

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 750 258**

51 Int. Cl.:

**A61K 38/06** (2006.01)

**A61P 11/00** (2006.01)

**A61P 9/04** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **28.02.2014 PCT/US2014/019622**

87 Fecha y número de publicación internacional: **04.09.2014 WO14134554**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.02.2014 E 14756991 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.09.2019 EP 2961420**

54 Título: **Métodos y composiciones para la prevención o tratamiento del síndrome de Barth**

30 Prioridad:

**01.03.2013 US 201361771642 P**  
**01.03.2013 US 201361771534 P**  
**26.06.2013 US 201361839753 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**25.03.2020**

73 Titular/es:

**STEALTH BIOTHERAPEUTICS CORP (100.0%)**  
**2nd Floor, Le Prince de Galles, 3-5 Avenue des**  
**Citronniers**  
**98000 Monaco, MC**

72 Inventor/es:

**WILSON, D. TRAVIS y**  
**BAMBERGER, MARK**

74 Agente/Representante:

**ARIAS SANZ, Juan**

ES 2 750 258 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

Métodos y composiciones para la prevención o tratamiento del síndrome de Barth

5 **Campo técnico**

La presente tecnología se refiere generalmente a composiciones para uso en la prevención o tratamiento del síndrome de Barth, reducción de los factores de riesgo asociados con el síndrome de Barth, y/o reducción de la gravedad del síndrome de Barth. La divulgación también se refiere a un péptido aromático-catiónico para uso en la normalización de los niveles de expresión de TAZ1 en un sujeto.

**Antecedentes**

La siguiente descripción se proporciona para ayudar al lector en su comprensión. Ninguna información proporcionada o referencias citadas se admite como técnica anterior a la presente invención.

El síndrome de Barth es un trastorno hereditario del metabolismo de los fosfolípidos caracterizado por miocardiopatía dilatada (DCM), miopatía esquelética, neutropenia, retraso del crecimiento y aciduria orgánica. La prevalencia del síndrome de Barth se estima en 1/454.000 nacimientos vivos, con una incidencia estimada de 1/400.000 a 1/140.000 dependiendo de la ubicación geográfica. El síndrome de Barth es un trastorno relacionado con el cromosoma X, que afecta de manera desproporcionada a los pacientes masculinos.

El síndrome de Barth está causado por mutaciones en el gen TAZ (tafazina; Xq28), que codifica TAZ1, una aciltransferasa involucrada en el metabolismo de la cardiolipina, un fosfolípido localizado en la membrana mitocondrial interna. La función defectuosa de TAZ1 da como resultado una remodelación anómala de la cardiolipina y compromete a la estructura mitocondrial y a la función de la cadena respiratoria.

**Sumario**

En un aspecto, la presente invención proporciona el péptido D-Arg-2'6'-Dmt-Lys-Phe-NH<sub>2</sub> o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para uso en el tratamiento, prevención o reducción del riesgo del síndrome de Barth en un sujeto mamífero.

En algunas realizaciones, el sujeto presenta una reducción de los niveles de expresión de TAZ1 en comparación con un sujeto de control normal. En algunas realizaciones, el péptido se administra diariamente durante 6 semanas o más. En algunas realizaciones, el péptido se administra diariamente durante 12 semanas o más.

En algunas realizaciones, se ha diagnosticado que el sujeto tiene el síndrome de Barth. En algunas realizaciones, el síndrome de Barth comprende uno o más de cardiomiopatía, anomalías del músculo esquelético, neutropenia, desarrollo lento, tono muscular débil, aumento de los niveles de ácidos orgánicos en la orina y en la sangre, e infecciones bacterianas frecuentes.

En algunas realizaciones, el sujeto es humano. En algunas realizaciones, el péptido se administra por vía oral, por vía tópica, por vía sistémica, por vía intravenosa, por vía subcutánea, por vía intraperitoneal, o por vía intramuscular.

En algunas realizaciones, la invención además comprende la administración de forma separada, secuencial o simultánea de un agente cardiovascular al sujeto. En algunas realizaciones, el agente cardiovascular se selecciona entre el grupo que consiste en: un agente anti-arritmia, un vasodilatador, un agente anti-angina, un corticosteroide, un cardiolipídico, un diurético, un sedante, un inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina (ACE), un antagonista de angiotensina II, un agente trombolítico, un bloqueador de los canales de calcio, un antagonista de receptores de troboxano, un neutralizador de radicales, un fármaco antiplaquetario, un fármaco bloqueador de receptores de adrenalina  $\beta$ , un fármaco bloqueador del receptor  $\alpha$ , un inhibidor del nervio simpático, una formulación de digital, un inótropro, y un fármaco antihiperlipidémico.

En algunas realizaciones, la sal farmacéuticamente aceptable comprende sal de acetato o trifluoroacetato.

La divulgación también se refiere al péptido D-Arg-2'6'-Dmt-Lys-Phe-NH<sub>2</sub> o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en el aumento de la expresión de TAZ1 en un sujeto mamífero.

En algunas realizaciones, la expresión de TAZ1 en el sujeto es aproximadamente 2-5 veces inferior al nivel de expresión de TAZ1 en un sujeto de control normal. En algunas realizaciones, el péptido se administra diariamente durante 6 semanas o más. En algunas realizaciones, el péptido se administra diariamente durante 12 semanas o más.

En algunas realizaciones, se ha diagnosticado que el sujeto tiene, se sospecha que tiene, o presenta riesgo de tener el síndrome de Barth. En algunas realizaciones, el síndrome de Barth comprende uno o más de cardiomiopatía,

anomalías del músculo esquelético, neutropenia, desarrollo lento, tono muscular débil, aumento de los niveles de ácidos orgánicos en la orina y en la sangre, e infecciones bacterianas frecuentes.

5 En algunas realizaciones, el sujeto es humano. En algunas realizaciones, el péptido se administra por vía oral, por vía tópica, por vía sistémica, por vía intravenosa, por vía subcutánea, por vía intraperitoneal, o por vía intramuscular.

10 En algunas realizaciones, el uso además comprende la administración de forma separada, secuencial o simultánea de un agente cardiovascular al sujeto. En algunas realizaciones, el agente cardiovascular se selecciona entre el grupo que consiste en: un agente anti-arritmia, un vasodilatador, un agente anti-angina, un corticosteroide, un cardioglicósido, un diurético, un sedante, un inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina (ACE), un antagonista de angiotensina II, un agente trombolítico, un bloqueador de los canales de calcio, un antagonista de receptores de troboxano, un neutralizador de radicales, un fármaco antiplaquetario, un fármaco bloqueador de receptores de adrenalina  $\beta$ , un fármaco bloqueador del receptor  $\alpha$ , un inhibidor del nervio simpático, una formulación de digital, un inótropro, y un fármaco antihiperlipidémico.

15 En algunas realizaciones, la sal farmacéuticamente aceptable comprende sal de acetato o trifluoroacetato.

20 La divulgación también se refiere al péptido D-Arg-2'6'-Dmt-Lys-Phe-NH<sub>2</sub> o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en la reducción del riesgo del síndrome de Barth en un sujeto mamífero que tiene una disminución de la expresión de TAZ1 en comparación con un sujeto de control normal.

25 La divulgación también se refiere al péptido D-Arg-2'6'-Dmt-Lys-Phe-NH<sub>2</sub> o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en la estabilización de la remodelación de la cardiolipina en un sujeto mamífero que tiene lo que se sospecha que tiene el síndrome de Barth. En algunas realizaciones, el sujeto mamífero tiene una disminución de la expresión de TAZ1 en comparación con un sujeto de control normal. En algunas realizaciones, la cardiolipina es la especie 18:2 de cardiolipina.

#### Breve descripción de las figuras

30 La FIG. 1 es un diagrama que muestra los efectos de D-Arg-2'6'-Dmt-Lys-Phe-NH<sub>2</sub> en los niveles de las especies de cardiolipina 18:2-18:2-18:2-18:2 en un modelo de insuficiencia cardíaca de perro.

35 La FIG. 2 es un diagrama que muestra los efectos de D-Arg-2'6'-Dmt-Lys-Phe-NH<sub>2</sub> en los niveles de expresión de TAZ1 en un modelo de insuficiencia cardíaca de perro.

La FIG. 3 es una imagen de microscopía electrónica de mitocondrias en un paciente con síndrome de Barth.

40 La FIG. 4A es una imagen de microscopía electrónica de la ultraestructura de las mitocondrias en enfermedad cardíaca.

La FIG. 4B es una imagen de microscopía electrónica de la ultraestructura de las mitocondrias en enfermedad cardíaca tratada con D-Arg-2'6'-Dmt-Lys-Phe-NH<sub>2</sub>.

45 La FIG. 5 A es una imagen de microscopía electrónica de la organización de las mitocondrias en enfermedad cardíaca.

La FIG. 5B es una imagen de microscopía electrónica de la organización de las mitocondrias en enfermedad cardíaca tratada con D-Arg-2'6'-Dmt-Lys-Phe-NH<sub>2</sub>.

#### 50 Descripción detallada

55 Se debe observar que ciertos aspectos, modos, realizaciones, variaciones y características de la invención se describen a continuación en diversos niveles de detalle con el fin de proporcionar una comprensión sustancial de la presente invención. Las definiciones de ciertos términos tal como se usan en la presente memoria descriptiva se proporcionan a continuación. A menos que se defina de otro modo, todos los términos técnicos y científicos usados en el presente documento generalmente tienen el mismo significado que comúnmente entiende un experto en la materia a la que pertenece la presente invención.

60 Como se usa en la presente memoria descriptiva y en las reivindicaciones adjuntas, las formas en singular "un", "uno" y "el" incluyen referentes en plural a menos que el contenido lo indique claramente de otro modo. Por ejemplo, la referencia a "una célula" incluye una combinación de dos o más células, y similares.

65 Como se usa en el presente documento, la "administración" de un agente, fármaco o péptido a un sujeto incluye cualquier vía de introducción o administración de un compuesto a un sujeto para llevar a cabo su función prevista. La administración se puede llevar a cabo mediante cualquier vía adecuada, incluyendo por vía oral, por vía intranasal, por vía parenteral (por vía intravenosa, por vía intramuscular, por vía intraperitoneal, o por vía subcutánea), o por vía

tópica. La administración incluye la autoadministración y la administración por parte de otro.

Como se usa en el presente documento, el término "aminoácido" incluye aminoácidos de origen natural y aminoácidos sintéticos, así como análogos de aminoácidos y miméticos de aminoácidos que funcionan de manera similar a los aminoácidos naturales. Los aminoácidos de origen natural son los codificados por el código genético, así como los aminoácidos que posteriormente se modifican, por ejemplo, hidroxiprolina,  $\gamma$ -carboxiglutamato y O-fosfoserina. Los análogos de aminoácidos se refieren a compuestos que tienen la misma estructura química básica que un aminoácido de origen natural, es decir, un carbono a que está unido a un hidrógeno, un grupo carboxilo, un grupo amino y un grupo R, por ejemplo, homoserina, norleucina, sulfóxido de metionina, metionina metil sulfonio. Los análogos de ese tipo tienen grupos R modificados (por ejemplo, norleucina) o cadenas principales de péptidos modificados, pero conservan la misma estructura química básica que un aminoácido natural. Los miméticos de aminoácidos se refieren a compuestos químicos que tienen una estructura diferente de la estructura química general de un aminoácido, pero que funciona de manera similar a un aminoácido natural. En el presente documento se puede hacer referencia a los aminoácidos por sus símbolos de tres letras conocidos comúnmente o por los símbolos de una letra recomendados por la Comisión de Nomenclatura Bioquímica IUPAC-IUB.

Como se usa en el presente documento, la expresión "cantidad eficaz" se refiere a una cantidad suficiente para conseguir un efecto terapéutico y/o profiláctico deseado, por ejemplo, una cantidad que da como resultado un aumento en (por ejemplo, la normalización de) el nivel de expresión de por ejemplo, TAZ1 en un sujeto que lo necesita. En el contexto de aplicaciones terapéuticas o profilácticas, en algunas realizaciones, la cantidad de una composición administrada al sujeto dependerá del tipo y la gravedad de la enfermedad y de las características del individuo, tales como salud general, edad, sexo, cuerpo peso y tolerancia a los fármacos. En algunas realizaciones, también dependerá del grado, la gravedad y el tipo de enfermedad. El experto en la materia podrá determinar las dosificaciones apropiadas dependiendo de estos y otros factores. Las composiciones también se pueden administrar en combinación con uno o más compuestos terapéuticos adicionales. En los métodos que se describen en el presente documento, se pueden administrar péptidos aromático-catiónicos, tal como D-Arg-2'6'-Dmt-Lys-Phe-NH<sub>2</sub>, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, tal como sal de acetato o trifluoroacetato, se puede administrar a un sujeto que tiene uno o más signos, síntomas o factores de riesgo del síndrome de Barth, tales como, por ejemplo, cardiomiopatía, anomalías del músculo esquelético, neutropenia, desarrollo lento, tono muscular débil, aumento de los niveles de ácidos orgánicos en la orina y en la sangre, y/o infecciones bacterianas frecuentes, como neumonía. Por ejemplo, una "cantidad terapéuticamente eficaz" de los péptidos aromático-catiónicos incluye niveles en los que los niveles de expresión de TAZ1 de un sujeto aumentan después de la administración, y/o en los que la presencia, frecuencia o gravedad de uno o más signos, síntomas, o los factores de riesgo del síndrome de Barth se reducen o eliminan. En algunas realizaciones, una cantidad terapéuticamente eficaz reduce o mejora los efectos fisiológicos de un síndrome de Barth, y/o los factores de riesgo del síndrome de Barth, y/o la probabilidad de desarrollo de síndrome de Barth.

Como se usa en el presente documento, la expresión "síndrome de Barth" se refiere a un trastorno hereditario del metabolismo de fosfolípidos causado por deficiencias de la aciltransferasa TAZ1. Los signos y síntomas del síndrome de Barth incluyen cardiomiopatía, anomalías del músculo esquelético, neutropenia, desarrollo lento, tono muscular débil, aumento de los niveles de ácidos orgánicos en la orina y en la sangre, y/o infecciones bacterianas frecuentes, como neumonía.

Como se usa en el presente documento, la expresión "TAZ1" o "tafazina" se refiere a la aciltransferasa del cromosoma X humano codificada por el gen TAZ. Las secuencias ilustrativas de las formas iso de TAZ1 se proporcionan, por ejemplo, con los Números de Acceso en GenBank NM000116.3, NM\_181311.2, NM\_181312.2 y NM\_181313.2.

Como se usa en el presente documento, polipéptido o péptido "aislado" o "purificado" se refiere a un polipéptido o péptido que está sustancialmente libre de material celular u otros polipéptidos contaminantes de la fuente celular o tisular a partir de la que se obtiene el agente, o sustancialmente libre de precursores químicos u otros químicos cuando se sintetiza por vía química. Por ejemplo, un péptido aromático-catiónico aislado podría estar libre de materiales que pudieran interferir con los usos para diagnóstico o terapéuticos del agente. Los materiales interferentes de ese tipo pueden incluir enzimas, hormonas y otros solutos proteicos y no proteicos.

Como se usa en el presente documento, "normalizar" los niveles de expresión de TAZ1 de un sujeto se refiere a alterar los niveles de expresión de TAZ1 del sujeto en la dirección de los niveles de expresión "normal" o de tipo silvestre. Por ejemplo, normalizar los niveles de expresión de TAZ1 en un sujeto con expresión reducida de TAZ1 en comparación con un sujeto normal se refiere al aumento de los niveles de expresión de TAZ1. En algunas realizaciones, la normalización de la expresión de TAZ1 en un sujeto se refiere a atenuar o reducir el grado de expresión reducida de TAZ1 en comparación con, por ejemplo, un sujeto de control no tratado.

