



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 305 204**

51 Int. Cl.:
A61K 47/48 (2006.01)
A61P 23/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Número de solicitud europea: **02704883 .4**
86 Fecha de presentación : **22.02.2002**
87 Número de publicación de la solicitud: **1397161**
87 Fecha de publicación de la solicitud: **17.03.2004**

54 Título: **Compuestos constituidos por una molécula analgésica asociada a un vector.**

30 Prioridad: **23.02.2001 FR 01 02504**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
01.11.2008

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
01.11.2008

73 Titular/es: **SYNT:EM**
Parc Scientifique, Georges Besse
30000 Nîmes, FR

72 Inventor/es: **Temsamani, Jamal;**
Rees, Anthony, R. y
Clair, Philippe

74 Agente: **Elzaburu Márquez, Alberto**

ES 2 305 204 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

Compuestos constituidos por una molécula analgésica asociada a un vector.

5 El presente invento se refiere a compuestos constituidos por una molécula analgésica vectorizada mediante su unión a un vector de manera que dicha molécula analgésica atraviesa la barrera hematoencefálica, de modo que tiene una utilización de dichos compuestos para la preparación de medicamentos útiles para el tratamiento del dolor.

10 La morfina constituye uno de los compuestos más utilizados en el tratamiento de los dolores de media y alta intensidad. Desgraciadamente, el tratamiento con morfina va frecuentemente acompañado por efectos indeseables tales como: euforia o somnolencia, depresión respiratoria, inhibición del tránsito intestinal, náuseas, vómitos y sobretodo síndromes de dependencia e inducción de tolerancia (Cherny y otros, 1996). Tras su administración en animales o en pacientes, la morfina experimenta un efecto importante de primer paso hepático, lo cual tiene por consecuencia una biodisponibilidad baja y variable según la vía de administración. La morfina experimenta principalmente una
15 glucuronidación enantioselectiva catalizada por la enzima UDP-glucuroniltransferasa (UGT) y el hígado aparece como el sitio principal de su biotransformación. Uno de los principales derivados de la morfina es su metabolito, la morfina 6-glucurónido (M6G).

20 Este metabolito posee también una actividad analgésica. Estudios de unión ligando-receptor a los opiáceos realizados *in vitro* han mostrado que la M6G se une a los receptores opioides y que es de 3 a 5 veces menos afin a los receptores μ que la morfina (Christensen y Jorgensen 1987, Frances y otros, 1992). Los receptores μ son de dos tipos: receptores μ_1 de muy alta afinidad y débil capacidad, y receptores μ_2 de baja afinidad y fuerte capacidad (Pasternak y Wood, 1986). La unión a los receptores μ_1 implica una reacción analgésica de tipo supraespinal y la disminución del ciclo de renovación de la acetilcolina, mientras que la unión a los receptores μ_2 produce una reacción analgésica
25 de tipo espinal y es responsable de la depresión respiratoria, de la inhibición del tránsito intestinal y de más signos asociados a la dependencia.

30 La morfina y su metabolito activo, la M6G, deben franquear la barrera hematoencefálica (BHE) antes de distribuirse en el cerebro, lugar de acción principal de sus efectos analgésicos. La morfina es una base en la que el pKa se sitúa entre 8 y 9, por tanto débilmente ionizada a pH sanguíneo, y por tanto la penetración cerebral a estado descrita como una simple difusión. Su metabolito, la M6G, es un ácido (pKa entre 2 y 3), fuertemente ionizada a un pH sanguíneo. A causa de su hidrofilia, la penetración de la M6G es muy limitada en el cerebro.

35 Ha sido demostrado que la administración intracerebroventricular, a igual dosis, de morfina y de M6G produce un efecto analgésico que es de 50 a 100 veces más importante para la M6G que para la morfina (Pasternak y otros, 1987; Frances y otros, 1982; Satín y otros 1995). Por el contrario, mediante inyección sistémica, las dos moléculas tienen aproximadamente la misma actividad analgésica. Estos resultados indican claramente que la penetración de la M6G en el cerebro está muy limitada con respecto a la de la morfina.

40 La barrera hematoencefálica está constituida por células endoteliales que son un obstáculo, de diversas maneras, para las moléculas que intentan franquearlas. Ellas constituyen una barrera física representada por las uniones estrechas que se forman entre ellas e impiden todo paso por la vía paracelular y hace por tanto que la actividad sea más débil. Todo esto limita fuertemente el pase de las moléculas del plasma hacia el espacio extracelular cerebral.

45 Así, en el marco de sus trabajos de investigación, la solicitante ha puesto en evidencia que los vectores, como los péptidos lineales derivados de los péptidos naturales tales como la Protegrina y la Taquiplesina transportan moléculas activas a través de la BHE. La Protegrina y la Tachiplesina son péptidos naturales tales que la protegrina y la taquiple-
50 sina transportan moléculas activas a través de la BHE. La Protegrina y la Taquiplesina son péptidos naturales en los que la estructura es del tipo horquilla mantenida por puentes disulfuro. Estos puentes juegan un papel importante en la actividad citolítica observada sobre células humanas. La reducción irreversible de estos puentes permiten obtener péptidos lineales, no citotóxicos, que tienen la capacidad de atravesar rápidamente las membranas de las células de mamíferos mediante un mecanismo pasivo que no necesita de un receptor de membrana.

