.
3Ψ4, CH ₂ NH	: El enlace -CONH- entre las posiciones 3 y 4 está sustituido con el enlace -CH ₂ NH-.
4Ψ5, CH ₂ NH	: El enlace -CONH- entre las posiciones 4 y 5 está sustituido con el enlace -CH ₂ NH-.
6Ψ7, CSNH	: El enlace -CONH- entre las posiciones 6 y 7 está sustituido con el enlace -CSNH-.
6Ψ7, NHCO	: El enlace -CONH- entre las posiciones 6 y 7 está sustituido con el enlace -NHCO-.
6Ψ7, CH ₂ NH	: El enlace -CONH- entre las posiciones 6 y 7 está sustituido con el enlace -CH ₂ NH-.
6Ψ7, CH ₂ O	: El enlace -CONH- entre las posiciones 6 y 7 está sustituido con el enlace -CH ₂ O-.
7Ψ8, CH ₂ NH	: El enlace -CONH- entre las posiciones 7 y 8 está sustituido con el enlace -CH ₂ NH-.
8Ψ9, CH ₂ NH	: El enlace -CONH- entre las posiciones 8 y 9 está sustituido con el enlace -CH ₂ NH-.
9Ψ10, CH ₂ NH	: El enlace -CONH- entre las posiciones 9 y 10 está sustituido con el enlace -CH ₂ NH-.

Aad	: ácido 2-aminoadípico
Abu	: ácido 2-aminobutanoico
Abz(2)	: ácido 2-aminobenzoico
Abz(3)	: ácido 3-aminobenzoico
Ac	: acetilo
AcONB	: N-acetoxi-5-norborneno-2,3-dicarboxiimida
Acp	: ácido 6-aminocaproico
AcOEt	: acetato de etilo
AcOH	: ácido acético
Aib	: ácido α-aminoisobutanoico
Ala(2-Qui)	: 2-quinolilalanina
Ala(3-Bzt)	: 3-benzotienilalanina
Ala(cBu)	: ciclobutilalanina
Ala(cPr)	: ciclopropilalanina
Ala(Pip)	: (4-piperidin-1-il)alanina
Alb	: albizziina ácido 2-amino-3-ureidopropiónico
Ambz(4)	: 4-aminometilbenzoilo
Arg(Ac)	: N ^ω -acetilarginina
Arg(Boc ₂ ,Me)	: N ^{ω,ω'} -bis-terc-butoxicarbonil-N ^ω -metilarginina
Arg(Et)	: N ^ω -etilarginina
Arg(Me)	: N ^ω -metilarginina
Arg(asyMe ₂) o Arg(Me ₂)asym	: N ^{ω,ω} - dimetilarginina asimétrica

Arg(symMe ₂) o Arg(Me ₂)sym	: N ^{ω,ω'} -dimetilarginina simétrica
Arg(NO ₂)	: N ^ω -nitroarginina
Arg(Pbf)	: N ^ω -2,2,4,6,7-pentametildihidrobenzofuranosulfonilarginina
Arg(n-Pr)	: N ^ω -propilarginina
Arg(Tos)	: N ^ω -tosilarginina
Asp(NHMe)	: N ^ω -metilasparagina
Asp(NMe ₂)	: N ^{ω,ω'} -dimetilasparagina
Asp(NHPen)	: N ^ω -pentilasparagina
Asp(NHcPr)	: N ^ω -ciclopropilasparagina
Asp(NHBzl)	: N ^ω -bencilasparagina
AzaGly	: azaglicina
AzaPhe	: azafenilalanina
Aze(2)	: ácido azetidin-2-carboxílico
β-Ala	: β-alanina
Boc	: terc-butoxicarbonilo
Boc ₂ O	: dicarbonato de di-terc-butilo
Br-Z	: 2-bromobenciloxicarbonilo
Bu ^t	: terc-butilo
Bzl	: bencilo
CDI	: 1,1'-carbonildiimidazol
Cha	: ciclohexilalanina
CIP	: tetrafluoroborato de 2-cloro-1,3-dimetilimidazolio
Cit	: citrulina
resina Cit	: resina de 2-clorotritilo
Cl-Z	: 2-clorobenciloxicarbonilo
Dab	: ácido 2,4-diaminobutanoico
Dap	: ácido 2,3-diaminopropiónico
Dap(Ac)	: ácido N ^β -acetil-β-diaminopropiónico
Dap(For)	: ácido N ^β -formil-β-diaminopropiónico
Dap(Gly)	: ácido N ^β -glicil-β-diaminopropiónico
Dap(GnGly)	: ácido N ^β -(N-guanidinoglicil)-β-diaminopropiónico
DCM	: diclorometano
DEA	: dietilamina
DIEA	: N,N-diisopropiletilamina
DIPCDI	: 1,3-diisopropilcarbodiimida
DMAP	: 4-dimetilaminopiridina

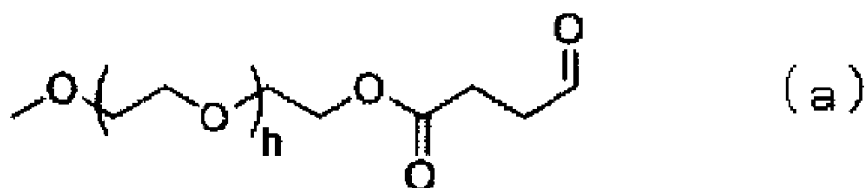
DMF	: N,N-dimetilformamida
EDC	: 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida
EDT	: 1,2-etanoditiol
Fmoc	: 9-fluorenilmetoxycarbonilo
For	: formilo
γ-Abu	: ácido 4-aminobutanoico
γ-MeLeu, Leu(Me)	: γ-metil-leucina
Glyψ[(E)CH=CH]Leu	: El enlace -CONH- entre Gly y Leu está sustituido con (E)-alqueno.
Glyψ(CH ₂ CH ₂)Leu	: El enlace -CONH- entre Gly y Leu está sustituido con el enlace -CH ₂ CH ₂ -.
Glyψ(CH ₂ S)Leu	: El enlace -CONH- entre Gly y Leu está sustituido con el enlace -CH ₂ S-.
Gn	: guanidino
GuAmb	: 4-guanidinometilbenzoílo
Har	: homoarginina
Har(Me)	: N ^ω -metilhomoarginina
His(3Me)	: 3-metilhistidina π-metilhistidina
HOAt	: 1-hidroxi-7-azabenzotriazol
HOBt	: 1-hidroxibenzotriazol
HOObt	: 3,4-dihidro-3-hidroxi-4-oxo-1,2,3-benzotriazina
HONB	: N-hidroxi-5-norborneno-2,3-dicarboxamida
Hph	: homofenilalanina
Hyp	: trans-4-hidroxiprolina
Hyp(Bzl)	: O-bencil-trans-4-hidroxiprolina
IndPr	: 3-(indol-3-il)propionilo
Izc	: ácido imidazolidin-2-carboxílico
Lys(Me ₂)	: N ^{ε,ε} -dimetilisina
MBHA	: p-metilbenzhidrilamina
MeOH	: metanol
Mtt	: 4-metiltritilo
N((CH ₂) ₃ Gn)Gly	: N-(3-guanidinopropil)glicina
Nal(1)	: 1-naftilalanina
Nal(2)	: 2-naftilalanina
Nar	: norarginina
Nar(Me)	: N ^ω -metilnorarginina
Nle	: norleucina
NMeAla	: N ^α -metilalanina
NMeArg	: N ^α -metilarginina

NMeAsn	: N ^α -metilasparagina
NMeLeu	: N ^α -metilleucina
NMePhe	: N ^α -metilfenilalanina
NMeSer	: N ^α -metilserina
NMeTrp	: N ^α -metiltriptófano
NMeTyr	: N ^α -metiltirosina
Nva	: Norvalina
OBu ^t	: terc-butoxi
Orn	: ornitina
Orn(Mtt)	: N ⁰ -(4-metiltritol)ornitina
PAL	: ácido 5-(4-(9-fluorenilmetoxycarbonil)aminometil-3,5-dimetoxifenoxi)valérico
Pbf	: 2,2,4,6,7-pentametildihidrobenzofuran-5-sulfonilo

PEG2K(CS)-CO: PEG2K(CS)-CO representa metoxipolietilenglicol que tiene 2 kDa, y se une a -CO(CH₂)₂- representado por (CS), para tener una estructura de la fórmula (a) a continuación.

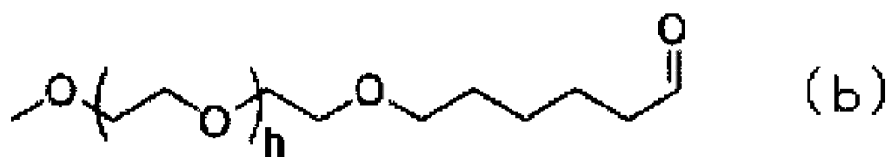
PEG5K(CS)-CO: PEG5K(CS)-CO representa metoxipolietilenglicol que tiene 5 kDa, y se une a -CO(CH₂)₂- representado por (CS), para tener una estructura de la fórmula (a) a continuación.

- 5 PEG20K(CS)-CO: PEG20K(CS)-CO representa metoxipolietilenglicol que tiene 20 kDa, y se une a -CO(CH₂)₂- representado por (CS), para tener una estructura de la fórmula (a) a continuación.



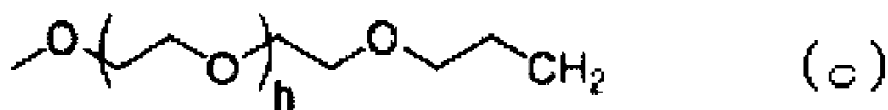
PEG20K(HS)-CO: PEG20K(HS)-CO representa metoxipolietilenglicol que tiene 20 kDa, y se une a -(CH₂)₅- representado por (HS), para tener una estructura de la fórmula (b) a continuación.

- 10 PEG40K(HS)-CO: PEG40K(HS)-CO representa metoxipolietilenglicol que tiene 40 kDa, y se une a -(CH₂)₅- representado por (HS), para tener una estructura de la fórmula (b) a continuación.



PEG30K(AL)-CH₂-: PEG30K(AL)-CH₂- representa metoxipolietilenglicol que tiene 30 kDa, y se une a -(CH₂)₂- representado por (AL), para tener una estructura de la fórmula (c) a continuación.