Como se usa en el presente documento "aumentar" el nivel de expresión de TAZ1 de un sujeto se refiere a aumentar el nivel de TAZ1 en el sujeto (por ejemplo, el nivel de expresión de TAZ1 de un sujeto, como el nivel de ARN y/o proteína) en un órgano o tejido. En algunas realizaciones, el aumento del nivel de expresión de TAZ1 es un aumento de aproximadamente un 1 %, aproximadamente un 5 %, aproximadamente un 10 %, aproximadamente un 15 %, aproximadamente un 20 %, aproximadamente un 25 %, aproximadamente un 30 %, aproximadamente un 35 %, aproximadamente un 40 %, aproximadamente un 45 %, aproximadamente un 50 %, aproximadamente un 55 %, aproximadamente un 60 %, aproximadamente un 65 %, aproximadamente un 70 %, aproximadamente un 75 %, aproximadamente un 80 %, aproximadamente un 85 %, aproximadamente un 90 %, aproximadamente un 95 %, aproximadamente un 100 %, aproximadamente un 105 %, aproximadamente un 110 %, aproximadamente un 115 %, aproximadamente un 120 %, aproximadamente un 125 %, aproximadamente un 130 %, aproximadamente un 135 %, aproximadamente un 140 %, aproximadamente un 145 %, aproximadamente un 150 %, aproximadamente un 155 %, aproximadamente un 160 %, aproximadamente un 165 %, aproximadamente un 170 %, aproximadamente un 175 %, aproximadamente un 180 %, aproximadamente un 185 %, aproximadamente un 190 %, aproximadamente un 195 %, aproximadamente un 200 %.

aproximadamente un 20 %, aproximadamente un 25 %, aproximadamente un 30 %, aproximadamente un 35 %, aproximadamente un 40 %, aproximadamente un 45 %, aproximadamente un 50 %, aproximadamente un 55 %, aproximadamente un 60 %, aproximadamente un 65 %, aproximadamente un 70 %, aproximadamente un 75 %, aproximadamente un 80 %, aproximadamente un 85 %, aproximadamente un 90 %, aproximadamente un 95 %, o más. Como alternativa, o adicionalmente, en algunas realizaciones, el aumento del nivel de expresión de TAZ1 se mide como una atenuación o reducción de la medida en la que se reduce la expresión de TAZ1 en un sujeto. En algunas realizaciones, la reducción de TAZ1 disminuye de aproximadamente 0,25 veces a aproximadamente 0,5 veces, de aproximadamente 0,5 veces a aproximadamente 0,75 veces, de aproximadamente 0,75 veces a aproximadamente 1,0 veces, o de aproximadamente 1,0 veces a aproximadamente 1,5 veces.

Como se usa en el presente documento, los términos "polipéptido", "péptido" y "proteína" se usan indistintamente en el presente documento para hacer referencia a un polímero que comprende dos o más aminoácidos unidos entre sí por enlaces peptídicos o enlaces peptídicos modificados, es decir, isómeros peptídicos. El polipéptido se refiere a ambas cadenas cortas, comúnmente denominadas péptidos, glicopéptidos u oligómeros, y cadenas más largas, generalmente denominadas proteínas. Los polipéptidos pueden contener aminoácidos distintos a los 20 aminoácidos codificados por genes. Los polipéptidos incluyen secuencias de aminoácidos modificadas por procesos naturales, tales como procesamiento posterior a la traducción, o mediante técnicas de modificación química que se conocen bien en la técnica.

Como se usa en el presente documento, la expresión uso terapéutico "simultáneo" se refiere a la administración de al menos dos principios activos mediante la misma vía y al mismo tiempo o sustancialmente al mismo tiempo.

Como se usa en el presente documento, la expresión uso terapéutico "separado" se refiere a una administración de al menos dos principios activos al mismo tiempo o sustancialmente al mismo tiempo por diferentes vías.

Como se usa en el presente documento, la expresión uso terapéutico "secuencial" se refiere a la administración de al menos dos principios activos en momentos diferentes, siendo la vía de administración idéntica o diferente. Más particularmente, el uso secuencial se refiere a la administración completa de uno de los principios activos antes de que comience la administración del otro u otros. Por lo tanto, es posible administrar uno de los principios activos durante varios minutos, horas o días antes de administrar el otro principio o principios activos. En este caso no hay tratamiento simultáneo.

Como se usa en el presente documento, las expresiones "tratar" o "tratamiento" o "alivio" se refieren al tratamiento terapéutico, en el que el objeto es prevenir, reducir, aliviar o ralentizar (disminuir) la afección o trastorno patológico que se tiene como objeto. Un sujeto es "tratado" con éxito para el síndrome de Barth si, después de recibir una cantidad terapéutica de los péptidos aromático-catiónicos, tal como D-Arg-2'6'-Dmt-Lys-Phe-NH<sub>2</sub>, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, tal como sal de acetato o trifluoroacetato, de acuerdo con los métodos que se describen en el presente documento, el sujeto el sujeto muestra una reducción observable y/o medible con la ausencia de uno o más signos y síntomas del síndrome de Barth, tales como, por ejemplo, cardiomiopatía, anomalías del músculo esquelético, neutropenia, desarrollo lento, tono muscular débil, aumento de los niveles de ácidos orgánicos en la orina y en la sangre, y/o infecciones bacterianas frecuentes, tal como neumonía. También se debe observar que los diversos modos de tratamiento o prevención de afecciones médicas tal como se describen pretenden hacer referencia a "sustancial", que incluye un tratamiento o prevención total pero también menor que el total, y en el que se logra algún resultado biológico o médicamente relevante. El tratamiento del síndrome de Barth, como se usa en el presente documento, también se refiere al tratamiento de niveles de expresión de TAZ1 reducidos característicos del Síndrome, causando de ese modo un aumento de la expresión de TAZ1 en comparación con el nivel de expresión de TAZ1 del sujeto antes del tratamiento.

Como se usa en el presente documento, "prevención" o "prevenir" un trastorno o afección se refiere a un compuesto que, en una muestra estadística, reduce la aparición de síntomas de un trastorno o afección en la muestra tratada en relación con una muestra de control no tratada, o retrasa el inicio o reduce la gravedad de uno o más síntomas del trastorno o afección en relación con la muestra de control no tratada. Como se usa en el presente documento, prevenir el síndrome de Barth incluye prevenir o retrasar el inicio, prevenir, retrasar o ralentizar la progresión o avance de, y/o revertir la progresión del síndrome de Barth. Como se usa en el presente documento, la prevención del síndrome de Barth también incluye la prevención de la recurrencia de uno o más signos o síntomas del síndrome de Barth.

#### Péptidos Aromáticos-Catiónicos

La tecnología actual se refiere a composiciones para uso en la prevención o tratamiento del síndrome de Barth en un sujeto que lo necesite. En algunas realizaciones, las composiciones se usan para prevenir uno o más signos o síntomas del síndrome de Barth en un sujeto. En algunas realizaciones, las composiciones se usan para aumentar el nivel de expresión de TAZ1 en un sujeto. En algunas realizaciones, las composiciones se usan para reducir la probabilidad de que un sujeto con factores de riesgo para el síndrome de Barth desarrolle uno o más signos o síntomas del síndrome de Barth.

Los péptidos aromático-catiónicos son solubles en agua y altamente polares. A pesar de estas propiedades, los péptidos pueden penetrar fácilmente las membranas celulares. Los péptidos aromático-catiónicos por lo general incluyen un mínimo de tres aminoácidos o un mínimo de cuatro aminoácidos, unidos coherentemente por enlaces peptídicos. El número máximo de aminoácidos presentes en los péptidos aromático-catiónicos es de unos veinte aminoácidos unidos covalentemente por enlaces peptídicos. De manera adecuada, el número máximo de aminoácidos es aproximadamente doce, más preferentemente aproximadamente nueve, y lo más preferentemente aproximadamente seis.

Los aminoácidos de los péptidos aromático-catiónicos pueden ser cualquier aminoácido. Como se usa en el presente documento, la expresión "aminoácido" se usa para hacer referencia a cualquier molécula orgánica que contiene al menos un grupo amino y al menos un grupo carboxilo. Por lo general, al menos un grupo amino está en una posición con respecto a un grupo carboxilo. Los aminoácidos pueden ser de origen natural. Los aminoácidos de origen natural incluyen, por ejemplo, los veinte aminoácidos levógiros (L) más comunes que se encuentran normalmente en proteínas de mamíferos, es decir, alanina (Ala), arginina (Arg), asparagina (Asn), ácido aspártico (Asp), cisteína (Cys), glutamina (Gln), ácido glutámico (Glu), glicina (Gly), histidina (His), isoleucina (Ile), leucina (Leu), lisina (Lys), metionina (Met), fenilalanina (Phe), prolina (Pro), serina (Ser), treonina (Thr), triptófano, (Trp), tirosina (Tyr) y valina (Val). Otros aminoácidos de origen natural incluyen, por ejemplo, aminoácidos que se sintetizan en procesos metabólicos no asociados con la síntesis de proteínas. Por ejemplo, los aminoácidos ornitina y citrulina se sintetizan en el metabolismo de los mamíferos durante la producción de urea. Otro ejemplo de un aminoácido natural incluye hidroxiprolina (Hyp).

Los péptidos contienen de forma opcional uno o más aminoácidos no naturales. De forma óptima, el péptido no tiene aminoácidos que se producen naturalmente. Los aminoácidos no naturales pueden ser levógiros (L-), o dextrógiros (D-) o mezclas de los mismos. Los aminoácidos no naturales son aquellos aminoácidos que normalmente no se sintetizan en los procesos metabólicos normales en los organismos vivos, y no se producen naturalmente en las proteínas. Además, los aminoácidos que no se encuentran en la naturaleza de manera adecuada tampoco son reconocidos por las proteasas comunes. El aminoácido de origen no natural puede estar presente en cualquier posición en el péptido. Por ejemplo, el aminoácido no natural puede estar en el extremo N-terminal, el extremo C-terminal, o en cualquier posición entre el extremo N-terminal y el extremo C-terminal.

Los aminoácidos no naturales pueden, por ejemplo, comprender grupos alquilo, arilo o alquilarilo que no se encuentran en aminoácidos naturales. Algunos ejemplos de alquilaminoácidos no naturales incluyen ácido  $\alpha$ -aminobutírico, ácido  $\beta$ -aminobutírico, ácido  $\gamma$ -aminobutírico, ácido  $\delta$ -aminovalérico y ácido  $\epsilon$ -aminocaproico. Algunos ejemplos de arilaminoácidos no naturales incluyen los ácidos orto, meta y paraaminobenzoico. Algunos ejemplos de alquilaril aminoácidos no naturales incluyen ácido orto-, meta- y para-aminofenilacético, y ácido  $\gamma$ -fenil- $\beta$ -aminobutírico. Los aminoácidos no naturales incluyen derivados de aminoácidos naturales. Los derivados de aminoácidos naturales pueden incluir, por ejemplo, la adición de uno o más grupos químicos al aminoácido natural.

Por ejemplo, uno o más grupos químicos se pueden añadir a una o más de las posiciones 2', 3', 4', 5' o 6' del anillo aromático de un resto de fenilalanina o tirosina, o la posición 4', 5', 6' o 7' del anillo benzo de un resto de triptófano. El grupo puede ser cualquier grupo químico que se pueda añadir a un anillo aromático. Algunos ejemplos de dichos grupos incluyen alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> ramificado o no ramificado, tal como metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, butilo, isobutilo o t-butilo, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> (es decir, alcoxi), amino, alquilamino C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> y dialquilamino C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> (por ejemplo, metilamino, dimetilamino), nitro, hidroxil, halo (es decir, flúor, cloro, bromo o yodo). Algunos ejemplos específicos de derivados no naturales de aminoácidos naturales incluyen norvalina (Nva) y norleucina (Nle).

Otro ejemplo de una modificación de un aminoácido en un péptido es la derivatización de un grupo carboxilo de un ácido aspártico o un resto de ácido glutámico del péptido. Un ejemplo de derivatización es la amidación con amoniaco o con una amina primaria o secundaria, por ejemplo, metilamina, etilamina, dimetilamina o dietilamina. Otro ejemplo de derivatización incluye la esterificación con, por ejemplo, alcohol metílico o etílico. Otra de tales modificaciones incluye la derivatización de un grupo amino de un resto de lisina, arginina o histidina. Por ejemplo, los grupos amino de ese tipo se pueden acilar. Algunos grupos acilo adecuados incluyen, por ejemplo, un grupo benzoilo o un grupo alcanilo que comprende cualquiera de los grupos alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> mencionados anteriormente, tales como un grupo acetilo o propionilo.

Los aminoácidos no naturales son adecuadamente resistentes o insensibles a las proteasas comunes. Los ejemplos de aminoácidos no naturales que son resistentes o insensibles a las proteasas incluyen la forma dextrógira (D-) de cualquiera de los L-aminoácidos naturales mencionados anteriormente, así como aminoácidos de origen no natural L- y/o D-. Los D-aminoácidos normalmente no se encuentran en las proteínas, aunque se encuentran en ciertos antibióticos peptídicos que se sintetizan por medios distintos de la maquinaria sintética de la proteína ribosómica normal de la célula. Como se usa en el presente documento, los D-aminoácidos se consideran aminoácidos no naturales.

Con el fin de minimizar la sensibilidad a la proteasa, los péptidos deben tener menos de cinco, preferentemente menos de cuatro, más preferentemente menos de tres, y lo más preferentemente, menos de dos L-aminoácidos contiguos reconocidos por proteasas comunes, independientemente de si los aminoácidos son de origen natural o

no natural. Óptimamente, el péptido tiene solo D-aminoácidos y no L-aminoácidos. Si el péptido contiene secuencias de aminoácidos sensibles a la proteasa, al menos uno de los aminoácidos es preferentemente un D-aminoácido no natural, lo que confiere resistencia a la proteasa. Un ejemplo de una secuencia sensible a la proteasa incluye dos o más aminoácidos básicos contiguos que se escinden fácilmente por proteasas comunes, tales como endopeptidasas y tripsina. Los ejemplos de aminoácidos básicos incluyen arginina, lisina e histidina.

Los péptidos aromático-catiónicos deberían tener un número mínimo de cargas positivas netas a pH fisiológico en comparación con el número total de restos de aminoácido en el péptido. El número mínimo de cargas positivas netas a pH fisiológico se denominará a continuación ( $p_m$ ). El número total de restos de aminoácido en el péptido se denominará a continuación ( $r$ ). El número mínimo de cargas positivas netas que se discuten a continuación están todas a pH fisiológico. La expresión "pH fisiológico" como se usa en el presente documento se refiere al pH normal en las células de los tejidos y órganos del cuerpo del mamífero. Por ejemplo, el pH fisiológico de un ser humano normalmente es aproximadamente 7,4 pero el pH fisiológico normal en mamíferos puede ser cualquier pH de aproximadamente 7,0 a aproximadamente 7,8

"Carga neta" como se usa en el presente documento se refiere al balance del número de cargas positivas y el número de cargas negativas portadas por los aminoácidos presentes en el péptido. En la presente memoria descriptiva, se entiende que las cargas netas se miden a pH fisiológico. Los aminoácidos de origen natural que tienen cara positiva a pH fisiológico incluyen L-lisina, L-arginina, y L-histidina. Los aminoácidos de origen natural que tienen carga negativa a pH fisiológico incluyen ácido L-aspartico y ácido L-glutámico.

Por lo general, un péptido tiene un grupo amino N-terminal con carga positiva y un grupo carboxilo C-terminal con carga negativa. Las cargas se anulan entre sí a pH fisiológico. Como un ejemplo de cálculo de la carga neta, el péptido Tyr-Arg-Phe-Lys-Glu-His-Trp-D-Arg tiene un aminoácido con carga negativa (es decir, Glu) y cuatro aminoácidos con carga positiva (es decir, dos restos de Arg, un resto de Lys, y un resto de His). Por lo tanto, el péptido mencionado anteriormente tiene una carga positiva neta de tres.

En una realización, los péptidos aromático-catiónicos tienen una relación entre el número mínimo de cargas positivas netas a pH fisiológico ( $p_m$ ) y el número total de restos de aminoácido ( $r$ ) en la que  $3p_m$  es el número mayor que es inferior o igual a  $r + 1$ . En esta realización, la relación entre el número mínimo de cargas positivas netas ( $p_m$ ) y el número total de restos de aminoácido ( $r$ ) es como sigue a continuación:

**TABLA 1. Número de aminoácidos y cargas positivas netas ( $3p_m \leq r + 1$ )**

(r)	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
(P <sub>m</sub> )	1	1	2	2	2	3	3	3	4	4	4	5	5	5	6	6	6	7

En otra realización, los péptidos aromático-catiónicos tienen una relación entre el número mínimo de cargas positivas netas ( $p_m$ ) y el número total de restos de aminoácido ( $r$ ) en la que  $2p_m$  es el número mayor que es inferior o igual a  $r + 1$ . En esta realización, la relación entre el número mínimo de cargas positivas netas ( $p_m$ ) y el número total de restos de aminoácido ( $r$ ) es como sigue a continuación:

**TABLA 2. Número de aminoácidos y cargas positivas netas ( $2p_m \leq r + 1$ )**

(r)	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
(P <sub>m</sub> )	2	2	3	3	4	4	5	5	6	6	7	7	8	8	9	9	10	10

En una realización, el número mínimo de cargas positivas netas ( $p_m$ ) y el número total de restos de aminoácido ( $r$ ) son iguales. En otra realización, los péptidos tienen tres o cuatro restos de aminoácido y un mínimo de una carga positiva neta, de manera adecuada, un mínimo de dos cargas positivas netas y más preferentemente un mínimo de tres cargas positivas netas.

También es importante que los péptidos aromático-catiónicos tengan un número mínimo de grupos aromáticos en comparación con el número total de cargas positivas netas ( $p_t$ ). El número mínimo de grupos aromáticos se denominará a continuación ( $a$ ). Los aminoácidos de origen natural que tienen un grupo aromático incluyen los aminoácidos histidina, triptófano, tirosina, y fenilalanina. Por ejemplo, el hexapéptido Lys-Gln-Tyr-D-Arg-Phe-Trp tiene una carga positiva neta de dos (proporcionada por los restos de lisina y arginina) y tres grupos aromáticos (proporcionada por los restos de tirosina, fenilalanina y triptófano).