55 Los trabajos y resultados concernientes a estos péptidos lineales y su utilización como vectores de moléculas activas a través de la barrera hematoencefálica han sido descritos en las solicitudes de patente francesa N° 98/15074 depositada el 30 de Noviembre de 1998 y N° 99/02938 depositada el 26 de Noviembre de 1999 por la solicitante.

60 La solicitud de patente PCT WO 0032236 muestra un aumento de la actividad analgésica de la delargina vectorizada con ayuda de SynB1 y ensaya el conjugado de SynB3 con la doxorubicina.

65 El artículo de Rouselle C y otros ("New Advances in the transport of doxorubicin through the Blood-Brain Barrier by a peptide vector-mediated strategy", Molecular Pharmacology, vol 578, n° 4, abril 2000 (2000-04), páginas 679-686, ISSN: 0026-895X) describe que la doxorubicina conjugada con SynB1 atraviesa la barrera hematoencefálica.

El artículo de Derossi D y otros ("Trojan Peptides: The penetrating system for intraocular delivery", Trends in Cell Biology, vol 8, febrero de 1998 (1998-02), páginas 84-87, ISSN: 0982-8924) describe otros péptidos.

ES 2 305 204 T3

La solicitud de patente PCT WO 9907728 describe conjugados con péptidos antibióticos, en el que un péptido designado SM2195 corresponde a SynB3.

La solicitud de patente PCT WO 00 32237 describe el mismo péptido acoplado a la doxorubicina.

El artículo de Rouselle Christophe y otros (Enhanced delivery of doxorubicin into the brain via a peptide-vector-mediated strategy: Saturation kinetics and specificity- Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, vol. 296 n° 1, Enero 2001 (2001-01) páginas 124-131, ISSN: 0022-3565) describe el transporte aumentado del conjugado SynB3 y de la doxorubicina a través de la barrera hematomeningeal.

El presente invento intenta proporcionar un medicamento analgésico que presente menos efectos secundarios que la morfina. Este objetivo es obtenido según el invento gracias a un conjugado de la morfina-6-glucuronido, metabolito de la morfina, con el péptido SynB3, que es un péptido vector lineal derivado del péptido antibiótico.

De manera preferente, el vector capaz de vectorizar dicha molécula analgésica a través de la barrera hematoencefálica es un péptido lineal derivado de la familia de la Protegrina o de la Taquiplesina.

Se entiende por péptido derivado de la familia de la Protegrina todo péptido que responda a la fórmula siguiente:



Y por péptido derivado de la familia de la Taquiplesina todo péptido que responda a la fórmula II siguiente:



En las que:

- los grupos B, idénticos o diferentes, representan un residuo de ácido aminado cuya cadena lateral lleva un grupo básico, y

los grupos X, idénticos o diferentes, representan un residuo de ácido aminado alifático o aromático

o dichos péptidos de fórmulas (I) o (II), bajo la forma retro, constituidos por ácidos aminados de configuración D y/o L, o un fragmento de estos constituido por una secuencia de al menos 5 y preferiblemente de al menos 7 ácidos aminados sucesivos de péptidos de fórmulas (I) o (II).

A título de ejemplo de los derivados de la morfina, se pueden citar los que tienen un actividad analgésica pero que, en tanto que tales, no atraviesan la barrera hematoencefálica, como los metabolitos de la morfina y notablemente la M6G.

Preferentemente, la molécula analgésica utilizada en el marco del presente invento es la M6G.

Las posiciones de unión para la molécula analgésica pueden ser a nivel de los extremos N-terminal o C-terminal o bien al nivel de cadenas laterales del péptido vector.

Grupos funcionales tales como -OH, -SH, -COOH, -NH₂ pueden estar naturalmente presentes o pueden ser introducidos, bien sobre el vector, bien sobre la molécula analgésica, bien sobre los dos.

La unión entre el vector y la molécula analgésica puede ser realizada por todo medio de unión aceptable tenida cuenta de la naturaleza química y del tamaño. Tanto del vector como de la molécula analgésica. Las uniones pueden ser covalente, hidrófobas o iónicas, separables o no separables en los medios fisiológicos o en el interior de las células.

Esta unión entre el vector y la molécula analgésica puede ser efectuadas de manera directa o indirecta.

Cuando la unión es efectuada de manera indirecta, se puede utilizar ventajosamente un agente de unión. A título de ejemplo no limitante, agentes de unión utilizables en el marco del invento, se pueden citar agentes bi- o multifuncionales que contienen grupos alquilo, arilo, aralquilo o peptídico, ésteres, aldehídos o ácidos de alquilo, arilo o aralquilo, grupos anhídridos, sulfhidrilo, o carboxilos tales como los derivados del ácido maleimil benzoico, del ácido maleimil propiónico y los derivados succinimidilo, los grupos derivados del bromuro o cloruro de cianógeno, carbonildiimidazol, ésteres de succinimida o de halógenos sulfónicos.

Ventajosamente, se utilizan uniones que implican al menos un puente disulfuro, los cuales se caracterizan por su estabilidad en el plasma tras la inyección del compuesto, después una vez que los compuestos del invento han atravesado la barrera hematoencefálica, dicho puente disulfuro es reducido liberando la molécula analgésica activa. La unión puede ser efectuada en cualquier parte del vector.

ES 2 305 204 T3

El compuesto analgésico vectorizado está constituido por un derivado de la morfina acoplado por su posición 6 al vector.

Más preferiblemente, cuando la molécula analgésica es la morfina, el vector se fija a nivel de la posición 6 de dicha molécula de morfina.

