



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 346 223**

51 Int. Cl.:
C07K 7/64 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **04787113 .2**

96 Fecha de presentación : **09.09.2004**

97 Número de publicación de la solicitud: **1668027**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **14.06.2006**

54 Título: **Péptidos cíclicos que actúan como antagonistas de la urotensina-II.**

30 Prioridad: **11.09.2003 IT FI03A0238**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
13.10.2010

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
13.10.2010

73 Titular/es: **Ettore Novellino**
Via S. Benedetto No. 4
83040 Montemarano, IT
Paolo Grieco y
Paolo Rovero

72 Inventor/es: **Novellino, Ettore;**
Grieco, Paolo y
Rovero, Paolo

74 Agente: **Trullols Durán, María del Carmen**

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Péptidos cíclicos que actúan como antagonistas de la urotensina-II.

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere a péptidos cíclicos análogos de la urotensina-II que presenta la fórmula (I) que se describe a continuación en la presente memoria, útil para la preparación de composiciones farmacéuticas para el tratamiento de enfermedades relacionadas con el desequilibrio de la urotensina-II.

10 **Estado de la técnica**

La urotensina-II es un péptido cíclico aislado originalmente a partir de la urófisis de teleósteos y se secuenció hace más de 20 años (Pearson, D. *et al. Proc. Natl. Acad. Sci. EE. UU.* (1980), 77, 5021-5024). Posteriormente se describieron distintas formas estructurales de la urotensina-II en diversas especies de peces y anfibios, así como en mamíferos, entre ellos los seres humanos. En el año 1999 se identificó el receptor de la urotensina-II (Ames, R. S. *et al. Nature* (1999), 401, 282-286). Diversas publicaciones indican que la urotensina-II es un potente constrictor de determinadas arterias y venas humanas aisladas, *in vitro*. Además, la urotensina-II provoca la contracción de la musculatura lisa no vascular de los de los aparatos cardiovascular y respiratorio.

En los tejidos cardíacos humanos se identificaron la urotensina-II y su receptor y se publicó que la urotensina-II ejerce un fuerte efecto inotrópico en el corazón humano *in vitro*. Considerados en conjunto, los datos publicados indican que la urotensina-II modula la homeostasis cardiovascular y, por lo tanto, puede desempeñar un papel clave en determinadas patologías cardiovasculares (Ames R. S. *et al. Nature* (1999), 401, 282-286).

Por consiguiente, se pueden utilizar los análogos sintéticos de la urotensina-II para desarrollar agonistas, antagonistas e inhibidores de la urotensina-II y a continuación para el tratamiento farmacológico de estados patológicos relacionados con el equilibrio de la urotensina-II. Con esta intención, se desarrollaron péptidos cíclicos análogos de la urotensina-II y que comprenden exclusivamente aminoácidos que no contienen azufre y que se describen en la solicitud de patente internacional n.º WO 01/37856 (SmithKline Beecham Corp.).

Otros péptidos cíclicos que son análogos de la urotensina-II y que presentan la utilidad farmacológica mencionada anteriormente, se describen asimismo en la solicitud internacional de patente n.º WO 01/37780 (SmithKline Beecham Corp.); en este caso, los péptidos contienen dos residuos de cisteína enlazados mediante un puente disulfuro.

Los análogos del péptido cíclico de urotensina-II que presentan la fórmula X-ciclo [M-A_w-B-C-D_z-N]-Y se describieron en Grieco P. *et al., J. Med. Chem.*, 2002, 45: 4391-4394; en dichos péptidos cíclicos se forma un puente disulfuro entre las cadenas laterales de dos aminoácidos que contienen azufre M y N, que nunca son simultáneamente cisteína; además, en dicha fórmula anterior (I) w y z son 0 ó 1, X se selecciona de entre H, Ac, H-Asp, Ac-Asp y H-Glu-Thr-Pro-Asp; Y se selecciona de entre OH, NH₂, Val-OH y Val-NH₂; A y D se seleccionan de entre Phe, D-Phe, Tyr, D-Tyr, Pro, D-Pro, Nal (1), D-Nal (1), Nal (2), D-Nal (2), Cha, Chg y Bpa; B se selecciona de entre Trp, D-Trp, y (α-Me) Trp; y C se selecciona de entre Lys, Arg, Orn y Dab.