- 15 PEG40K(AL)-CH₂-: PEG40K(AL)-CH₂- representa metoxipolietilenglicol que tiene 40 kDa, y se une a -(CH₂)₂- representado por (AL), para tener una estructura de la fórmula (c) a continuación.



pGlu	: ácido piroglutámico
Phe(2Cl)	: 2-clorofenilalanina
Phe(2F)	: 2-fluorofenilalanina

Phe(3,4Cl ₂)	: 3,4-diclorofenilalanina
Phe(3,4F ₂)	: 3,4-difluorofenilalanina
Phe(3CF ₃)	: 3-trifluorometilfenilalanina
Phe(3Cl)	: 3-clorofenilalanina
Phe(3F)	: 3-fluorofenilalanina
Phe(4Cl)	: 4-clorofenilalanina
Phe(4CN)	: 4-cianofenilalanina
Phe(4F)	: 4-fluorofenilalanina
Phe(4 gn)	: 4-guanidinofenilalanina
Phe(4NH ₂)	: 4-aminofenilalanina
Phe(4NO ₂)	: 4-nitrofenilalanina
Phe(4CN)	: 4-cianofenilalanina
Phe(F ₅)	: pentafluorofenilalanina
Phe(2Me)	: 2-metilfenilalanina
Phe(3Me)	: 3-metilfenilalanina
Phe(4Me)	: 4-metilfenilalanina
Pheψ(CH ₂ CH ₂)AzaGly	: El enlace -CONH- entre Phe y AzaGly está sustituido con el enlace -CH ₂ CH ₂ -.
Pheψ[(E)CH=CH]Gly	: El enlace -CONH- entre Phe y Gly está sustituido con (E)-alqueno.
Pheψ(CH ₂ CH ₂)Gly	: El enlace -CONH- entre Phe y Gly está sustituido con el enlace -CH ₂ CH ₂ -.
Pheψ(CH ₂ S)Gly	: El enlace -CONH- entre Phe y Gly está sustituido con el enlace -CH ₂ S-.
Pheψ((R)CH(OH)- (E)CH=)Gly	: El enlace -CONH- entre Phe y Gly está sustituido con el enlace -CH(OH)-CH-, la posición -CH(OH)- está en configuración (R), y el enlace entre el átomo de carbono de la posición -CH- y el átomo de α-carbono de Gly es (E)-alqueno.
Pheψ((S)CH(OH)- (E)CH=)Gly	: El enlace -CONH- entre Phe y Gly está sustituido con el enlace -CH(OH)-CH-, la posición -CH(OH)- está en configuración (S), y el enlace entre el átomo de carbono de la posición -CH- y el átomo de α-carbono de Gly es (E)-alqueno.
Pheψ((R)CH(OH)- CH ₂)Gly	: El enlace -CONH- entre Phe y Gly está sustituido con el enlace -CH(OH)-CH ₂ -, y la posición -CH(OH)- está en configuración (R).
Pheψ((S)CH(OH)- CH ₂)Gly	: El enlace -CONH- entre Phe y Gly está sustituido con el enlace -CH(OH)-CH ₂ -, y la posición -CH(OH)- está en configuración (S).
Pheψ(CH ₂ O)Gly	: El enlace -CONH- entre Phe y Gly está sustituido con el enlace -CH ₂ O-.
Pheψ(COCH ₂)Gly	: El enlace -CONH- entre Phe y Gly está sustituido con el enlace -COCH ₂ -.
Pheψ(CSNH)-NH ₂	: La fenilalanilamida del extremo C está sustituida con fenilalaniltioamida
Phg	: fenilglicina
PhOH	: fenol
PhSMe	: tioanisol
Pic(3)	: ácido 3-piperidincarboxílico
Pip(2)	: ácido pipecolínico
Pip	: ácido pipecolínico

Pro	: prolina
Pro(4F)	: trans-4-fluoroprolina
Pro(4NH ₂)	: cis-4-aminoprolina
Pya(2)	: 2-piridilalanina
Pya(3)	: 3-piridilalanina
Pya(4)	: 4-piridilalanina
PyAOP	: hexafluorofosfato de (7-azabenzotriazol-1-iloxi)-tris(pirrolidino)fosfonio
PyBOP	: hexafluorofosfato de (benzotriazol-1-iloxi)-tris(pirrolidino)fosfonio
PyBrop	: hexafluorofosfato de bromo-tris(pirrolidino)fosfonio
Pzc(2)	: ácido piperazin-2-carboxílico
Sar	: N-metilglicina
Ser(Ac)	: O-acetilserina
Ser(Me)	: O-metilserina
Thi	: 2-tienilalanina
Thz	: tioprolina
Tic	: ácido 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-3-carboxílico
TIS	: triisopropilsilano
Tle	: terc-leucina
Tos	: tosilo
Trp(For)	: N ⁱⁿ -formiltriptófano
Trt	: tritilo
Tyr(Me)	: O-metiltirosina
Tyr(PO ₃ H ₂)	: O-fosfotirosina
Tyrψ(CH ₂ NH)Asn	: El enlace -CONH- entre Tyr y Asn está sustituido con el enlace -CH ₂ NH-.
TFA	: ácido trifluoroacético
TFE	: trifluoroetanol
Z	: benciloxycarbonilo

En la memoria descriptiva y los dibujos, donde los códigos de nucleótidos y aminoácidos se indican por abreviaturas, se basan en las abreviaturas según la IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclature o los códigos comunes en la materia, ejemplos de los cuales se muestran a continuación. Para aminoácidos que pueden tener el isómero óptico, se presenta la forma L, a menos que se indique lo contrario.

ADN	: ácido desoxirribonucleico
ADNc	: ácido desoxirribonucleico complementario
A	: adenina
T	: timina
G	: guanina
C	: citosina

Y	: timina o citosina
N	: timina, citosina, adenina o guanina
R	: adenina o guanina
M	: citosina o adenina
W	: timina o adenina
S	: citosina o guanina
ARN	: ácido ribonucleico
ARNm	: ácido ribonucleico mensajero
dATP	: trifosfato de desoxiadenosina
dTTP	: trifosfato de desoxitimidina
dGTP	: trifosfato de desoxiguanosina
dCTP	: trifosfato de desoxicitidina
ATP	: trifosfato de adenosina
EDTA	: ácido etilendiaminatetraacético
SDS	: dodecilsulfato de sodio
TFA	: ácido trifluoroacético
EIA	: inmunoensayo enzimático

Gly o G	: glicina
Ala o A	: alanina
Val o V	: valina
Leu o L	: leucina
Ile o I	: isoleucina
Ser o S	: serina
Thr o T	: treonina
Cys o C	: cisteína
Met o M	: metionina
Glu o E	: ácido glutámico
Asp o D	: ácido aspártico
Lys o K	: lisina
Arg o R	: arginina
His o H	: histidina
Phe o F	: fenilalanina
Tyr o Y	: tirosina
Trp o W	: triptófano
Pro o P	: prolina

Asn o N : asparagina
Gln o Q : glutamina
pGlu : ácido piroglutámico

Los números de identificación de secuencias en el listado de secuencias de la memoria descriptiva indican las siguientes secuencias, respectivamente.

[SEQ ID NO: 1]

- 5 Esta muestra la secuencia de aminoácidos de metastina derivada de humano (metastina).

[SEQ ID NO: 2]

Esta muestra la secuencia de nucleótidos de ADN que codifica metastina humana.

[SEQ ID NO: 3]

Esta muestra la secuencia de aminoácidos de precursor de metastina de ratón (A).

- 10 [SEQ ID NO: 4]

Esta muestra la secuencia de nucleótidos de ADN que codifica el precursor de metastina de ratón (A), que es la secuencia de nucleótidos contenida en el plásmido pCMV-mKiSS-1 alojado en DH10B/pCMV-mKiSS-1 de *Escherichia coli* transformante.

[SEQ ID NO: 5]

- 15 Esta muestra la secuencia de aminoácidos de precursor de metastina de ratón (B).

[SEQ ID NO: 6]

Esta muestra la secuencia de nucleótidos de ADN que codifica el precursor de metastina de ratón (B), que es la secuencia de nucleótidos contenida en el plásmido pCR2.1-mKiSS-1.4A alojado en DH5α/pCR2.1-mKiSS-1.4A de *Escherichia coli* transformante.

- 20 [SEQ ID NO: 7]

Esta muestra la secuencia de aminoácidos de precursor de metastina derivada de rata.

[SEQ ID NO: 8]

Esta muestra la secuencia de nucleótidos de ADN que codifica precursor de metastina de rata.

[SEQ ID NO: 9]

- 25 Esta muestra la secuencia de aminoácidos de OT7T175 humano (receptor de metastina).

[SEQ ID NO: 10]

Esta muestra la secuencia de nucleótidos de ADN que codifica OT7T175 humano (receptor de metastina).

[SEQ ID NO: 11]

Esta muestra la secuencia de aminoácidos de OT7T175 de rata (receptor de metastina).

- 30 [SEQ ID NO: 12]

Esta muestra la secuencia de nucleótidos de ADN que codifica OT7T175 de rata (receptor de metastina).

[SEQ ID NO: 13]

Esta muestra la secuencia de aminoácidos de OT7T175 de ratón (receptor de metastina).

[SEQ ID NO: 14]

- 35 Esta muestra la secuencia de nucleótidos de ADN que codifica OT7T175 de ratón (receptor de metastina).

[SEQ ID NO: 15]

Esta muestra la secuencia de aminoácidos de metastina humana 15 (40-54).

[SEQ ID NO: 16]

Esta muestra la secuencia de aminoácidos de metastina humana 10 (45-54) (MS10).

[SEQ ID NO: 17]

5 Esta muestra la secuencia de aminoácidos de metastina humana 9 (46-54).

[SEQ ID NO: 18]

Esta muestra la secuencia de aminoácidos de metastina humana 8 (47-54).

[SEQ ID NO: 19]

Esta muestra la secuencia de nucleótidos de ADN que codifica metastina humana 15 (40-54).

10 [SEQ ID NO: 20]

Esta muestra la secuencia de nucleótidos de ADN que codifica metastina humana 10 (45-54).

[SEQ ID NO: 21]

Esta muestra la secuencia de nucleótidos de ADN que codifica metastina humana 9 (46-54).

[SEQ ID NO: 22]

15 Esta muestra la secuencia de nucleótidos de ADN que codifica metastina humana 8 (47-54).

DH10B/pCMV-mKiSS-1 de *Escherichia coli* transformante ha estado en depósito desde el 24 de enero de 2000 en el Depósito Internacional de Organismos de Patente, National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (el antiguo Ministry of International Trade and Industry, Agency of Industrial Science and Technology, National Institute of Bioscience and Human Technology (NIBH)), ubicado en Central 6, 1-1-1 Higashi, Tsukuba, Ibaraki (código postal 305-8566), Japón, con el número de acceso FERM BP-7003 y desde el 16 de diciembre de 1999 en el Institute for Fermentation (IFO), ubicado en 2-17-85, Juso-Honmachi, Yodogawa-ku, Osaka-shi, Osaka, Japón, con el número de acceso IFO 16348.

20 DHS5a/pCR2.1-mKiSS-1.4A de *Escherichia coli* transformante ha estado en depósito desde el 6 de marzo de 2000 en el Depósito Internacional de Organismos de Patente, National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (el antiguo Ministry of International Trade and Industry, Agency of Industrial Science and Technology, National Institute of Bioscience and Human Technology (NIBH)), ubicado en Central 6, 1-1-1 Higashi, Tsukuba, Ibaraki (código postal 305-8566), Japón, con el número de acceso FERM BP-7073 y desde el 16 de febrero de 2000 en el Institute for Fermentation (IFO), ubicado en 2-17-85, Juso-Honmachi, Yodogawa-ku, Osaka-shi, Osaka, Japón, con el número de acceso IFO 16360.

30 [Ejemplo de referencia 1] H-Tyr(Bu^t)-Asn(Trt)-Trp(Boc)-Asn(Trt)-Ser(Bu^t)-Phe-Gly-Leu-Arg(Pbf)-Phe-resina de amida Rink-PEG

A 242 mg (0,15 mmoles) de resina de amida Rink NovaPEG como material de partida se introdujeron secuencialmente Phe, Arg(Pbf), Leu, Gly, Phe, Ser(Bu^t), Asn(Trt), Trp(Boc), Asn(Trt) y Tyr(Bu^t) según ABI 433A (protocolo de Fmoc/DCC/HOBt 0,25 mmoles), y entonces la mezcla se secó a presión reducida dando la H-Tyr(Bu^t)-Asn(Trt)-Trp(Boc)-Asn(Trt)-Ser(Bu^t)-Phe-Gly-Leu-Arg(Pbf)-Phe-resina de amida Rink-PEG prevista (482 mg, carga Calcd.: 0,276 mmol/g).

