



19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 295 879**

51 Int. Cl.:  
**A61K 47/48** (2006.01)  
**C07D 473/00** (2006.01)  
**C07H 15/252** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Número de solicitud europea: **04741542 .7**  
86 Fecha de presentación : **10.05.2004**  
87 Número de publicación de la solicitud: **1624897**  
87 Fecha de publicación de la solicitud: **15.02.2006**

54 Título: **Profármacos para HIV escindibles mediante CD26.**

30 Prioridad: **08.05.2003 GB 0310593**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**16.04.2008**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**16.04.2008**

73 Titular/es: **Tibotec Pharmaceuticals Ltd.**  
**Eastgate Village**  
**Eastgate, Little Island, Co Cork, IE**

72 Inventor/es: **De Kock, Herman Augustinus;**  
**Wigerinck, Piet Tom Bert Paul y**  
**Balzarini, Jan**

74 Agente: **Justo Vázquez, Jorge Miguel de**

ES 2 295 879 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

Profármacos para HIV escindibles mediante CD26.

5 **Campo de la invención**

La invención se refiere a profármacos de compuestos inhibidores de HIV en los que el compuesto inhibidor de HIV es liberado o activado mediante proteólisis de un resto péptido. La invención se refiere también a métodos para aumentar la absorción oral, modificar la unión de proteínas en suero, la penetración en la barrera de sangre del cerebro o la solubilidad y biodisponibilidad de los compuestos inhibidores de HIV.

**Antecedentes de la invención**

Las técnicas modernas de descubrimiento de fármacos (por ejemplo, química combinatorial, selección farmacológica de rendimiento elevado o diseño de fármacos basado en la estructura) están proporcionando moléculas de fármacos muy específicos y potentes. Sin embargo, es bastante común que estas nuevas estructuras químicas tengan propiedades fisicoquímicas y biofarmacéuticas desfavorables. A parte de esto, durante el desarrollo de nuevos agentes terapéuticos, los investigadores normalmente apuntan a las propiedades farmacológicas y/o biológicas, con una menor preocupación por las propiedades fisicoquímicas. Sin embargo, las propiedades fisicoquímicas (constante de disociación, solubilidad, coeficientes de partición o estabilidad) de una molécula de fármaco tienen un efecto significativo sobre su comportamiento farmacéutico y biofarmacéutico. Por tanto, las propiedades fisicoquímicas necesitan ser determinadas y modificadas, si es necesario, durante el desarrollo de los fármacos. Además de ello, las propiedades fisicoquímicas de muchas moléculas de fármacos existentes que ya están en el mercado no son óptimas.

En la actualidad, los candidatos de fármacos a menudo son desechados debido a aspectos de su escasa solubilidad en agua o absorción inadecuada, dejando sin realizar incontables avances médicos. Todavía son introducidos otros productos en el mercado, pero nunca realizan su potencialidad comercial completa debido a problemas de seguridad y eficacia. Los profármacos tienen la capacidad potencial de superar los dos desafíos. La tecnología explota enzimas endógenas en cuanto a la bioconversión selectiva del profármaco en la forma activa del fármaco. Esta tecnología tiene la capacidad de mantener vivos nuevos candidatos de fármacos prometedores a través del desarrollo, y mejorar la seguridad y la eficacia de los productos de fármacos existentes.

Los profármacos son mayoritariamente derivados inactivos de una molécula de fármaco que requiere un biotransformación química o enzimática con el fin de liberar el fármaco parental activo en el cuerpo. Los profármacos están diseñados para superar una propiedad no deseable de un fármaco. Como tal, esta tecnología puede ser aplicada para mejorar las propiedades fisicoquímicas, biofarmacéuticas y/o farmacocinéticas de diversos fármacos. Habitualmente, el profármaco como tal es biológicamente inactivo. Por lo tanto, los profármacos necesitan ser eficazmente convertidos en los fármacos parentales para alcanzar una eficacia pronunciada tan pronto como haya sido alcanzada la diana del fármaco.

En general, los profármacos están diseñados para mejorar la penetración de un fármaco a través de membranas biológicas con el fin de obtener una absorción mejorada del fármaco, prolongar la duración de la acción de un fármaco (liberación lenta del fármaco parental a partir de un profármaco, metabolismo de primer paso disminuido del fármaco), para dirigir a diana la acción del fármaco (por ejemplo, dirigir a diana al cerebro o tumores), para mejorar la solubilidad acuosa y la estabilidad de un fármaco (preparaciones i.v., gotas oculares, etc.), para mejorar el suministro tópico de fármacos (por ejemplo, suministro dérmico y ocular de fármacos), para mejorar la estabilidad química/enzimática de un fármaco (por ejemplo, péptido), o para disminuir los efectos secundarios de los fármacos.

Han sido desarrolladas ya muchas tecnologías que dependen del tipo de fármaco que tiene que ser convertido. Estas tecnologías de profármacos incluyen la química cíclica de profármacos para péptidos y peptidomiméticos, química de fosfonoximetilo (POM) para la solubilización de aminas terciarias, fenoles y alcoholes con impedimento estérico y la esterificación en general. También, se emprenden estrategias de dirección a diana acoplando grupos escindibles mediante enzimas específicas como el péptido deformilasa de bacterias, que escinde los grupos formilo del N terminal de los péptidos o PSA (antígeno específico de la próstata) usadas para dirigir a diana el cáncer de próstata.

El acoplamiento de péptidos o aminoácidos a un agente terapéutico ya ha sido propuesto en el pasado por varias razones. En el campo de antígenos antisentido, han sido conjugados oligonucleótidos o intercaladores a péptidos con el fin de aumentar la absorción celular de los agentes terapéuticos. Sin embargo, estos oligonucleótidos e intercaladores no tienen que ser liberados después de la penetración celular, y no pueden ser considerados como profármacos. Un ejemplo de aminoácido que se acopla a un compuesto terapéutico es Valgancyclovir, el profármaco de éster L-valílico de gancyclovir, que es usado para la prevención y el tratamiento de infecciones por citomegalovirus. Después de una administración oral, el profármaco es rápidamente convertido en gancyclovir por las esterasas intestinales y hepáticas. Recientemente, han sido investigados profármacos de alanina y lisina de benzotiazoles anti-tumorales. Ya ha sido demostrado el transporte de membranas mediado por portadores péptidos de profármacos de ésteres de aminoácidos de análogos de nucleósidos [Han y cols. Pharm. Res (1998) 15: 1154-1159; Han y cols. Pharm. Res (1998) 15: 1382-1386]. Se ha mostrado de hecho que la biodisponibilidad oral de los fármacos puede ser mantenida por derivados de profármacos de aminoácidos que contienen un aminoácido, preferentemente en la configuración L. La L-Valina parece que tiene la combinación óptima de longitud de cadena y ramificación el átomo de carbono  $\beta$  del aminoácido

para la absorción intestinal. El hPEPT-1 se ha encontrado que está implicado en la trayectoria de absorción primaria del suministro sistémico aumentado de profármacos de ésteres de L-valina. Recientemente, se ha mostrado que el transportador de hPEPT-1 necesita interaccionar óptimamente con un NH<sub>2</sub> libre, un grupo carbonilo y una entidad lipófila, y puede formar unos pocos puentes de H adicionales con su molécula diana. Los ésteres de análogos de nucleósidos unidos a L-valina pueden cumplir estos requisitos para una eficaz actividad del sustrato de hPEPT-1 [Friedrichsen y cols. Eur. J. Pharm. Sci. (2002) 16:1-13]. Sin embargo, la técnica anterior para mejorar la solubilidad y la biodisponibilidad revela solamente profármacos de aminoácidos (solamente un aminoácido acoplado) de moléculas orgánicas pequeñas, con lo que el aminoácido está acoplado principalmente a través de enlaces éster, ya que son fácilmente convertidos de nuevo en el agente terapéutico libre por las esterasas.

Los documentos de la técnica anterior describen el tratamiento de profármacos mediante un cierto número de proteasas, como aminopeptidasas (solicitud PCT WO01/6845) y aminotripeptidasa (solicitud PCT WO02/00263). La solicitud PCT WO 99/672678 describe una estrategia de dirección a diana para inhibidores CD26/DPPIV que resultan activos tras un tratamiento por medio de CD26/DPPIV y posteriormente inactivan la proteasa.

Sin embargo, todavía existe una necesidad de nuevas tecnologías alternativas y mejores de profármacos y esta necesidad es previsible que aumente, ya que la química combinatorial y la selección de rendimiento elevado continua produciendo un enorme número de nuevos compuestos con un peso molecular elevado, un elevado log P [coeficiente de partición] o una escasa solubilidad en agua.

### Sumario de la invención

La invención proporciona una nueva tecnología de profármacos que puede ser aplicada para mejorar la solubilidad y/o la biodisponibilidad de un compuesto terapéutico. La invención comprende la derivación de compuestos terapéuticos con el fin de mejorar su solubilidad y/o biodisponibilidad. La invención proporciona conjugados de compuesto terapéuticos con un resto péptido en los que dicho conjugados es escindible por dipeptidil-peptidasa, como CD26. Esta tecnología puede ser adicionalmente usada para modular la unión a proteínas de un compuesto terapéutico D y para dirigir a diana sitios específicos en un mamífero. Los compuestos terapéuticos específicos son compuestos inhibidores del HIV, en particular compuestos inhibidores de HIV proteasa, más en particular compuestos de fórmula (Ia).

La presente invención proporciona una nueva tecnología de profármacos y nuevos profármacos con el fin de modular la solubilidad, la unión a proteínas y/o la biodisponibilidad de un fármaco. En la presente invención, los profármacos son conjugados de un compuesto terapéutico D y un péptido, en los que el conjugado es escindible por dipeptidil-peptidasas, más preferentemente por dipeptidil-dipeptidasa IV. Adicionalmente, la presente invención proporciona un método para producir dichos profármacos. La invención proporciona también una tecnología de profármacos para dirigir a diana más selectivamente los fármacos, para modificar, particularmente aumentar el suministro cerebral y linfático de fármacos y/o para extender las semividas de los fármacos en plasma.

En un aspecto, la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende un profármaco de un compuesto terapéutico D. El compuesto terapéutico D no es un péptido ni una proteína, e incluye un grupo amino terminal primario o secundario capaz de unirse con el grupo carboxilo de un aminoácido. Alternativamente, el compuesto terapéutico D está unido a un conector A<sub>m</sub> que comprende un grupo amino primario o secundario capaz de unirse con el grupo carboxilo de un aminoácido. El profármaco está caracterizado porque dicho profármaco comprende dicho compuesto terapéutico D unido a un oligopéptido, y dicho oligopéptido consiste en una estructura general H-[X-Y]<sub>n</sub>, en la que n es entre 1 y 5, y en la que X e Y se escogen en cada repetición [X-Y] independientemente uno de otro y de forma independiente de las otras repeticiones y en las que X es un aminoácido e Y es un L-aminoácido seleccionado entre el grupo que consiste en prolina, alanina, hidroxiprolina, dihidroxiprolina, ácido tiazolidinocarboxílico (tioprolina), deshidroprolina, ácido pipecólico (L-homoprolina), ácido azetidincarboxílico, ácido aziridinocarboxílico, glicina, serina, valina, leucina, isoleucina y treonina y en el que la unión entre el grupo carboxi terminal de H-[X-Y]<sub>n</sub> y el grupo amino de D o su conector A<sub>n</sub> se produce a través de una amida. El péptido H-[X-Y]<sub>n</sub> tiene un grupo amino libre terminal, es decir, un grupo NH<sub>2</sub> sin modificar. En una realización, el compuesto terapéutico es un fármaco antiviral, en particular un inhibidor de HIV proteasa, más en particular un compuesto de fórmula (Ia) y el profármaco tiene la fórmula (I).

En una realización, el péptido tiene entre dos y cinco repeticiones escindibles de CD26. En otra realización, el oligopéptido escindible por CD26 H-[X-Y]<sub>n</sub> es un tetrapéptido o hexapéptido en el que al menos un X es un aminoácido hidrófobo o aromático o, alternativamente, en el que al menos un X es un aminoácido neutro o ácido o, alternativamente, en el que al menos un X es un aminoácido básico. En una realización particular, el oligopéptido H-[X-Y]<sub>n</sub> un tetrapéptido o hexapéptido seleccionado entre el grupo de Val-Y-[X-Y]<sub>1-2</sub>, más en particular Val-Pro-[X-Y]<sub>1-2</sub> con el fin de tener una buena absorción intestinal, seguido de una liberación lenta o rápida del compuesto terapéutico combinada con modificaciones de la solubilidad, dependiendo de la elección de X e Y. En una realización, el tetra- o hexapéptido tiene una estructura general Val-Y-[X-Y] o Val-Y-[X-Y]<sub>2</sub>.

Según una realización Y es prolina o hidroxiprolina o dihidroxiprolina o alanina. Según otra realización, X se selecciona entre valina, ácido aspártico, serina, lisina, arginina, histidina, fenilalanina, isoleucina o leucina. Según otra realización, X se selecciona entre los aminoácidos ácido aspártico o ácido glutámico con el fin de tener una escisión lenta, a partir de los aminoácidos con carga positiva arginina, histidina o lisina con el fin de tener una liberación rápida del compuesto terapéutico D.

El oligopéptido  $[X-Y]_n$  puede ser acoplado a través de una unión por amida a un grupo amino situado en una molécula/átomo orgánico como un grupo aromático de un compuesto terapéutico, que se sitúa en un hidrato de carbono o que se sitúa en un nucleósido o un grupo heterocíclico o que se sitúa en un grupo alquilo, alquenilo o alquinilo o se sitúa en una molécula/átomo no orgánico.

5 En una realización, el oligopéptido  $H-[X-Y]_n$  es acoplado a través de un enlace de amida a un grupo amino que se sitúa en un grupo aromático de un compuesto terapéutico, que se sitúa un hidrato de carbono o se sitúa en un nucleósido. Alternativamente, el oligopéptido  $H-[X-Y]_n$  está indirectamente acoplado al compuesto terapéutico D a través de un conector que comprende un grupo amino. Este conector puede tener la estructura general de un oligopéptido  $A_n$  en el que n varía en el intervalo entre 1 y 15, más particularmente, entre 1 y 3 o  $m = 1$ . A en la estructura  $A_m$  puede ser cualquier aminoácido. Según una realización,  $m = 1$  y A = valina. Un profármaco con este conector tiene una estructura general  $H-[X-Y]_n-A_m-D$ . El oligopéptido  $A_m$  o el aminoácido A está unido en su grupo amino terminal a través de un enlace de amida al oligopéptido  $H-[X-Y]_n$ . El oligopéptido  $A_m$  o el aminoácido A está unido en su grupo carboxi terminal a través de un enlace de amida o éster al compuesto terapéutico D. Las composiciones farmacéuticas pueden comprender profármacos de fármacos para la prevención o el tratamiento de una infección viral. En una realización, el compuesto terapéutico es un fármaco antiviral, en particular, un inhibidor de HIV proteasa, más en particular un compuesto de fórmula (Ia) y el profármaco tiene la fórmula (I).

20 En otro aspecto, la invención se refiere a un constructo de profármaco de un compuesto terapéutico D, en el que dicho compuesto de terapéutico no es un péptido ni una proteína y en el que el compuesto terapéutico D incluye un grupo amino primario o secundario capaz de unirse con el grupo carboxilo de un aminoácido en el que el compuesto terapéutico D está unido a un conector que comprende un grupo amino primario o secundario capaz de unirse con el grupo carboxilo de un aminoácido, y dicho profármaco consiste en dicho compuesto terapéutico D conectado a un oligopéptido con una estructura general  $H-[X-Y]_n$  y está caracterizado porque  $n = 1$  a 5, en la que X e Y se escogen en cada repetición de  $[X-Y]_n$  independientemente uno de otro e independientemente de otras repeticiones y en que cuando X es un aminoácido e Y es un L-aminoácido seleccionado entre el grupo que consiste en prolina, alanina, hidroxiprolina, dihidroxiprolina, ácido tiazolidinocarboxílico (tioprolina), deshidroprolina, ácido pipercolico (L-homoprolina), ácido azetidincarboxílico, ácido aziridinocarboxílico, glicina, serina, valina, leucina, isoleucina y treonina y en el que la unión entre el grupo carboxi terminal de  $H-[X-Y]_n$  y el grupo amino de D se produce a través de una amida. En una realización, el compuesto terapéutico es un fármaco antiviral, en particular un inhibidor de HIV proteasa, más en particular un compuesto de fórmula (Ia) y el profármaco tiene la fórmula (I).

35 Según una realización este profármaco, tras la activación, no tiene ningún efecto inhibidor sobre la enzima CD26/DPPV. En una realización, el oligopéptido  $H-[X-Y]_n$  es un tetrapéptido o hexapéptido en el que al menos un X es un aminoácido hidrófobo o aromático, en el que alternativamente un X es un aminoácido neutro o ácido o, alternativamente, en el que al menos un X es un aminoácido básico. En una realización particular, el oligopéptido  $X-[X-Y]_n$  está constituido por repeticiones de  $[X-Y]_n$  seleccionadas entre el grupo de Val-Pro, Asp-Pro, Ser-Pro, Lys-Pro, Arg-Pro, His-Pro, Phe-Pro, Ile-Pro, Leu-Pro, Val-Ala, Asp-Ala, Ser-Ala, Lys-Ala, Arg-Ala, His-Ala, Phe-Ala, Ile-Ala y Leu-Ala. Según una realización, Y es prolina o hidroxiprolina o dihidroxiprolina o alanina.

40 Según una realización, el oligopéptido  $[X-Y]_n$  es acoplado a través de una construcción de amida a un grupo amino que se sitúa en un grupo aromático de un compuesto terapéutico, que se sitúa en un hidrato de carbono o se sitúa en un nucleósido. Alternativamente, el oligopéptido  $[X-Y]_n$  está indirectamente acoplado al compuesto terapéutico D a través de un conector que comprende un grupo amino. Este conector comprende una molécula orgánica (es decir, alquil-amino, un péptido o una combinación de ambos). En una realización el número m de aminoácidos en el conector entre el oligopéptido escindible por CD26 y el compuesto terapéutico D es entre 1 y 15. En una realización particular, este conector puede tener la estructura general de un oligopéptido  $A_m$  en el que m varía en el intervalo entre 1 y 15 y, más particularmente, entre 1 y 3, o  $m = 1$ . A en la estructura  $A_m$  puede ser cualquier aminoácido. Según una realización,  $m = 1$  y A es valina. Un profármaco con este conector tiene una estructura general  $H-[X-Y]_n-A_m-D$ . Según una realización, el profármaco es un profármaco de un compuesto terapéutico para la prevención o el tratamiento de una infección viral. Según otra realización, el profármaco es un profármaco inhibidor de HIV proteasa con una estructura general de fórmula (I).