Los péptidos aromático-catiónicos también deberían tener una relación entre el número mínimo de grupos aromáticos ( $a$ ) y el número total de cargas positivas netas a pH fisiológico ( $p_t$ ) en la que  $3a$  es el número mayor que es inferior o igual a  $p_t + 1$ , excepto que cuando  $p_t$  es 1,  $a$  también puede ser 1. En esta realización, la relación entre el número mínimo de grupos aromáticos ( $a$ ) y el número total de cargas positivas netas ( $p_t$ ) es como sigue a

continuación:

**TABLA 3. Número de aminoácidos y cargas positivas netas ( $3a \leq p_t + 1$  o  $a = p_t = 1$ )**

(P <sub>t</sub> )	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
(a)	1	1	1	1	2	2	2	3	3	3	4	4	4	5	5	5	6	6	6	7

- 5 En otra realización, los péptidos aromático-catiónicos tienen una relación entre el número mínimo de grupos aromáticos (a) y el número total de cargas positivas netas (p<sub>t</sub>) en la que 2a es el número mayor que es inferior o igual a p<sub>t</sub> + 1. En esta realización, la relación entre el número mínimo de restos de aminoácido aromáticos (a) y el número total de cargas positivas netas (p<sub>t</sub>) es como sigue a continuación:

10

**TABLA 4. Grupos aromáticos y cargas positivas netas ( $2a \leq p_t + 1$  o  $a = p_t = 1$ )**

(P <sub>t</sub> )	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
(a)	1	1	2	2	3	3	4	4	5	5	6	6	7	7	8	8	9	9	10	10

En otra realización, el número de grupos aromáticos (a) y el número total de cargas positivas netas (p<sub>t</sub>) son iguales.

- 15 Los grupos carboxilo, especialmente el grupo carboxilo terminal de un aminoácido C-terminal, de forma adecuada están amidados con, por ejemplo, amoniaco para formar la amida C-terminal. De forma alternativa, el grupo carboxilo terminal del aminoácido C-terminal se puede amidar con cualquiera amina primaria o secundaria. La amina primaria o secundaria puede ser, por ejemplo, un alquilo, especialmente un alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> ramificado o no ramificado, o una aril amina. Por lo tanto, el aminoácido en el extremo C-terminal del péptido se puede convertir en un grupo amido, N-metilamido, N-etilamido, N,N-dimetilamido, N,N-dietilamido, N-metil-N-etilamido, N-fenilamido o N-fenil-N-etilamido. Los grupos carboxilato libres de los restos de asparagina, glutamina, ácido aspártico, y ácido glutámico que no se producen en el extremo C-terminal de los péptidos aromático-catiónicos también se pueden amidar siempre que aparezcan dentro del péptido. La amidación en estas posiciones internas se puede realizar con amoniaco o cualquiera de las aminas primarias o secundarias que se han descrito anteriormente.

- 25 En una realización, el péptido aromático-catiónico es un tripéptido que tiene dos cargas positivas netas y al menos un aminoácido aromático. En una realización particular, el péptido aromático-catiónico es un tripéptido que tiene dos cargas positivas netas y dos aminoácidos aromáticos.

30 Los péptidos aromático-catiónicos incluyen los siguientes péptidos a modo de ejemplo:

<b>TABLA 5: PÉPTIDOS A MODO DE EJEMPLO</b>
2',6'-Dmp-D-Arg-2',6'-Dmt-Lys-NH <sub>2</sub>
2',6'-Dmp-D-Arg-Phe-Lys-NH <sub>2</sub>
2',6'-Dmt-D-Arg-PheOrn-NH <sub>2</sub>
2',6'-Dmt-D-Arg-Phe-Ahp (ácido 2-aminoheptanoico)-NH <sub>2</sub>
2',6'-Dmt-D-Arg-Phe-Lys-NH <sub>2</sub>
2',6'-Dmt-D-Cit-PheLys-NH <sub>2</sub>
Ala-D-Phe-D-Arg-Tyr-Lys-D-Trp-His-D-Tyr-Gly-Phe
Arg-D-Leu-D-Tyr-Phe-Lys-Glu-D-Lys-Arg-D-Trp-Lys-D-Phe-Tyr-D-Arg-Gly
Asp-Arg-D-Phe-Cys-Phe-D-Arg-D-Lys-Tyr-Arg-D-Tyr-Trp-D-His-Tyr-D-Phe-Lys-Phe
Asp-D-Trp-Lys-Tyr-D-His-Phe-Arg-D-Gly-Lys-NH <sub>2</sub>
D-Arg-2',6'-Dmt-Lys-Phe-NH <sub>2</sub>
D-Glu-Asp-Lys-D-Arg-D-His-Phe-Phe-D-Val-Tyr-Arg-Tyr-D-Tyr-Arg-His-Phe-NH <sub>2</sub>
D-His-Glu-Lys-Tyr-D-Phe-Arg
D-His-Lys-Tyr-D-Phe-Glu-D-Asp-D-Asp-D-His-D-Lys-Arg-Trp-NH <sub>2</sub>
D-Tyr-Trp-Lys-NH <sub>2</sub>
Glu-Arg-D-Lys-Tyr-D-Val-Phe-D-His-Trp-Arg-D-Gly-Tyr-Arg-D-Met-NH <sub>2</sub>
Gly-Ala-Lys-Phe-D-Lys-Glu-Arg-Tyr-His-D-Arg-D-Arg-Asp-Tyr-Trp-D-His-Trp-His-D-Lys-Asp.

Gly-D-Phe-Lys-His-D-Arg-Tyr-NH <sub>2</sub>
His-Tyr-D-Arg-Trp-Lys-Phe-D-Asp-Ala-Arg-Cys-D-Tyr-His-Phe-D-Lys-Tyr-His-Ser-NH <sub>2</sub>
Lys-D-Arg-Tyr-NH <sub>2</sub>
Lys-D-Gln-Tyr-Arg-D-Phe-Trp-NH <sub>2</sub>
Lys-Trp-D-Tyr-Arg-Asn-Phe-Tyr-D-His-NH <sub>2</sub>
Met-Tyr-D-Arg-Phe-Arg-NH <sub>2</sub>
Met-Tyr-D-Lys-Phe-Arg
Phe-Arg-D-His-Asp
Phe-D-Arg-2',6'-Dmt-Lys-NH <sub>2</sub>
Phe-D-Arg-His
Phe-D-Arg-Lys-Trp-Tyr-D-Arg-His
Phe-D-Arg-Phe-Lys-NH <sub>2</sub>
Phe-Phe-D-Tyr-Arg-Glu-Asp-D-Lys-Arg-D-Arg-His-Phe-NH <sub>2</sub>
Phe-Tyr-Lys-D-Arg-Trp-His-D-Lys-D-Lys-Glu-Arg-D-Tyr-Thr
Thr-Gly-Tyr-Arg-D-His-Phe-Trp-D-His-Lys
Thr-Tyr-Arg-D-Lys-Trp-Tyr-Glu-Asp-D-Lys-D-Arg-His-Phe-D-Tyr-Gly-Val-Ile-D-His-Arg-Tyr-Lys-NH <sub>2</sub>
Trp-D-Lys-Tyr-Arg-NH <sub>2</sub>
Trp-Lys-Phe-D-Asp-Arg-Tyr-D-His-Lys
Tyr-Asp-D-Lys-Tyr-Phe-D-Lys-D-Arg-Phe-Pro-D-Tyr-His-Lys
Tyr-D-Arg-Phe-Lys-Glu-NH <sub>2</sub>
Tyr-D-Arg-Phe-Lys-NH <sub>2</sub>
Tyr-D-His-Phe-D-Arg-Asp-Lys-D-Arg-His-Trp-D-His-Phe
Tyr-His-D-Gly-Met
Val-D-Lys-His-Tyr-D-Phe-Ser-Tyr-Arg-NH <sub>2</sub>

En una realización, los péptidos tienen actividad agonista del receptor opioide mu (es decir, activan el receptor opioide mu). Los péptidos, que tienen actividad agonista del receptor opioide mu, por lo general son aquellos péptidos que tienen un resto de tirosina o un derivado de tirosina en el extremo N-terminal (es decir, la primera posición del aminoácido). Los derivados de tirosina adecuados incluyen 2'-metiltirosina (Mmt); 2',6'-dimetiltirosina (2'6'-Dmt); 3',5'-dimetiltirosina (3'5'Dmt); N, 2',6'-trimetiltirosina (Tmt); y 2'-hidroxi-6'-metiltirosina (Hmt).

En una realización, un péptido que tiene actividad agonista del receptor opioide mu tiene la fórmula Tyr-D-Arg-Phe-Lys-NH<sub>2</sub>. Tyr-D-Arg-Phe-Lys-NH<sub>2</sub> tiene una carga positiva neta de tres, aportada por los aminoácidos tirosina, arginina y lisina y tiene dos grupos aromáticos aportados por los aminoácidos fenilalanina y tirosina. La tirosina de Tyr-D-Arg-Phe-Lys-NH<sub>2</sub> puede ser un derivado modificado de la tirosina como en 2',6'-dimetiltirosina para producir el compuesto que tiene la fórmula 2',6'-Dmt-D-Arg-Phe-Lys-NH<sub>2</sub>. 2',6'-Dmt-D-Arg-Phe-Lys-NH<sub>2</sub> tiene un peso molecular de 640 y tiene una carga neta positiva de tres a pH fisiológico. 2',6'-Dmt-D-Arg-Phe-Lys-NH<sub>2</sub> penetra fácilmente en la membrana plasmática de varios tipos de células de mamífero de una manera independiente de la energía (Zhao, *et al.*, *J. Pharmacol Exp Ther.*, 304: 425-432, 2003).

De forma alternativa, en otros casos, el péptido aromático-catiónico no tiene actividad agonista del receptor opioide mu. Por ejemplo, durante el tratamiento a largo plazo, como en una patología o afección, el uso de un péptido aromático-catiónico que activa el receptor opioide mu puede estar contraindicado. En estos casos, los efectos potencialmente adversos o adictivos del péptido aromático-catiónico pueden impedir el uso de un péptido aromático-catiónico que activa el receptor opioide mu en el régimen de tratamiento de un paciente humano u otro mamífero. Los posibles efectos adversos pueden incluir sedación, estreñimiento y depresión respiratoria. En tales casos, un péptido aromático-catiónico que no activa el receptor opioide mu puede ser un tratamiento apropiado. Los péptidos que no tienen actividad agonista del receptor opioide mu generalmente no tienen un residuo de tirosina o un derivado de tirosina en el extremo N-terminal (es decir, posición 1 de aminoácido). El aminoácido en el extremo N-terminal puede ser cualquier aminoácido natural o no natural que no sea tirosina. En una realización, el aminoácido en el extremo N-terminal es fenilalanina o su derivado. Los derivados de fenilalanina a modo de ejemplo incluyen 2'-metilfenilalanina (Mmp), 2',6'-dimetilfenilalanina (2',6'-Dmp), N,2',6'-trimetilfenilalanina (Tmp) y 2'-hidroxi-6'-metilfenilalanina (Hmp).

Un ejemplo de un péptido aromático-catiónico que no tiene actividad agonista del receptor opioide mu tiene la fórmula Phe-D-Arg-Phe-Lys-NH<sub>2</sub>. De forma alternativa, la fenilalanina N-terminal puede ser un derivado de fenilalanina tal como 2',6'-dimetilfenilalanina (2'6'-Dmp). Tyr-D-Arg-Phe-Lys-NH<sub>2</sub> que contiene 2',6'-dimetilfenilalanina en la posición 1 del aminoácido tiene la fórmula 2',6'-Dmp-D-Arg-Phe-Lys-NH<sub>2</sub>. En una realización, la secuencia de aminoácidos de 2',6'-Dmt-D-Arg-Phe-Lys-NH<sub>2</sub> se reorganiza de modo que no está en el extremo N-terminal. Un ejemplo de un péptido aromático-catiónico de ese tipo que no tiene actividad agonista del receptor opioide mu tiene la fórmula D-Arg-2'6'-Dmt-Lys-Phe-NH<sub>2</sub>.

Las variantes de sustitución adecuadas de los péptidos enumerados en el presente documento incluyen sustituciones de aminoácidos conservadoras. Los aminoácidos se pueden agrupar de acuerdo con sus características fisicoquímicas de la siguiente manera:

(a) Aminoácidos no polares: Ala (A) Ser (S) Thr (T) Pro (P) Gly (G) Cys (C);

(b) Aminoácidos ácidos: Asn (N) Asp (D) Glu (E) Gln (Q);

(c) Aminoácidos básicos: His (H) Arg (R) Lys (K);

(d) Aminoácidos hidrófobos: Met (M) Leu (L) Ile (I) Val (V); y

(e) Aminoácidos aromáticos: Phe (F) Tyr (Y) Trp (W) His (H).

Las sustituciones de un aminoácido en un péptido por otro aminoácido en el mismo grupo se denominan sustitución conservadora y pueden preservar las características fisicoquímicas del péptido original. Por el contrario, las sustituciones de un aminoácido en un péptido por otro aminoácido en un grupo diferente son generalmente más propensas a alterar las características del péptido original.

Los ejemplos de péptidos que activan los receptores opioides mu incluyen los péptidos aromático-catiónicos que se muestran en la Tabla 6.

<b>Aminoácido Posición 1</b>	<b>Aminoácido Posición 2</b>	<b>Aminoácido Posición 3</b>	<b>Aminoácido Posición 4</b>	<b>Modificación C-Terminal</b>
Tyr	D-Arg	Phe	Lys	NH <sub>2</sub>
Tyr	D-Arg	Phe	Orn	NH <sub>2</sub>
Tyr	D-Arg	Phe	Dab	NH <sub>2</sub>
Tyr	D-Arg	Phe	Dap	NH <sub>2</sub>
2'6'Dmt	D-Arg	Phe	Lys	NH <sub>2</sub>
2'6'Dmt	D-Arg	Phe	Lys-NH(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> -NH-dns	NH <sub>2</sub>
2'6'Dmt	D-Arg	Phe	Lys-NH(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> -NH-atn	NH <sub>2</sub>
2'6'Dmt	D-Arg	Phe	dnsLys	NH <sub>2</sub>
2'6'Dmt	D-Cit	Phe	Lys	NH <sub>2</sub>
2'6'Dmt	D-Cit	Phe	Ahp	NH <sub>2</sub>
2'6'Dmt	D-Arg	Phe	Orn	NH <sub>2</sub>
2'6'Dmt	D-Arg	Phe	Dab	NH <sub>2</sub>
2'6'Dmt	D-Arg	Phe	Dap	NH <sub>2</sub>
2'6'Dmt	D-Arg	Phe	Ahp (ácido 2-aminoheptanoico)	NH <sub>2</sub>
Bio-2'6'Dmt	D-Arg	Phe	Lys	NH <sub>2</sub>
3'5'Dmt	D-Arg	Phe	Lys	NH <sub>2</sub>
3'5'Dmt	D-Arg	Phe	Orn	NH <sub>2</sub>
3'5'Dmt	D-Arg	Phe	Dab	NH <sub>2</sub>
3'5'Dmt	D-Arg	Phe	Dap	NH <sub>2</sub>

