

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 697 348**

51 Int. Cl.:

A61K 51/08 (2006.01)

C07K 7/08 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **16.04.2014 PCT/EP2014/001026**

87 Fecha y número de publicación internacional: **13.11.2014 WO14180534**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.04.2014 E 14720485 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **15.08.2018 EP 2994153**

54 Título: **Péptidos y conjugados de principio activo-péptido para direccionamiento renal**

30 Prioridad:

07.05.2013 EP 13002432

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

23.01.2019

73 Titular/es:

**MERCK PATENT GMBH (100.0%)
Frankfurter Strasse 250
64293 Darmstadt, DE**

72 Inventor/es:

**KUEBELBECK, ARMIN;
LARBIG, GREGOR;
ARNOLD, STEFAN y
MIER, WALTER**

74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 697 348 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

Péptidos y conjugados de principio activo-péptido para direccionamiento renal

5 La presente invención se refiere a un péptido que consiste en más de 50% de segmentos de secuencia elegidos de entre el grupo que comprende -(KKEEE)-, -(RREEE)-, -(KKEE)-, -(KKKEEE)- y -(KKKEE)-, así como un conjugado que contiene el péptido y por lo menos un principio activo unido de manera covalente y un procedimiento para la preparación del conjugado. Además, la presente invención se refiere al péptido y al conjugado para el uso dirigido hacia los riñones, así como un fármaco que contiene el péptido o conjugado.

10 El riñón es importante en particular para el transporte y la excreción de diferentes sustancias y para la producción de hormonas. Una función de los riñones es la excreción de productos finales del metabolismo, las denominadas sustancias obligatorias de la orina, y venenos del cuerpo, mediante la formación de orina, que son eliminados del cuerpo exclusivamente mediante la ruta de la orina. Los riñones equilibran el balance de agua y sirven con ello al ajuste de la presión sanguínea en el largo plazo. Mediante el control de la composición de la orina regulan el balance de electrolitos y el balance ácido-base. Además, el riñón es un órgano importante para el metabolismo intermedio del cuerpo (opera la gluconeogénesis). El riñón produce hormonas, como por ejemplo eritropoyetina, para la formación de sangre y es el lugar de degradación de las hormonas de péptido. Pero también muchas funciones de los riñones mismos son controladas mediante hormonas. Actualmente aproximadamente 280 millones de personas sufren de enfermedades crónicas de los riñones. Se desarrollaron ya muchos métodos diagnósticos y terapéuticos. Por ejemplo para el tratamiento de los riñones o para influir en la función renal, se usan inmunosupresores, citostáticos, inmunoterapéuticos, antiflogísticos, antibióticos, viroestáticos, antihipertensivos, uricosúricos, o diuréticos. El uso o la dosificación de medicamentos para el tratamiento de enfermedades de los riñones es sin embargo limitado frecuentemente por los efectos secundarios de los medicamentos. Por ello es particularmente importante, que los medicamentos alcancen los riñones de manera tan focalizada como sea posible.

25 Del mismo modo, es de gran importancia también la representación de los riñones en procedimientos de formación de imágenes.

30 Con ayuda de los procedimientos establecidos de medicina nuclear y radiológicos, como tomografía por computador (CT), SPECT (tomografía por computador de emisión de fotón individual), PET (tomografía de emisiones de positrones), ultrasonido y MRT (tomografía de resonancia magnética) pueden representarse, aparte de estructuras morfológicas mediante la denominada imagen molecular, procesos enzimáticos, procesos metabólicos, la expresión de determinados genes y reacciones moleculares. Las modalidades de formación de imagen mencionadas anteriormente pueden eventualmente ser completadas adicionalmente mediante procedimientos de formación de imagen por tomografía con computador y óptica (formación de imágenes de infrarrojo cercano, tomografía de fluorescencia). El punto difícil de la "formación molecular de imágenes" está actualmente aún en el diagnóstico de enfermedades de cáncer, problemas neurológicos y los controles de terapias de genes, se extiende sin embargo en el futuro a todos los ámbitos en los cuales tienen que detectarse modificaciones celulares de la manera tan temprana como sea posible.

40 Como fuente de ideal para los procedimientos de formación de imágenes, por regla general se acopla una "molécula de señal" con una "molécula de soporte". La "molécula de soporte" cuida el direccionamiento tan focalizado como sea posible, en lo cual se une por ejemplo de manera específica a las células objetivo o es atrapada en estas. Por ejemplo la molécula soporte puede ser el ligando de un receptor o el sustrato de una enzima. La "molécula de señal" puede hacerse visible por medio de una o varias técnicas de formación de imagen. Son ejemplos de moléculas de señal por ejemplo formadores de complejos o quelantes, cuyos iones metálicos pueden ser detectados mediante técnicas de formación de imagen. El compuesto o el conjugado de molécula de señal y molécula de soporte son denominados "diagnóstico".

45 Para investigaciones de los riñones se usa en particular la escintigrafía de riñones. Esta es un procedimiento de investigación de medicina nuclear, que permite la evaluación de la función renal bajo puntos de vista estático y dinámico. Al respecto, se evalúa el suministro de sangre, la función y excreción de cada uno de los riñones individuales. Es un procedimiento establecido para el reconocimiento de cicatrices del parénquima, en particular en niños y sirve además para la evaluación de la función renal regional e independiente.

50 En la escintigrafía estática de riñones, mediante el uso del radionucleido ^{99m}Tc se representa el tejido renal funcional. Al respecto, el tecnecio está unido en forma de complejo por ejemplo al ácido 2,3-dimercaptosuccínico (DMSA). La escintigrafía estática de riñones es adecuada por ello sobre todo para la presentación de riñones con anomalías (distrofia, riñón de herradura, etc.) o estado después de inflamación.

55 La escintigrafía dinámica de riñones investiga por el contrario la función renal. De este modo pueden investigarse las ratas glomerulares de filtración, el flujo renal de sangre (RBF="renal blood flow") y la secreción tubular con el

interrogante sobre la función renal y su compensación.

Como radiofármacos están para el uso actualmente las siguientes sustancias:

- ^{99m}Tc -MAG3 Mercaptoacetiltriglicina
- ^{99m}Tc -DMSA Acido 2,3-dimercaptosuccínico
- 5 • ^{99m}Tc -DTPA Acido dietilentriaminopentaacético
- ^{123}I -OIH Hippuran (ácido ortoyodohipúrico)

Por ello, era deseable por ejemplo tanto para la representación de los riñones en procedimientos de formación de imagen como también para propósitos terapéuticos, si pudiera mejorarse el direccionamiento a los riñones.

10 En el estado de la técnica se conocen ya sustancias, que son adecuadas para el direccionamiento a los riñones, es decir para el transporte controlado focalizado a los riñones.

Por ejemplo se conoce que proteínas pequeñas propias del cuerpo, como lisozima (14,3 kDa), pueden pasar el glomérulo de los riñones y son adecuadas como transportadoras para el direccionamiento a riñones con principios activos (Franssen et al.: J. Med. Chem. 35, 7, 1992, 1246-1259; Zhang et al.: Biomaterials 30, 2009, S. 1372-1381). Sin embargo, es una desventaja que la lisozima es una molécula comparativamente grande, con lo cual la relación de transportador a principio activo, es inconveniente. Además, la unión de un principio activo ocurre de manera no específica a uno de los muchos grupos laterales activos presentes. Por ello surgen mezclas químicas indefinidas de transportador-principio activo. Además, las proteínas como lisozima pueden poseer un potencial inmunogénico. Las desventajas de las proteínas de alto peso molecular se cancelan con el uso de péptidos de bajo peso molecular.

20 En la literatura actual se describen además diferentes péptidos con aproximadamente 5 a 20 aminoácidos, que son tomados selectivamente de los riñones. Por ejemplo son APASLYN y HITSLLS (Denby et al.: Molecular Therapy 15, 9, 2007, 1647-1654) o ANTPCGPYTHDCPVKR (Kumar y Deutscher: The Journal of Nuclear Medicine 49, 5, 2008, 796-803; Geng et al.: Bioconjugate Chemistry 23, 2012, 1200-1210).

25 El documento WO 2011/009539 A1 divulga conjugados de principio activo- ϵ -polilisina y su enriquecimiento altamente selectivo en los riñones. La unión de las unidades de lisina en el polímero ocurre mediante sus grupos ϵ -amino. Estos compuestos exhiben un muy alto tiempo de permanencia en los riñones y en consecuencia son degradados de manera relativamente lenta.

El documento WO 2007/022774 A1 describe el uso de determinados péptidos para la protección de los riñones ante la falla renal inducida por cisplatino.

El documento WO 98/11126 describe profármacos de péptido con agentes de enlace de alfa-hidroxiácido.

30 El documento WO 99/46283 divulga conjugados de péptido farmacológicamente activos.

El documento WO 2008/089738 A2 describe péptidos que se unen a óxido de hierro, que son usados en aplicaciones de medicina.

Cairo et al. (Cairo et al. 2002, Biochemistry 41: 8620-8629) describen la afinidad de determinados péptidos frente a beta-amiloide.

35 Lyu et al. (Lyu et al. 1992, J. Mol. Biol. 223: 343-350) divulgan un péptido que contiene la secuencia (KKEE)₃ en relación con estudios para la determinación del papel de las interacciones de cadenas laterales de aminoácidos en la formación de la estructura secundaria en proteínas. No se divulga que estos péptidos sean adecuados para el direccionamiento a los riñones o puedan ser usados para la protección de los riñones.

40 Además existió necesidad por nuevas sustancias o moléculas soporte (en inglés "Carrier"), que exhiban una afinidad y selectividad por los riñones tan alta como sea posible. Al respecto, fue deseable encontrar sustancias, que fueran degradables por vía bioquímica en sí mismas, o también como molécula soporte con sus principios activos conjugados, dentro de un periodo de tiempo medido en las células objetivo de los riñones.

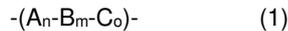
Por ello, fue objetivo de la presente invención la preparación de sustancias, que sean adecuadas para el direccionamiento a los riñones, en particular también como moléculas soporte para un terapéutico o un diagnóstico.

45 Se encontró de manera sorprendente que péptidos con secuencias especiales de aminoácidos y sus conjugados-principio activo exhiben una muy elevada selectividad por los riñones y también pueden ser degradados rápidamente. Los péptidos pueden ser usados como conjugados con moléculas de señal como por ejemplo

radioisótopos y/o principios activos, para el tratamiento diagnóstico y/o terapéutico de los riñones.

Por ello, es objetivo de la presente invención un péptido o conjugado para el uso para el direccionamiento o protección de los riñones, como se describe en reivindicaciones 1 y 2.

5 Es objetivo de la presente descripción un péptido, que en más de 50% (referido al número de unidades de aminoácido) consiste en segmentos secuencia de la fórmula (1)



en la que

A representa un aminoácido con grupos laterales ácidos,

B representa un grupo amino con grupos laterales básicos,

10 C representa cualquier aminoácido,

n, m representan independientemente uno de otro un número entero de 1 a 10, con n:m = 1:3 a 3:1,

o representa un número entero entre 0 y 10,

y en la que

- el péptido comprende en total una longitud de cadena de 5 a 100 aminoácidos y

15 - el péptido consiste en hasta por lo menos 50 % (referido al número de unidades de aminoácido) en los aminoácidos A y B.

20 De acuerdo con la invención, se entiende por un péptido un compuesto que surge de una unión de dos o más aminoácidos mediante enlaces amida. Al respecto, los aminoácidos individuales están unidos en un orden definido (secuencia) a una cadena. De acuerdo con la invención, son aminoácidos los compuestos que portan por lo menos un grupo amino y por lo menos un grupo carboxilo. Son ejemplos los aminoácidos proteinógenos o no proteinógenos de ocurrencia natural en organismos o aminoácidos preparados sintéticamente.

Las unidades de aminoácidos pueden estar presentes en el péptido en la forma D o L.

25 El péptido comprende de 5 a 100 aminoácidos. En una forma preferida, el péptido exhibe una longitud de cadena de 5 a 40 unidades de aminoácido, de modo particularmente preferido una longitud de cadena de 10 a 30 unidades de aminoácido.

El péptido consiste en más de 50% (referido al número de unidades de aminoácido) de segmentos de secuencia de la fórmula (1)



30 Preferiblemente consiste en más de 70 % de segmentos de secuencia de la fórmula (1), de modo particularmente preferido en más de 90%.

35 En la fórmula (1), A representa un aminoácido con grupos laterales ácidos. Para ello pueden ser por ejemplo ácido asparagínico, ácido glutámico, argininsuccinato y/o ácido cisteínico. Preferiblemente son aminoácidos con función carboxilo, es decir ácido glutámico y/o ácido asparagínico, de modo particularmente preferido ácido glutámico. Dentro de un péptido, A puede representar diferentes aminoácidos con grupos laterales ácidos, es decir pueden estar presentes en el péptido por ejemplo simultáneamente tanto radicales de ácido glutámico como también de ácido asparagínico, de argininsuccinato y/o de ácido cisteínico.

40 En una forma alternativa de realización, los aminoácidos con grupos A laterales ácidos dentro de un segmento de secuencia del péptido, son idénticos; en este caso por ejemplo todos los aminoácidos A de la fórmula (1) en un segmento de secuencia del péptido representan ácido asparagínico, ácido glutámico, argininsuccinato y/o ácido cisteínico, en otro segmento de secuencia del péptido independientemente del segmento de secuencia mencionado anteriormente, representan ácido asparagínico, ácido glutámico y/o ácido cisteínico.

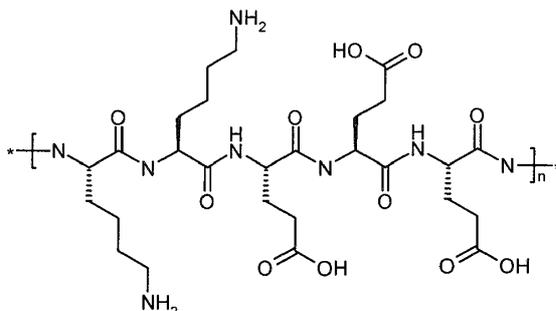
En otra forma alternativa de realización, los aminoácidos con grupos A laterales ácidos dentro del péptido son idénticos; en este caso, todos los aminoácidos A del péptido representan por ejemplo ácido asparagínico, ácido glutámico, argininsuccinato o ácido cisteínico.

45 En una forma preferida de realización, todos los aminoácidos A dentro del péptido representan ácido glutámico.

(DEDERKRKR)-, -(DEEDKKKH)-, -(EDCEKRH)-, -(EDDEKK)-, -(EEEEEKRRK)-, -(EEEEEDKKRK)-, -(EDDEEKKR)-, -(DDEEEEEK)-, en las que en cada caso se usan los códigos de una letra de los aminoácidos: E (ácido glutámico), D (ácido asparagínico), C (cisteína), K (lisina), R (arginina), H (histidina).

De acuerdo con la invención, la secuencia de la fórmula (1) representa una secuencia elegida de entre el grupo que comprende -(KKEEE)-, -(RREEE)-, -(KKEE)-, -(KKKKEE)- y -(KKKKEE)-.

de modo particularmente preferido la secuencia de la fórmula (1) representa la secuencia -(KKEEE)-:



De acuerdo con la invención, el péptido consiste en hasta por lo menos 80 % (referido al número de unidades de aminoácido) de los aminoácidos K y E o R y E.

En total, el segmento de secuencia de la fórmula (1) puede estar presente en el péptido de 1 a 50 veces, preferiblemente de 1 a 30 veces, de modo particularmente preferido de 1 a 10 veces, en particular preferiblemente de 2 a 5 veces.