EJEMPLO 1

Síntesis a

PEGSK(CS)-CO-Acp-Tyr-Asn-Trp-Asn-Ser-Phe-Gly-Leu-Arg-Phe-NH₂ (compuesto 1)

40 Se hinchó H-Tyr(Bu^t)-Asn(Trt)-Trp(Boc)-Asn(Trt)-Ser(Bu^t)-Phe-Gly-Leu-Arg(Pbf)-Phe-resina de amida Rink-PEG (0,276 mmol/g, 36,2 mg, 0,01 mmoles) obtenida en el Ejemplo de referencia 1 en DMF, y entonces lo resultante se añadió a Fmoc-Acp-OH (14,1 mg, 0,04 mmoles), HOAt en DMF (0,5 M, 80 µl, 0,04 mmoles) y DIPCDI (6,36 µl, 0,04 mmoles) junto con DMF, y se trató a temperatura ambiente durante 4 horas. La resina se lavó con DMF, y se repitió el mismo procedimiento durante 12 horas. La resina se lavó con DMF, y entonces se añadió Ac₂O (3,65 µl, 0,04 mmoles) y DIEA (6,97 µl, 0,04 mmoles) junto con DMF, y se trató durante 30 minutos. La resina se lavó con DMF, y entonces se trató con disolución al 20 % de piperidina/DMF durante 20 minutos. La resina se lavó con DMF, y entonces se trató con ME-050CS (NOF CORPORATION, peso molecular promedio: 5325, 107 mg, 0,02 mmoles) y trietilamina (2,78 µl, 0,02 mmoles) en DMF:H₂O (10:1) durante 2 días. La resina se lavó con DMF y MeOH, y

entonces se secó a presión reducida. A la resina obtenida secada (69,0 mg) se añadieron 1,5 ml de TFA/PhSMe/m-cresol/H₂O/TIS/EDT (80/5/5/5/2,5/2,5) y se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas. Se añadió éter dietílico a la disolución de reacción y el precipitado resultante se separó por centrifugación, y entonces el sobrenadante se eliminó. Este procedimiento se repitió dos veces seguido de lavado. El residuo se extrajo con una disolución acuosa al 50 % de ácido acético, y la resina se eliminó por filtración. Entonces, se realizó elución en gradiente de concentración lineal (60 minutos) a un caudal de 8 ml/min usando el eluyente A: 0,1 % de TFA-agua y el eluyente B: acetonitrilo que contiene 0,1 % de TFA con A/B: 60,0/40,0 a 45,0/55,0, en HPLC preparativa usando Daisopak-SP100-5-ODS-P (2 x 25 cm). Se recogieron las fracciones que contenían el producto y se liofilizaron dando 9,4 mg de polvos blancos.

10 Espectro de masas: (M+H)⁺ 6021-7680 (peso molecular calculado, calculado a partir del peso molecular promedio de PEG: aproximadamente 6626)

Tiempo de elución en HPLC: 15,8 min

Condiciones de elución:

Columna: SHISEIDO CAPCELL PAK C18 MGII (4,6 x 100 mm)

15 Elución en gradiente de concentración lineal usando el eluyente A: 0,1 % de TFA-agua y el eluyente B: acetonitrilo que contiene 0,1 % de TFA, con A/B = 80/20 a 30/70 (25 min)

Caudal: 1,0 ml/min.

EJEMPLO 2

Síntesis b

20 PEG2K(CS)-CO-Acp-Tyr-Asn-Trp-Asn-Ser-Phe-Gly-Leu-Arg-Phe-NH₂ (compuesto 2)

Se hinchó H-Tyr(Bu^t)-Asn(Trt)-Trp(Boc)-Asn(Trt)-Ser(Bu^t)-Phe-Gly-Leu-Arg(Pbf)-Phe-resina de amida Rink-PEG (0,276 mmol/g, 36,2 mg, 0,01 mmoles) en DMF, y entonces a lo resultante se añadió Fmoc-Acp-OH (14,1 mg, 0,04 mmoles), HOAt en DMF (0,5 M, 80 µl, 0,04 mmoles) y DIPCDI (6,36 µl, 0,04 mmoles) junto con DMF, y se trató a temperatura ambiente durante 4 horas. La resina se lavó con DMF, y se repitió el mismo procedimiento durante 12 horas. La resina se lavó con DMF, y entonces se añadió Ac₂O (3,65 µl, 0,04 mmoles) y DIEA (6,97 µl, 0,04 mmoles) junto con DMF, y se trató durante 30 minutos. La resina se lavó con DMF, y entonces se trató con disolución al 20 % de piperidina/DMF durante 20 minutos. La resina se lavó con DMF, y entonces se trató con ME-020CS (NOF CORPORATION, peso molecular promedio: 2322, 46,4 mg, 0,02 mmoles) y trietilamina (2,78 µl, 0,02 mmoles) en DMF:H₂O (10:1) durante 2 días. La resina se lavó con DMF y MeOH, y entonces se secó a presión reducida. A la resina obtenida secada (40,3 mg) se añadieron 1,5 ml de TFA/PhSMe/m-cresol/H₂O/TIS/EDT (80/5/5/5/2,5/2,5), y se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas. Se añadió éter dietílico a la disolución de reacción y el precipitado resultante se separó por centrifugación, y entonces el sobrenadante se eliminó. Este procedimiento se repitió dos veces seguido de lavado. El residuo se extrajo con una disolución acuosa al 50 % de ácido acético, y la resina se eliminó por filtración. Entonces, se realizó elución en gradiente de concentración lineal (60 minutos) a un caudal de 8 ml/min usando el eluyente A: 0,1 % de TFA-agua y el eluyente B: acetonitrilo que contiene 0,1 % de TFA con A/B: 62,0/38,0 a 47,0/53,0 en HPLC preparativa usando Daisopak-SP100-5-ODS-P (2 x 25 cm). Se recogieron las fracciones que contenían el producto y se liofilizaron dando 1,5 mg de polvos blancos.

Espectro de masas: (M+H)⁺ 3292-4105 (peso molecular calculado, calculado a partir del peso molecular promedio de PEG: aproximadamente 3623)

40 Tiempo de elución en HPLC: 14,9 min

Condiciones de elución:

Columna: SHISEIDO CAPCELL PAK C18 MGII (4,6 x 100 mm)

Elución en gradiente de concentración lineal usando el eluyente A: 0,1 % de TFA-agua y el eluyente B: acetonitrilo que contiene 0,1 % de TFA, con A/B = 80/20 a 30/70 (25 min)

45 Caudal: 1,0 ml/min

[Ejemplo de referencia 2]

Síntesis c

Acp-Tyr-Asn-Trp-Asn-Ser-Phe-Gly-Leu-Arg-Phe-NH₂ (compuesto A)

50 Se hinchó H-Tyr(Bu^t)-Asn(Trt)-Trp(Boc)-Asn(Trt)-Ser(Bu^t)-Gly-Leu-Arg(Pbf)-Phe-resina de amida Rink-PEG (0,276 mmol/g, 283 mg, 0,0781 mmoles) obtenida en el Ejemplo de referencia 1 en DMF, y entonces a lo resultante se

añadió Fmoc-Acp-OH (168 mg, 0,469 mmoles), HOAt en DMF (0,5 M, 938 µl, 0,469 mmoles) y DIPCDI (74,6 µl, 0,469 mmoles), y se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La resina se lavó con DMF, y entonces se trató con disolución al 20 % de piperidina/DMF durante 20 minutos para eliminar el grupo Fmoc, y entonces se lavó con DMF y MeOH secuencialmente y se secó a presión reducida. La cantidad completa de la resina secada obtenida se suspendió en 5 ml de TFA/tioanisol/m-cresol/H₂O/EDT/TIS (80:5:5:5:2,5:2,5), y se agitó durante 240 min. La disolución de reacción se añadió gota a gota a éter dietílico mientras que la resina se eliminaba por filtración para inducir la precipitación, y el precipitado resultante se separó por centrifugación, y el sobrenadante se eliminó. Este procedimiento se repitió dos veces seguido de lavado. El residuo se extrajo con una disolución acuosa de ácido acético, y se purificó por separado dos veces en HPLC preparativa usando la columna YMC Pack R&D-ODS-5-B S-5, 120A (30 x 250 mm). Se realizó elución en gradiente de concentración lineal (60 minutos) con condiciones de elución del eluyente A: 0,1 % de TFA-agua y el eluyente B: acetonitrilo que contiene 0,1 % de TFA con A/B: 72/28 a 62/38 a un caudal de 15 ml/min. Se recogieron las fracciones que contenían el producto y se liofilizaron dando 25,9 mg de la sal de TFA producto como polvos blancos.

Espectro de masas: (M+H)⁺ 1416,1 (Calcd. 1415,7)

Tiempo de elución en HPLC: 11,5 min

Condiciones de elución:

Columna: SHISEIDO CAPCELL PAK C18 MGII (4,6 x 100 mm)

Elución en gradiente de concentración lineal usando el eluyente A: 0,1 % de TFA-agua y el eluyente B: acetonitrilo que contiene 0,1 % de TFA, con A/B = 80/20 a 30/70 (25 min)

Caudal: 1,0 ml/min

EJEMPLO 3

Síntesis d

PEG20K(CS)-CO-Acp-Tyr-Asn-Trp-Asn-Ser-Phe-Gly-Leu-Arg-Phe-NH₂ (compuesto 3)

Se disolvieron la sal de TFA de H-Acp-Tyr-Asn-Trp-Asn-Ser-Phe-Gly-Leu-Arg-Phe-NH₂ obtenida en el Ejemplo de referencia 2 (5 mg) y ME-200CS (NOF CORPORATION, peso molecular promedio: 20687, 65,7 mg, 0,00318 mmoles) en DMF/H₂O (0,5/0,2 ml), y la disolución obtenida se añadió a Et₃N (1,47 µl, 0,0106 mmoles) y se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La disolución de reacción se añadió a éter dietílico y el precipitado formado se separó por centrifugación, y entonces el sobrenadante se eliminó seguido de lavado.

El residuo se extrajo con agua. La disolución se pretrató con un filtro de membrana, y entonces se realizó elución en gradiente de concentración lineal (60 minutos) usando el eluyente A: 0,1 % de TFA-agua y el eluyente B: acetonitrilo que contiene 0,1 % de TFA con A/B: 50/50 a 40/60 en HPLC preparativa usando la columna YMC Pack R&D-ODS-5-B S-5, 120A (30 x 250 mm) a un caudal de 15 ml/min. Se recogieron las fracciones que contenían el producto y se liofilizaron dando 29,6 mg de la sal de TFA producto como polvos blancos.

Espectro de masas: (M+H)⁺ 19700 a 25600 (Calcd. 21988)

Tiempo de elución en HPLC: 16,6 min

Condiciones de elución:

Columna: SHISEIDO CAPCELL PAK C18 MGII (4,6 x 100 mm)

Elución en gradiente de concentración lineal usando el eluyente A: 0,1 % de TFA-agua y el eluyente B: acetonitrilo que contiene 0,1 % de TFA, con A/B = 80/20 a 30/70 (25 min)

Caudal: 1,0 ml/min

Los compuestos 5 y 6 se sintetizaron por la Síntesis d del mismo modo.

EJEMPLO 4

Síntesis e

PEG40K(AL)-CH₂-Acp-Tyr-Asn-Trp-Asn-Ser-Phe-Gly-Leu-Arg-Phe-NH₂ (compuesto 4)

- 5 Se disolvieron H-Acp-Tyr-Asn-Trp-Asn-Ser-Phe-Gly-Leu-Arg-Phe-NH₂ (3,6 mg) obtenida en el Ejemplo de referencia 2 y ME-400 AL2 (NOF CORPORATION, peso molecular promedio: 41384, 78,8 mg, 0,00191 mmoles) en DMF (3 ml). A la disolución de reacción se añadió AcOH (30 µl) y NaBH(OAc)₃ (10 mg) secuencialmente, y entonces se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. La disolución de reacción se añadió a éter dietílico y el precipitado formado se separó por centrifugación. Entonces, el sobrenadante se eliminó seguido de lavado. El residuo se extrajo con agua. La disolución se pretrató con un filtro de membrana, y entonces se realizó elución en gradiente de
- 10 concentración lineal (60 minutos) usando el eluyente A: 0,1 % de TFA-agua y el eluyente B: acetonitrilo que contiene 0,1 % de TFA con A/B: 60/40 a 30/70 en HPLC preparativa usando la columna YMC Pack R&D-ODS-5-B S-5, 120A (30 x 250 mm) a un caudal de 15 ml/min. Se recogieron las fracciones que contenían el producto y se liofilizaron dando 57,6 mg de la sal de TFA producto como polvos blancos.