ES 2 750 258 T3

Tyr	D-Arg	Tyr	Lys	NH <sub>2</sub>
Tyr	D-Arg	Tyr	Orn	NH <sub>2</sub>
Tyr	D-Arg	Tyr	Dab	NH <sub>2</sub>
Tyr	D-Arg	Tyr	Dap	NH <sub>2</sub>
2'6'Dmt	D-Arg	Tyr	Lys	NH <sub>2</sub>
2'6'Dmt	D-Arg	Tyr	Orn	NH <sub>2</sub>
2'6'Dmt	D-Arg	Tyr	Dab	NH <sub>2</sub>
2'6'Dmt	D-Arg	Tyr	Dap	NH <sub>2</sub>
2'6'Dmt	D-Arg	2'6'Dmt	Lys	NH <sub>2</sub>
2'6'Dmt	D-Arg	2'6'Dmt	Orn	NH <sub>2</sub>
2'6'Dmt	D-Arg	2'6'Dmt	Dab	NH <sub>2</sub>
2'6'Dmt	D-Arg	2'6'Dmt	Dap	NH <sub>2</sub>
3'5'Dmt	D-Arg	3'5'Dmt	Arg	NH <sub>2</sub>
3'5'Dmt	D-Arg	3'5'Dmt	Lys	NH <sub>2</sub>
3'5'Dmt	D-Arg	3'5'Dmt	Orn	NH <sub>2</sub>
3'5'Dmt	D-Arg	3'5'Dmt	Dab	NH <sub>2</sub>
Tyr	D-Lys	Phe	Dap	NH <sub>2</sub>
Tyr	D-Lys	Phe	Arg	NH <sub>2</sub>
Tyr	D-Lys	Phe	Lys	NH <sub>2</sub>
Tyr	D-Lys	Phe	Orn	NH <sub>2</sub>
2'6'Dmt	D-Lys	Phe	Dab	NH <sub>2</sub>
2'6'Dmt	D-Lys	Phe	Dap	NH <sub>2</sub>
2'6'Dmt	D-Lys	Phe	Arg	NH <sub>2</sub>
2'6'Dmt	D-Lys	Phe	Lys	NH <sub>2</sub>
3'5'Dmt	D-Lys	Phe	Orn	NH <sub>2</sub>
3'5'Dmt	D-Lys	Phe	Dab	NH <sub>2</sub>
3'5'Dmt	D-Lys	Phe	Dap	NH <sub>2</sub>
3'5'Dmt	D-Lys	Phe	Arg	NH <sub>2</sub>
Tyr	D-Lys	Tyr	Lys	NH <sub>2</sub>
Tyr	D-Lys	Tyr	Orn	NH <sub>2</sub>
Tyr	D-Lys	Tyr	Dab	NH <sub>2</sub>
Tyr	D-Lys	Tyr	Dap	NH <sub>2</sub>
2'6'Dmt	D-Lys	Tyr	Lys	NH <sub>2</sub>
2'6'Dmt	D-Lys	Tyr	Orn	NH <sub>2</sub>
2'6'Dmt	D-Lys	Tyr	Dab	NH <sub>2</sub>
2'6'Dmt	D-Lys	Tyr	Dap	NH <sub>2</sub>
2'6'Dmt	D-Lys	2'6'Dmt	Lys	NH <sub>2</sub>
2'6'Dmt	D-Lys	2'6'Dmt	Orn	NH <sub>2</sub>
2'6'Dmt	D-Lys	2'6'Dmt	Dab	NH <sub>2</sub>
2'6'Dmt	D-Lys	2'6'Dmt	Dap	NH <sub>2</sub>
2'6'Dmt	D-Arg	Phe	dnsDap	NH <sub>2</sub>
2'6'Dmt	D-Arg	Phe	atnDap	NH <sub>2</sub>
3'5'Dmt	D-Lys	3'5'Dmt	Lys	NH <sub>2</sub>
3'5'Dmt	D-Lys	3'5'Dmt	Orn	NH <sub>2</sub>
3'5'Dmt	D-Lys	3'5'Dmt	Dab	NH <sub>2</sub>
3'5'Dmt	D-Lys	3'5'Dmt	Dap	NH <sub>2</sub>
Tyr	D-Lys	Phe	Arg	NH <sub>2</sub>

ES 2 750 258 T3

Tyr	D-Orn	Phe	Arg	NH <sub>2</sub>
Tyr	D-Dab	Phe	Arg	NH <sub>2</sub>
Tyr	D-Dap	Phe	Arg	NH <sub>2</sub>
2'6'Dmt	D-Arg	Phe	Arg	NH <sub>2</sub>
2'6'Dmt	D-Lys	Phe	Arg	NH <sub>2</sub>
2'6'Dmt	D-Orn	Phe	Arg	NH <sub>2</sub>
2'6'Dmt	D-Dab	Phe	Arg	NH <sub>2</sub>
3'5'Dmt	D-Dap	Phe	Arg	NH <sub>2</sub>
3'5'Dmt	D-Arg	Phe	Arg	NH <sub>2</sub>
3'5'Dmt	D-Lys	Phe	Arg	NH <sub>2</sub>
3'5'Dmt	D-Orn	Phe	Arg	NH <sub>2</sub>
Tyr	D-Lys	Tyr	Arg	NH <sub>2</sub>
Tyr	D-Orn	Tyr	Arg	NH <sub>2</sub>
Tyr	D-Dab	Tyr	Arg	NH <sub>2</sub>
Tyr	D-Dap	Tyr	Arg	NH <sub>2</sub>
2'6'Dmt	D-Arg	2'6'Dmt	Arg	NH <sub>2</sub>
2'6'Dmt	D-Lys	2'6'Dmt	Arg	NH <sub>2</sub>
2'6'Dmt	D-Orn	2'6'Dmt	Arg	NH <sub>2</sub>
2'6'Dmt	D-Dab	2'6'Dmt	Arg	NH <sub>2</sub>
3'5'Dmt	D-Dap	3'5'Dmt	Arg	NH <sub>2</sub>
3'5'Dmt	D-Arg	3'5'Dmt	Arg	NH <sub>2</sub>
3'5'Dmt	D-Lys	3'5'Dmt	Arg	NH <sub>2</sub>
3'5'Dmt	D-Orn	3'5'Dmt	Arg	NH <sub>2</sub>
Mmt	D-Arg	Phe	Lys	NH <sub>2</sub>
Mmt	D-Arg	Phe	Orn	NH <sub>2</sub>
Mmt	D-Arg	Phe	Dab	NH <sub>2</sub>
Mmt	D-Arg	Phe	Dap	NH <sub>2</sub>
Tmt	D-Arg	Phe	Lys	NH <sub>2</sub>
Tmt	D-Arg	Phe	Orn	NH <sub>2</sub>
Tmt	D-Arg	Phe	Dab	NH <sub>2</sub>
Tmt	D-Arg	Phe	Dap	NH <sub>2</sub>
Hmt	D-Arg	Phe	Lys	NH <sub>2</sub>
Hmt	D-Arg	Phe	Orn	NH <sub>2</sub>
Hmt	D-Arg	Phe	Dab	NH <sub>2</sub>
Hmt	D-Arg	Phe	Dap	NH <sub>2</sub>
Mmt	D-Lys	Phe	Lys	NH <sub>2</sub>
Mmt	D-Lys	Phe	Orn	NH <sub>2</sub>
Mmt	D-Lys	Phe	Dab	NH <sub>2</sub>
Mmt	D-Lys	Phe	Dap	NH <sub>2</sub>
Mmt	D-Lys	Phe	Arg	NH <sub>2</sub>
Tmt	D-Lys	Phe	Lys	NH <sub>2</sub>
Tmt	D-Lys	Phe	Orn	NH <sub>2</sub>
Tmt	D-Lys	Phe	Dab	NH <sub>2</sub>
Tmt	D-Lys	Phe	Dap	NH <sub>2</sub>
Tmt	D-Lys	Phe	Arg	NH <sub>2</sub>
Hmt	D-Lys	Phe	Lys	NH <sub>2</sub>
Hmt	D-Lys	Phe	Orn	NH <sub>2</sub>

ES 2 750 258 T3

Hmt	D-Lys	Phe	Dab	NH <sub>2</sub>
Hmt	D-Lys	Phe	Dap	NH <sub>2</sub>
Hmt	D-Lys	Phe	Arg	NH <sub>2</sub>
Mmt	D-Lys	Phe	Arg	NH <sub>2</sub>
Mmt	D-Orn	Phe	Arg	NH <sub>2</sub>
Mmt	D-Dab	Phe	Arg	NH <sub>2</sub>
Mmt	D-Dap	Phe	Arg	NH <sub>2</sub>
Mmt	D-Arg	Phe	Arg	NH <sub>2</sub>
Tmt	D-Lys	Phe	Arg	NH <sub>2</sub>
Tmt	D-Orn	Phe	Arg	NH <sub>2</sub>
Tmt	D-Dab	Phe	Arg	NH <sub>2</sub>
Tmt	D-Dap	Phe	Arg	NH <sub>2</sub>
Tmt	D-Arg	Phe	Arg	NH <sub>2</sub>
Hmt	D-Lys	Phe	Arg	NH <sub>2</sub>
Hmt	D-Orn	Phe	Arg	NH <sub>2</sub>
Hmt	D-Dab	Phe	Arg	NH <sub>2</sub>
Hmt	D-Dap	Phe	Arg	NH <sub>2</sub>
Hmt	D-Arg	Phe	Arg	NH <sub>2</sub>

Dab = diaminobutírico

Dap = ácido diaminopropiónico

Dmt = dimetiltirosina

Mmt = 2'-metiltirosina

Tmt = N, 2',6'-trimetiltirosina

Hmt = 2'-hidroxi,6'-metiltirosina

dnsDap = ácido β-dansil-L-α,β-diaminopropiónico

atnDap = ácido β-antranoil-L-α,β-diaminopropiónico

Bio = biotina

Los ejemplos de péptidos que no activan los receptores opioides mu incluyen los péptidos aromático-catiónicos que se muestran en la Tabla 7.

TABLA 7. Análogos Peptídicos que Carecen de Actividad Opiode Mu				
Aminoácido Posición 1	Aminoácido Posición 2	Aminoácido Posición 3	Aminoácido Posición 4	Modificación C-Terminal
D-Arg	Dmt	Lys	Phe	NH <sub>2</sub>
D-Arg	Dmt	Phe	Lys	NH <sub>2</sub>
D-Arg	Phe	Lys	Dmt	NH <sub>2</sub>
D-Arg	Phe	Dmt	Lys	NH <sub>2</sub>
D-Arg	Lys	Dmt	Phe	NH <sub>2</sub>
D-Arg	Lys	Phe	Dmt	NH <sub>2</sub>
Phe	Lys	Dmt	D-Arg	NH <sub>2</sub>
Phe	Lys	D-Arg	Dmt	NH <sub>2</sub>
Phe	D-Arg	Phe	Lys	NH <sub>2</sub>
Phe	D-Arg	Dmt	Lys	NH <sub>2</sub>
Phe	D-Arg	Lys	Dmt	NH <sub>2</sub>
Phe	Dmt	D-Arg	Lys	NH <sub>2</sub>
Phe	Dmt	Lys	D-Arg	NH <sub>2</sub>
Lys	Phe	D-Arg	Dmt	NH <sub>2</sub>
Lys	Phe	Dmt	D-Arg	NH <sub>2</sub>
Lys	Dmt	D-Arg	Phe	NH <sub>2</sub>
Lys	Dmt	Phe	D-Arg	NH <sub>2</sub>
Lys	D-Arg	Phe	Dmt	NH <sub>2</sub>
Lys	D-Arg	Dmt	Phe	NH <sub>2</sub>
D-Arg	Dmt	D-Arg	Phe	NH <sub>2</sub>
D-Arg	Dmt	D-Arg	Dmt	NH <sub>2</sub>
D-Arg	Dmt	D-Arg	Tyr	NH <sub>2</sub>
D-Arg	Dmt	D-Arg	Trp	NH <sub>2</sub>
Trp	D-Arg	Phe	Lys	NH <sub>2</sub>
Trp	D-Arg	Tyr	Lys	NH <sub>2</sub>
Trp	D-Arg	Trp	Lys	NH <sub>2</sub>
Trp	D-Arg	Dmt	Lys	NH <sub>2</sub>
D-Arg	Trp	Lys	Phe	NH <sub>2</sub>
D-Arg	Trp	Phe	Lys	NH <sub>2</sub>
D-Arg	Trp	Lys	Dmt	NH <sub>2</sub>
D-Arg	Trp	Dmt	Lys	NH <sub>2</sub>
D-Arg	Lys	Trp	Phe	NH <sub>2</sub>
D-Arg	Lys	Trp	Dmt	NH <sub>2</sub>
Cha	D-Arg	Phe	Lys	NH <sub>2</sub>
Ala	D-Arg	Phe	Lys	NH <sub>2</sub>

Cha = ciclohexil alanina

5 Los aminoácidos de los péptidos se muestran en las Tablas 5-7 pueden estar en cualquiera de las configuraciones L o D.

10 Los péptidos se pueden sintetizar por cualquiera de los métodos bien conocidos en la técnica. Los métodos adecuados para sintetizar químicamente la proteína incluyen, por ejemplo, los descritos por Stuart y Young en *Solid Phase Peptide Synthesis*, Segunda Edición, Pierce Chemical Company (1984), y en *Methods Enzymol.*, 289, Academic Press, Inc., Nueva York (1997).

### Remodelación de Cardiolipina

La cardiolipina (cardiolipina) es un componente importante de la membrana mitocondrial interna, en la que constituye aproximadamente un 20 % de la composición lipídica total. En las células de mamíferos, la cardiolipina se encuentra casi exclusivamente en la membrana mitocondrial interna, en la que es esencial para la función óptima de las enzimas involucradas en el metabolismo mitocondrial.

La cardiolipina es una especie de lípido difosfatidilglicerol que comprende dos fosfatidilgliceroles conectados con una cadena principal de glicerol para formar una estructura dimérica. Tiene cuatro grupos alquilo y potencialmente lleva dos cargas negativas. Como hay cuatro cadenas de alquilo distintas en la cardiolipina, la molécula tiene el potencial de una gran complejidad. Sin embargo, en la mayoría de los tejidos animales, la cardiolipina contiene cadenas de alquilo graso de 18 carbonos con 2 enlaces insaturados en cada uno de ellos (18:2). Se ha propuesto que la configuración 18:2 es un requisito estructural importante para la alta afinidad de la cardiolipina a las proteínas de membrana interna en las mitocondrias de mamíferos. Sin embargo, los estudios con preparaciones enzimáticas aisladas indican que su importancia puede variar dependiendo de la proteína examinada.

Cada uno de los dos fosfatos en la cardiolipina puede capturar un protón. Aunque tiene una estructura simétrica, la ionización de un fosfato se produce a diferentes niveles de acidez que la ionización de ambos, con  $pK_1 = 3$  y  $pK_2 > 7,5$ . Por lo tanto, en condiciones fisiológicas normales (un pH de aproximadamente 7,0), la molécula puede llevar solo una carga negativa. Los grupos hidroxilo (-OH y -O-) en el fosfato forman enlaces de hidrógeno intramoleculares estables, formando una estructura de resonancia bicíclica. Esta estructura atrapa un protón, que conduce a la fosforilación oxidativa.

Durante el proceso de fosforilación oxidativa catalizado por el Complejo IV, se transfieren grandes cantidades de protones de un lado de la membrana a otro lado causando un gran cambio de pH. Sin desear limitarse a la teoría, se ha sugerido que la cardiolipina funciona como una trampa de protones dentro de las membranas mitocondriales, localizando estrictamente el conjunto de protones y minimizando el pH en el espacio mitocondrial intermembrana. Se cree que esta función se debe a la estructura única de cardiolipina, que, como se ha descrito anteriormente, puede atrapar un protón dentro de la estructura bicíclica mientras lleva una carga negativa. Por lo tanto, la cardiolipina puede servir como un grupo de tampones de electrones para liberar o absorber protones para mantener el pH cerca de las membranas mitocondriales.

Además, se ha demostrado que la cardiolipina desempeña un papel en la apoptosis. Un suceso temprano en la cascada de apoptosis pica a la cardiolipina. Como se analiza con más detalle a continuación, una oxigenasa específica de cardiolipina produce hidroperóxidos de cardiolipina que hacen que el lípido experimente un cambio conformacional. La cardiolipina oxidada a continuación se transloca desde la membrana mitocondrial interna a la membrana mitocondrial externa, en la que se cree que forma un poro a través del cual se libera el citocromo c en el citosol. El citocromo c puede unirse al receptor IP3 estimulando la liberación de calcio, lo que estimula aún más la liberación del citocromo c. Cuando la concentración de calcio citoplasmático alcanza un nivel tóxico, la célula muere. Además, el citocromo c extramitocondrial interactúa con factores de activación apoptóticos, causando la formación de complejos apoptosómicos y la activación de la cascada proteolítica de la caspasa.

Otros roles propuestos para la cardiolipina son: 1) participación en la estabilización de las propiedades físicas de la membrana (Schlame, *et al.*, 2000; Koshkin y Greenberg, 2002; Ma, *et al.*, 2004), por ejemplo, la fluidez de la membrana y la estabilidad osmótica y 2) participación en la función de la proteína a través de la interacción directa con proteínas de membrana (Schlame, *et al.*, 2000; Palsdottir y Hunte, 2004). Se ha encontrado que la cardiolipina está estrechamente asociada con los complejos de proteínas de membrana interna como el complejo citocromo *bc*/ (complejo III). Además, se ha localizado en los sitios de contacto de la citocromo c oxidasa dimérica, y también se han encontrado sitios de unión a cardiolipina en el vehículo ADP/ATP (AAC; para revisión véase Palsdottir y Hunte, 2004). Un trabajo reciente también sugiere un papel de la cardiolipina en la formación de supercomplejos de la cadena respiratoria (respirasomas).

Las principales especies moleculares de tetra-acilo son 18:2 en cada una de las cuatro posiciones de acilo graso de la molécula de cardiolipina (denominadas las especies de cardiolipina 18:2-18:2-18:2-18:2). La remodelación de la cardiolipina es esencial para obtener este enriquecimiento de cardiolipina con linoleato porque la cardiolipina sintasa no tiene especificidad de sustrato de especies moleculares por citidina-5'-difosfato-1,2-diacil-sn-glicerol. Además, el patrón de especies de precursores de cardiolipina es lo suficientemente similar como para implicar que las enzimas de la vía sintética de cardiolipina no son selectivas de especies moleculares. Las alteraciones en la composición molecular de la cardiolipina están asociadas con diversas patologías.