En una forma posible de realización, el péptido contiene varios segmentos de secuencia de la fórmula (1) directamente sucesivos. Preferiblemente el péptido contiene de 3 a 5 segmentos de secuencia de la fórmula (1) sucesivos. Por ejemplo el péptido puede consistir en 3 a 5 segmentos de secuencia de la fórmula (1) sucesivos, así como uno o varios otros aminoácidos en el extremo C y/ o N. Esto se ejemplifica en la fórmula (2):



en la que A, B, C, n, m y o son como se definió previamente,

x representa 3, 4, o 5,

X e Y representan independientemente uno de otro un aminoácido cualquiera, preferiblemente representan A, y p y q representan independientemente uno de otro un número entero entre 0 y 3, preferiblemente representan 0 o 1.

Son ejemplos de posibles péptidos los péptidos elegidos de entre el grupo consistente en (RREEE)₃R, (KKEE)₅K, (KKKKEE)₃K, (KKKKEE)₃K y (KKEEE)₃K.

Otro objetivo de la presente invención es también un conjugado que contiene por lo menos un péptido, como se definió anteriormente, y por lo menos un principio activo unido de manera covalente, opcionalmente mediante un espaciador, como se define en la reivindicación 9.

De acuerdo con la invención, por cada conjugado de acuerdo con la invención pueden estar unidas una o varias moléculas de principio activo, iguales o diferentes.

Del mismo modo, el conjugado de acuerdo con la invención, en particular para macromoléculas como moléculas grandes de principio activo, por ejemplo proteínas, pueden estar presentes también dos o varios péptidos, que están unidos a una molécula de principio activo, para hacer posible un enriquecimiento específico de principio activo en los riñones. Típicamente, aquí ocurre también una unión covalente de los péptidos a la macromolécula. Como macromoléculas son válidas de acuerdo con la invención no sólo moléculas grandes, como proteínas, sino también toda forma de partículas (por ejemplo nanopartículas), liposomas u otros sistemas, con los cuales pueden transportarse principios activos o a los cuales pueden unirse principios activos.

De acuerdo con la invención, se entiende por un principio activo, toda sustancia que pueda acoplarse al oligómero, para usarlo para el tratamiento diagnóstico y/o terapéutico. Al respecto, de acuerdo con la invención puede ser tanto una molécula de señal, como también un principio activo "clásico".

De acuerdo con la invención, son principios activos o moléculas de principio activo, las sustancias correspondientes

a la Ley Alemana de Medicamentos, que están determinadas para ser usadas en la preparación de fármacos como componentes farmacéuticamente eficaces o en su uso en la preparación de fármacos hasta componentes farmacéuticamente eficaces (AMG § 4 (19)). Por regla general, los principios activos ocasionan en un organismo un efecto específico. Un principio activo de acuerdo con la invención es típicamente una molécula o fármaco farmacéuticamente eficaz, como tal vez inmunosupresores por ejemplo Azathioprin, Mycophenolat-Mofetil, Ciclosporin, Tacrolimus, Sirolimus, Fingolimod o Triptolid, citostáticos por ejemplo Atrasentan, Nintedanib, Bleomycin, Dactinomycin, Mitomycin, Daunorubicin, Doxorubicin, Epirubicin, Idarubicin, Mitoxantron, Amsacrin, Doxofluridin, Cisplatin, Carboplatin, Oxaliplatin, Satraplatin, Camptothecin, Topotecan, Irinotecan, Etoposid, Teniposid, Cyclophosphamid, Trofosfamid, Melphalan, Chlorambucil, Estramustin, Busulfan, Chlorambucil, Chlormethin, Treosulfan, Carmustin, Lomustin, Nimustin, Procarbazin, Streptozocin, Dacarbazin, Ifosfamid, Temozolomid, Thiotepa, Vinorelbin, Vincristin, Vinblastin, Vindesin, Paclitaxel, Docetaxel, Methotrexato, Pemetrexed, Raltitrexed, Fluorouracil, Capecitabin, Cytosinarabinosid, Gemcitabin, Tioguanin, Pentostatin, Mercaptopurin, Fludarabin, Caldribin, hidroxicarbamida, Mitotan, Azacitidin, Cytarabin, Nelarabin, Bortezomib, Anagrelid en particular los inhibidores de proteína-quinasa como por ejemplo Imatinib, Erlotinib, Sunitinib, Sorafenib, Dasatinib, Lapatinib o Nilotinib, inmunoterapéuticos por ejemplo Cetuximab, Alemtuzumab y Bevacizumab, antiflogísticos por ejemplo Naproxeno, Ibuprofeno, Indometacina, Prednisolona, Prednisona, hidrocortisona o Budesonid, antibióticos en particular de la penicilina como por ejemplo bencilpenicilina, meticilina o amoxicilina, las cefalosporinas como por ejemplo Cefuroxim, Cefotaxim, Cefadroxil o Cefixim, los inhibidores de X-lactamasa como por ejemplo ácido clavulánico, Sulbactam o Tazobactam, los carbapenemos como por ejemplo Imipenem o Meropenem, las monobactamas como por ejemplo Aztreonam, las tetraciclinas como por ejemplo tetraciclina, clorotetraciclina, oxitetraciclina, doxiciclina, minociclina o tigeciclina, los antibióticos macrólidos como por ejemplo eritromicina A, los antibióticos de glicopéptido como por ejemplo vancomicina, las endiinas como por ejemplo calicheamicina, virostáticos por ejemplo Aciclovir, Valaciclovir, Ganciclovir, Valganciclovir, Penciclovir, Famciclovir, Brivudin, Cidofovir, Foscarnet, Idoxuridin o Tromantadin, antihipertensivos en particular los inhibidores de ACE como por ejemplo Benazepril, Captopril, Cilazapril, Enalapril, Fosinopril, Lisinopril, Perindopril, Quinapril, Ramipril, Trandolapril o Zofenopril, los sartanes como por ejemplo Losartan, Balsartan, Irbesartan, Candesartan, Eprosartan, Olmesartan o Telmisartan, los inhibidores de renina como por ejemplo Aliskiren y los betabloqueadores como por ejemplo Propranolol, Pindolol, Sotalol, Bopindolol, Atenolol, Bisoprolol, Celiprolol, Esmolol, Metoprolol, Nebivolol, Oxprenolol, Carvedilol o Labetalol, uricosúricos por ejemplo Probenecid o Benzbromaron o diuréticos por ejemplo Acetazolamid, Furosemid, Torasemid, Bumetanid, Piretanid, Azosemid, ácido etacrínico, Etozolín, hidroclorotiazida, benzotiazida, clorotiazida, Chlorthalidon, Indapamid, Mefrusid, Metolazon, Clopamid, Xipamid, hidroflumetiazida, metictotiazida, politiazida, Amilorid, Triameteren, Spironolacton, Canrenon, Eplerenon o Spironolacton, antifibróticos por ejemplo Pirfenidon o Seliciclib.

Otros agentes antitumor, por ejemplo agentes que son eficaces contra las células que proliferan, son así mismo principios activos de acuerdo con la invención. Los ejemplos de agentes antitumor incluyen citoquinas como por ejemplo interleuquina-2 (IL-2), factores de necrosis de tumor o similares, promotores de reacción de inflamación de lectina (selectinas) como por ejemplo L-selectina, E-selectina, P-selectina o similares, y moléculas parecidas.

Adicionalmente a las moléculas de principio activo o en lugar de las moléculas de principio activo, al conjugado de acuerdo con la invención pueden unirse también otras funcionalidades, como por ejemplo funcionalidades para procedimientos diagnósticos o de formación de imágenes.

Del mismo modo, como funcionalidad pueden incorporarse cadenas laterales que contienen flúor, mediante espaciadores opcionales. Con ayuda de la tomografía de resonancia de núcleo de ^{19}F puede representarse de ese modo el enriquecimiento de las moléculas correspondientes en los riñones. Al respecto, son particularmente ventajosos los átomos de flúor dispuestos de manera altamente simétrica, que exhiben una frecuencia de resonancia única. Para el mejoramiento de la señal de ^{19}F puede usarse un medio de contraste corriente en la tomografía de giro de núcleo, como por ejemplo Gadobutrol (Magnevist®).

Así mismo, en el conjugado pueden estar presentes como "principio activo", formadores de complejo. Un formador de complejo es de acuerdo con la invención toda estructura molecular que está en capacidad de formar complejos con iones metálicos, es decir formar un complejo de quelato-metal con los iones metálicos. Frecuentemente los formadores de complejos son denominados también quelantes. Son ejemplos de formadores de complejo adecuados de acuerdo con la invención EDTA, NOTA, TETA, ácido iminodiacético, DOTA o DTPA. De modo particular se prefieren formadores de complejos de acuerdo con la invención que se unen con iones metálicos, que pueden ser detectados en mediciones de SPECT, PET, CT o MRT. Son formadores preferidos de complejos DOTA o DTPA o sus derivados. Los formadores de complejos son de acuerdo con la invención tanto moléculas a las cuales los iones metálicos ya están unidos, como también moléculas a las cuales los iones metálicos pueden unirse, pero en el estado presente no están unidas.

Iones metálicos adecuados de acuerdo con la invención para unirse al formador de complejos, son por ejemplo Fe^{2+} , Fe^{3+} , Cu^{2+} , Cr^{3+} , Gd^{3+} , Eu^{3+} , Dy^{3+} , La^{3+} , Yb^{3+} y/o Mn^{2+} o también los iones de radionucleidos, como emisores

de gamma, emisores de positrones, emisores de electrones Auger, irradiadores Alpha y emisores de fluorescencia, por ejemplo ⁵¹Cr, ⁶⁷Ga, ⁶⁸Ga, ¹¹¹In, ^{99m}Tc, ¹⁴⁰La, ¹⁷⁵Yb, ¹⁵³Sm, ¹⁶⁶Ho, ⁸⁸Y, ⁹⁰Y, ¹⁴⁹Pm, ¹⁷⁷Lu, ⁴⁷Sc, ¹⁴²Pr, ¹⁵⁹Gd, ²¹²Bi, ⁷²As, ⁷²Se, ⁹⁷Ru, ¹⁰⁹Pd, ¹⁰⁵Rh, ¹⁰¹mRh, ¹¹⁹Sb, ¹²⁸Ba, ¹⁹⁷Hg, ²¹¹At, ¹⁶⁹Eu, ²⁰³Pb, ²¹²Pb, ⁶⁴Cu, ⁶⁷Cu, ¹⁸⁸Re, ¹⁸⁶Re, ¹⁹⁸Au y/o ¹⁹⁹Ag.

5 Son ejemplos de iones metálicos adecuados y su respectiva aplicación:

- ¹¹¹In para SPECT
- ⁶⁸Ga para PET
- ⁹⁰Y para la terapia
- Gd, Eu, Mn para MRT

10 • Tantalio, wolframio o u otros elementos con número atómico mayor para la tomografía por computador

En caso que el conjugado de acuerdo con la invención contenga formador de complejos, es particularmente ventajoso integrar gadolinio o manganeso u otro ion metálico fuertemente paramagnético conocido por los expertos, con ayuda de un formador de complejos que se encuentra en el conjugado de acuerdo con la invención. Al respecto, son formadores adecuados de complejos por ejemplo DOTA y DTPA.

15 Además, pueden conjugarse también formadores de complejos - también opcionalmente mediante espaciadores - como radicales hidroxiquinolina, tiourea, guanidina, ditiocarbamato, ácido hidroxámico, amidoxima, ácido aminofosfórico, poliamino (cíclico), mercapto, 1,3-dicarbonilo y éteres corona con actividades en parte muy específica frente a iones de diferentes metales.

20 También pueden estar unidas al conjugado de acuerdo con la invención, funcionalidades para direccionamiento específico de célula, como por ejemplo anticuerpos, fragmentos de anticuerpos o aptámeros. También pueden estar unidos colorantes de fluorescencia o interleuquinas como IL-2.

Los principios activos, péptidos, formadores de complejos u otras funcionalidades pueden estar unidos directamente o por medio de un espaciador, de manera covalente al péptido.

25 Un espaciador, también denominado frecuentemente como agente de enlace, causa un enlace covalente entre dos partes de una molécula, en el caso presente por ejemplo entre el péptido y un principio activo. Se introduce entonces un espaciador por ejemplo cuando la unión entre dos partes de la molécula no sólo debiera ocurrir mediante un enlace químico directo, sino que debiera generarse una cierta separación entre dos partes de la molécula. Igualmente, un espaciador puede poner a disposición las funcionalidades químicas que son necesarias para unir dos partes de una molécula, que de otro modo no reaccionarían mutuamente. Preferiblemente, la conjugación de un espaciador ocurre en el péptido o un principio activo mediante un enlace amida o un enlace éster. Los espaciadores pueden ser por ejemplo hidrocarburos alifáticos, poliéteres (como polietilenglicoles), péptidos o elementos similares con estructura de cadena. El espaciador puede ser estable, es decir bajo condiciones fisiológicas no es o sólo es levemente escindible, o puede ser inestable, es decir al menos bajo condiciones fisiológicas determinadas es escindible.

35 Son ejemplos de grupos funcionales sobre los cuales puede ocurrir una unión directa -NH₂, -SH, -OH, -Hal (por ejemplo -Cl, -Br, -I), -alquino, -NCS, -NCO, SO₂Cl, -azida, -carbonato, -aldehído, -epóxido, -COOH, -COOR, en los que R en este caso es preferiblemente un halógeno o preferiblemente un activador, es decir un buen grupo saliente, por ejemplo N-hidroxisuccinimida, pentafluorofenilo o para-nitrofenilo. Por ejemplo en "Bioconjugate Techniques", Greg T. Hermanson, Academic Press, 1996 en las páginas 137 a 165 se encuentra una visión general de posibles tipos de acoplamiento covalente.

40 Por ejemplo, en el conjugado de acuerdo con la invención, los principios activos pueden estar unidos mediante un agente de unión escindible. Este agente de enlace es entonces escindido *in vivo* bajo determinadas condiciones, por ejemplo por vía enzimática o química, y libera el principio activo. Para este propósito son adecuados agentes de enlace que contienen unión de éster de ácido carboxílico y disulfuro, en el que los primeros grupos son hidrolizados enzimática o químicamente y los últimos son separados mediante intercambio con disulfuro, por ejemplo en presencia de glutatión.

45 Un ejemplo para un espaciador escindible es también un péptido, el cual puede ser escindido de manera focalizada con ayuda de enzimas especiales, propias del cuerpo o también añadidas al cuerpo. Así, por ejemplo die la secuencia DEVD (Asp-Glu-Val-Asp) de péptido, después de la inducción de apoptosis, se escinde por Caspasa-3. 50 Con ello, por ejemplo un principio activo que está unido mediante un espaciador así, después de un determinado tiempo de residencia en los riñones puede ser eliminado de los mismos, o también comprobarse una funcionalidad

correspondiente (presencia o ausencia de una enzima determinada) de los riñones. Otros ejemplos son las secuencias CPEN↓FFWGGGG de péptido (Salinas et al. 2008, Biomaterials 29, 2370-2377) o PENFF, que pueden ser escindidas mediante la matriz-metaloproteasa-13.

5 Una forma sencilla de realización de un espaciador escindible es la formación de un éster de ácido carboxílico, el cual puede ser escindido fácilmente mediante esterasas.

Por ello, en una forma preferida de realización de la presente invención, el principio activo está unido mediante un enlace éster. Esto hace posible una escisión exacta de la molécula de principio activo en los riñones. Sin embargo, simultáneamente la unión, previamente al transporte en los riñones, es suficientemente estable para evitar una escisión prematura.