Campiglia, P. *et al., Biopolymers*, 2003, 71(3), 374, P326 describen análogos del péptido cíclico de la urotensina-II que presentan la fórmula H-Asp-ciclo[Pen-Phe-Trp-Xaa-Xaa-Cys]-Val-OH, en la que Xaa se selecciona de entre diversos aminoácidos poco convencionales a fin de examinar la importancia de dichas posiciones en la interacción con el receptor de la urotensina-II.

Los análogos del péptido cíclico de la urotensina-II que presentan al fórmula H-Asp-ciclo[Xaa-Phe-Trp-Lys-Tyr-Yaa]-Val-OH, en la que Xaa es Cys, Dap, Orn o Lys e Yaa es Cys, Asp o Glu se describieron en Grieco, P. *et al., Bioorg & Med, Chem.*, 2002, 10: 3731-3739; se analizaron dichos derivados con respecto a la actividad contráctil de la aorta torácica de rata.

Los análogos de péptidos de la urotensina-II mencionados anteriormente descritos hasta la fecha en las publicaciones, aunque presentaban una cierta actividad antagonista hacia el receptor de la urotensina-II, presentaban, no obstante, una especificidad limitada y, a veces, una actividad agonista residual que limita mucho su utilidad farmacológica y terapéutica.

Por lo tanto, existe todavía la necesidad de péptidos que presenten una actividad antagonista hacia el receptor de la urotensina-II sin los inconvenientes mencionados anteriormente de los péptidos anteriores, siendo por lo tanto útiles en un tratamiento efectivo de procesos patológicos mencionados anteriormente.

Sumario de la invención

Actualmente, los presentes solicitantes han descubierto sorprendentemente que los péptidos cíclicos de fórmula (I) descritos anteriormente presentan una actividad antagonista y una elevada especificidad hacia el receptor de la urotensina-II humana, y que carecen de toda actividad agonista residual.

Gracias a dichas propiedades, los nuevos péptidos de fórmula (I) presentan una eficacia superior si se comparan con los inhibidores peptídicos de la urotensina-II descritos anteriormente, ya que presentan una actividad antagonista muy potente y carecen de las limitaciones mencionadas anteriormente, habituales en los péptidos descritos anteriormente. Por lo tanto, los presentes péptidos de fórmula (I) se pueden utilizar satisfactoriamente en el tratamiento de procesos

5 patológicos relacionados con el desequilibrio de la urotensina-II en seres humanos, tales como la hipertensión, una arritmia cardíaca, un ataque al corazón, una angina de pecho, una isquemia miocárdica y una reestenosis.

El tema de la presente invención lo constituyen, por lo tanto, los péptidos cíclicos de fórmula general (I)

10 X-ciclo [Pen-A-B-C-D-Cys]-Y (I)

en la que:

15 X se selecciona de entre el grupo que consiste en H, Ac, H-Asp, Ac-Asp, H-Phe, H-D-Phe y H-Glu-Thr-Pro-Asp,

Y se selecciona de entre el grupo que consiste en OH, NH₂, Val-OH, y Val-NH₂,

20 A y D, iguales o distintos entre sí, se seleccionan de entre el grupo que consiste en Phe, D-Phe, Tyr y D-Tyr,

B se selecciona de entre el grupo que consiste en D-Trp, D-(α -Me) Trp, D-Trp (Me), D-Trp (CHO), D-Nal (1) y D-Nal (2);

25 C se selecciona de entre el grupo que consiste en Lys, Asp, Glu, Orn, Cit, Dap y (p-amino) Phe;

o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

Unos temas adicionales de la presente invención son las composiciones farmacéuticas que comprenden los péptidos cíclicos de fórmula (I) mencionados anteriormente y/o sus sales.

30 Un tema adicional de la presente invención es la utilización de los péptidos cíclicos de fórmula (I) y/o de sus sales como reactivos para la caracterización farmacológica de los receptores de la urotensina-II, y su utilización en la preparación de composiciones farmacéuticas para el tratamiento de procesos patológicos relacionados con desequilibrio de urotensina-II.

35 Las características y ventajas de la presente invención se ilustrarán en detalle en la siguiente descripción.

Descripción detallada de la invención

40 Dentro del alcance de la presente invención los aminoácidos naturales se indican utilizando el código habitual de tres letras, mientras que los aminoácidos que no se codifican genéticamente se indican utilizando las siguientes abreviaciones:

45 Pen Penicilamina;
Nal (1) 3-(1-Naftil)alanina;
Nal (2) 3-(2-Naftil)alanina;
50 Orn Ornitina;
Cit Citrulina;
Dap ácido 2-aminopropiónico.