55 En otro aspecto, la invención se refiere a un método para modular (aumentar o disminuir) la solubilidad en agua y/o la unión de proteínas en plasma y/o la biodisponibilidad de un compuesto terapéutico D acoplando un péptido a dicho compuesto terapéutico, con la que el conjugado resultante es escindible mediante una dipeptidil-peptidasa. Según una realización, la dipeptidil-peptidasa es CD26 y el compuesto terapéutico D no es un péptido ni una proteína, y el compuesto terapéutico D incluye un grupo amino terminal primario o secundario capaz de unirse con el grupo carboxilo de un aminoácido o el compuesto terapéutico D está unido a un conector que comprende un grupo amino primario o secundario capaz de unirse con el grupo carboxilo de un aminoácido, y en el que el oligopéptido consiste en una estructura general  $H-[X-Y]_n$  en la que n es entre 1 y 5 y en la que X e Y se escogen en cada repetición de  $H-[X-Y]_n$  independientemente uno de otro e independientemente de otras repeticiones, y en la que X es un aminoácido e Y es un L-aminoácido seleccionado entre el grupo que consiste en prolina, alanina, hidroxiprolina, dihidroxiprolina, ácido tiazolidinocarboxílico (tioprolina), deshidroprolina, ácido pipercolico (L-homoprolina), ácido azetidincarboxílico, glicina, serina, valina, leucina, isoleucina y treonina y en el que la unión entre el grupo carboxi terminal de  $H-[X-Y]_n$  y el grupo amino de D se produce a través de una amida. Según una realización, el oligopéptido  $H-[X-Y]_n$  es un tetrapéptido o hexapéptido en el que al menos un X es un aminoácido hidrófobo o aromático, en el que alternativamente al menos un X es un aminoácido neutro o ácido o, alternativamente, en el que al menos X es un aminoácido básico. En

una realización, el compuesto terapéutico es un fármaco antiviral, en particular un inhibidor de HIV proteasa, más en particular un compuesto de fórmula (Ia) y el profármaco tiene la fórmula (I).

Otro aspecto de la invención se refiere a un método para producir un profármaco, en el que el profármaco es escindible por medio de un dipeptidil-peptidasa, y el método comprende la etapa de conectar un fármaco D terapéuticamente activo y un péptido con la estructura  $H-[X-Y]_n$  en la que el conjugado resultante es escindible mediante CD26. Según una realización, la dipeptidil-peptidasa es CD26 y el compuesto terapéutico D no es un péptido ni una proteína, y el compuesto terapéutico D incluye un grupo amino terminal primario o secundario capaz de unirse con el grupo carboxilo de un aminoácido o el compuesto terapéutico D esta unido a un conector que comprende un grupo amino primario o secundario capaz de unirse el grupo carboxilo de un aminoácido, y en el que el oligopéptido consiste en una estructura general  $H-[X-Y]_n$  en la que n es entre 1 y 5 y en la que X e Y se escogen en cada repetición de  $[X-Y]$  independientemente uno de otro e independiente de otras repeticiones, y en el que X es un aminoácido e Y es un L-aminoácido seleccionado entre el grupo que consiste en prolina, alanina, hidroxiprolina, dihidroxiprolina, ácido tiazolidinocarboxílico (tioprolina), deshidroprolina, ácido pipercolico (L-homoprolina), ácido azetidincarboxílico, ácido aziridinocarboxílico, glicina, serina, valina, leucina, isoleucina y treonina y en el que la unión entre el grupo carboxi terminal de  $H-[X-Y]_n$  y el grupo amino de D se produce a través de una amida. Según una realización, el oligopéptido  $H-[X-Y]_n$  es un tetrapéptido o hexapéptido en el que al menos un X es un aminoácido hidrófobo o aromático, en el que alternativamente al menos un X es aminoácido neutro o ácido o, alternativamente, en el que al menos un X es un aminoácido básico. En una realización, el compuesto terapéutico es un fármaco antiviral, en particular un inhibidor de HIV proteasa, más en particular un compuesto de fórmula (Ia) y el profármaco tiene la fórmula (I).

En otro aspecto, la presente invención se refiere al uso de un profármaco de un compuesto terapéutico D para la elaboración de un medicamento para el tratamiento o la prevención de una infección viral. El compuesto terapéutico D no es un péptido ni una proteína, y el compuesto terapéutico D incluye un grupo amino terminal primario o secundario capaz de unirse con el grupo carboxilo de un aminoácido en el que el compuesto terapéutico D está unido a un conector que comprende un grupo amino primario o secundario capaz de unirse con el grupo carboxilo de un aminoácido, y caracterizado porque dicho profármaco comprende dicho compuesto terapéutico D conectado a un oligopéptido, y dicho oligopéptido consiste en una estructura general  $H-[X-Y]_n$  y en la que  $n = 1$  a 5, en la que X e Y se escogen en cada repetición de  $[X-Y]_n$  independientemente uno de otro e independientemente de otras repeticiones y en el que X es un aminoácido e Y es un L-aminoácido seleccionado entre el grupo que consiste en prolina, alanina, hidroxiprolina, dihidroxiprolina, ácido tiazolidinocarboxílico (tioprolina), deshidroprolina, ácido pipercolico (L-homoprolina), ácido azetidincarboxílico, ácido aziridinocarboxílico, glicina, serina, valina, leucina, isoleucina y treonina y en el que la unión entre el grupo carboxi terminal de  $H-[X-Y]_n$  y el grupo amino de D se produce a través de una amida. En una realización, el compuesto terapéutico es un fármaco antiviral, en particular un inhibidor de HIV proteasa, más en particular un compuesto de fórmula (Ia) y el profármaco tiene la fórmula (I).

Todavía, otro aspecto de la invención se refiere a un procedimiento de elaboración para la producción de profármacos usando un péptido con la estructura general  $H-[X-Y]_n$  para la preparación de un profármaco escindible por CD26 de un compuesto terapéutico D. El compuesto de terapéutico no es un péptido ni una proteína, y compuesto de terapéutico incluye un grupo amino terminal primario o secundario capaz de unirse con el grupo carboxilo de un aminoácido o, alternativamente, el grupo de terapéutico está unido a un conector que comprende un grupo amino primario o secundario capaz de unirse con el grupo carboxilo de un aminoácido. El profármaco está caracterizado porque dicho profármaco comprende dicho compuesto terapéutico D conectado a un oligopéptido, y dicho oligopéptido consiste en una estructura general  $H-[X-Y]_n$ , en la que n es entre 1 y 5, y en la que X e Y se escogen en cada repetición de  $[X-Y]$  independientemente uno de otro e independiente de las otras repeticiones, y en las que X es un aminoácido e Y es un L-aminoácido seleccionado entre el grupo que consiste en prolina, alanina, hidroxiprolina, dihidroxiprolina, ácidos tiazolidinocarboxílico (tioprolina), deshidroprolina, ácido pipercolico (L-homoprolina), ácido azetidincarboxílico, ácido aziridinocarboxílico, glicina, serina, valina, leucina, isoleucina y treonina y en el que el enlace entre el grupo carboxi terminal de  $H-[X-Y]_n$  y el grupo amino de D o su conector se produce a través de una amida. En una realización, el compuesto terapéutico es un fármaco antiviral, en particular un inhibidor de HIV proteasa, más en particular un compuesto de fórmula (Ia) y el profármaco tiene la fórmula (I).

En una realización, el péptido tiene entre dos y cinco repeticiones escindibles de CD26. En otra realización, número m de aminoácidos en el conector  $A_m$  entre el oligopéptido escindible por CD26 y el compuesto terapéutico es 1 y A es valina. En otra realización el oligopéptido  $H-[X-Y]_n$  es un tetrapéptido o hexapéptido en el que al menos un X es un aminoácido hidrófobo o aromático o, alternativamente, en el que al menos un X es un aminoácido neutro o ácido o, alternativamente, en el que al menos un X es un aminoácido básico. En una realización particular, el oligopéptido  $H-[X-Y]_n$  un tetrapéptido o hexapéptido seleccionado entre el grupo de  $Val-Pro-Y-[X-Y]_{1-2}$ , más en particular  $Val-Pro-[X-Y]_{1-2}$  con el fin de tener una buena absorción intestinal, seguido de una liberación lenta o rápida del compuesto terapéutico dependiendo de la elección de X. Con un constructo de profármaco  $H-[X-Y]_n-D$ , el compuesto terapéutico D tiene un grupo amino primario ( $NH_2$ ) o secundario (NH) que está unido al grupo COOH del aminoácido carboxi-terminal del péptido  $H-[X-Y]_n$ . Cuando el compuesto terapéutico D no tiene ningún grupo  $NH_2$  o NH, o el grupo NH o  $NH_2$  no puede reaccionar (debido, por ejemplo, a un impedimento estérico). El compuesto terapéutico D se puede hacer reaccionar con un conector que después de la reacción tiene un grupo  $NH_2$  o NH, que puede reaccionar con el grupo COOH del aminoácido carboxi terminal del péptido  $H-[X-Y]_n$ .

Según una realización, cada Y es independientemente prolina o hidroxiprolina o dihidroxiprolina o alanina. En una realización, el oligopéptido  $H-[X-Y]_n$  está acoplado a través de un puente de amida a un grupo amino que se sitúa en

un grupo aromático de un compuesto terapéutico, que se sitúa en un hidrato de carbono o se sitúa en un nucleósido. Alternativamente, el oligopéptido  $H-[X-Y]_n$  está indirectamente acoplado al compuesto terapéutico D a través de un conector que comprende un grupo amino. Este conector puede tener la estructura general de un oligopéptido  $A_m$  en el que  $m$  varía en el intervalo entre 1 y 15 y, más particularmente, entre 1 y 3, o  $m = 1$ . A en la estructura  $A_m$  puede ser cualquier aminoácido. Según una realización,  $m = 1$  y A es valina. Un profármaco con este conector tiene una estructura general  $H-[X-Y]_n-A_m-D$ . El oligopéptido  $A_m$  o el aminoácido A está unido en su grupo amino terminal a través de un enlace de amida al oligopéptido  $H-[X-Y]_n$ . El oligopéptido  $A_m$  o el aminoácido A está unido en su grupo carboxi terminal a través de un enlace de amida o éster al compuesto terapéutico D. Las composiciones farmacéuticas pueden comprender profármacos de fármacos para la prevención o el tratamiento de una infección viral. En una realización, el compuesto terapéutico es un fármaco antiviral, en particular, un inhibidor de HIV proteasa, más en particular un compuesto de fórmula (Ia) y el profármaco tiene la fórmula (I).

### Breve descripción de las figuras

La Figura 1 muestra el efecto inhibitor de diferentes concentraciones del dipéptido Val-Pro contra la conversión catalizada por CD26 del sustrato cromóforo GP-pNA (25  $\mu$ M) en GP + pNA a los 5 (barra izquierda), 10 (barra de en medio) o 15 minutos (barra derecha) de reacción. La reacción catalítica de CD26 fue medida registrando el aumento de absorción provocado por la liberación de pNA a 400 nm.

La Figura 2 muestra la conversión del fármaco Val-Pro- PI 1 en PI 1 (inhibidor de HIV proteasa) en función del tiempo. A: CD26; B: suero bovino; C: suero humano (ambos al 10% en PBS).

La Figura 3 muestra la conversión del profármaco Val-Pro-PI 1 en PI 1 (inhibidor de HIV proteasa) en función del tiempo. Figura 3a: suero bovino (2% en PBS), figura 3b: suero humano (2% en PBS).

La Figura 4 muestra el efecto inhibitor (competitivo) de Val-Pro-PI 1 sobre la conversión catalizada por CD26 de GP-pNA en GP + pNA (amarillo).

La Figura 5 muestra el efecto inhibitor (competitivo) de Val-Pro-PI 1 sobre la conversión catalizada por CD26 de GP-pNA en GP + pNA (amarillo) en 2% de suero humano (en PBS).

La Figura 6 muestra el efecto inhibitor (competitivo) de Val-Pro-PI 1 sobre la conversión catalizada por CD26 de GP-pNA en GP + pNA (amarillo) en 2% de suero bovino (en PBS).

### Descripción detallada de la invención

Los términos “profármaco o profármacos”, como se usan en la presente memoria descriptiva, se refieren a derivados mayormente inactivos (o derivados con actividad fuertemente reducida, es decir, menos de 20%, menos de 10% menos de 5% o incluso menos de 1% de actividad residual de la molécula de fármaco sin derivar) de un compuesto terapéutico que requiere una transformación química o enzimática con el fin de liberar el fármaco parental activo. El profármaco de la presente invención tiene una estructura general  $H-[X-Y]_n-D$ . La naturaleza química de este profármaco es explicada en detalle con posterioridad. Los profármacos están diseñados para superar una propiedad no deseable de un fármaco. Como tal, esta tecnología puede ser aplicada para mejorar las propiedades físico-químicas, biofarmacéuticas y/o farmacocinéticas de diversos fármacos. Habitualmente, el profármaco como tal es biológicamente inactivo. Por lo tanto, los profármacos necesitan ser eficazmente convertidos en los fármacos parentales para alcanzar una eficacia pronunciada tan pronto como ha sido alcanzada la diana del fármaco. Esta activación puede ser hecha por medio de enzimas, que están presentes en el cuerpo, y alternativamente las enzimas son conjuntamente administradas con el profármaco.

En general, los profármacos están diseñados para mejorar la penetración de un fármaco a través de membranas biológicas, con el fin de obtener una absorción mejorada del fármaco, prolongar la duración de la acción de un fármaco (liberación lenta del fármaco parental a partir de un profármaco, metabolismo disminuido del primer paso del fármaco), para dirigir la diana de acción del fármaco (por ejemplo, dirigir la diana en el cerebro o tumores), para mejorar la solubilidad acuosa y la estabilidad de un fármaco (preparaciones i.v., gotas oculares, etc.), para mejorar el suministro tópico del fármaco (por ejemplo, suministro dermal y ocular del fármaco), para mejorar la estabilidad química/enzimática de un fármaco (por ejemplo, péptido) o para disminuir los efectos secundarios de fármaco.

La expresión “compuesto terapéutico D”, como se usa en la presente memoria descriptiva, se refiere a cualquier agente que tenga un efecto ventajoso sobre una enfermedad, cualquier agente que se use o vaya hacer usado en el futuro como una terapia para una cierta enfermedad o trastorno. Esto se refiere también a todas las moléculas que están todavía en fase descubrimiento o desarrollo y que no hayan demostrado todavía su eficacia y seguridad. Esto incluye moléculas orgánicas pequeñas, proteínas, péptidos, oligonucleótidos, hidratos de carbono, cadenas carbonadas alifáticas, compuesto aromáticos y análogos y derivados.

El compuesto terapéutico D con un grupo amino (terminal), más en particular un grupo amino primario o secundario, se refiere a compuestos terapéuticos con un grupo amino libre (primario o secundario), a saber un grupo NHR, en el que R puede ser hidrógeno (primario) o cualquier otro grupo químico conocido en la técnica. El grupo amino puede estar acoplado al compuesto terapéutico D a través de un átomo de carbono saturado o insaturado, a un grupo carbo-

nilo, o puede ser parte de otras funcionalidades más amplias (amida, carbamato, etc.) en las que está comprendido el grupo amino, pero el grupo amino en cada circunstancia tiene que ser capaz de reaccionar con un aminoácido con el fin de formar enlaces de amidas estables. En una realización particular, el grupo amino NHR del compuesto terapéutico pertenece al grupo funcional de funciones de aminas y no pertenece a una funcionalidad general más amplia como amidas o carbamatos.

El compuesto terapéutico puede estar unido también a un oligopéptido a través de un conector. Este conector puede tener cualquier estructura orgánica, que incluye aminoácidos, y contiene un grupo NHR como se describió anteriormente.

“CD26”, como se usa en la presente memoria descriptiva, se refiere a dipeptidil peptidasa IV (EC 3.4.14.5) en su forma unida a membrana y libre. Sinónimos de CD26 son DPPIV, DPP4, CD26/DPPIV o ADCP2 (proteína 2 complejante de adenosina desaminasa).

Como se usa en la presente memoria descriptiva, “dipeptidil-peptidasa(s)” se refiere a enzimas con una actividad de dipeptidil aminopeptidasa, es decir, que separan un dipéptido del lado amino-terminal de un lado del sustrato mediante escisión del segundo enlace de amida CO-NH en el sustrato. Otras enzimas distintas de CD26 con una actividad y especificidad proteolíticas comparables a CD26 (es decir, polioligopeptidasas) son denominadas “dipeptidil-peptidasa(s)”. “Dipeptidil-peptidasa IV” se refiere a CD26.

Como se usa en la presente memoria descriptiva, el término “péptido” u “oligopéptido” se refiere a dos o más aminoácidos que están conectados a través de puentes de amidas. Cuando se mencionan conjuntamente con un compuesto terapéutico D, el péptido u oligopéptido se refiere a dos o más aminoácidos que están conectados a través de un enlace amida, originario de un grupo COOH del péptido y un grupo NH<sub>2</sub> o NH del compuesto terapéutico D o un conector unido al compuesto terapéutico. La longitud de un péptido está indicada por numeraciones griegas que preceden a la palabra péptido (dipéptido, tripéptido, tetrapéptido, pentapéptido, hexapéptido, heptapéptido, octapéptido, nonapéptido, decapéptido, etc).

En la presente invención, se proporciona una nueva tecnología de profármacos basada en el acoplamiento de un péptido a un agente terapéutico, con lo que el enlace de amina del conjugado es escindible por medio de una dipeptidil-peptidasa, como CD26. Como tal, la solubilidad, biodisponibilidad y la eficacia del compuesto terapéutico D en general pueden ser moduladas más extensivamente. La glicoproteína CD26 de las superficies de linfocitos pertenece a una clase única de peptidasas asociadas a membranas. Se caracteriza por un conjunto de propiedades funcionales diversas y es idéntica a la dipeptidil-peptidasa IV (DPPIV, EC 3.4.14.5). La DPPIV es un miembro de la familia de prolil oligopeptidasa (POP; EC 3.4.21.26), un grupo de serina proteinasas atípicas capaces de hidrolizar el enlace de prolilo. La CD26 con una longitud de 766 aminoácidos está anclada a la membrana celular bicapa de lípidos mediante un único segmento hidrófobo, y tiene una cola citoplásmica corta de seis aminoácidos [Abbott y cols. *immunoetics* (1994) 40: 331-338]. El anclaje a la membrana está conectado a una región glicosilada extracelular grande, una región con elevado contenido de cisteína y un dominio catalítico C-terminal (Abott y cols. anteriormente citado). La CD26 es fuertemente expresada en células epiteliales (es decir, túbulos proximales de riñón, intestino) y en varios tipos de células endoteliales y fibroblastos así, en subconjuntos de leucocitos [Hegen, M. In: *Leukocyte Typing VIO*. Kishimoto, T., Ed. Garland Publishihg, (1997), pág. 478-481]. La CD26 se produce también como una forma soluble presente en fluidos seminales, plasma y fluido cerebroespinal. Carece de la cola intracelular y la región de transmembrana [De Meester y cols. rev. *Immunol. Today* (199) 20:367-375]. Además de actividad de exopeptidasa, la CD26 se une específicamente a varias proteínas fuera de su sitio de unión al sustrato, es decir, adenosina desaminasa [Trugnan y cols. in: *CELL-Surface Peptidases in Health AND Disease*. Kenny, & Boustead, eds. BIOS, (1997), pág. 203-217], fibronectina [González-Gronow, y cols. *Fibrinolysis* (1996), 10 (Suppl. 3): 32], colágeno [Loster y cols. *Biochem. Biophys. Res Commun.* (1995), 217: 341-348]. La CD26 está dotada de una interesante actividad catalítica de peptidasa (dipeptidilo) y tiene una elevada selectividad por péptidos con una prolina o alanina en la penúltima posición del N terminal de una diversidad de péptidos naturales.