Aún más preferible, cuando la molécula analgésica es la morfina-6-glucurónido, el vector es fijado a nivel del ácido carboxílico del residuo glucurónido de dicha molécula de morfina-6-glucurónido.

El presente invento tiene también por objeto la utilización de dichos compuestos vectorizados de una molécula analgésica en una composición farmacéutica para la preparación de un medicamento útil para el tratamiento del dolor.

De preferencia, la composición farmacéutica se presenta bajo una forma apropiada para una administración por vía sistémica, por vía parenteral, por vía oral, por vía rectal, por vía nasal, por vía transdérmica, por vía pulmonar.

El invento tiene igualmente por objeto un método de tratamiento del dolor que consiste en administrar a un paciente una composición farmacéutica que comprende al menos un compuesto vectorizado constituido por una molécula analgésica unida a un vector, siendo dicho vector un derivado de la familia de la Protegrina o de la Taquiplesina.

Las figuras presentadas en el anexo ilustran diferentes resultados obtenidos por la solicitante como resultado de los trabajos experimentales que le han permitido obtener los compuestos vectorizados del invento:

- la figura 1 representa esquemáticamente la síntesis química de un compuesto vectorizado de la morfina 6-glucurónido (M6G), metabolito de la morfina.

- la figura 2 ilustra los resultados de un estudio comparativo de la eficacia analgésica entre el compuesto 1 (morfina) y el compuesto 2 (M6G vectorizado).

- la figura 3 ilustra los resultados de un estudio comparativo de la eficacia analgésica entre el compuesto 1 (morfina), el compuesto 2 (M6G vectorizado) y el compuesto 3 (M6G libre).

- la figura 4 ilustra un estudio comparativo de la penetración en la BHE de la M6G libre (compuesto 1) con la de la M6G vectorizada.

- la figura 5 ilustra los resultados de un estudio comparativo del efecto de la morfina, de la M6G vectorizada y de la M6G libre sobre las depresiones respiratorias. Los compuestos han sido utilizados a la dosis ED50 (Figura 5, A), a la dosis 5x ED50 (Figura 5, B) y a la dosis 10x ED50 (Figura 5, C).

El presente invento será mejor comprendido con la lectura de la descripción de los trabajos experimentales efectuados en el marco de las investigaciones llevadas a cabo por la solicitante.

I. Preparación de los compuestos a ensayar

I.1 Síntesis química de la M6G vectorizada

a) Síntesis del péptido vector

El péptido SynB3 está ensamblado sobre la fase sólida según una estrategia Foc/tu, cortado Y desprotegido por el ácido trifluoroacético, después purificado mediante cromatografía de alta presión preparativa en fase inversa y liofilizada. Su pureza (>95%) y su identidad son confirmadas mediante HPLC analítica y mediante espectrometría de masas.

b) Acoplamiento de un eslabón CyA-3MP sobre el péptido vector

El péptido SynB3 de secuencia RRLSYSRRRF (SEQ ID N° 1 en el listado de secuencias en el anexo) (un equivalente molar) es incubado durante 30 minutos con un equivalente molar del reactivo SPDP (S-piridinio succinimidilmercaptopropionato) en el disolvente DMF (Dimetilformamida) en presencia de dos equivalente molares de DIEA (Diisopropiletilamina). El péptido resultante Py-SS-3MP-SynB3 es precipitado con éter, después purificado mediante cromatografía de alta presión preparativa en fase inversa y liofilizada. Su pureza (>95%) y su identidad son confirmadas mediante HPLC analítica y mediante espectrometría de masas.

Un equivalente molar del péptido Py-SS-3MP-SynB3 es incubada durante 30 minutos con cuatro equivalente molares de CyA, HCl (Clorhidrato de cisteamina) en el disolvente DMF (Dimetilformamida) en presencia de cuatro equivalentes molares de DIEA. El péptido resultante, CyA-SS-3MP-SynB3 es precipitado con éter, después purificado mediante cromatografía de alta presión preparativa en fase inversa y liofilizada. Su pureza (>95%) y su identidad son confirmadas mediante HPLC analítica y por espectrometría de masas.

ES 2 305 204 T3

c) Acoplamiento de M6G sobre CyA-SS-3MP-SynB3

Un equivalente molar de M6G es incubado con dos equivalentes molares de PyBOP, en presencia de cuatro equivalentes molares de DIEA en el disolvente DMF.

Un equivalente molar de péptido CyA-SS-3MP-SynB3 disuelto en DMF es añadido enseguida a la mezcla de reacción, después incubado durante 30 minutos. El producto formado M6G-CyA-SS-3MP-SynB3 es precipitado con éter, después purificado mediante cromatografía de alta presión preparativa en fase inversa y liofilizada. Su pureza (>95%) y su identidad son confirmadas mediante HPLC analítica y mediante espectrometría de masas.

1.2 Compuestos a ensayar

La tabla 1 a continuación recapitula los diferentes compuestos ensayados.

TABLA 1

Compuesto	
Compuesto 1	M6G
Compuesto 2	M6G-S-S-RRLSYSRRRF
Compuesto 3	Morfina

II. Comparación del efecto analgésico

II.1. Ensayo utilizado: ensayo de la placa calefactora

a) Condiciones experimentales

El ensayo de la placa calefactora es realizado siguiendo el protocolo experimental descrito por Eddy NB y otros. Synthetic analgesics. 1- Methadone isomers and derivatives J. Pharmacol. Exp. Ther. 1950 (98): 121-137.