55 Con la abreviación Ac, se indica un grupo acetilo.

60 Algunos de los péptidos de fórmula (I) según la presente invención están comprendidos por la fórmula general ya descrita en Grieco, P. *et al.*, J. Med. Chem., 2002, 45: 4391-4394, pero no se describen específicamente.

Los presentes péptidos contienen un puente disulfuro entre los aminoácidos Pen y Cys y se caracterizan por la presencia de un aminoácido B de la serie D y por una combinación apta de aminoácidos B y C tal como se ha indicado anteriormente.

65 De hecho, los presentes solicitantes han descubierto sorprendentemente que cuando los dos aminoácidos centrales B y C de la parte cíclica de dichos péptidos de fórmula general (I) son los mencionados anteriormente y el aminoácido B presenta la inversión de la configuración L a D, los péptidos resultantes presentan una actividad antagonista potente

ES 2 346 223 T3

y muy específica hacia el receptor de la urotensina-II humana, y carecen de toda actividad agonista residual hacia el mismo receptor.

Los péptidos preferidos de fórmula (I) según la presente invención son aquellos en los que C se selecciona de entre el grupo que consiste en Lys, Orn y (p-amino) Phe.

Se observaron unos resultados particularmente notables cuando en la fórmula general (I) B es D-Trp y C es Orn.

Según una forma de realización preferida de la presente invención en la fórmula general (I) X es H-Asp, Y es Val-OH, B es D-Trp, y C es Orn.

Se prefieren en particular los siguientes péptidos:

15	H-Asp-ciclo[Pen-Phe-DTrp-Orn-Tyr-Cys]-Val-OH	(SEC. ID. N.º 1)
	Ac-ciclo[Pen-Phe-DTrp-Orn-Tyr-Cys]-NH ₂	(SEC. ID. N.º 2)
	H-Glu-Thr-Pro-Asp-ciclo[Pen-Phe-DTrp-Orn-Tyr-Cys]-Val-OH	(SEC. ID. N.º 3)
20	H-Asp-ciclo[Pen-DPhe-DTrp-Orn-Tyr-Cys]-Val-OH	(SEC. ID. N.º 4)
	H-Asp-ciclo[Pen-Phe-DTrp-Orn-DTyr-Cys]-Val-OH	(SEC. ID. N.º 5)
	H-Asp-ciclo[Pen-Phe-DTrp-Lys-Tyr-Cys]-Val-OH	(SEC. ID. N.º 6)
25	H-Asp-ciclo[Pen-Phe-DNal (1)-Orn-Tyr-Cys]-Val-OH	(SEC. ID. N.º 7)
	H-Asp-ciclo[Pen-Phe-DNal (2)-Orn-Tyr-Cys]-Val-OH	(SEC. ID. N.º 8)
30	H-Asp-ciclo[Pen-Phe-D-(α -Me)Trp-Orn-Tyr-Cys]-Val-OH	(SEC. ID. N.º 9)
	H-Asp-ciclo[Pen-Phe-D-Trp(Me)-Orn-Tyr-Cys]-Val-OH	(SEC. ID. N.º 10)
35	H-Asp-ciclo[Pen-Phe-D-Trp(CHO)-Orn-Tyr-Cys]-Val-OH	(SEC. ID. N.º 11).

Los aminoácidos comprendidos en dichos péptidos de fórmula (I) pertenecen a la serie L-, excepto cuando se indique lo contrario.

Los péptidos según la presente invención se pueden preparar con una disolución convencional y una síntesis peptídica en fase sólida, conocida por los expertos en la materia. Por lo tanto, por ejemplo, para preparar péptidos con un ácido libre del extremo carboxiterminal, la síntesis en fase sólida se puede realizar utilizando una resina de Wang. En cambio, para obtener péptidos como amida carboxiterminal, se puede realizar síntesis en fase sólida utilizando una resina tal como la resina PAL [Tris(alcoxi)bencilamida].

La síntesis de los péptidos objetivo de la presente solicitud se puede realizar utilizando una protección ortogonal utilizando fluorenilmetoxycarbonilo (al que de ahora en adelante se hará referencia en la presente memoria como "Fmoc") y t-butiloxycarbonilo (al que de ahora en adelante se hará referencia en la presente memoria como "Boc") como grupos protectores en el grupo α -amino de aminoácidos, y terc-butilo (al que de ahora en adelante se hará referencia en la presente memoria como "t-Bu") y bencilo (al que de ahora en adelante se hará referencia en la presente memoria como "Bzl") como grupos protectores en la cadena lateral de aminoácidos, tales como Asp, Glu (como éster butílico), Lys (Boc), Tyr, Thr (OtBu).