- 15 Espectro de masas: (M+H)⁺ 41000 a 47000 (peso molecular calculado, calculado a partir del peso molecular promedio de PEG: aproximadamente 42784)

Tiempo de elución en HPLC: 16,5 min

Condiciones de elución:

Columna: SHISEIDO CAPCELL PAK C18 MGII (4,6 x 100 mm)

- 20 Elución en gradiente de concentración lineal usando el eluyente A: 0,1 % de TFA-agua y el eluyente B: acetonitrilo que contiene 0,1 % de TFA, con A/B = 80/20 a 30/70 (25 min)

Caudal: 1,0 ml/min

El compuesto 7 se sintetizó por la Síntesis e del mismo modo.

[Ejemplo de referencia 3]

Síntesis de Fmoc-Arg(Me,Boc₂)-Trp(Boc)-resina de amida Rink-MBHA

- 25 Se hinchó resina de amida Rink-MBHA (0,45 mmol/g, 2,22 g, 1,00 mmol) en DMF, y entonces se introdujeron secuencialmente Trp(Boc) y Orn(Mtt) según Fmoc-SPPS usando Fmoc-AA-OH/DIPCDI/HOObt (4 eq.) (75 min) en condensación y 20 % de piperidina/DMF eliminando el grupo Fmoc (1+20 min), dando Fmoc-Orn(Mtt)-Trp(Boc)-resina de amida de Rink-MBHA. La Fmoc-Orn(Mtt)-Trp(Boc)-resina de amida de Rink-MBHA se lavó con MeOH, y entonces se hinchó en tolueno. El tolueno se filtró, y entonces se repitió un procedimiento para tratar la resina con
- 30 TFA/TIS/tolueno (1:5:94) hasta que la reacción de color (amarillo) no fue reconocida para la disolución de reacción (30 min x 4 + 3 h). La resina se lavó con tolueno, y entonces se neutralizó con disolución al 5 % de DIEA-tolueno. La resina obtenida se añadió con N-metil-N,N'-bis-Boc-1-guanilpirazol (0,973 g, 3 mmoles) en tolueno/TFE (4:1), y se ajustó a pH 10 o así con DIEA, y se trató a temperatura ambiente durante la noche. La resina se lavó con tolueno, y entonces se confirmó que una prueba de Kaiser era negativa. La resina se lavó además con DMF y MeOH
- 35 secuencialmente, y entonces se secó en un desecador dando Fmoc-Arg(Me,Boc₂)-Trp(Boc)-resina de amida de Rink-MBHA.

Rendimiento: 2,682 g (tasa de sustitución: 0,269 mmol/g)

[Ejemplo de referencia 4]

Medición de la tasa de sustitución de resina por determinación cuantitativa del grupo Fmoc

- 40 Se pesaron 1,374 mg de Fmoc-Arg(Me,Boc₂)-Trp(Boc)-resina de amida de Rink-MBHA y se pusieron en un matraz aforado de 20 ml. Se añadieron 4 ml de piperidina al mismo, y entonces la masa aumentó con 20 ml de DMF. Se dio la vuelta al matraz aforado y se mezcló, y entonces se dejó reposar durante 30 minutos. Estos procedimientos se realizaron para un matraz aforado sin adición de la resina, que se tomó como una disolución de blanco. Se midió la absorbancia a 301 nm para cada una de las disoluciones. Como resultado, Abs_{muestra} fue 0,324 y Abs_{blanco} fue 0,180.
- 45 Con el uso de estos valores, la tasa de sustitución se calculó por la siguiente ecuación.

$$\text{Tasa de sustitución (mmol/g)} = (\text{Abs}_{\text{muestra}} - \text{Abs}_{\text{blanco}}) \times 20 \text{ (ml)} / 7800 \times \text{cantidad de resina (g)}$$

[Ejemplo de referencia 5]

Síntesis de Fmoc-AzaGly-Leu-Arg(Me,Boc₂)-Trp(Boc)-resina de amida de Rink-MBHA

Se hinchó Fmoc-Arg(Me,Boc₂)-Trp(Boc)-resina de amida de Rink-MBHA (0,269 mmol/g, 2,37 g, 0,636 mmoles) en DMF, y entonces se trató con 20 % de piperidina/DMF durante 20 minutos para eliminar el grupo Fmoc. La resina se lavó con DMF, y entonces se trató con Fmoc-Leu-OH (899 mg, 2,54 mmoles), HOObt (415 mg, 2,54 mmoles) y DIPCDI (404 µl, 2,54 mmoles) en DMF durante 75 minutos. La resina se lavó con DMF, y entonces se trató con 20 % de piperidina/DMF durante 20 minutos para eliminar el grupo Fmoc, y entonces se lavó con DMF, dando H-Leu-Arg(Me,Boc₂)-Trp(Boc)-resina de amida de Rink-MBHA. Por otra parte, se añadió una disolución de Fmoc-NHNH₂ (739 mg, 2,54 mmoles) en DMF (10 ml) a una disolución de CDI (392 mg, 2,54 mmoles) en THF (10 ml), y se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. La H-Leu-Arg(Me,Boc₂)-Trp(Boc)-resina de amida de Rink-MBHA (hinchada en DMF: 0,636 mmoles) se añadió a la disolución anteriormente mencionada, y se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La resina se lavó con DMF, y se confirmó que una prueba de Kaiser era positiva. Por tanto, la resina se trató para terminación con anhídrido decanoico (234 µl, 0,636 mmoles) y DIEA (111 µl, 0,636 mmoles) en DMF a temperatura ambiente durante 30 minutos, y entonces se confirmó que una prueba de Kaiser era negativa. La Fmoc-AzaGly-Leu-Arg(Me,Boc₂)-Trp(Boc)-resina de amida de Rink-MBHA obtenida se lavó con MeOH y entonces se secó a presión reducida (rendimiento: 2,66 g, 0,636 mmoles).

[Ejemplo de referencia 6]

Síntesis f

H-Acp-D-Tyr-D-Trp-Asn-Thr-Phe-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂

(compuesto B)

Se hinchó Fmoc-AzaGly-Leu-Arg(Me,Boc₂)-Trp(Boc)-resina de amida de Rink-MBHA (0,378 mmol/g, 159 mg, 0,06 mmoles) en DMF, y entonces se condensaron secuencialmente Phe, Thr(Bu^t), Asn(Trt), D-Trp(Boc), D-Tyr(Bu^t) y Acp según Fmoc-SPPS manual usando Fmoc-AA-OH/DIPCDI/HOAt (4 eq.) (75 min) en condensación y 20 % de piperidina/DMF eliminando el grupo Fmoc (1+20 minutos) dando H-Acp-D-Tyr(Bu^t)-D-Trp-Asn-Thr-Phe-AzaGly-Leu-Arg(Me,Boc₂)-Trp(Boc)-resina de amida de Rink-MBHA. La resina se lavó secuencialmente con DMF y MeOH, y entonces se secó a presión reducida. Se suspendieron 207 mg de la resina secada obtenida en 2 ml de TFA/tioanisol/m-cresol/H₂O/EDT/TIS (80:5:5:5:2,5:2,5) y se agitó durante 180 minutos. Se añadió éter dietílico a la disolución de reacción y el precipitado formado se separó por centrifugación, y entonces el sobrenadante se eliminó. Este procedimiento se repitió dos veces seguido de lavado. El residuo se extrajo con una disolución acuosa de ácido acético, y la resina se eliminó por filtración, y entonces se purificó por separado dos veces en HPLC preparativa usando la columna YMC Pack R&D-ODS-5-B S-5, 120A (30 x 250 mm). Se realizó elución en gradiente de concentración lineal (60 minutos) con condiciones de elución del eluyente A: 0,1 % de TFA-agua y el eluyente B: acetonitrilo que contiene 0,1 % de TFA a un caudal de 15 ml/min con A/B: 71,5/28,5 a 61,5/38,5 o 70/30 a 60/40. Se recogieron las fracciones que contenían el producto y se liofilizaron dando 7,1 mg de la sal de TFA producto como polvos blancos.

Espectro de masas: (M+H)⁺ 1370,1 (Calcd. 1369,7)

Tiempo de elución en HPLC: 10,8 min

Condiciones de elución:

Columna: SHISEIDO CAPCELL PAK C18 MGII (4,6 x 100 mm)

Elución en gradiente de concentración lineal usando el eluyente A: 0,1 % de TFA-agua y el eluyente B: acetonitrilo que contiene 0,1 % de TFA, con A/B = 80/20 a 30/70 (25 min)

Caudal: 1,0 ml/min

EJEMPLO 5

Síntesis g

45 PEG20K(CS)-CO-Acp-D-Tyr-D-Trp-Asn-Thr-Phe-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (compuesto 8)

Se disolvieron la sal de TFA de H-Acp-D-Tyr-D-Trp-Asn-Thr-Phe-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (3 mg) obtenida en el Ejemplo de referencia 6 y ME-200CS (NOF CORPORATION, peso molecular promedio: 19865, 34,8 mg, 0,00175 mmoles) en DMF (1,5 ml), y a la disolución de reacción se añadió Et₃N (1,52 µl, 0,011 mmoles), y se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La disolución de reacción se añadió a éter dietílico y el precipitado formado se separó por centrifugación, y entonces el sobrenadante se eliminó seguido de lavado.

El residuo se extrajo con agua. La disolución se pretrató con un filtro de membrana, y entonces se realizó elución en gradiente de concentración lineal (60 minutos) usando el eluyente A: 0,1 % de TFA-agua y el eluyente B: acetonitrilo que contiene 0,1 % de TFA con A/B: 60/40 a 30/70 en HPLC preparativa usando la columna YMC Pack R&D-ODS-5-B S-5, 120A (30 x 250 mm) a un caudal de 15 ml/min. Se recogieron las fracciones que contenían el producto y se liofilizaron dando 18,8 mg de la sal de TFA producto como polvos blancos.

Espectro de masas: $(M+H)^+$ 20000 a 29000 (peso molecular calculado, calculado a partir del peso molecular promedio de PEG: aproximadamente 21119)

Tiempo de elución en HPLC: 16,9 min

Condiciones de elución:

10 Columna: SHISEIDO CAPCELL PAK C18 MGII (4,6 x 100 mm)

Elución en gradiente de concentración lineal usando el eluyente A: 0,1 % de TFA-agua y el eluyente B: acetonitrilo que contiene 0,1 % de TFA, con A/B = 80/20 a 30/70 (25 min).

Caudal: 1,0 ml/min

Los compuestos 9 a 11 se sintetizaron por la Síntesis g del mismo modo.

15 Las estructuras y los valores de propiedades físicas de los compuestos 5 a 7 y 9 a 11 se muestran en la Tabla 1. En la Tabla 1, (obs.) indica un valor real, (cal.) indica un peso molecular calculado, y (min) indica minutos.