El ratón depositado sobre una placa calentada a 55°C manifiesta el dolor lamiéndose las patas anteriores o más raramente mediante un salto. El tiempo de reacción es entonces anotado. Los compuestos estudiados son administrados por vía intravenosa al nivel de la vena caudal del ratón a una dosis de 1 mg/kg. El tiempo de reacción es entonces medido tras 5 a 90 minutos (los resultados presentados en la figura 2) y de 5 a 180 minutos (resultados presentados en la figura 3).

b) Resultados

En un primer momento, los inventores han comparado la actividad analgésica del compuesto M6G libre con respecto al del compuesto obtenido mediante vectorización de la M6G con el péptido SynB3. Los resultados obtenidos son representados en la figura 2 y muestran claramente que el efecto analgésico de la M6G vectorizada (compuesto 2) es bastante más significativo que el obtenido con la M6G libre (compuesto 1). Este efecto analgésico es lento y dura aún tras 90 minutos después de la administración.

En otra experiencia, el efecto de la M6G vectorizada (compuesto 2) ha sido comparado con el de la morfina (compuesto 3) a la misma dosis de 1 mg/kg. Los resultados de este experimento (Figura 3) muestran claramente que la M6G vectorizada (compuesto 2) tiene un efecto analgésico bastante más importante que el de la morfina y esté a un tiempo que va hasta 120 minutos tras la administración.

11.2. Ensayo utilizado: Ensayo "Tail Flick" (movimiento de cola)

a) Condiciones experimentales

La cola del ratón es colocada delante de una fuente de rayos infrarrojos. La luz es focalizada sobre la superficie ventral de la cola a modo de producir una temperatura de la superficie de 55°C. Cuando el ratón mueve la cola, el tiempo de reacción es entonces medido. Los compuestos estudiados son administrados por vía subcutánea. Tres medidas son echas antes de la administración del producto para tener un tiempo de base. El porcentaje de ratones analgésicos se representa a continuación por el número de ratones que tienen un tiempo de reacción que es menos del doble del tiempo de base dividido por el número de ratones totales. La dosis ED50 representa la concentración que da el 50% de ratones analgésicos.

ES 2 305 204 T3

b) Resultados

En un primer tiempo, hemos comparado el efecto analgésico de compuestos de morfina o M6G libre con respecto al del compuesto obtenido mediante vectorización de la M6G con el péptido SynB3, este por dos vías de administración: intravenosa o subcutánea. Los autores han determinado en el modelo "Tail Flick", que para cada producto, la ED50 representa la dosis que da un efecto analgésico en el 50% de los ratones. La tabla 2 muestra que la dosis necesaria para inducir un efecto analgésico en el 50% de los ratones es bastante más débil para la M6G vectorizada (compuesto 2) que para la morfina (compuesto 3) o el M6G libre (compuesto 1). Esto indica claramente que el efecto analgésico de la M6G vectorizada es bastante más significativo que el de los otros productos ensayados.

TABLA 2

Comparación de la actividad analgésica

	Vía de admón.	Morfina ($\mu\text{mol/Kg}$)	M6G ($\mu\text{mol/Kg}$)	M6G vectorizado ($\mu\text{mol/Kg}$)
ED50	Subcutánea	11,6	6,6	1,7
	intravenosa	15,4	>5,7	1,08

En un segundo tiempo, los autores han medido la duración del efecto analgésico en estos ratones. La tabla 3 muestra que no solamente la M6G vectorizada tiene un efecto más analgésico sino que este efecto dura más largo tiempo que el de la M6G o la morfina.

TABLA 3

Comparación del tiempo del efecto analgésico

	Vía de administración	morfina	M6G	M6G vectorizado
Duración del efecto	Subcutánea	90 min	150 min	300 min
	Intravenosa	60 min	90 min	180 min

III. Comparación de la afinidad a los receptores

a) Condiciones experimentales

Los homogenados de tejido son preparados a partir de cerebros de ternera (tálamo para μ_1 y μ_2 y el córtex frontal para delta). [3H] [D-Ala², D-Leu⁵] encefalina (DADLE) (0,7 nM) es incubada con 3 ml de homogenado de tejido (15 mg de tejido por ml) en presencia de 10 nM de [D-Pen², D-Pen⁵] encefalina (DPDPE) y de concentraciones crecientes de M6G libre o vectorizada. En estas condiciones, se observa una unión específica en los sitios de unión del μ_1 . Para el receptor μ_2 , [D-Ala², MePhe⁴, Gly (ol)⁵]encefalina (DAMGO) (1 nM) es incubado con 3 ml de homogenado de tejido en presencia de 5 nM (D-Ser², Leu⁵)encefalina-Thr6 (DSLET) y de concentraciones crecientes de M6G libre o vectorizada. Para el receptor delta, el tejido es incubado con la [3H][D-Pen², D-Pen⁵] encefalina en presencia de M6G libre o vectorizada. La unión no específica es determinada gracias a la adición a los ligandos marcados de 1 μM de levalorfan.

b) Resultados

La M6G es un metabolito activo de la morfina que se une a lo receptores μ con un muy alta afinidad. Los autores han comparado la afinidad de la M6G libre (compuesto 1) con la de la M6G vectorizada (compuesto 2) con los receptores μ_1 , μ_2 y delta.

ES 2 305 204 T3

Los resultados muestran que el hecho de añadir un péptido de unión y un péptido vector (SynB3) a la M6G aumenta su afinidad alrededor de 3 veces al receptor $\mu 1$ y de 10 veces al receptor $\mu 2$. Por el contrario, la unión al receptor delta permanece la misma.