Algunas citoquinas, factores de crecimiento hematopoyéticos, neuropéptidos y hormonas comparten el resto X-pro o X-Ala en su N terminal y se ha mostrado que actúan como sustratos eficaces para la enzima [expuesto por De Meester y cols. *Rev. Immunol. Today* (199) 20:367-375 and Mentlein Regul. Pept. (199) 85:9-24]. La sustancia P es incluso un ejemplo de un péptido natural de 11 aminoácidos que contiene una secuencia Arg-Pro-Lys-Pro [SEQ ID NO:1] en su H terminal y que es escindida por CD26 a un heptapéptido activo mediante la liberación por etapas de Arg-Pro y Lys-Pro [Ahmad y cols. *Pharmacol. Ex. Ther.* (1992), 260: 1257-1261]. La DC26 puede cortar dipéptidos a partir de péptidos naturales muy pequeños [es decir, el pentapéptido enteroestatina (Val-Pro-Asp-Pro-Arg) [SEQ ID NO-2] [Bouras y cols. *Peptides* (1995), 16:399-405] hasta péptidos más grandes [que incluyen las quimioquinas RANTES y SDF-1 $\beta$  y IP-10 (68 a 77 aminoácidos) que contienen respectivamente las secuencias Ser-Pro, Liys-Pro y Val-Pro y sus grupos amino terminales [Oravez y cols. *J. Exp. Med.* (1997), 186: 1865-1872; Proost y cols. *J. Biol. Chem.* (1998), 273: 7222-7222-7227; Ohtsuki y cols. *FEBS Lett* (1998), 431: 236-240; Proost y cols. *FEBS Lett.* (1998), 432: 73-76].

Aunque ha sido observada una especificidad del sustrato relativamente restringida (Pro o Ala penúltimos) para CD26, a veces se han observado también velocidades de escisión inferiores cuando los penúltimos aminoácidos fueron Gly, Ser, Val o Leu en lugar de Pro o Ala (De Meester y cols. anteriormente citado). También, la naturaleza del aminoácido terminal desempeña una función e la eficacia catalítica eventual de CD26. Hay una preferencia decreciente desde

## ES 2 295 879 T3

aminoácidos hidrófobos (es decir, alifáticos: Val, Ile, Leu, Met y aromáticos Phe, Tyr, Trp) a básicos (es decir, Lys, Arg, His) a neutros (es decir, Gly, Ala, Thr, Cys Pro, Ser, Gln, 7 Asn) a ácidos (es decir, Asp, Glu) como el primer aminoácido preferido en el grupo amino terminal para un corte eficaz del péptido por CD26 (De Meester y cols. anteriormente citado). También son reconocidos aminoácidos no naturales. La observación de que se puede producir un doble truncamiento de quimioquina derivada de macrófago (MDC) por CD26, perdiendo así secuencialmente Gly<sup>1</sup>-Pro<sup>2</sup> seguido de Tyr<sup>3</sup>-Gly<sup>4</sup>, sugiere que la actividad del sustrato de CD26 puede ser menos restringida para el Pro o Ala penúltimos que lo generalmente aceptado [Proost, P. y cols. J Biol. Chem. (1999), 274: 3988-3993].

Muchas otras hidrolasas (EC3), más específicamente las peptidasas (EC 3.4) e incluso más específicamente las aminopeptidasas (EC 3.4.11) como la prolil-aminopeptidasa (EC 3.4.11.5) y al X-Pro aminopeptidasa (EC 3.4.11.9) ya han sido identificadas. También, otras dipeptidasas (EC 3.4.13) peptidil-peptidasas (EC 3.4.15) y dipeptidil-peptidasas (EC 3.4.14, este grupo de EC incluye también tripeptidil-peptidasas) existen cercanas a CD 26. La dipeptidil-peptidasa I (EC 3.4.14.1) se produce en el lisosoma y escinde un dipéptido de un péptido con una secuencia de consenso X<sub>1</sub>-X<sub>2</sub>-X<sub>3</sub>, excepto cuando X<sub>1</sub> es Arg o Lys o X<sub>2</sub> o X<sub>3</sub> Pro. La dipeptidil-peptidasa II (EC 3.4.14.2) es una peptidasa lisosomal que tiene un actividad máxima a pH ácido y libera dipéptidos a partir de oligopéptidos (preferentemente tripéptidos) con una secuencia X<sub>1</sub>-X<sub>2</sub>-X<sub>3</sub> en la que X<sub>2</sub> es preferentemente Ala o Pro. La DPP III (EC 3.4.14.4) es una peptidasa citosólica y escinde dipéptidos a partir de un péptido que comprende 4 o más residuos de diptidil-dipeptidasa (EC 3.4.14.6). La X-Pro-dipeptidil-peptidasa (EC 3.4.14.11) es una peptidasa microbiana con una actividad similar a CD26. Algunas de ellas se encuentran en seres humanos y otros mamíferos, mientras que otras son producidas por microorganismos como levaduras y hongos. Difieren en primer lugar en la secuencia de aminoácidos pero también en su especificidad por reconocer secuencias de aminoácidos. Además, la selección en bases de datos con DPPIV puso de manifiesto nuevas dipeptidasas específicas de Prolina (DPP8, DPP9, DPP10) [Qi y cols. Biochem J. (2003) 373,179-189]. La mayoría de estas dipeptidasas específicas de prolina se producen por vía intracelular en lisosoma y actúan a un pH ácido. Solamente la DPPIV se produce como una proteína unida a membrana en el lado exterior de una célula o como una proteína secretada. Por tanto, según una realización, los compuestos de la presente invención son escindibles mediante una dipeptidil-peptidasa extracelular o unida a membrana a un pH neutro.

La presente invención demuestra que los derivados de profármacos de peptidilo son eficazmente convertidos en el compuesto parental mediante la actividad de exodipeptidil-peptidasa de CD26. La presente invención de muestra adicionalmente que los derivados de profármacos de peptidilo son tratados por vía extracelular hasta el compuesto terapéutico parental.

Como un resto de L-valina puede estar involucrado en la aproximación de profármacos de pipeptidilo, esta tecnología puede representar una herramienta potente para preparar compuestos lipófilos no solo considerablemente más solubles en agua y de menos unión a proteínas, sino también para mejorar la biodisponibilidad oral y el suministro en plasma de la molécula parental y un suministro más selectivo del fármaco parental a células que expresan CD26.

Teniendo en cuenta esta observación, la presente invención proporciona una nueva tecnología de profármacos con el fin de modular la solubilidad, la unión de proteínas en plasma y/o mejorar la biodisponibilidad de un fármaco. En otras realizaciones de la invención, los profármacos son suministrados con el fin de dirigir a diana los fármacos de forma más selectiva, para aumentar el suministro cerebral, y linfático de fármacos y/o para prolongar las semividas de los fármacos en plasma. La presente invención proporciona nuevos profármacos, caracterizados porque los profármacos son escindibles por la dipeptidil-peptidasa CD26 u otras enzimas con la misma actividad y especificidad proteolítica que CD26. En una realización preferida, los profármacos de la presente invención son conjugados de péptido-fármaco y sus derivados, que incluyen secuencias de aminoácidos que contienen sitios de escisión para dipeptidil-peptidasas, como CD26. Como tal, la invención proporciona también una composición de profármacos terapéuticos que comprenden un compuesto terapéutico D unido a un péptido a través de un enlace de amida, que es específicamente escindido por dipeptidil-peptidasas, como CD26.

El compuesto terapéutico D puede estar unido al grupo carboxi de un aminoácido directamente o a través de un grupo conector. En una realización preferida, el compuesto terapéutico D y el péptido están directamente acoplados a través de un enlace de amida. El compuesto terapéutico D puede tener una amida (primaria o secundaria) con un grupo amino libre que puede estar acoplada con el grupo carboxilo de aminoácidos, más preferentemente con el grupo  $\alpha$ -carboxilo. En otra realización preferida, el compuesto terapéutico D y el péptido están acoplados a través de un conector, en que el conector puede ser de naturaleza no péptida o péptida. Si la conexión entre el compuesto terapéutico D y el péptido se hace a través de un conector, la conexión entre el conector y el primar aminoácido es preferentemente un enlace de amida. El conector puede estar conectado al compuesto terapéutico D a través de cualesquiera tipos de enlaces y grupos químicos conocidos por los expertos en la técnica, más preferentemente mediante un enlace covalente. El conector puede permanecer en el compuesto terapéutico D indefinidamente después de la escisión, o puede ser separado con posterioridad, mediante reacciones adicionales con agentes presentes con el mamífero o bien en una etapa en auto-escisión. Los agentes externos que pueden afectar a la escisión del conector incluyen enzimas, proteínas, reactivos orgánicos o inorgánicos, protones y otros agentes. En las realizaciones en las que el conector permanece unido al fármaco, el conector puede ser cualquier grupo que no inhiba sustancialmente la actividad del fármaco después de la escisión del péptido. En otras realizaciones, el conector es auto-escindible. Los conectores auto-escindibles son los que están dispuestos para escindirse del fármaco después de la escisión del péptido mediante dipeptidil-peptidasas, como CD26. Los mecanismos involucrados en la auto-escisión de los conectores son, por ejemplo, ciclación intramolecular o solvolisis S<sub>N</sub>1 espontánea y liberación del fármaco tras la escisión del péptido. Algunos ejemplos de conectores son proporcionados por Atwell y cols. (Atwell y cols. J. Med. Chem. 1994, 37: 371-380). Los conectores

contienen generalmente amins primarias que forman enlaces de amidas con el grupo carboxi terminal del péptido. Los conectores pueden contener también un ácido carboxílico que forme un enlace de amida con una amina primaria encontrada en el fármaco. El conector puede ser acoplado al fármaco mediante una o más reacciones escogidas entre las reacciones disponibles para el experto en la técnica.

5 En una realización, la proteasa que puede ser usada para la proteólisis del fármaco es CD26. Los datos experimentales obtenidos ponen de manifiesto que la CD26 basa su escisión solamente en la estructura de dipéptido. Su actividad no está obstaculizada por la presencia de compuesto terapéutico D inmediatamente después del enlace de amida entre la prolina y el resto de fármaco. En el mismo contexto, por tanto, no hay necesidad de tener un péptido adicional u  
10 otras moléculas conectoras entre el dipéptido y el fármaco. Además de ello, debido a su expresión de tejidos (en tejidos tanto de cáncer como normales) en diferentes órganos (desde un nivel elevado hasta niveles inferiores: riñón, pulmón, glándula suprarrenal, yeyuno, hígado, glándula adiposa, bazo, testículos y también en la piel, corazón páncreas, cerebro, médula espinal o suero) y diferentes tipos de células (como timocitos, células endoteliales, linfocitos o células microgliales), pueden ser previstas diversas aplicaciones y diversas aplicaciones terapéuticas. La velocidad de proteólisis de un dipéptido puede ser modulada modificando el aminoácido amino-terminal y/o el segundo aminoácido. De  
15 forma conjunta o independiente de la modulación de la hidrólisis, puede ser modificado el carácter fisicoquímico del profármaco dipéptido.

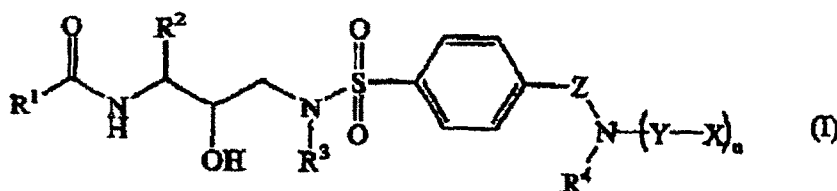
Los compuestos terapéuticos que pueden ser usados en los profármacos de la invención incluyen cualesquiera fármacos excepto fármacos de proteínas y péptidos como hormonas (péptidas) que pueden estar directa o indirectamente  
20 unidos a un péptido, con lo que el conjugado es escindible por medio de una dipeptidil-peptidasa como CD26. Además de los compuestos terapéuticos conocidos, está invención puede ser aplicada también a las moléculas de fármacos nuevos que están actualmente bajo desarrollo de fármacos o moléculas de fármacos que ya están en un uso clínico. En otra realización preferida, el compuesto terapéutico D es una molécula orgánica pequeña y no un péptido, proteína,  
25 un intercalador o un oligonucleótido o sus análogos (como HNA, PNA, etc.). La molécula terapéutica puede tener una actividad en enfermedades cardiovasculares, neurológicas, respiratorias, oncológicas, metabólicas, en inmunología, urología, anti-infecciosos, inflamación y todos los demás campos terapéuticos. Todavía, en otra realización más preferida, el compuesto terapéutico D tiene una actividad antiviral. En una realización todavía más preferida, el compuesto terapéutico D tiene una actividad anti-HIV.

30 Los fármacos preferidos son los que contienen amins primarias. La presencia de una amina primaria permite la formación de un enlace de amida entre el fármaco y el péptido. Las amins primarias se pueden encontrar en los fármacos como son comúnmente proporcionados, o pueden ser añadidas a los fármacos mediante síntesis química.

35 Según el sistema de clasificación de productos biofarmacéuticos (BCS) de la FDA, las sustancias de fármacos con clasificadas como sigue: Clase I - Permeabilidad elevada, solubilidad elevada; Clase II - Permeabilidad elevada, solubilidad baja; Clase III - permeabilidad baja, solubilidad elevada y clase IV - permeabilidad baja solubilidad baja. La forma en que los fármacos son clasificados en este sistema de clasificación es descrita en las normas generales del BCS. En una realización preferida, los compuestos terapéuticos D que pueden ser usados en la invención son  
40 seleccionados entre la clase II, III y IV.

La invención proporciona profármacos que son escindibles por dipeptidil-peptidasas. Las dipeptidil-peptidasas pueden ser seleccionadas entre el grupo de peptidasas (EC 3.4) e incluso más específicamente aminopeptidasas (EC 3.4.11) como propil-aminopeptidasa (EC 3.4. 11.5) y X-Pro aminopeptidasa (EC 3.4.11.9), a partir del grupo de  
45 dipeptidasas (EC 3.4.13), peptidil-dipeptidasas (EC 3.4.15) y dipeptidil-peptidasas (EC 3.4.14, este grupo de EC incluye también tripeptidil-peptidasas) como dipeptidil-peptidasa I (EC 3.4.14.1), II (EC 3.4.14.2), III (EC 3.4.14.4), IV (EC 3.4. 14.5), dipeptidil-peptidasa (EC 3.4.14.6) y X-Pro dipeptidil-peptidasa (EC 3.4.14.11). En una realización preferida, el profármaco es escindible por dipeptidil-peptidasas presente en mamíferos o, más preferentemente, en seres humanos. En una realización más preferida, el profármaco es escindible por dipeptidil-peptidasa IV (CD26),  
50 así como por la superficie celular unida como por la forma soluble presente en fluidos seminales, plasma, y fluido cerebroespinal. La existencia de dos tipos diferentes de CD26 permite la aplicación de los profármacos para una activación en la membrana celular y para una activación en fluidos corporales.

55 En una realización particular, la presente invención se refiere a compuestos profármacos de fórmula (I)



65 sus formas estereoisómeras y sales,

## ES 2 295 879 T3

en la cual

n es 1, 2, 3, 4 ó 5;

5 Y es prolina, alanina, hidroxiprolina, dihidroxiprolina, ácido tiazolidinocarboxílico (tioprolina), deshidroproni-  
na, ácido pipercolico (L-homoprolina), ácido azetidincarboxílico, ácido aziridinocarboxílico, glicina, serina, valina,  
leucina, isoleucina y treonina;

X se selecciona entre cualquier aminoácido en la configuración D o L;

10 X e Y en cada repetición [Y-X] se escogen independientemente uno de otro e independientemente de otras repeti-  
ciones;

15 Z es un enlace directo o un grupo hidrocarbonado saturado de cadena lineal o ramificada bivalente que tiene de 1  
a 4 átomos de carbono;

R<sup>1</sup> es un grupo arilo, heteroarilo, ariloxi, heteroariloxi, ariloxi-alquilo C<sub>1-4</sub>, heterocicloalquiloxi, heterocicloalquil-  
alquiloxi C<sub>1-4</sub>, heteroariloxi-alquilo C<sub>1-4</sub>, heteroaril-alquiloxi C<sub>1-4</sub>;

20 R<sup>2</sup> es aril-alquilo C<sub>1-4</sub>;

R<sup>3</sup> es alquilo C<sub>1-10</sub>, alqueno C<sub>2-6</sub> o cicloalquil C<sub>3-7</sub>-alquilo C<sub>1-4</sub>;

25 R<sup>4</sup> es hidrógeno o alquilo C<sub>1-4</sub>;

arilo cuando es usado solo o en combinación con otro grupo significa fenilo opcionalmente sustituido con uno o  
más sustituyentes seleccionados cada uno independientemente entre el grupo que consiste en alquilo C<sub>1-4</sub>, hidroxi,  
alquiloxi C<sub>1-4</sub>, nitro, ciano, halo, amino, mono- o di-(alquil C<sub>1-4</sub>)-amino y amido;

30 heteroarilo, cuando es usado solo o en combinación con otro grupo, significa un heterociclo aromático monocí-  
clico o bicíclico que tiene uno o más heteroátomos de oxígeno, azufre o nitrógeno, heterociclo aromático que puede  
estar opcionalmente sustituido en uno o más átomos de carbono con un sustituyente seleccionado entre el grupo que  
consiste en alquilo C<sub>1-4</sub>, alquiloxi C<sub>1-4</sub>, amino, hidroxi, arilo, amido, mono- o di-(alquil C<sub>1-4</sub>)-amino, halo, nitro, he-  
35 terocicloalquilo y alquiloxi C<sub>1-4</sub>-carbonilo y heterociclo aromático que puede estar también opcionalmente sustituido  
en un átomo de nitrógeno secundario con alquilo C<sub>1-4</sub> o aril-alquilo C<sub>1-4</sub>;

heterocicloalquilo, cuando es usado solo en combinación con otro grupo, significa un heterociclo monocíclico o  
bicíclico saturado o parcialmente insaturado, que tiene uno o más heteroátomos de oxígeno, azufre o nitrógeno, hetero-  
40 ciclo que puede estar opcionalmente sustituido en uno o más átomos de carbono con un sustituyente seleccionado entre  
el grupo que consiste en alquilo C<sub>1-4</sub>, alquiloxi C<sub>1-4</sub>, hidroxi, halo y oxo, y heterociclo que puede estar opcionalmente  
sustituido en un átomo de nitrógeno secundario con alquilo C<sub>1-4</sub> o aril-alquilo C<sub>1-4</sub>.