La remodelación de la cardiolipina se produce a través de al menos tres enzimas. La cardiolipina mitocondrial se remodela mediante un ciclo de desacilación-reacilación en el que la cardiolipina recién sintetizada se desacila rápidamente a monolisocardiolipina (MLCL) y a continuación se reacila a la cardiolipina. MLCL AT1 es responsable de la desacilación y ALCAT1 es responsable de la reacilación. Además de estas actividades aciltransferasas mitocondriales y microsomales, la cardiolipina mitocondrial puede ser remodelada por una transacilasa de cardiolipina mitocondrial. La Tafazina (TAZ1) es una transacilasa de cardiolipina que remodela de forma específica la

cardiolipina mitocondrial con ácido linoleico.

### Síndrome de Barth

5 El síndrome de Barth es un trastorno hereditario del metabolismo de fosfolípidos caracterizado por miocardiopatía dilatada (DCM), miopatía esquelética, neutropenia, retraso del crecimiento y aciduria orgánica. La prevalencia del síndrome de Barth se estima en 1/454.000 nacimientos vivos, con una incidencia estimada de 1/400.000 a 1/140.000 dependiendo de la ubicación geográfica. El síndrome de Barth es un trastorno relacionado con el cromosoma X, que afecta de manera desproporcionada a los pacientes masculinos.

10 El síndrome de Barth está causado por mutaciones en el gen TAZ (tafazina; Xq28), que codifica TAZ1, una aciltransferasa involucrada en el metabolismo de la cardiolipina, un fosfolípido localizado en la membrana mitocondrial interna. La función TAZ1 defectuosa da como resultado una remodelación anómala de la cardiolipina y compromete la estructura mitocondrial y la función de la cadena respiratoria. TAZ1 se expresa a altos niveles en el músculo cardíaco y esquelético y está involucrada en el mantenimiento de la membrana interna de las mitocondrias. TAZ1 participa en el mantenimiento de los niveles de cardiolipina, que es esencial para la producción de energía en las mitocondrias.

20 La presentación clínica del síndrome de Barth es muy variable. La mayoría de los sujetos desarrollan DCM durante la primera década de la vida, y por lo general durante el primer año de vida, que puede estar acompañado de fibroelastosis endocárdica (EFE) y/o no compactación ventricular izquierda (LVNC). Las manifestaciones del síndrome de Barth pueden comenzar en el útero, causando insuficiencia cardíaca, hidropesía fetal y aborto espontáneo o muerte fetal durante el segundo/tercer trimestre del embarazo. La arritmia ventricular, especialmente durante la adolescencia, puede conducir a una muerte cardíaca súbita. Existe un riesgo significativo de accidente cerebrovascular. La miopatía esquelética (en su mayoría proximal) causa hitos motores retrasados, hipotonía, letargo severo o intolerancia al ejercicio, aquí hay una tendencia a la hipoglucemia durante el periodo neonatal. El noventa por ciento de los pacientes muestra neutropenia intermitente o persistente de leve a grave con riesgo de septicemia, sepsis bacteriana grave, úlceras bucales y encías dolorosas. Se puede presentar acidosis láctica y anemia leve. Los niños afectados generalmente muestran un retraso en la pubertad y el crecimiento que se observa hasta finales de la adolescencia o principios de los veinte años, cuando a menudo se produce un crecimiento sustancial. Los pacientes también pueden presentar dificultades graves con la ingesta adecuada de alimentos. La diarrea episódica es común. Muchos pacientes tienen una apariencia facial similar con mejillas regordetas, ojos hundidos y orejas prominentes.

35 En algunas realizaciones, el tratamiento con un péptido aromático-catiónico, tal como D-Arg-2'6'-Dmt-Lys-Phe-NH<sub>2</sub>, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, tal como sal de acetato o trifluoroacetato, aumenta la expresión de TAZ1 en un tejido u órgano en sujetos mamíferos que han sufrido o corren el riesgo de sufrir el síndrome de Barth. A modo de ejemplo, en algunas realizaciones, el nivel de expresión de TAZ1 aumenta en el miocardio de un sujeto que lo necesita.

40 En algunas realizaciones, el aumento del nivel de expresión de TAZ1 se mide como una atenuación o reducción en la medida en que la expresión de TAZ1 se reduce en un sujeto. En algunas realizaciones, la reducción de TAZ1 disminuye de aproximadamente 0,25 veces a aproximadamente 0, veces, de aproximadamente 0,5 veces a aproximadamente 0,75 veces, de aproximadamente 0,75 veces a aproximadamente 1,0 veces, o de aproximadamente 1,0 veces a aproximadamente 1,5 veces.

### Métodos Terapéuticos

50 Se debe entender que el aumento del nivel de expresión de TAZ1 en un sujeto que lo necesite (por ejemplo, nivel de ARN y/o proteína) reducirá el riesgo, la gravedad, la presentación/aparición de cualquier número de efectos físicos negativos. Por lo tanto, la divulgación se refiere a D-Arg-2'6'-Dmt-Lys-Phe-NH<sub>2</sub> para su uso en el tratamiento de la reducción de la expresión de TAZ1 en un sujeto diagnosticado con sospecha de tener, o en riesgo de tener una reducción de los niveles de expresión de TAZ1. Un aspecto de la presente invención incluye D-Arg-2'6'-Dmt-Lys-Phe-NH<sub>2</sub>, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en el tratamiento del síndrome de Barth en un sujeto a que se diagnostica que tiene, se diagnostica como sospechoso, o en riesgo de tener el síndrome de Barth. En aplicaciones terapéuticas, las composiciones o medicamentos se administran a un sujeto sospechoso o que ya padece dicha enfermedad, como, por ejemplo, disminución de los niveles de expresión de TAZ1 o síndrome de Barth, en una cantidad suficiente para curar, o al menos detener parcialmente, los síntomas de la enfermedad, incluyendo sus complicaciones y fenotipos patológicos intermedios en el desarrollo de la enfermedad.

60 Los sujetos que sufren una disminución de los niveles de expresión de TAZ1 o síndrome de Barth se pueden identificar mediante cualquiera o una combinación de ensayos de diagnóstico o pronóstico conocidos en la técnica. Por ejemplo, los síntomas habituales del síndrome de Barth incluyen síntomas como, por ejemplo, cardiomiopatía, anomalías del músculo esquelético, neutropenia, desarrollo lento, tono muscular débil, aumento de los niveles de ácidos orgánicos en la orina y en la sangre, y/o infecciones bacterianas frecuentes, tal como neumonía. En algunas realizaciones, el sujeto puede exhibir una reducción de los niveles de expresión de TAZ1 en comparación con un

sujeto normal, que se puede medir usando técnicas conocidas en la técnica. En algunas realizaciones, el sujeto puede exhibir una o más mutaciones en el gen *TAZ* asociadas con el síndrome de Barth, que se pueden detectar usando técnicas conocidas en la técnica.

## 5 Métodos Profilácticos

En un aspecto, la tecnología actual proporciona D-Arg-2'6'-Dmt-Lys-Phe-NH<sub>2</sub> o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso para prevenir o retrasar el inicio del síndrome de Barth o síntomas del síndrome de Barth en un sujeto con riesgo de tener una reducción de los niveles de expresión de *TAZ1* en comparación con un sujeto normal. En algunas realizaciones, el sujeto puede exhibir una o más mutaciones en el gen *TAZ* asociado con el síndrome de Barth, que se pueden detectar usando técnicas conocidas en la técnica. Los sujetos con riesgo de una reducción de los niveles de expresión de *TAZ1* o síndrome de Barth se pueden identificar mediante, por ejemplo, cualquiera o una combinación de ensayos de diagnóstico o pronóstico conocidos en la técnica. En aplicaciones profilácticas, las composiciones farmacéuticas o medicamentos de péptidos aromático-catiónicos, tal como D-Arg-2'6'-Dmt-Lys-Phe-NH<sub>2</sub>, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, tal como sal de acetato o trifluoroacetato, para su uso de acuerdo con la invención, se administran a un sujeto susceptible a, o de otra manera en riesgo de una enfermedad o afección tal como, por ejemplo, síndrome de Barth, en una cantidad suficiente como para eliminar o reducir el riesgo, disminuir la gravedad o retrasar el comienzo de la enfermedad, incluyendo los síntomas bioquímicos, histológicos y/o conductuales de la enfermedad, sus complicaciones y los fenotipos patológicos intermedios que se presentan durante el desarrollo de la enfermedad. La administración de un péptido aromático-catiónico profiláctico se puede producir antes de la manifestación de síntomas característicos de la enfermedad o trastorno, de modo que los síntomas de la enfermedad o trastorno se previenen o, de forma alternativa, se retrasan en su progresión.

Los sujetos que están en riesgo de reducción de los niveles de expresión de *TAZ1* o síndrome de Barth pueden exhibir uno o más de los siguientes factores de riesgo: cardiomiopatía, anomalías del músculo esquelético, neutropenia, desarrollo lento, tono muscular débil, aumento de los niveles de ácidos orgánicos en la orina y en la sangre, y/o infecciones bacterianas frecuentes, como neumonía.

## 30 Determinación del Efecto Biológico del Agente Terapéutico Basado en Péptido Aromático-Catiónico

En diversas realizaciones, se llevan a cabo ensayos *in vitro* o *in vivo* adecuados para determinar el efecto de un agente terapéutico basado en péptido aromático-catiónico específico y si su administración está indicada para el tratamiento. En diversas realizaciones, los ensayos *in vitro* se pueden llevar a cabo con modelos animales representativos, para determinar si un agente terapéutico basado en péptido aromático-catiónico dado ejerce el efecto deseado aumentando la expresión de *TAZ1* y previniendo o tratando el síndrome de Barth. Los compuestos para su uso en terapia se pueden someter al ensayo en sistemas de modelos animales adecuados que incluyen ratas, ratones, pollos, vacas, monos, conejos y similares, antes del ensayo en sujetos humanos. De manera similar, para los ensayos *in vivo*, cualquiera de los sistemas de modelos animales conocidos en la técnica se puede usar antes de la administración a sujetos humanos. En algunas realizaciones, el ensayo *in vitro* o *in vivo* se dirige a la función biológica de D-Arg-2'6'-Dmt-Lys-Phe-NH<sub>2</sub> o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, tal como sal de acetato o trifluoroacetato.

La insuficiencia cardíaca se ha inducido en diferentes especies con sobrecarga de volumen, sobrecarga de expresión, estimulación rápida, isquemia miocárdica, fármacos cardiopépticos o modelos genéticamente modificados. La hipertensión se asocia con un mayor riesgo de desarrollar insuficiencia cardíaca. En un modelo de ratón, la angiotensina II (Ang II) aumenta la expresión arterial e induce hipertrofia de cardiomiocitos, aumento de la fibrosis cardíaca y alteración de la relajación de los cardiomiocitos. La infusión de angiotensina en ratones mediante una mini bomba osmótica aumenta la expresión arterial sistólica y diastólica, aumenta el peso cardíaco y el grosor del ventrículo izquierdo (LVMI) y el índice de rendimiento miocárdico (MPI) deteriorado. Los niveles de expresión de *TAZ1* se controlan en varios puntos temporales antes, durante y después de la inducción de insuficiencia cardíaca.

En un segundo modelo ilustrativo de ratón, la expresión sostenida de alto nivel de *Gaq* puede conducir a una apoptosis de miocitos notable, lo que da como resultado hipertrofia cardíaca e insuficiencia cardíaca a las 16 semanas de edad (D'Angelo, *et al.*, 1998). Los receptores  $\beta$ -adrenérgicos (los  $\beta$ AR) se acoplan principalmente a la proteína G heterotrimérica, *Gs*, para estimular la actividad de adenilil ciclasa. Esta asociación genera la activación intracelular de AMPc y proteína quinasa A, que regulan la capacidad de contracción cardíaca y la frecuencia cardíaca. La sobreexpresión de *Gaq* conduce a una menor capacidad de respuesta a los agonistas  $\beta$ -adrenérgicos y produce insuficiencia cardíaca. Los niveles de expresión de *TAZ1* se controlan en varios puntos temporales antes, durante y después de la inducción de insuficiencia cardíaca.

La constricción experimental de la aorta por ligadura quirúrgica también se usa ampliamente como modelo de insuficiencia cardíaca. La constricción transaórtica (TAC) da como resultado una insuficiencia cardíaca inducida por sobrecarga de expresión, con aumento de la masa ventricular izquierda (LV). La TAC se lleva a cabo de acuerdo con lo descrito por Tamavski O, *et al.*, (2004) usando una sutura de nudo doble de seda 7-0 para contraer la aorta ascendente. Después de la TAC, los ratones desarrollan insuficiencia cardíaca en un periodo de 4 semanas. Los

niveles de expresión de TAZ1 se controlan en varios puntos temporales antes, durante y después de la inducción de insuficiencia cardíaca.

#### Modos de Administración y Dosificaciones Eficaces

5 Se puede usar cualquier método conocido por los expertos en la materia para poner en contacto una célula, órgano o tejido con un péptido aromático-catiónico de la tecnología actual, tal como D-Arg-2'6'-Dmt-Lys-Phe-NH<sub>2</sub>, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, tal como sal de acetato o trifluoroacetato. Los métodos adecuados incluyen métodos *in vitro*, *ex vivo*, o *in vivo*. Los métodos *in vivo* por lo general incluyen la administración de un péptido  
10 aromático-catiónico, tal como los que se han descrito anteriormente, a un mamífero, de forma adecuada un ser humano. Cuando se usan *in vivo* para terapia, los péptidos aromático-catiónicos, tal como D-Arg-2'6'-Dmt-Lys-Phe-NH<sub>2</sub>, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, tal como sal de acetato o trifluoroacetato, se administran al sujeto en cantidades eficaces (es decir, cantidades que tienen el efecto terapéutico deseado). La dosis y el régimen de dosificación dependerán del grado de infección en el sujeto, las características del péptido aromático-catiónico particular usado, por ejemplo, su índice terapéutico, el sujeto y el historial del sujeto.

15 La cantidad eficaz se puede determinar durante los ensayos preclínicos y clínicos mediante métodos familiares para médicos y clínicos. Una cantidad eficaz de un péptido útil en los métodos se puede administrar a un mamífero que lo necesite mediante cualquiera de varios métodos bien conocidos para administrar compuestos farmacéuticos. El  
20 péptido se puede administrar por vía sistémica o local.

El péptido se puede formular como una sal farmacéuticamente aceptable. La expresión "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a una sal preparada a partir de una base o un ácido que es aceptable para la administración a un paciente, tal como un mamífero (por ejemplo, sales que tienen seguridad aceptable en mamíferos para un  
25 régimen de dosificación dado). Sin embargo, se entiende que no se requiere que las sales sean sales farmacéuticamente aceptables, tales como sales de compuestos intermedios que no están destinados a la administración a un paciente. Las sales farmacéuticamente aceptables se pueden obtener a partir de bases inorgánicas u orgánicas farmacéuticamente aceptables y de ácidos inorgánicos u orgánicos farmacéuticamente aceptables. Además, cuando un péptido contiene tanto un resto básico, como una amina, piridina o imidazol, como  
30 un resto ácido como un ácido carboxílico o tetrazol, se pueden formar zwitteriones y se incluyen dentro del término "sal" como se usa en el presente documento. Las sales obtenidas a partir de bases inorgánicas farmacéuticamente aceptables incluyen sales de amonio, calcio, cobre, férrico, ferroso, litio, magnesio, mangánico, manganeso, potasio, sodio y zinc, y similares. Las sales obtenidas a partir de bases orgánicas farmacéuticamente aceptables incluyen sales de aminas primarias, secundarias y terciarias, incluyendo aminas sustituidas, aminas cíclicas, aminas naturales y similares, tales como arginina, betaína, cafeína, colina, N,N'-dibencilendiamina, dietilamina, 2-  
35 dietilaminoetanol, 2-dimetilaminoetanol, etanolamina, etilendiamina, N-etilmorfolina, N-etilpiperidina, glucamina, glucosamina, histidina, hidrabamina, isopropilamina, lisina, metilglucamina, morfolina, piperazina, piperadina, resinas de poliamina, procaína, purinas, teobromina, trietilamina, trimetilamina, tripropilamina, trometamina y similares. Las sales obtenidas a partir de ácidos inorgánicos farmacéuticamente aceptables incluyen sales de los ácidos bórico, carbónico, hidrohálico (bromhídrico, clorhídrico, fluorhídrico o yodhídrico), nítrico, fosfórico, sulfámico y sulfúrico. Las sales obtenidas a partir de ácidos orgánicos farmacéuticamente aceptables incluyen sales de ácidos hidroxil alifáticos (por ejemplo, ácidos cítrico, glucónico, glicólico, láctico, lactobiónico, málico y tartárico), ácidos monocarboxílicos alifáticos (por ejemplo, ácidos acético, butírico, fórmico, propiónico y trifluoroacético), aminoácidos (por ejemplo, ácidos aspártico y glutámico), ácidos carboxílicos aromáticos (por ejemplo, los ácidos benzoico, p-  
45 clorobenzoico, difenilacético, gentísico, hippúrico y trifenilacético), ácidos hidroxilados aromáticos (por ejemplo, los ácidos o-hidroxibenzoico, p-hidroxibenzoico, 1-hidroxinaftaleno-2-carboxílicos y 3-hidroxinaftaleno-2-carboxílicos), ácido ascórbico, ácidos dicarboxílicos (por ejemplo, ácidos fumárico, maleico, oxálico y succínico), glucurónico, mandélico, múxico, nicotínico, orótico, pamoico, pantoténico, sulfónico (por ejemplo, ácidos bencenosulfónico, canfosulfónico, edisílico, etanosulfónico, isetiónico, metanosulfónico, naftalenosulfónico, naftaleno-1,5-disulfónico, naftaleno-2,6-disulfónico y p-toluenosulfónico), ácido xinafoico y similares. En algunas realizaciones, la sal es una sal de acetato o trifluoroacetato.