10 Además, un enlace éster fácilmente escindible del principio activo con el transportador de principio activo, hace posible una liberación relativamente rápida del principio activo en el sitio objetivo. La escisión de la unión éster ocurre de manera más rápida en el tiempo, comparada con la degradación del transportador de principio activo, por proteasas.

15 De modo alternativo, el espaciador puede contener una estructura lábil a los ácidos, por ejemplo una hidrazona, una imina, una carboxilhidrazona, un acetal o cetal (véase por ejemplo Haag-R, Kratz-F, Angewandte Chemie página 1218 (2006)).

20 Para la conjugación de principios activos con grupos hidroxilo alifáticos o aromáticos, son ventajosos los carbonatos. Ellos se sintetizan a partir de los correspondientes alcoholes o fenoles, mediante reacción con cloroformatos, fácilmente y con elevado rendimiento. Al respecto, es particularmente ventajosa la reacción con cloroformatos, que contienen un enlace triple, como por ejemplo propargilcloroformiato (número CAS 35718-08-2). Mediante el enlace triple así introducido se unen los carbonatos fácilmente escindibles por vía enzimática con azidas, que están incorporadas en el oligómero de péptido, mediante cicloadición 1,3-dipolar, la denominada reacción de Huisgen, fácilmente y bajo condiciones muy suaves.

25 Lo mismo es válido para la conjugación de grupos amino alifáticos o aromáticos, con ayuda de cloroformatos. Para ello, en lugar de los carbonatos se forman los correspondientes carbamatos, que así mismo son fácilmente escindibles mediante esterasas. También aquí es particularmente ventajosa la unión con cloroformatos, que contienen un enlace triple.

De acuerdo con la invención, el por lo menos un principio activo puede estar unido al extremo N y/o C del péptido.

En una forma alternativa de realización, el principio activo puede estar unido en la cadena a un aminoácido.

30 En otra forma alternativa de realización, el principio activo puede estar unido en la cadena entre los aminoácidos.

El péptido de acuerdo con la invención y su conjugado con principio activo son tomados de manera altamente selectiva de los riñones y degradados de modo relativamente rápido. Mediante la elección adecuada de la longitud de cadena y la construcción molecular del péptido, así como mediante la elección adecuada del tipo de unión del principio activo al péptido, se ajusta al respecto la farmacocinética deseada, es decir la liberación deseada de principio activo en el sitio objetivo, es decir en los riñones.

35 Típicamente, los péptidos más largos conducen a un retardo en la liberación, comparado con los péptidos más cortos. Los péptidos más largos tienen por ejemplo longitudes de cadena de 20 a 40 aminoácidos, preferiblemente 30 aminoácidos, mientras por péptidos más cortos se entienden típicamente longitudes de cadena de 3 a 10 aminoácidos, preferiblemente 5 aminoácidos.

40 La liberación de principios activos enlazados en el extremo C ocurre esencialmente más rápido que la de los principios activos enlazados en el extremo N. Sin estar atados a esta teoría, se presume que la etapa que determina la velocidad en la degradación de péptido está influida sobre todo por carboxipeptidasas, que degradan el péptido comenzando por el extremo C.

45 De acuerdo con la invención se liberan claramente de modo más lento también los principios activos incorporados en la cadena como ramificación, comparado con los enlazados de modo lineal. La degradación enzimática de estructuras de péptidos ramificados es básicamente claramente más difícil que la degradación de los péptidos lineales.

50 Además, de acuerdo con la invención se controla la velocidad de liberación de principio activo también mediante el tipo de su unión al oligómero. Un enlace éster fácilmente escindible hace posible una liberación relativamente rápida del principio activo en el sitio objetivo (véase arriba).

Es objetivo de la presente invención también un procedimiento para la preparación de un conjugado, como se

describió anteriormente, caracterizado porque al péptido se conjuga un principio activo opcionalmente activado.

La preparación de los conjugados de acuerdo con la invención exhibe típicamente al menos las siguientes etapas de procedimiento:

a) preparación de un péptido de acuerdo con la invención, que exhibe al menos un grupo reactivo,

5 b) conjugación de por lo menos un principio activo opcionalmente activado, al péptido de la etapa a).

En una forma de realización del procedimiento de acuerdo con la invención, en caso que el conjugado contenga como principio activo un formador de complejos, en una primera etapa c) el compuesto obtenido en la etapa b) entra en contacto con sales metálicas, de modo que los iones metálicos forman complejos con los formadores de complejos.

10 Los péptidos del conjugado de acuerdo con la invención pueden ser preparados en particular con diferentes procedimientos conocidos por los expertos en el ámbito de la síntesis de péptidos.

Típicamente, la preparación ocurre mediante una síntesis en fase sólida. Una fase sólida es de acuerdo con la invención un material de unión orgánico, inorgánico o inorgánico/orgánico, que puede ser usado como resina o soporte en la síntesis de fase sólida. Además, de acuerdo con la invención son válidas como fases sólidas también superficies de cuerpos moldeados como por ejemplo placas de microtitulación o materiales en partículas, como por ejemplo nanopartículas orgánicas o inorgánicas, partículas de metal o similares.

La síntesis en fase sólida es ejecutada de manera correspondiente en una síntesis convencional de péptidos (por ejemplo síntesis de péptido de Fmoc/tBu o síntesis de péptido de Boc/bencilo). Tales síntesis de fase sólida son conocidas por los expertos. Son libros de texto adecuados para la síntesis de péptidos "Solid-Phase Peptide Synthesis": 289 (Methods in Enzymology) de Sidney P. Colowick (autor), Gregg B. Fields (editor), Melvin I. Simon (editor) Academic Press Inc (noviembre de 1997) o "Fmoc Solid Phase Peptide Synthesis: A Practical Approach" de W. Chan (autor), W. C. Chan (editor), Peter D. White (editor) Oxford Univ Pr (2 de marzo de 2000). Al respecto, los monómeros usados en cada caso son elegidos de modo que surge un péptido correspondiente a la presente invención. Dependiendo del tipo de unidad de aminoácido, puede usarse para la síntesis directamente una unidad del aminoácido transformada en derivado o una unidad del aminoácido protegida primero en la posición prevista para la formación del derivado. Una vez ocurrida la síntesis del péptido, puede hacerse entonces aún en la fase sólida o después de la escisión de la fase sólida, en solución, la subsiguiente formación del derivado con el principio activo.

En este caso, la unión del principio activo ocurre preferiblemente sobre el péptido listo, es decir, después de ocurrida la síntesis del péptido en fase sólida aún en su la fase sólida, o en solución después de su escisión.

Si el principio activo debiera estar unido por ejemplo al extremo N del péptido, los péptidos son generados típicamente con un grupo protector terminal amino, como por ejemplo Fmoc. En tanto el principio activo pueda resistir las condiciones que se usan para, por un lado, escindir el péptido de la resina de síntesis y, por otro lado, proteger las cadenas laterales, puede escindirse el grupo Fmoc del extremo N del péptido totalmente unido a la resina, de modo que el principio activo puede estar unido a la amina libre del extremo N. En tales casos, típicamente se activa el principio activo mediante procedimientos, que son conocidos en la técnica general porque generan un grupo éster activo o carbonato activo, que es eficiente para formar un enlace amida o carbamato con el grupo oligómero-amino. Naturalmente puede usarse también otra química de unión.

Para minimizar las reacciones secundarias, pueden bloquearse los grupos guanidino y amidino usando grupos protectores convencionales, como por ejemplo grupos carbobenciloxi (CBZ), di-t-BOC, PMC, Pbf, N-NO₂ y similares.

Las reacciones de acoplamiento son ejecutadas mediante procedimientos de acoplamiento conocidos en solventes, como por ejemplo N,N-dimetilformamida (DMF), N-metilpirrolidona, diclorometano y/o agua. Los ejemplos de reactivos de acoplamiento comprenden hexafluorofosfato de O-benzotriazoliloxitetrametiluronio (HATU), dicitclohexilcarbodiimida, bromuro de bromo-tris(pirrolidino)fosfonio (PyBroP), etc. Pueden estar presentes otros reactivos, como por ejemplo N,N-dimetilaminopiridina (DMAP), 4-pirrolidinopiridina, N-hidroxisuccinimida o N-hidroxibenzotriazol.

Si la molécula contiene formadores de complejos, los iones metálicos pueden estar formando complejos de acuerdo con métodos conocidos.

La presente invención se basa en el efecto sorprendente según el cual los péptidos y conjugados de acuerdo con la invención, por ejemplo después de inyección en la corriente sanguínea o después de inyección subcutánea, se enriquecen casi exclusivamente en los riñones. De acuerdo con ello, los péptidos y/o conjugados de acuerdo con la invención son adecuados para el uso en procedimientos terapéuticos para el tratamiento de los riñones, en

procedimientos de formación de imagen para la representación de los riñones así como para el direccionamiento a los riñones.

5 Por ello, es objetivo de la presente invención también un péptido o conjugado de acuerdo con la invención, como se describió anteriormente, para el uso como fármaco, como en particular en una composición terapéutica o una composición de refuerzo de imagen.

Es objetivo de la presente invención el péptido o conjugado, como se describió anteriormente, para el uso para el direccionamiento a los riñones. Al respecto, el direccionamiento a los riñones sirve preferiblemente para enriquecer en los riñones fármacos para usos farmacéuticos o diagnósticos, es decir para generar, en relación con los restos del cuerpo, un registro aumentado en los riñones.

10 De modo alternativo, puede enriquecerse en los riñones también el péptido sólo, sin un principio activo unido. Debido a su elevada selectividad para los riñones, por ello mediante la administración del péptido puede evitarse o al menos reducirse por ejemplo el enriquecimiento de sustancias dañinas para los riñones, las cuales se administran en el marco de una terapia.

15 Por ello, es objetivo de la presente invención también el péptido como se describió anteriormente, para el uso en la protección de los riñones.

20 En la terapia de radiopéptido de tumores neuroendocrinos se usa por ejemplo la sustancia DOTATOC. Este octapéptido conjugado con DOTA tiene el efecto secundario indeseado de ser absorbido en hasta aproximadamente 20 % de los riñones (esto es células de túbulo proximal, PTC). Al respecto, los daños en los riñones son limitantes de los ciclos de terapia por dosificación. Puede reducirse la absorción de DOTATOC, cuando el péptido de acuerdo con la invención es administrado simultáneamente. Sin estar atados a la teoría, se presume que al respecto el receptor (megalina/cubilina) responsable por la absorción de DOTATOC está bloqueado en el lado apical de los PTCs y por ello llega más DOTATOC en la orina.

25 El uso de los conjugados de acuerdo con la invención para el direccionamiento a los riñones es ventajoso en comparación con otras estructuras de bajo peso molecular conocidas, puesto que también en la conjugación con el principio activo, éstas muestran un muy buen enriquecimiento los riñones. La comparación con péptidos descritos en la literatura, que pueden ser absorbidos selectivamente en los riñones (APASLYN y HITSLLS, los aminoácidos son indicados en el código de una letra (Denby et al.: Molecular Therapy 15, 9, 2007, 1647-1654)), da como resultado que incluso la mayoría de los péptidos exhiben una selectividad más o menos fuertemente pronunciada en los riñones después de la aplicación intravenosa, sin embargo no en la conjugación con un principio activo.

30 El uso farmacológico de las estructuras de péptido como sistema de transporte para el tratamiento de enfermedades de los riñones es dado sólo entonces cuando estos péptidos, junto con principios activos conjugados, son absorbidos casi exclusivamente en los riñones, es decir las células de túbulo proximal. Sólo así se tiene como resultado una ventaja significativa frente a la entrega sistémica de principio activo.

35 Además, los conjugados de acuerdo con la invención hacen posible que, aparte de la entrega intravenosa de péptidos/proteínas descrita en la literatura, al transporte de principio activo en los riñones, también la entrega subcutánea e intraperitoneal de los conjugados de péptido-principio activo de acuerdo con la invención, puede dirigirse exitosamente a los riñones.

La ruta de administración intraperitoneal, y en especial la subcutánea, es ventajosa para el médico y el paciente, para la aplicación de un principio activo potencial, respecto a la ruta intravenosa.

40 También es objetivo de la presente invención un fármaco o una composición farmacéutica, en particular una composición terapéutica o una con fuerte formación de imagen, que contiene por lo menos un péptido o conjugado de acuerdo con la invención, como se describió anteriormente.

De acuerdo con la invención, el péptido o conjugado pueden estar presentes también en forma de sus sales y estereoisómeros farmacéuticamente utilizables, incluyendo sus mezclas en todas las relaciones.

45 También está de acuerdo con la invención el uso de los péptidos y/o conjugados de acuerdo con la invención, para la fabricación de una composición farmacéutica o un fármaco, en particular una composición farmacéutica, y/o una composición con fuerte formación de imagen (por ejemplo un agente de contraste) y/o un trazador marcado con radioactividad para la formación de imágenes en la medicina nuclear.

50 También puede ser de acuerdo con la invención un kit para la fabricación de un fármaco o una composición farmacéutica, en particular una composición terapéutica o con fuerte formación de imagen, que contiene por lo menos un péptido y/o conjugado de acuerdo con la invención. Estos péptido y/o conjugado pueden reaccionar entonces, dependiendo del propósito de aplicación, por ejemplo con un principio activo adecuado, para la

fabricación de una composición terapéutica o con fuerte formación de imagen.

Se entienden como composición con fuerte formación de imagen o medio de contraste o sustancia con acción de refuerzo de imagen, las sustancias o composiciones de acuerdo con la invención que en determinados procedimientos diagnósticos mejoran la presentación del órgano objetivo, por regla general en los que el contraste respecto al alrededor o la señal del órgano objetivo, se elevan en relación con el alrededor.

5

La presente invención se refiere además los péptidos y/o conjugados de acuerdo con la invención, y/o sus sales y estereoisómeros farmacéuticamente utilizables, incluyendo sus mezclas en todas las relaciones, así como dado el caso soportes y/o sustancias auxiliares

- como fármaco

10 - para el uso como fármaco

- como principio activo componente eficaz en fármaco

- como diagnóstico

- para el uso como diagnóstico

- para el uso en el direccionamiento a los riñones

15 - así como en particular como fármaco para el tratamiento de enfermedades de los riñones.

Una composición terapéutica, una composición farmacéutica o un fármaco consiste por regla general por lo menos en el principio activo - en este caso el péptido o conjugado de acuerdo con la invención con el principio activo unido - y uno o varios solventes y/o sustancias soporte adecuados, que permiten la aplicación de la composición terapéutica.

20 Una composición diagnóstica o un diagnóstico sirve en procedimientos diagnósticos, como composición que refuerza la imagen o que forma imagen. Un diagnóstico consiste por regla general por lo menos en la fuente de señal, es decir en el componente que forma imagen y/o que refuerza imagen - en este caso el conjugado de acuerdo con la invención, en el que en este caso preferiblemente por lo menos un principio activo es un formador de complejos - y uno o varios solventes y/o sustancia de soporte adecuados, que permiten la aplicación de la composición diagnóstica.

25

Para aplicaciones diagnósticas, el conjugado de acuerdo con la invención sirve preferiblemente como fuente de señal en un medio de contraste que refuerza la imagen, de modo que éste puede ser detectado por medio de procedimientos de medicina nuclear y/o radiológicos como SPECT, PET, ultrasonido y o también mediante tomografía de resonancia magnética, procedimientos de formación de imagen de tomografía por computador y ópticos (formación de imagen en el infrarrojo cercano). Los expertos conocen procedimientos de detección y aplicaciones para medios de contraste que refuerzan la imagen. Son ejemplos de aplicaciones adecuadas los diagnósticos de enfermedades de cáncer, problemas neurológicos, validación de la respuesta a una terapia, valoración del grado de deterioro de un riñón en por ejemplo enfermedades autoinmunes y los controles de terapias de gen, aunque también el reconocimiento de modificaciones celulares.