El término alquilo C<sub>1-4</sub> como un grupo o parte de un grupo significa radicales hidrocarbonados monovalentes  
45 saturados de cadena lineal o ramificada que tienen de 1 a 4 átomos de carbono. Ejemplos de estos radicales alquilo  
C<sub>1-4</sub> incluyen metilo, etilo, n-propilo, n-butilo, isobutilo, sec-butilo, terc-butilo y similares.

El término alquilo C<sub>1-6</sub> como un grupo o parte de un grupo significa radicales hidrocarbonados monovalentes satu-  
50 rados de cadena lineal o ramificada que contienen de 1 a 6 átomos de carbono. Ejemplos de estos radicales alquilo C<sub>1-6</sub>  
incluyen metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, isobutilo, sec-butilo, terc-butilo, 2-metilbutilo, pentilo, isoamilo,  
hexilo 3-metilpentilo y similares.

El término alquilo C<sub>1-10</sub> como un grupo o parte de un grupo significa radicales hidrocarbonados monovalentes  
55 saturados de cadena saturada y ramificada que contienen de 1 a 10 átomos de carbono. Ejemplo de estos radicales  
alquilo C<sub>1-10</sub> incluyen los ejemplos de radicales alquilo C<sub>1-6</sub> y heptilo, octilo, nonilo, decilo, 3-etil-heptilo y similares.

Alqueno C<sub>2-6</sub> como un grupo o parte de un grupo significa radicales hidrocarbonados monovalentes de cadena  
60 lineal y ramificada que tienen al menos un enlace doble y que contienen de 2 a 6 átomos de carbono. Ejemplos de  
estos radicales alqueno C<sub>2-6</sub> incluyen etenilo, propenilo, 1-butenilo, 2-butenilo, isobutenilo, 2-metil-1-butenilo, 1-  
pentenilo, 2-pentenilo, 1-hexenilo, 2-hexenilo, 3-hexenilo, 3-metil-2-pentenilo y similares.

El término "halo" o "halógeno", cuando es usado es usado solo o en combinación con otro grupo, es una denomi-  
nación genérica par flúor, cloro bromo o yodo.

65 El término ciclo alquilo C<sub>3-7</sub>, cuando es usado solo o en combinación con otro grupo, es una denominación genérica  
para ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo y cicloheptilo.

Para un uso terapéutico, las sales de los compuestos profármacos de la presente invención son aquellas en las  
que el contraion es farmacéutica o fisiológicamente aceptable. Sin embargo, las sales que tienen un contra ion farma-

céuticamente aceptable pueden ser usadas también, por ejemplo, en la preparación o purificación de un compuesto farmacéuticamente aceptable de la presente invención. Todas las sales, farmacéuticamente aceptables o no, están incluidas dentro del alcance de la presente invención.

5 Las formas de sales por adición de ácidos farmacéuticamente aceptables o filológicamente tolerables que son capaces de formar los compuestos profármacos de la presente invención pueden ser convenientemente preparadas usando los ácidos apropiados como, por ejemplo, ácidos inorgánicos como ácidos halhídricos, por ejemplo, ácido clorhídrico o bromhídrico, ácidos sulfúrico, nítrico, fosfórico y similares; o ácidos orgánicos como, por ejemplo, ácidos acético, propanoico, hidroxiaético, láctico, pirúvico, oxálico, malónico, succínico, maleico, fumárico, málico, tartárico, cítrico, metanosulfónico, etanosulfónico, bencenosulfónico, p-toluenosulfónico, ciclámico, salicílico, p-amino-salicílico, pamoico y similares.

15 Inversamente, dichas formas de sales por adición de sales pueden ser convertidas mediante tratamiento con una base apropiada en la forma de base libre.

Los compuestos profármacos de la presente invención que contienen un protón ácido pueden ser convertidos también en su forma de sal por adición de metales o aminos no tóxicos mediante tratamiento con bases orgánicas e inorgánicas apropiadas. Las formas de sales básicas apropiadas comprenden por ejemplo, las sales de amonio, sales de amino cuaternario, sales de metales alcalinos y alcalinotérreos, por ejemplo, las sales de litio, sodio, potasio, magnesio o calcio y similares, sales con bases orgánicas, por ejemplo, las sales de benzatina, N-metil-D-glucamina, hidrabamina y sales con aminoácidos, como por ejemplo, arginina, lisina y similares.

25 Inversamente, dichas formas de sales por adición de bases pueden ser convertidas mediante tratamiento con un ácido apropiado en la forma de ácido libre.

El término "sales" comprende también los hidratos y las formas de adición de disolventes que son capaces de formar los compuestos profármacos de la presente invención. Ejemplos de estas formas son, por ejemplo, hidratos, acoholatos y similares. El término "sales" comprende también la cuaternización de los átomos de nitrógeno de los presentes compuesto. Un átomo de nitrógeno básico puede ser cuaternizado con cualquier agente conocido por un experto en la técnica e incluyen, por ejemplo haluros de alquilo inferior, dialquil-sulfatos, haluros de cadena larga y haluros de arilalquilo.

35 Los presentes compuestos profármacos pueden existir también en sus formas tautómeras. Estas formas, aunque no está explícitamente indicado en la fórmula anterior, está previsto que estén incluidas en el alcance de la presente invención.

40 En una realización, el grupo amino terminal del aminoácido terminal del péptido unido formado por  $(Y-X)_n$  puede contener opcionalmente uno o dos grupos de remetes terminales seleccionados entre acetilo, succinilo, benciloxicarbonilo, glutarilo, morfonilocarbonilo y alquilo  $C_{1-4}$ .

En una realización, cada X se selecciona independientemente dentro de un aminoácido que se produce de forma natural.

45 En una realización, cada X es independientemente un L-aminoácido seleccionado entre el grupo que consiste en alanina, arginina, asparagina, ácido aspártico, cisteína, glutamina, ácido glutámico, glicina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, prolina, serina, treonina, triptófano, tirosina o valina.

50 En una realización, cada Y es independientemente prolina, alanina, glicina, serina, valina o leucina; preferentemente cada Y es independientemente prolina o alanina.

En una realización, n es 1, 2 ó 3.

En una realización,  $-(Y-X)_n$  es  $-(Y-X)_{1, 2}$ -Y-Val, más en particular  $-(Y-X)_n$  es  $-(Y-X)_{1, 2}$ -Pro-Val.

55 En una realización, el oligopéptido  $(Y-X)_n$  está constituido por repeticiones de  $(Y-X)$  seleccionadas entre el grupo que consiste en Pro-Val, Pro-Asp, Pro-Ser, Pro-Lys, Pro-Arg, Pro-His, Pro-Phe, Pro-Ile, Pro-Leu, Ala-Val, Ala-Asp, Ala-Ser, Ala-Lys, Ala-Arg, Ala-His, Ala-Phe, Ala-Ile y Ala-Leu.

60 En una realización,  $R^1$  es heterocicloalquiloxi, heteroarilo, heteroaril-alquiloxi  $C_{1-4}$ , arilo o ariloxi-alquilo  $C_{1-4}$ .

En una realización,  $R_1$  es hexahidrofuro[2,3-b]furaniloxi, tetrahidrofuraniloxi, quinolinilo, tiazolilmeiloxi, arilo o ariloximetilo.

65 En una realización,  $R^1$  es hexahidrofuro[2,3-b]furan-3-iloxi, tetrahidrofuran-3-iloxi, quinolin-2-ilo, tiazol-5-ilmetoxi, 3-hidroxi-2-metil-1-fenilo, 2,6-dimetil-fenoximetilo.

En una realización,  $R^1$  es (3R, 3aS, 6aR)-hexahidrofuro[2,3-b]furan-3-il-oxi, (3S)-tetrahidrofuran-3-iloxi, quinolin-2-ilo, tiazol-5-ilmetiloxi, 3-hidroxi-2-metil-1-fenilo, o 2,6-dimetilfenoximetilo.

## ES 2 295 879 T3

Grupos interesantes de compuestos son los grupos de compuestos de fórmula (I) en la que se aplican una o más de las siguientes restricciones:

- n es 1, 2 ó 3;
- Y es prolina;
- cada X se selecciona independientemente entre valina, ácido aspártico lisina o prolina;
- z es metileno;
- R<sup>1</sup> es heterocicloalquiloxi;
- R<sup>2</sup> es fenilmetilo;
- R<sup>3</sup> es alquilo C<sub>1-10</sub>;
- R<sub>4</sub> es hidrógeno.

Los compuestos interesantes son los compuestos de fórmula (I) o cualquier subgrupo definido para la misma en la que R<sup>2</sup> es fenilmetilo.

Los compuestos interesantes son los compuestos de fórmula (I) o cualquier subgrupo definido para la misma en la que R<sup>3</sup> es alquilo C<sub>1-4</sub> en particular, R<sup>3</sup> es isobutilo.

Los compuestos interesantes son los compuestos de fórmula (I) o cualquier subgrupo definido para la misma en la que R<sup>4</sup> es hidrógeno.

Los compuestos interesantes son los compuestos de fórmula (I) o cualquier subgrupo definido para la misma en la que R<sup>2</sup> es fenilmetilo; R<sup>3</sup> es isobutilo y R<sup>4</sup> es hidrógeno.

Los compuestos interesantes son los compuestos de fórmula (I) o cualquier subgrupo definido para la misma en la que Z es metileno.

Los compuestos interesantes son los compuestos de fórmula (I) o cualquier subgrupo definido para la mismas en la que R<sup>1</sup> es hexahidrofuro[2,3-b]furaniloxi tetrahidrofuraniloxi, quinolinilo, tiazolilmetiloxi, arilo, ariloximetilo; R<sup>2</sup> es fenilmetilo; R<sup>3</sup> es isobutilo y R<sup>4</sup> es hidrógeno.

Un grupo particular de compuestos son los compuestos de fórmula (I) o cualquier subgrupo definido para la misma, en el cual

- n es 1, 2 ó 3;
- Y es prolina o alanina;
- cada X se selecciona independientemente entre un aminoácido que se produce de fórmula natural;
- Z es un enlace directo o metileno;
- R<sup>1</sup> es heterocicloalquiloxi, heteroarilo, heteroaril-alquiloxi C<sub>1-4</sub>, arilo o ariloxi-aquilo C<sub>1-4</sub>;
- R<sup>2</sup> es fenilmetilo;
- R<sup>3</sup> es isobutilo;
- R<sub>4</sub> es hidrógeno.

También, un grupo particular de compuestos son los compuestos de fórmula (I) o cualquier subgrupo definido para la mismas, en el cual

- n es 1, 2 ó 3;
- Y es prolina;
- cada X se selecciona independientemente entre un aminoácido que se produce de fórmula natural;
- Z es metileno;

## ES 2 295 879 T3

R<sup>1</sup> hexahidrofuro[2,3-b]furaniloxi, tetrahidrofuraniloxi, quinolinilo, tiazolilmetiloxi, arilo o ariloximetilo;

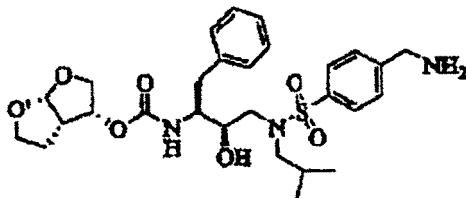
R<sup>2</sup> es fenilmetilo;

5 R<sup>3</sup> es isobutilo;

R<sub>4</sub> es hidrógeno.

Los profármacos preferidos son los profármacos en los que el compuesto terapéutico es

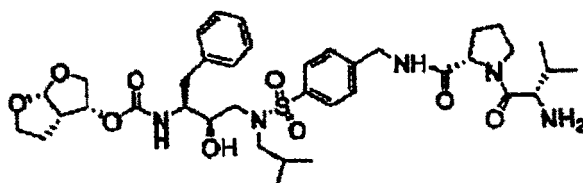
10



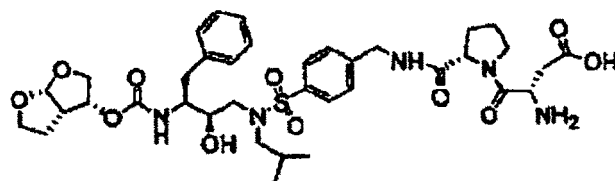
15

Los profármacos preferidos incluyen

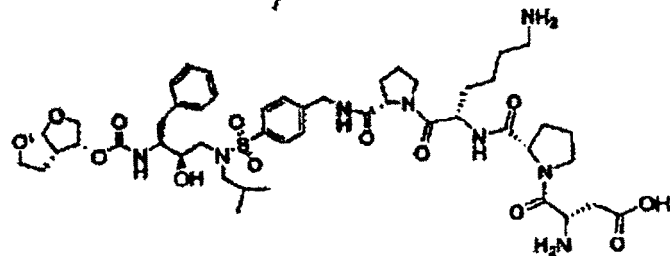
20



25



30



35

40

45

y sus formas de sales.

Particularmente, el extremo amino-terminal del péptido en el profármaco comprende X-Pro, X-Ala, X-Gly, X-Ser, X-Val o X-Leu, en los que X representa cualquier aminoácido o sus isómeros (es decir, la configuración L o D). Otros dipéptidos, que en la segunda posición tienen hidroxiprolina, dihidroxiprolina, ácido tiazolidinocarboxílico (tio-  
50 prolina), deshidroprolina, ácido pipercolico (L-homoprolina), ácido azetidincarboxílico, y ácido aziridinocarboxílico son también escindibles por CD26. En una realización preferida, el péptido comprende X-prolina o X-alanina amino-terminal. Como tales, los aminoácidos pueden ser seleccionados entre alanina, arginina, asparagina, ácido aspártico, cisteína, glutamina, ácido glutámico, glicina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, prolina, ser-  
55 rina, treonina, triptófano, tirosina, valina y sus derivados. También pueden ser incluidos aminoácidos modificados (es decir, hidroxiprolina) o no naturales. En otra realización preferida, la longitud del péptido es de entre 2 y 10 aminoácidos y, por lo tanto, puede tener una longitud 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ó 10 aminoácidos. En otra realización preferida, el péptido comprende unidades repetidas de [X-Y]<sub>n</sub> en la que X representa cualquier aminoácido, Y selecciona entre Pro, Ala, Gly, Ser, Val o Leu y n se selecciona entre 1, 2, 3, 4 ó 5. En otra realización más preferida, dicho péptido es un dipéptido. En una realización todavía más preferida, el dipéptido es Lys-Pro. En otra realización todavía más preferida,  
60 los aminoácidos tienen la configuración L. El grupo amino terminal del péptido puede contener también grupos de remate terminales convencionales. Estos grupos de remate terminales incluyen acetilo, succinilo, benciloxicarbonilo, glutarilo, morfolinocarbonilo, metilo y muchos otros conocidos en la técnica. Los expertos en la técnica pueden hacer sustituciones para conseguir péptidos con un perfil mejor relacionado con la solubilidad, biodisponibilidad y direc-  
65 ción a diana del conjugado. Por lo tanto la invención incluye las secuencias de péptidos anteriormente descritas, así como análogos o derivados de las mismas, en la medida en que los conjugados permanezcan escindibles por medio de dipeptidil-peptidasas, como CD26.

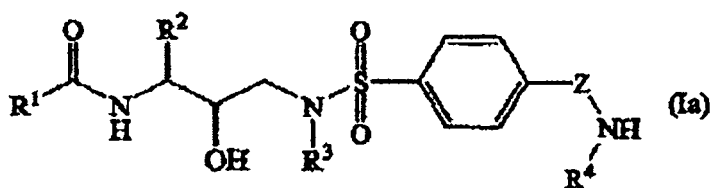
En otra realización, los péptidos conectores de la presente invención consisten en uno o más dipéptidos X-Y repetitivos con una estructura  $[X-Y]_n$  que es escindible por CD26, que comprende uno o más aminoácidos entre el péptido escindible por CD26 y el profármaco y tienen una estructura general  $[X-Y]_n-Am$ , en la que A es cualquier aminoácido. El enlace entre el oligopéptido  $[X-Y]_n$  y el aminoácido A consecutivo es un enlace de amida, para permitir la proteólisis por CD26. El enlace entre dos aminoácidos A y entre un aminoácido A y el profármaco puede ser un enlace de amida o un enlace de éster. La longitud de m puede variar entre 1 y 15. En una realización m es 1 y m puede ser hidrolizado a partir del profármaco mediante una esteraza o una aminopeptidasa.

En otra realización, el oligopéptido  $[X-Y]_n$  escindible por CD26 es un péptido en el que al menos un X es un aminoácido hidrófobo o aromático o, alternativamente, en el que al menos un X es un aminoácido neutro o ácido o, alternativamente, en el que al menos un es un aminoácido básico. Para modular la hidrofobicidad y/o velocidad de proteólisis de los péptidos más largos (n es 3, 4 ó 5), más de un X tendrá el tipo específico de cadenas laterales para conseguir el efecto deseado.

También, la elección de Y puede ejercer una influencia sobre la velocidad de proteólisis, la hidrofobicidad, solubilidad, biodisponibilidad y la eficacia el profármaco.

Todavía, en otra realización los péptidos con una estructura general  $[X-Y]_n$  son tetrapéptidos o hexapéptidos con una estructura seleccionada entre el grupo de XF-Y-XF-Y, XF-Y-XS-Y, XS-Y-XF-Y, XS-Y-XS-Y XB-Y-X-Y, X-Y-XB-Y y XB-Y-XB-Y o un hexapéptido con una estructura seleccionada entre el grupo de XF-Y-XF-Y-XF-Y, XS-Y-XF-Y-XF-Y, XF-Y-XS-Y-XF-Y, XF-Y-XF-Y-XS-Y, XF-Y-XS-Y-XS-Y, XS-Y-XF-Y-XS-Y, XS-Y-XS-Y-XF-Y and XS-Y-XS-Y-XS-Y, XB-Y-X-Y-X-Y, XB-Y-XB-Y-X-Y, X-Y-XB-Y-XB-Y, XB-Y-X-Y-XB-Y y XB-Y-XB-Y-XB, en el que F representa rápido y XF es un aminoácido que da lugar a una liberación rápida de un dipéptido por CD26 (por ejemplo, aminoácidos ácidos y neutros como ácido aspártico y ácido glutámico). En este caso S representa lento y XS es un aminoácido que provoca una liberación lenta de un dipéptido por medio de CD26 (por ejemplo, aminoácidos cargados y neutros). En este caso B representa básico y XB es un aminoácido básico (Lys, Arg e His) conduciendo a una liberación moderada de un dipéptido cargado e hidrófilo. Estas combinaciones permiten combinaciones adaptadas de péptidos para proporcionar un profármaco a una velocidad de degradación bien definida junto con una hidrofobicidad definida. Por ejemplo, la degradación de un profármaco hidrófobo con dipéptido Tyr/Phe-Pro puede ser retrasada mediante la presencia de un dipéptido Gly-Pro amino-terminal adicional, dando lugar a un profármaco tetrapéptido de Gly-Pro-Tyr/Phe-Pro [SEQ ID: NO 3]. La hidrofobicidad puede ser incluso aumentada añadiendo un dipéptido adicional Tyr/Phe-Pro conduciendo al fármaco hexapéptido Gly-Pro-Tyr/Phe-Pro-Tyr/Phe-Pro [SEQ ID NO: 4]. Si es deseado un profármaco péptido cargado con una liberación lenta, puede ser preferido, Asp-Pro-Lys-Pro [SEQ ID NO: 5] sobre Gly-Pro. Pueden ser desarrolladas otras combinaciones por el experto en la técnica, en las que un tetrapéptido o hexapéptido permita la modulación de la solubilidad y la velocidad de degradación de un profármaco péptido por medio de CD26. Para otros fines, la prolina puede ser sustituida con alanina. Las propiedades fisicoquímicas y la velocidad de degradación de un profármaco sin digerir, parcialmente digerido y completamente digerido, pueden ser evaluadas mediante la determinación de su tiempo de retención en una cromatografía de una fase inversa.