TABLA 4

Afinidad a los receptores $\mu 1$ y $\mu 2$ (K_i expresada en nM)

compuesto	$\mu 1$	$\mu 2$	delta
M6G (compuesto 1)	2,67	5,82	23
M6G-S-S.SynB3 (compuesto2)	0,99	0,60	19

IV. Comparación de la penetración en el cerebro

a) Condiciones experimentales: *Perfusión cerebral in situ*

Los ratones son anestesiados (20-25 g, Iffa-Credo; L'Arbresle, Francia). Tras la exposición de la carótida común, la arteria carótida extrema derecha es unida a nivel de la bifurcación con la carótida interna y la carótida común se une entre el corazón y el sitio de implantación del catéter (catéter polietileno, ID:0,76). Este, previamente relleno con una disolución de heparina (100 unidades/ml) es insertada en la carótida común. Los ratones son perfundidos con el tampón de perfusión (128 mM NaCl, 24 mM NaHCO₃, 4,2 mM KCl, 2,4 mM NaH₂PO₄, 1,5 mM CaCl₂, 0,9 mM MgSO₄ y 9 mM de D-Glucosa). Este tampón es filtrado y después hecho burbujear por una mezcla que contiene 95% O₂/5% CO₂ a modo de mantener el pH próximo a 7,4 y de alimentar el cerebro con oxígeno en el curso de la perfusión.

Los ratones son perfundidos con el tampón que contiene la M6G libre (compuesto 1, actividad específica 84 mCi/mg) o la M6G vectorizada (compuesto 2; actividad específica 14,3 mCi/mg). Justo antes del inicio de la perfusión, el corazón se para mediante la sección de los ventrículos, esto a fin de evitar en el curso de la perfusión un reflujo del perfundido. El hemisferio derecho es entonces perfundido a una velocidad de 10 ml/min durante 60 segundos tras lo cual el ratón es decapitado. La cantidad de radioactividad en el hemisferio derecho es entonces medida y el índice de penetración cerebral (K_{in}) es calculado.

b. Resultados

En este estudio, los autores han comparado la penetración en la BHE de la M6G libre (compuesto 1) con la de la M6G vectorizada (compuesto 2). Los dos productos han sido perfundidos en el cerebro del ratón. Tras 60 segundos de perfusión en el tampón, la penetración de los productos es estimada por la constante de flujo o K_{in} en $\mu\text{l}/\text{seg}/\text{g}$. La figura 4 muestra que la vectorización de la M6G por el vector SynB3 aumenta su paso en el cerebro alrededor de 100 veces tras una perfusión de 60 segundos en el tampón.

V. Comparación de la depresión respiratoria

a. Condiciones experimentales

La depresión respiratoria ha sido estudiada en ratas. El producto es inyectado en los animales por vía subcutánea y tras un cierto tiempo, una alícuota de sangre es tomada de la arteria femoral vía un catéter implantado previamente. Durante el estudio, los animales son colocados en un lugar tranquilo. Tras la toma sanguínea, la saturación del oxígeno (SO₂) y la presión de CO₂ (PCO₂) son medidas. Los valores de SO₂ son medidos en % de O₂. Las ratas han sido inyectadas con 3 dosis de cada producto que corresponde a ED50, 5x ED50, 10x ED50, (ver Tabla 5). Tras el tiempo que va desde 0 a 150 min (30, 60, 90, 120, 150 min), la sangre es tomada y la saturación en O₂ (SO₂) y la presión de CO₂ son medidas.

ES 2 305 204 T3

TABLA 5

Dosis utilizadas para el estudio de la depresión respiratoria

	ED50 ($\mu\text{mol/kg}$)	5x ED50 ($\mu\text{mol/kg}$)	10x ED50 ($\mu\text{mol/kg}$)
Morfina	13,1	66	131
M6G	8,7	43,7	87
M6G vectorizada	4,3	21,8	43

b. Resultados

Aunque la morfina sea la sustancia más utilizada en el tratamiento de dolores de media y gran intensidad, su utilización induce una depresión respiratoria en los pacientes. Hemos por tanto comparado el efecto de M6G vectorizada a la de la morfina y de la M6G libre.

A la dosis ED50 (Figura 5), ningún efecto ha sido observado para la M6G vectorizada o la M6G. Los autores han observado, sin embargo, una pequeña disminución entre 30 y 90 min de la saturación en O₂ para la morfina.

A las dosis 5x ED50 y 10x ED50 (Figura 5 B y C), la morfina y la M6G han inducido una disminución muy significativa de la saturación de oxígeno. La tasa de oxígenos descendió hasta aproximadamente 50% entre 30 y 90 min. Por el contrario, para el M6G vectorizados, ninguna disminución notable ha sido obtenida.

A la dosis 10x ED50 (Figura 5 C), la fuerte disminución observada con la M6G libre provocó la muerte de algunos animales al tiempo de 60 min.

Los resultados presentados en la figura 5 demuestran que el producto vectorizado M6G tiene no sólo un efecto analgésico mejor que la M6G libre o la morfina sino que permite también disminuir de forma significativa los efectos secundarios asociados con la morfina.