30

Las composiciones farmacéuticas o fármacos o medicamentos se ajustan para la administración mediante cualquier ruta adecuada, por ejemplo por vía oral (incluyendo bucal o sublingual), rectal, nasal, tópica (incluyendo bucal, sublingual o transdérmica), vaginal o parenteral (incluyendo subcutánea, intramuscular, intravenosa o intradérmica). Tales formulaciones pueden ser fabricadas con todos los procedimientos conocidos en la especialidad farmacéutica, en los cuales se juntan por ejemplo el principio activo con el o los soporte(s) o sustancia(s) auxiliar(es).

40

Las formulaciones farmacéuticas adaptadas a la administración oral pueden ser suministradas como unidades separadas, como por ejemplo cápsulas o comprimidos; polvos o granulados; soluciones o suspensiones en líquidos acuosos o no acuosos; espumas comestibles o alimentos en espuma; o emulsiones líquidas aceite en agua o emulsiones líquidas agua en aceite.

De este modo para la administración oral en forma de un comprimido o cápsula, se combinan por ejemplo los componentes de principio activo con un soporte oral, no tóxico, y farmacéuticamente no objetable, inerte, como por ejemplo etanol, glicerina, agua, entre otros. Se fabrican polvos desmenuzando el compuesto hasta una finura adecuada y se mezclan con un soporte farmacéutico desmenuzado de manera similar, como por ejemplo un hidrato de carbono comestible, por ejemplo almidón o manitol. Así mismo, puede estar presente también un saborizante, agente conservante, agente de dispersión y colorante.

50

Se fabrican cápsulas fabricando una mezcla de polvo como se describió anteriormente, y llenando con ella envolturas moldeadas de gelatina. Para el procedimiento de llenado pueden añadirse a la mezcla en polvo agentes de fluidez y lubricantes como por ejemplo ácido silícico altamente disperso, talco, estearato de magnesio, estearato de calcio o polietilenglicol en forma sólida. Así mismo, pueden añadirse agentes de desintegración o promotores de disolución, como por ejemplo agar-agar, carbonato de calcio o carbonato de sodio, para mejorar la disponibilidad del medicamento después de la ingestión de la cápsula.

Además, en caso de desearse o de ser necesario, pueden incorporarse en la mezcla aglutinantes, lubricantes y agentes de desintegración así como colorantes adecuados. A los aglutinantes adecuados pertenecen almidones, gelatina, azúcares naturales, como por ejemplo glucosa o β -lactosa, edulcorantes de maíz, gomas naturales y sintéticas, como por ejemplo acacia, tragacanto o alginato de sodio, carboximetilcelulosa, polietilenglicol, ceras, entre otros. A los lubricantes usados en estas formas de dosificación pertenecen oleato de sodio, estearato de sodio, estearato de magnesio, benzoato de sodio, acetato de sodio, cloruro de sodio, entre otros. A los agentes de desintegración pertenecen, sin limitarse a ellos, almidones, metilcelulosa, agar, bentonita, goma xantano, entre otros. Los comprimidos son formulados fabricando, granulando o comprimiendo en seco por ejemplo una mezcla en polvo, añadiendo un lubricante y un agente de desintegración y comprimiendo la totalidad hasta comprimidos. Se fabrica una mezcla en polvo mezclando el compuesto desmenuzado de la manera adecuada con un agente diluyente o una base, como se describió anteriormente, y dado el caso con un aglutinante, como por ejemplo carboximetilcelulosa, un alginato, gelatina o polivinilpirrolidona, un agente para retardar la disolución, como por ejemplo parafina, un acelerador de resorción, como por ejemplo una sal cuaternaria y/o un agente de absorción, como por ejemplo bentonita, caolín o fosfato de dicalcio. Se granula la mezcla en polvo humectándola con un aglutinante, como por ejemplo jarabe, pasta de almidón, mucílago de acacia o soluciones de materiales de celulosa o de polímero y comprimiendo a través de una criba. Como alternativa para la granulación puede pasarse la mezcla en polvo a través de una máquina de formación de comprimidos, en lo cual surgen grumos moldeados de manera irregular, que se rompen para dar granulados. Los granulados pueden ser engrasados mediante adición de ácido esteárico, una sal de estearato, talco o aceite mineral, para impedir una adhesión al molde de inyección de comprimidos. La mezcla engrasada es entonces comprimida hasta dar comprimidos. Los compuestos de acuerdo con la invención pueden combinarse también con un soporte inerte que fluye libremente y entonces, sin realización de las etapas de granulación o compresión en seco, comprimirse directamente hasta dar comprimidos. Puede estar presente una capa protectora transparente o no transparente, consistente en un sello de goma laca, una capa de azúcar o material polimérico y una capa de brillo de cera. A estos recubrimientos pueden añadirse colorantes, para poder diferenciar entre diferentes unidades de dosificación.

Pueden fabricarse líquidos orales, como por ejemplo soluciones, jarabes y elixires, en forma de unidades de dosificación, de modo que una cantidad dada contiene una cantidad preestablecida del compuesto. Los jarabes son fabricados disolviendo el compuesto en una solución acuosa con saborizante adecuado, mientras los elixires son fabricados usando un soporte alcohólico no tóxico. Las suspensiones pueden ser formuladas mediante dispersión del compuesto en un soporte no tóxico. Los promotores de disolución y emulsificantes, como por ejemplo isoestearilalcoholes etoxilados y polioxietilensorbitoléter, agentes conservantes, aditivos saborizantes, como por ejemplo aceite de menta o edulcorantes naturales o sacarina u otros edulcorantes artificiales, entre otros, pueden ser añadidos así mismo.

Las formulaciones de unidad de dosificación para la administración oral pueden ser, dado el caso, encerradas en microcápsulas. La formulación se fabrica también de modo que la liberación se prolonga o retarda, como por ejemplo mediante recubrimiento o incorporación del material en partículas, dentro de polímeros, ceras, etc.

Los péptidos o conjugados de acuerdo con la invención son administrados también en forma de sistemas de suministro de liposomas, como por ejemplo vesículas unilaminares pequeñas, vesículas unilaminares grandes y vesículas multilaminares. Los liposomas pueden estar formados de diferentes fosfolípidos, como por ejemplo colesterol, estearilamina o fosfatidilcolinas.

Los péptidos o conjugados de acuerdo con la invención pueden ser suministrados también usando anticuerpos monoclonales como soportes individuales, a los cuales están acoplados los péptidos o conjugados. Los péptidos o conjugados pueden estar acoplados también con polímeros solubles, como soportes de fármaco dirigidos al objetivo. Tales polímeros pueden comprender polivinilpirrolidona, copolímeros de pirano, polihidroxipropilmetacrilamidofenol, polihidroxietilaspártamidofenol u óxido de polietileno-polilisina, sustituidos con radicales palmitoilo. Además, los compuestos pueden estar acoplados a una categoría de polímeros biológicamente degradables, que son adecuados para alcanzar una liberación controlada de un fármaco, por ejemplo ácido poliláctico, poli- ϵ -caprolactona, ácido polihidroxibutírico, poliortoésteres, poliacetales, polidihidroxipirano, policianoacrilato y copolímero de bloque con entrecruzamiento transversal o anfipáticos, de hidrogeles.

Las formulaciones farmacéuticas adaptadas a la administración transdérmica pueden ser ofrecidas como parches independientes para contacto largo e íntimo con la epidermis del receptor. De este modo por ejemplo el principio

activo puede ser suministrado desde el parche por medio de iontoforesis, como se describe en general en Pharmaceutical Research, 3(6), 318 (1986).

Los compuestos farmacéuticos adaptados a la administración tópica pueden ser formulados como pomadas, cremas, suspensiones, lociones, polvos, soluciones, pastas, geles, atomizados, aerosoles o aceites.

5 Las formulaciones farmacéuticas adaptadas a la administración rectal pueden ser suministradas en forma de supositorios o enemas.

10 Las formulaciones farmacéuticas adaptadas a la administración nasal, en las cuales la sustancia soporte es un sólido, contienen un polvo grueso con un tamaño de partícula por ejemplo en el intervalo de 20-500 micrómetros, que es administrado en el modo y forma como se aspira el rapé, es decir mediante inhalación rápida a través de las vías nasales, desde un recipiente con el polvo, que se mantiene ajustado a la nariz. Las formulaciones adecuadas para la administración, atomizados nasales o gotas nasales con un líquido como sustancias soporte, comprenden soluciones del principio activo en agua o aceite.

15 Las formulaciones farmacéuticas adaptadas a la administración mediante inhalación comprenden polvos o nieblas de partícula fina, que pueden ser generados por medio de diferentes tipos de dosificadores que están bajo presión, con aerosoles, nebulizadores o insufladores.

20 A las formulaciones farmacéuticas adaptadas a la administración parenteral pertenecen soluciones estériles para inyección acuosas y no acuosas que contienen antioxidantes, amortiguadores, bacteriostáticos y solutos, mediante los cuales la formulación es hecha isotónica con la sangre del receptor que va a ser tratado; así como suspensiones estériles acuosas y no acuosas, que pueden contener agentes de suspensión y espesantes. Las formulaciones pueden ser administradas en recipientes de dosificación individual o de dosificación múltiple, por ejemplo ampollas y frascos sellados, y almacenadas en estado seco por congelación (liofilizadas), de modo que es necesaria sólo la adición de líquidos soporte estériles, por ejemplo agua para propósitos de inyección, inmediatamente antes del uso. Las soluciones para inyección y suspensiones fabricadas de acuerdo con la receta pueden ser fabricadas a partir de polvos, granulados y comprimidos estériles.

25 Preferiblemente los péptidos o conjugados de acuerdo con la invención son administrados de modo parenteral.

Se entiende que las formulaciones, aparte de los componentes mencionados en particular anteriormente, pueden contener otros agentes comunes en la especialidad, referidos al respectivo tipo de formulación; de este modo por ejemplo las formulaciones adecuadas para la administración oral pueden contener saborizantes.

30 Una cantidad terapéuticamente eficaz del péptido o conjugado de acuerdo con la invención depende de una serie de factores, incluyendo el tipo de principio activo acoplado, la edad y peso del paciente, el estado exacto de enfermedad que requiere el tratamiento, así como su grado de severidad, la naturaleza de la formulación así como la ruta de administración.

35 Es objetivo de la presente invención también un kit para la fabricación de una composición farmacéutica, en particular una composición terapéutica o que refuerza la imagen, que contiene por lo menos un péptido o conjugado de acuerdo con la invención. Si el conjugado exhibe un formador de complejos, preferiblemente este no tiene en forma de complejo aún ningún ion metálico con efecto terapéutico o de refuerzo de la imagen. El péptido o conjugado de acuerdo con la invención puede estar presente disuelto en el kit en un solvente (por ejemplo un amortiguador acuoso) o preferiblemente como liofilizado.

40 Puesto que los iones metálicos, que están formando complejo con el formador de complejo del conjugado de acuerdo con la invención, son radioactivos para muchas aplicaciones, las composiciones farmacéuticas que contienen el conjugado, no pueden ser fabricadas con cualquier anticipación. Además, debido a la reactividad, para la fabricación deben observarse determinadas disposiciones para la seguridad en el trabajo. Por esta razón, se prefiere de acuerdo con la invención poner a disposición un kit que contiene el conjugado de acuerdo con la invención, en el que el formador de complejos no tiene en forma de complejo los iones metálicos necesarios para la aplicación definitiva.

45 Se encontró que los péptidos o conjugados de acuerdo con la invención, ya corto tiempo después de la aplicación, específicamente, es decir exclusivamente o casi exclusivamente se enriquecen en los riñones. En el caso de la entrega intravenosa preferida de los conjugados de acuerdo con la invención, ya después de 5 minutos se observa un enriquecimiento en los riñones. Después de una hora se encuentra más de 30%, preferiblemente más de 50%, en particular preferiblemente más de 70%, de modo muy particular preferiblemente más de 80% de las dosificaciones inyectadas, en los riñones (datos de % se basan en la medición de la radioactividad).

Para estudios de distribución en órganos, con conjugados de acuerdo con la invención marcados con radioactividad (por ejemplo mediciones de PET u otra formación no invasiva de imagen), una hora después de aplicación

intravenosa los conjugados de acuerdo con la invención muestran típicamente por lo menos un enriquecimiento de 2 veces, preferiblemente por lo menos uno de 5 veces, de modo particular preferiblemente por lo menos uno de 10 veces en los riñones, en relación con el resto del cuerpo (sangre, corazón, pulmones, bazo, hígado, músculos, cerebro). Esto significa que la señal que tiene correlación directa con la cantidad del compuesto marcado con radioactividad, en los riñones es por lo menos 2 veces más fuerte que la suma de la señal obtenida conjuntamente para sangre, corazón, pulmones, bazo, hígado, músculo y cerebro.

Por ello, los péptidos o conjugados de acuerdo con la invención pueden ser usados de manera sobresaliente para aplicaciones diagnósticas, como escintigrafía de riñones, PET de riñones y MRT de riñones, pruebas de la función renal en general, para la terapia y diagnóstico de cáncer de riñón y dado el caso metástasis de cáncer de riñón, CT de los riñones y/o ultrasonido de los riñones, así como direccionamiento focalizado a los riñones.

Las aplicaciones terapéuticas están en particular en el direccionamiento de fármacos para el órgano riñón. En particular, los péptidos o conjugados de acuerdo con la invención pueden servir como fármacos para el tratamiento de enfermedades de los riñones o enfermedades en cuyo tratamiento se usen fármacos cuyo sitio de acción es el riñón. Al respecto, preferiblemente a los péptidos de acuerdo con la invención se unen uno o varios principios activos como antibióticos, inhibidores de inflamación, inhibidores de ACE, diuréticos, inmunosupresores o quimioterapéutico, por ejemplo mediante secuencias escindibles con espaciador.

También es posible el uso de los conjugados de acuerdo con la invención, para bloquear la absorción de retorno de sustancias tóxicas para el riñón.

Además, los péptidos de acuerdo con la invención pueden ser usados también para impedir o reducir la absorción de sustancias dañinas para los riñones en los riñones.

Direccionamiento a los riñones significa de acuerdo con la invención el logro de un aumento en la absorción de la sustancia aplicada en los riñones, en relación con el resto del cuerpo. En el direccionamiento a los riñones con el péptido o conjugado de acuerdo con la invención, mediante entrega de un péptido o conjugado de acuerdo con la invención se alcanza preferiblemente un enriquecimiento de por lo menos 2 veces, preferiblemente por lo menos uno de 5 veces, en particular preferiblemente por lo menos uno de 10 veces en los riñones, en relación con el resto del cuerpo (sangre, corazón, pulmones, bazo, hígado, músculos, cerebro). Estos valores son determinados por medio de estudios de distribución en órganos, con conjugados de acuerdo con la invención marcados con radioactividad (por ejemplo mediciones PET u otra formación no invasiva de imagen). El enriquecimiento en los riñones ocurre, dependiendo del tipo de aplicación, típicamente después de 30 minutos a 8 horas.

Ilustraciones:

Ilust. 1 muestra la influencia de la longitud de cadena en la liberación de principio activo para las estructuras MAG3-KKEEEKKKEEEKKEEEK y MAG3-KKKEEEKKKEEEKKKEEEKKKEEEKKKEEEKKEEEE (unión en el extremo N del principio activo - Ilust. 1, arriba) y KKEEEKKKEEEKKKEEEE-y y KKEEEKKKEEEKKKEEEKKKEEEKKKEEEKKEEEE-y (unión en el extremo C del principio activo - Ilust. 1, abajo).