La presente invención demuestra que los derivados de profármacos de peptidilo de fórmula (I) son eficazmente convertidos en el compuesto terapéutico parental de fórmula (Ia)



en la que R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup> y Z son como se definieron en los compuestos de fórmula (I); mediante la actividad de exodipeptidil-peptidasa de CD26.

Es conocido que estos compuestos terapéuticos de fórmula (IA) tienen una actividad inhibidora de HIV proteasa. Son descritos en los documentos EP 656887, EP 715618, EP 810209, US 5744481, US 5786483, US 5830897, US 5843946, US 5968942, US 6046190, US 6060476, US 6248775, WO 99/67417 y WO 99/67254, todos ellos incorporados como referencia a la presente memoria descriptiva.

Debido al hecho de que los compuestos terapéuticos de fórmula (Ia) son inhibidores de la replicación de HIV, los compuestos profármacos de fórmula (I) son útiles en el tratamiento de animales de sangre caliente, en particular seres humanos infectados con HIV. Las condiciones asociadas con el HIV que pueden ser prevenidas o tratadas con los compuestos de la presente invención incluyen SIDA, complejo relacionado con el SIDA (ARC), linfadenopatía generalizada progresiva (PGL) así como enfermedades crónicas del sistema nervioso central (CNS) provocadas por retrovirus como, por ejemplo, demencia mediada por HIV y esclerosis múltiple.

Por lo tanto, los compuestos profármacos de la presente invención pueden ser usados como medicinas contra las afecciones anteriormente mencionadas o en un método para tratarlas. Dicho uso como una medicina o método de tratamiento comprende la administración sistémica de una cantidad terapéutica eficaz de un compuesto de fórmula (I) a animales de sangre caliente infectados con HIV, en particular seres humanos infectados con HIV consecuentemente, los compuestos profármacos de la presente invención pueden ser usados en la elaboración de un medicamento útil para tratar afecciones asociadas con una infección de HIV.

La expresión “formas isómeras estereoquímicas de compuestos de la presente invención”, como se usa con anterioridad en la presente memoria descriptiva, define todos los compuestos posibles constituidos por los mismos átomos unidos mediante la misma secuencia de enlaces, pero que tienen estructuras tridimensionales diferentes que no son intercambiables, que pueden poseer los compuestos de la presente invención. Salvo que se mencione o se indique otra cosa, la denominación química de un compuesto abarca la mezcla de todas las formas isómeras estereoquímicas posibles que puede poseer dicho compuesto. Dicha mezcla puede contener todos los diastereómeros y/o enantiómeros de la estructura molecular básica de dicho compuesto. Todas las formas isómeras estereoquímicas de los compuestos de la presente invención en forma tanto pura como de mezcla de unos con otros están destinadas a ser abarcadas dentro del alcance de la presente invención.

Las formas estereoisómeras puras de los compuestos e intermedios mencionados en la presente memoria descriptiva son definidas como isómeros sustancialmente exentos de otras formas enantiómeras o diastereómeras de la misma estructura molecular básica de dichos compuestos o intermedios. En particular, la expresión “estereoisómeramente puros” se refiere a compuestos o intermedios que tienen un exceso estereoisómero. De al menos 80% (es decir, mínimo 80% de un isómero y máximo 20% de los otros posibles isómeros) hasta un exceso estereoisómero de 100% (es decir, 100% de un isómero y nada del otro), más en particular, compuestos o intermedios que tienen un exceso estereoisómero de 90% hasta 100%, incluso más en particular que tienen un exceso estereoisómero de 94% hasta 100% y lo más en particular que tienen un exceso estereoisómero de 97% hasta 100%. Las expresiones “enantiómeramente puro” y “diastereómeramente puro” deben ser entendidas de una forma similar, pero entonces haciendo alusión al exceso enantiómero y exceso diastereómero, respectivamente, de la mezcla en cuestión.

Las formas estereoisómeras puras de los compuestos e intermedios de esta invención pueden ser obtenidas mediante la aplicación de procedimientos conocidos en la técnica. Por ejemplo, los enantiómeros pueden ser separados uno de otro mediante la cristalización selectiva de sus sales diastereómeras con ácidos ópticamente activos. Alternativamente, los enantiómeros pueden ser separados mediante técnicas cromatográficas usando fases estacionarias quirales. Dichas formas estereoquímicamente puras pueden ser derivadas también de las correspondientes formas isómeras estereoquímicamente puras de los materiales de partida apropiados, con la condición de que la reacción se produzca de forma estereoespecífica. Preferentemente, si es deseado un estereoisómero específico, dicho compuesto será sintetizado mediante métodos de preparación estereoespecíficos. Estos métodos emplearán ventajosamente materiales de partida enantiómeramente puros.

Los racematos diastereómeros de los compuestos de la presente invención pueden ser obtenidos separadamente mediante métodos convencionales. Los métodos de separación física apropiados que pueden ser ventajosamente empleados son, por ejemplo, cristalización selectiva y cromatografía, por ejemplo, cromatografía de columna.

Los compuestos pueden contener uno o más centros asimétricos y, por tanto, pueden existir como diferentes formas estereoisómeras. La configuración absoluta de cada centro asimétrico que puede estar presente en los compuestos puede estar indicada mediante los descriptores estereoquímicos R y S, correspondiendo esta indicación R y S a las reglas descritas en la publicación Pure Appl. Chem. 1976,45, 11-30.

En una realización, el átomo de carbono que porta el sustituyente R<sup>2</sup> tiene la configuración “S” y el átomo de carbono adyacente que porta el sustituyente hidroxilo tiene la configuración “R”.

La presente invención está destinada también a incluir todos los isótopos de los átomos que existen en los presentes compuestos. Los isótopos incluyen los átomos que tienen el mismo número atómico pero diferente peso atómico. A modo de ejemplo general y sin limitación, los isótopos de hidrógeno incluyen tritio y deuterio. Los isótopos de carbono incluyen C-13 y C-14.

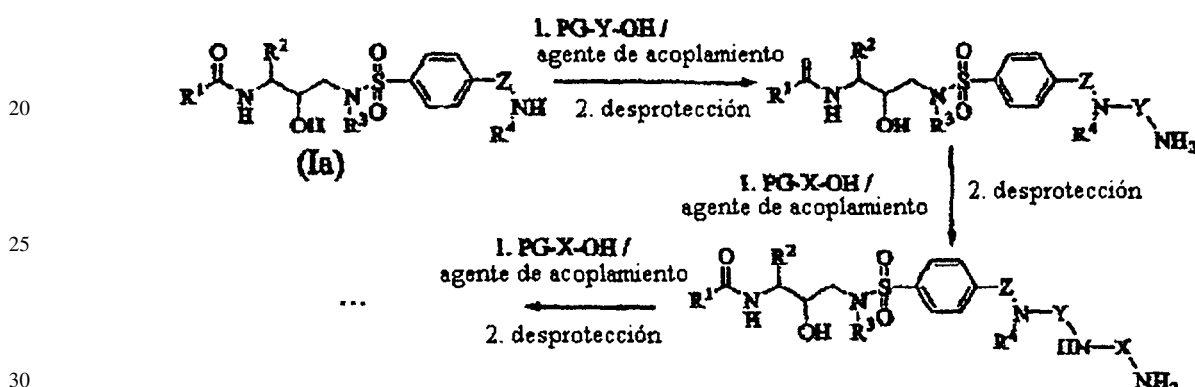
La presente invención proporciona adicionalmente un método para producir un profármaco de fórmula (I), en el que el profármaco es escindible por una dipeptidil-peptidasa, como CD26. Este método para producir un profármaco de fórmula (I) comprende la etapa de unir un fármaco terapéuticamente activo de fórmula (Ia) y un péptido. En una realización más preferida, el fármaco terapéuticamente activo o el péptido son derivados en una primera etapa con el fin de hacer posible el enlace del compuesto terapéutico de fórmula (Ia) y el péptido en una etapa posterior a través de un enlace de amida. Muchos métodos aceptables para acoplar grupos carboxílico y amino para formar puentes de amidas son conocidos por los expertos en la técnica.

En general, los compuestos terapéuticos de fórmula (Ia) pueden ser preparados como se describe en los documentos EP 656887, EP 715618, EP 810209, US 5744481, US 5786483, US 5830897, US 5843946, US 5968942, US 6046190, US 6060476, US 6248775, WO 99/67417 y WO 99/67254.

La química general de péptidos es sencilla para un experto en la técnica e incluye el acoplamiento de aminoácidos naturales con el fin de formar un péptido. Están disponibles diversas estrategias químicas, de las que las más ampliamente usadas son la química de fluorenil-metiloxycarbonilo (Fmoc) y terc-butiloxycarbonilo (Boc). Fields G. B. proporciona una descripción extensiva de la química de los péptidos que puede ser aplicada para acoplar aminoácidos uno a otro o a un compuesto terapéutico D [Fieldsin Methods in Molecular Biology, Vol 35: Peptide Synthesis Protocols HurnanaPress Inc.: Totawa, (1994), pág. 17-27]. Puede ser aplicada una química en fase sólida así como en fase de solución [Atherton & Sheppard Solid Phase Peptide Synthesis IRL Press: Oxford-New York-Tokyo, (1989)]. También podrán ser usadas estrategias de protección mediante las cuales las funcionalidades de un compuesto terapéutico que no puede reaccionar durante los procedimientos de preparación de fármacos son bloqueadas a través de un acoplamiento de un grupo protector.

Más en particular, los compuestos profármacos de fórmula (I) pueden ser preparados partiendo de los compuestos terapéuticos de fórmula (Ia) usando una química de péptidos conocida en la técnica.

Esquema 1



Por ejemplo, los aminoácidos pueden ser acoplados al compuesto terapéutico para formar enlaces péptidos, como se expone en el esquema 1. Esta reacción de acoplamiento puede ser realizada en un disolvente apropiado inerte para la reacción como N,N-dimetilformamida, acetonitrilo, diclorometano, tetrahydrofurano o cualquier otro disolvente que solubilice los reactivos, con un aminoácido protegido en amino de fórmula PG-Y-OH en la que PG (grupo protector) puede ser, por ejemplo, un Boc (terc-butiloxycarbonilo), Cbz (benciloxycarbonilo) o Fmoc, en presencia de un agente acoplante como DCC (diciclohexilcarbodiimida) o EDCI (hidrocloruro de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida) y HOAt (1-hidroxí-7-azabenzotriazol) o un equivalente funcional de los mismos. El péptido así formado puede ser seguidamente desprotegido usando técnicas de desprotección convencionales como, por ejemplo, desprotección con ácido trifluoroacético en diclorometano.

Este acoplamiento y la posterior etapa de reacción de desprotección pueden ser repetidos usando PG-X-OH como reactivo para formar el enlace péptido deseado.

Algunos de los aminoácidos, como por ejemplo, lisina y ácido aspártico, pueden requerir un segundo grupo protector y pueden estar representados por la fórmula PG-(XPG)-OH o PG-(YPG)-OH.

Alternativamente, un reactivo de fórmula PG-X-Y-OH, o PG-(X)<sub>n</sub>OH, o PG-(X-Y)<sub>n</sub>-OH, puede ser usado en los procedimientos de reacciones anteriores.

En las preparaciones anteriormente presentadas, los productos de reacción pueden ser aislados del medio de reacción y, si es necesario, pueden ser adicionalmente purificados según metodologías generalmente conocidas en la técnica como, por ejemplo, extracción, cristalización, destilación, trituración y cromatografía.

Los compuestos de fórmula (I) preparados en los procedimientos descritos con anterioridad pueden ser sintetizados como una mezcla de formas estereoisómeras, en particular en la forma de mezclas racémicas de enantiómeros que pueden ser separados unos de otros siguiendo procedimientos de resolución conocidos en la técnica. Los compuestos racémicos de fórmula (I) pueden ser convertidos en las correspondientes formas de sales diastereómeras mediante reacción con un ácido quiral adecuado. Dichas formas de sales diastereómeras son posteriormente separadas, por ejemplo, por cristalización selectiva o fraccionada y los enantiómeros son liberados a partir de las mismas por medio de álcalis. Una manera alternativa de separar las formas enantiómeras de los compuestos de fórmula (I) incluye cromatografía líquida usando una fase estacionaria quiral. Dichas formas isómeras estereoquímicamente puras pueden ser también derivadas de las correspondientes formas estereoquímicamente puras de los materiales de partida apropiados, con la condición de que la reacción se produzca de forma estereoespecífica. Preferentemente, si es deseado un estereoisómero específico, dicho compuesto será sintetizado mediante métodos de preparación estereoespecíficos. Estos métodos emplearán ventajosamente materiales de partida enantiómeramente puros.

## ES 2 295 879 T3

Existen métodos para predecir la solubilidad de un compuesto. Por ejemplo, en la publicación *J Chem Inf Comput Sci* 1998 May-Jun; 38 (3): 450-6 ha sido descrita la predicción de la solubilidad acuosa de fármacos basada en topología molecular y modelación de retículos neurales.

5 De hecho, todos los parámetros relevantes para la solubilidad y biodisponibilidad ( $pK_a$ , coeficiente de partición, etc.) pueden ser determinados. La publicación "Drug Bioavailability: Estimation of Solubility, Permeability, Absorption and Bioavailability" proporciona un examen explicativo de estos parámetros y su determinación o predicción (ISBN 352730438X).

10 Los coeficientes de partición son una medida de la lipofiliidad. Expresados numéricamente como valores de "log P", son las relaciones entre las concentraciones de sustancias en dos fases inmiscibles, como agua/octanol o agua/liposomas y son fácilmente calculados. Las sustancias con valores elevados de log P se disuelven mejor en grasas y aceites que en agua. Esto aumenta su capacidad de entrar en membranas lípidas (basadas en grasas) en el cuerpo mediante dilución pasiva, aumentando así su capacidad potencial de absorción.

15 Muchos fármacos tienen un valor de log P entre 1 y 4, que los hace adecuados para métodos de suministro orales. Los fármacos con un log P elevado habitualmente son escasamente solubles en agua. Pueden ser solubles en lípidos, pero no pueden disolverse en el tracto gastrointestinal, por lo que no se pueden difundir en la pared intestinal. Si entran en las membranas, pueden resultar atrapados, con los efectos tóxicos resultantes.

20 El coeficiente de partición puede ser también calculado. Un método para la predicción de log P desarrollado en Molinspiration (miLog P1.2) está basado en las contribuciones de grupos. Las contribuciones de grupos han sido obtenidas ajustando el log P calculado con el log P experimental para un conjunto de adiestramiento de varios miles de moléculas similares a fármacos. El método puede ser usado como en [www.molinspiration.com/services/logp.html](http://www.molinspiration.com/services/logp.html) (QSAR 15,403 (1996)). Están disponibles también muchos otros programas de determinación de Log P.

25 En una cierta realización de la invención, los profármacos de la fórmula (I) pueden ser usados como una medicina. En otra realización, los profármacos de fórmula (I) pueden ser usados para elaborar un medicamento para prevenir o tratar una infección de HIV.

30 La invención proporciona adicionalmente un método para prevenir o tratar una infección de HIV administrando un profármaco de fórmula (I) mediante la invención. Los profármacos de fórmula (I) pueden ser administrados a cualquier hospedante, incluido un ser humano, un animal no humano o mamíferos, en una cantidad eficaz para prevenir o tratar la infección de HIV.

35 Para optimizar adicionalmente el perfil fármaco cinético de los profármacos de fórmula (I), estos pueden ser administrados conjuntamente con un vehículo de suministro adecuado (por ejemplo, microcápsulas, microesferas, películas de polímeros biodegradables, sistemas de suministro basados en lípidos como liposomas y espumas de lípidos, infiltraciones viscosas y barreras mecánicas absorbibles) útiles para mantener las concentraciones necesarias de los profármacos o el compuesto terapéutico D en el sitio de la enfermedad.

40 El profármaco o "medicamento" puede ser administrado mediante cualquier método adecuado dentro de los conocimientos en la técnica. Los modos de administración conocidos para la técnica para agentes terapéuticos incluyen la parenteral, por ejemplo, intravenosa (por ejemplo, inhibidores de anticuerpos), intraperitoneal, intramuscular, intradérmica y epidérmica que incluyen subcutánea e intradérmica, oral o aplicación a superficies mucosales, por ejemplo, mediante una administración intranasal usando una inhalación de suspensiones en aerosoles, e implantando a un músculo u otro tejido en el sujeto. Están contemplados también los supositorios para preparaciones tópicas localmente aplicadas. Dependiendo de la vía y lugar de administración, pueden ser considerados más restos de péptidos hidrófobos o hidrófilos del profármaco.

50 En la presente invención, los profármacos de fórmula (I) son introducidos en cantidades suficientes para prevenir, reducir o tratar una infección de HIV.

55 El modo más eficaz de administración y el régimen de dosificación para los profármacos o el "medicamento" en los métodos de la presente invención dependen de la gravedad de la infección de HIV, la salud del sujeto, el historial médico previo, edad, peso, altura, sexo y respuesta al tratamiento y el criterio del facultativo encargado. Por lo tanto, la cantidad de profármaco que va a ser administrado, así como el número y cantidad de veces de las administraciones posteriores son determinados mediante una terapia de dirección profesional médica basada en la respuesta del sujeto individual. Inicialmente, estos parámetros son fácilmente determinados por los facultativos expertos usando ensayos apropiados en modelos de animales para una mayor seguridad y eficacia, y en sujetos humanos durante pruebas clínicas de formulaciones de los profármacos. Después de la administración, la eficacia de la terapia que usa los profármacos es valorada mediante diversos métodos que incluyen la valoración del cuadro clínico.