REIVINDICACIONES

5 1. Un compuesto **caracterizado** porque está constituido por una molécula analgésica que es morfina 6-glucurónido (M6G) unida a un vector capaz de transportar dicha molécula analgésica a través de la barrera hematoencefálica, siendo dicho vector un péptido lineal de secuencia RRLSYSRRRF (SynB3, SEQ ID N°: 1 en el listado de secuencias).

10 2. Un compuesto según la reivindicación 1, **caracterizado** porque las posiciones de unión de la molécula analgésica sobre el vector se sitúa al nivel de los extremos N-terminal o C-terminal o bien al nivel de las cadenas laterales de dicho vector.

15 3. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 ó 2, **caracterizado** porque la unión entre la molécula analgésica y el vector está efectuado en medio de un grupo funcional presente de manera natural o introducido bien sobre el vector, bien sobre la molécula analgésica, bien sobre los dos.

20 4. Un compuesto según la reivindicación 3, **caracterizado** porque el grupo funcional es elegido entre los grupos: -OH, -SH, -COOH, o -NH₂.

25 5. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, **caracterizado** porque la unión entre la molécula analgésica y el vector es una unión elegida entre una unión covalente, una unión hidrofóbica, una unión iónica, una unión separable o una unión no separable en medios fisiológicos o en el interior de las células.

30 6. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, **caracterizada** porque la unión entre la molécula analgésica y el vector es una unión directa.

35 7. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, **caracterizado** porque la unión entre la molécula analgésica y el vector es una unión indirecta llevada a cabo por medio de un agente de unión.

40 8. Un compuesto según la reivindicación 7, **caracterizado** porque el agente de unión es elegido entre agentes bi- o multifuncionales que contienen grupos alquilo, arilo, aralquilo o peptídico, ésteres, aldehídos o ácidos de alquilo, de arilo o de aralquilo, grupos anhídridos, sulfhidrilos, o carboxilos tales como los derivados del ácido maleimil benzoico, del ácido maleimil propiónico y derivados succinimidil, grupos derivados de bromuro o cloruro de cianógeno, carbonildiimidazol, ésteres de succinimida o halógenos sulfónicos.

45 9. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, **caracterizado** porque la unión entre la molécula analgésica y el vector implica por lo menos un puente disulfuro.

50 10. Un compuesto según la reivindicación 1, **caracterizado** en que el vector está fijado a un nivel de ácido carboxílico de un residuo glucurónico de dicha molécula de morfina 6-glucurónido.

55 11. La utilización de un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en una composición farmacéutica para la preparación de un medicamento útil para el tratamiento del dolor.

60 12. La utilización según la reivindicación 11, **caracterizada** porque la composición farmacéutica se presenta sobre una forma apropiada para una administración por vía sistémica, por vía parenteral, por vía oral, por vía rectal, por vía nasal, por vía transdérmica, por vía pulmonar.