Se puede proteger el grupo tiólico de la Cys y la Pen mediante un grupo tritilo (al que de ahora en adelante se hará referencia en la presente memoria como "Trt").

Observando la estrategia "Fmoc/t-Bu", la síntesis peptídica consiste en las siguientes etapas:

- a) carga del primer aminoácido carboxiterminal en la resina;
- b) desprotección del grupo α -amino con una disolución de piperidina al 25% (v/v) en dimetilformamida (DMF);
- c) acoplamiento de los siguientes aminoácidos, protegidos adecuadamente tal como se ha descrito anteriormente, utilizando un agente de condensación o activación, tal como el N,N'-diciclohexilcarbodiimida (DCC), el hexafluorofosfato de O-(benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio (HBTU), el tetrafluoroborato de O-benzotriazol-1-il-1,1,3,3-tetrametiluronio (TBTU), el 1-hidroxibenzotriazol (HOBt), etc.;

d) repetición de las etapas a) y b) hasta que se completa la secuencia pretendida;

e) escisión del péptido lineal de la resina y desprotección de las cadenas laterales de los aminoácidos utilizando ácido trifluoacético en presencia de antioxidantes aptos, tales como el trietilsilano (TES) y agua (5% v/v, cada uno de los mismos);

f) formación del puente disulfuro por oxidación, por ejemplo con ferricianuro, oxígeno o sulfóxido de dimetilo (DMSO);

g) purificación del péptido cíclico en bruto mediante HPLC semipreparativa, preferentemente mediante HPLC en fase inversa en una columna C-18, utilizando como eluyentes acetonitrilo y agua en presencia de ácido trifluoacético (TFA) al 0,1%;

h) liofilización del producto final purificado;

i) caracterización del compuesto final mediante HPLC analítica, espectrometría de masas (MS) y análisis de los aminoácidos (AAA).

Los presentes péptidos de fórmula (I), en forma libre o como sales farmacéuticamente aceptables, se pueden utilizar en la preparación de composiciones farmacéuticas según procedimientos convencionales de preparación, muy conocidos en el campo farmacéutico.

Dichas composiciones farmacéuticas se pueden formular ventajosamente y pueden comprender además uno o más excipientes y/o diluyentes farmacéuticamente aceptables.

La administración de las presentes composiciones se puede realizar mediante cualquier método convencional, por ejemplo mediante la inyección parenteral en forma de soluciones o suspensiones inyectables o mediante la administración oral, tópica, intranasal, etc.

Las formulaciones de los presentes péptidos comprenden compresas, cápsulas, píldoras, soluciones, dispersiones, pomadas y ungüentos, emulsiones, aerosoles, y se pueden utilizar asimismo para que realicen una liberación controlada o retardada del principio activo.

Las presentes composiciones farmacéuticas pueden comprender los péptidos de fórmula (I) según la presente invención como único principio activo, o pueden comprender los presentes péptidos junto con otros principios activos o aditivos, seleccionados adecuadamente según los procesos patológicos a tratar.

Las composiciones farmacéuticas que comprenden los presentes péptidos son útiles para el tratamiento farmacológico de patologías relacionadas con una alteración del equilibrio de la urotensina-II, tales como la hipertensión, una arritmia cardíaca, un ataque al corazón, una angina de pecho, una isquemia miocárdica y una reestenosis.

Los presentes péptidos de fórmula general (I) se pueden utilizar asimismo como reactivos en investigaciones biotecnológicas y farmacéuticas, por ejemplo como reactivos en la caracterización del receptor de la urotensina-II humana.

Todos los péptidos según la presente invención se sintetizaron mediante los métodos descritos anteriormente e ilustrados en detalle en el ejemplo 1.

Los siguientes ejemplos se presentan a título ilustrativo pero no limitativo de la presente invención.