65 Por tanto, los compuestos de la presente invención pueden ser usados en animales, preferentemente en mamíferos y, en particular, en seres humanos como productos farmacéuticos por sí mismo, en mezclas con otros en la forma de preparaciones farmacéuticas.

## ES 2 295 879 T3

Además de ello, la presente invención se refiere a preparaciones farmacéuticas que contienen una dosis eficaz de al menos de uno de los profármacos de fórmula (I) además de excipientes y componentes auxiliares inocuos habituales en farmacia. Las preparaciones farmacéuticas contienen normalmente 0,1% a 90% en peso del profármaco. Las preparaciones farmacéuticas pueden ser preparadas de una manera conocida por sí mismo por un experto en la técnica. Para estos fines, al menos un profármaco de la presente invención, junto con uno o más excipientes y/o componentes auxiliares farmacéuticos líquidos y, si se desea, en combinación con otros compuestos farmacéuticos activos, se llevan a una forma de administración adecuada o forma de dosificación que puede ser seguidamente usada como un producto farmacéutico en medicina humana o medicina veterinaria.

Los vehículos farmacéuticos adecuados para ser usados en dichas composiciones farmacéuticas y su formulación son bien conocidos por los expertos en la técnica, y no hay ninguna restricción particular en cuanto su selección en la presente invención. Los vehículos o excipientes adecuados conocidos por el experto en la técnica son solución salina, solución de Ringer, solución de dextrosa, solución de Hank, aceites fijos, oleato de etilo, dextrosa al 5% en solución salina sustancias que aumentan la isotonicidad (como azúcares o cloruro de sodio) y la estabilidad química, tampones y conservantes. Otros vehículos adecuados incluyen cualquier vehículo que no induzca por sí mismo la producción de anticuerpos perjudiciales para el individuo que recibe la composición, como proteínas, polisacáridos, poli(ácidos lácticos), poli(ácidos glicólicos), aminoácidos polímeros y copolímeros de aminoácidos. Pueden incluir también aditivos como agentes humectantes, agentes dispersantes, espesantes, adhesivos, agentes emulsionantes, disolventes, revestimientos, agentes antibacterianos y antifúngicos (por ejemplo, fenol, ácido sórbico o clorobutanol) y similares, con la condición de que sean congruentes con la práctica farmacéutica, es decir, vehículos y aditivos que no creen un deterioro permanente en mamíferos. Las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden ser preparadas de cualquier manera conocida, ejemplo, mediante mezcladura homogénea, revestimiento y/o trituración de ingredientes activos, en un procedimiento de una etapa o de etapas múltiples, con el material portador seleccionado y, cuando sea apropiado, los demás aditivos como agentes tensioactivos, que pueden ser preparados mediante micronización, por ejemplo, con el fin de obtener los en la forma de microesferas que tienen habitualmente un diámetro de aproximadamente 1 a 10  $\mu\text{m}$ , a saber, para la elaboración de microesferas para una liberación controlada o sostenida de los ingredientes activos.

Los agentes tensioactivos adecuados que van a ser usados en las composiciones farmacéuticas de la presente invención son materiales no iónicos, catiónicos y/o aniónicos que tienen buenas propiedades emulsionantes, dispersantes y/o humectantes. Los tensioactivos aniónicos adecuados incluyen tanto jabones solubles en agua como agentes tensioactivos sintéticos solubles en agua. Los jabones adecuados son sales de metales alcalinos o alcalinotérreos, sales de amonio sin sustituir o sustituidas de ácidos grasos superiores (C10-C22), por ejemplo, sales de potasio o sodio de ácido oleico o esteárico, o de mezclas de ácidos grasos naturales que pueden ser obtenidos a partir de aceite o de coco o aceite de sebo. Los tensioactivos sintéticos incluyen sales de sodio o calcio de poli(ácidos acrílicos); sulfonatos y sulfatos grasos; derivados sulfonados de bencimidazol y alquilaril-sulfonatos. Los sulfonatos o sulfatos grasos están habitualmente en la forma de sales de metales alcalinos o alcalinotérreos, sales de amonio sin sustituir o sales sustituidas con un radical alquilo o acilo que tiene de 8 a 22 átomos de carbono, por ejemplo, la sal de sodio o calcio de ácido lignosulfónico o ácido dodecilsulfónico o una mezcla de alcoholes grasos obtenida a partir de ácidos grasos naturales, sales de metales alcalinos o alcalinotérreos de éteres de ácidos sulfúricos o sulfónicos (como lauril-sulfato de sodio) y ácidos sulfónicos de aductos de alcohol graso/óxido de etileno. Los derivados de bencimidazol sulfonados adecuados contienen preferentemente 8 a 22 átomos de carbono. Ejemplos de alquilarilsulfonatos, son las sales de sodio, calcio o alcanolaminas de ácido dodecil-benceno-sulfónico o ácido dibutil-naftaleno sulfónico o un producto de condensación de ácido naftaleno-sulfónico/farmaldehído. También son adecuados los correspondientes fosfatos, por ejemplo, sales de éster de ácido fosfórico y un aducto de p-nonilfenol con óxido de etileno y/o propileno, o forfolípidos. Los forfolípidos adecuados para estos fines son los forfolípidos naturales (procedentes de células de animales o plantas) o sintéticos del tipo cefalina o lecitina, como por ejemplo, fosfatidiletanonamina, fosfatidil-serina, fosfatidil-glicerina, lisolecitina, cardiolipina, dioctanilfosfatidil-colina, dipalmitoilfosfatidil-colina y sus mezclas.

Los tensioactivos no iónicos adecuados incluyen derivados polietoxilados y polipropoxilados de alquil-fenoles, alcoholes grasos ácidos grasos aminas, o amidas alifáticas que contienen al menos 12 átomos de carbono en la molécula, alquilarenosulfonatos, dialquilsulfosuccinatos, como derivados de poliglicol-éter o alcoholes alifáticos y cicloalifáticos, ácidos grasos saturados e insaturados y alquil-fenoles, en que dichos derivados contienen preferentemente 3 a 10 grupos glicol-éter y 8 a 20 átomos de carbono en el resto hidrocarbonado (alifático) y 6 a 18 átomos de carbono en el resto alquilo del alquilfenol. Otros tensioactivos no iónicos adecuados son los aductos solubles en agua de poli(óxido de etileno) con polipropilenglicol, etilendiamino-propilenglicol que contienen 1 a 10 átomos de carbono en la cadena alifática, aductos que contienen 20 a 250 grupos etilenglicol-éter y/o 10 a 100 grupos propilenglicol-éter. Estos compuestos contienen habitualmente de 1 a 5 unidades de etilenglicol por unidad de propilenglicol. Ejemplos representativos de tensioactivos no iónicos son nonilfenol-poliexotietanol, éteres poliglicólicos de aceite de ricino, aductos de óxidos de polipropileno/polietileno, tributilfenoxi-poliexotietanol, polietilenglicol y octilfenoxi-poliexotietanol. Los ésteres de ácidos grasos como polietileno-sorbitán (como polioxi-etileno-trioleato de sorbitán), glicerol, sorbitán, sacarosa y pentaeritritol son también tensioactivos no iónicos adecuados.

Tensioactivos catiónicos adecuados incluyen sales de amonio cuaternario, preferentemente haluros, que tienen 4 radicales hidrocarbonatos opcionalmente sustituidos con halo, fenilo, fenilo sustituido o hidroxilo; por ejemplo, sales de amonio cuaternario que contienen un sustituyente en N en al menos un radical alquilo de C<sub>8</sub>-C<sub>22</sub> (por ejemplo, cetilo, laurilo, palmitilo, miristilo, oleilo y similares) y como sustituyentes adicionales, radicales alquilo inferior sin sustituir o halogenado, bencilo y/o hidroxilo-alquilo inferior.

Una descripción más detallada de agentes tensioactivos adecuados para estos fines puede ser encontrada, por ejemplo, en la publicación "McCutcheon's Detergents and Emulsifiers Annual" (MC Publishing Corp., Ridgewood, New Jersey, 1981), "Tensid-Taschenbuch", 2nd ed. (Hanser Verlag, Vienna, 1981) y "Encyclopaedia of Surfactants", (Chemical Publishing Co., New York, 1981).

5 Pueden ser incluidos ingredientes adicionales con el fin de controlar la duración de la acción del ingrediente activo en la composición. Por tanto, pueden ser conseguidas composiciones de liberación controlada seleccionado polímeros vehículo apropiados como, por ejemplo, poliésteres, poliaminoácidos, polivinilpirrolidona, copolímeros de etileno-acetato de vinilo, metilcelulosa, carboximetilcelulosa, sulfato de protamina y similares. La velocidad de liberación del fármaco y la duración de la acción pueden ser controladas también incorporando el ingrediente activo en forma de partículas, por ejemplo, microcápsulas de una sustancia polímera como hidrogeles, poli(ácido láctico), hidroximetilcelulosa, poli(metacrilato de metilo) y los demás polímeros anteriormente descritos.

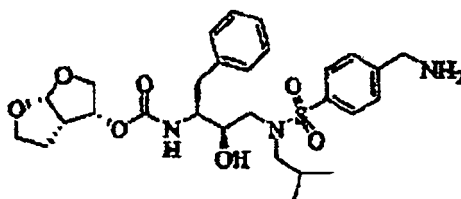
15 Estos métodos incluyen sistemas de suministro de fármacos coloidales como liposomas, microesferas, microemulsiones, nanopartículas, nanocápsulas, etc. Dependiendo de la vía de administración, la composición farmacéutica puede requerir revestimientos protectores. Las formas farmacéuticas adecuadas para un uso inyectable incluyen soluciones acuosas esterilizadas o soluciones o dispersiones no acuosas (suspensiones, emulsiones) y polvos esterilizados para su preparación extemporánea. Los vehículos típicos para estos fines, por lo tanto incluyen tampones acuosos biocompatibles, etanol, glicerol, propilenglicol, polietilenglicol, aceites vegetales como aceite de oliva y ésteres orgánicos inyectables como oleatos de etilo y similares, y sus mezclas. Los vehículos parenterales incluyen solución de cloruro de sodio, dextrosa de Ringer, dextrosa y cloruro de sodio, solución de Ringer lactatada, o aceites fijos. Los vehículos intravenosos incluyen rellenos fluidos y nutrientes, rellenos de electrolitos (como los basados en solución de Ringer o dextrosa) y similares. Pueden estar presentes también conservantes y otros aditivos como, por ejemplo, antimicrobianos, antioxidantes, agentes quelantes y gases inertes y similares.

25 La invención se describirá adicionalmente en los siguientes ejemplos, que no limitan el alcance de la invención descrito en las reivindicaciones.

## Ejemplos

### Parte experimental para la preparación de compuestos de fórmula (I)

Los ejemplos que describen la preparación de compuestos profármacos de fórmula (I) estarán basados en el inhibidor de HIV proteasa que tiene la fórmula

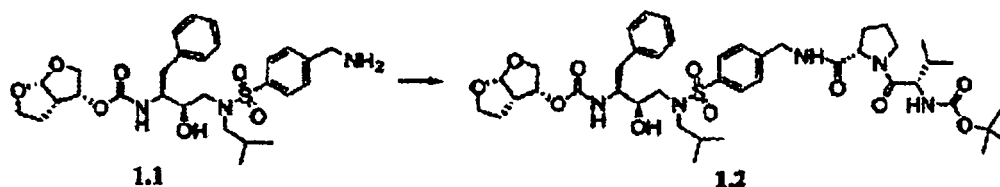


45 que se denominará en lo sucesivo PI 1

### Ejemplo 1

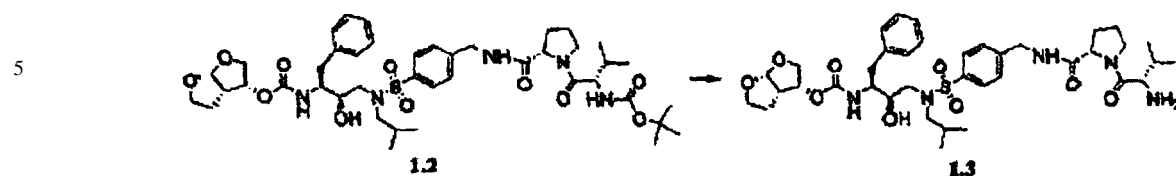
#### Val-Pro-PI 1

#### Etapa 1



55 Se disolvieron compuesto 1.1 (0,95 g; 1,69 mmol) y Boc-Val-Pro-OH (0,53 g; 1,7 mmol) en 10 ml de N,N-dimetilformamida. Se añadieron EDCI (0,36 g; 1,9 mmol) y HOAt (0,023 g; 0,17 mmol) y se agitó a temperatura ambiente durante 20 horas. La mezcla de reacción se vertió en H<sub>2</sub>O y se extrajo dos veces con acetato de etilo. La capa orgánica combinada se lavó con salmuera y seguidamente se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. El disolvente se separó y el producto en bruto obtenido se purificó por cromatografía de columna (eluyente: acetato de etilo). El compuesto 1:2 se obtuvo en forma de un sólido blanco (rendimiento 55%, pureza 95% LC-MS).

## Etapa 2



10 A una solución de compuesto 1.2 (0,77 g; 0,9 mmol) en 10 ml  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  se añadieron 10 ml de ácido trifluoroacético. Después de agitar la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 3 horas, el disolvente se separó. La mezcla en bruto se purificó por cromatografía de columna, produciendo 0,42 g de compuesto 1.3 (rendimiento 61%, pureza 95% LC-MS).

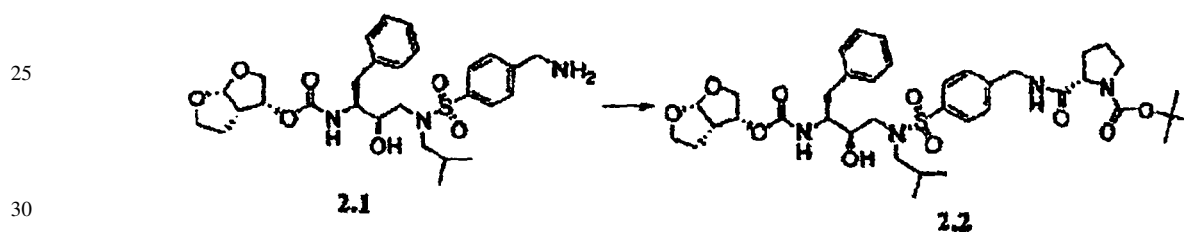
15

## Ejemplo 2

*Asp-Pro-PI 1*

20

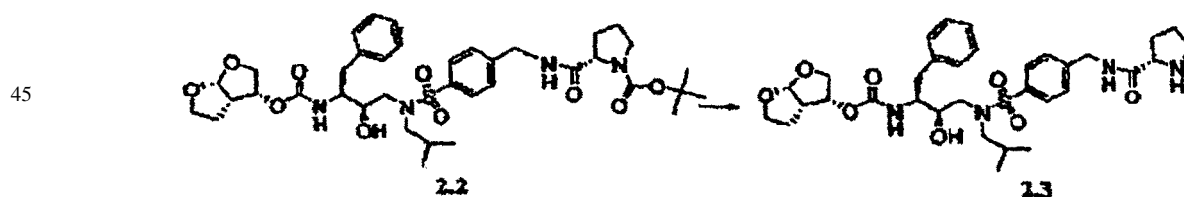
## Etapa 1



30

35 Se disolvieron compuesto 2.1 (3,16 g; 5,63 mmol) y Boc-Pro-OH (1,33 g; 6,18 mmol) en 30 ml N,N-dimetilformamida. Se añadieron EDCI (1,18 g; 6,18 mmol) y HOAt (0,077 g; 0,5 mmol) y se agitó durante 36 horas. Se añadieron acetato de etilo y HCl 0,1 N y la mezcla de reacción resultante se extrajo tres veces con acetato de etilo. La capa orgánica combinada se lavó con HCl 0,1 N  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{NaHCO}_3$  saturado, agua y salmuera. Después de secar sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y evaporar el disolvente, se obtuvo una espuma blanca (4,39 g, 103%), después de triturar en diisopropil-éter, se obtuvieron 3,9 g de compuesto 2.2 (rendimiento 93%, pureza 97% LC-MS).

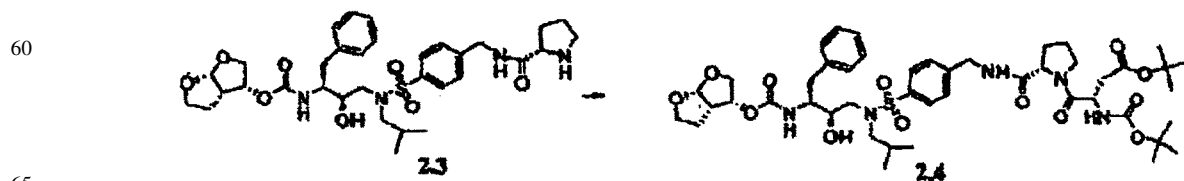
## 40 Etapa 2



50 Una mezcla de compuesto 2.2 (3,7 g; 4,8 mmol) y 15 ml de ácido trifluoroacético en 40 ml  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. Después de evaporar el disolvente, la mezcla en bruto se dividió en partes entre acetato de etilo y  $\text{NaHCO}_3$  saturado. La capa orgánica se separó, se lavó con salmuera y se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . Una nueva suspensión del sólido en bruto en diisopropil-éter y una filtración produjeron 2,73 g de compuesto 2.3 (rendimiento 85%, pureza > 90% NMR).

55

## Etapa 3

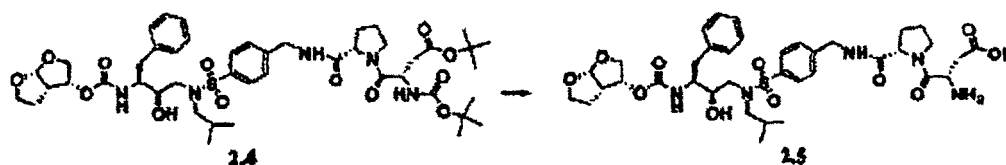


65

## ES 2 295 879 T3

A una solución de compuesto 2.3 (1,0 g; 1,5 mmol) y Boc-Asp (OtBu)-OH (0,48 g; 1,7 mmol) en 30 ml de N,N-dimetilformamida se añadió EDCI (0,32 g; 1,7 mmol) y HOAt (0,02 g; 0,15 mmol). Después de agitar durante una noche a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se dividió en partes entre acetato de etilo y HCl 0,1 N. La capa de H<sub>2</sub>O se extrajo 3 veces y la capa orgánica combinada se lavó con HCl 0,1 N, H<sub>2</sub>O, NaHCO<sub>3</sub> saturado y H<sub>2</sub>O. Después de secar sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y el disolvente se separó y el residuo se trituró en diisopropil-éter, se obtuvieron 1,12 g de compuesto 2.4 (rendimiento 79%, pureza 94% LC-MS).