Ilust. 2 muestra la influencia de la longitud de cadena en la liberación de principio activo para la estructura y-KKEEEKKKEEEKKKEEEK (unión en el extremo N del principio activo -Ilust. 2, abajo) y las estructuras KKEEEKKKEEEKKKEEEE-y y KKEEEKKKEEEKKKEEEKKKEEEKKKEEEKKKEEEE-y (unión en el extremo C del principio activo -Ilust. 2, arriba).

Ilust. 3, compara la distribución en órganos de las dos estructuras KKEEEKK(y)EEEEKKEEEE (131-yodo-tirosina ramificado en cadena) y KKEEEKyEEEEKKEEEK (yodo 131-tirosina lineal en cadena) una hora después de la administración.

Ilust. 4 compara la influencia del tipo de unión en virtud de las estructuras y-KKEEEKKKEEEKKKEEEK (unión del principio activo mediante un enlace amida, Ilust. 4, arriba) y y_oKKEEEKKKEEEKKKEEEK (unión del principio activo mediante enlace éster, Ilust. 4, abajo).

Ilust. 5 compara la distribución escintigráfica de los péptidos (APASLYN)₂, y(MARIA)₃, y(MARIA)₃ como conjugado de ácido lipónico (LA) y y(KKEEEE)₃ como conjugado de ácido lipónico en el modelo animal de ratón después de diferentes tiempos.

Ilust. 6 muestra la distribución escintigráfica del péptido y(KKQQQ)₃K-NH₂ después de administración.

Ilust.7 muestra la distribución escintigráfica del péptido y(KKQQQ)₃K-NH₂ como conjugado de ácido lipónico después de la administración.

Ilust. 8 muestra la distribución escintigráfica del péptido (yD8) después de administración intravenosa a un ratón

NMRI.

Ilust. 9 compara la distribución de órganos del conjugado marcado con yodo 125 y(KKEEE)₃K en función de la ruta de administración.

5 Ilust. 10 compara la distribución escintigráfica de los péptidos y(KKKEE)₅K (Ilust. 10a), y(KKKKEE)₃K (Ilust. 10b) y y(RREEE)₃R (Ilust. 10c) marcados de modo radioactivo con yodo-125, en cada caso 1 hora después de aplicación intravenosa en ratones NMRI.

Ilust. 11 muestra la distribución escintigráfica del conjugado de principio activo unido por el extremo N al ácido diacetilcafeico (KKEEE)₃K después de aplicación intravenosa en un ratón NMRI.

10 Ilust. 12 muestra la distribución escintigráfica de la molécula conjugada dos veces yKKK(DCA)EEEEKKEEEKKK(DCA)EEEEK (CDA= ácido diacetilcafeico) después de aplicación intravenosa en un ratón NMRI.

Ilust. 13 muestra la distribución escintigráfica de ¹²⁵I-y(KKKε(ácido lipónico)EEE)₃K después de aplicación intravenosa en un ratón NMRI.

15 También, sin otras realizaciones, se asume de ello que un experto puede usar las descripciones anteriores en el alcance más amplio. Por ello, las formas de realización y ejemplos preferidos son asumidos solamente como descriptivos, en ningún caso como divulgación limitante de ningún modo.

Ejemplos

1. Síntesis de materiales

1.1 Síntesis de péptidos en fase sólida

20 Los péptidos son fabricados como soporte polimérico en el sintetizador de péptidos totalmente automático ABI 433A de la compañía Applied Biosystems GmbH (Carlsbad, CA, EEUU) de acuerdo con la estrategia Fmoc/tBu usando resina Tentagel S RAM (grado de carga: 0,24 mmol/g; Rapp Polymere, Tübingen, Alemania). Como materiales de partida se utilizan aminoácidos Fmoc (Fmoc-AS-OH; Novabiochem, Merck KGaA, Darmstadt, Alemania) con grupos protectores de cadena lateral lábiles al ácido (por ejemplo Arg(Pbf), Asn(Trt), Asp(OtBu), Cys(Trt), Gln(Trt), Glu(OtBu), His(Trt), Lys(Boc), Ser(tBu), Thr(tBu), Tyr(tBu)). El ciclo de síntesis consiste en a) escisión del grupo protector Fmoc con piperidina al 20% en N-metil-2-pirrolidona (NMP), b) etapa de lavado con NMP, c) acoplamiento: Fmoc-AS-OH/2-(1H-benzotriazol-1-il)- hexafluoro fosfato de 1,3,3-tetrametiluronio (HBTU) /diisopropiletilamina (DIPEA)/resina de péptido 10/10/20/1, 8 min, d) etapa de lavado con NMP. Las efectividades de las escisiones de Fmoc son controladas por medio de mediciones automatizadas de conductividad. Los péptidos son escindidos de la resina con ácido trifluoroacético (TFA)/H₂O/triisopropilsilano (TIPS) (95/2,5/2,5) (2 h a temperatura ambiente), precipitados en metil-tert.-butiléter (MTBE) frío, separados por medio de centrifugación (4000 rpm, 5 min), secados al vacío y liofilizados desde acetonitrilo/H₂O (1:1).

35 MAG3 es un fragmento de péptido de 3 unidades de glicina y un derivado de ácido tioglicólico, que es fabricado en el sintetizador de péptidos, como se describió arriba, (es decir la secuencia deseada de péptidos es alargada en la unidad MAG3).

1.2 Purificación y caracterización de péptidos

40 La purificación del péptido escindido de la resina, por medio de HPLC semipreparativa es ejecutada con un equipo LaPrep (VWR GmbH, Darmstadt, Alemania). Como columna se usa una columna Waters XBridge BEH130 PREP C18 (5 µm, 19 x 150 mm) (rata de flujo: 8 - 20 ml/min; solvente: 0,1 % de TFA en agua hasta 0,1 % de TFA en acetonitrilo). Para la separación se usa un gradiente de agua a acetonitrilo, el cual es adaptado a las propiedades físicoquímicas del péptido correspondiente. El péptido purificado es obtenido después de liofilización.

45 Para la caracterización los péptidos fabricados son analizados por medio de HPLC analítica (Agilent 1100) y HPLC-MS (Exactive, Thermo Fisher Scientific). El análisis por HPLC bajo condiciones estándar ocurre mediante un gradiente lineal de 0,1 % de TFA en agua a 0,1 % de TFA en acetonitrilo en 5 min (condiciones: columna ChromolithR Performance RP-18e, 100 x 3 mm; rata de flujo: 2 ml/min, longitud de onda = 214 nm). Para la espectrometría de masas sirve un Agilent 1200 como sistema HPLC (condiciones: columna Hypersil Gold C18, 0.21 x 200 mm, gradiente: de 0,05 % de TFA en agua a 0,05 % de TFA en acetonitrilo en 30 min, rata de flujo: 200 µl/min, horno de columna: 60 °C, longitud de onda = 214 nm).

1.3 Introducción de yodo radioactivo en los péptidos

50 Para la marcación se usa una solución madre 1 mM del péptido que va a ser marcado, en agua (eventualmente

tiene que añadirse dimetilsulfóxido (DMSO) para la mejor solubilidad). Se marcan péptidos que tienen tirosina con yodo 123, yodo 125 o yodo 131 (Perkin-Elmer, Waltham, MA, EEUU) mediante el método de la cloramina-T. Para ello a 10 μ l de la solución madre se añaden 20 μ l de amortiguador de fosfato (0,25 M, pH 7,4) y se añade la cantidad deseada de yodo radioactivo. Para la marcación se agregan 5 μ l de cloramina-T (2 mg/ml H₂O). La reacción ocurre por 30 segundos y es interrumpida a continuación con 10 μ l de una solución saturada de metionina. Para separar el yodo libre y los productos secundarios, se purifica la mezcla de reacción por medio de HPLC semipreparativa (Chromolith RP-18e, 100 x 4.6 mm). Para la separación se usa un gradiente lineal de 0,1 % de TFA en agua a 0,1 % de TFA en acetonitrilo en 10 minutos (rata de flujo: 2 ml/min, absorción en UV a 214 nm, detección y). A continuación se elimina el solvente en el evaporador rotativo y se incorpora el péptido marcado en el amortiguador deseado.

1.4 Marcación radioactiva de MAG3 con ^{99m}Tecnecio

Para la marcación se añaden 10 μ l de una solución 1 mM de péptido a 10 μ l de amortiguador de fosfato (0,5 M, pH 9). A continuación se agregan 4 μ l de tartrato de sodio (100 mg/ml H₂O), 2 μ l de solución de lactosa (100 mg/ml H₂O) y 1 μ l de solución de SnCl₂ (10 mg/ml de SnCl₂ x 2 H₂O). Para la preparación de la solución de SnCl₂ se disuelven 80 mg/ml en ácido clorhídrico concentrado bajo calentamiento suave y se diluye con agua a 10 mg/ml. Se añade la actividad necesaria de ^{99m}Tc (a partir de generador de tecnecio) y a continuación se calienta la solución por 30 min a 95 °C, se purifica mediante HPLC semipreparativa (véase 1.3), se elimina del solvente y se incorpora en 300 μ l de una solución estéril de NaCl al 0.9 %.

1.5 Preparación de ácido lipónico -y(KKEEE)₃K

En el sintetizador de péptidos se prepara el péptido y(KKEEE)₃K como se describe bajo 1.1, por medio de síntesis en fase sólida con la estrategia Fmoc/tBu usando los aminoácidos Fmoc-Lys(Boc)-OH, Fmoc-Glu(OtBu)-OH y Fmoc-Tyr(tBu)-OH (Novabiochem, Merck KGaA, Darmstadt, Alemania). No se escinde primero el péptido de la resina, sino que después del retiro final de protección de Fmoc se suspende en NMP (por 100 mg de resina de péptidos se usa 1 ml de NMP). Entretanto se disuelve ácido lipónico (RS) (Merck KGaA, Darmstadt, Alemania; 4 equivalentes referidos a la carga de resina) en NMP (1 ml por 100 mg), se añade HBTU (4 eq.) y se agita a temperatura ambiente por aproximadamente 10 min. Se añade la mezcla de reacción a la resina del péptido, se agrega DIPEA (10 eq.) y se agita vigorosamente a temperatura ambiente por aproximadamente 4 h. Se lava la resina 5 x con NMP y 5 x con diclorometano (DCM) y se seca al vacío por aproximadamente 4 h. Se escinde de la resina el conjugado de ácido lipónico-péptido, con TFA/tioanisol /anisol (90/8/2) por aproximadamente 1 h a temperatura ambiente, se precipita en MTBE frío, se separa mediante centrifugación (4000 rpm, 5 min), se seca al vacío, se liofiliza desde acetonitrilo/H₂O (1:1) y se purifica como se describió bajo 1.2.

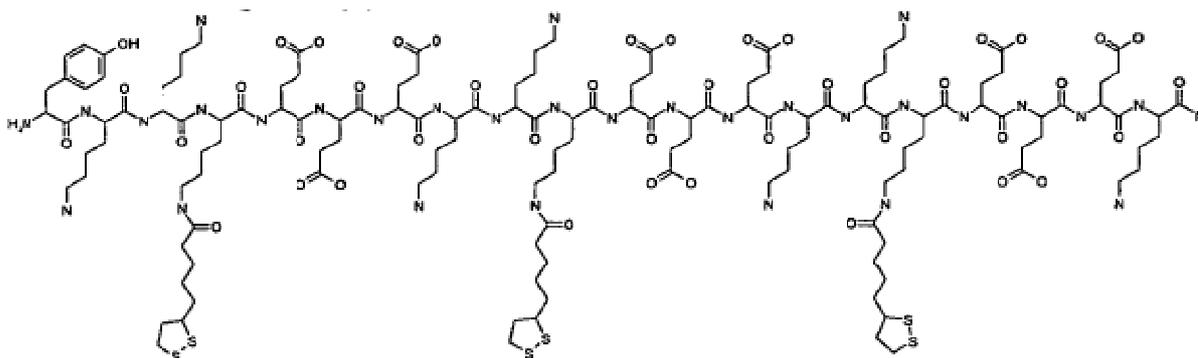
De manera análoga se preparan también conjugados con otros principios activos.

1.6 Preparación de yKKK(ácido diacetilcafeico)(EEEKK)2K(ácido diacetilcafeico)EEEEK

Para la conjugación péptica de ácido diacetilcafeico a una cadena lateral de lisina se incorpora el aminoácido Fmoc-Lys(Mmt)-OH en la secuencia de la columna vertebral de péptido. Al respecto, antes de la escisión, a la resina de péptido preparada como bajo 1.1 se añade por 3 min diclorometano (DCM)/trisisopropilsilano/TFA (94:5:1) y se lava 5 x con DCM. Se repite este procedimiento 3 veces. Para el acoplamiento a la cadena lateral de lisina desprotegida de modo ortogonal, se disuelven 4 eq. de ácido diacetilcafeico en NMP, se le añaden 4 eq. de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)-carbodiimida (EDC), 4 eq. de etilciano(hidroxiimino)acetato (Oxyrna Pure) y 10 eq. de diisopropiletamina (DIPEA), se agita a temperatura ambiente por aproximadamente 10 min, a continuación se añade a la resina de péptido. Se agita vigorosamente la mezcla de reacción por aproximadamente 1 h a temperatura ambiente, se lava 5 x con NMP y 5 x con DCM y se seca al vacío. Se escinde de la resina el péptido funcionalizado como se describe bajo 1.1 y se purifica como se describe bajo 1.2.

De manera análoga se preparan también conjugados con otros principios activos.

1.7 Preparación de y(KKKε(ácido lipónico)EEE)₃K



Peso molecular = 3158,95
 Masa exacta = 3185
 Fórmula molecular = C₁₃₅H₂₃₁N₁₁O₄₂S
 Composición molecular = C 51,98% H 7,30% N 13,62% O 21,07% S 6,03%

1.7.1 Síntesis del módulo Fmoc-lisina(ϵ - ácido lipónico)-OH

5 Se disuelven N-hidroxisuccinimida (1,15 g, 10 mmol), ácido α -lipónico (2,02 g, 9,8 mmol) y (1,92 g, 10 mmol) de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDAC) en 50 ml de DMF y se agita a temperatura ambiente por aproximadamente 4 h. Después de ello se añaden a la carga 60 ml de acetato de etilo. Se lava la fase orgánica tres veces con 60 ml agua destilada, tres veces con 60 ml de solución saturada de hidrogenocarbono de sodio y una vez con solución saturada de cloruro de sodio. Se seca la fase de acetato de etilo sobre Na₂SO₄, se filtra y se concentra hasta que está seco.

Rendimiento: 2,23 g (73,5 %)

10 Se suspende Fmoc-Lys-OH (2,65 g, 7,2 mmol) en 110 ml de amortiguador HEPES (pH= 7,4) y se añaden (2,14 g, 7,05 mmol) de éster activo de ácido lipónico (disuelto en 130 ml de Acteon) y se agita a temperatura ambiente. Después de aproximadamente 3 h de tiempo de reacción se ajusta la solución por medio de solución 0,1 N de NaOH a pH 7 y se agita a temperatura ambiente por aproximadamente 20 h. Después de ello se lleva la carga con NaOH 0.1 N a pH 9 y se lava dos veces con aproximadamente 30 ml de acetato de etilo, a continuación con HCl 1 N se ajusta a pH 3, se realiza extracción tres veces con aproximadamente 40 ml de acetato de etilo. Se lavan las fases orgánicas combinadas con solución saturada de cloruro de sodio, se seca sobre Na₂SO₄, se filtra y se concentra hasta que está seco.