65

70

75

80

Figura 1

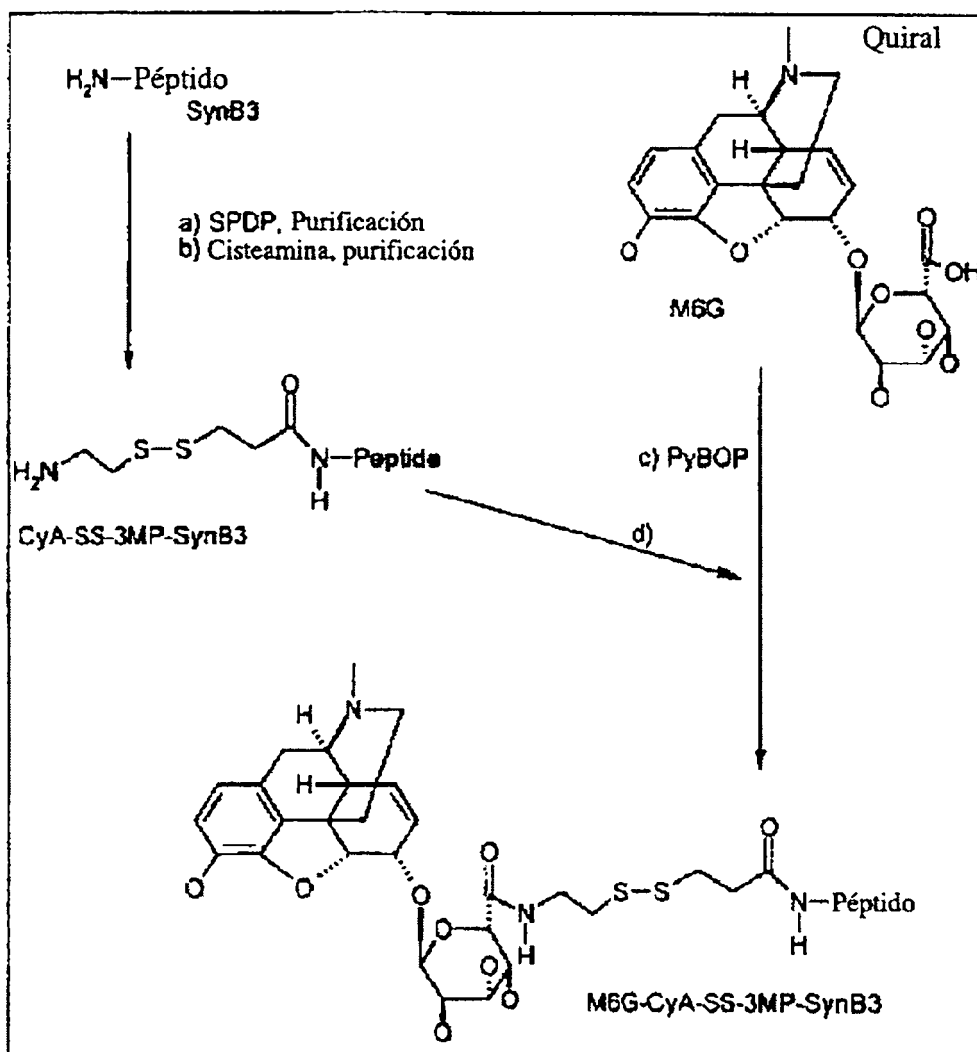


Figura 2

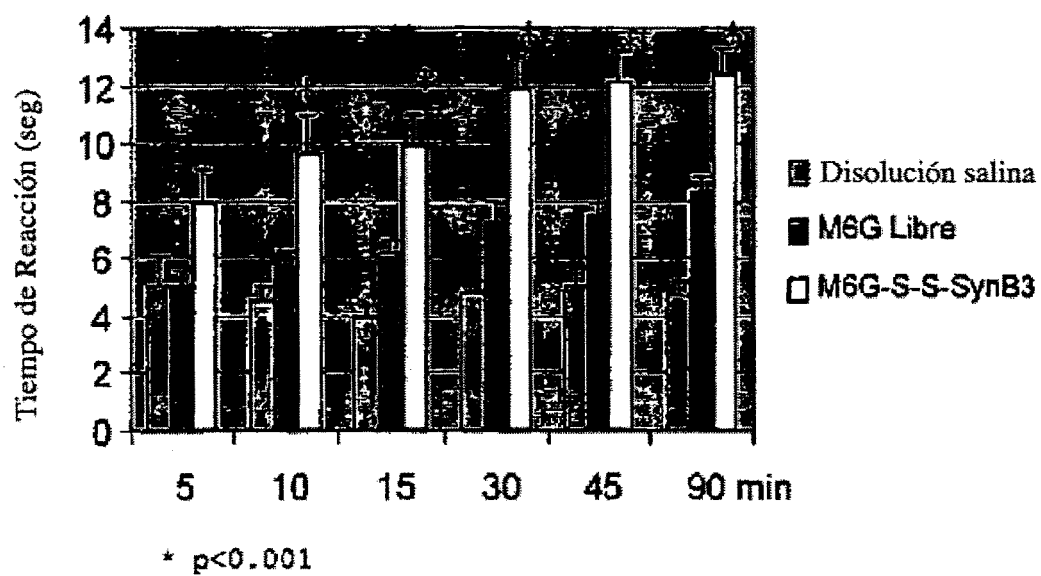


Figura 3

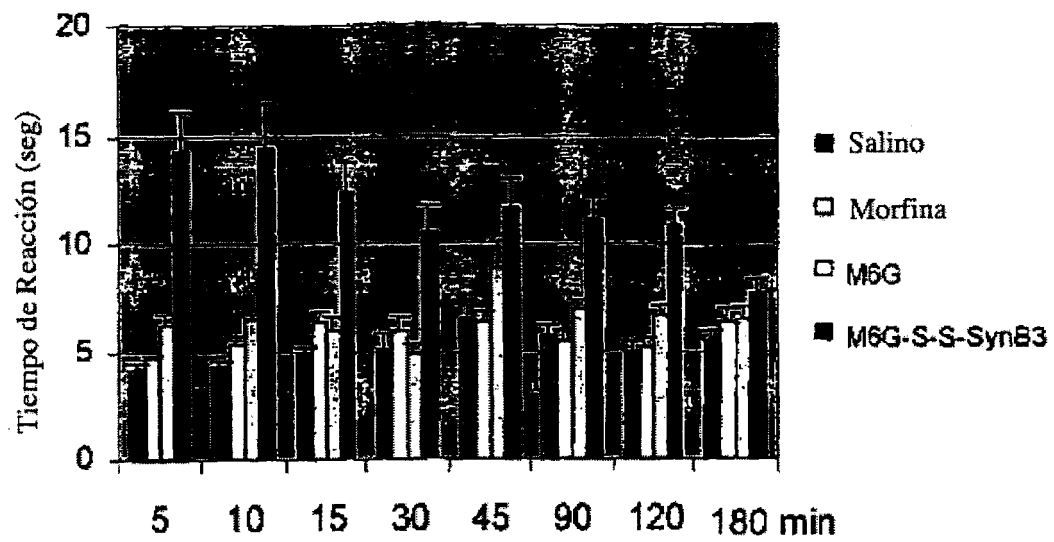


Figura 4

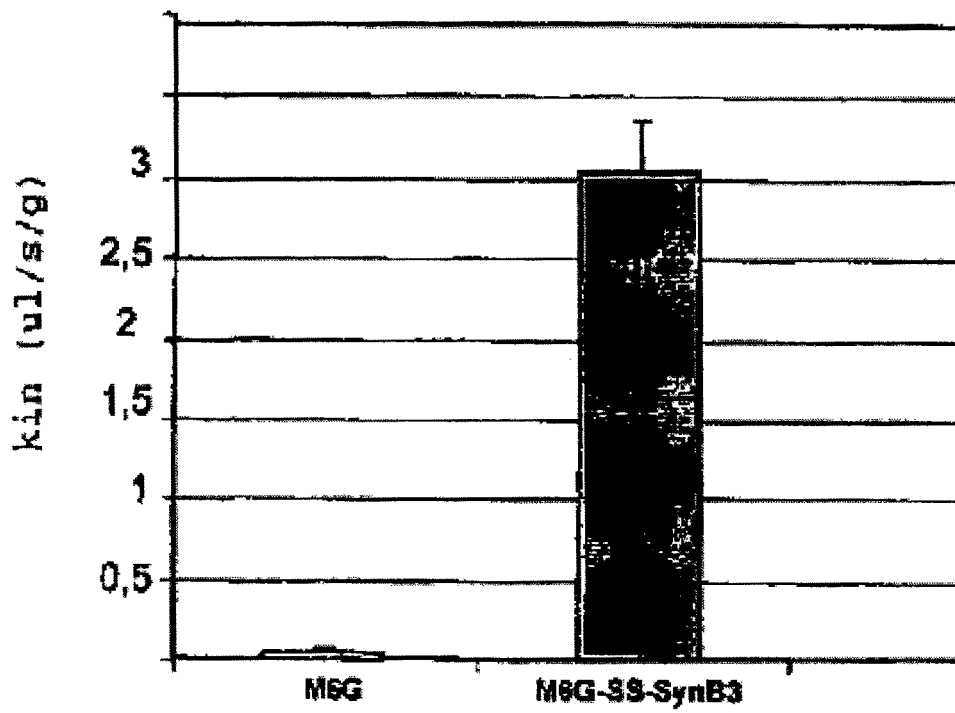
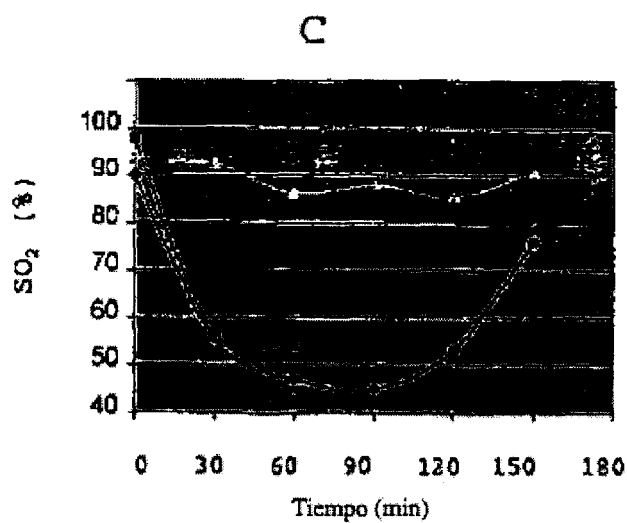
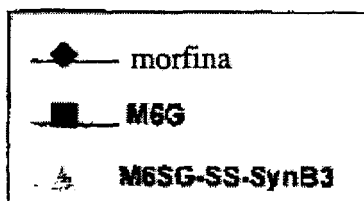
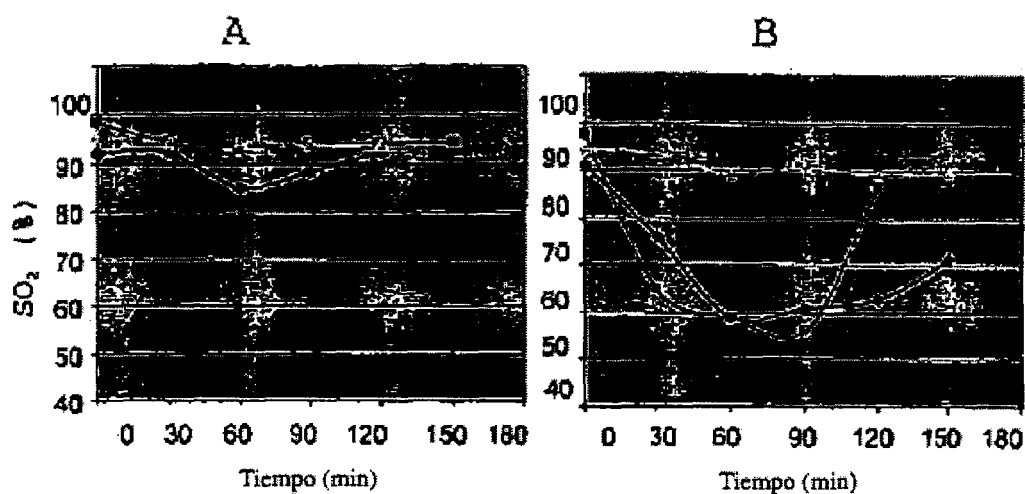


Figura 5



ES 2 305 204 T3

LISTA DE SECUENCIAS

<110> SYNT:EM

5 <120> COMPUESTOS CONSTITUIDOS POR UNA MOLÉCULA ANALGÉSICA UNIDA A UN VECTOR CA-
PAZ DE VECTORIZAR DICHA MOLÉCULA A TRAVÉS DE LA BARRERA HEMATOENCEFÁLICA Y
COMPOSICIONES FARMACÉUTICAS QUE LOS CONTIENEN.

<130> 12054PCT

10 <140> PCT/FR02/XXXXXX
<141> 2002-02-22

15 <150> FR 01/02504
<151> 2001-02-23

<160> 1

20 <170> PatenIn version 3.1

<210> 1

25 <211> 10
<212> PRT
<213> sin identificar

30 <220>
<221> PÉPTIDO
<222> (1)..(10)
<223> Péptido SynB3

35 <400> 1

40 **Arg Arg Leu Ser Tyr Ser Arg Arg Arg Phe**
1 5 10

45

50

55

60

65