[Tabla 1]

Compuesto N.º	Estructura	M+H ⁺ (obs.)	M+H ⁺ (cal.)	HPLC (min)
5	PEG20K(HS)-CO-Acp-Tyr-Asn-Trp-Asn-Ser-Phe-Gly-Leu-Arg-Phe-NH ₂	20000-25000	22676	16,3
6	PEG40K(HS)-CO-Acp-Tyr-Asn-Trp-Asn-Ser-Phe-Gly-Leu-Arg-Phe-NH ₂	42000-48000	44132	16,5
7	PEG30K(AL)-CH ₂ -Acp-Tyr-Asn-Trp-Asn-Ser-Phe-Gly-Leu-Arg-Phe-NH ₂	31000-36000	32775	17,0
9	PEG20K(CS)-CO-Acp-D-Tyr-Hyp-Asn-Thr-Phe-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH ₂	20000-29000	21046	16,3
10	PEG20K(CS)-CO-Acp-D-Tyr-Glu-Asn-Thr-Phe(3F)-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH ₂	19000-29000	21080	16,5
11	PEG20K(CS)-CO-Acp-D-Tyr-Hyp-Asn-Thr-Phe(4F)-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH ₂	19000-28000	21064	16,3

Ejemplo de prueba 1 Acciones de liberación de LH y testosterona en la rata macho

20 Para ratas Crl:CD macho (SD) (8 o 10 semanas de edad), se administraron los compuestos 1 (10 semanas de edad), 3, 8, 9, 10 y 11 (8 semanas de edad) (1, 10 o 100 nmol/kg) y metastina (45-54) (PEPTIDE INSTITUTE, INC., 10 o 100 nmol/kg), que se disolvieron en solución salina fisiológica, por vía subcutánea al dorso. Para el grupo de control, se administró una solución salina fisiológica por vía subcutánea al dorso. Se recogieron aproximadamente 0,4 ml de la sangre de la vena de la cola antes de la administración (0 horas) y después de 0,5, 1, 2, 4 horas de la administración de los compuestos 1, 3, 8, 9, 10 y 11, y metastina (45-54), o solución salina fisiológica. La sangre recogida se mezcló bien con 12 µl de 10 % en peso/volumen de disolución de trasilol que contenía EDTA·2Na (Bayer AG), y entonces se separó por centrifugación a 12.000 rpm durante 10 minutos, y el sobrenadante se recuperó como la muestra de plasma. Se midieron las concentraciones de hormona luteinizante (LH) y testosterona total en el plasma con radioinmunoensayo (conjunto de inmunorreactivo de RIA de LH de rata, National Hormone and Peptide Program, disponible de Dr. A. F. Parlow, The National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, y kit de testosterona total para DPC, Mitsubishi Chemical Formula Iatron, Inc.).

35 El cambio de la concentración de LH en el plasma de rata se muestra en la Fig. 1, y el cambio de la concentración de testosterona total en el plasma se muestra en la Fig. 2. Cuando se compararon las áreas bajo la curva (ABC) de 0 horas a 4 horas después de la administración, el compuesto 1 mostró un aumento significativo en la concentración de LH y la concentración de testosterona total también a 10 nmol/kg o más. Por otra parte, la metastina (45-54) mostró un aumento significativo solo a 100 nmol/kg. Además, en comparación con la metastina (45-54), el

compuesto 1 tuvo mayor grado de aumento en las concentraciones de LH y testosterona total en el plasma. Del mismo modo, el compuesto 3 mostró un aumento significativo en la concentración de LH y la concentración de testosterona total también a 10 nmol/kg o más, y los compuestos 8, 9, 10 y 11 mostraron un aumento a 1 nmol/kg o más.

5 APLICABILIDAD INDUSTRIAL

La presente invención proporciona derivados de metastina estables modificados con un polietilenglicol que tienen excelentes actividades biológicas (una actividad supresora de la metástasis del cáncer, una actividad supresora del crecimiento del cáncer, una actividad promotora de la secreción de hormona gonadotrópica, una actividad promotora de la secreción de hormona sexual, una actividad supresora de la secreción de hormona gonadotrópica, una actividad supresora de la secreción de hormona sexual, etc.).

[LISTADO DE SECUENCIAS]

<110> Takeda Pharmaceutical Company Limited

<120> Derivados de metastina y su uso

<130> PCT09-0031

<150> JP 2008-196598

< 151> 30-07-2008

<160> 22

<210> 1

<211> 54

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

Gly	Thr	Ser	Leu	Ser	Pro	Pro	Pro	Glu	Ser	Ser	Gly	Ser	Arg	Gln	Gln
1				5					10					15	
Pro	Gly	Leu	Ser	Ala	Pro	His	Ser	Arg	Gln	Ile	Pro	Ala	Pro	Gln	Gly
		20						25					30		
Ala	Val	Leu	Val	Gln	Arg	Glu	Lys	Asp	Leu	Pro	Asn	Tyr	Asn	Trp	Asn
		35					40					45			
Ser	Phe	Gly	Leu	Arg	Phe										
		50													

<210> 2

<211> 162

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 2

ggtacttctc	tgtctccgcc	gccggaatct	tctggttctc	gtcagcagcc	gggtctgtct	60
gctccgcact	ctcgtcagat	cccggtccg	caggtgctg	ttctggttca	gcgtgaaaaa	120
gacctgccga	actacaactg	gaactctttc	ggtctgcggt	tc		162

<210> 3

<211> 152

ES 2 617 657 T3

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 3

```

Met Tyr Leu Arg Phe Gly Val Asp Val Cys Ser Leu Ser Pro Trp Lys
      5      10
Glu Thr Val Asp Leu Pro Leu Pro Pro Arg Met Ile Ser Met Ala Ser
      20      25      30
Trp Gln Leu Leu Leu Leu Cys Val Ala Thr Tyr Gly Glu Pro Leu
      35      40      45
Ala Lys Val Ala Pro Gly Ser Thr Gly Gln Gln Ser Gly Pro Gln Glu
      50      55      60
Leu Val Asn Ala Trp Glu Lys Glu Ser Arg Tyr Ala Glu Ser Lys Pro
      65      70      75      80
Gly Ser Ala Gly Leu Arg Ala Arg Arg Ser Ser Pro Cys Pro Pro Val
      85      90      95
Glu Gly Pro Ala Gly Arg Gln Arg Pro Leu Cys Ala Ser Arg Ser Arg
      100      105      110
Leu Ile Pro Ala Pro Arg Gly Ala Val Leu Val Gln Arg Glu Lys Asp
      115      120      125
Leu Ser Thr Tyr Asn Trp Asn Ser Phe Gly Leu Arg Tyr Gly Arg Arg
      130      135      140
      Gln Ala Ala Arg Ala Ala Arg Gly
      145      150

```

<210> 4

<211> 456

<212> ADN

<213> Mus musculus

<400> 4

```

atgtatctga gatttggcgt tgatgtctgc agcctgagtc cctggaagga gactgtagac 60
ctgcccttc ctcccagaat gatctcaatg gcttcttggc agctgctgct tctcctctgt 120
gtcgccacct atggggagcc gctggcaaaa gtgaagcctg gatccacagg ccagcagtc 180
ggacccagg aactcgtaa tgcctgggaa aaggaatcgc ggtatgcaga gagcaagcct 240
gggtctgcag ggctgcgcgc tcgtagggtcg tcgccatgcc cgccgggttga gggccccgcg 300
gggcgccagc ggcccctgtg tgcctccgc agtcgcctga tccctgcgcc ccgcggagcg 360
gtgctggtgc agcgggagaa ggacctgtcc acctacaact ggaactcctt cggcctgcgc 420
tacggcagga ggcaggcggc gcgggcagca cggggc 456

```

<210> 5

<211> 156

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 5

ES 2 617 657 T3

Met	Tyr	Leu	Arg	Phe	Gly	Val	Asp	Val	Cys	Ser	Leu	Ser	Pro	Trp	Lys
				5					10					15	
Glu	Thr	Val	Asp	Leu	Pro	Leu	Pro	Pro	Arg	Met	Ile	Ser	Met	Ala	Ser
			20					25					30		
Trp	Gln	Leu	Leu	Leu	Leu	Cys	Val	Ala	Thr	Tyr	Gly	Glu	Pro	Leu	
		35				40					45				
Ala	Lys	Val	Ala	Pro	Leu	Val	Lys	Pro	Gly	Ser	Thr	Gly	Gln	Gln	Ser
	50					55					60				
Gly	Pro	Gln	Glu	Leu	Val	Asn	Ala	Trp	Glu	Lys	Glu	Ser	Arg	Tyr	Ala
	65				70					75					80
Glu	Ser	Lys	Pro	Gly	Ser	Ala	Gly	Leu	Arg	Ala	Arg	Arg	Ser	Ser	Pro
				85					90					95	
Cys	Pro	Pro	Val	Glu	Gly	Pro	Ala	Gly	Arg	Gln	Arg	Pro	Leu	Cys	Ala
			100					105					110		
Ser	Arg	Ser	Arg	Leu	Ile	Pro	Ala	Pro	Arg	Gly	Ala	Val	Leu	Val	Gln
		115					120					125			
Arg	Glu	Lys	Asp	Leu	Ser	Thr	Tyr	Asn	Trp	Asn	Ser	Phe	Gly	Leu	Arg
	130					135					140				
Tyr	Gly	Arg	Arg	Gln	Ala	Ala	Arg	Ala	Ala	Arg	Gly				
	145				150					155					

<210> 6

<211> 468

<212> ADN

<213> Mus musculus

<400> 6

atgtatctga	gatttggcgt	tgatgtctgc	agcctgagtc	cctggaagga	gactgtagac	60
ctgccccttc	ctcccagaat	gatctcaatg	gcttcttggc	agctgctgct	tctoctctgt	120
gtcgccacct	atggggagcc	gctggcaaaa	gtggcacctt	tggatgaagcc	tgatccaca	180
ggccagcagt	cgggacccca	ggaactcggt	aatgcctggg	aaaaggaatc	gcggtatgca	240
gagagcaagc	ctgggtctgc	agggctgcgc	gctcgtaggt	cgtcgccatg	ccgcccgtt	300
gagggccccg	cggggcgcca	gcggccccctg	tggtgcctccc	gcagtcgcct	gatccctgcg	360
ccccgcggag	cgggtgctggt	gcagcgggag	aaggacctgt	ccacctacaa	ctggaactcc	420
ttcggcctgc	gctacggcag	gaggcaggcg	gcgcgggcag	cacggggc		468

<210> 7

<211> 130

<212> PRT

<213> Rattus sp.

<400> 7

ES 2 617 657 T3

```

Met Thr Ser Leu Ala Ser Trp Gln Leu Leu Leu Leu Cys Val Ala
      5              10              15
Ser Phe Gly Glu Pro Leu Ala Lys Met Ala Pro Val Val Asn Pro Glu
      20              25              30
Pro Thr Gly Gln Gln Ser Gly Pro Gln Glu Leu Val Asn Ala Trp Gln
      35              40              45
Lys Gly Pro Arg Tyr Ala Glu Ser Lys Pro Gly Ala Ala Gly Leu Arg
      50              55              60
Ala Arg Arg Thr Ser Pro Cys Pro Pro Val Glu Asn Pro Thr Gly His
      65              70              75
Gln Arg Pro Pro Cys Ala Thr Arg Ser Arg Leu Ile Pro Ala Pro Arg
      85              90              95
Gly Ser Val Leu Val Gln Arg Glu Lys Asp Met Ser Ala Tyr Asn Trp
      100             105             110
Asn Ser Phe Gly Leu Arg Tyr Gly Arg Arg Gln Val Ala Arg Ala Ala
      115             120             125
Arg Gly
      130

```

<210> 8

<211> 390

<212> ADN

<213> Rattus sp.