Ejemplo 1

Preparación del H-Asp-ciclo[Pen-Phe-D-Trp-Orn-Tyr-Cys]-Val-OH (SEC. ID. N.º 1)

Se sintetizó el compuesto mediante métodos estándar en fase sólida, partiendo de 0,5 g de resina de Wang (0,7 mmoles/g) utilizando la química del N^α -Fmoc y una estrategia de protección ortogonal de la cadena lateral. El primer aminoácido, N^α -Fmoc-Val-OH, se enlazó con la resina utilizando como reactivos de enlace un excedente triple de HBTU/HOBt en presencia de N,N' -diisopropiletilamina (DIEA). A continuación se añadieron gradualmente los siguientes aminoácidos al péptido en crecimiento: N^α -Fmoc-Cys(Trt)-OH, N^α -Fmoc-Tyr(OtBu)-OH, N^α -Fmoc-Orn(N^ϵ -Boc)-OH, N^α -Fmoc-D-Trp(N^m -Boc)-OH, N^α -Fmoc-Phe-OH, N^α -Fmoc-Pen(Trt)-OH y N^α -Fmoc-Asp(OtBu)-OH utilizando procedimientos estándar en fase sólida. Se realizó cada reacción de enlace utilizando un exceso triple de aminoácidos y de HBTU/HOBt en presencia de DIEA. El grupo protector N^α -Fmoc se retiró tratando la resina del péptido protegido con una disolución de piperidina al 25% en DMF (1 x 50 ml, 5 min, 1 x 50 ml, 20 min). La resina del péptido se lavó con DMF (3 x 50 ml), DCM (3 x 50 ml) y de nuevo con DMF.

Al completar la formación del péptido lineal protegido, se escindió el compuesto de la resina y se retiraron los otros grupos protectores de la cadena lateral utilizando la mezcla siguiente: TFA/TES/H₂O (9:0,5:0,5) durante 3 h. Todos los procedimientos se realizaron en una atmósfera de argón. Se retiró la resina de la disolución por filtración

y se recuperó el péptido en bruto por precipitación con éter etílico anhidro frío, obteniéndose un polvo blanco que se purificó mediante HPLC preparativa en una columna de gel de sílice C18 (Vydac 218TP1010, 1,0 x 25 cm) eluida con un gradiente lineal de acetonitrilo en una disolución acuosa al 0,1% de TFA (v/v). Se realizó el seguimiento de la purificación a 280 nm y se recogió la fracción correspondiente al pico principal, se combinó y se liofilizó hasta obtenerse el compuesto final como un polvo blanco puro (> 98%). Se caracterizó el péptido lineal mediante HPLC analítica y FAB-MS (m/e 1073,282 [M⁺]). El péptido cíclico final, que contenía el puente disulfuro, se obtuvo mediante la oxidación con una disolución acuosa de ferricianuro potásico a pH = 8,5 (disolución amortiguadora de amonio). Se realizó el seguimiento de esta etapa mediante HPLC analítica para analizar el nivel de conversión. Se purificó el péptido cíclico final mediante HPLC en fase inversa utilizando las condiciones descritas anteriormente.

Ejemplo 2 a 9

Siguiendo el mismo método de síntesis descrito anteriormente y utilizando los reactivos y aminoácidos apropiados, se sintetizaron asimismo los siguientes péptidos 2 a 9:

Ejemplo	Péptido	MS (m/e)
2	Ac-ciclo[Pen-Phe-DTrp-Orn-Tyr-Cys]-NH ₂ (SEC. ID. N.º 2)	900,112
3	H-Glu-Thr-Pro-Asp-ciclo[Pen-Phe-DTrp-Orn-Tyr-Cys]-Val-OH (SEC. ID. N.º 3)	1400,622
4	H-Asp-ciclo[Pen-DPhe-DTrp-Orn-Tyr-Cys]-Val-OH (SEC. ID. N.º 4)	1073,282
5	H-Asp-ciclo[Pen-Phe-DTrp-Orn-DTyr-Cys]-Val-OH (SEC. ID. N.º 5)	1073,282
6	H-Asp-ciclo[Pen-Phe-DTrp-Lys-Tyr-Cys]-Val-OH (SEC. ID. N.º 6)	1087,309
7	H-Asp-ciclo[Pen-Phe-DNal(1)-Orn-Tyr-Cys]-Val-OH (SEC. ID. N.º 7)	1083,298
8	H-Asp-ciclo[Pen-Phe-DNal(2)-Orn-Tyr-Cys]-Val-OH (SEC. ID. N.º 8)	1083,298
9	H-Asp-ciclo[Pen-Phe-D(α-Me)Trp-Orn-Tyr-Cys]-Val-OH (SEC. ID. N.º 9)	1087,282
10	H-Asp-ciclo[Pen-Phe-DTrp (Me)-Orn-Tyr-Cys]-Val-OH (SEC. ID. N.º 10)	1087,282
11	H-Asp-ciclo[Pen-Phe-DTrp(CHO)-Orn-Tyr-Cys]-Val-OH (SEC. N.º 11)	1101,298

Actividad biológica

Los péptidos cíclicos de la presente invención se analizaron en ensayos de enlace y funcionales tal como se describe a continuación.