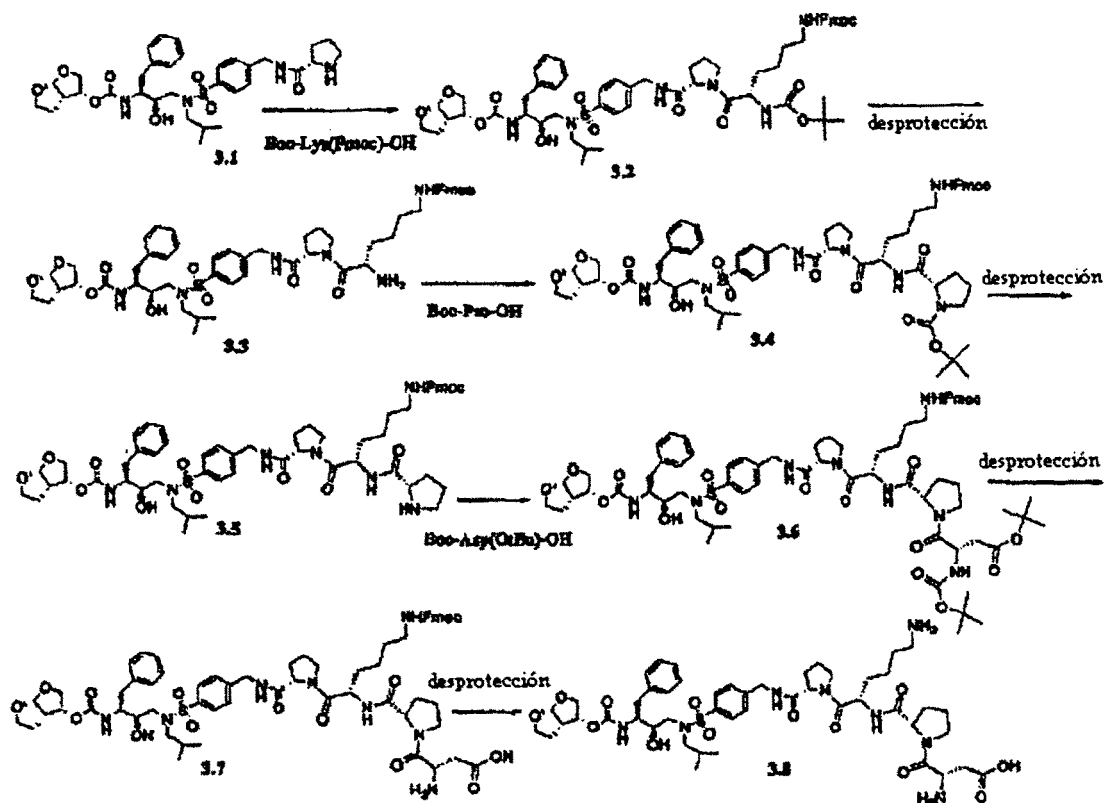
### Etapa 4



La desprotección del compuesto 2.4 a 2.5 se realizó de forma análoga al procedimiento de desprotección de compuesto 2.2 a compuesto 2.3.

### Ejemplo 3

#### Asp-Pro-Lys-Pro-PI 1



Usando procedimientos de reacción análogos a los descritos en los ejemplos 1 y 2, se acopló Boc-Lys (Fmoc)-OH a compuesto 3.1 (preparado como en el ejemplo 2), produciendo compuesto 3.2. Después de una desprotección de Boc, se obtuvo compuesto 3.3, seguidamente se acopló Boc-Pro-OH a compuesto 3.3, produciendo compuesto 3.4 que fue posteriormente desprotegido de Boc produciendo así compuesto 3.5. El compuesto 3.5 se acopló con Boc-Asp (OtBu)-OH produciendo compuesto 3.6 que fue desprotegido primero de Boc y seguidamente desprotegido de Fmoc usando dimetilamina en tetrahidrofurano, produciendo así compuesto 3.8 correspondiente a Asp-Pro-Lys-Pro-PI 1.

## ES 2 295 879 T3

### Ejemplo 4

#### *Conversión de Val-Pro-PI 1 en PI 1 por medio de CD26 purificada, suero humano y bovino*

5 El derivado dipéptido (Val-Pro) de PI 1 (Val-Pro-PI 1) fue expuesto a CD26 purificada (Fig. 10), y 10% o 2% de suero humano o bovino, diluido en PBS (solución salina tamponada con fosfato) (Fig. 10 y 11). Se convirtió eficazmente Val-Pro-PI 1 en PI 1 en todas las afecciones ensayadas. En 60 minutos, el Val-Pro-PI 1 estaba completamente convertido en PI 1 por medio de CD26 purificada. Un 10% de BS o HS se convirtió en 40 a 70% de Val-Pro-PI 1 en PI 1 en una hora (Fig. 10). Un dos por ciento de BS y HS convirtieron Val-Pro-PI 1 en PI 1 en 8% y 25%, respectivamente. Después de 4 horas, un 35% y 95% de compuesto fue hidrolizado por BS y HS, respectivamente (Fig. 11).

15 En presencia de GP-pNA (glicilpropil-para-nitroanilida) 50  $\mu$ m, Val-Pro-PI 1 100  $\mu$ m compitió eficazmente con el sustrato por CD26 (Fig. 12). También, el Val-Pro-PI 1 20  $\mu$ m pudo inhibir la liberación de pNA de GP-pNA, presumiblemente mediante la inhibición competitiva de la reacción catalizada por CD26. La conversión de GP-pNA en pNA por medio de BS al dos por ciento en PBS fue incluso más eficazmente inhibida por Val-Pro-PI 1 que por CD26 purificada (Fig. 13). También, la conversión de GP-pNA catalizada por HS (2% en PBS) en pNA fue competitivamente inhibida por Val-Pro-PI 1 (Fig. 14).

### Ejemplo 5

#### *Separación de compuestos de Val-Pro-PI 1 y PI 1*

20 Los compuestos fueron separados en una fase inversa RP-8 (Merck) usando un gradiente con tampón A ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  50 mM + ácido heptano-sulfónico 5 mM pH 3,2) y tampón B (acetonitrilo).

25 0  $\rightarrow$  2 min: 2% tampón B; 2  $\rightarrow$  8 min: 20% tampón B; 8  $\rightarrow$  10 min: 25% tampón B; 10  $\rightarrow$  12 min: 35% tampón B; 12  $\rightarrow$  30 min: 50% tampón B; 30  $\rightarrow$  35 min: 50% tampón B; 35  $\rightarrow$  40 min: 2% tampón B; 40  $\rightarrow$  45 min: 2% tampón B. Los valores de  $R_t$  de Val-Pro-PI 1 y PI 1 fueron 18,7 y 17,7 min, respectivamente.

### Ejemplo 6

#### *Composiciones farmacéuticas*

##### *Cápsulas*

35 Un compuesto de fórmula (I) se disuelve en un disolvente orgánico como etanol, metanol o cloruro de metileno, preferentemente una mezcla de etanol y cloruro de metileno. Polímeros como copolímero de polivinilpirrolidona con acetato de vinilo (PVP-VA) o hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC), normalmente a 5 mPa.s, se disuelven en disolventes orgánicos como etanol, metanol o cloruro de metileno. Adecuadamente el polímero es disuelto en etanol. El polímero y las soluciones de compuestos se mezclan y posteriormente se secan por pulverización. La relación de compuesto/polímero se seleccionó de 1/1 a 1/6. Los intervalos intermedios son 1/1,5 y 1/3. Una relación adecuada es 1/6. El polvo secado por aspersión, una dispersión sólida, es posteriormente introducido en cápsulas para su administración. El contenido de fármaco en una cápsula varía en el intervalo entre 50 y 100 mg, dependiendo del tamaño de cápsula usado.

##### *Comprimidos revestidos con películas*

##### *Preparación del núcleo del comprimido*

50 Una mezcla de 100 g de un compuesto de fórmula (I), 570 g de lactosa y 200 g almidón se mezcla bien y posteriormente se humidifica con una solución de 5 g de dodecil-sulfato de sodio y 10 g de polivinilpirrolidona en aproximadamente 200 ml de agua. La mezcla de polvo seco se tamiza, se seca y se vuelve a tamizar. Seguidamente se añaden 100 g de celulosa microcristalina y 15 g de aceite vegetal hidrogenado. El conjunto se mezcla bien y comprime en forma de comprimidos, proporcionando 10.000 comprimidos, que comprenden cada uno 10 mg del profármaco de fórmula (I).

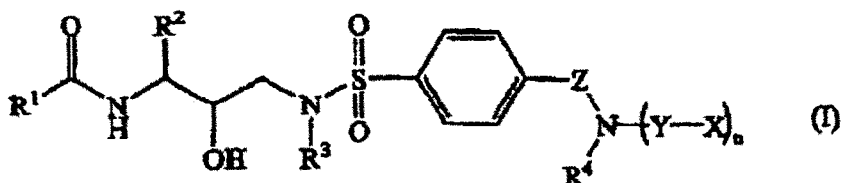
##### *Revestimiento*

60 A una solución de 10 g de metilcelulosa en 75 ml de etanol desnaturalizado se añade una solución de 5 g de etilcelulosa en 150 ml de diclorometano. Seguidamente se añaden 75 ml de diclorometano y 2,5 ml de 1,2,3-propanotriol. Se funden 10 g de polietilenglicol y se disuelven en 75 ml de diclorometano. Esta última solución se añade a la anterior y seguidamente se añaden 2,5 mg de octadecanoato de magnesio, 5 g de polivinilpirrolidona y 30 ml de suspensión coloreada concentrada y el conjunto se homogeneiza. Los núcleos de los comprimidos son revestidos con la mezcla así obtenida en un aparato para revestimientos.

65

## REIVINDICACIONES

1. Un profármaco, que tiene la fórmula



su forma estereoisómera o sal,

en la cual

n es 1, 2, 3, 4 ó 5;

Y es prolina, alanina, hidroxiprolina, dihidroxiprolina, ácido tiazolidinocarboxílico (tioprolina), deshidroproni-  
na, ácido piperídico (L-homoprolina), ácido azetidincarboxílico, ácido aziridinocarboxílico, glicina, serina, valina,  
leucina, isoleucina y treonina;

X se selecciona entre cualquier aminoácido en la configuración D o L;

X e Y en cada repetición [Y-X] se escogen independientemente uno de otro e independientemente de otras repeti-  
ciones;

Z es un enlace directo o un grupo hidrocarbonado saturado de cadena lineal o ramificada bivalente que tiene de 1  
a 4 átomos de carbono;

R<sup>1</sup> es un grupo arilo, heteroarilo, ariloxi, heteroariloxi, ariloxi-alquilo C<sub>1-4</sub>, heterocicloalquiloxi, heterocicloalquil-  
alquiloxi C<sub>1-4</sub>, heteroariloxi-alquilo C<sub>1-4</sub>, heteroaril-alquiloxi C<sub>1-4</sub>;

R<sup>2</sup> es aril-alquilo C<sub>1-4</sub>;

R<sup>3</sup> es alquilo C<sub>1-10</sub>, alquenilo C<sub>2-6</sub> o cicloalquil C<sub>3-7</sub>-alquilo C<sub>1-4</sub>;

R<sup>4</sup> es hidrógeno o alquilo C<sub>1-4</sub>;

arilo cuando es usado solo o en combinación con otro grupo significa fenilo opcionalmente sustituido con uno o  
más sustituyentes seleccionados cada uno independientemente entre el grupo que consiste en alquilo C<sub>1-4</sub>, hidroxil,  
alquiloxi C<sub>1-4</sub>, nitro, ciano, halo, amino, mono- o di-(alquil C<sub>1-4</sub>)-amino y amido;

heteroarilo, cuando es usado solo o en combinación con otro grupo, significa un heterociclo aromático monocíc-  
lico o bicíclico que tiene uno o más heteroátomos de oxígeno, azufre o nitrógeno, heterociclo aromático que puede  
estar opcionalmente sustituido en uno o más átomos de carbono con un sustituyente seleccionado entre el grupo que  
consiste en alquilo C<sub>1-4</sub>, alquiloxi C<sub>1-4</sub>, amino, hidroxil, arilo, amido, mono- o di-(alquil C<sub>1-4</sub>)-amino, halo, nitro, he-  
terocicloalquilo y alquiloxi C<sub>1-4</sub>-carbonilo y heterociclo aromático que puede estar también opcionalmente sustituido  
en un átomo de nitrógeno secundario con alquilo C<sub>1-4</sub> o aril-alquilo C<sub>1-4</sub>;

heterocicloalquilo, cuando es usado solo en combinación con otro grupo, significa un heterociclo monocíclico o  
bicíclico saturado o parcialmente insaturado, que tiene uno o más heteroátomos de oxígeno, azufre o nitrógeno, hetero-  
ciclo que puede estar opcionalmente sustituido en uno o más átomos de carbono con un sustituyente seleccionado entre  
el grupo que consiste en alquilo C<sub>1-4</sub>, alquiloxi C<sub>1-4</sub>, hidroxil, halo y oxo, y heterociclo que puede estar opcionalmente  
sustituido en un átomo de nitrógeno secundario con alquilo C<sub>1-4</sub> o aril-alquilo C<sub>1-4</sub>.

2. Un profármaco según la reivindicación 1, en el cada X se selecciona independientemente entre un aminoácido  
que se produce de forma natural.

3. Un profármaco según la reivindicación 1 ó 2, en el que n es 1, 2 ó 3.

4. Un profármaco según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que n es 2 ó 3 y en el que al menos un  
X es un aminoácido hidrófobo o aromático.

5. Un profármaco según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que n es 2 ó 3 y en el que al menos un  
X es un aminoácido neutro o ácido.

## ES 2 295 879 T3

6. Un profármaco según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que n es 2 ó 3 y en el que al menos un X es un aminoácido básico.

7. Un profármaco según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que  $-(Y-X)_n$  comprende X-Pro, X-Ala, X-Gly, X-Ser, X-Val o X-Leu amino-terminales.

8. Un profármaco según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en el que  $-(Y-X)_n$  comprende X-prolina o X-alanina amino-terminales.

9. Un profármaco según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en el que cada Y es independientemente prolina, alanina, glicina, serina, valina o leucina.

10. Un profármaco según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en el que cada Y es independientemente prolina o hidroxiprolina o dihidroxiprolina o alanina.

11. Un profármaco según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en el que cada Y es independientemente prolina o alanina.

12. Un profármaco según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en el que  $-(Y-X)_n$  es  $-(Y-X)_{1 \text{ ó } 2}$ -Y-Val.

13. Un profármaco según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en el que  $-(Y-X)_n$  es  $-(Y-X)_{1 \text{ ó } 2}$ -Pro-Val.

14. Un profármaco según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, en el que el oligopéptido  $(Y-X)_n$  está constituido por repeticiones de (Y-X) seleccionadas entre el grupo que consiste en Pro-Val, Pro-Asp, Pro-Ser, Pro-Lys, Pro-Arg, Pro-His, Pro-Phe, Pro-Ile, Pro-Leu, Ala-Val, Ala-Asp, Ala-Ser, Ala-Lys, Ala-Arg, Ala-His, Ala-Phe, Ala-Ile y Ala-Leu.

15. Un profármaco según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, en el que  $R^1$  es heterocicloalquiloxi, heteroarilo, heteroaril-alquiloxi  $C_{1-4}$ , arilo o ariloxi-alquilo  $C_{1-4}$ .

16. Un profármaco según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 15, en el que  $R^1$  es hexahidrofuro[2,3-b]furan-3-iloxi, tetrahidrofuran-3-iloxi, quinolin-2-ilo, tiazol-5-ilmetoxi, 3-hidroxi-2-metil-1-fenilo, 2,6-dimetil-fenoximetilo.

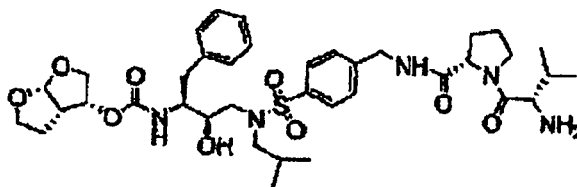
17. Un profármaco según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 16, en el que  $R^1$  es hexahidrofuro[2,3-b]furan-3-iloxi, tetrahidrofuran-3-iloxi, quinolin-2-ilo, tiazol-5-ilmetiloxi, 3-hidroxi-2-metil-1-fenilo o 2,6-dimetil-fenoximetilo.

18. Un profármaco según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 17, en el que  $R^1$  es (3R,3aS,6aR)-hexahidrofuro[2,3-b]furan-3-iloxi.

19. Un profármaco según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 18, en el que  $R^2$  es fenilmetilo;  $R^3$  es isobutilo y  $R^4$  es hidrógeno.

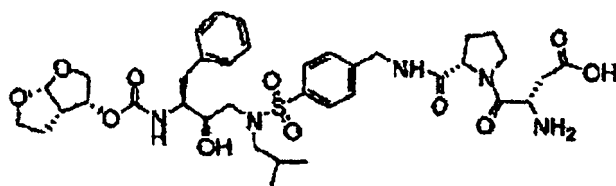
20. Un profármaco según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 19, en el que Z es metileno.

21. Un profármaco según la reivindicación 1, en el que el profármaco es



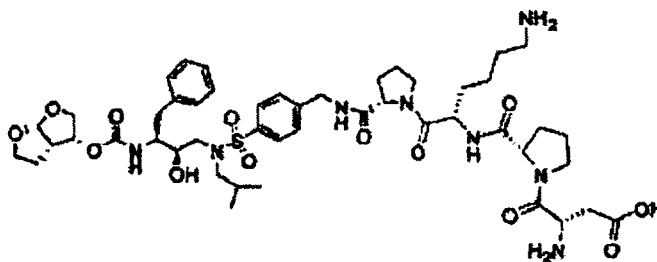
o una sal del mismo.

22. Un profármaco según la reivindicación 1, en el que el profármaco es



o una sal del mismo.

23. Un profármaco según la reivindicación 1, en el que el profármaco es



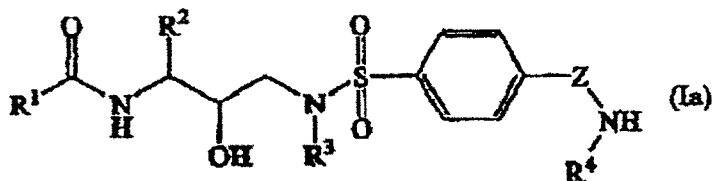
o una sal del mismo.

24. un profármaco según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 23, para ser usado como una medicina.

25. Uso de un profármaco según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 23, para la elaboración de un medicamento útil para prevenir o tratar una infección de HIV.

26. Una preparación farmacéutica, que contiene una dosis eficaz de al menos uno de los profármacos reivindicados en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 23, además de excipientes y componentes auxiliares habituales farmacéuticamente inocuos.