Los péptidos aromático-catiónicos que se describen en el presente documento, tal como D-Arg-2'6'-Dmt-Lys-Phe-NH<sub>2</sub>, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, tal como sal de acetato o trifluoroacetato, se pueden  
55 incorporar en composiciones farmacéuticas para su administración, de forma individual o en combinación, a un sujeto para el tratamiento o prevención de un trastorno que se describe en el presente documento. Las composiciones de ese tipo por lo general incluyen el agente activo y un vehículo farmacéuticamente aceptable. Como se usa en el presente documento, la expresión "vehículo farmacéuticamente aceptable" incluye solución salina, disolventes, medios de dispersión, revestimientos, agentes antibacterianos y antifúngicos, agentes isotónicos y retardadores de la absorción, y similares, compatibles con la administración farmacéutica. En las composiciones también se pueden incorporar compuestos activos suplementarios.

Las composiciones farmacéuticas por lo general se formulan para que sean compatibles con su vía de administración prevista. Los ejemplos de vías de administración incluyen la administración parenteral (por ejemplo, intravenosa, intradérmica, intraperitoneal o subcutánea), oral, inhalación, transdérmica (tópica), intraocular, iontoforética y transmucosa. Las soluciones o suspensiones usadas para la aplicación parenteral, intradérmica o  
65

subcutánea pueden incluir los siguientes componentes: un diluyente estéril tal como agua para inyección, solución salina, aceites no volátiles, polietilenglicoles, glicerina, propilenglicol u otros disolventes sintéticos; agentes antibacterianos tales como alcohol bencílico o metil parabenos; antioxidantes tales como ácido ascórbico o bisulfito de sodio; agentes quelantes tales como ácido etilendiaminotetraacético; tampones como acetatos, citratos o fosfatos y agentes para el ajuste de la tonicidad tales como cloruro de sodio o dextrosa. El pH se puede ajustar con ácidos o bases, como ácido clorhídrico o hidróxido de sodio. La preparación parenteral se puede incluir en ampollas, jeringas desechables o viales de dosis múltiples fabricados con vidrio o plástico. Para conveniencia del paciente o médico tratante, la formulación de dosificación se puede proporcionar en un kit que contiene todo el equipo necesario (por ejemplo, viales de fármaco, viales de diluyente, jeringas y agujas) para un ciclo de tratamiento (por ejemplo, 7 días de tratamiento).

Las composiciones farmacéuticas adecuadas para uso inyectable pueden incluir soluciones acuosas estériles (que son solubles en agua) o dispersiones y polvos estériles para la preparación extemporánea de soluciones o dispersiones inyectables estériles. Para la administración intravenosa, los vehículos adecuados incluyen solución salina fisiológica, agua bacteriostática, Cremophor EL™ (BASF, Parsippany, N.J.) o solución salina tamponada con fosfato (PBS). En todos los casos, una composición para administración parenteral debe ser estéril y debe ser fluida en la medida en la que exista una fácil inyectabilidad. Debe ser estable en las condiciones de fabricación y almacenamiento y se debe conservar frente a la acción contaminante de microorganismos como bacterias y hongos.

Las composiciones de péptido aromático-catiónico pueden incluir un vehículo, que puede ser un disolvente o medio de dispersión que contiene, por ejemplo, agua, etanol, poliol (por ejemplo, glicerol, propilenglicol y polietilenglicol líquido, y similares), y mezclas adecuadas de los mismos. Se puede mantener la fluidez adecuada, por ejemplo, mediante el uso de un revestimiento tal como lecitina, mediante el mantenimiento del tamaño de partícula requerido en el caso de dispersión y mediante el uso de tensioactivos. La prevención de la acción de los microorganismos se puede conseguir mediante diversos agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabenos, clorobutanol, fenol, ácido ascórbico, tiomerasol y similares. El glutatión y otros antioxidantes se pueden incluir para prevenir la oxidación. En muchos casos, será preferente incluir agentes isotónicos, por ejemplo, azúcares, polialcoholes tales como manitol, sorbitol o cloruro de sodio en la composición. La absorción prolongada de las composiciones inyectables se puede conseguir incluyendo en la composición un agente que retrase la absorción, por ejemplo, monoestearato de aluminio o gelatina.

Las soluciones inyectables estériles se pueden preparar incorporando el compuesto activo en la cantidad requerida en un disolvente apropiado con uno o una combinación de ingredientes que se han enumerado anteriormente, según sea necesario, seguido de esterilización filtrada. Generalmente, las dispersiones se preparan incorporando el compuesto activo en un vehículo estéril, que contiene un medio de dispersión básico y los otros ingredientes requeridos de los enumerados anteriormente. En el caso de polvos estériles para la preparación de soluciones inyectables estériles, los métodos de preparación habituales incluyen secado al vacío y liofilización, que pueden producir un polvo del principio activo más cualquier ingrediente adicional deseado de una solución previamente filtrada estéril del mismo.

Las composiciones orales generalmente incluyen un diluyente inerte o un vehículo comestible. Para el propósito de la administración terapéutica oral, el compuesto activo se puede incorporar con excipientes y se puede usar en forma de comprimidos, trociscos o cápsulas, por ejemplo, cápsulas de gelatina. Las composiciones orales también se pueden preparar usando un vehículo fluido para usar como enjuague bucal. Los agentes de unión farmacéuticamente compatibles y/o los materiales adyuvantes se pueden incluir como parte de la composición. Los comprimidos, píldoras, cápsulas, trociscos y similares pueden contener cualquiera de los siguientes ingredientes, o compuestos de naturaleza similar: un aglutinante tal como celulosa microcristalina, goma de tragacanto o gelatina; un excipiente tal como almidón o lactosa, un agente desintegrante tal como ácido algínico, Primogel o almidón de maíz; un lubricante tal como estearato de magnesio o Sterotes; una sustancia de deslizamiento tal como dióxido de silicio coloidal; un agente edulcorante tal como sacarosa o sacarina; o un agente aromatizante tal como menta, salicilato de metilo o aroma de naranja.

Para la administración por inhalación, los compuestos se pueden administrar en forma de aerosol desde un recipiente o dispensador presurizado, que contiene un agente de propulsión adecuado, por ejemplo, un gas tal como dióxido de carbono o un nebulizador. Los métodos de ese tipo incluyen los que se describen en el documento de patente de Estados Unidos N.º 6.468.798.

La administración sistemática de un compuesto terapéutico como se describe en el presente documento también puede ser por medios transmucosales o transdérmicos. Para la administración transmucosa o transdérmica, se usan agentes de penetración apropiados para la barrera a atravesar en la formulación. Tales agentes de penetración se conocen generalmente en la técnica e incluyen, por ejemplo, para administración transmucosa, detergentes, sales biliares y derivados de ácido fusídico. La administración transmucosa se puede lograr mediante el uso de aerosoles nasales. Para la administración transdérmica, los compuestos activos se formulan en pomadas, ungüentos, geles o cremas como se conoce generalmente en la técnica. En una realización, la administración transdérmica se puede realizar mediante iontoforesis.

Una proteína o péptido terapéutico se puede formular en un sistema vehículo. El vehículo puede ser un sistema coloidal. El sistema coloidal puede ser un liposoma, un vehículo bicapa de fosfolípidos. En una realización, el péptido terapéutico se encapsula en un liposoma mientras se mantiene la integridad del péptido. Un experto en la materia podría observar que hay una variedad de métodos para preparar liposomas. (Véase Lichtenberg, *et al.*, *Methods Biochem. Anal.*, 33: 337-462 (1988); Anselm, *et al.*, *Liposome Technology*, CRC Press (1993)). Las formulaciones liposomales pueden retrasar la eliminación y aumentar la absorción celular (véase Reddy, *Ann. Pharmacother.*, 34 (7-8): 915-923 (2000)). En una partícula preparada a partir de ingredientes farmacéuticamente aceptables también se puede cargar un agente activo que incluye polímeros o liposomas solubles, insolubles, permeables, impermeables, biodegradables o de retención gástrica. Dichas partículas incluyen nanopartículas, nanopartículas biodegradables, micropartículas, micropartículas biodegradables, nanoesferas, nanoesferas biodegradables, microesferas, microesferas biodegradables, cápsulas, emulsiones, liposomas, micelas y sistemas de vectores virales.

El vehículo también puede ser un polímero, por ejemplo, una matriz de polímero biodegradable y biocompatible. En una realización, el péptido terapéutico se puede incrustar en la matriz polimérica, a la vez que se mantiene la integridad de la proteína. El polímero puede ser natural, tal como polipéptidos, proteínas o polisacáridos, o sintético, tal como poli  $\alpha$ -hidroxiácidos. Los ejemplos incluyen vehículos hechos, por ejemplo, de colágeno, fibronectina, elastina, acetato de celulosa, nitrato de celulosa, polisacárido, fibrina, gelatina y combinaciones de los mismos. En una realización, el polímero es ácido poliláctico (PLA) o ácido copoliláctico/glicólico (PGLA). Las matrices poliméricas se pueden preparar y aislar en una variedad de formas y tamaños, incluyendo microesferas y nanoesferas. Las formulaciones de polímeros pueden conducir a una duración prolongada del efecto terapéutico. (Véase Reddy, *Ann. Pharmacother.*, 34 (7-8): 915-923 (2000)). Una formulación de polímero para la hormona del crecimiento humano (hGH) se ha usado en ensayos clínicos. (Véase Kozarich y Rich, *Chemical Biology*, 2: 548-552 (1998)).

Los ejemplos de formulaciones de liberación sostenida de microesferas poliméricas se describen en la publicación de PCT WO 99/15154 (Tracy, *et al.*), documentos de Patente de Estados Unidos N.ºs 5.674.534 y 5.716.644 (ambos para Zale, *et al.*), la publicación de PCT WO 96/40073 (Zale, *et al.*), y la publicación de PCT WO 00/38651 (Shah, *et al.*). Los documentos de patente N.ºs 5.674.534 y 5.716.644 y la publicación de PCT WO 96/40073 describen una matriz polimérica que contiene partículas de eritropoyetina que se estabilizan frente a la agregación con una sal.

En algunas realizaciones, los compuestos terapéuticos se preparan con vehículos que protegerán los compuestos terapéuticos frente a la eliminación rápida del cuerpo, como una formulación de liberación controlada, que incluye implantes y sistemas de administración microencapsulados. Se pueden usar polímeros biodegradables y biocompatibles, tales como acetato de etileno y vinilo, polianhídridos, ácido poliglicólico, colágeno, poliortoésteres y ácido poliláctico. Las formulaciones de ese tipo se pueden preparar usando técnicas conocidas. Los materiales también se pueden obtener en el mercado, por ejemplo, en Alza Corporation y Nova Pharmaceuticals, Inc. Las suspensiones liposomales (incluyendo los liposomas dirigidos a células específicas con anticuerpos monoclonales para antígenos específicos de células) también se pueden usar como vehículos farmacéuticamente aceptables. Estos se pueden preparar de acuerdo con métodos conocidos por los expertos en la materia, por ejemplo, como se describe en el documento de Patente de Estados Unidos N.º 4.522.811.

Los compuestos terapéuticos también se pueden formular para mejorar la administración intracelular. Por ejemplo, en la técnica se conocen sistemas de administración de liposomas, véase, por ejemplo, Chonn y Cullis, "Recent Advances in Liposome Drug Delivery Systems", *Current Opinion in Biotechnology* 6: 698-708 (1995); Weiner, "Liposomes for Protein Delivery: Selecting Manufacture and Development Processes", *Immunomethods*, 4 (3): 201-9 (1994); y Gregoriadis, "Engineering Liposomes for Drug Delivery: Progress and Problems", *Trends Biotechnol.*, 13 (12): 527-37 (1995). Mizguchi, *et al.*, *Cancer Lett.*, 100: 63-69 (1996), describe el uso de liposomas fusogénicos para administrar una proteína a las células tanto *in vivo* como *in vitro*.

La dosificación, la toxicidad y la eficacia terapéutica de los agentes terapéuticos se pueden determinar mediante procedimientos farmacéuticos convencionales en cultivos celulares o animales de experimentación, por ejemplo, para determinar la DL50 (la dosis letal para el 50 % de la población) y la DE50 (la dosis terapéuticamente eficaz en un 50 % de la población). La relación de dosis entre los efectos tóxicos y terapéuticos es el índice terapéutico y se puede expresar como la relación LD50/ED50. Son preferentes los compuestos que exhiben altos índices terapéuticos. Aunque se pueden usar compuestos que exhiben efectos secundarios tóxicos, se debe tener cuidado al diseñar un sistema de administración que dirija dichos compuestos al sitio del tejido afectado para minimizar el daño potencial a las células no infectadas y, por lo tanto, reducir los efectos secundarios.

Los datos obtenidos a partir de los ensayos de cultivo celular y estudios en animales se pueden usar para formular un intervalo de dosificaciones para su uso en seres humanos. La dosificación de los compuestos de ese tipo se encuentra preferentemente dentro de un intervalo de concentraciones circulantes que incluyen la DE50 con poca o ninguna toxicidad. La dosificación puede variar dentro de este intervalo dependiendo de la forma de dosificación empleada y la vía de administración usada. Para cualquier compuesto usado en los métodos, la dosis terapéuticamente eficaz se puede estimar inicialmente a partir de ensayos de cultivo celular. Se puede formular una dosis en modelos animales para conseguir un intervalo de concentraciones en plasma circulante que incluya la CI50 (es decir, la concentración del compuesto de ensayo que logra una inhibición de síntomas medio máxima) como se

determina en el cultivo celular. Dicha información se puede usar para determinar con precisión dosis útiles en sedes humanos. Los niveles en plasma se pueden medir, por ejemplo, mediante cromatografía líquida de alto rendimiento.

5 Por lo general, una cantidad eficaz de los péptidos aromático-catiónicos, suficiente para lograr un efecto terapéutico o profiláctico, varía de aproximadamente 0,000001 mg por kilogramo de peso corporal al día a aproximadamente 10.000 mg por kilogramo de peso corporal al día. De forma adecuada, los intervalos de dosificación son de aproximadamente 0,0001 mg por kilogramo de peso corporal al día a aproximadamente 100 mg por kilogramo de peso corporal al día. Por ejemplo, las dosificaciones pueden ser 1 mg/kg de peso corporal o 10 mg/kg de peso corporal todos los días, cada dos días o cada tres días o dentro del intervalo de 1-10 mg/kg cada semana, cada dos 10 semanas o cada tres semanas. En una realización, una dosificación única de péptido varía de 0,001-10.000 microgramos por kg de peso corporal. En una realización, las concentraciones de péptido aromático-catiónico en un vehículo varían de 0,2 a 2000 microgramos por mililitro administrado. Un régimen de tratamiento a modo de ejemplo implica la administración una vez al día o una vez a la semana. En aplicaciones terapéuticas, a veces se requiere una dosificación relativamente alta a intervalos relativamente cortos hasta que la progresión de la enfermedad se reduzca o termine, y preferentemente hasta que el sujeto muestre una mejoría parcial o completa de los síntomas de la enfermedad. A partir de ese momento, al paciente se le puede administrar un régimen profiláctico.

20 En algunas realizaciones, una cantidad terapéuticamente eficaz de un péptido aromático-catiónico se puede definir como una concentración de péptido en el tejido diana de  $10^{-12}$  a  $10^{-6}$  molar, por ejemplo, aproximadamente  $10^{-7}$  molar. Esta concentración se puede administrar mediante por dosis sistémicas de 0,001 a 100 mg/kg o dosis equivalente por área de superficie corporal. El programa de dosis se podría optimizar para mantener la concentración terapéutica en el tejido diana, lo más preferentemente mediante administración única diaria o semanal, pero también incluyendo administración continua (por ejemplo, infusión parenteral o aplicación transdérmica).

25 El experto en la materia observará que ciertos factores pueden influir en la dosificación y el tiempo requeridos para tratar la gravedad de la enfermedad o trastorno de manera eficaz en un sujeto, los tratamientos previos, la salud general y/o la edad del sujeto y otras enfermedades presentes. Además, el tratamiento de un sujeto con una cantidad terapéuticamente eficaz de las composiciones terapéuticas que se describen en el presente documento puede incluir un tratamiento único o una serie de tratamientos.

30 El sujeto tratado de acuerdo con los métodos actuales puede ser cualquier mamífero o animal, incluyendo, por ejemplo, animales de granja, tales como ovejas, cerdos, vacas y caballos; animales de compañía, tales como perros y gatos; animales de laboratorio, tales como ratas, ratones y conejos. En una realización preferente, el mamífero es un ser humano.