<400> 8

```

atgacctcgc tggcttcttg gcagctgctg cttctcctct gtgtggcctc ttttggggag 60
ccactggcaa aaatggcacc tgttgtgaac cctgaaccca caggccaaca gtccggaccc 120
caggaactcg ttaatgcctg gcaaaagggc ccgcggtatg cagagagcaa gcctggggct 180
gcaggactgc gcgctcgccg aacatcgcca tgcccgcgcg tggagaaccc cacggggcac 240
cagcggcccc cgtgtgccac ccgcagtcgc ctgatccctg cgccccgcgg atcggtgctg 300
gtgcagcgcg agaaggacat gtcagcctac aactggaact cctttggcct gcgctacggc 360
aggaggcagg tggcgcgggc ggcacggggc

```

<210> 9

<211> 398

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 9

ES 2 617 657 T3

Met	His	Thr	Val	Ala	Thr	Ser	Gly	Pro	Asn	Ala	Ser	Trp	Gly	Ala	Pro
				5					10					15	
Ala	Asn	Ala	Ser	Gly	Cys	Pro	Gly	Cys	Gly	Ala	Asn	Ala	Ser	Asp	Gly
			20					25					30		
Pro	Val	Pro	Ser	Pro	Arg	Ala	Val	Asp	Ala	Trp	Leu	Val	Pro	Leu	Phe
		35					40					45			
Phe	Ala	Ala	Leu	Met	Leu	Leu	Gly	Leu	Val	Gly	Asn	Ser	Leu	Val	Ile
	50					55					60				
Tyr	Val	Ile	Cys	Arg	His	Lys	Pro	Met	Arg	Thr	Val	Thr	Asn	Phe	Ty
	65				70					75				80	
Ile	Ala	Asn	Leu	Ala	Ala	Thr	Asp	Val	Thr	Phe	Leu	Leu	Cys	Cys	Val
			85						90					95	
Pro	Phe	Thr	Ala	Leu	Leu	Tyr	Pro	Leu	Pro	Gly	Trp	Val	Leu	Gly	Asp
			100					105					110		
Phe	Met	Cys	Lys	Phe	Val	Asn	Tyr	Ile	Gln	Gln	Val	Ser	Val	Gln	Ala
		115					120					125			
Thr	Cys	Ala	Thr	Leu	Thr	Ala	Met	Ser	Val	Asp	Arg	Trp	Tyr	Val	Thr
	130					135					140				
Val	Phe	Pro	Leu	Arg	Ala	Leu	His	Arg	Arg	Thr	Pro	Arg	Leu	Ala	Leu
145					150					155					160
Ala	Val	Ser	Leu	Ser	Ile	Trp	Val	Gly	Ser	Ala	Ala	Val	Ser	Ala	Pro
				165					170					175	
Val	Leu	Ala	Leu	His	Arg	Leu	Ser	Pro	Gly	Pro	Arg	Ala	Tyr	Cys	Ser
			180					185					190		
Glu	Ala	Phe	Pro	Ser	Arg	Ala	Leu	Glu	Arg	Ala	Phe	Ala	Leu	Tyr	Asn
	195						200				205				
Leu	Leu	Ala	Leu	Tyr	Leu	Leu	Pro	Leu	Leu	Ala	Thr	Cys	Ala	Cys	Tyr
	210				215						220				
Ala	Ala	Met	Leu	Arg	His	Leu	Gly	Arg	Val	Ala	Val	Arg	Pro	Ala	Pro
225					230					235					240
Ala	Asp	Ser	Ala	Leu	Gln	Gly	Gln	Val	Leu	Ala	Glu	Arg	Ala	Gly	Ala
			245						250					255	
Val	Arg	Ala	Lys	Val	Ser	Arg	Leu	Val	Ala	Ala	Val	Val	Leu	Leu	Phe
			260					265					270		
Ala	Ala	Cys	Trp	Gly	Pro	Ile	Gln	Leu	Phe	Leu	Val	Leu	Gln	Ala	Leu
		275					280					285			
Gly	Pro	Ala	Gly	Ser	Trp	His	Pro	Arg	Ser	Tyr	Ala	Ala	Tyr	Ala	Leu
	290					295					300				
Lys	Thr	Trp	Ala	His	Cys	Met	Ser	Tyr	Ser	Asn	Ser	Ala	Leu	Asn	Pro
305					310					315					320
Leu	Leu	Tyr	Ala	Phe	Leu	Gly	Ser	His	Phe	Arg	Gln	Ala	Phe	Arg	Arg
			325						330					335	
Val	Cys	Pro	Cys	Ala	Pro	Arg	Arg	Pro	Arg	Arg	Pro	Arg	Arg	Pro	Gly
			340					345					350		
Pro															

<210> 10

<211> 1194

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 10

ES 2 617 657 T3

atgcacaccg	tggtacgtc	cggacccaac	gcgtcctggg	gggcaccggc	caacgcctcc	60
ggctgcccgg	gctgtggcgc	caacgcctcg	gacggcccag	tcccttcgcc	gcggggccgtg	120
gacgcctggc	tcgtgccgct	cttcttcgcg	gcgtgatgc	tgctgggcct	ggtggggaac	180
tcgctgggtca	tctacgtcat	ctgccgccac	aagccgatgc	ggaccgtgac	caacttctac	240
atcgccaacc	tgcgggccac	ggacgtgacc	ttcctcctgt	gctgcgtccc	cttcacggcc	300
ctgctgtacc	cgctgcccg	ctgggtgctg	ggcgacttca	tgtgcaagtt	cgtcaactac	360
atccagcagg	tctcgggtgca	ggccacgtgt	gccactctga	ccgccatgag	tgtggaccgc	420
tggtacgtga	cgggtgtccc	gttgcgcgcc	ctgcaccgcc	gcacgccccg	cctggcgctg	480
gctgtcagcc	tcagcatctg	ggtaggctct	gcggcgggtgt	ctgcgcgggt	gctcgcctg	540
caccgcctgt	cacccggggc	gcgcgcctac	tgcagtgagg	ccttccccag	ccgcgcctg	600
gagcgcgct	tcgcaactgta	caacctgctg	gcgtgtacc	tgctgccgct	gctcgccacc	660
tgcgctgct	atcgggccat	gctgcgccac	ctgggccggg	tcgcctgctg	ccccgcgcc	720
gccgatagcg	ccctgcaggg	gcaggtgctg	gcagagcgcg	caggcgccgt	gcgggccaag	780
gtctcgcgcc	tggtggcggc	cgtggtcctg	ctcttcgcgc	cctgctgggg	ccccatccag	840
ctgttcctgg	tgctgcaggc	gctggggccc	gcgggctcct	ggcaccacg	cagctacgcc	900
gcctacgcgc	ttaagacctg	ggctcactgc	atgtcctaca	gcaactccgc	gctgaaccgc	960
ctgctctacg	ccttcctggg	ctcgcaactc	cgacaggcct	tccgcgcgct	ctgcccctgc	1020
gcgccgcgcc	gcccccgccg	ccccgcgcg	cccggaacct	cggaccccg	agccccacac	1080
gcggagctgc	accgcctggg	gtcccaccgc	gcccccgcca	gggcgcagaa	gccagggagc	1140
agtgggctgg	ccgcgcgcg	gctgtgcgtc	ctgggggagg	acaacgcccc	tctc	1194

<210> 11

<211> 396

<212> PRT

<213> Rattus sp.

<400> 11

ES 2 617 657 T3

```

Met Ala Ala Glu Ala Thr Leu Gly Pro Asn Val Ser Trp Trp Ala Pro
      5      10      15
Ser Asn Ala Ser Gly Cys Pro Gly Cys Gly Val Asn Ala Ser Asp Gly
      20      25      30
Pro Gly Ser Ala Pro Arg Pro Leu Asp Ala Trp Leu Val Pro Leu Phe
      35      40      45
Phe Ala Ala Leu Met Leu Leu Gly Leu Val Gly Asn Ser Leu Val Ile
      50      55      60
Phe Val Ile Cys Arg His Lys His Met Gln Thr Val Thr Asn Phe Tyr
      65      70      75      80
Ile Ala Asn Leu Ala Ala Thr Asp Val Thr Phe Leu Leu Cys Cys Val
      85      90      95
Pro Phe Thr Ala Leu Leu Tyr Pro Leu Pro Thr Trp Val Leu Gly Asp
      100      105      110
Phe Met Cys Lys Phe Val Asn Tyr Ile Gln Gln Val Ser Val Gln Ala
      115      120      125
Thr Cys Ala Thr Leu Thr Ala Met Ser Val Asp Arg Trp Tyr Val Thr
      130      135      140
Val Phe Pro Leu Arg Ala Leu His Arg Arg Thr Pro Arg Leu Ala Leu
      145      150      155      160
Thr Val Ser Leu Ser Ile Trp Val Gly Ser Ala Ala Val Ser Ala Pro
      165      170      175
Val Leu Ala Leu His Arg Leu Ser Pro Gly Pro His Thr Tyr Cys Ser
      180      185      190
Glu Ala Phe Pro Ser Arg Ala Leu Glu Arg Ala Phe Ala Leu Tyr Asn
      195      200      205
Leu Leu Ala Leu Tyr Leu Leu Pro Leu Leu Ala Thr Cys Ala Cys Tyr
      210      215      220
Gly Ala Met Leu Arg His Leu Gly Arg Ala Ala Val Arg Pro Ala Pro
      225      230      235      240
Thr Asp Gly Ala Leu Gln Gly Gln Leu Leu Ala Gln Arg Ala Gly Ala
      245      250      255
Val Arg Thr Lys Val Ser Arg Leu Val Ala Ala Val Val Leu Leu Phe
      260      265      270
Ala Ala Cys Trp Gly Pro Ile Gln Leu Phe Leu Val Leu Gln Ala Leu
      275      280      285
Gly Pro Ser Gly Ala Trp His Pro Arg Ser Tyr Ala Ala Tyr Ala Leu
      290      295      300
Lys Ile Trp Ala His Cys Met Ser Tyr Ser Asn Ser Ala Leu Asn Pro
      305      310      315      320
Leu Leu Tyr Ala Phe Leu Gly Ser His Phe Arg Gln Ala Phe Cys Arg
      325      330      335
Val Cys Pro Cys Gly Pro Gln Arg Gln Arg Arg Pro His Ala Ser Ala
      340      345      350
His Ser Asp Arg Ala Ala Pro His Ser Val Pro His Ser Arg Ala Ala
      355      360      365
His Pro Val Arg Val Arg Thr Pro Glu Pro Gly Asn Pro Val Val Arg
      370      375      380
Ser Pro Ser Val Gln Asp Glu His Thr Ala Pro Leu
      385      390      395

```

<210> 12

<211> 1188

<212> ADN

<213> Rattus sp.

<400> 12

ES 2 617 657 T3

```

atggcgcag aggcgacgtt gggtcggaac gtgagctggt gggctccgtc caacgcttcg 60
ggatgcccgg gctgcggtgt caatgcctcg gatggcccag gctccgcgcc aaggcccctg 120
gatgcctggc tggtgcccct gtttttcgct gccctaagt tgctggggct agtcgggaac 180
tacttggtca tcttcgttat ctgccgccac aagcacatgc agaccgtcac caatttctac 240
atcgctaacc tggcggccac agatgtcact ttccttctgt gctgcgtacc cttcaccgcg 300
ctcctctatc cgctgcccac ctgggtgctg ggagacttca tgtgcaaatt cgtcaactac 360
atccagcagg tctcggtgca agccacatgt gccactttga cagccatgag tgtggaccgc 420
tggtagctga ctgtgttccc gctgcgtgca cttcaccgcc gcaactccgc cctggccctg 480
actgtcagcc ttagcatctg ggtgggttcc gcagctgttt ccgccccggt gctggctctg 540
caccgcctgt cggcggggcc tcacacctac tgcagtggag cgtttcccag ccgtgccctg 600
gagcgcgctt tcgcgtcta caacctgctg gccctatacc tgctgccgct gctcgccacc 660
tgcgctgct acggtgccat gctgcgccac ctgggccgcg ccgctgtacg ccccgcaccc 720
actgatggcg ccctgcaggg gcagctgcta gcacagcgcg ctggagcagt gcgcaccaag 780
gtctcccggc tggtgccgcg tgtcgtctcg ctcttcgccg cctgctgggg cccgatccag 840
ctgttctctg tgcttcaagc cctggggccc tcgggggcct ggcaccctcg aagctatgcc 900
gcctacgcgc tcaagatctg ggctcactgc atgtcctaca gcaattctgc gctcaaccgc 960
ctgctctatg ccttcctggg ttcccacttc agacaggcct tctgccgctg gtgcccctgc 1020
ggcccgaac gccagcgtcg gcccacgcg tcagcgcact cggaccgagc cgcaccccat 1080
agtgtgccgc acagccgggc tgcgcaccct gtccgggtca ggacccccga gcctgggaac 1140
cctgtggtgc gctcgccctc tgttcaggat gaacacactg cccactc 1188