Peso de producto crudo: 4,14 g (103, 25 %)

20 La purificación del producto crudo ocurre mediante cromatografía instantánea (fase estacionaria: gel de sílice 60, tamaño de grano: 15 - 40 μ m, empacada por la compañía Götec-Labor Technik GmbH, fase móvil: cloroformo, metanol (con 0,1% de HOAc), flujo: 60 ml/min, carga: aproximadamente 2 g, gradiente: de 100 % a 75 % de cloroformo en 18 min). Se combinan las fracciones de producto (Tr = 9,1 min) y se concentra hasta que está seco.

Peso: 3,18 g (77 %)

1.7.2 Síntesis de péptido-fase sólida

25 Se preparan péptidos con un sintetizador de la compañía Applied Biosystems GmbH (Carlsbad, CA, EEUU), modelo 433A, usando la estrategia de Fmoc/tBu. Las cadenas laterales reactivas de los aminoácidos son protegidas como sigue: Lys(Boc), Glu(tBu) y Tyr(tBu). Como fase sólida sirve resina de amida Rink de la compañía Rapp-Polymere GmbH (grado de carga: 0,24 mmol/g). Los correspondientes aminoácidos, el elemento Fmoc-Lisina(ϵ - ácido lipónico)-OH- y HBTU son usados en exceso de 4 veces. Como solvente se usa NMP y para la respectiva escisión de Fmoc se usa piperidina (20% en NMP).

El péptido protegido es escindido de la resina con TFA:tioanisol:anisol = 90:8:2 (1 ml pro 100 mg) (1 - 2 h), precipitado en MTBE, centrifugado y secado.

1.7.3 Introducción de yodo radioactivo de los péptidos

35 Los péptidos que contienen tirosina son marcados con yodo 125 por medio del método de cloramina-T. Para la marcación se usa una solución madre 1 mM en agua. Cuando se requiera, se añade DMSO para la mejor solubilidad. Para ello, a 10 μ l de la solución madre se añaden 20 μ l de amortiguador de fosfato (0,25 M, pH 7,4) y se añade la cantidad deseada de yodo radioactivo. Para la marcación se adicionan 5 μ l de cloramina-T (2 mg/ml de H₂O). La reacción ocurre por 30 segundos y es interrumpida a continuación con 10 μ l de una solución saturada de

metionina.

Después de la marcación se purifica el péptido por medio de HPLC semipreparativa, para eliminar el exceso de yodo libre y otros productos secundarios. En cada caso, para la inyección se usan 100 µl de la solución madre 0,1 mM. Antes de la inyección se registra la radioactividad mediante un contador Geiger.

- 5 De manera análoga se preparan también conjugados con otros principios activos.

2. Ejemplos de aplicación

2.1. Estudios de distribución en órganos

10 Para la determinación de la farmacocinética, las moléculas marcadas con radioactividad que van a ser investigadas son inyectadas a ratones NMRI hembra en la vena de la cola (aproximadamente 100 µl por animal). A continuación se sacrifican los animales (n = 3 por instante de tiempo) en los correspondientes instantes de tiempo, se les realiza disección y se cuantifica la distribución de la radioactividad en los órganos aislados (hígado, riñones, pulmón, bazo, intestino, cerebro, corazón, sangre,...) Mediante un contador y (Berthold LB951G) se determina la radioactividad medida por gramo de órgano/tejido, referido a la dosificación inyectada (ID) y se indica como %ID/g.

2.2. Influencia de la longitud de cadena y el sitio de unión del principio activo

- 15 En otros ensayos se modifica la construcción de la molécula.

Se investigan las estructuras MAG3-KKEEEKKKEEEKKKEEEK, MAG3-KKEEEKKKEEEKKKEEEKKKEEEKKKEEEKKKEEEK y y-KKEEEKKKEEEKKKEEEK (unión en el extremo N del principio activo -ilustración 1, arriba e Ilustración 2 abajo) y las estructuras KKEEEKKKEEEKKKEEEK-y y KKEEEKKKEEEKKKEEEKKKEEEKKKEEEKKKEEEK-y (unión en el extremo C del principio activo - Ilustración 1, abajo e Ilustración 2, arriba)

- 20 y representa aquí D-tirosina; MAG3 representa un fragmento de péptido, que forma complejo con ^{99m}Tc.

El resultado se presenta en las Ilustraciones 1 y 2 (ID/g representa aquí "dosificación inyectada por gramo de tejido): la liberación de tirosina marcada con radioactividad (como "principio activo") está fuertemente influenciada por un lado por la longitud de cadena y por el otro por la posición de unión del "principio activo" (extremo C o N). Básicamente, los péptidos más largos conducen a un retardo en la liberación. Además, la liberación de trazador unido al extremo C (yodo-tirosina o también MAG3 con ^{99m}Tc) transcurre de manera esencialmente más lenta que con unión en el extremo N. La etapa determinante de la velocidad en la degradación de péptido es influida evidentemente sobre todo por carboxipeptidasas, que degrada el péptido comenzando por el extremo C.

Mediante la construcción molecular del péptido y el lugar de unión al principio activo (extremo C o N) puede ajustarse deliberadamente la cinética de liberación de un principio activo.

- 30 2.3. Influencia del grado de ramificación

La degradación enzimática de estructuras ramificadas de péptido es básicamente claramente más difícil que la degradación de péptidos lineales. Para ello se ejecuta un ensayo comparativo, en el cual el principio activo modelo de yodo radioactivo-tirosina fue incorporado de manera lineal en la cadena o ramificada en la cadena. Se investigan las estructuras KKEEEKK(y)EKEEKKEEEK y KKEEEKyEKEEKKEEEK.

- 35 El resultado se presenta en la Ilustración 3: la Ilustración muestra la distribución en órganos una hora después de la administración. El yodo radioactivo-tirosina incorporado de manera ramificada en la cadena (Ilustración 3, arriba) es al respecto degradado de manera claramente más lenta que el lineal (Ilustración 3, abajo).

2.4. Influencia del tipo de unión

- 40 Se estudian las estructuras y-KKEEEKKKEEEKKKEEEK (unión del principio activo en el enlace amida) y y◦KKEEEKKKEEEKKKEEEK (unión del principio activo en el enlace éster).

En la Ilustración 4 se muestra el resultado: para la unión de principios activos, que debieran liberarse rápidamente, ha probado ser ventajosa la incorporación de un enlace éster fácilmente escindible del principio activo con el soporte de principio activo (Ilustración 4, abajo). La separación del enlace éster ocurre más rápidamente en el tiempo que la degradación del soporte de principio activo por las proteasas.

- 45 2.5. Ensayos de comparación

Para poder comparar la especificidad de riñones de los péptidos mencionados en la literatura con las estructuras de acuerdo con la invención, se preparan los péptidos APASLYN y HITSLLS (Denby et al.: Molecular Therapy 15, 9,

2007, 1647-1654) conocidos en la literatura, con ayuda de un sintetizador de péptidos de la compañía Applied Bioscience, Modell 433A, y se conjugan con un principio activo real. Se construyen las secuencias de péptidos por medio de la estrategia Fmoc y se conjuga el principio activo al soporte mediante reacción de fase sólida. Como otra comparación, se elige una secuencia de péptido cualquier $\gamma(\text{MARIA})_3$ con 16 aminoácidos. En los casos en los cuales no está presente tirosina para la marcación con radioactividad en el péptido (HITSLLS) se inserta adicionalmente una D-tirosina. Como principio activo se usa (RS)-ácido lipónico, (abrev.: LA).

La Ilustración 5 muestra las absorciones de SPECT de la distribución de los péptidos $(\text{APASLYN})_2$ y $\gamma(\text{MARIA})_3$ en el modelo animal de ratón, después de diferentes tiempos. En el ejemplo de $(\text{APASLYN})_2$ la selectividad de riñones del péptido es ya insuficiente sin el principio activo ácido lipónico. La secuencia de péptido $\gamma(\text{MARIA})_3$ cualquiera elegida exhibe incluso una buena selectividad de riñones, que sin embargo después de la conjugación con ácido lipónico se pierde ampliamente. En comparación con ello, se preserva la selectividad de riñones para la estructura $(\text{KKEEE})_3$ de acuerdo con la invención también con ácido lipónico conjugado.

En otro ensayo, se reemplaza ácido glutámico en el péptido $\gamma(\text{KKEEE})_3\text{K-NH}_2$ por glutamina. El péptido $\gamma(\text{KKQQQ})_3\text{K-NH}_2$ que surge al respecto no contiene grupos ácidos. Se investiga la absorción del péptido en sí mismo y del péptido conjugado con ácido lipónico.

Resultados (véase Ilustraciones 6 y 7): después de la marcación del péptido con yodo radioactivo, mediante formación de imagen se detecta una elevada absorción del péptido en los riñones (Ilustración 6). Sin embargo, después de la conjugación del péptido con el principio activo ácido lipónico, se pierde casi completamente esta especificidad de riñones (Ilustración 7).

En otro ensayo se sintetiza un péptido, que está constituido sólo por aminoácidos que portan grupos ácidos (γD8). Así mismo, este péptido es marcado con yodo radioactivo y es aplicado por vía intravenosa a ratones NMRI.

La Ilustración 8 muestra el resultado: ya después de 15 minutos la mayor parte de la radioactividad administrada, se encuentra en la vejiga urinaria de los animales del ensayo. Un péptido constituido completamente por aminoácidos ácidos es evidentemente excretado muy rápidamente por los riñones y no es absorbido nuevamente por las células proximales del túbulo de los riñones. Evidentemente una construcción de molécula ácida pura así no es adecuada para el transporte de principios activos a las células proximales del túbulo.

2.6. Distribuciones escintigráficas de $\gamma(\text{KKEE})_5\text{K}$, $\gamma(\text{KKKEE})_3\text{K}$ y $\gamma(\text{RREEE})_3\text{R}$

En otros ensayos varía la relación ácido-base y se intercambia lisina por arginina. Al respecto, se investigan los siguientes péptidos: $\gamma(\text{KKEE})_5\text{K}$, $\gamma(\text{KKKEE})_3\text{K}$ y $\gamma(\text{RREEE})_3\text{R}$.

Resultados (véase la Ilustración 10, valores de 1 h después de la respectiva marcación con radioactividad del péptido, con yodo 125 e investigación escintigráfica después de aplicación intravenosa en ratones NMRI hembra): la modificación de la relación ácido-base de 1:1 ($\gamma(\text{KKEE})_5\text{K}$) (Ilustración 10(a)) a 2:3 ($\gamma(\text{KKKEE})_3\text{K}$) (Ilustración 10(b)) no modifica de manera evidente la selectividad de riñones de los péptidos. En el intercambio de lisina por arginina ($\gamma(\text{RREEE})_3\text{R}$) sin embargo, después de 1 h la mayor parte de la radioactividad administrada es encontrada en la vejiga urinaria de los animales del ensayo. Se preserva la elevada especificidad de riñones, no se dirige a otro órgano, sin embargo parece acelerarse la eliminación renal mediante intercambio de los aminoácidos (véase la Ilustración 10(c)).

2.7. Distribución escintigráfica de conjugados de ácido diacetilcafeico

En otros ensayos se une el potencial principio activo ácido diacetilcafeico (DCA) tanto al extremo N como también varias veces a las cadenas laterales de lisina de la columna vertebral de péptido. La preparación del conjugado del extremo N con $\gamma(\text{KKEEE})_3\text{K}$ ocurre de manera análoga a como se describe bajo 1.5.; la preparación de la molécula conjugada dos veces (estructura: $\gamma\text{KKK}(\text{DCA})\text{EEEEKKEEKKK}(\text{DCA})\text{EEEEK}$) ocurre como se describe bajo 1.6. Los conjugados de péptido y un principio activo así obtenidos son investigados después de la marcación por medio de yodo 125 y aplicación intravenosa en el modelo animal de ratón, respecto a su selectividad de riñones.

Resultados (véanse las Ilustraciones 11 y 12): los conjugados de péptido-principio activo retienen tanto después de la unión del extremo N a ácido diacetilcafeico (Ilustración 11) como también en la unión doble de ácido diacetilcafeico en diferentes cadenas laterales de lisina de la columna vertebral de péptido (Ilustración 12), su elevada especificidad de riñones.

2.8. Rutas de administración

En otros ensayos se investigan las rutas de administración.

Para ello se dividen nueve ratones NMRI en tres grupos. Todos los animales mantienen 10 mg/kg KG de un

5 conjugado de D-tirosina unido al extremo N de (KKEEE)₃K. Una parte del conjugado es marcada con un isótopo radioactivo de yodo mediante el procedimiento de cloramina-T en la D-tirosina. Al grupo 1 se administra por vía intravenosa el conjugado marcado, al grupo 2 por vía subcutánea y al grupo 3 por vía intraperitoneal. Al respecto, el conjugado es disuelto en 100 µl de amortiguador PBS. En diferentes tiempos (40, 60, 120 y 240 minutos) se toman ahora las absorciones SPECT de animales de los respectivos grupos. En la Ilustración 9 se representan los resultados de esta serie de ensayos.

Aparte de las entregas intravenosas de péptidos/proteínas al transporte de principio activo en los riñones, descritas en la literatura, también la entrega subcutánea e intraperitoneal de los péptidos o conjugados de péptido-principio activo de acuerdo con la invención puede dirigirse exitosamente a los riñones.

10 2.9 Distribución escintigráfica de conjugados de ácido lipónico de acuerdo con el ejemplo 1.7

15 En otros ensayos se une el principio activo potencial ácido lipónico mediante las cadenas laterales de lisina a la columna vertebral de péptido. La preparación del conjugado γ (KKK ϵ (ácido lipónico)EEE)₃K ocurre como se describe en el ejemplo 1.7.. El conjugado de péptido-principio activo así obtenido es investigado después de la marcación por medio de yodo 125 y aplicación intravenosa en el modelo animal de ratón, respecto a su selectividad de riñones.

Resultados (véase Ilustración 13): el conjugado principio activo-péptido preparado exhibe una elevada especificidad de riñones.