#### Terapia Combinada con un Péptido Aromático-Catiónico y Otros Agentes Terapéuticos

40 Los péptidos aromático-catiónicos, tales como D-Arg-2'6'-Dmt-Lys-Phe-NH<sub>2</sub>, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, tal como sal de acetato o trifluoroacetato, para su uso en la prevención o el tratamiento de la reducción de la expresión de los niveles de TAZ1 o síndrome de Barth se pueden combinar con uno o más agentes adicionales. El tratamiento farmacológico para reducir los niveles de expresión de TAZ1 o el síndrome de Barth generalmente implica antibióticos, factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF) y agentes para el control de afecciones cardíacas, que incluyen, por ejemplo, diuréticos, inhibidores de la ACE, digoxina (digital), bloqueadores 45 de los canales de calcio y betabloqueadores. En casos leves, los diuréticos tiazídicos, tales como hidroclorotiazida son útiles a 25-50 mg/día o clorotiazida a 250-500 mg/día. Sin embargo, se puede necesitar cloruro de potasio suplementario, ya que la diuresis crónica causa alcalosis de hipokalemia. Además, los diuréticos tiazídicos generalmente no son eficaces en pacientes con síntomas avanzados del síndrome de Barth. Las dosis habituales de inhibidores de la ACE incluyen captoprilo a 25-50 mg/día y quinaprilo a 10 mg/día.

50 En una realización, el péptido aromático-catiónico, tal como D-Arg-2'6'-Dmt-Lys-Phe-NH<sub>2</sub>, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, tal como sal de acetato o trifluoroacetato, se combina con un agonista beta-2 adrenérgico. Un "agonista beta-2 adrenérgico" se refiere a los agonistas beta-2 adrenérgicos y análogos y derivados de los mismos, que incluyen, por ejemplo, variantes funcionales naturales o sintéticas, que tienen actividad biológica de agonista beta-2 adrenérgico, así como fragmentos de un agonista beta-2 adrenérgico que 55 tiene actividad biológica de agonista beta-2 adrenérgico. La expresión "actividad biológica de agonista beta-2 adrenérgico" se refiere a la actividad que imita los efectos de la adrenalina y la noradrenalina en un sujeto y que mejora la capacidad de contracción miocárdica en un paciente con síndrome de Barth. Los agonistas beta-2 adrenérgicos conocidos comúnmente incluyen clenbuterol, albuterol, formoterol, levalbuterol, metaproterenol, pirbuterol, salmeterol y terbutalina.

60 En una realización, el péptido aromático-catiónico, tal como D-Arg-2'6'-Dmt-Lys-Phe-NH<sub>2</sub>, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, tal como sal de acetato o trifluoroacetato, se combina con un agonista beta-1 adrenérgico. Los antagonistas beta-1 adrenérgicos y los bloqueadores beta-1 adrenérgicos se refieren a 65 antagonistas beta-1 adrenérgicos y análogos y derivados de los mismos, incluyendo, por ejemplo, variantes funcionales naturales o sintéticas que tienen actividad biológica de antagonista beta-1 adrenérgico, así como

fragmentos de un antagonista beta-1 adrenérgico que tiene actividad biológica de antagonista beta-1 adrenérgico. La actividad biológica de antagonista beta-1 adrenérgico se refiere a la actividad que bloquea los efectos de la adrenalina en los receptores beta. Los antagonistas beta-1 adrenérgicos conocidos comúnmente incluyen acebutolol, atenolol, betaxolol, bisoprolol, esmolol y metoprolol.

El Clenbuterol, por ejemplo, está disponible bajo numerosas marcas comerciales incluyendo Spiropent® (Boehring Ingelheim), Broncodil® (Von Boch I), Broncoterol® (Quimedical PT), Cesbron® (Fidelis PT), y Clenbuter® (Biomedica Foscoma). De manera similar, los métodos para preparar antagonistas beta-1 adrenérgicos tales como metoprolol y sus análogos y derivados se conocen bien en la técnica. El metoprolol, en particular, está disponible en el mercado bajo las marcas Lopressor® (tartato de metoprolol) fabricado por Novartis Pharmaceuticals Corporation, One Health Plaza, East Hanover, N.J. 07936-1080. Las versiones genéricas de Lopressor® también están disponibles en Mylan Laboratories Inc., 1500 Corporate Drive, Suite 400, Canonsburg, Pa. 15317; y Watson Pharmaceuticals, Inc., 360 Mt. Kemble Ave. Morristown, N.J. 07962. Metoprolol tan en esta disponible en el mercado con el nombre comercial Toprol XL®, fabricado por Astra Zeneca, LP.

En una realización, se proporciona el péptido, D-Arg-2'6'-Dmt-Lys-Phe-NH<sub>2</sub>, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento, prevención o reducción del riesgo de síndrome de Barth en un sujeto mamífero, sujeto al que se le administra un agente terapéutico adicional en combinación con el péptido, de modo que se produce un efecto terapéutico sinérgico. Por lo tanto, se pueden usar dosis más bajas de uno o ambos agentes terapéuticos en el tratamiento del síndrome de Barth, lo que da como resultado una mayor eficacia terapéutica y una disminución de los efectos secundarios.

En cualquier caso, los múltiples agentes terapéuticos se pueden administrar en cualquier orden o incluso de forma simultánea. Si se hace de forma simultánea, los múltiples agentes terapéuticos se pueden proporcionar en una sola forma unificada o en múltiples formas (solo a modo de ejemplo, ya sea como una sola píldora o como dos píldoras separadas). Uno de los agentes terapéuticos se cree administrar en dosis múltiples, o ambos se pueden administrar como dosis múltiples. Si la administración no es de forma simultánea, el tiempo entre las dosis múltiples puede variar de más de cero semanas a menos de cuatro semanas. Además, los métodos de combinación, composiciones y formulaciones no se deben limitar solamente al uso de dos agentes.

## Ejemplos

### Ejemplo 1 - Efectos de los Péptidos Aromático-Catiónicos en la Cardiopina Mitocondrial Cardíaca en un Modelo Canino de Insuficiencia Cardíaca

Este ejemplo demuestra el efecto del péptido aromático-catiónico D-Arg-2'6'-Dmt-Lys-Phe-NH<sub>2</sub> en los niveles de cardiopina mitocondrial cardíaca en perros con insuficiencia cardíaca inducida por microembolización coronaria. En particular, se evalúan los efectos de D-Arg-2'6'-Dmt-Lys-Phe-NH<sub>2</sub> en los niveles de las especies de cardiopina 18:2-18:2-18:2-18:2.

### Métodos

La insuficiencia cardíaca se indujo en perros a través de múltiples microembolizaciones secuenciales intracoronarias como se describe en Sabbah, *et al.*, *Am J Physiol.* (1991) 260: H1379-84. La mitad de los perros fueron tratados posteriormente con el péptido mitocondrial; la otra mitad fueron tratados con vehículo farmacológico y sirvieron como controles. El tratamiento con péptidos se inició después de la inducción de insuficiencia cardíaca (HF), definida como una fracción de eyección ventricular izquierda de aproximadamente un 30 %. La dosis diaria del péptido fue de 0,5 mg/kg/día administrada por vía intravenosa. Al final de la fase de tratamiento (12 semanas) los perros tanto en los grupos de vehículo como de tratamiento se sacrificaron y se extrajo una muestra de músculo cardíaco del ventrículo izquierdo, se lavó con solución salina y se congeló inmediatamente y se almacenó a -80 °C. Para el análisis de cardiopina, se extrajeron lípidos de la muestra de tejido cardíaco con una solución de cloroformo/metanol (extracción de Bligh Dyer). Los extractos de lípidos individuales se reconstituyeron con cloroformo:metanol (1:1), se enjuagaron con N<sub>2</sub> y a continuación se almacenaron a -20 °C antes del análisis mediante espectroscopía de masas por ionización por electropulverización usando un espectrómetro de masas de triple cuadrupolo equipado con un aparato de nanopulverización automático. La lipidómica de secuenciación aleatoria basada en espectrometría de masas multidimensional mejorada para cardiopina se realizó de acuerdo con lo descrito por Han, *et al.*, "Shotgun lipidomics of cardiopin molecular species in lipid extracts of biological samples", *J Lipid Res* 47 (4) 864-879 (2006).

### Resultados

La especie de cardiopina 18:2 se redujo de forma significativa en perros con insuficiencia cardíaca no tratados (insuficiencia cardíaca, control) ( $p < 0,05$ ) en comparación con el tejido cardíaco de sujetos normales (Normal). FIG. 1. Sin embargo, los perros con insuficiencia cardíaca tratados con D-Arg-2'6'-Dmt-Lys-Phe-NH<sub>2</sub> (insuficiencia cardíaca, péptido) tenían niveles de cardiopina 18:2 que eran similares a los de los sujetos normales, y mayores que los de los sujetos de control con insuficiencia cardíaca ( $p < 0,05$ ). FIG. 1.

Conclusiones

La especie de cardiolipina 18:2 se reduce en sujetos con insuficiencia cardiaca. La reducción de la cardiolipina 18:2 conduce a una pobre fosforilación oxidativa y posterior disfunción del LV. El tratamiento crónico con D-Arg-2'6'-Dmt-Lys-Phe-NH<sub>2</sub> normalizó la cardiolipina 18:2, lo que conduce a una mejora de la función del LV y la tasa de síntesis de ATP mitocondrial.

Estos resultados muestran que los péptidos aromático-catiónicos de la presente invención, tal como D-Arg-2'6'-Dmt-Lys-Phe-NH<sub>2</sub>, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, tal como sal de acetato o trifluoroacetato, son útiles en la prevención y el tratamiento de enfermedades y afecciones asociadas con niveles anómalos de cardiolipina. En particular, estos resultados muestran que los péptidos aromático-catiónicos de la presente invención, tal como D-Arg-2'6'-Dmt-Lys-Phe-NH<sub>2</sub>, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, tal como sal de acetato o trifluoroacetato, son útiles en métodos que comprenden la administración de péptidos a sujetos con necesidad de normalización de los niveles de cardiolipina y remodelación.

Ejemplo 2 - Efectos de los Péptidos Aromático-Catiónicos en la Expresión de TAZ1 en un Modelo Canino de Insuficiencia Cardiaca

Este ejemplo demuestra el efecto del péptido aromático-catiónico D-Arg-2'6'-Dmt-Lys-Phe-NH<sub>2</sub> en los niveles de expresión de TAZ1 en perros con insuficiencia cardiaca inducida por microembolización coronaria. En particular, se evalúan los efectos de D-Arg-2'6'-Dmt-Lys-Phe-NH<sub>2</sub> en los niveles de ARNm de TAZ1.

Métodos

Doce perros fueron sometidos a insuficiencia cardiaca inducida por microembolización coronaria (fracción de eyección del LV ~30 %) como se ha descrito anteriormente en el Ejemplo 1. Los sujetos se clasificaron de forma aleatoria en grupos tratados con D-Arg-2'6'-Dmt-Lys-Phe-NH<sub>2</sub> y de control para un ensayo de tres meses. Los sujetos recibieron inyecciones subcutáneas de D-Arg-2'6'-Dmt-Lys-Phe-NH<sub>2</sub> (0,5 mg/kg una vez al día, n = 6) o solución salina (Control de HF no tratado, n = 6). El ARN se preparó a partir del tejido del LV de todos los sujetos al final de la fase de tratamiento y del LV de seis controles normales del sujeto. Los niveles de ARNm de TAZ1 se determinaron por PCR en tiempo real. Los cambios en los niveles de ARNm se expresaron como índice de reducción usando el Método CT, con normalización con respecto a un control interno de gliceraldehído 1,3 difosfato deshidrogenasa (GAPDH).

Resultados

Los niveles de ARNm de TAZ1 se redujeron 2,25 veces en los sujetos con insuficiencia cardiaca que recibieron control salino en comparación con los sujetos normales. FIG. 2. El tratamiento con D-Arg-2'6'-Dmt-Lys-Phe-NH<sub>2</sub> atenuó la disminución de TAZ1 a solo 1,23 veces, en relación con los sujetos normales. FIG. 2.

Conclusiones

La insuficiencia cardiaca está asociada con la desregulación de las enzimas de remodelación de cardiolipina que puede conducir a la remodelación patológica de la cardiolipina y a anomalías mitocondriales funcionales y estructurales. La terapia crónica con D-Arg-2'6'-Dmt-Lys-Phe-NH<sub>2</sub> revierte parcialmente estas malas adaptaciones, lo que permite la reanudación de la remodelación fisiológica posterior a la biosíntesis de cardiolipina.

Estos resultados muestran que los péptidos aromático-catiónicos de la presente invención, tal como D-Arg-2'6'-Dmt-Lys-Phe-NH<sub>2</sub>, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, tal como sal de acetato o trifluoroacetato, son útiles en la que vencen y tratamiento de enfermedades y afecciones asociadas con una reducción de los niveles de expresión de TAZ1. En particular, estos resultados muestran que los péptidos aromático-catiónicos de la presente invención, tal como D-Arg-2'6'-Dmt-Lys-Phe-NH<sub>2</sub>, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, tal como sal de acetato o trifluoroacetato, son útiles en métodos que comprenden la administración de péptidos a sujetos con necesidad de normalización de los niveles de expresión de TAZ1, tal como, por ejemplo, sujetos que tienen el síndrome de Barth.

Ejemplo 3 - Efectos de los Péptidos Aromático-Catiónicos en la Ultraestructura y Organización Mitocondrial

Este ejemplo demuestra que los péptidos aromático-catiónicos, tal como D-Arg-2'6'-Dmt-Lys-Phe-NH<sub>2</sub>, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, tal como sal de acetato o trifluoroacetato, son útiles en el tratamiento del síndrome de Barth.

Se preparó una muestra de tejido de un sujeto con síndrome de Barth y muestras de tejido de un sujeto con enfermedad cardiaca para la obtención de imágenes de la mitocondria con microscopía electrónica usando patrones conocidos en la técnica. La muestra de tejido del sujeto con síndrome de Barth se tiñó y mostró características o estructuras anómalas dentro de la ultraestructura y organización de las mitocondrias (véanse las flechas en la

FIG. 3), algunas de las cuales están resaltadas en los recuadros b-d. FIG. 3.

Un trastorno similar de la ultraestructura mitocondrial se observó en la muestra de tejido de un sujeto con enfermedad cardíaca. FIG. 4A. El tratamiento de un sujeto de enfermedad cardíaca con una cantidad eficaz de D-Arg-2'6'-Dmt-Lys-Phe-NH<sub>2</sub> mejoró las características anómalas de la ultraestructura de las mitocondrias. FIG. 4B.

Además, la mejora de los efectos patológicos de la enfermedad cardíaca en las mitocondrias se demostró aún más en la organización mejorada de las mitocondrias en el tejido de un sujeto con enfermedad cardíaca tratado con D-Arg-2'6'-Dmt-Lys-Phe-NH<sub>2</sub> en comparación con mitocondrias en tejidos de un sujeto no tratado con D-Arg-2'6'-Dmt-Lys-Phe-NH<sub>2</sub>. FIGs. 5A-5B.

Los resultados muestran que los péptidos aromático-catiónicos tal como D-Arg-2'6'-Dmt-Lys-Phe-NH<sub>2</sub> encontrados que los péptidos aromáticos-catiónicos como D-Arg-2'6'-Dmt-Lys-Phe-NH<sub>2</sub> son útiles para reducir el número de mitocondrias con ultraestructura mitocondrial anómala y/o para mejorar la ultraestructura mitocondrial anómala, y mantener una organización mitocondrial en la enfermedad cardíaca. Se anticipa que péptidos aromático-catiónicos tal como D-Arg-2'6'-Dmt-Lys-Phe-NH<sub>2</sub> tendrán un efecto similar en la ultraestructura anómala de las mitocondrias en sujetos con síndrome de Barth. Como tal, los péptido aromático-catiónicos de la presente divulgación son útiles en métodos para el tratamiento del síndrome de Barth.

#### Ejemplo 4 - Uso de Péptidos Aromático-Catiónicos en el Tratamiento del Síndrome de Barth

Este ejemplo demostrará el uso de péptidos aromático-catiónicos, tales como D-Arg-2'6'-Dmt-Lys-Phe-NH<sub>2</sub>, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, tal como sal de acetato o trifluoroacetato, en el tratamiento del síndrome de Barth.

#### Métodos

Los pacientes con síndrome de Barth recibirán administraciones diarias de una cantidad terapéuticamente eficaz de péptido aromático-catiónico, tal como D-Arg-2'6'-Dmt-Lys-Phe-NH<sub>2</sub>, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, tal como sal de acetato o trifluoroacetato. Los péptidos se administrarán por vía oral, por vía tópica, por vía sistémica, por vía intravenosa, por vía subcutánea, por vía intraperitoneal, o por vía intramuscular de acuerdo con métodos conocidos en la técnica. Los sujetos se evaluarán semanalmente por la presencia y/o gravedad de los signos y síntomas asociados con el síndrome de Barth, que incluyen, por ejemplo, cardiomiopatía, anomalías del músculo esquelético, neutropenia, desarrollo lento, tono muscular débil, aumento de los niveles de ácidos orgánicos en la orina y en la sangre, e infecciones bacterianas frecuentes. Los tratamientos se mantendrán hasta el momento en que los síntomas del síndrome de Barth mejoren o se eliminen.