Ensayos de enlace

Se realizaron todos los experimentos en membranas obtenidas a partir de células estables CHO-K1 que expresaban el receptor de la UT humana recombinante. El radioligando utilizado para los experimentos de competición fue la [¹²⁵I]urotensina II. Se determinó el enlace no específico en presencia de 1 mM de hU-II sin marcar. En este ensayo de enlace, la urotensina-II humana presentó una afinidad de K_i = 1,8 nM (nanomolar), mientras que el compuesto obtenido como en el ejemplo 1 y analizado en las mismas condiciones descritas anteriormente presentó un valor de afinidad expresado como pK_i = 8,3.

Ensayo funcional

La actividad biológica de dichos péptidos de fórmula (I) se analizó utilizando el ensayo con la aorta torácica aislada de rata (Camarda, V. *et al. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* (2002) 365, 141). Se extirpó la aorta torácica de machos de rata albina (Wistar) y se retiraron los tejidos circundantes: a partir de cada vaso, se preparó una banda cortada helicoidalmente y, a continuación, se cortó en dos bandas paralelas. Se retiró el endotelio y se dispusieron las preparaciones en baños orgánicos de 5 ml llenos con una disolución de Krebs-Henseleit normal oxigenada. La activi-

dad motora de las bandas se registró isotónicamente (carga 5 mN). Se realizó una curva acumulada de concentración-respuesta para la hU-II en una de las dos bandas, que sirvió de control.

La otra banda recibió el péptido antagonista que se estaba examinando y, tras un período de incubación de 30 minutos, se administró acumulativamente. Se expresó la actividad antagonista en pKB (logaritmo negativo de la constante de disociación del antagonista; Kenakin, T. P. *Pharmacologic analysis of drugreceptor interaction* ["Análisis farmacológico de la interacción de los receptores de fármacos"], 3ª ed. Lippincott-Raven, Philadelphia, PA, 1997).

Se demostró que el péptido de fórmula (I), preparado tal como se describe en el ejemplo 1 y analizado en dichas condiciones, era un potente antagonista en el receptor de la urotensina-II humana, con un valor pKb de 8,3. Este valor es aproximadamente 70 veces superior si se compara con otros compuestos antagonistas en el receptor de la urotensina-II descritos hasta la fecha en las publicaciones.

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

REIVINDICACIONES

1. Péptidos cíclicos de fórmula general (I):

5 X-ciclo[Pen-A-B-C-D-Cys]-Y (I)

En la que:

10 X se selecciona de entre el grupo que consiste en H, Ac, H-Asp, Ac-Asp, H-Phe, H-D-Phe y H-Glu-Thr-Pro-Asp,

Y se selecciona de entre el grupo que consiste en OH, NH₂, Val-OH, y Val-NH₂,

15 A y D, iguales o distintos entre sí, se seleccionan de entre el grupo que consiste en Phe, D-Phe, Tyr y D-Tyr,

B se selecciona de entre el grupo que consiste en D-Trp, D-(α -Me)Trp, D-Trp (Me), D-Trp (CHO), D-Nal(1) y D-Nal(2);

20 C se selecciona de entre el grupo que consiste en Lys, Asp, Glu, Orn, Cit, Dap y (p-amino)Phe;

o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

25 2. Péptidos cíclicos de fórmula (I) según la reivindicación 1, en los que C se selecciona de entre el grupo que consiste en Lys, Orn, y (p-amino) Phe.

3. Péptidos cíclicos de fórmula (I) según la reivindicación 1, en los que B es D-Trp y C es Orn.

30 4. Péptidos cíclicos de fórmula (I) según la reivindicación 1, en los que X es H-Asp, Y es Val-OH, B es D-Trp, y C es Orn.