REIVINDICACIONES

1. Péptido que consiste en más de 50 % (referido al número de unidades de aminoácido) de segmentos de secuencia elegidos de entre el grupo que comprende -(KKEEE)-, -(RREEE)-, -(KKEE)-, -(KKKKEE)- y -(KKKKEE)-, y en el que
- 5 - el péptido consiste en por lo menos 80 % (referido al número de unidades de aminoácido) de los aminoácidos K y E o R y E, y el péptido contiene 3 a 5 segmentos de secuencia como se describió anteriormente, o conjugado que contiene por lo menos un péptido como se definió anteriormente y por lo menos un principio activo unido de manera covalente, opcionalmente mediante un espaciador,
- 10 para el uso para el direccionamiento a los riñones.
2. Péptido que consiste en más de 50 % (referido al número de unidades de aminoácido) de segmentos de secuencia elegidos de entre el grupo que comprende -(KKEEE)-, -(RREEE)-, -(KKEE)-, -(KKKKEE)- y -(KKKKEE)-, y en el que
- 15 - el péptido consiste en por lo menos 80 % (referido al número de unidades de aminoácido) de los aminoácidos K y E o R y E, y el péptido contiene 3 a 5 segmentos de secuencia como se definió anteriormente, para el uso para la protección de los riñones.
3. Péptido o conjugado para el uso de acuerdo con las reivindicaciones 1 o 2, caracterizado porque el péptido representa un péptido elegido de entre el grupo que comprende (RREEE)₃R, (KKEE)₅K, (KKKKEE)₃K, (KKKKEE)₃K y (KKEEE)₃K.
- 20
4. Conjugado para el uso de acuerdo con las reivindicaciones 1 o 3, caracterizado porque el principio activo es elegido de entre el grupo de los inmunosupresores por ejemplo Azathioprin, Mycophenolat-Mofetil, Ciclosporin, Tacrolimus, Sirolimus, Fingolimod o Triptolid, citostáticos por ejemplo Atrasentan, Nintedanib, Bleomycin, Dactinomycin, Mitomycin, Daunorubicin, Doxorubicin, Epirubicin, Idarubicin, Mitoxantron, Amsacrin, Doxofluridin, Cisplatin, Carboplatin, Oxaliplatin, Satraplatin, Camptothecin, Toptecan, Irinotecan, Etoposid, Teniposid, Cyclophosphamid, Trofosfamid, Melphalan, Chlorambucil, Estramustin, Busulfan, Chlorambucil, Chlormethin, Treosulfan, Carmustin, Lomustin, Nimustin, Procarbazine, Streptozocin, Dacarbazine, Ifosfamid, Temozolomid, Thiotepe, Vinorelbine, Vincristin, Vinblastin, Vindesine, Paclitaxel, Docetaxel, Methotrexate, Raltitrexed, Fluorouracil, Capecitabine, Cytosinarabine, Gemcitabine, Tioguanine, Pentostatin, Mercaptopurine, Fludarabine, Caldribine, hidroxycarbamida, Mitotane, Azacitidine, Cytarabine, Nelarabine, Bortezomib, Anagrelide en particular los inhibidores de proteína-quinasa como por ejemplo Imatinib, Erlotinib, Sunitinib, Sorafenib, Dasatinib, Lapatinib o Nilotinib, inmunoterapéuticos por ejemplo Cetuximab, Alemtuzumab y Bevacizumab, antiinflamatorios por ejemplo Naproxeno, Ibuprofeno, Indometacina, Prednisolona, Prednisona, hidrocortisona o Budesonid, antibióticos en particular de la penicilina como por ejemplo bencilpenicilina, meticilina o amoxicilina, las cefalosporinas como por ejemplo Cefuroxim, Cefotaxim, Cefadroxil o Cefixim, los inhibidores de β-lactamasa como por ejemplo ácido clavulánico, Sulbactam o Tazobactam, los carbapenemos como por ejemplo Imipenem o Meropenem, las monobactamas como por ejemplo Aztreonam, las tetraciclinas como por ejemplo tetraciclina, clortetraciclina, oxitetraciclina, doxiciclina, minociclina o tigeciclina, los antibióticos macrólidos como por ejemplo eritromicina A, los antibióticos de glicopéptido como por ejemplo vancomicina, las endiinas como por ejemplo calicheamicina, viroestáticos por ejemplo Aciclovir, Valaciclovir, Ganciclovir, Valganciclovir, Penciclovir, Famciclovir, Brivudine, Cidofovir, Foscarnet, Idoxuridine o Tromantadine, antihipertensivos en particular los inhibidores de ACE como por ejemplo Benazepril, Captopril, Cilazapril, Enalapril, Fosinopril, Lisinopril, Perindopril, Quinapril, Ramipril, Trandolapril o Zofenopril, los sartanes como por ejemplo Losartan, Balsartan, Irbesartan, Candesartan, Eprosartan, Olmesartan o Telmisartan, los inhibidores de renina como por ejemplo Aliskiren y los betabloqueadores como por ejemplo Propranolol, Pindolol, Sotalol, Bopindolol, Atenolol, Bisoprolol, Celiprolol, Esmolol, Metoprolol, Nebivolol, Oxprenolol, Carvedilol o Labetalol, uricosúricos por ejemplo Probenecid o Benzbromarone o diuréticos por ejemplo Acetazolamid, Furosemid, Torasemid, Bumetanid, Piretanid, Azosemid, ácido etacrínico, Etozolín, hidroclorotiazida, benzotiazida, clorotiazida, Chlorthalidon, Indapamid, Mefrusid, Metolazon, Clopamid, Xipamid, hidroflumetiazida, metictotiazida, poltiazida, Amilorid, Triameteren, Spironolactone, Canrenone, Eplerenone o Spironolactone, antifibróticos por ejemplo Pirfenidone o Seliciclib.
- 25
- 30
- 35
- 40
- 45
- 50
5. Conjugado para el uso de acuerdo con una o varias de las reivindicaciones 1 y 3 a 4, caracterizado porque el por lo menos un principio activo está unido al extremo N y/o al extremo C del péptido.

6. Conjugado para el uso de acuerdo con una o varias de las reivindicaciones 1 y 3 a 4, caracterizado porque el por lo menos un principio activo está unido a un aminoácido dentro de la cadena.
7. Conjugado para el uso de acuerdo con una o varias de las reivindicaciones 1 y 3 a 6, caracterizado porque el principio activo está unido mediante un enlace éster.
- 5 8. Péptido elegido de entre el grupo consistente en (RREEE)₃R, (KKEE)₅K, (KKKEE)₃K, (KKKEE)₃K y (KKEE)₃K.
9. Conjugado que contiene por lo menos un péptido, el cual consiste en más de 50 % (referido al número de unidades de aminoácido) de segmentos de secuencia elegidos de entre el grupo que comprende - (KKEE)-, - (RREEE)-, -(KKEE)-, -(KKKEE)- y -(KKKEE)-
- y en el que
- 10 - el péptido consiste en por lo menos 80 % (referido al número de unidades de aminoácido) de los aminoácidos K y E o R y E,
- y el péptido contiene 3 a 5 segmentos de secuencia sucesivos como se definió anteriormente
- y por lo menos un principio activo unido de modo covalente, opcionalmente mediante un espaciador, en el que el principio activo es elegido de entre el grupo de los inmunosupresores por ejemplo Azathioprin, Mycophenolat-Mofetil, Ciclosporin, Tacrolimus, Sirolimus, Fingolimod o Triptolid, citostáticos por ejemplo Atrasentan, Nintedanib, Bleomycin, Dactinomycin, Mitomycin, Daunorubicin, Doxorubicin, Epirubicin, Idarubicin, Mitoxantron, Amsacrin, Doxofluridin, Cisplatin, Carboplatin, Oxaliplatin, Satraplatin, Camptothecin, Topotecan, Irinotecan, Etoposid, Teniposid, Cyclophosphamid, Trofosfamid, Melphalan, Chlorambucil, Estramustin, Busulfan, Chlorambucil, Chlormethin, Treosulfan, Carmustin, Lomustin, Nimustin, Procarbazin, Streptozocin, Dacarbazin, Ifosfamid, 15 Temozolomid, Thiotepa, Vinorelbin, Vincristin, Vinblastin, Vindesin, Paclitaxel, Docetaxel, Methotrexato, Pemetrexed, Raltitrexed, Fluorouracil, Capecitabin, Cytosinarabinosid, Gemcitabin, Tioguanin, Pentostatin, Mercaptopurin, Fludarabin, Caldribin, hidroxycarbamida, Mitotan, Azacitidin, Cytarabin, Nelarabin, Bortezomib, Anagrelid en particular los inhibidores de proteína-quinasa como por ejemplo Imatinib, Erlotinib, Sunitinib, Sorafenib, Dasatinib, Lapatinib o Nilotinib, inmunoterapéuticos por ejemplo Cetuximab, Alemtuzumab y Bevacizumab, 20 antiflogísticos por ejemplo Naproxeno, Ibuprofeno, Indometacina, Prednisolona, Prednisona, hidrocortisona o Budesonid, antibióticos en particular de la penicilina como por ejemplo bencilpenicilina, meticilina o amoxicilina, las cefalosporinas como por ejemplo Cefuroxim, Cefotaxim, Cefadroxil o Cefixim, los inhibidores de β-lactamasa como por ejemplo ácido clavulánico, Sulbactam o Tazobactam, los carbapenemos como por ejemplo Imipenem o Meropenem, las monobactamas como por ejemplo Aztreonam, las tetraciclinas como por ejemplo tetraciclina, clorotetraciclina, oxitetraciclina, doxiciclina, minociclina o tigeciclina, los antibióticos macrólidos como por ejemplo eritromicina A, los antibióticos de glicopéptido como por ejemplo vancomicina, las endiinas como por ejemplo calicheamicina, viroestáticos por ejemplo Aciclovir, Valaciclovir, Ganciclovir, Valganciclovir, Penciclovir, Famciclovir, Brivudin, Cidofovir, Foscarnet, Idoxuridin o Tromantadin, antihipertensivos en particular los inhibidores de ACE como por ejemplo Benazepril, Captopril, Cilazapril, Enalapril, Fosinopril, Lisinopril, Perindopril, Quinapril, Ramipril, 35 Trandolapril o Zofenopril, los sartanes como por ejemplo Losartan, Balsartan, Irbesartan, Candesartan, Eprosartan, Olmesartan o Telmisartan, los inhibidores de renina como por ejemplo Aliskiren y los betabloqueadores como por ejemplo Propranolol, Pindolol, Sotalol, Bopindolol, Atenolol, Bisoprolol, Celiprolol, Esmolol, Metoprolol, Nebivolol, Oxprenolol, Carvedilol o Labetalol, uricosúricos por ejemplo Probenecid o Benzbromaron o diuréticos por ejemplo Acetazolamid, Furosemid, Torasemid, Bumetanid, Piretanid, Azosemid, ácido etacrínico, Etozolín, hidroclorotiazida, benzotiazida, clorotiazida, Chlorthalidon, Indapamid, Mefrusid, Metolazon, Clopamid, Xipamid, hidroflumetiazida, meticlotiazida, politiazida, Amilorid, Triameteren, Spironolacton, Canrenon, Eplerenon o Spironolacton, antifibróticos por ejemplo Pirfenidon o Seliciclib.
10. Conjugado de acuerdo con la reivindicación 9, caracterizado porque el por lo menos un principio activo está unido al extremo N y/o al extremo C del péptido.
- 45 11. Conjugado de acuerdo con la reivindicación 9, caracterizado porque el por lo menos un principio activo está unido a un aminoácido dentro de la cadena.
12. Conjugado de acuerdo con una o varias de las reivindicaciones 9 a 11, caracterizado porque el principio activo está unido mediante un enlace éster.
13. Procedimiento para la preparación de un conjugado de acuerdo con una o varias de las reivindicaciones 9 a 12, caracterizado porque al péptido está conjugado un principio activo opcional activado.
- 50 14. Péptido de acuerdo con la reivindicación 8 para el uso como fármaco.
15. Conjugado de acuerdo con una o varias de las reivindicaciones 9 a 12 para el uso como fármaco.

16. Fármaco, en particular una composición terapéutica o una que refuerza la imagen, que contiene por lo menos un péptido de acuerdo con la reivindicación 8 o un conjugado de acuerdo con una o varias de las reivindicaciones 9 a 12.