#### Resultados

Se predice que los sujetos con síndrome de Barth que reciben cantidades terapéuticamente eficaces de péptido aromático-catiónico, tal como D-Arg-2'6'-Dmt-Lys-Phe-NH<sub>2</sub>, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, tal como sal de acetato o trifluoroacetato presentaran una reducción de la gravedad o eliminación de síntomas asociados con el síndrome de Barth.

Estos resultados mostrarán que los péptidos péptido aromático-catiónicos, tal como D-Arg-2'6'-Dmt-Lys-Phe-NH<sub>2</sub>, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, tal como sal de acetato o trifluoroacetato son útiles en el tratamiento del síndrome de Barth. Por lo tanto, los péptidos son útiles en métodos que comprenden la administración de péptidos aromático-catiónicos a un sujeto que lo necesite para el tratamiento del síndrome de Barth.

#### EQUIVALENTES

Además, cuando las características o aspectos de la divulgación se describen en términos de grupos de Markush, las personas con experiencia en la materia reconocerán que la divulgación también se describe en términos de cualquier miembro individual o subgrupo de miembros del grupo de Markush.

Como lo entenderá alguien con experiencia en la materia, para cualquiera y para todos los fines, en particular en términos de proporcionar una descripción escrita, todos los intervalos que se describen en el presente documento también abarcan cualquiera y todos los posibles subintervalos y combinaciones de subintervalos de los mismos. Cualquier intervalo enumerado se puede reconocer fácilmente como lo suficientemente descriptivo y permite que el mismo intervalo se divida en al menos iguales mitades, tercios, cuartos, quintas, décimas, etc. Como ejemplo no limitante, cada intervalo discutido en el presente documento se puede dividir fácilmente en un tercio inferior, un tercio medio y un tercio superior, etc. Como también entenderá un experto en la materia, todos los términos tales como "hasta", "al menos", "mayor que", "menor que" y similares, incluyen el número mencionado y se refieren a intervalos que se pueden desglosar posteriormente en subintervalos como se ha discutido anteriormente. Por último, como entenderá un experto en la materia, un intervalo incluye cada miembro individual. Por lo tanto, por ejemplo, un grupo

que tiene 1-3 células se refiere a grupos que tienen 1, 2 o 3 células. De manera similar, un grupo que tiene 1-5 células se refiere a grupos que tienen 1, 2, 3, 4 o 5 células, y así sucesivamente.

Dentro de las siguientes reivindicaciones se presentan otras realizaciones.

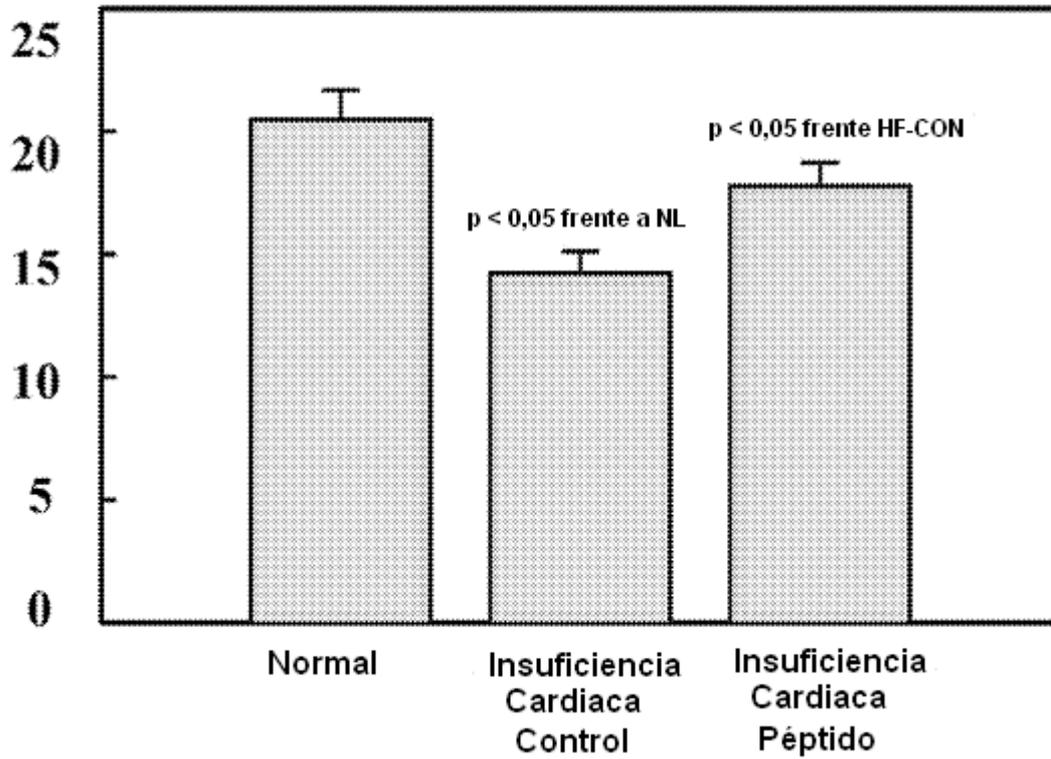
5

**REIVINDICACIONES**

- 5 1. Un péptido D-Arg-2'6'-Dmt-Lys-Phe-NH<sub>2</sub> o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para uso en el tratamiento, prevención, o reducción del riesgo de Síndrome de Barth en un sujeto mamífero.
2. El péptido para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el sujeto presenta una reducción de los niveles de expresión de TAZ1 en comparación con un sujeto de control normal.
- 10 3. El péptido para uso de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en el que el sujeto ha sido diagnosticado con el síndrome de Barth.
- 15 4. El péptido para uso de acuerdo con la reivindicación 3, en el que el síndrome de Barth comprende uno o más de cardiomiopatía, anomalías del músculo esquelético, neutropenia, desarrollo lento, tono muscular débil, aumento de los niveles de ácidos orgánicos en la orina y en la sangre, e infecciones bacterianas frecuentes.
- 20 5. El péptido para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en el que el sujeto ha sido diagnosticado con, se sospecha que tiene, o presenta el riesgo de tener el Síndrome de Barth.
6. El péptido para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-3 o 5, en el que el sujeto es humano.
7. El péptido para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-3 o 5, en el que el péptido se formula para administración oral, tópica, sistémica, intravenosa, subcutánea, intraperitoneal, o intramuscular.
- 25 8. El péptido para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-3 o 5-7, en el que al sujeto se le administra un agente cardiovascular por separado, de forma secuencial o simultánea.
- 30 9. El péptido para uso de acuerdo con la reivindicación 8, en el que el agente cardiovascular se selecciona entre el grupo que consiste en: un agente anti-arritmia, un vasodilatador, un agente anti-angina, un corticosteroide, un cardiolglicósido, un diurético, un sedante, un inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina (ACE), un antagonista de angiotensina II, un agente trombolítico, un bloqueador de los canales de calcio, un antagonista de receptores de troboxano, un neutralizador de radicales, un fármaco antiplaquetario, un fármaco bloqueador de receptores de adrenalina  $\beta$ , un fármaco bloqueador del receptor  $\alpha$ , un inhibidor del nervio simpático, una formulación de digital, un inótropo, y un fármaco antihiperlipidémico.
- 35 10. El péptido para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-3 o 5-8, en el que la sal farmacéuticamente aceptable comprende un acetato o una sal de trifluoroacetato.

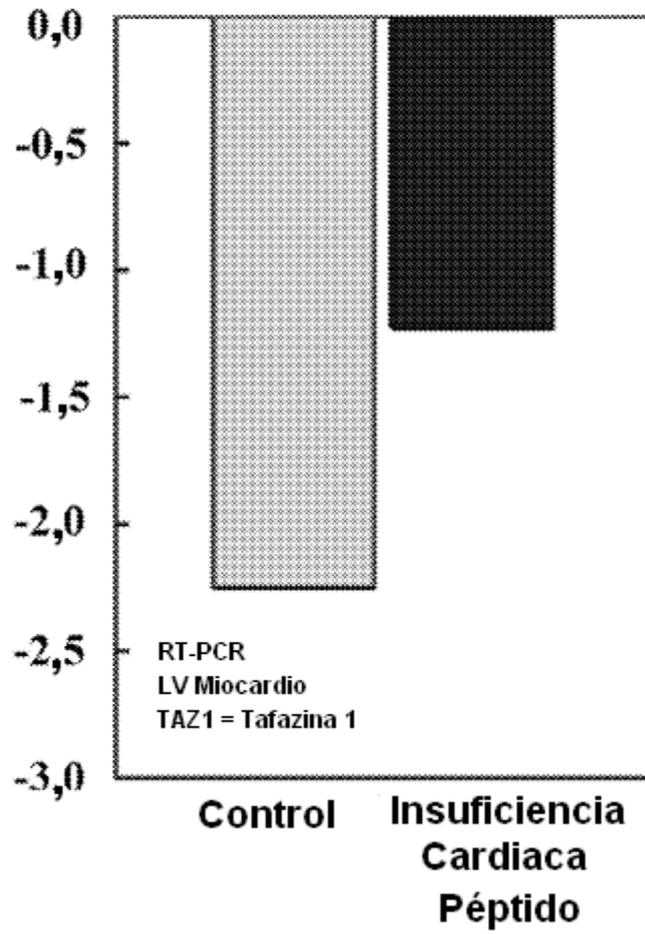
**FIG. 1**

**Cardiolipina 18:2-18:2-18:2-18:2  
nmol/mg de proteína no colágeno**

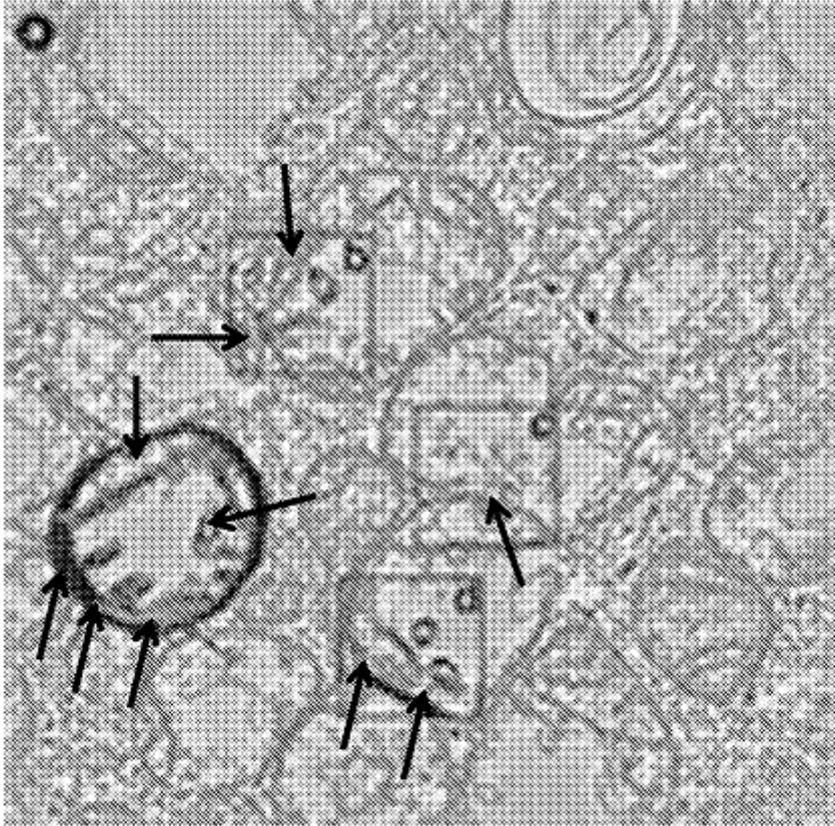


**FIG. 2**

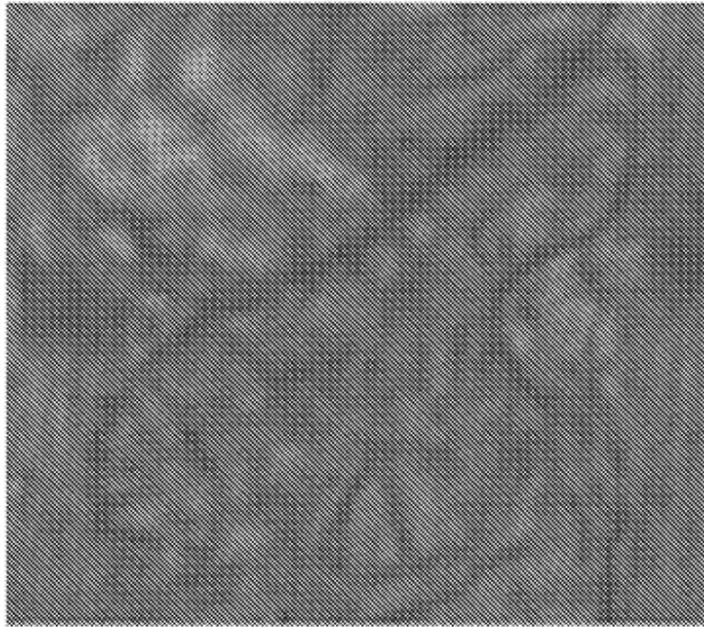
**ARNm de TAZ1**  
**Índice de Cambio con Respecto a Normal**



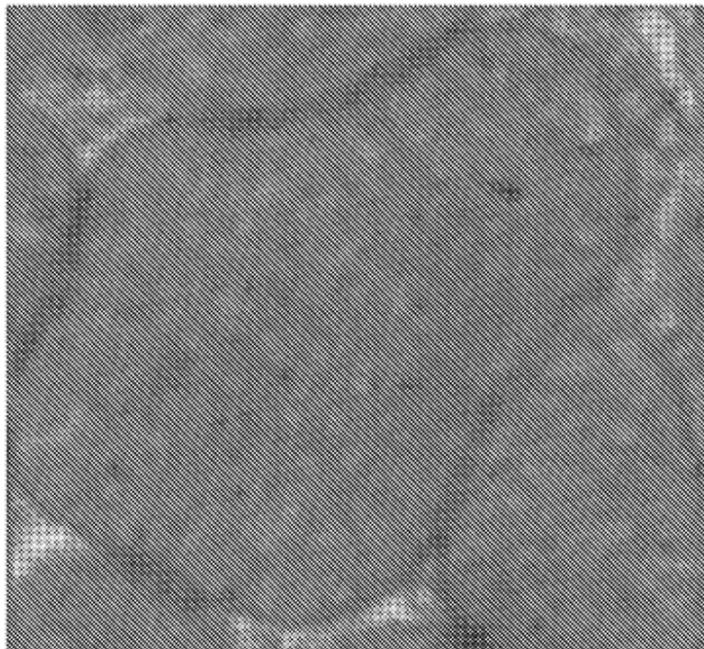
**FIG. 3**



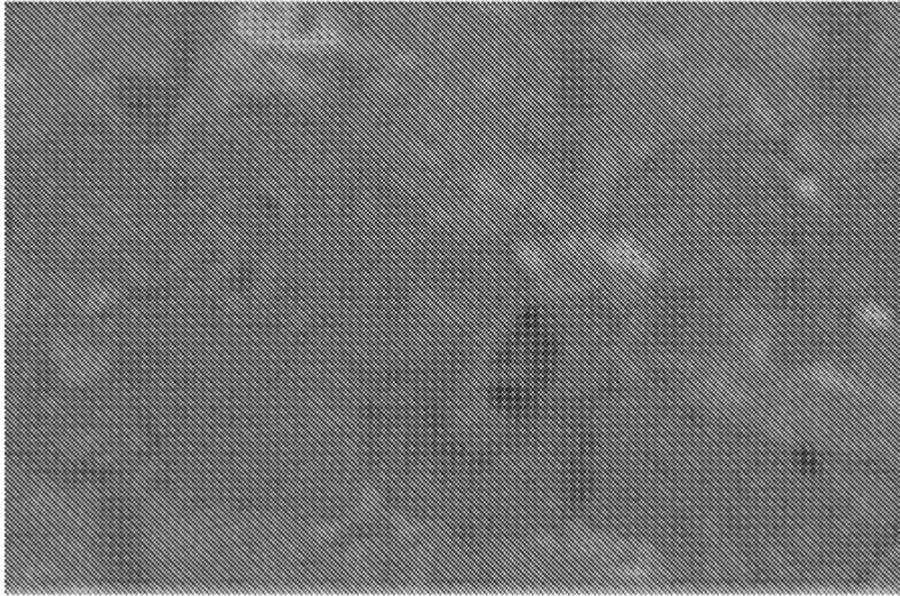
**FIG. 4A**



**FIG. 4B**



**FIG. 5A**



**FIG. 5B**