```

<210> 13

<211> 396

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 13

```

Met Ala Thr Glu Ala Thr Leu Ala Pro Asn Val Thr Trp Trp Ala Pro
1 5 10 15
Ser Asn Ala Ser Gly Cys Pro Gly Cys Gly Val Asn Ala Ser Asp Asp
20 25 30
Pro Gly Ser Ala Pro Arg Pro Leu Asp Ala Trp Leu Val Pro Leu Phe
35 40 45
Phe Ala Thr Leu Met Leu Leu Gly Leu Val Gly Asn Ser Leu Val Ile
50 55 60
Tyr Val Ile Cys Arg His Lys His Met Gln Thr Val Thr Asn Phe Tyr
65 70 75 80
Ile Ala Asn Leu Ala Ala Thr Asp Val Thr Phe Leu Leu Cys Cys Val
85 90 95
Pro Phe Thr Ala Leu Leu Tyr Pro Leu Pro Ala Trp Val Leu Gly Asp
100 105 110
Phe Met Cys Lys Phe Val Asn Tyr Ile Gln Gln Val Ser Val Gln Ala
115 120 125
Thr Cys Ala Thr Leu Thr Ala Met Ser Val Asp Arg Trp Tyr Val Thr
130 135 140
Val Phe Pro Leu Arg Ala Leu His Arg Arg Thr Pro Arg Leu Ala Leu
145 150 155 160
Ala Val Ser Leu Ser Ile Trp Val Gly Ser Ala Ala Val Ser Ala Pro
165 170 175
Val Leu Ala Leu His Arg Leu Ser Pro Gly Pro Arg Thr Tyr Cys Ser
180 185 190
Glu Ala Phe Pro Ser Arg Ala Leu Glu Arg Ala Phe Ala Leu Tyr Asn
195 200 205
Leu Leu Ala Leu Tyr Leu Leu Pro Leu Leu Ala Thr Cys Ala Cys Tyr
210 215 220
Gly Ala Met Leu Arg His Leu Gly Arg Ala Ala Val Arg Pro Ala Pro
225 230 235 240
Thr Asp Gly Ala Leu Gln Gly Gln Leu Leu Ala Gln Arg Ala Gly Ala

```

ES 2 617 657 T3

Val	Arg	Thr	Lys	Val	Ser	Arg	Leu	Val	Ala	Ala	Val	Val	Leu	Leu	Phe
Ala	Ala	Cys	Trp	Gly	Pro	Ile	Gln	Leu	Phe	Leu	Val	Leu	Gln	Ala	Leu
Gly	Pro	Ser	Gly	Ala	Trp	His	Pro	Arg	Ser	Tyr	Ala	Ala	Tyr	Ala	Val
Lys	Ile	Trp	Ala	His	Cys	Met	Ser	Tyr	Ser	Asn	Ser	Ala	Leu	Asn	Pro
Leu	Leu	Tyr	Ala	Phe	Leu	Gly	Ser	His	Phe	Arg	Gln	Ala	Phe	Cys	Arg
Val	Cys	Pro	Cys	Cys	Arg	Gln	Arg	Gln	Arg	Arg	Pro	His	Thr	Ser	Ala
His	Ser	Asp	Arg	Ala	Ala	Thr	His	Thr	Val	Pro	His	Ser	Arg	Ala	Ala
His	Pro	Val	Arg	Ile	Arg	Ser	Pro	Glu	Pro	Gly	Asn	Pro	Val	Val	Arg
Ser	Pro	Cys	Ala	Gln	Ser	Glu	Arg	Thr	Ala	Ser	Leu				

<210> 14

<211> 1188

<212> ADN

<213> Mus musculus

<400> 14

atggccaccg	agggcacatt	ggctcccaat	gtgacctggt	gggtcccgtc	caacgcttca	60
ggatgccccag	gctgcggtgt	caacgcctcg	gatgaccag	gctctgcgcc	aaggcccttg	120
gatgcctggc	tggttccct	gtttttcgct	acactcatgt	tgcttgggct	ggtcggaaac	180
tcatttggtca	tctacgttat	ctgccgccac	aagcacatgc	agacagttac	caactttctac	240
atcgctaacc	tgggtgccac	agacgtcact	ttcctactgt	gctgcgtgac	cttcaccgca	300
ctctcttacc	cgtgcgcgcg	ctgggtgctg	ggagactcta	tgtgcaaat	cgtcaactac	360
atccagcagg	tctcggtgca	agccacatgt	gccactctga	cggccatgag	tgtggaccgc	420
tggatatgtga	ctgtgttccc	gctgcgtgca	cttcaccgcc	gactccgcg	cctggccctg	480
gctgtcagcc	tcagcatctg	ggtgggggtca	gcagctgtgt	ccgccccggt	gctggccctg	540
cacgcgctgt	cgccagggcc	tcgcacctac	tgcagcgagg	cgtttccag	ccgcgccttg	600
gagcgcgcct	tcgcgctcta	caacctgctg	gctctatatc	tgctgccgt	gctcgccacc	660
tgcgctctgt	acggcgccat	gctgcgccac	ctgggcctg	cggctgtacg	ccccgaccc	720
actgacggcg	ccctgcaggg	acagctgcta	gcacagcgcg	ccgagcaggt	gcgcaccaag	780
gtctcccggc	tgggtggcgc	tgtcgtctcg	ctcttcgcgc	cctgctgggg	cccgatccag	840
ctgttctctg	tgttcaagc	cctgggcccc	tcgggggct	ggcaccctcg	aagctatgcc	900
gcctacgcgg	tcaagatctg	ggctcaactgc	atgtcctaca	gcaactcggc	gtcaatccg	960
ctgctctatg	ccttctctgg	ttcacacttc	agacaggcct	tctgccgcgt	gtgcccctgc	1020
tgcgggcaac	gccagcgccg	gccccacacg	tcagcgcact	cggaccgagc	tgcaactcac	1080
actgtgcgcg	acagcgctgc	tgcgcacct	gtgcggatca	ggagccggga	gcttgggaac	1140
cctgtgggtgc	gctcgcctcg	cgtctcagagt	gaacgcactg	cctcactc		1188

<210> 15

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

ES 2 617 657 T3

<223> el extremo C del polipéptido es la forma de amida (-CONH₂)

<400> 15

Lys	Asp	Leu	Pro	Asn	Tyr	Asn	Trp	Asn	Ser	Phe	Gly	Leu	Arg	Phe
1				5				10						15

<210> 16

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> el extremo C del polipéptido es la forma de amida (-CONH₂)

<400> 16

Tyr	Asn	Trp	Asn	Ser	Phe	Gly	Leu	Arg	Phe
1				5					10

<210> 17

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> el extremo C del polipéptido es la forma de amida (-CONH₂)

<400> 17

Asn	Trp	Asn	Ser	Phe	Gly	Leu	Arg	Phe
1				5				9

<210> 18

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial

ES 2 617 657 T3

<220>

<223> el extremo C del polipéptido es la forma de amida (-CONH₂)

<400> 18

Trp	Asn	Ser	Phe	Gly	Leu	Arg	Phe
1				5			8

<210> 19

<211> 45

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 19

aaggacctgc cgaactacaa ctggaactcc ttcggcctgc gcttc 45

<210> 20

<211> 30

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 20

tacaactgga actccttcgg cctgcgcttc 30

<210> 21

<211> 27

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 21

aactggaact ccttcggcct gcgcttc 27

<210> 22

<211> 24

<212> ADN

<213> Homo sapiens

ES 2 617 657 T3

<400> 22

tggaactcct tcggcctgcg cttc

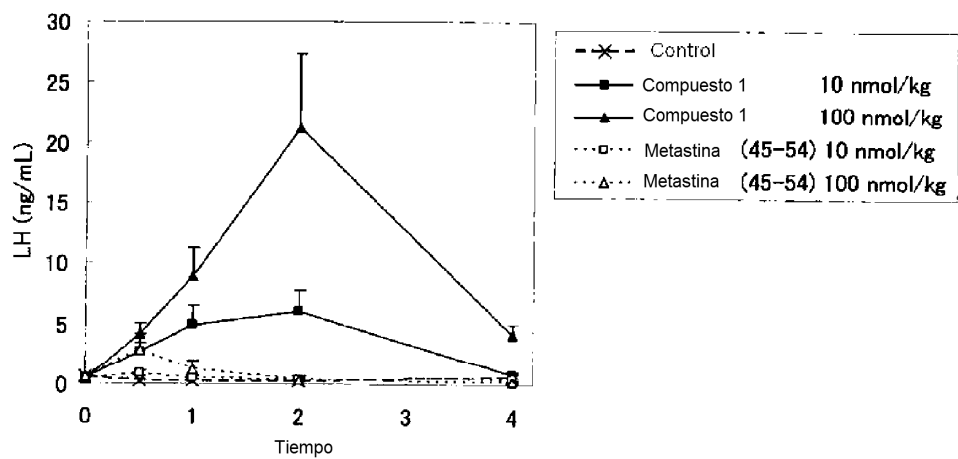
24

REIVINDICACIONES

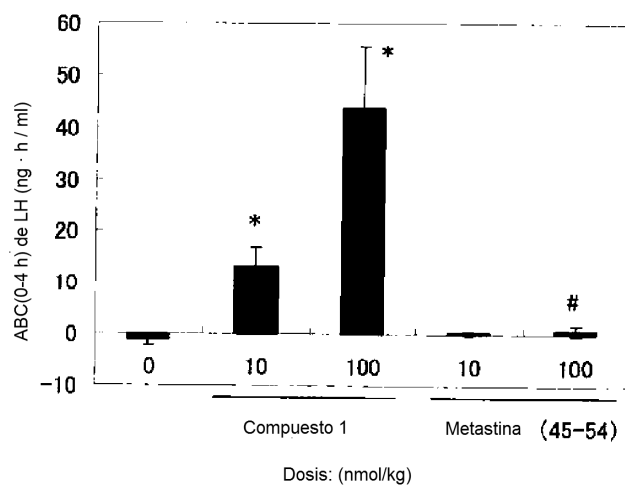
1. Un derivado de metastina que es
PEG5K(CS)-CO-Acp-Tyr-Asn-Trp-Asn-Ser-Phe-Gly-Leu-Arg-Phe-NH₂,
5 PEG2K(CS)-CO-Acp-Tyr-Asn-Trp-Asn-Ser-Phe-Gly-Leu-Arg-Phe-NH₂,
PEG20K(CS)-CO-Acp-Tyr-Asn-Trp-Asn-Ser-Phe-Gly-Leu-Arg-Phe-NH₂,
10 PEG40K(AL)-CH₂-Acp-Tyr-Asn-Trp-Asn-Ser-Phe-Gly-Leu-Arg-Phe-NH₂,
PEG20K(HS)-CO-Acp-Tyr-Asn-Trp-Asn-Ser-Phe-Gly-Leu-Arg-Phe-NH₂,
PEG40K(HS)-CO-Acp-Tyr-Asn-Trp-Asn-Ser-Phe-Gly-Leu-Arg-Phe-NH₂,
15 PEG30K(AL)-CH₂-Acp-Tyr-Asn-Trp-Asn-Ser-Phe-Gly-Leu-Arg-Phe-NH₂,
PEG20K(CS)-CO-Acp-D-Tyr-D-Trp-Asn-Thr-Phe-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂,
20 PEG20K(CS)-CO-Acp-D-Tyr-Hyp-Asn-Thr-Phe-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂,
PEG20K(CS)-CO-Acp-D-Tyr-Glu-Asn-Thr-Phe(3F)-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂, o
PEG20K(CS)-CO-Acp-D-Tyr-Hyp-Asn-Thr-Phe(4F)-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂; o una sal del mismo
25 (en las que los números y K significan kDa, que es el peso molecular de PEG, (CS) representa -CO(CH₂)₂-, (AL) representa -(CH₂)₂- y (HS) representa -(CH₂)₅-).
2. El derivado de metastina según la reivindicación 1 que es
30 PEG20K(CS)-CO-Acp-D-Tyr-Hyp-Asn-Thr-Phe-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ o una sal del mismo.
3. Un producto farmacéutico que comprende el derivado de metastina según la reivindicación 1.
4. El producto farmacéutico según la reivindicación 3, para su uso en la inhibición de metástasis del cáncer o proliferación del cáncer.
5. El producto farmacéutico según la reivindicación 3, para su uso en la prevención o el tratamiento de cáncer.
- 35 6. El producto farmacéutico según la reivindicación 3, para su uso en el control de la función placentaria.
7. El producto farmacéutico según la reivindicación 3, para su uso en la prevención o el tratamiento de coriocarcinoma, mola hidatídica, mola invasiva, aborto natural, hipoplasia fetal, metabolismo anormal de la glucosa, metabolismo anormal de los lípidos o inducción de parto.
8. El producto farmacéutico según la reivindicación 3, para su uso en la mejora de la función gonadal.
- 40 9. El producto farmacéutico según la reivindicación 3, para su uso en la prevención o el tratamiento de cáncer dependiente de hormonas, infertilidad, endometriosis, pubertad precoz o histeromioma.
10. El producto farmacéutico según la reivindicación 3, para su uso en la inducción o estimulación de la ovulación.
11. El producto farmacéutico según la reivindicación 3, para su uso en la promoción de la secreción de hormona gonadotrópica o secreción de hormona sexual.
- 45 12. El producto farmacéutico según la reivindicación 3, para su uso en la prevención o el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer, deterioro cognitivo leve o autismo.
13. El producto farmacéutico según la reivindicación 9, para su uso en la prevención o el tratamiento de cáncer dependiente de hormonas.