5. Péptidos cíclicos de fórmula (I) según la reivindicación 1, seleccionados de entre los siguientes compuestos:

H-Asp-ciclo[Pen-Phe-DTrp-Orn-Tyr-Cys]-Val-OH	(SEC. ID. N.º 1)
35 Ac-ciclo[Pen-Phe-DTrp-Orn-Tyr-Cys]-NH ₂	(SEC. ID. N.º 2)
H-Glu-Thr-Pro-Asp-ciclo[Pen-Phe-DTrp-Orn-Tyr-Cys]-Val-OH	(SEC. ID. N.º 3)
40 H-Asp-ciclo[Pen-DPhe-DTrp-Orn-Tyr-Cys]-Val-OH	(SEC. ID. N.º 4)
H-Asp-ciclo[Pen-Phe-DTrp-Orn-DTyr-Cys]-Val-OH	(SEC. ID. N.º 5)
H-Asp-ciclo[Pen-Phe-DTrp-Lys-Tyr-Cys]-Val-OH	(SEC. ID. N.º 6)
45 H-Asp-ciclo[Pen-Phe-DNal(1)-Orn-Tyr-Cys]-Val-OH	(SEC. ID. N.º 7)
H-Asp-ciclo[Pen-Phe-DNal(2)-Orn-Tyr-Cys]-Val-OH	(SEC. ID. N.º 8)
50 H-Asp-ciclo[Pen-Phe-D-(α -Me)Trp-Orn-Tyr-Cys]-Val-OH	(SEC. ID. N.º 9)
H-Asp-ciclo[Pen-Phe-D-Trp(Me)-Orn-Tyr-Cys]-Val-OH	(SEC. ID. N.º 10)
55 H-Asp-ciclo[Pen-Phe-D-Trp(CHO)-Orn-Tyr-Cys]-Val-OH	(SEC. ID. N.º 11).

6. Reactivo para la caracterización farmacológica del receptor de la urotensina-II humana que comprende por lo menos un péptido cíclico de fórmula general (I) según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

60 7. Composición farmacéutica que comprende como principio activo por lo menos un péptido cíclico de fórmula general (I) según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, que comprende opcionalmente además excipientes y/o diluyentes farmacéuticamente aceptables.

65 8. Utilización de los péptidos cíclicos de fórmula general (I) según cualquiera de las reivindicaciones 1-5, para la preparación de composiciones farmacéuticas útil para el tratamiento de procesos patológicos relacionados con desequilibrio de la urotensina-II.

ES 2 346 223 T3

9. Utilización de los péptidos cíclicos de fórmula (I) según la reivindicación 8, en la que dichos procesos patológicos se seleccionan de entre el grupo que consiste en la hipertensión, una arritmia cardíaca, un ataque al corazón, una angina de pecho, una isquemia miocárdica y una reestenosis.

- 5 10. Utilización de los péptidos cíclicos de fórmula general (I) según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, como reactivos para la caracterización farmacológica de receptor de la urotensina-II humana.

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

ES 2 346 223 T3

LISTA DE SECUENCIAS

<110> Novellino, Ettore
Grieco, Paolo
5 Rovero, Paolo
<120> péptidos cíclicos que actúan como antagonistas de la urotensina-II
<130> 4501 PTWO
<150> FI2003A000238
10 <151> 2003-09-11
<160> 11
<170> PatentIn version 3.1
15 <210> 1
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
20 <220>
<223> Péptido cíclico
<220>
25 <221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> X es penicilamina
<220>
30 <221> DISULFURO
<222> (2)..(7)
<223> disulfuro cíclico
<220>
35 <221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> aminoácido que presenta la configuración D
40 <220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (5)..(5)
<223> X es ornitina
45 <400> 1
Asp Xaa Phe Trp Xaa Tyr Cys Val
50 1 5
<210> 2
<211> 7
55 <212> PRT
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> Péptido cíclico
60 <220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
65 <223> X es penicilamina
<220>
<221> MISC_FEATURE

ES 2 346 223 T3

<222> (3)..(3)
 <223> aminoácido que presenta la configuración D
 <220>
 5 <221> DISULFURO
 <222> (1)..(6)
 <223> disulfuro cíclico
 <220>
 10 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> ACETILACIÓN
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (4)..(4)
 20 <223> X es ornitina
 <400> 2
 Xaa Phe Trp Xaa Tyr Cys Val
 25 1 5
 <210> 3
 <211> 11
 30 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 35 <223> Péptido cíclico
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (5)..(5)
 40 <223> X es penicilamina
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 45 <222> (8)..(8)
 <223> X es ornitina
 <220>
 <221> DISULFURO
 50 <222> (5)..(10)
 <223> disulfuro cíclico
 <220>
 <221> MOD_RES
 55 <222> (7)..(7)
 <223> ACETILACIÓN
 60 <400> 3
 Glu Thr Pro Asp Xaa Phe Trp Xaa Tyr Cys Val
 1 5 10
 65 <210> 4
 <211> 8
 <212> PRT

ES 2 346 223 T3

<213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> péptido cíclico
 5 <220>
 <221> DISULFURO
 <222> (2)..(7)
 10 <223> disulfuro cíclico
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (2)..(2)
 15 <223> X es penicilamina
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (5)..(5)
 20 <223> X es ornitina
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 25 <222> (4)..(4)
 <223> aminoácido que presenta la configuración D