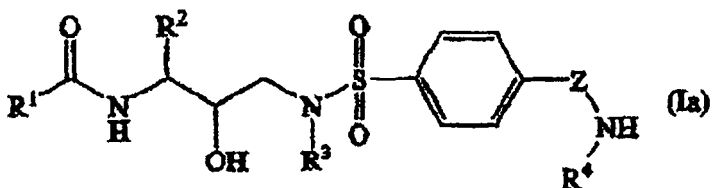
27. Un método para modular la solubilidad en agua, modular la unión de proteínas en plasma y/o la biodisponibilidad de un compuesto terapéutico



acoplado un péptido de fórmula H-(Y-Y)<sub>n</sub> a dicho fármaco, en el que n, Y, Y, R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup> y Z son como se definieron en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 23 y en el que el conjugado resultante es escindible por medio de una dipeptidil-peptidasa.

28. Un método según la reivindicación 27, en el que la dipeptidil-peptidasa es CD26.

29. Un método para producir un profármaco de un compuesto terapéutico



en el que el profármaco es escindible por medio de una dipeptidil-peptidasa en el que el método comprende la etapa de unir un compuesto terapéutico y un péptido de fórmula H-(Y-Y)<sub>n</sub>, en la que n, Y, R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup> y Z son como se definieron en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 20 y en el que el conjugado resultante es escindible por medio de una dipeptidil-peptidasa.

30. Un método según la reivindicación 29, en el que la dipeptidil-peptidasa es CD26.

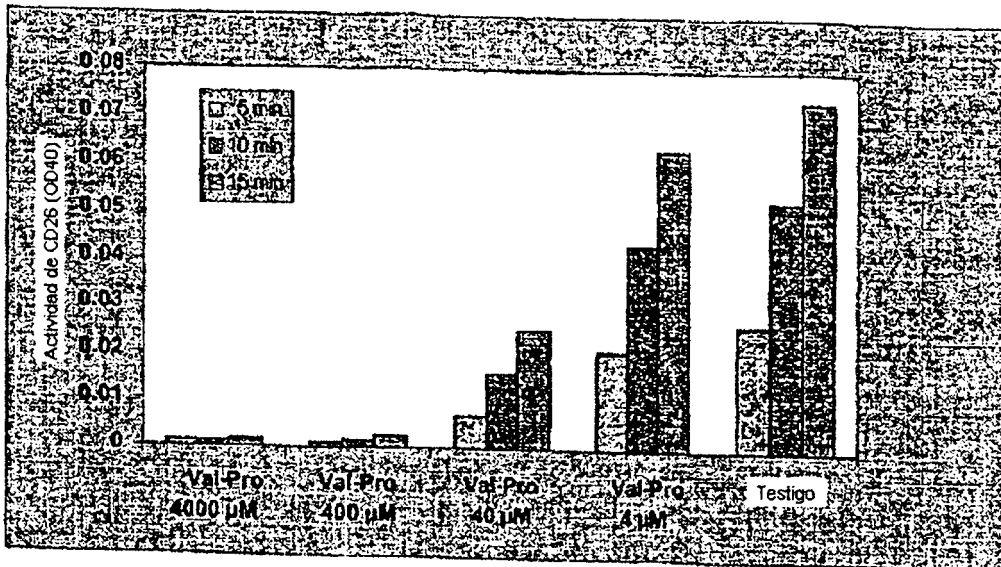


Figura 1

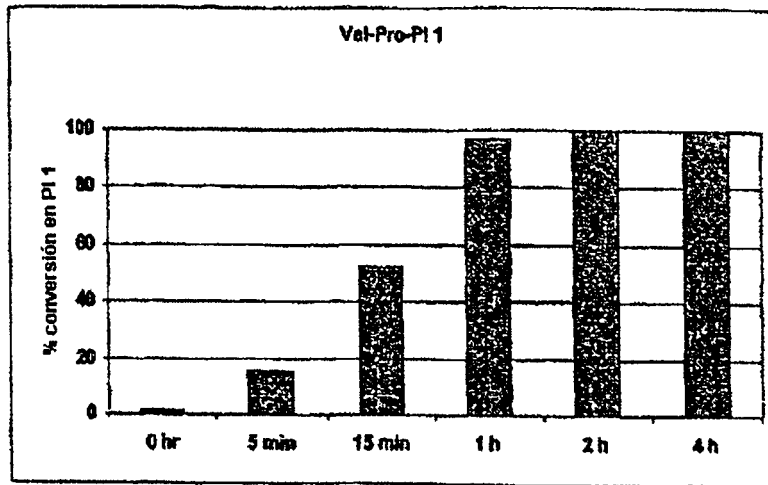


Figura 2a

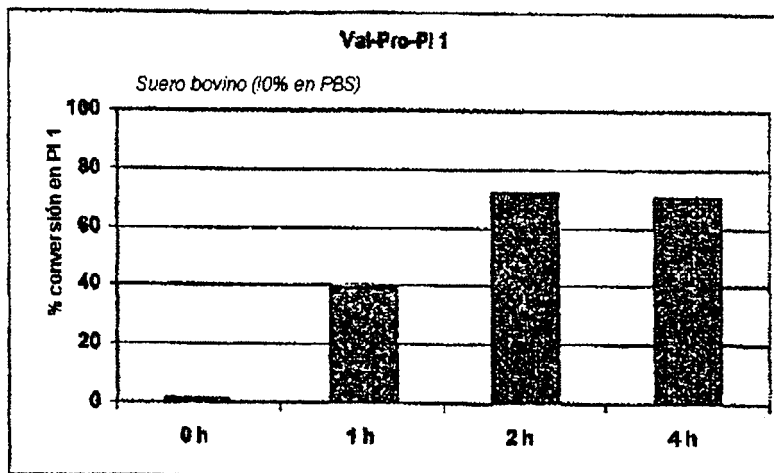


Figura 2b

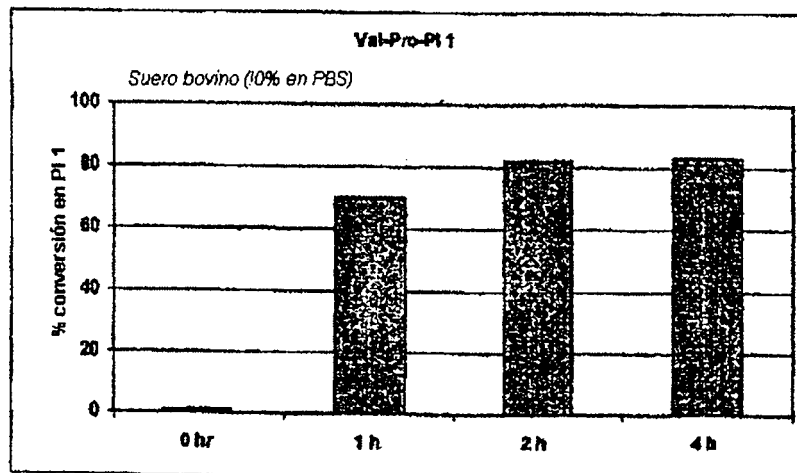


Figura 2c

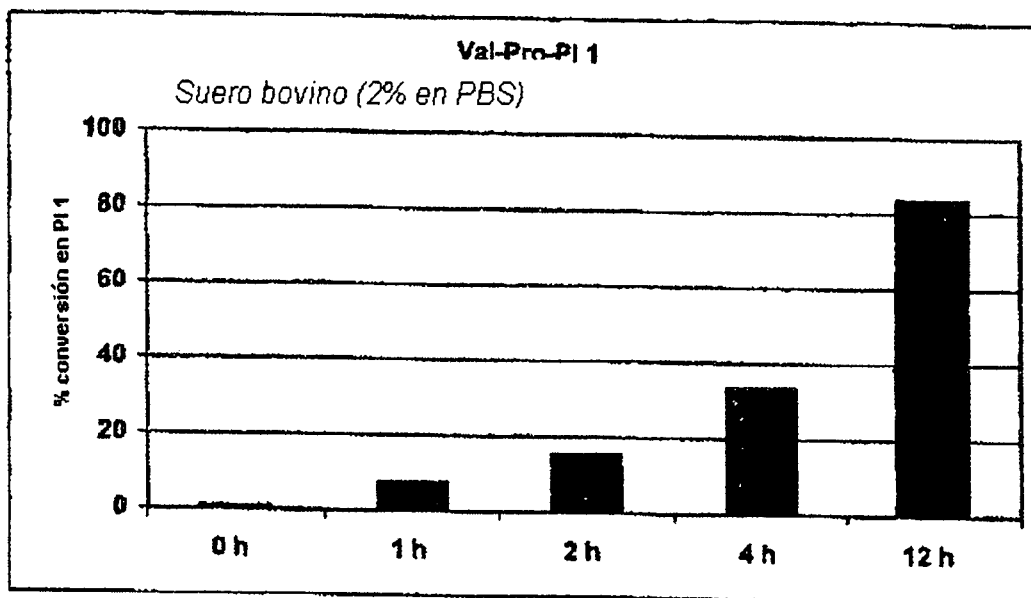


Figura 3a

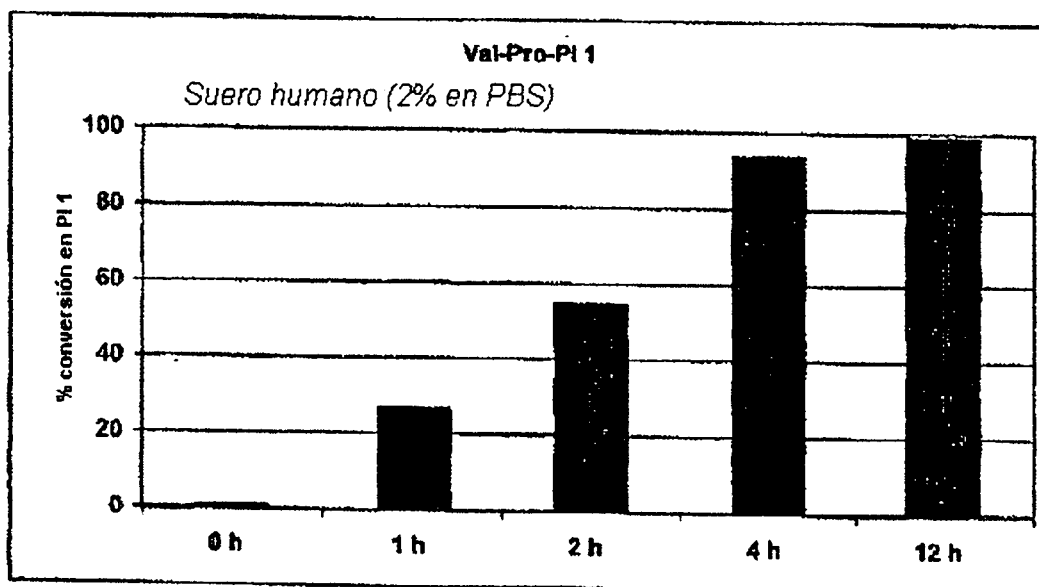


Figura 3b

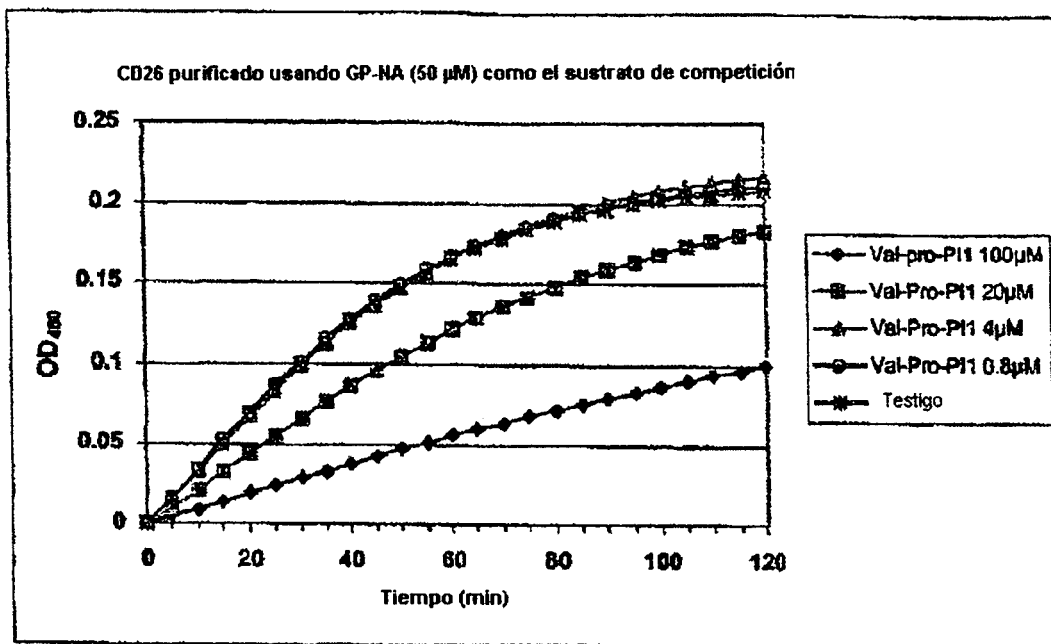


Figura 4

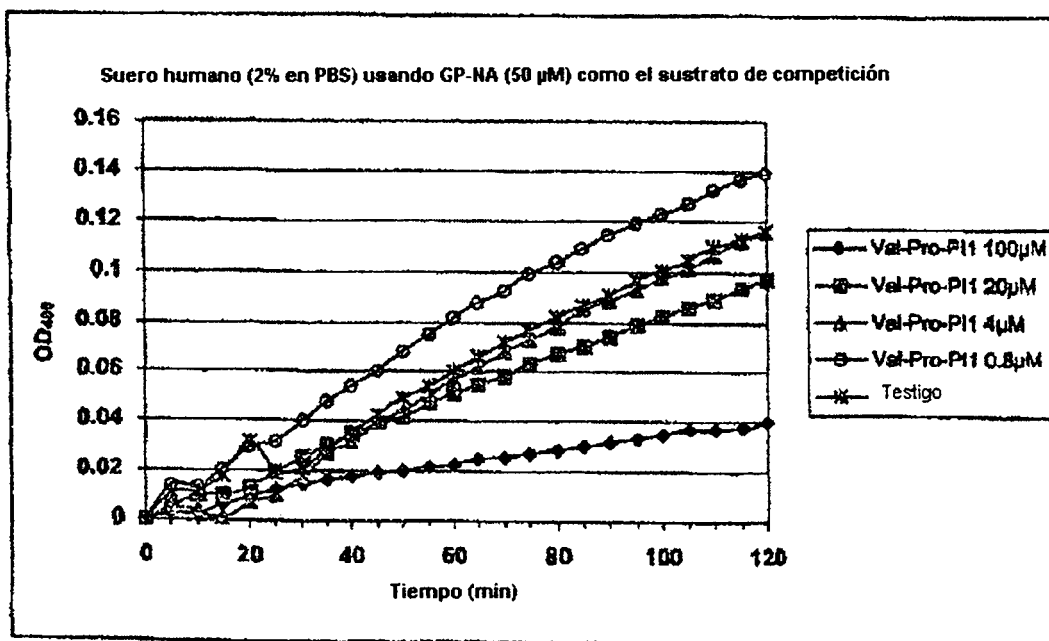


Figura 5

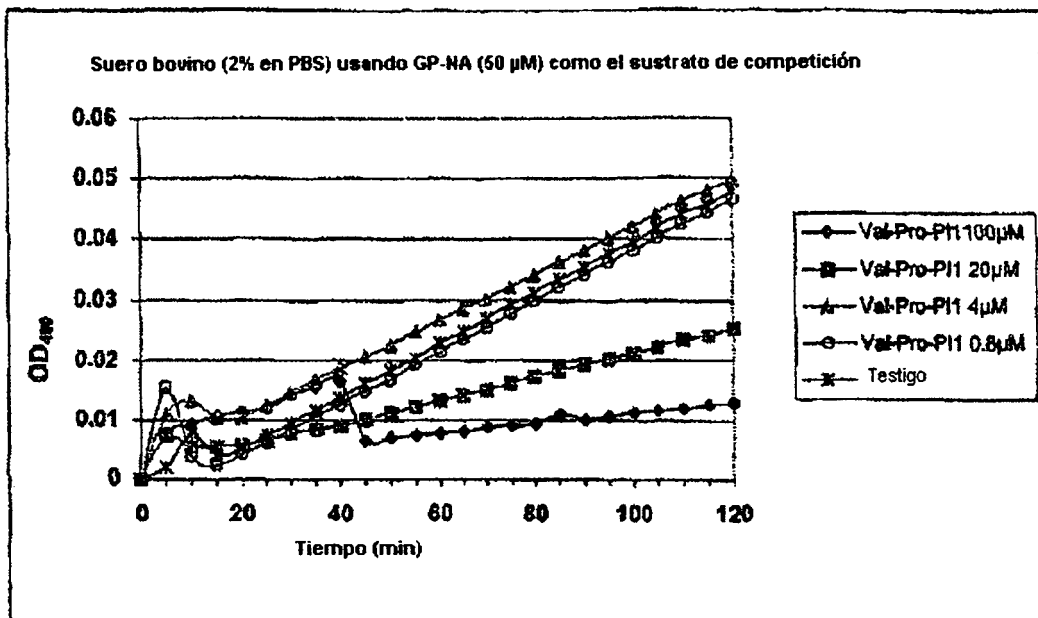


Figura 6

# ES 2 295 879 T3

## LISTA DE SECUENCIAS

<110> Tibotec Pharmaceuticals Ltd

5 <120> PROFÁRMACOS PARA HIV ESCINDIBLES POR CD26

<130> TIP072

10 <140> -

<141> 2004-05-10

15 <150> GB 0310593.9

<151> 2003-05-08

<160> 5

20 <170> PatentIn Ver. 2.1

<210> 1

<211> 4

25 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

30 <220>

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido

<400> 1

35 Arg Pro Lys Pro  
1

<210> 2

40 <211> 5

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

45 <220>

<223> Descripción de secuencial artificial: péptido

<400> 2

50 Val Pro Asp Pro Arg  
1 5

55 <210> 3

<211> 4

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

60

<220>

<223> Descripción de secuencial artificial: péptido

65 <220>

<221> VARIANTE

## ES 2 295 879 T3

<222> (3)  
<223> Tyr puede ser sustituida por Phe

5 <400> 3  
Gly Pro Tyr Pro  
1

10 <210> 4  
<211> 6  
<212> PRT  
15 <223> Secuencia artificial

<220>  
<223> Descripción de secuencia artificial: péptido

20 <220>  
<221> VARIANTE  
<222> (3)  
25 <223> Tyr puede ser sustituida por Phe

<220>  
<221> VARIANTE

30 <222> (5)  
<223> Tyr puede ser sustituida por Phe

<400> 4

35 Gly Pro Tyr Pro Tyr Pro  
1 5

40 <210> 5  
<211> 4  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

45 <220>  
<223> Descripción de secuencia artificial: péptido

50 <400> 5  
Asp Pro Lys Pro  
1

55

60

65