[Fig. 1]

A

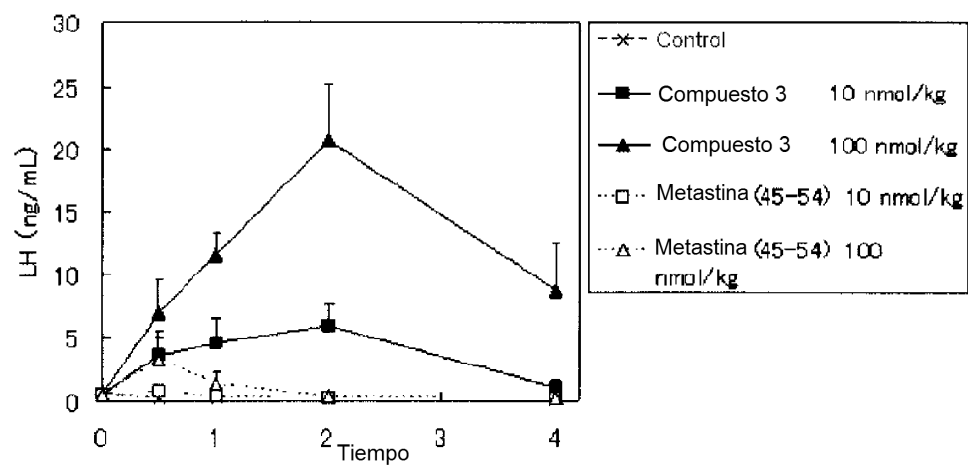


B

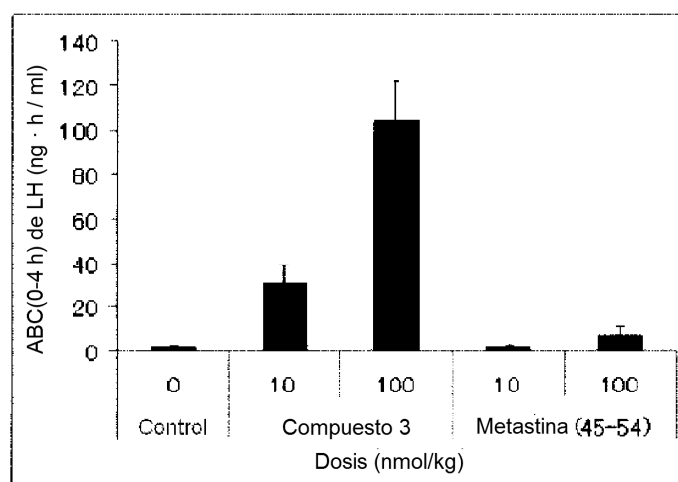


[Fig. 2]

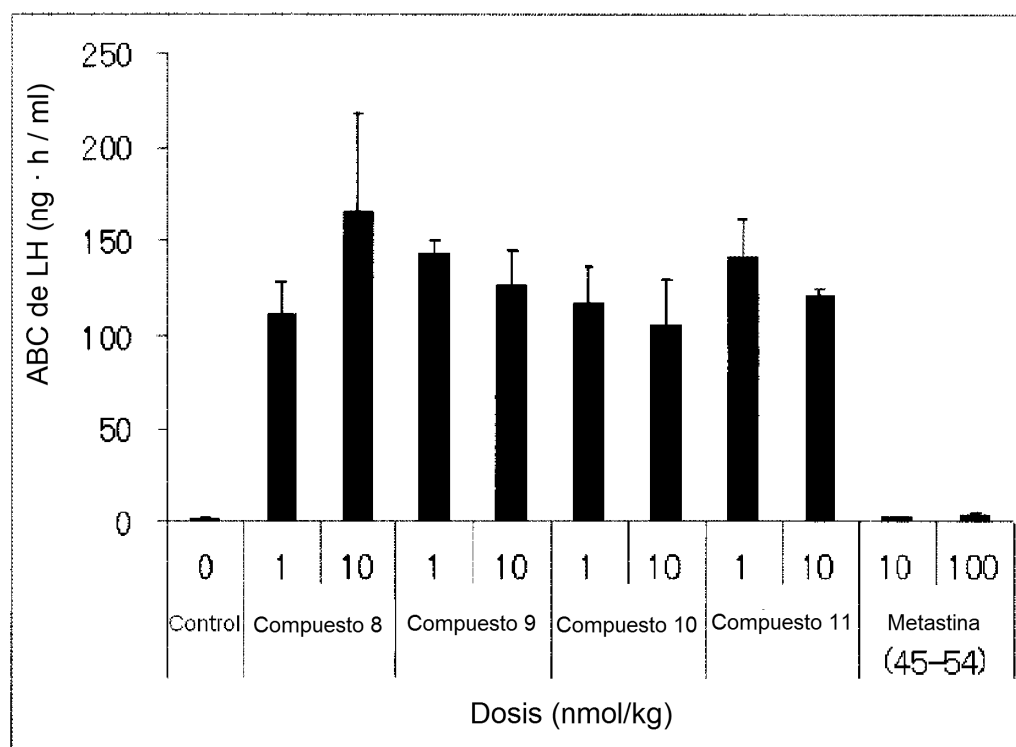
A



B

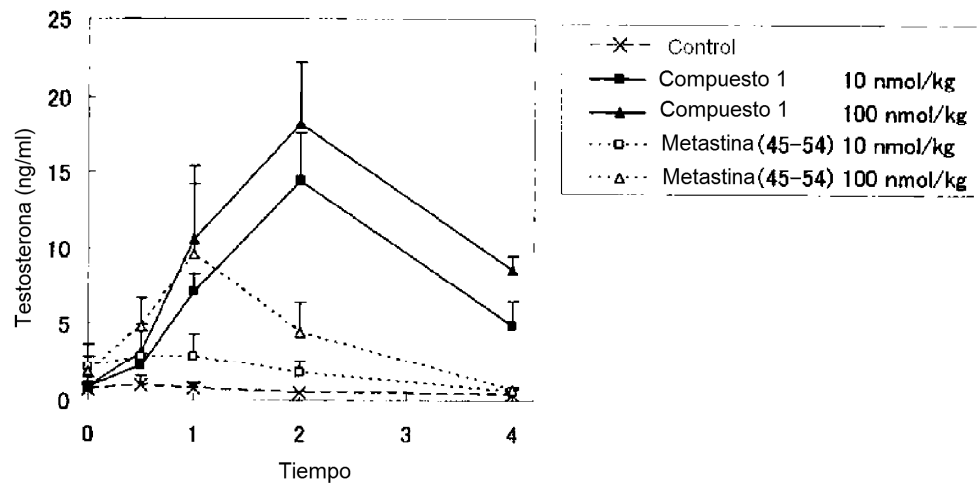


[Fig. 3]

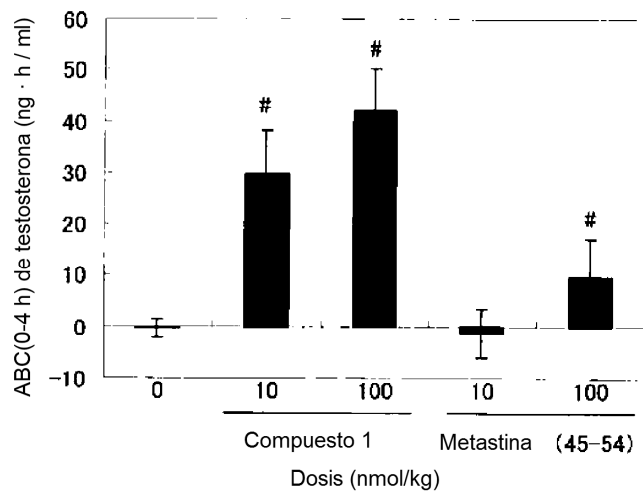


[Fig. 4]

A

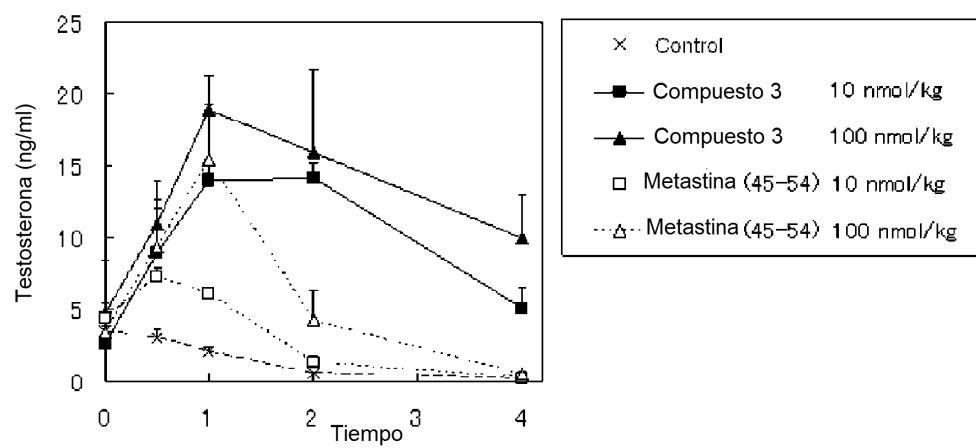


B

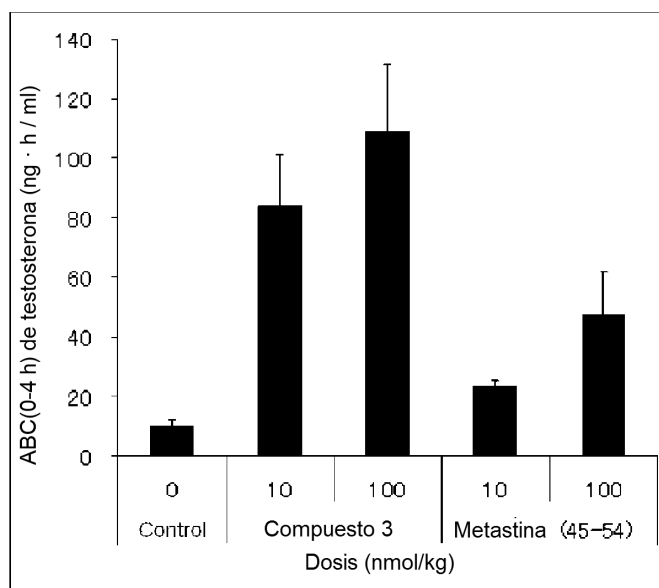


[Fig. 5]

A



B



[Fig. 6]