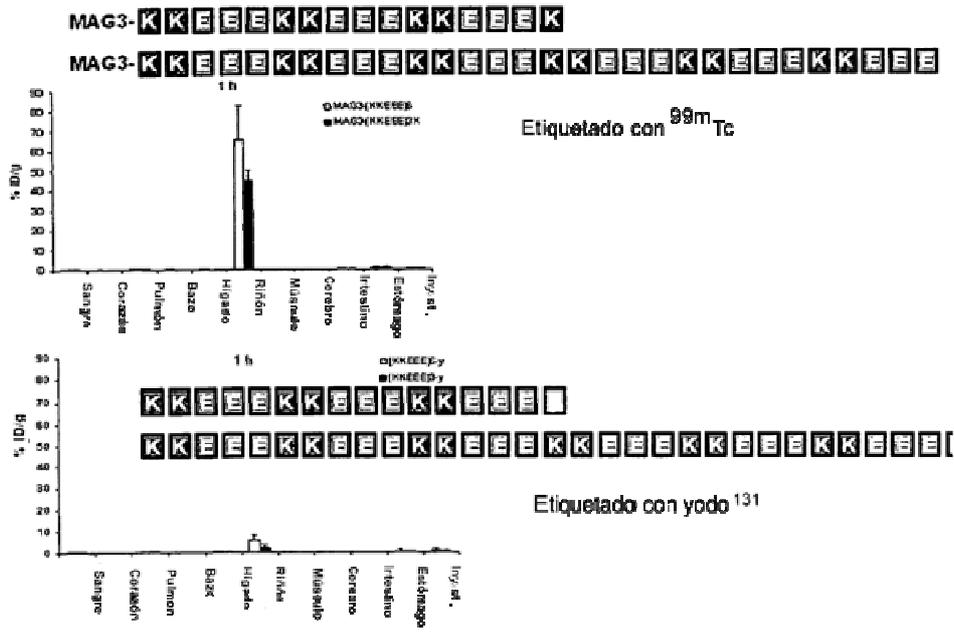


Ilustración 1

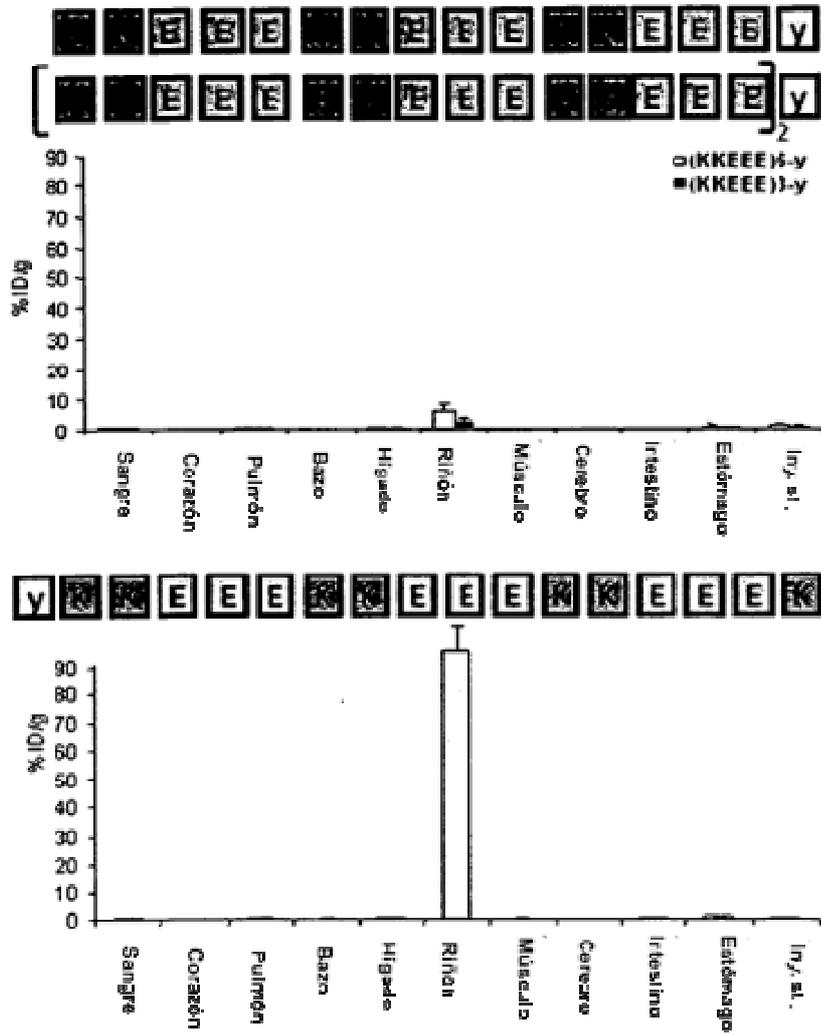


Ilustración 2

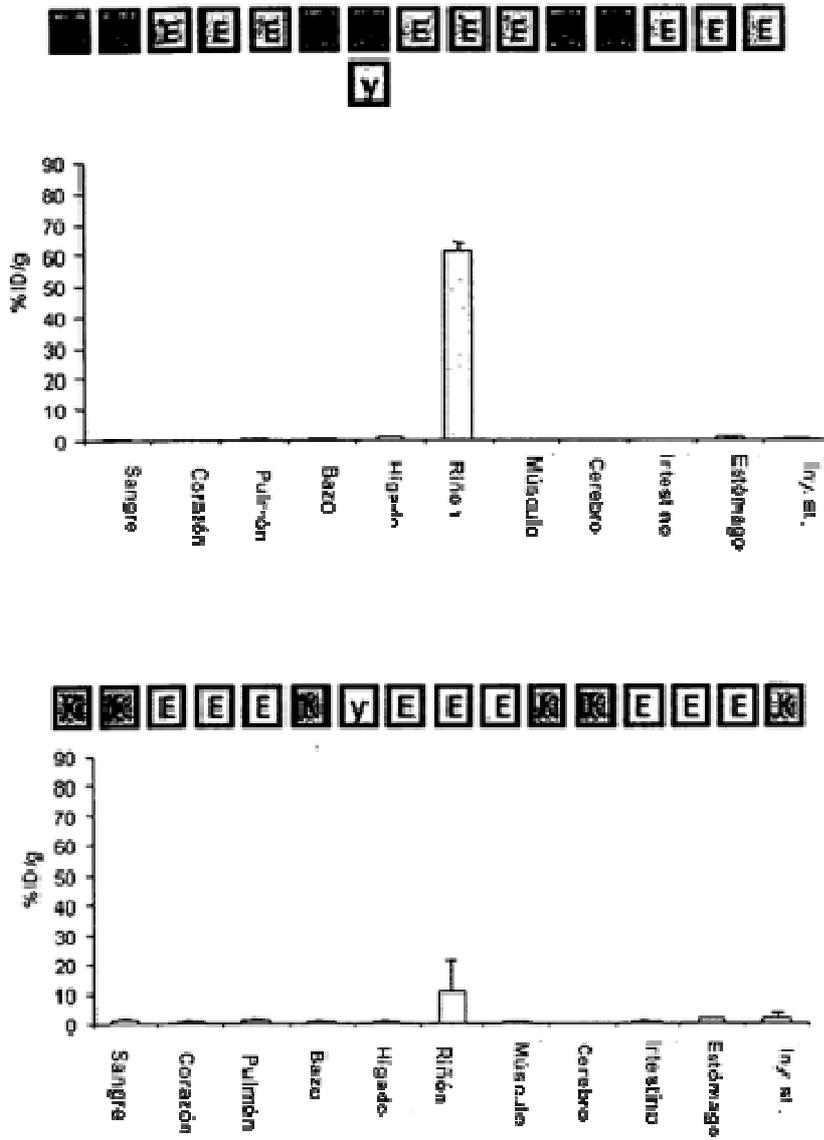


Ilustración 3

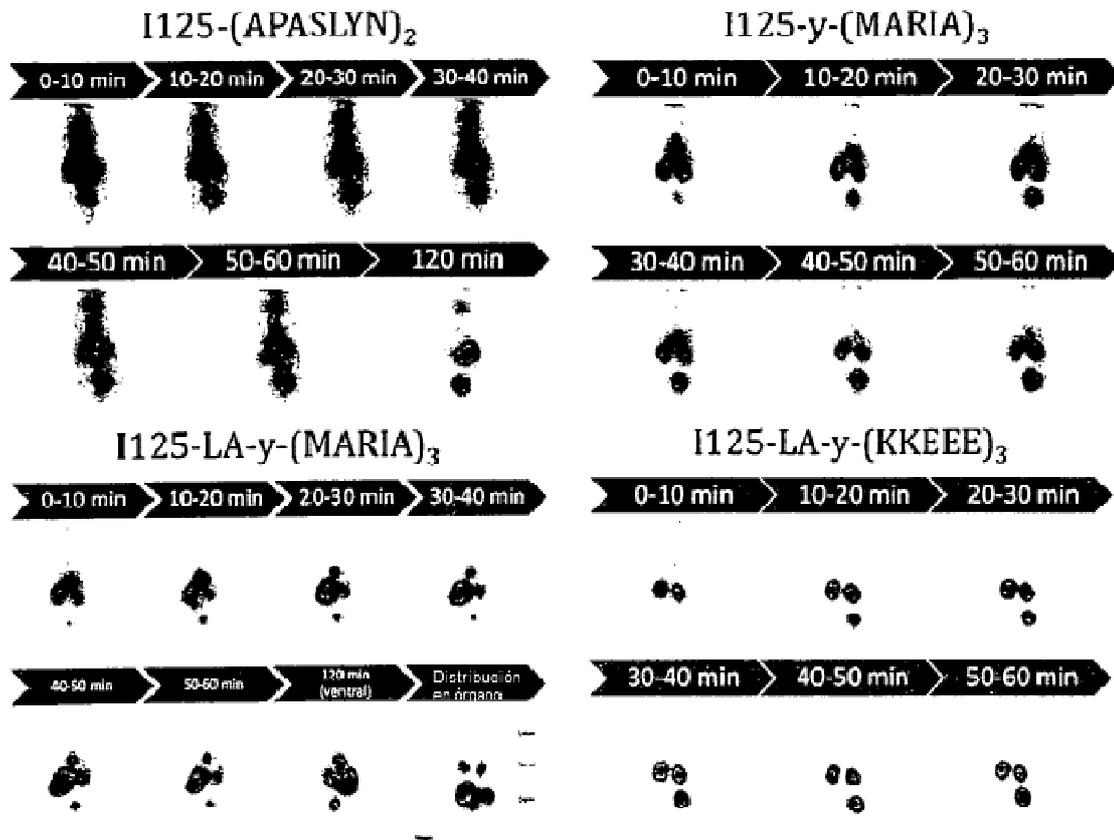


Ilustración5

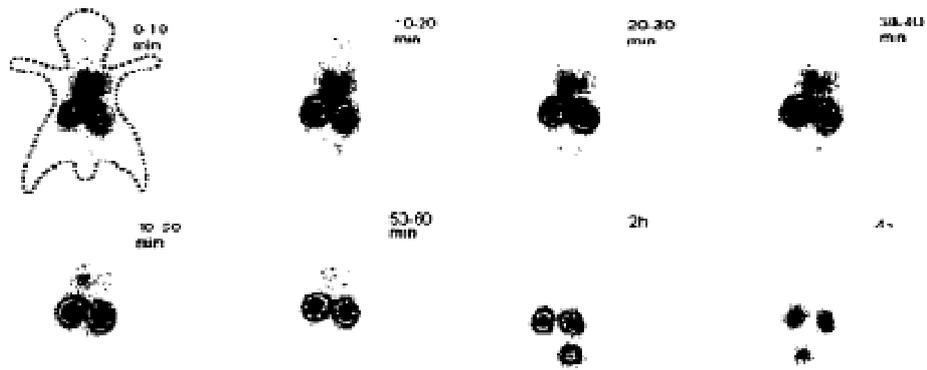


Ilustración 6

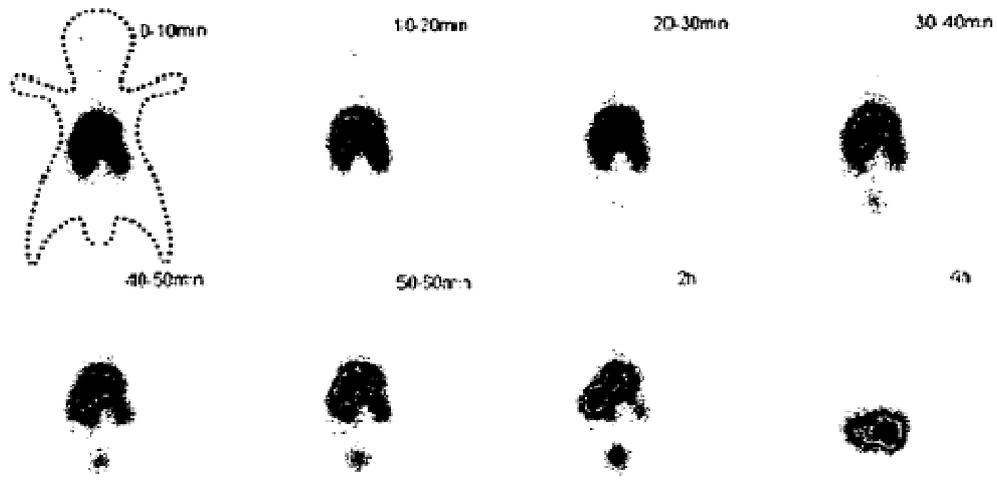


Ilustración 7

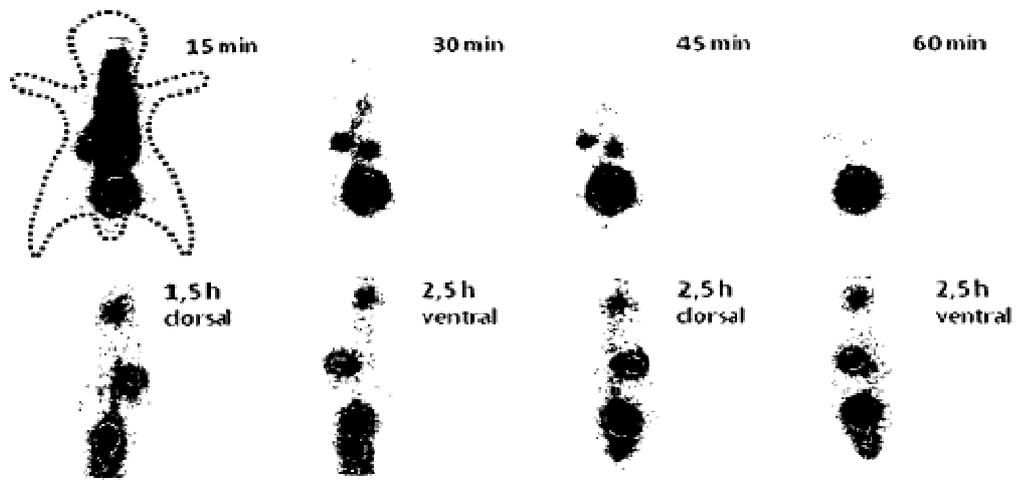


Ilustración 8

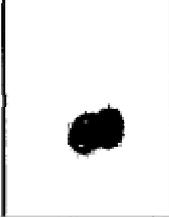
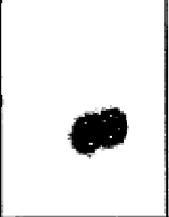
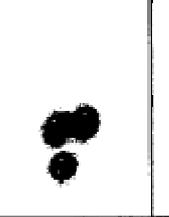
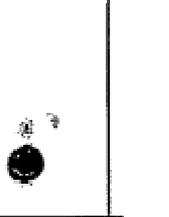
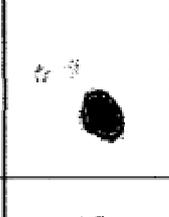
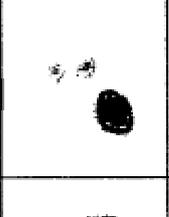
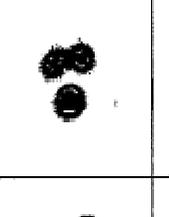
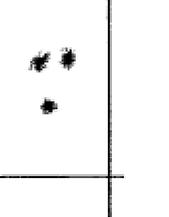
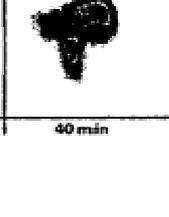
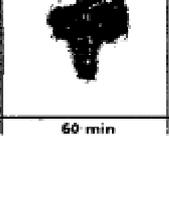
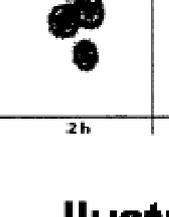
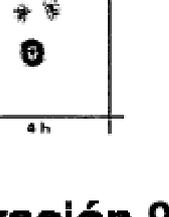
Intravenosa				
Subcutánea				
Intraperitoneal				
	40 min	60 min	2 h	4 h

Ilustración 9

(a)



(b)



(c)



Ilustración 10

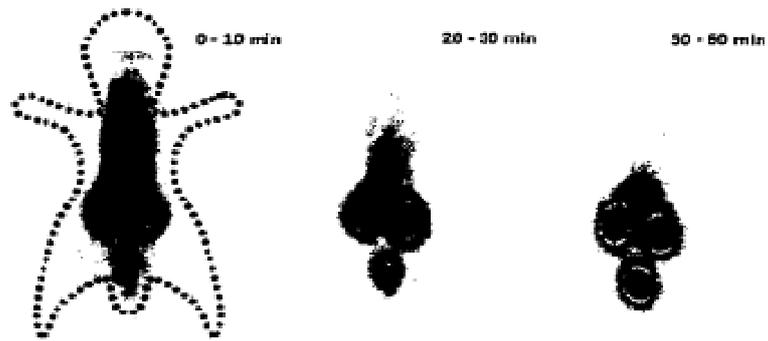


Ilustración 11

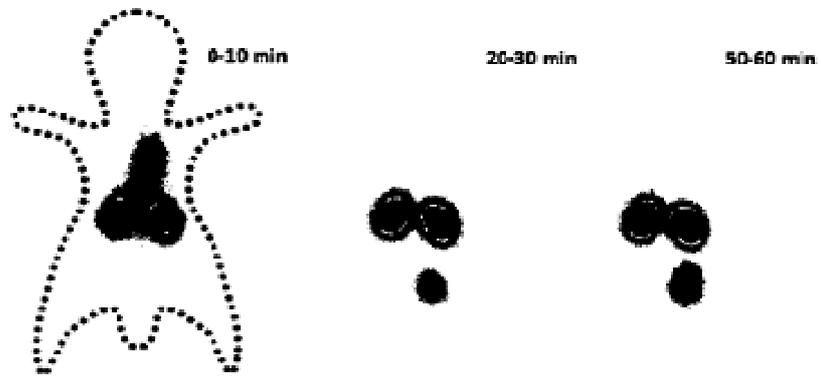


Ilustración 12

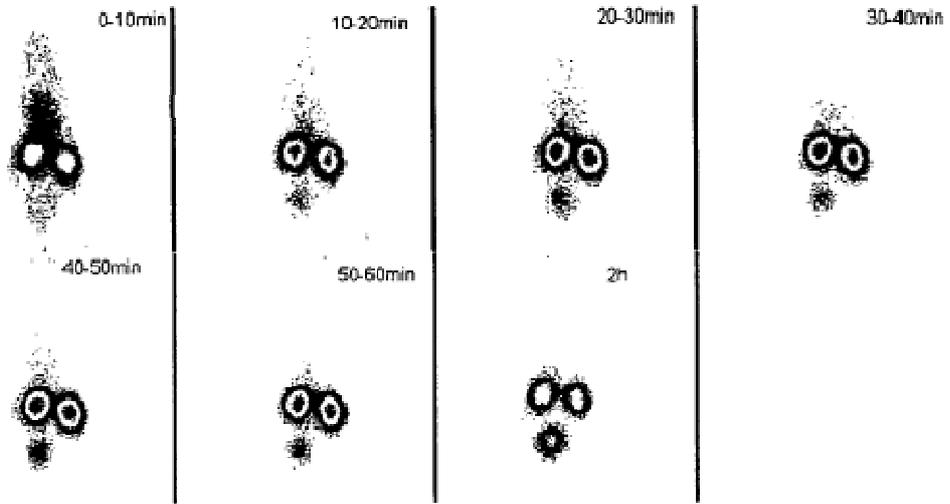


Ilustración 13