 <400> 4
 30 Asp Xaa Phe Trp Xaa Tyr Cys Val
 1 5

 <210> 5
 35 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 40 <220>
 <223> péptido cíclico
 <220>
 <221> DISULFURO
 45 <222> (2)..(7)
 <223> disulfuro cíclico
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 50 <222> (2)..(2)
 <223> X es penicilamina
 <220>
 55 <221> MISC_FEATURE
 <222> (5)..(5)
 <223> X es ornitina
 <220>
 60 <221> MISC_FEATURE
 <222> (4)..(4)
 <223> aminoácido que presenta la configuración D
 65

ES 2 346 223 T3

<400> 5

Asp Xaa Phe Trp Xaa Tyr Cys Val

5 1 5

<210> 6

<211> 8

<212> PRT

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> péptido cíclico

15 <220>

<221> DISULFURO

<222> (2)..(7)

<223> sulfuro cíclico

20 <220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)

25 <223> X es penicilamina

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (4)..(4)

30 <223> aminoácido que presenta la configuración D

<400> 6

Asp Xaa Phe Trp Lys Tyr Cys Val

35 1 5

<210> 7

40 <211> 8

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

45 <223> péptido cíclico

<220>

<221> DISULFURO

<222> (2)..(7)

50 <223> disulfuro cíclico

<220>

<221> MISC_FEATURE

55 <222> (2)..(2)

<223> X es penicilamina

<220>

<221> MISC_FEATURE

60 <222> (4)..(4)

<223> X es 3-(1-naftil)alanina

<220>

65 <221> MISC_FEATURE

<222> (5)..(5)

<223> X es ornitina

ES 2 346 223 T3

<220>
 <221> MISC-FEATURE
 <222> (4)..(4)
 5 <223> aminoácido que presenta la configuración D
 <400> 7
 10 Asp Xaa Phe Xaa Xaa Tyr Cys Val
 1 5
 <210> 8
 <211> 8
 15 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 20 <223> péptido cíclico
 <220>
 <221> DISULFURO
 <222> (2)..(7)
 25 <223> disulfuro cíclico
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 30 <222> (4)..(4)
 <223> aminoácido que presenta la configuración D
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 35 <222> (2)..(2)
 <223> X es penicilamina
 <220>
 40 <221> MISC_FEATURE
 <222> (4)..(4)
 <223> X es 3-(2-naftil)alanina
 <220>
 45 <221> MISC_FEATURE
 <222> (5)..(5)
 <223> X es ornitina
 50 <400> 8
 Asp Xaa Phe Xaa Xaa Tyr Cys Val
 1 5
 55 <210> 9
 <211> 8
 <212> PRT
 60 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> péptido cíclico
 <220>
 65 <221> DISULFURO
 <222> (2)..(7)

ES 2 346 223 T3

<223> disulfuro cíclico
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 5 <222> (2)..(2)
 <223> X es penicilamina
 <220>
 10 <221> MISC_FEATURE
 <222> (5)..(5)
 <223> X es ornitina
 <220>
 15 <221> MISC_FEATURE
 <222> (4)..(4)
 <223> aminoácido que presenta la configuración D
 20 <400> 9
 Asp Xaa Phe Trp Xaa Tyr Cys Val
 1 5
 25 <210> 10
 <211> 8
 <212> PRT
 30 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> péptido cíclico
 <220>
 35 <221> DISULFURO
 <222> (2)..(7)
 <223> disulfuro cíclico
 40 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (2)..(2)
 <223> X es penicilamina
 45 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (5)..(5)
 <223> X es ornitina
 50 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (4)..(4)
 55 <223> aminoácido que presenta la configuración D
 <400> 10
 Asp Xaa Phe Trp Xaa Tyr Cys Val
 60 1 5
 <210> 11
 <211> 8
 65 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

ES 2 346 223 T3

<220>
 <223> péptido cíclico
 <220>
 5 <221> DISULFURO
 <222> (2)..(7)
 <223> disulfuro cíclico
 <220>
 10 <221> MISC_FEATURE
 <222> (2)..(2)
 <223> X es penicilamina
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (5)..(5)
 <223> X es ornitina
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (4)..(4)
 25 <223> aminoácido que presenta la configuración D
 <400> 11
 30 Asp Xaa Phe Trp Xaa Tyr Cys Val
 1 5
 35
 40
 45
 50
 55
 60
 65